



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0909285-4 B1



(22) Data do Depósito: 30/03/2009

(45) Data de Concessão: 28/01/2020

(54) Título: ÁCIDO NUCLEICO, CONSTRUÇÃO DE VETOR, MÉTODO DE CONDUÇÃO DE TRANSCRIÇÃO, MÉTODO DE EXPRESSÃO DE UMA REGIÃO DE CODIFICAÇÃO EXÓGENA EM UMA PLANTA, MÉTODO DE ALTERAÇÃO DA EXPRESSÃO DE UM GENE EM UMA PLANTA, MÉTODO DE PRODUÇÃO DE UMA PLANTA TRANSGÊNICA

(51) Int.Cl.: C12N 15/29; C12N 15/82; A01H 1/00.

(30) Prioridade Unionista: 31/03/2008 US 61/041,018.

(73) Titular(es): CERES, INC..

(72) Inventor(es): MICHAEL F. PORTEREIKO; NICKOLAI ALEXANDROV.

(86) Pedido PCT: PCT US2009038792 de 30/03/2009

(87) Publicação PCT: WO 2009/146015 de 03/12/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 30/09/2010

(57) Resumo: PROMOTOR, ELEMENTOS DE CONTROLE DO PROMOTOR, E COMBINAÇÕES E USOS DOS MESMOS. Trata-se de sequências promotoras e elementos de controle promotores, construções de polinucleotídeo que compreendem os promotores e elementos de controle, e métodos de identificação do promotores, elementos de controle, ou fragmentos desses. O documento se refere ainda ao uso de tais promotores ou elementos de controle promotores par modular os níveis de transcrição em plantas, e plantas contendo tais promotores ou elementos de controle promotores.

ÁCIDO NUCLEICO, CONSTRUÇÃO DE VETOR, MÉTODO DE CONDUÇÃO DE TRANSCRIÇÃO, MÉTODO DE EXPRESSÃO DE UMA REGIÃO DE CODIFICAÇÃO EXÓGENA EM UMA PLANTA, MÉTODO DE ALTERAÇÃO DA EXPRESSÃO DE UM GENE EM UMA PLANTA, MÉTODO DE PRODUÇÃO DE UMA PLANTA TRANSGÊNICA

REFERÊNCIA REMISSIVA AOS PEDIDOS DE DEPÓSITO CORRELATOS

[0001] O presente pedido reivindica o benefício de Pedido Provisório nº de Série U.S. 61/041.018, depositado em 31 de março de 2008. A descrição do pedido anterior está aqui incorporada a título de referência em sua totalidade.

INCORPORAÇÃO A TÍTULO DE REFERÊNCIA DE LISTAGEM DE SEQUÊNCIA OU TABELA

[0002] O material na listagem de sequência em anexo está aqui incorporado a título de referência nesse pedido.

CAMPO DA TÉCNICA

[0003] A presente invenção refere-se a promotores e elementos de controle de promotor que são úteis para modular a transcrição de um polinucleotídeo desejado. Tais promotores e elementos de controle de promotor podem ser incluídos em construções de polinucleotídeo, cassetes de expressão, vetores, ou inseridos no cromossomo ou como um elemento exógeno, para modular a transcrição in vivo e in vitro de um polinucleotídeo. Células hospedeiras, inclusive células vegetais, e organismos, como plantas regeneradas desses, com atributos ou características desejadas utilizando polinucleotídeos que compreendem os promotores e elementos de controle de promotor descritos aqui também fazem parte da invenção.

ANTECEDENTES

[0004] Este documento refere-se a sequências de promotor e

sequências de elemento de controle de promotor que são úteis para a transcrição de polinucleotídeos em uma célula hospedeira ou organismo hospedeiro transformado.

[0005] A introdução de genes em plantas resultou no desenvolvimento de plantas com fenótipos novos e úteis como resistência ao patógeno, níveis maiores de tipos mais saudáveis de óleos, nova produção de componentes saudáveis como síntese de betacaroteno em arroz. Um gene introduzido é geralmente um gene quimérico composto da região de codificação que confere o atributo desejado e sequências reguladoras. Uma sequência reguladora é o promotor, que fica localizado 5' da região de codificação. Essa sequência está envolvida na regulação do padrão de expressão de uma região de codificação 3' dessa. A sequência promotora se liga ao complexo de RNA polimerase bem como a um ou mais fatores de transcrição que estão envolvidos na produção da transcrição de RNA da região de codificação.

[0006] A região promotora de um gene usado em transformação de plantas é mais geralmente derivada de uma fonte diferente daquela da região de codificação. Essa pode ser derivada de um gene diferente da mesma espécie de planta, de uma espécie de planta diferente, de um vírus de planta, uma espécie de alga, uma espécie de fungo, ou pode ser um compósito de sequências naturais e/ou sintéticas diferentes. As propriedades da sequência promotora geralmente determinam o padrão de expressão da região de codificação que é ligada de maneira funcional ao promotor. Promotores com características de expressão diferentes foram descritos. O promotor pode conferir ampla expressão como no caso do promotor 35S do vírus do mosaico da couve-flor (CaMV) amplamente usado. O promotor pode conferir expressão

tecido-específica no caso do promotor de faseolina semente-específico. O promotor pode conferir um padrão para alterações no desenvolvimento em expressão. O promotor pode ser induzido por um composto químico aplicado, ou por uma condição ambiental aplicada à planta.

[0007] O promotor que é usado para regular uma região de codificação particular é determinado pelo padrão de expressão desejado para aquela região de codificação, que é por si só determinado pelo fenótipo resultante desejado na planta. Por exemplo, a resistência a herbicida desejada em toda a planta para que o promotor 35S seja adequado para expressão de um gene de resistência a herbicida. Um promotor semente-específico é adequado para alterar o teor de óleo da semente de soja. Um promotor endosperma-específico é adequado para alterar a composição de amido de uma semente de milho. Um promotor raiz-específico pode ser importante para aumentar a absorção de água ou nutriente em uma planta. O controle de expressão de um gene introduzido pelo promotor é importante, pois às vezes é prejudicial possuir a expressão de um gene introduzido em tecidos não-alvo. Por exemplo, um gene que induz a morte celular pode ser expresso em células do gameta masculino e/ou gameta feminino em conjunto com o bioconfinamento.

[0008] Um dos principais objetivos da biotecnologia é obter organismos, como plantas, mamíferos, levedura, e procariotos com características ou atributos desejados particulares. Exemplos dessas características ou atributos abundam e podem incluir, por exemplo, em plantas, resistência a vírus, resistência a insetos, resistência a herbicida, estabilidade aumentada ou valor nutricional adicional. Avanços recentes em engenharia

genética permitem que os pesquisadores no campo incorporem sequências de polinucleotídeo em células hospedeiras para obter as qualidades desejadas no organismo de escolha. Essa tecnologia permite que um ou mais polinucleotídeos de uma fonte diferente daquela do organismo de escolha sejam transcritos pelo organismo de escolha. Se desejado, a transcrição e/ou tradução desses novos polinucleotídeos pode ser modulada no organismo para exibir uma característica ou atributo desejado. Alternativamente, novos padrões de transcrição e/ou tradução de polinucleotídeos endógenos ao organismo podem ser produzidos.

SUMÁRIO

[0009] O presente documento refere-se a sequências de polinucleotídeos isolados que compreendem promotores e elementos de controle de promotor de plantas, especialmente *Sorghum bicolour*, e outros promotores e elementos de controle de promotor funcionais em plantas. Um objetivo do presente documento é fornecer polinucleotídeos isolados que sejam o promotor ou sequências de controle de promotor. Essas sequências de promotor compreendem, por exemplo, um polinucleotídeo que possui uma sequência de nucleotídeo de acordo com a SEQ. ID. nos 1 a 18; um polinucleotídeo que possui uma sequência de nucleotídeo que possui ao menos 80% de identidade de sequência com uma sequência de acordo com a SEQ. ID. nos 1 a 18; e um polinucleotídeo que possui uma sequência de nucleotídeo que se hibridiza com uma sequência de acordo com a SEQ. ID. nos 1 a 18 sob uma condição que estabelece uma T_m -5°C.

[0010] O promotor ou sequências de elemento de controle de promotor do presente documento são capazes de modular a transcrição preferencial. Em uma modalidade, esse documento descre-

ve um ácido nucleico isolado que inclui uma região reguladora que possui 90 por cento ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 95 por cento ou mais, ou 98 por cento ou mais) com a sequência de nucleotídeo apresentada em qualquer uma entre a SEQ ID nos 1 a 18 ou um fragmento dessa, em que a região reguladora conduz a transcrição de um polinucleotídeo heterólogo ligado de maneira funcional. O ácido nucleico pode incluir um ou mais motivos selecionados a partir do grupo que consiste em um motivo ABRE, motivo ABREATRD22, motivo ABRERATCAL, motivo ABREZMRAB28, motivo ACGTABREMOTIFA2OSEM, motivo ACIIPVPAL2, motivo AGCBOXNPGLB, motivo AMYBOX1, motivo ARE1, motivo ATHB1ATCONSENSUS, motivo ATHB6COREAT, motivo AUXRETGA2GMGH3, motivo BOXIIPCCHS, motivo CAATBOX1, motivo CACGCAATGMGH3, motivo CARGCW8GAT, motivo CCA1ATLHCB1, motivo CEREG LUBOX2PSLEGA, motivo E2FAT, motivo E2FCONSENSUS, motivo ERELEE4, motivo GADOWNAT, motivo GARE1OSREP1, motivo GAREAT, motivo IBOXCORENT, motivo INRNTPSADB, motivo LRENPCABE, motivo MARTBOX, motivo MYBGAHV, motivo MYBPLANT, motivo NRRBNEXTA, motivo P1BS, motivo PRECONSCRHSP70A, motivo ROOTMOTIFTAPOX1, motivo RYREPEATGMGY2, motivo RYREPEATVFLEB4, motivo SBOXATRBCS, motivo SP8BFIBSP8BIB, motivo SPHCOREZMC1, motivo TATABOX1, motivo TATABOX2, motivo TATABOX4, motivo TATABOXOSPAL, motivo TATCCAYMOTIFOSRAMY3D, motivo TE2F2NTPCNA, motivo TRANSINITMONOCOTS, motivo UP2ATMSD, e motivo UPRMOTIFIAT.

[0011] Esse documento também descreve uma construção de vetor que inclui um primeiro ácido nucleico que inclui uma região reguladora que possui 90 por cento ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 95 por cento ou mais, ou 98 por cento ou mais) com qualquer uma entre a SEQ ID nos 1 a 18 ou um frag-

mento dessa, em que a região reguladora conduz a transcrição de um polinucleotídeo heterólogo ligado de maneira funcional; e um segundo ácido nucleico que será transcrito, em que os primeiro e segundo ácidos nucleicos são heterólogos um a o outro e são ligados de maneira funcional. Em algumas modalidades, o primeiro ácido nucleico consiste no ácido nucleico apresentado em qualquer uma das SEQ IDnos: 1 a 18. Em algumas modalidades, o segundo ácido nucleico inclui uma sequência de ácido nucleico que codifica um polipeptídeo. O segundo ácido nucleico pode ser ligado de maneira funcional ao primeiro ácido nucleico em orientação senso. Em algumas modalidades, o segundo ácido nucleico pode ser transcrito em uma molécula de RNA que expressa o polipeptídeo codificado pelo segundo ácido nucleico. O segundo ácido nucleico pode ser ligado de maneira funcional ao primeiro ácido nucleico em orientação antissenso. O segundo ácido nucleico pode ser transcrito em uma molécula de RNA antissenso. O segundo ácido nucleico pode ser transcrito em um RNA interferente contra um gene endógeno.

[0012] Em outro aspecto, esse documento descreve uma planta transgênica ou célula vegetal transformada com um ácido nucleico isolado descrito aqui que é ligado de maneira funcional a um polinucleotídeo heterólogo, ou uma construção de vetor descrita aqui. Esse documento também descreve sementes de tal planta. Em algumas modalidades, o ácido nucleico heterólogo codifica um polipeptídeo de interesse agrônômico.

[0013] Esse documento também descreve um método de conduzir a transcrição ao combinar, em um ambiente adequado para transcrição: um primeiro ácido nucleico que inclui uma região reguladora que possui 90 por cento ou mais de identidade de sequên-

cia (por exemplo, 95 por cento ou mais, ou 98 por cento ou mais) com qualquer uma entre a SEQ ID nos 1 a 18 ou um fragmento dessa; e um segundo ácido nucleico que será transcrito; em que os primeiro e segundo ácidos nucleicos são heterólogos um ao outro e ligados de maneira funcional. A primeira molécula de ácido nucleico pode consistir em uma sequência de acordo com qualquer uma entre a SEQ ID nos: 1 a 18. Os primeiro e segundo ácidos nucleicos ligados de maneira funcional podem ser inseridos em uma célula vegetal e a célula vegetal regenerada em uma planta.

[0014] Ainda em outro aspecto, esse documento descreve um método de expressão de uma região de codificação exógena em uma planta. O método inclui transformar uma célula vegetal com um vetor descrito aqui; regenerar uma planta estavelmente transformada a partir da célula vegetal transformada; e selecionar as plantas que contêm uma célula vegetal transformada, em que a expressão do vetor resulta na produção de um polipeptídeo codificado pelo segundo ácido nucleico.

[0015] Esse documento também descreve um método de alterar a expressão de um gene em uma planta. O método inclui transformar uma célula vegetal com um ácido nucleico descrito aqui que é ligado de maneira funcional a um polinucleotídeo heterólogo, e regenerar as plantas estavelmente transformadas a partir da célula vegetal transformada. As plantas preparadas de acordo com tal método também são descritas, bem como sementes obtidas de tais plantas.

[0016] Em outro aspecto, esse documento dum método descreve um método de produção de uma planta transgênica. O método de introduzir em uma célula vegetal (i) um polinucleotídeo isola-

do descrito aqui que é ligado de maneira funcional a um polinucleotídeo heterólogo, ou (ii) um vetor descrito aqui, e desenvolver uma planta a partir da célula vegetal. O polinucleotídeo heterólogo pode incluir uma sequência de ácido nucleico que codifica um polipeptídeo. O polinucleotídeo heterólogo pode ser ligado de maneira funcional à região reguladora na orientação antissenso. O polinucleotídeo heterólogo pode ser transcrito em um RNA interferente.

[0017] Em outra modalidade, os presentes elementos de controle de promotor são capazes de servir ou realizar a função, por exemplo, como um promotor de núcleo, uma caixa TATA, um sítio de ligação de polimerase, um sítio iniciador, um sítio de ligação de transcrição, um intensificador, uma repetição invertida, uma região de controle de local, e/ou uma região de ligação de arcabouço/matriz.

[0018] Ainda outro objetivo do presente documento é fornecer um polinucleotídeo que inclui ao menos um primeiro e um segundo elemento de controle de promotor. O primeiro elemento de controle de promotor é uma sequência de elemento de controle de promotor como discutido acima, e o segundo elemento de controle de promotor é heterólogo ao primeiro elemento de controle; em que, os primeiro e segundo elementos de controle são ligados de maneira funcional. Tais promotores podem modular os níveis de transcrição, de preferência, em um tecido particular ou sob condições particulares.

[0019] Em outra modalidade, o presente polinucleotídeo isolado compreende um promotor ou um elemento de controle de promotor como descrito acima, em que o promotor ou elemento de controle de promotor é ligado de maneira funcional a um polinu-

cleotídeo que será transcrito.

[0020] Em outra modalidade do presente documento, o promotor e elementos de controle de promotor do presente documento são ligados de maneira funcional a um polinucleotídeo heterólogo que é uma sequência reguladora.

[0021] Outro objetivo do presente documento é fornecer uma célula hospedeira que compreende um polinucleotídeo isolado ou vetor como descrito acima ou fragmento desse. As células hospedeiras incluem, por exemplo, bactérias, levedura, insetos, mamíferos, fungos, algas, e plantas. A célula hospedeira pode compreender um promotor ou elemento de controle de promotor exógeno ao genoma. Tal promotor pode modular a transcrição em cis- e em trans-. Em ainda outra modalidade, a célula hospedeira é uma célula vegetal capaz de regeneração em uma planta.

[0022] Outro objetivo do presente documento é fornecer um método de modulação de transcrição em uma amostra que contém um sistema isento de célula de transcrição ou célula hospedeira. Esse método compreende fornecer um polinucleotídeo ou vetor de acordo com o presente documento como descrito acima, e contactar a amostra do polinucleotídeo ou vetor sob condições que permitam a transcrição.

[0023] Em outra modalidade do presente método, o polinucleotídeo ou vetor, de preferência, modula, dependendo da função do promotor particular, a transcrição constitutiva, transcrição induzida por estresse, transcrição induzida por luz, transcrição induzida no escuro, transcrição de folhas, transcrição de raiz, transcrição de caule ou broto, transcrição de silíqua ou frutos, transcrição de calos, transcrição de rizoma, transcrição de nó de caule, transcrição de tecido de game-

ta, transcrição de flor, transcrição de botão imaturo ou transcrição de flor e específica de inflorescência, transcrição induzida por senescência, transcrição de germinação e/ou transcrição de estiagem.

[0024] Outros objetivos e objetivos adicionais do presente documento se tornarão visíveis a partir da seguinte descrição.

BREVE DESCRIÇÃO DAS TABELAS E FIGURAS

[0025] As tabelas consistem no(s) Relatório(s) de Expressão de cada promotor descrito aqui e fornecem a sequência de nucleotídeo de cada promotor e detalhes da expressão conduzida por cada sequências promotora de ácido nucleico como observado em plantas transgênicas. Os resultados são apresentados como sumários da expressão espacial, esses fornecem informações sobre a expressão bruta e/ou específica em vários órgãos e tecidos da planta. O padrão de expressão observado também é apresentado, esse fornece detalhes da expressão durante diferentes gerações ou diferentes estágios de desenvolvimento dentro de uma geração. Informações adicionais são fornecidas com relação ao organismo de origem do promotor, e ao vetor e genes marcadores usados para a construção. Os seguintes símbolos são usados de maneira coerente ao longo das tabelas:

- T0:Primeira transformante de geração
- T1:Segunda transformante de geração

[0026] Cada linha da tabela começa com o título dos dados que serão encontrados na seção. A seguir proporciona-se uma descrição dos dados que serão encontrados em cada seção:

	Título nas tabelas	Descrição
1.	Promotor testado em:	Identifica o organismo no qual o vetor promotor-marcador foi testado.
2.	Construção:	Identifica o promotor por sua ID de construção
3.	Linhagem:	Identifica a linhagem transgênica que contém a construção de promotor
4.	Promotor Candidato:	Fornecer um número de ID interno ao promotor.
5.	Expressão de Evento:	Identifica os números de evento que foi expresso sob o promotor.
6.	Sumário de expressão espacial:	Identifica as partes específicas da planta onde níveis variados de expressão de GFP são observados.
7.	Padrão de expressão observado:	Fornecer uma explicação geral de onde a expressão de GFP em gerações diferentes de plantas foi observada.
8.	Gene:	Identifica a anotação genômica da sequência de codificação que corresponde ao promotor candidato
9.	cDNA I.D.:	Modelo de gene previsto interno correspondente à anotação genômica

	Título nas tabelas	Descrição
10.	GenBank:	Anotação de pFAM prevista por GenBank
11.	Organismo Promotor de Origem	Identifica a espécie de planta a partir da qual o promotor foi derivado.
12.	Vetor:	Identifica o vetor no qual um promotor foi clonado.
13.	Tipo de Marcador:	Identifica o tipo de marcador ligado ao promotor. O marcador é usado para determinar padrões de expressão de gene em tecido vegetal.
14.	Geração avaliada: T0 Plântula T0 Madura T1 Plântula	Identifica a(s) geração(ões) de planta usada(s) no processo de avaliação. As plantas T0 são transformantes primárias regeneradas diretamente de cultura de tecido enquanto as plantas de geração T1 são derivadas das sementes coletadas das plantas T0.
16	T0 Expressão de Plântula:	Identifica os tecidos vegetais que foram observados para possível expressão.
17	T0 Expressão de Planta Madura:	Identifica os tecidos vegetais que foram observados para possível ex-

	Título nas tabelas	Descrição
		pressão
18	T1 Expressão de Planta Madura:	Identifica os tecidos vegetais que foram observados para possível expressão
19	Utilidade de Promotor	Fornece uma descrição da utilidade da sequência.

FIGURA 1 - CRS380_Promoter_EGFP

[0027] A figura 1 é uma representação esquemática de um vetor que é útil para inserir os promotores descritos aqui em uma planta. As definições das abreviações usadas no mapa de vetores são as seguintes: Ori - a origem de replicação usada por um hospedeiro E. coli; RB - sequência da borda direita do T-DNA de pMOG800; SfiI - sítio de clivagem de enzima de restrição usado para clonagem; EGFP - uma versão aprimorada do gene de proteína verde fluorescente; OCS - a sequência terminadora do gene octopina sintase; p28716 (também conhecido como 28716 curto) - promotor usado para conduzir a expressão do gene PAT (BAR); PAT (BAR) - um gene marcador que confere resistência a herbicida; LB - sequência da borda esquerda do T-DNA de pMOG800; Spec - um gene marcador que confere resistência a espectinomicina; TrfA - gene de fator de repressão de transcrição; RK2-OriV - origem de replicação de Agrobacterium .

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0028] As seguintes definições e métodos são fornecidos para definir melhor a presente invenção e guiar as pessoas versadas

na técnica na prática da presente invenção. Exceto onde observado em contrário, os termos devem ser entendidos de acordo com o uso convencional pelas pessoas versadas na técnica relativa.

[0029] O documento descrito aqui fornece promotores capazes de conduzir a expressão de um transgene ligado de maneira funcional. O desenho, construção, e uso desses promotores são o objetivo desse documento. As sequências promotoras, SEQ ID nos: 1 a 18, são capazes de transcrever as moléculas de ácido nucleico ligadas de maneira funcional em tecidos/órgãos vegetais particulares durante estágios de crescimento vegetal particulares, e, portanto, podem seletivamente regular a expressão de transgenes nesses tecidos/órgãos ou nesses momentos de desenvolvimento da planta.

1. Definições

[0030] Os termos "ácido nucleico" e "polinucleotídeo" são usados de maneira intercambiável aqui, e se referem a RNA e DNA, inclusive cDNA, DNA genômico, DNA sintético, e DNA ou RNA contendo análogos de ácido nucleico. Os polinucleotídeos podem possuir qualquer estrutura tridimensional. Um ácido nucleico pode ser de cadeia dupla ou cadeia simples, ou seja, uma cadeia senso ou uma cadeia antissenso. Exemplos não limitativos de polinucleotídeos incluem genes, fragmentos de gene, exons, introns, RNA mensageiro (mRNA), RNA de transferência, RNA ribossomal, siRNA, micro-RNA, ribozimas, cDNA, polinucleotídeos recombinantes, polinucleotídeos ramificados, plasmídeos, vetores, DNA isolado de qualquer sequência, RNA isolado de qualquer sequência, sondas de ácido nucleico, e iniciadores, bem como análogos de ácido nucleico.

[0031] Um ácido nucleico isolado pode ser, por exemplo, uma molécula de DNA de ocorrência natural, desde que uma das sequências de ácido nucleico normalmente encontradas que flanqueiam imediatamente a molécula de DNA em um genoma de ocorrência natural seja removida ou inexistente. Assim, um ácido nucleico isolado inclui, sem caráter limitativo, uma molécula de DNA que se apresenta como uma molécula separada, independente de outras sequências, por exemplo, um ácido nucleico quimicamente sintetizado, ou um cDNA ou fragmento de DNA genômico produzido pela reação em cadeia da polimerase (PCR) ou tratamento por endonuclease de restrição. Um ácido nucleico isolado também refere-se a uma molécula de DNA que é incorporada em um vetor, um plasmídeo auto-replicante, ou um vírus, ou transformada no genoma de um procarioto ou eucarioto. Ademais, um ácido nucleico isolado pode incluir um ácido nucleico elaborado como uma molécula de DNA que faz parte de um ácido nucleico híbrido ou de fusão. Um ácido nucleico entre centenas a milhões de outros ácidos nucleicos dentro, por exemplo, das bibliotecas de cDNA ou bibliotecas genômicas, ou sílicas gel contendo uma digestão por restrição de DNA genômico, não será considerado um ácido nucleico isolado.

[0032] Quimérico: o termo "quimérico" é usado para descrever polinucleotídeos ou genes, ou construções onde ao menos dois dos elementos do polinucleotídeo ou gene ou construção, como o promotor e o polinucleotídeo que será transcrito e/ou outras sequências reguladoras e/ou sequências de carga e/ou complementos dessas, são heterólogos um ao outro.

[0033] Promotor de Ampla Expressão: Os promotores referidos aqui como "promotores de ampla expressão" promovem ativamente

a transcrição sob a maioria, porém não necessariamente todas, das condições ambientais e estágios de desenvolvimento ou diferenciação celular. Exemplos de promotores de ampla expressão incluem a região de iniciação de transcrição de vírus do mosaico da couve-flor (CaMV) 35S e o promotor 1' ou 2' derivado de T-DNA de *Agrobacterium tumefaciens*, e outras regiões de iniciação de transcrição de vários genes de plantas, como o promotor da ubiquitina-1 de milho, conhecido pelas pessoas versadas na técnica.

[0034] Domínio: Os domínios são impressões digitais ou assinaturas que podem ser usadas para caracterizar as famílias de proteína e/ou partes de proteínas. Tais impressões digitais ou assinaturas podem compreender a sequência primária conservada (1), estrutura secundária (2), e/ou conformação tridimensional (3). Uma análise similar pode ser aplicada a polinucleotídeos. Geralmente, cada domínio foi associado a uma sequência primária conservada ou um motivo de sequência. Geralmente esses motivos de sequência primária conservada estavam correlacionados com atividades específicas *in vitro* e/ou *in vivo*. Um domínio pode ser de qualquer comprimento, inclusive todo o polinucleotídeo que será transcrito. Exemplos de domínios incluem, sem caráter limitativo, AP2, helicase, homeobox, dedo de zinco, etc.

[0035] Endógeno: o termo "endógeno", dentro do contexto do presente documento refere-se a qualquer sequência de polinucleotídeo, polipeptídeo ou proteína que é uma parte natural de uma célula ou organismo(s) regenerado(s) a partir da dita célula. No contexto do promotor, o termo "região de codificação endógena" ou "cDNA endógeno" refere-se à região de codificação

que é naturalmente ligada de maneira funcional ao promotor.

[0036] Intensificador/Supressor: Um "intensificador" é um elemento regulador de DNA que pode aumentar o nível de estado estacionário de uma transcrição, geralmente aumentando a taxa de iniciação de transcrição. Os intensificadores geralmente exercem seu efeito independentemente da distância, posição a montante ou a jusante, ou orientação do intensificador com relação ao sítio de início de transcrição. Em contrapartida, um "supressor" é um elemento regulador de DNA correspondente que reduz o nível de estado estacionário de uma transcrição, novamente, de modo geral, afetando a taxa de iniciação de transcrição. A atividade essencial dos elementos intensificadores e supressores é ligar o(s) fator(es) de proteína. Tal ligação pode ser avaliada, por exemplo, por métodos descritos abaixo. A ligação ocorre tipicamente de maneira que influencie o nível de estado estacionário de uma transcrição em uma célula ou em um extrato de transcrição in vitro.

[0037] Exógeno: Como referido aqui, "exógena" é qualquer sequência de polinucleotídeo, polipeptídeo ou proteína, seja quimérica ou não, que é introduzida no genoma de uma célula hospedeira ou organismo regenerado a partir da dita célula hospedeira por qualquer meio exceto por um cruzamento sexual. Exemplos dos meios dos quais isso pode ser realizado são descritos abaixo, e incluem transformação mediada por *Agrobacterium* (de dicotiledôneas - por exemplo, Salomon et al. (1984) EMBO J. 3:141; Herrera-Estrella et al. (1983) EMBO J. 2:987; de monocotiledôneas, documentos representativos são aqueles de Escudero et al. (1996) Plant J. 10:355), Ishida et al. (1996) Nature Biotech 14:745, May et al. (1995) Bio/Technology

13:486), métodos biolíticos (Armaleo et al. (1990) Current Genetics 17:97), eletroporação, em técnicas vegetais, e similares. Tal planta contendo o ácido nucleico exógeno é referida aqui como T0 para a planta transgênica primária e T1 para a primeira geração. O termo "exógeno" como usado aqui também pretende incluir a inserção de um elemento naturalmente encontrado em um local não natural não naturalmente encontrado.

[0038] Sequências heterólogas: "sequências heterólogas" são aquelas que não são ligadas de maneira funcional ou não são contíguas umas às outras em natureza. Por exemplo, um promotor de milho é considerado heterólogo a uma sequência de região de codificação Arabidopsis. Também, um promotor de um gene que codifica um fator de crescimento do milho é considerado heterólogo a uma sequência que codifica o receptor de milho do fator de crescimento. As sequências reguladoras de elemento, como UTRs ou sequências de terminação de extremidade 3' que não se originam em natureza do mesmo gene que a sequência de codificação, são consideradas heterólogas à dita sequência de codificação. Os elementos ligados de maneira funcional em natureza e são contíguos uns aos outros não são heterólogos uns aos outros. Por outro lado, esses mesmos elementos permanecem ligados de maneira funcional, porém se tornam heterólogos se outra sequência de carga for colocada entre esses. Assim, o promotor e sequências de codificação de um gene de milho que expressa um transportador de aminoácido não são heterólogos uns aos outros, porém o promotor e a sequência de codificação de um gene de milho ligado de maneira funcional de maneira nova são heterólogos.

[0039] Homólogo: No presente documento, um polinucleotídeo

"homólogo" refere-se a um polinucleotídeo que compartilha similaridade de sequência com o polinucleotídeo de interesse. Essa similaridade pode estar apenas em um fragmento da sequência e geralmente representa um domínio funcional como, exemplos inclusive, sem caráter limitativo, um domínio de ligação de DNA ou um domínio com atividade tirosina quinase. As atividades funcionais de polinucleotídeos homólogos não são necessariamente as mesmas.

[0040] Promotor Induzível: Um "promotor induzível" no contexto do presente documento refere-se a um promotor, cuja atividade é influenciada por algumas condições, como luz, temperatura, concentração química, concentração de proteína, condições em um organismo, célula, ou organela, etc. Um exemplo típico de um promotor induzível, que pode ser utilizado com os polinucleotídeos do presente documento, é PARSK1, o promotor de um gene Arabidopsis que codifica uma enzima serina-treonina quinase, e tal promotor é induzido por desidratação, ácido abscísico e cloreto de sódio (Wang and Goodman (1995) Plant J. 8:37). Exemplos de condições ambientais que podem afetar a transcrição por promotores induzíveis incluem condições anaeróbicas, temperatura elevada, a presença ou ausência de um nutriente ou outro composto químico ou a presença de luz.

[0041] Expressão errônea: o termo "expressão errônea" refere-se a um aumento ou redução na transcrição de uma região de codificação em uma sequência de RNA complementar como comparado com o tipo selvagem. Esse termo também inclui a expressão e/ou tradução de um gene ou região de codificação ou inibição de tal transcrição e/ou tradução durante um período de tempo diferente como comparado com o tipo selvagem e/ou de um local

não natural dentro do genoma da planta, inclusive um gene ou região de codificação de uma espécie de planta diferente ou de um organismo não vegetal.

[0042] Modular Nível de Transcrição: Como usado aqui, a frase "modular transcrição" descreve a atividade biológica de uma sequência de promotor ou elemento de controle de promotor. Tal modulação inclui, sem caráter limitativo, super e infrarregulação de iniciação de transcrição, taxa de transcrição, e/ou níveis de transcrição.

[0043] Ligação Operável: Uma "ligação operável" é uma ligação em que uma sequência de promotor ou elemento de controle de promotor é conectada a uma sequência de polinucleotídeo (ou sequências) de maneira que coloque a transcrição da sequência de polinucleotídeo sob a influência ou controle do promotor ou elemento de controle de promotor. Duas sequências de DNA (como um polinucleotídeo que será transcrito e uma sequência de promotor ligada à extremidade 5' do polinucleotídeo que será transcrito) e são consideradas ligadas de maneira funcional se a indução de função de promotor resultar na transcrição de mRNA que codifica o polinucleotídeo e se a natureza da ligação entre as duas sequências de DNA não (1) resultar na introdução de uma mutação quadro-deslocamento, (2) interferir na capacidade da sequência de promotor conduzir a expressão da proteína, RNA antissenso, RNAi ou ribozima, ou (3) interferir na capacidade do modelo de DNA que será transcrito. Assim, uma sequência de promotor poderia ser ligada de maneira funcional a uma sequência de polinucleotídeo se o promotor for capaz de realizar a transcrição daquela sequência de polinucleotídeo.

[0044] Porcentagem de identidade de sequência: Como usado

aqui, o termo "porcentagem de identidade de sequência" refere-se ao grau de identidade entre qualquer determinada sequência de consulta e uma sequência de assuntos. Uma sequência de assuntos tipicamente possui um comprimento que é de cerca de 80 por cento a 250 por cento do comprimento da sequência de consulta, por exemplo, 82, 85, 87, 89, 90, 93, 95, 97, 99, 100, 105, 110, 115, ou 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, ou 250 por cento do comprimento da sequência de consulta. Uma sequência de ácido nucleico ou aminoácido de consulta é alinhada com um ou mais sequências de ácido nucleico ou aminoácido de assuntos utilizando o programa de computador ClustalW (versão 1.83, parâmetros padrão), que permite que os alinhamentos das sequências de ácido nucleico ou proteína sejam realizados ao longo de todo o seu comprimento (alinhamento global). Chenna et al. (2003) *Nucleic acids Res.* 31(13):3497-500.

[0045] ClustalW calcula a melhor combinação entre uma sequência de consulta e uma ou mais sequências de assuntos, e as alinha modo que as identidades, similaridades e diferenças possam ser determinadas. Espaços de um ou mais resíduos podem ser inseridos em uma sequência de consulta, uma sequência de assuntos, ou ambas, para aumentar os alinhamentos de sequência. Para rápido alinhamento em pares de sequências de ácido nucleico, os seguintes parâmetros padrão são usados: tamanho de palavra: 2; tamanho de janela: 4; método de pontuação: porcentagem; número de diagonais superiores: 4; e penalidade de espaços: 5. Para um alinhamento de múltiplas sequências de ácido nucleico, os seguintes parâmetros são usados: penalidade por abertura de espaços: 10,0; penalidade por extensão de es-

paços: 5,0; e transições de peso: sim. Para um rápido alinhamento em pares de sequências de proteína, os seguintes parâmetros são usados: tamanho de palavra: 1; tamanho de janela: 5; método de pontuação: porcentagem; número de diagonais superiores: 5; penalidade de espaços: 3. Para alinhamento múltiplo de sequências de proteína, os seguintes parâmetros são usados: matriz de peso: blocos de matriz de substituição; penalidade por abertura de espaços: 10.0; penalidade por extensão de espaços: 0,05; espaços hidrofílicos: em resíduos hidrofílicos: Gly, Pro, Ser, Asn, Asp, Gln, Glu, Arg, e Lys; penalidades de espaços resíduo-específicos. O resultado é um alinhamento de sequência que reflete na relação entre as sequências. ClustalW pode ser operado, por exemplo, no site do Baylor College of Medicine Search Launcher website e no site do European Bioinformatics Institute na Web.

[0046] Para determinar a porcentagem de identidade das sequências de polipeptídeo ou ácido nucleico entre uma sequência de consulta e uma sequência de assuntos, as sequências são alinhadas utilizando Clustal W e o número de combinações idênticas no alinhamento é dividido pelo comprimento de consulta, e o resultado é multiplicado por 100. O resultado é a porcentagem de identidade da sequência de assuntos com relação à sequência de consulta. Observa-se que o valor de porcentagem de identidade pode ser arredondado até a primeira casa decimal. Por exemplo, 78,11, 78,12, 78,13, e 78,14 são arredondados para baixo até 78,1, enquanto 78,15, 78,16, 78,17, 78,18, e 78,19 são arredondados para cima até 78,2.

[0047] Promotor de Plantas: Um "promotor de plantas" é um promotor capaz de iniciar a transcrição em células vegetais e

pode modular a transcrição de um polinucleotídeo. Tais promotores não precisam ser de origem vegetal. Por exemplo, os promotores derivados de vírus de plantas, como o promotor CaMV35S ou de *Agrobacterium tumefaciens* como os promotores de T-DNA, podem ser promotores de plantas. Um exemplo típico de um promotor de plantas de origem vegetal é o promotor da ubiquitina-1 (ubi-1) de milho conhecidos pelas pessoas versadas na técnica.

[0048] Tecido Vegetal: o termo "tecido vegetal" inclui tecidos ou plantas diferenciados e indiferenciados, inclusive, porém sem caráter limitativo, raízes, caules, brotos, rizomas, cotiledôneas, epicotil, hipocotil, folhas, pólen, sementes, tecido da vesícula e várias formas de células em cultura como célula única, protoplasto, embriões, e tecido caloso. O tecido vegetal pode estar em plantas ou em cultura de órgão, tecido ou célula.

[0049] Transcrição Preferencial: "Transcrição preferencial" é definida como a transcrição que ocorre em um padrão particular de tipos de células ou tempos de desenvolvimento ou em resposta a estímulos ou combinação desses. Exemplos não limitativos de transcrição preferencial incluem: altos níveis de transcrição de uma sequência desejada em tecidos de raiz; níveis de transcrição detectáveis de uma sequência desejada em alguns tipos de célula durante a embriogênese; e baixos níveis de transcrição de uma sequência desejada sob condições de estiaagem. Tal transcrição preferencial pode ser determinada ao medir a iniciação, taxa, e/ou níveis de transcrição.

[0050] Promotor: Um "promotor" é uma sequência de DNA que conduz a transcrição de um polinucleotídeo. Tipicamente um

promotor fica localizado na região 5' de um polinucleotídeo que será transcrito, próximas ao sítio de início de transcrição de tal polinucleotídeo. Mais tipicamente, os promotores são definidos como a região a montante do primeiro exon; mais tipicamente, como uma região a montante do primeiro entre múltiplos sítios de início de transcrição; mais tipicamente, como a região a jusante do gene anterior e a montante do primeiro entre múltiplos sítios de início de transcrição; mais tipicamente, a região a jusante do sinal polyA e a montante do primeiro entre múltiplos sítios de início de transcrição; ainda mais tipicamente, cerca de 3.000 nucleotídeos a montante do ATG do primeiro exon; ainda mais tipicamente, 2.000 nucleotídeos a montante do primeiro entre múltiplos sítios de início de transcrição. Os promotores do documento compreendem ao menos um promotor de núcleo como definido acima. Geralmente os promotores são capazes de conduzir a transcrição de genes localizados em cada cadeia de DNA complementar que está 3' do promotor. Declarado de maneira diferente, muitos promotores exibem bidirecionalidade e podem conduzir a transcrição de um gene a jusante quando presente na orientação (ou seja, 5' a 3' ou 3' a 5' em relação à região de codificação do gene). Adicionalmente, o promotor também pode incluir ao menos um elemento de controle como um elemento a montante. Tais elementos incluem UARs e opcionalmente, outras sequências de DNA que afetam a transcrição de um polinucleotídeo como um elemento a montante sintético.

[0051] Elemento de controle de promotor: o termo "elemento de controle de promotor" como usado aqui descreve elementos que influenciam a atividade do promotor. Os elementos de controle

de promotor incluem determinantes de sequência reguladora de transcrição como, porém sem caráter limitativo, intensificadores, regiões de ligação de arcabouço/matriz, caixas TATA, regiões de controle de local de início de transcrição, UARs, URRs, outros sítios de ligação de fator de transcrição e repetições invertidas.

[0052] Sequência pública: o termo "sequência pública", como usado no contexto do presente pedido, refere-se a qualquer sequência que foi depositada em um banco de dados publicamente acessível antes da data de arquivamento do presente pedido. Esse termo inclui sequências de aminoácido e nucleotídeo. Tais sequências são publicamente acessíveis, por exemplo, no banco de dados BLAST no site NCBI FTP (acessível através da internet). O banco de dados no site NCBI FTP utiliza números "gi" atribuídos por NCBI como um identificador exclusivo de cada sequência nos bancos de dados, fornecendo assim um banco de dados não redundante para sequência de vários bancos de dados, inclusive GenBank, EMBL, DDBJ (DNA Database of Japan) e PDB (Brookhaven Protein Data Bank).

[0053] Regiões reguladoras: o termo "região reguladora" refere-se a sequências de nucleotídeo que, quando ligadas de maneira funcional a uma sequência, influenciam a iniciação de transcrição ou iniciação de tradução ou terminação de transcrição da dita sequência e a taxa de ditos processos, e/ou estabilidade e/ou mobilidade de um produto de transcrição ou tradução. Como usado aqui, o termo "ligado de maneira funcional" refere-se ao posicionamento de uma região reguladora e da dita sequência para permitir a dita influência. As regiões reguladoras incluem, sem caráter limitativo, sequências de pro-

motor, sequências intensificadoras, elementos de resposta, sítios de reconhecimento de proteína, elementos induzíveis, sequências de ligação de proteína, regiões não traduzidas 5' e 3' (UTRs), sítios de início de transcrição, sequências de terminação, sequências de poliadenilação, e introns. As regiões reguladoras podem ser classificadas em duas categorias, promotoras e outras regiões reguladoras.

[0054] Sequência Reguladora: o termo "sequência reguladora", como usado no presente documento, refere-se a qualquer sequência de nucleotídeo que influencia a iniciação de transcrição ou tradução e taxa, ou estabilidade e/ou mobilidade de um produto de transcrição ou polipeptídeo. As sequências reguladoras incluem, porém sem caráter limitativo, promotores, elementos de controle de promotor, sequências de ligação de proteína, UTRs 5' e 3', sítios de início de transcrição, sequências de terminação, sequências de poliadenilação, introns, algumas sequências dentro das sequências de codificação de aminoácido como sinais secretórios, sítios de clivagem de protease, etc.

[0055] Promotores Específicos: No contexto do presente documento, "promotores específicos" se referem a um subconjunto de promotores que possuem uma alta preferência em modular os níveis de transcrição em um tecido específico, ou órgão ou célula e/ou em um tempo específico durante o desenvolvimento de um organismo. Por "alta preferência" entende-se ao menos 3 vezes, de preferência, 5 vezes, com mais preferência, ao menos 10 vezes, com ainda mais preferência, ao menos 20 vezes, 50 vezes ou 100 vezes de aumento nos níveis de transcrição sob a condição específica ao longo da transcrição sob qualquer outra condição de referência considerada. Exemplos típicos de promoto-

res específicos temporais e/ou de tecido ou órgão de origem vegetal que podem ser usados com os polinucleotídeos do presente documento são: PTA29, um promotor que é capaz de conduzir a transcrição de gene especificamente em tapete e apenas durante o desenvolvimento de antera (Koltonow et al. (1990) Plant Cell 2:1201; RCc2 e RCc3, os promotores que conduzem a transcrição de gene raiz-específica em arroz (Xu et al. (1995) Plant Mol. Biol. 27:237; TobRB27, um promotor raiz-específico de tabaco (Yamamoto et al. (1991) Plant Cell 3:371). Exemplos de promotores tecido-específicos sob controle de desenvolvimento incluem promotores que inicia, a transcrição apenas em alguns tecidos ou órgãos, como raiz, óvulo, fruto, sementes, ou flores. Outros promotores específicos incluem aqueles de genes que codificam proteínas de armazenamento de sementes ou a proteína de membrana de corpo de lipídeo, oleosina. Poucos promotores raiz-específicos são observados acima. Vide também "Transcrição Preferencial".

[0056] Estringência: "Estringência", como usado aqui é uma função de comprimento de sonda de molécula de ácido nucleico, composição de sonda de molécula de ácido nucleico (teor G + C), concentração de sal, concentração de solvente orgânico e temperatura de hibridização e/ou condições de lavagem. A estringência é tipicamente medida pelo parâmetro T_m , que é a temperatura na qual 50% das moléculas de ácido nucleico complementares no ensaio de hibridização são hibridizados, em termos de um diferencial de temperatura de T_m . Condições de alta estringência são aquelas que fornecem uma condição de $T_m - 5^\circ\text{C}$ a $T_m - 10^\circ\text{C}$. Condições de estringência média ou moderada são aquelas que fornecem $T_m - 20^\circ\text{C}$ a $T_m - 29^\circ\text{C}$. Condições de

baixa estrringência são aquelas que fornecem uma condição de T_m - 40°C a T_m - 48°C. A relação entre condições de hibridização e T_m (in °C) é expressa na equação matemática:

$$T_m = 81,5 - 16,6(\log_{10}[\text{Na}^+]) + 0,41(\%G+C) - (600/N) \quad (\text{I})$$

onde N é o número de nucleotídeos da sonda de molécula de ácido nucleico. Essa equação funciona bem para sondas de 14 a 70 nucleotídeos de comprimento que são idênticas à sequência alvo. A equação abaixo, para T_m de híbridos de DNA-DNA, é útil para sondas que possuem comprimentos na faixa de 50 a mais de 500 nucleotídeos, e para condições que incluem um solvente orgânico (formamida):

$$T_m = 81,5 + 16,6 \log \{ [\text{Na}^+] / (1 + 0,7[\text{Na}^+]) \} + 0,41(\%G+C) - 500/L - 0,63(\% \text{ de formamida}) \quad (\text{II})$$

onde L representa o número de nucleotídeos na sonda no híbrido (21). A T_m da Equação II é afetada pela natureza do híbrido: para híbridos de DNA-RNA, T_m é 10 a 15°C mais alta que a calculada; para híbridos de RNA-RNA, T_m é 20 a 25°C mais alta. Devido ao fato de a T_m diminuir cerca de 1°C para cada 1% de redução em homologia quando uma sonda longa for usada (Frischauf et al. (1983) J. Mol Biol, 170: 827-842), as condições de estrringência podem ser ajustadas para favorecer a detecção de genes idênticos ou elementos da família relacionados.

[0057] A equação II é derivada supondo-se que a reação esteja em equilíbrio. Portanto, as hibridizações de acordo com o presente documento são mais preferivelmente realizadas sob condições de excesso de sonda e concedendo tempo suficiente para atingir o equilíbrio. O tempo exigido para atingir o equilíbrio pode ser reduzido utilizando um tampão de hibridização que inclui um acelerador de hibridização como sulfato de dex-

trano ou outro polímero de alto volume.

[0058] A estringência pode ser controlada durante a reação de hibridização, ou após a hibridização ocorrer, alterando as condições de sal e temperatura das soluções de lavagem. As fórmulas mostradas acima são igualmente válidas quando usadas para computar a estringência de uma solução de lavagem. As estringências de solução de lavagem preferidas estão dentro das faixas apresentadas acima; alta estringência é 5 a 8°C abaixo da T_m , estringência média ou moderada é 26 a 29°C abaixo da T_m e baixa estringência é 45 a 48°C abaixo da T_m .

[0059] T0: o termo "T0" refere-se a toda a planta, explante ou tecido caloso, inoculado com o meio de transformação.

[0060] T1: o termo T1 refere-se à progênie da planta T0, no caso de transformação total da planta, ou uma plântula regenerada no caso de explante ou transformação de tecido caloso.

[0061] T2: o termo T2 refere-se à progênie da planta T1. A progênie de T2 é o resultado de autofertilização ou polinização cruzada de uma planta T1.

[0062] T3: o termo T3 refere-se a uma segunda progênie de geração da planta que é o resultado direto de um experimento de transformação. A progênie T3 é o resultado de autofertilização ou polinização cruzada de uma planta T2.

[0063] TATA de iniciação: "TATA de iniciação" deve significar a distância, em número de nucleotídeos, entre o motivo TATA primário e o início da transcrição.

[0064] Planta transgênica: uma "planta transgênica" é uma planta que possui uma ou mais células vegetais que contêm ao menos um polinucleotídeo exógeno introduzido por métodos de ácido nucleico recombinantes.

[0065] Sítio de início de tradução: no contexto do presente documento, um "sítio de início de tradução" é geralmente um ATG ou AUG em uma transcrição, geralmente o primeiro ATG ou AUG. Uma única proteína que codifica a transcrição, entretanto, pode possuir múltiplos sítios de início de tradução.

[0066] Sítio de início de transcrição: "Sítio de início de transcrição" é usado no presente documento para descrever o ponto no qual a transcrição é iniciada. Esse ponto é tipicamente localizado em torno de 25 nucleotídeos a jusante de um sítio de ligação de TFIID, como uma caixa TATA. A transcrição pode iniciar ao menos um ou mais sítios dentro do gene, e um único polinucleotídeo que será transcrito pode possuir múltiplos sítios de início de tradução, alguns desses podem ser específicos para transcrição em um tipo de célula ou tecido ou órgão particular. "+1" é apresentado com relação ao sítio de início de transcrição e indica o primeiro nucleotídeo em uma transcrição.

[0067] Região de Ativação A Montante (UAR): Uma "Região de Ativação A Montante" ou "UAR" é uma posição ou orientação dependente do elemento de ácido nucleico que basicamente conduz a regulação de tecido, órgão, tipo de célula, ou ambiente do nível de transcrição geralmente afetando a taxa de iniciação de transcrição. Os elementos de DNA correspondentes que possuem um efeito inibidor de transcrição são denominados aqui "Regiões Repressoras A Montante" ou "URR"s. A atividade essencial desse s elementos é ligar um fator de proteína. Tal ligação pode ser avaliada por métodos descritos abaixo. A ligação é tipicamente realizada de maneira que influencie o nível de estado estacionário de uma transcrição em uma célula ou extrato

de transcrição in vitro.

[0068] Região não traduzida (UTR): Região não traduzida (UTR): Uma "UTR" é qualquer série contígua de bases de nucleotídeo que é transcrita, porém não é traduzida. Uma UTR 5' se situa entre o sítio de início da transcrição e o códon de iniciação de tradução (códon ATG) e inclui o nucleotídeo +1 do RNA mensageiro ou cDNA. Alternativamente, a UTR 5' pode consistir em elementos de DNA sinteticamente produzidos ou manipulados. Uma "UTR 5' de planta" pode ser uma UTR 5' nativa ou não nativa que é funcional em células vegetais. Uma UTR 5' pode ser usada como um elemento regulador 5' para modular a expressão de uma molécula de polinucleotídeo passível de transcrição ligada de maneira funcional. Por exemplo, as UTRs 5' derivadas de genes de proteína de choque térmico foram demonstradas para aumentar a expressão de genes em plantas (vide, por exemplo, Patente nº U.S. 5.659.122 e Patente nº U.S. 5.362.865, sendo que todas essas estão incorporadas a título de referência). Exemplos de UTRs 5' incluem aqueles mostrados na SEQ ID nos:1-7, 9-12, 16-18. Uma UTR 3' se situa entre o códon de terminação de tradução e o final da transcrição. As UTRs podem possuir funções particulares como aumentar a estabilidade de mensagem de mRNA ou atenuação de tradução. Exemplos de UTRs 3' incluem, porém sem caráter limitativo, sinais de poliadenilação e sequências de terminação de transcrição.

2. Uso Dos Promotores

[0069] Os promotores e elementos de controle de promotor desse documento são capazes de modular a transcrição. Tais promotores e elementos de controle de promotor podem ser usados em combinação com fragmentos de promotor nativos ou heterólogos,

elementos de controle ou outras sequências reguladoras para modular a transcrição e/ou tradução.

[0070] Especificamente, os promotores e elementos de controle do documento podem ser usados para modular a transcrição de um polinucleotídeo desejado, que inclui sem caráter limitativo:

antissenso;

ribozimas;

sequências de codificação; ou

fragmentos dessas.

[0071] O promotor também pode modular a transcrição em um genoma hospedeiro em cis- ou em trans-.

[0072] Em um organismo, como uma planta, os promotores e elementos de controle de promotor do presente documento são úteis para produzir a transcrição preferencial que resulta em um padrão desejado de níveis de transcrição em células, tecidos, ou órgãos particulares, ou sob condições particulares.

3. Identificar e Isolar as Sequências Promotoras

[0073] Os promotores e elementos de controle de promotor do presente documento são apresentados nos Relatórios de Promotores das tabelas e foram identificados a partir de *Sorghum bicolor*. O isolamento de bibliotecas genômicas de polinucleotídeos que compreendem as sequências dos promotores e elementos de controle de promotor do presente documento é possível utilizando técnicas conhecidas. Por exemplo, a reação em cadeia da polimerase (PCR) pode amplificar os polinucleotídeos desejados utilizando iniciadores desenhados a partir de SEQ ID nos: 1 a 18. As bibliotecas de polinucleotídeo que compreendem as sequências genômicas podem ser construídas de acordo com Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd

Ed. (1989) Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY), por exemplo.

[0074] Outros procedimentos para isolar os polinucleotídeos que compreendem as sequências de promotor do documento incluem, sem caráter limitativo, tail-PCR, e amplificação rápida de 5' de terminais livres de cDNA (RACE). Vide, para tail-PCR, por exemplo, Liu et al. (1995) Plant J 8(3): 457-463; Liu et al. (1995) Genomics 25: 674-681; Liu et al. (1993) Nucl. Acids Res. 21(14): 3333-3334; and Zoe et al. (1999) BioTechniques 27(2): 240-248; for RACE, vide, por exemplo, PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, (1990) Academic Press, Inc.

[0075] Ademais, os promotores e elementos de controle de promotor descritos nos Relatórios de Promotores nas tabelas (SEQ. ID. nos 1 a 18) podem ser quimicamente sintetizados de acordo com técnicas em uso comum. Vide, por exemplo, Beaucage et al. (1981) Tet. Lett. 22: 1859 e Patente n°U.S. 4.668.777. Tal síntese química de oligonucleotídeo pode ser realizada utilizando dispositivos comercialmente disponíveis, como, sintetizador de DNA Biosearch 4600 ou 8600, junto à Applied Biosystems, uma divisão de Perkin-Elmer Corp., Foster City, California, USA; e Expedite junto à Perceptive Biosystems, Framingham, Massachusetts, USA.

[0076] Os promotores que exibem identidade de sequência de nucleotídeo com SEQ. ID. nos 1 a 18 estão incluídos no presente documento. Em particular, os promotores desse documento podem exibir ao menos 80% de identidade de sequência (por exemplo, ao menos 85%, ao menos 90%, ao menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência) comparada com a sequência de nucleotídeo apresentada em qualquer uma entre SEQ. ID. nos

1 a 18. A identidade de sequência pode ser calculada pelos algoritmos e programas de computador descritos acima. Ademais, os promotores descritos aqui também podem ser um fragmento de qualquer uma entre SEQ ID n°:1 a 18 desde que o fragmento mantenha a capacidade de conduzir a transcrição de um polinucleotídeo. Os fragmentos adequados podem ser, por exemplo, ao menos 80% (por exemplo, ao menos 85, 90, 95, 96, 97, 98, ou 99%) do comprimento da sequência de nucleotídeo apresentada em qualquer uma entre SEQ ID nos:1 a 18. Por exemplo, uma região reguladora pode ser um fragmento de qualquer uma entre SEQ ID nos: 1 a 18 que possui 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, ou 2400 nucleotídeos de comprimento mantendo a capacidade de conduzir a expressão de um ácido nucleico ligado de maneira funcional.

[0077] Uma região reguladora pode conter motivos reguladores conservados. Tal região reguladora pode possuir uma sequência de nucleotídeo apresentada em qualquer uma entre SEQ ID nos:1 a 18, ou uma região reguladora que possui uma sequência de nucleotídeo que se desvia daquela apresentada na SEQ ID nos: 1 a 18, enquanto mantém a capacidade de conduzir a expressão de um ácido nucleico ligado de maneira funcional. Por exemplo, uma região reguladora pode conter uma caixa CAAT ou uma caixa TATA. Uma caixa CAAT é uma sequência de nucleotídeo conservada envolvida na iniciação de transcrição. Uma caixa CAAT funciona como um sítio de reconhecimento e ligação de proteínas reguladoras denominadas fatores de transcrição. Uma caixa TATA é outra sequência de nucleotídeo conservada envolvida na iniciação de transcrição. Uma caixa TATA parece ser importante para de-

terminar precisamente a posição na qual a transcrição é iniciada.

[0078] Outros motivos reguladores conservados podem ser identificados utilizando métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, uma região reguladora pode ser analisada utilizando o programa PLACE (PLAnt Cis-acting regulatory DNA Elements) Web Signal Scan na Web em dna.affrc.go.jp/PLACE/signalscan.html. Vide, Higo et al., *Nucleic Acids Research*, 27(1):297-300 (1999); e Prestridge, *CABIOS*, 7:203-206 (1991). Exemplos de motivos reguladores conservados podem ser encontrados no banco de dados PLACE na Web em dna.affrc.go.jp/PLACE/. Vide, Higo et al., *supra*.

[0079] Uma região reguladora que possui uma sequência de nucleotídeo apresentada em qualquer uma entre SEQ ID nos: 1 a 18, ou uma região reguladora que possui uma sequência de nucleotídeo que se desvia daquela apresentada na SEQ ID nos:1 a 18, enquanto mantém a capacidade de conduzir a expressão de um ácido nucleico ligado de maneira funcional, pode conter um ou mais motivos reguladores conservados, que podem ser encontrados no banco de dados PLACE. Por exemplo, uma região reguladora pode conter um motivo ABRE que possui a sequência consenso ACGTG. Vide, Simpson et al., *Plant J.* 33: 259-270 (2003); Nakashima et al., *Plant Mol Biol.* 60:51-68 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo ABRETRD22 que possui a sequência consenso RYACGTGGYR (SEQ ID nº:19). Vide, Iwasaki et al., *Mol Gen Genet* 247:391-398 (1995); Bray, *Trends Plant Sci.* 2:48-54 (1997); Busk and Pages, *Plant Mol Biol* 37:425-435 (1998). Uma região reguladora pode conter um motivo ABRERATCAL que possui a sequência consenso MACGYGB. Vide, Kaplan et al.,

Plant Cell. 18:2733-2748 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo ABREZMRAB28 que possui a sequência consenso CCACGTGG. Vide, Suzuki et al., Plant Physiol. 139: 437-447 (2005); Busk and Pages, Plant Mol Biol 37:425-435 (1998); Alonso-Blanco et al., Plant Physiology 139: 1304-1312 (2005); Guan et al., Plant J 22: 87-95 (2000); Benedict et al., Plant Cell Environ. 29:1259-1272 (2006); Jaglo-Ottosen et al., Science 1998 3: 104-106 (1998); e Gilmour et al., Plant J 16: 433-442 (1998). Uma região reguladora pode conter um motivo ACGTABREMOTIFA2OSEM que possui a sequência consenso ACGTGKC. Vide, Hattori et al., Plant Cell Physiol 43: 136-140 (2002); e Narusaka et al., Plant J. 34: 137-148 (2003). Uma região reguladora pode conter um motivo ACIIPVPAL2 que possui a sequência consenso CCACCAACCCCC (SEQ ID nº:20). Vide, Patzlaff et al., Plant Mol Biol. 53:597-608 (2003); Hatton et al., Plant J 7:859-876 (1995); e Gomez-Maldonado et al., Plant J. 39:513-526 (2004). Uma região reguladora pode conter um motivo AGCBOXNPGLB que possui a sequência consenso TATTCT. Vide, Hart et al., Plant Mol Biol 21:121-131 (1993); Fujimoto et al., Plant Cell 12:393-404 (2000); Sato et al., Plant Cell Physiol 37: 249-255 (1996); Ohme-Takagi et al., Plant Cell Physiol 41: 1187-1192 (2000); Rushton et al., Plant Cell 14: 749-762 (2002); Cheong et al., Plant Physiol. 132: 1961-1972 (2003); e Zhang et al., Plant. 220: 262-270 (2004). Uma região reguladora pode conter um motivo AMYBOX1 que possui a sequência consenso TAACARA. Vide, Huang et al., Plant Mol Biol 14:655-668 (1990). Uma região reguladora pode conter um motivo ARE1 que possui a sequência consenso RGTGACNNNGC (SEQ ID nº:21). Vide, Rushmore et al., J Biol Chem 266:11632-11639 (1991). Uma regi-

ão reguladora pode conter um motivo ATHB1ATCONSENSUS que possui a sequência consenso CAATWATTG. Vide, Sessa et al., EMBO J 12:3507-3517 (1993). Uma região reguladora pode conter um motivo ATHB6COREAT que possui a sequência consenso CAATTATTA. Vide, Himmelbach et al., EMBO J. 21:3029-3038 (2002). Uma região reguladora pode conter um motivo AUXRETGA2GMGH3 que possui a sequência consenso TGACGTAA. Vide, Liu et al., Plant Cell 6:645-657 (1994); Liu et al., Plant Physiol 115:397-407 (1997); e Guilfoyle et al., Plant Physiol 118: 341-347 (1998). Uma região reguladora pode conter um motivo BOXIIPCCHS que possui a sequência consenso ACGTGGC. Vide, Block et al., Proc Natl Acad Sci USA 87:5387-5391 (1990); Terzaghi and Cashmore, Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 46:445-474 (1995); e Nakashima et al., Plant Mol Biol. 60: 51-68 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo CAATBOX1 que possui a sequência consenso CCAAT. Vide, Shirsat et al., Mol Gen Genet 215:326-331 (1989). Uma região reguladora pode conter um motivo CACGCAATGMGH3 que possui a sequência consenso CACGCAAT. Vide, Ulmasov et al., Plant Cell 7: 1611-1623 (1995). Uma região reguladora pode conter um motivo CARGCW8GAT que possui a sequência consenso CWWWWWWWWG (SEQ ID n°:22). Vide, Tang and Perry, J Biol Chem.278:28154-28159 (2003); Folter and Angenent, Trends Plant Sci. 11:224-231 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo CCA1ATLHCB1 que possui a sequência consenso AAMAATCT. Vide, Wang et al., Plant Cell 9:491-507 (1997). Uma região reguladora pode conter um motivo CEREGLU-BOX2PSLEGA que possui a sequência consenso TGAAAACT. Vide, Shirsat et al., supra. Uma região reguladora pode conter um motivo E2FAT que possui a sequência consenso TYTCCCGCC. Vide,

Ramirez-Parra et al., Plant J. 33: 801-811 (2003). Uma região reguladora pode conter um motivo E2FCONSENSUS que possui a sequência consenso WTTSSCSS. Vide, Vandepoele et al., Plant Physiol. 139: 316-328 (2005). Uma região reguladora pode conter um motivo ERELEE4 que possui a sequência consenso AWTTCAAA. Vide, Itzhaki et al., Proc Natl Acad Sci USA 91:8925-8929 (1994); Montgomery et al., Proc Natl Acad Sci USA 90:5939-5943 (1993); Tapia et al., Plant Physiol. 138:2075-2086 (2005); e Rawat et al., Plant Mol Biol. 57: 629-643 (2005). Uma região reguladora pode conter um motivo GADOWNAT que possui a sequência consenso ACGTGTC. Vide, Ogawa et al., Plant Cell 15: 1591-1604 (2003); e Nakashima et al., Plant Mol Biol. 60: 51-68 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo GARE1OSREP1 que possui a sequência consenso TAACAGA. Vide, Sutoh and Yamauchi, Plant J. 34: 636-645 (2003). Uma região reguladora pode conter um motivo GAREAT que possui a sequência consenso TAACAAR. Vide, Ogawa et al., Plant Cell 15: 1591-1604 (2003). Uma região reguladora pode conter um motivo IBOXCORENT que possui a sequência consenso GATAAGR. Vide, Martinez-Hernandez et al., Plant Physiol. 128:1223-1233 (2002). Uma região reguladora pode conter um motivo INRNTPSADB que possui a sequência consenso YTCANTYY. Vide, Nakamura et al., Plant J 29: 1-10 (2002). Uma região reguladora pode conter um motivo LRENPCABE que possui a sequência consenso ACGTGGCA. Vide, Castresana et al., EMBO J 7:1929-1936 (1988). Uma região reguladora pode conter um motivo MARTBOX que possui a sequência consenso TTWTWTTWTT (SEQ ID nº:23). Vide, Gasser et al., Int Rev Cyto 119:57-96 (1989). Uma região reguladora pode conter um motivo MYBGAHV que possui a sequência consenso TAACAAA. Vide,

Gubler et al., *Plant Cell* 7:1879-1891 (1995); Morita et al., *FEBS Lett* 423:81-85 (1998); Gubler et al., *Plant J.* 17:1-9(1999). Uma região reguladora pode conter um motivo MYBPLANT que possui a sequência consenso MACCWAMC. Vide, Sablowski et al., *EMBO J* 13:128-137 (1994); Tamagnone et al., *Plant Cell* 10: 135-154 (1998). Uma região reguladora pode conter um motivo NRRBNEXTA que possui a sequência consenso TAGTGGAT. Vide, Elliott and Shirsat, *Plant Mol Biol* 37:675-687 (1998). Uma região reguladora pode conter um motivo PlBS que possui a sequência consenso GNATATNC. Vide, Rubio et al., *Genes Dev.* 15: 2122-2133.(2001); Shunmann et al., *J Exp Bot.* 55: 855-865. (2004); e Shunmann et al., *Plant Physiol.* 136: 4205-4214 (2004). Uma região reguladora pode conter um motivo PRECONSCRHSP70A que possui a sequência consenso SCGAYNRNNNNNNNNNNNNNNNNHD (SEQ ID n°:24). Vide, von Gromoff et al., *Ácido nucleicos Res.* 34:4767-4779 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo ROOTMOTIFTAPOX1 que possui a sequência consenso ATATT. Vide, Elmayan and Tepfer, *Transgenic Res* 4:388-396 (1995). Uma região reguladora pode conter um motivo RYREPEATGMGY2 que possui a sequência consenso CATGCAT. Vide, Lelievre et al., *Plant Physiol* 98:387-391 (1992). Uma região reguladora pode conter um motivo RYREPEATVFLEB4 que possui a sequência consenso CATGCATG. Vide, Curaba et al., *Plant Physiol.* 136: 3660-3669 (2004); and Nag et al., *Plant Mol Biol.* 59: 821-838 (2005). Uma região reguladora pode conter um motivo SBOXATRBCS que possui a sequência consenso CACCTCCA. Vide, Acevedo-Hernandez et al., *Plant J.* 43:506-519 (2005). Uma região reguladora pode conter um motivo SP8BFIBSP8BIB que possui a sequência consenso TACTATT. Vide, Ishiguro and Nakamura,

Plant Mol Biol 18:97-108 (1992); Ishiguro and Nakamura, Mol Gen Genet 244: 563-571 (1994). Uma região reguladora pode conter um motivo TATABOX1, TATABOX2, ou TATABOX4 que possui a sequência consenso CTATAAATAC (SEQ ID n°:25), TATAAAT, e TATA-TAA, respectivamente. Vide, Grace et al., J Biol Chem. 279:8102-8110 (2004); e Shirsat et al., supra. Uma região reguladora pode conter um motivo TATABOXOSPAL que possui a sequência consenso TATTTAA. Vide, Zhu et al., Plant Cell 14: 795-803 (2002). Uma região reguladora pode conter um motivo TATCCAYMOTIFOSRAMY3D que possui a sequência consenso TATCCAY. Vide, Toyofuku et al., FEBS Lett 428:275-280 (1998); e Rubio-Somoza et al., Plant J. 47: 269-281 (2006). Uma região reguladora pode conter um motivo TE2F2NTPCNA que possui a sequência consenso ATTCCCGC. Vide, Kosugi and Ohashi, Plant J 29: 45-59 (2002). Uma região reguladora pode conter um motivo TRANSINIT-MONOCOTS que possui a sequência consenso RMNAUGGC. Vide, Joshi et al., Plant Mol Biol 35:993-1001 (1997). Uma região reguladora pode conter um motivo UP2ATMSD que possui a sequência consenso AAACCCTA. Vide, Tatematsu et al., Plant Physiol. 138: 757-766 (2005). Uma região reguladora pode conter um motivo UPRMOTIFIIAT que possui a sequência consenso CCNNNNNNNNNNNNCCACG (SEQ ID n°:26). Vide, Martinez and Chrispeels, Plant Cell. 15:561-576 (2003); e Oh et al., Biochem Biophys Res Commun. 301:225-230 (2003).

[0080] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:1 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo GARE1OSREP1, ACIIPVPAL2, ABRERATCAL, e TATABOX. O

motivo GARE1OSREP1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 80 a 86 ou nucleotídeos 122 a 128 da SEQ ID n°:1 ou um motivo GARE1OSREP1 heterólogo àquele na SEQ ID n°:1. O motivo ACIIPVPAL2 pode ser o motivo nos nucleotídeos 201 a 212 da SEQ ID n°:1 ou um motivo ACIIPVPAL2 heterólogo àquele na SEQ ID n°:1. O motivo ABRERATCAL pode ser o motivo nos nucleotídeos 327 a 333 da SEQ ID n°:1 ou um motivo ABRERATCAL heterólogo àquele na SEQ ID n°:1. O TATABOX pode ser o motivo nos nucleotídeos 461 a 467 da SEQ ID n°:1 ou um TATABOX heterólogo àquele na SEQ ID n°:1. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 501 a 561 ou 1069 a 1100 da SEQ ID n°:1 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0081] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:2 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo AUXRETGA2GMGH3, ACGTABREMOTIFA2OSEM, TATCCAYMOTIFOSRAMY3D, AMYBOX1, e GAREAT. O motivo AUXRETGA2GMGH3 pode ser o motivo nos nucleotídeos 24 a 32 da SEQ ID n°:2 ou um motivo AUXRETGA2GMGH3 heterólogo àquele na SEQ ID n°:2. O motivo ACGTABREMOTIFA2OSEM pode ser o motivo nos nucleotídeos 24 a 30 da SEQ ID n°:2 ou um motivo ACGTABREMOTIFA2OSEM heterólogo àquele na SEQ ID n°:2. O motivo TATCCAYMOTIFOSRAMY3D pode ser o motivo nos nucleotídeos 52 a 58 da SEQ ID n°:2 ou um motivo TATCCAYMOTIFOSRAMY3D heterólogo àquele na SEQ ID n°:2. O motivo AMYBOX1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 135 a 141 da SEQ ID n°:2 ou um motivo AMYBOX1 heterólogo àquele na SEQ ID n°:2. O motivo GAREAT pode ser o motivo nos nucleotí-

deos 135 a 141 da SEQ ID nº:2 ou um motivo GAREAT heterólogo àquele na SEQ ID nº:1. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 140 a 219 da SEQ ID nº:2 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0082] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:3 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo ARE1, SBOXATRBCS, TE2F2NTPCNA, GADOWNAT, ACGTABREMOTIFA2OSEM, e TATABOX. O motivo ARE1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 124 a 134 da SEQ ID nº:3 ou um motivo ARE1 heterólogo àquele na SEQ ID nº:3. O motivo SBOXATRBCS pode ser o motivo nos nucleotídeos 202 a 209 da SEQ ID nº:3 ou um motivo SBOXATRBCS heterólogo àquele na SEQ ID nº:3. O motivo TE2F2NTPCNA pode ser o motivo nos nucleotídeos 240 a 247 da SEQ ID nº:3 ou um motivo TE2F2NTPCNA heterólogo àquele na SEQ ID nº:3. O motivo GADOWNAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 308 a 314 da SEQ ID nº:3 ou um motivo GADOWNAT heterólogo àquele na SEQ ID nº:3. O motivo ACGTABREMOTIFA2OSEM pode ser o motivo nos nucleotídeos 308 a 314 da SEQ ID nº:3 ou um motivo ACGTABREMOTIFA2OSEM heterólogo àquele na SEQ ID nº:3. O motivo TATABOX pode ser o motivo nos nucleotídeos 280 a 286 da SEQ ID nº:3 ou um motivo TATABOX àquele na SEQ ID nº:3. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 311 a 400 da SEQ ID nº:3 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0083] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de

sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:4 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo ROOTMOTIFTAPOX1, RYREPEATVFLEB4, e TATABOX. O motivo ROOTMOTIFTAPOX1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 179 a 183 ou 182 a 186 da SEQ ID n°:4 ou um motivo ROOTMOTIFTAPOX1 heterólogo àqueles na SEQ ID n°:4. O motivo RYREPEATVFLEB4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 225 a 232 ou 229 a 236 da SEQ ID n°:4 ou um motivo RYREPEATVFLEB4 heterólogo àqueles na SEQ ID n°:4. O TATABOX pode ser o motivo nos nucleotídeos 292 to 299 da SEQ ID n°:4 ou um motivo TATABOX heterólogo àquele na SEQ ID n°:4. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 324 a 420 da SEQ ID n°:4 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0084] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:5 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo CARGCW8GAT, INRNTPSADB, e TATABOX2motif. O motivo CARGCW8GAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 415 to 424 da SEQ ID n°:5 ou um motivo CARGCW8GAT heterólogo àquele na SEQ ID n°:5. O motivo INRNTPSADB pode ser o motivo nos nucleotídeos 580 a 587 da SEQ ID n°:5 ou um motivo INRNTPSADB heterólogo àquele na SEQ ID n°:5. O motivo TATABOX2 pode ser o motivo nos nucleotídeos 417 to 423 da SEQ ID n°:5 ou um motivo TATABOX2 heterólogo àquele na SEQ ID n°:5. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 630 a 759 da SEQ ID n°:5 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0085] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:6 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo MARTBOX, RYREPEATVFLEB4, NRRBNEXTA, TRANSINITMONOCOTS, TATABOXOSPAL, e P1BS. O motivo MARTBOX pode ser o motivo nos nucleotídeos 453 to 462 da SEQ ID n°:6 ou um motivo MARTBOX heterólogo àquele na SEQ ID n°:6. O motivo RYREPEATVFLEB4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 480 a 487 ou 832 a 839 da SEQ ID n°:6 ou um motivo RYREPEATVFLEB4 heterólogo àqueles na SEQ ID n°:6. O motivo NRRBNEXTA pode ser o motivo nos nucleotídeos 693 a 700 da SEQ ID n°:6 ou um motivo NRRBNEXTA heterólogo àquele na SEQ ID n°:6. O motivo TRANSINITMONOCOTS pode ser o motivo nos nucleotídeos 853 a 860 da SEQ ID n°:6 ou um motivo TRANSINITMONOCOTS heterólogo àquele na SEQ ID n°:6. O motivo TATABOXOSPAL pode ser o motivo nos nucleotídeos 884 a 890 da SEQ ID n°:6 ou um motivo TATABOXOSPAL heterólogo àquele na SEQ ID n°:6. O motivo P1BS pode ser o motivo nos nucleotídeos 907 a 914 da SEQ ID n°:6 ou um motivo P1BS heterólogo àquele na SEQ ID n°:6. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 914 a 1020 da SEQ ID n°:6 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0086] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:7 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo CARGCW8GAT, P1BS, e TATABOX. O motivo CARGCW8GAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 294 a 303 ou 394 a

403 da SEQ ID nº:7 ou um motivo CARGCW8GAT heterólogo àqueles na SEQ ID nº:7. O motivo PlBS pode ser o motivo nos nucleotídeos 666 a 673 da SEQ ID nº:7 ou um motivo PlBS heterólogo àquele na SEQ ID nº:7. O motivo TATABOX pode ser o motivo nos nucleotídeos 883 a 891 da SEQ ID nº:7 ou um motivo TATABOX heterólogo àquele na SEQ ID nº:7. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 917 a 1075 da SEQ ID nº:7 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0087] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:8 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo ROOTMOTIFTAPOX1, ATHB6COREAT, TATABOX2, e UP2ATMSD. O motivo ROOTMOTIFTAPOX1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 120 a 124, 392 a 396, ou 522 a 526 da SEQ ID nº:8 ou um motivo ROOTMOTIFTAPOX1 heterólogo àqueles na SEQ ID nº:8. O motivo ATHB6COREAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 779 a 787 da SEQ ID nº:8 ou um motivo ATHB6COREAT heterólogo àquele na SEQ ID nº:8. O motivo TATABOX2 pode ser o motivo nos nucleotídeos 813 a 819 da SEQ ID nº:8 ou um motivo TATABOX2 heterólogo àquele na SEQ ID nº:8. O motivo UP2ATMSD pode ser o motivo nos nucleotídeos 951 a 958 da SEQ ID nº:8 ou um motivo UP2ATMSD heterólogo àquele na SEQ ID nº:8. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'.

[0088] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:9 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico

contém um motivo PRECONSCRHSP70A, IBOXCORENT, AGCBOXNPGLB, UP2ATMSD, e TATABOX4. O motivo PRECONSCRHSP70A pode ser o motivo nos nucleotídeos 22 a 45, 38 a 61, ou 60 a 83 da SEQ ID nº:9 ou um motivo PRECONSCRHSP70A heterólogo àqueles na SEQ ID nº:9. O motivo IBOXCORENT pode ser o motivo nos nucleotídeos 153 a 159 da SEQ ID nº:9 ou um motivo IBOXCORENT heterólogo àquele na SEQ ID nº:9. O motivo AGCBOXNPGLB pode ser o motivo nos nucleotídeos 216 a 222 ou 306 a 312 da SEQ ID nº:9 ou um motivo AGCBOXNPGLB heterólogo àqueles na SEQ ID nº:9. O motivo UP2ATMSD pode ser o motivo nos nucleotídeos 306 a 312 da SEQ ID nº:9 ou um motivo UP2ATMSD heterólogo àquele na SEQ ID nº:9. O motivo TATABOX4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 359 a 365 da SEQ ID nº:9 ou um motivo TATABOX4 heterólogo àquele na SEQ ID nº:9. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 390 a 1428 da SEQ ID nº:9 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0089] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:10 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo IBOXCORENT, ERELEE4, ABREATRD22, P1BS, e TATABOX. O motivo IBOXCORENT pode ser o motivo nos nucleotídeos 1472 a 1478 da SEQ ID nº:10 ou um motivo IBOXCORENT heterólogo àquele na SEQ ID nº:10. O motivo ERELEE4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 1565 a 1572 ou 2270 a 2277 da SEQ ID nº:10 ou um motivo ERELEE4 heterólogo àqueles na SEQ ID nº:10. O motivo ABREATRD22 pode ser o motivo nos nucleotídeos 2193 a 2202 da SEQ ID nº:10 ou um motivo ABREATRD22 heterólogo àquele na SEQ

ID nº:10. O motivo P1BS pode ser o motivo nos nucleotídeos 2353 a 2360 da SEQ ID nº:10 ou um motivo P1BS heterólogo àquele na SEQ ID nº:10. O motivo TATABOX pode ser o motivo nos nucleotídeos 2391 a 2396 da SEQ ID nº:10 ou um motivo TATABOX heterólogo àquele na SEQ ID nº:10. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 2426 a 2485 da SEQ ID nº:10 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0090] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:11 ou um fragmento dessa (por exemplo, um fragmento contendo os nucleotídeos 1 a 896 da SEQ ID nº:11), em que o ácido nucleico contém um motivo CACGCAATGMGH3 e UPRMOTIFIIAT. O motivo CACGCAATGMGH3 pode ser o motivo nos nucleotídeos 716 a 723 da SEQ ID nº:11 ou um motivo CACGCAATGMGH3 heterólogo àquele na SEQ ID nº:11. O motivo UPRMOTIFIIAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 770 a 788 da SEQ ID nº:11 ou um motivo UPRMOTIFIIAT heterólogo àquele na SEQ ID nº:11. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 837 a 896 da SEQ ID nº:11 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0091] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:12 ou um fragmento dessa (por exemplo, um fragmento contendo os nucleotídeos 501 a 2000 da SEQ ID nº:12, referido aqui como PD3777), em que o ácido nucleico contém um motivo PRECONSCRHSP70A, ACIIPVPAL2, TATABOX4, e motivo CAAT-box. O

motivo PRECONSCRHSP70A pode ser o motivo nos nucleotídeos 535 a 558 da SEQ ID nº:12 ou um motivo PRECONSCRHSP70A heterólogo àquele na SEQ ID nº:12. O motivo ACIIPVPAL2 pode ser o motivo nos nucleotídeos 765 a 776 da SEQ ID nº:12 ou um motivo ACIIPVPAL2 heterólogo àquele na SEQ ID nº:12. O motivo TATABOX4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 954 a 960 da SEQ ID nº:12 ou um motivo TATABOX4 heterólogo àquele na SEQ ID nº:12. O motivo CAAT-box pode ser o motivo nos nucleotídeos 986 a 990 da SEQ ID nº:12 ou um motivo CAAT-box heterólogo àquele na SEQ ID nº:12. Em algumas modalidades, tal região reguladora também contém um motivo CAATBOX1 e UPRMOTIFIIAT. O motivo CAATBOX1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 11 a 15 da SEQ ID nº:12 ou um motivo CAATBOX1 heterólogo àquele na SEQ ID nº:12. O motivo UPRMOTIFIIAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 326 a 344 da SEQ ID nº:12 ou um motivo UPRMOTIFIIAT heterólogo àquele na SEQ ID nº:12. Em alguns casos, tais regiões reguladoras também podem incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 984 a 1043 da SEQ ID nº:12 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0092] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:13 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo RYREPEATVFLEB4, SPHCOREZMC1, e AGCBOXNPGLB. O motivo RYREPEATVFLEB4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 786 a 793 da SEQ ID nº:13 ou um motivo RYREPEATVFLEB4 heterólogo àquele na SEQ ID nº:13. O motivo SPHCOREZMC1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 787 a 795 da SEQ ID nº:13 ou um motivo SPHCOREZMC1 heterólogo àquele na SEQ ID nº:13. O motivo AGCBOXNPGLB

pode ser o motivo nos nucleotídeos 1082 a 1088 da SEQ ID n°:13 ou um motivo AGCBOXNPGLB heterólogo àquele na SEQ ID n°:13. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'.

[0093] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:14 ou um fragmento dessa (por exemplo, nucleotídeos 501 a 990 da SEQ ID n°:14), em que o ácido nucleico contém um motivo RYREPEATVFLEB4, P1BS, e TATABOX1. O motivo RYREPEATVFLEB4 pode ser o motivo nos nucleotídeos 707 a 713 ou 795 a 801 da SEQ ID n°:14 ou um motivo RYREPEATVFLEB4 heterólogo àqueles na SEQ ID n°:14. O motivo P1BS pode ser o motivo nos nucleotídeos 798 a 805 da SEQ ID n°:14 ou um motivo P1BS heterólogo àquele na SEQ ID n°:14. O motivo TATABOX1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 855 a 864 da SEQ ID n°:14 ou um motivo TATABOX1 heterólogo àquele na SEQ ID n°:14. Em algumas modalidades, tal região reguladora também inclui um motivo ROOTMOTIFTAPOX1. Por exemplo, o motivo ROOTMOTIFTAPOX1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 27 a 31, 77 a 81, ou 145 a 149 da SEQ ID n°:14 ou um motivo ROOTMOTIFTAPOX1 heterólogo àqueles na SEQ ID n°:14. Em alguns casos, tais regiões reguladoras também podem incluir uma UTR 5'.

[0094] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:15 ou um fragmento dessa (por exemplo, nucleotídeos 702 a 1500 da SEQ ID n°:15), em que o ácido nucleico contém um motivo SBOXATRBCS, MYBbindingsite, e ATHB1ATCONSENSUS. O moti-

vo SBOXATRBCS pode ser o motivo nos nucleotídeos 846 a 853 da SEQ ID n°:15 ou um motivo SBOXATRBCS heterólogo àqueles na SEQ ID n°:15. O motivo MYBbindingsite pode ser o motivo nos nucleotídeos 994 a 999 da SEQ ID n°:15 ou um motivo MYBbindingsite heterólogo àquele na SEQ ID n°:15. O motivo ATHB1ATCONSENSUS pode ser o motivo nos nucleotídeos 1315 a 1323 da SEQ ID n°:15 ou um motivo ATHB1ATCONSENSUS heterólogo àquele na SEQ ID n°:15. Em algumas modalidades, tal região reguladora também inclui um motivo ABRE, E2FAT, PRECONSCRHSP70A, MYBPLANT, e E2FCONSENSUS. Por exemplo, o motivo ABRE pode ser o motivo nos nucleotídeos 80 a 85 da SEQ ID n°:15 ou um motivo ABRE heterólogo àqueles na SEQ ID n°:15. O motivo E2FAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 139 a 147 da SEQ ID n°:15 ou um motivo E2FAT heterólogo àquele na SEQ ID n°:15. O motivo PRECONSCRHSP70A pode ser o motivo nos nucleotídeos 167 a 190 ou 297 a 320 da SEQ ID n°:15 ou um motivo PRECONSCRHSP70A heterólogo àqueles na SEQ ID n°:15. O motivo MYBPLANT pode ser o motivo nos nucleotídeos 269 a 276 da SEQ ID n°:15 ou um motivo MYBPLANT heterólogo àquele na SEQ ID n°:15. O motivo E2FCONSENSUS pode ser o motivo nos nucleotídeos 526 a 533 da SEQ ID n°:15 ou um motivo E2FCONSENSUS heterólogo àquele na SEQ ID n°:15. Em alguns casos, tais regiões reguladoras também podem incluir uma UTR 5'.

[0095] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:16 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo P1BS, ABREZMRAB28, SP8BFIBSP8BIB, CCA1ATLHCB1, BOXIIPCCHS, e LRENPCABE. O motivo P1BS pode ser o

motivo nos nucleotídeos 739 a 746 da SEQ ID n°:16 ou um motivo P1BS heterólogo àquele na SEQ ID n°:16. O motivo ABREZMRAB2 pode ser o motivo nos nucleotídeos 349 a 356 da SEQ ID n°:16 ou um motivo ABREZMRAB2 heterólogo àquele na SEQ ID n°:16. O motivo SP8BFIBSP8BIB pode ser o motivo nos nucleotídeos 1168 a 1174, 1347 a 1353, ou 1377 a 1383 da SEQ ID n°:16 ou um motivo SP8BFIBSP8BIB heterólogo àqueles na SEQ ID n°:16. O motivo CCA1ATLHCB1 pode ser o motivo nos nucleotídeos 1509 a 1516 da SEQ ID n°:16 ou um motivo CCA1ATLHCB1 heterólogo àquele na SEQ ID n°:16. O motivo BOXIIPCCHS pode ser o motivo nos nucleotídeos 1624 a 1630 da SEQ ID n°:16 ou um motivo BOXIIPCCHS heterólogo àquele na SEQ ID n°:16. O motivo LRENPCABE pode ser o motivo nos nucleotídeos 1624 a 1631 da SEQ ID n°:16 ou um motivo LRENPCABE heterólogo àquele na SEQ ID n°:16. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 1857 to 1989 da SEQ ID n°:16 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0096] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID n°:17 ou um fragmento dessa, em que o ácido nucleico contém um motivo P1BS, MYBGAHV, e CEREBLUBOX2PSLEGA. O motivo P1BS pode ser o motivo nos nucleotídeos 261 a 268 ou 716 a 723 da SEQ ID n°:17 ou um motivo P1BS heterólogo àquele na SEQ ID n°:17. O motivo MYBGAHV pode ser o motivo nos nucleotídeos 430 a 436 da SEQ ID n°:17 ou um motivo MYBGAHV heterólogo àquele na SEQ ID n°:17. O motivo CEREBLUBOX2PSLEGA pode ser o motivo nos nucleotídeos 484 a 491 da SEQ ID n°:17 ou um motivo CEREBLUBOX2PSLEGA heterólogo àquele na SEQ ID n°:17. Em alguns

casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 930 to 1000 da SEQ ID nº:17 ou pode ser uma UTR heteróloga.

[0097] Em algumas modalidades, uma região reguladora possui uma sequência de nucleotídeo com 90% ou mais de identidade de sequência com a sequência de polinucleotídeo apresentada na SEQ ID nº:18 ou um fragmento dessa (nucleotídeos 353 a 1248 da SEQ ID nº:18), em que o ácido nucleico contém um motivo CACGCAATGMGH3 ou UPRMOTIFIAT. Observa-se que os nucleotídeos 353 a 1500 da SEQ ID nº:18 são idênticos aos nucleotídeos 1 a 1148 da SEQ ID nº:11. O motivo CACGCAATGMGH3 pode ser o motivo nos nucleotídeos 1068 a 1075 da SEQ ID nº:18 ou um motivo CACGCAATGMGH3 heterólogo àquele na SEQ ID nº:18. O motivo UPRMOTIFIAT pode ser o motivo nos nucleotídeos 1122 a 1140 da SEQ ID nº:18 ou um motivo UPRMOTIFIAT heterólogo àquele na SEQ ID nº:18. Em alguns casos, tal região reguladora também pode incluir uma UTR 5'. A UTR 5' pode ser a UTR 5' nos nucleotídeos 1189 to 1248 da SEQ ID nº:18 ou pode ser uma UTR heteróloga.

4. Teste de Promotores

[0098] Os promotores do documento foram testados para atividade ao clonar a sequência em um vetor adequado, transformar as plantas com a construção e avaliar a expressão de gene marcador. As construções de DNA recombinante foram preparadas compreendendo as sequências de promotor do documento inseridas em um vetor adequado para transformação de células vegetais. A construção pode ser feita utilizando técnicas de DNA recombinante padrão (Sambrook et al. 1989) e pode ser introduzida na espécie de interesse por transformação mediada por *Agrobacterium* ou por outro meio de transformação como mencionado abai-

xo.

[0099] A cadeia principal de vetor pode ser qualquer uma entre aquelas típicas na técnica como plasmídeos, vírus, cromossomos artificiais, BACs, YACs e PACs e vetores da classe descrita por

(a) BAC: Shizuya et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 8794-8797; Hamilton et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 9975-9979;

(b)YAC: Burke et al. (1987) Science 236:806-812;

(c)PAC:Sternberg N. et al. (1990) Proc Natl Acad Sci U S A. 87(1):103-7;

(d)Vetores do tipo Ponte de Bactérias-Levedura: Bradshaw et al. (1995) Nucl Acids Res 23: 4850-4856;

(e)Vetores de Fago Lambda: Vetor de Substituição, por exemplo, Frischauf et al. (1983) J. Mol Biol 170: 827-842; ou Vetor de inserção, por exemplo, Huynh et al. (1985) In: Glover NM (ed) DNA Cloning: A practical Approach, Vol.1 Oxford: IRL Press; vetores de fusão de gene T-DNA:Walden et al. (1990) Mol Cell Biol 1: 175-194; e

(g)Vetores plasmídeos: Sambrook et al., infra.

[0100] Tipicamente, a construção compreende um vetor contendo uma sequência de promotor do presente documento ligada de maneira funcional a qualquer gene marcador. O promotor foi identificado como um promotor pela expressão do gene marcador. Embora muitos genes marcadores possam ser usados, a Proteína Verde Fluorescente (GFP) é preferida. O vetor também pode compreender um gene marcador que confere um fenótipo selecionável em células vegetais. O marcador pode codificar a resistência a biocida, particularmente resistência a antibiótico, como re-

sistência à canamicina, G418, bleomicina, higromicina, ou resistência a herbicida, como resistência ao clorosulfuron ou fosfinotricina. Os vetores também podem incluir origens de replicação, regiões de ligação de arcabouços (SARs), marcadores, sequências homólogas, introns, etc.

5. Promotores de Construção com Elementos de Controle

5.1. Promotores de Combinação e Elementos de controle de promotor

[0101] O promotor e elementos de controle de promotor do presente documento, tanto de ocorrência natural como sintéticos, podem ser usados individualmente ou combinados uns com os outros para produzir a transcrição preferencial desejada. Também, os promotores do documento podem ser combinados com outras sequências conhecidas para obter outros promotores úteis para modular, por exemplo, a transcrição de tecido específica ou transcrição específica a determinadas condições. Tal transcrição preferencial pode ser determinada utilizando as técnicas ou testes descritos aqui.

[0102] Os promotores podem conter qualquer número de elementos de controle. Por exemplo, um promotor pode conter múltiplos sítios de ligação de transcrição ou outros elementos de controle. Um elemento pode conferir especificidade de tecido ou órgão; outro elemento pode limitar a transcrição a períodos de tempo específicos, etc. Tipicamente, os promotores irão conter ao menos um promotor basal ou de núcleo como descrito acima. Qualquer elemento adicional pode ser incluído quando desejado. Por exemplo, um fragmento que compreende um promotor basal ou "de núcleo" pode ser fundido com outro fragmento com qualquer número de elementos de controle adicionais.

[0103] A seguinte descrição refere-se aos promotores que são induzidos sob condições de estresse e podem ser combinados com aqueles do presente documento: *ldh1* (estresse por oxigênio; tomate; vide Germain and Ricard (1997) *Plant Mol Biol* 35:949-54), *GPx* e *CAT* (estresse por oxigênio; camundongo; vide Franco et al. (1999) *Free Radic Biol Med* 27:1122-32), *ci7* (estresse pelo frio; batata; vide Kirch et al. (1997) *Plant Mol Biol* 33:897-909), *Bz2* (metais pesados; milho; vide Marrs and Walbot (1997) *Plant Physiol* 113:93-102), *HSP32* (hipertermia; rato; vide Raju and Maines (1994) *Biochim Biophys Acta* 1217:273-80), e *MAPKAPK-2* (choque térmico; *Drosophila*; vide Larochelle and Suter (1995) *Gene* 163:209-14).

[0104] Ademais, os seguintes exemplos de promotores que são induzidos pela presença ou ausência de luz podem ser usados em combinação com aqueles do presente documento: *Topoisomerase II* (ervilha; vide Reddy et al. (1999) *Plant Mol Biol* 41:125-37), *chalcona sintase* (soja; vide Wingender et al. (1989) *Mol Gen Genet* 218:315-22) *gene mdm2* (tumor humano; vide Saucedo et al. (1998) *Cell Growth Differ* 9:119-30), *Clock* and *BMAL1* (rato; vide Namihira et al. (1999) *Neurosci Lett* 271:1-4), *PHYA* (*Arabidopse*; vide Canton and Quail (1999) *Plant Physiol* 121:1207-16), *PRB-1b* (tabaco; vide Sessa et al. (1995) *Plant Mol Biol* 28:537-47) and *Ypr10* (feijão comum; vide Walter et al. (1996) *Eur J Biochem* 239:281-93).

[0105] Os promotores e elementos de controle dos seguintes genes podem ser usados em combinação com o presente documento para conferir especificidade de tecido: *MipB* (iceplant; Yamada et al. (1995) *Plant Cell* 7:1129-42) e *SUCS* (nódulos de raiz; fava; Kuster et al. (1993) *Mol Plant Microbe Interact* 6:507-

14) para raízes, OsSUT1 (arroz; Hirose et al. (1997) Plant Cell Physiol 38:1389-96) para folhas, Msg (soja; Stomvik et al. (1999) Plant Mol Biol 41:217-31) para siliquas, cell1 (Arabidopsis; Shani et al. (1997) Plant Mol Biol 34(6):837-42) e ACT11 (Arabidopse; Huang et al. (1997) Plant Mol Biol 33:125-39) para inflorescência.

[0106] Ainda outros promotores são afetados por hormônios ou participam dos processos fisiológicos específicos, esses podem ser usados em combinação com aqueles do presente documento. Alguns exemplos são o gene ACC sintase que é induzido de maneira diferente por etileno e brassinosteroides (feijão-mungo; Yi et al. (1999) Plant Mol Biol 41:443-54), o gene TAPG1 que está ativo durante a abscisão (tomate; Kalaitzis et al. (1995) Plant Mol Biol 28:647-56), e o gene 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintase (cravo; Jones et al. (1995) Plant Mol Biol 28:505-12) e o gene CP-2/catepsina L (rato; Kim and Wright (1997) Biol Reprod 57:1467-77), ambos ativos durante a senescência.

[0107] O espaçamento entre os elementos de controle ou a configuração ou elementos de controle pode ser determinado ou otimizado para permitir que as interações de proteína-polinucleotídeo ou polinucleotídeo desejadas ocorram.

[0108] Por exemplo, se dois fatores de transcrição se ligarem a um promotor de maneira simultânea ou relativamente próxima em tempo, os sítios de ligação são espaçados para permitir que cada fator se ligue sem impedimento espacial. O espaço entre dois tais elementos de controle de hibridização pode ser tão pequeno quanto um perfil de uma proteína ligada a um elemento de controle. Em alguns casos, dois sítios de ligação de prote-

ina podem ser adjacentes um ao outro quando as proteínas se ligarem em momentos diferentes durante o processo de transcrição.

[0109] Ademais, quando dois elementos de controle hibridizam o espaçamento entre tais elementos, isso será suficiente para permitir que o polinucleotídeo promotor forme um grampo ou alça de modo a permitir que os dois elementos se liguem. O espaçamento entre dois tais elementos de controle de hibridização pode ser tão pequeno quanto uma alça de t-RNA, até 10 kb.

[0110] Tipicamente, o espaçamento não é menor do que 5 bases; mais tipicamente, não menor do que 8; mais tipicamente, não menor do que 15 bases; mais tipicamente, não menor do que 20 bases; mais tipicamente, não menor do que 25 bases; ainda mais tipicamente, não menor do que 30, 35, 40 ou 50 bases.

[0111] Geralmente, o tamanho de fragmento não é maior do que 5 kb bases; mais geralmente, não maior do que 2 kb; mais geralmente, não maior do que 1 kb; mais geralmente, não maior do que 800 bases; mais geralmente, não maior do que 500 bases; ainda mais geralmente, não maior do que 250, 200, 150 ou 100 bases.

[0112] Tal espaçamento entre os elementos de controle de promotor pode ser determinado utilizando as técnicas e testes descritos aqui.

5.2.Vetores Usados para Transformar Células/Hospedeiros

[0113] Uma construção de transformação de planta que contém um promotor do presente documento pode ser introduzida nas plantas por meio de qualquer método de transformação de plantas. Métodos e materiais para transformar as plantas ao introduzir uma construção de expressão de planta em um genoma de

planta na prática desse documento podem incluir qualquer um dos métodos bem conhecidos e demonstrados inclusive eletroporação (Patente nºU.S. 5.384.253); bombardeio de microprojéteis (Patente nºU.S. 5.015.580; Patente nºU.S. 5.550.318; Patente nºU.S. 5.538.880; Patente nºU.S. 6.160.208; Patente nºU.S. 6.399.861; e Patente nºU.S. 6.403.865); transformação mediada por *Agrobacterium* (Patente nºU.S. 5.824.877; Patente nºU.S. 5.591.616; Patente nºU.S. 5.981.840; e Patente nºU.S. 6.384.301); e transformação de protoplasto (Patente nºU.S. 5.508.184).

[0114] Os presentes promotores e/ou elementos de controle de promotor podem ser distribuídos a um sistema como uma célula por meio de um vetor. Para os propósitos desse documento, tal distribuição pode variar de simplesmente introduzir o promotor ou elemento de controle de promotor por si só aleatoriamente em uma célula até a integração de um vetor de clonagem contendo o presente promotor ou elemento de controle de promotor. Assim, um vetor não precisa ser limitado a uma molécula de DNA como um plasmídeo, cosmídeo ou fago bacteriano que possui a capacidade de se auto-replicar em uma célula hospedeira. Todas as outras maneiras de distribuição dos promotores e elementos de controle de promotor do documento são previstas. Os vários tipos de vetor de T-DNA consistem em um vetor preferido para uso com o presente documento. Muitos vetores úteis estão comercialmente disponíveis.

[0115] Também pode ser útil ligar uma sequência de marcadores ao presente promotor e elemento de controle de promotor para determinar a atividade tais sequências. As sequências de marcadores incluem tipicamente genes que fornecem resistência a

antibiótico, como resistência a tetraciclina, resistência a higromicina ou resistência a ampicilina, ou fornecem resistência a herbicida. Os genes marcadores selecionáveis específicos podem ser usados para conferir resistência a herbicidas como glifosato, glufosinato ou bromoxinil (Comai et al. (1985) *Nature* 317: 741-744; Gordon-Kamm et al. (1990) *Plant Cell* 2: 603-618; e Stalker et al. (1988) *Science* 242: 419-423). Há outros genes marcadores que fornecem resposta hormonal.

[0116] O promotor ou elemento de controle de promotor do presente documento pode ser ligado de maneira funcional a um polinucleotídeo que será transcrito. Desse modo, o promotor ou elemento de controle de promotor pode modificar a transcrição ao modular os níveis de transcrição daquele polinucleotídeo quando inserido em um genoma.

[0117] Entretanto, antes da inserção em um genoma, o promotor ou elemento de controle de promotor não precisa ser ligado, de maneira funcional ou de outro modo, a um polinucleotídeo que será transcrito. Por exemplo, o promotor ou elemento de controle de promotor pode ser inserido individualmente no genoma em frente a um polinucleotídeo já presente no genoma. Desse modo, o promotor ou elemento de controle de promotor pode modular a transcrição de um polinucleotídeo que já estava presente no genoma. Esse polinucleotídeo pode ser nativo ao genoma ou inserido em um momento anterior.

[0118] Alternativamente, o promotor ou elemento de controle de promotor pode ser inserido em um genoma individualmente para modular a transcrição. Vide, por exemplo, Vaucheret, H et al. (1998) *Plant J* 16: 651-659. De preferência, o promotor ou elemento de controle de promotor pode ser simplesmente inseri-

do em um genoma ou mantido de maneira extracromossomal como uma forma de desviar os recursos de transcrição do sistema para si. Esta abordagem pode ser usada para infrarregular os níveis de transcrição de um grupo de polinucleotídeo(s).

[0119] A natureza do polinucleotídeo que será transcrito não é limitada. Especificamente, o polinucleotídeo pode incluir sequências que terão atividade como RNA bem como as sequências que resultam em um produto de polipeptídeo. Essas sequências podem incluir, porém sem caráter limitativo, sequências antis-senso, sequências de RNAi, sequências de ribozima, spliceossomas, sequências de codificação de aminoácido, e fragmentos dessas. As sequências de codificação específicas podem incluir, porém sem caráter limitativo, proteínas endógenas ou fragmentos dessas, ou proteínas heterólogas que incluem genes marcadores ou fragmentos desses.

[0120] As construções do presente documento poderiam conter tipicamente um promotor ligado de maneira funcional a uma molécula de ácido nucleico passível de transcrição ligada de maneira operável a uma molécula de ácido nucleico de terminação de transcrição 3'. Ademais, as construções podem incluir, porém sem caráter limitativo, moléculas de ácido nucleico reguladoras adicionais da região não traduzida 3' (3' UTR) de genes de plantas (por exemplo, uma UTR 3' para aumentar a estabilidade de mRNA do mRNA, como a região de terminação PI-II de batata ou as regiões de terminação 3' da octopina ou nopalina sintase). As construções podem incluir, porém sem caráter limitativo, as regiões não traduzidas 5' (UTR 5') de uma molécula de ácido nucleico de mRNA que pode exercer uma função importante na iniciação de tradução e também pode ser

um componente genético em uma construção de expressão de planta. Por exemplo, as moléculas de ácido nucleico derivadas de líder 5' não traduzida de genes de proteína de choque térmico foram demonstradas para aumentar a expressão de gene em plantas (vide, por exemplo, Patente nº U.S. 5.659.122 e Patente nº U.S. 5.362.865, sendo que essas estão aqui incorporadas a título de referência). Essas moléculas de ácido nucleico reguladoras a montante e a jusante adicionais podem ser derivadas de uma fonte que é nativa ou heteróloga com relação aos outros elementos presentes na construção de promotor.

[0121] Assim, uma modalidade do documento é um promotor como fornecido na SEQ ID nos: 1 a 18 ou um fragmento dessa, ligado de maneira funcional a uma molécula de ácido nucleico passível de transcrição para conduzir a transcrição da dita molécula de ácido nucleico passível de transcrição em um nível desejado ou em um tecido desejado ou padrão de desenvolvimento mediante a introdução da dita construção em uma célula vegetal. Em alguns casos, a molécula de molécula de ácido nucleico passível de transcrição compreende uma região de codificação de proteína de um gene, e o promotor fornece a transcrição de uma molécula de mRNA funcional que é traduzida e expressa como um produto de proteína. As construções também podem ser construídas para a transcrição de moléculas de RNA antissenso ou outro RNA inibidor similar para inibir a expressão de uma molécula de RNA específica de interesse em uma célula hospedeira alvo.

[0122] As moléculas de ácido nucleico passíveis de transcrição exemplificativas para incorporação nas construções do presente documento incluem, por exemplo, moléculas de ácido nucleico ou genes de uma espécie exceto a espécie de gene alvo,

ou ainda genes que se originam ou estão presentes na mesma espécie, porém são incorporadas em células receptoras por métodos de engenharia genética exceto técnicas de reprodução ou cruzamento clássicas. O gene exógeno ou elemento genético pretende se referir a qualquer gene ou molécula de ácido nucleico que é introduzido em uma célula receptora. O tipo de molécula de ácido nucleico incluído na molécula de ácido nucleico exógena pode incluir uma molécula de ácido nucleico que já está presente na célula vegetal, uma molécula de ácido nucleico de outra planta, uma molécula de ácido nucleico de um organismo diferente, ou uma molécula de ácido nucleico gerada externamente, como uma molécula de ácido nucleico contendo uma mensagem antissenso de um gene, ou uma molécula de ácido nucleico que codifica uma versão artificial ou modificada de um gene.

[0123] Os promotores do presente documento podem ser incorporados em uma construção utilizando genes marcadores como descrito, e testados em análises transitórias que fornecem uma indicação de expressão de gene em sistemas de plantas estáveis. Como usado aqui o termo "gene marcador" refere-se a qualquer molécula de ácido nucleico passível de transcrição cuja expressão pode ser avaliada ou classificada de alguma maneira. Os métodos para testar a expressão de gene marcador em um teste transitório são conhecidos pelas pessoas versadas na técnica. A expressão transitória de genes marcadores foi relatada utilizando uma variedade de plantas, tecidos, célula(s) de plantas, e sistemas de distribuição de DNA. Por exemplo, os tipos de análises transitórias podem incluir, porém sem caráter limitativo, conduzir a distribuição de gene através da eletroporação ou bombardeio de partículas de tecidos em qual-

quer teste de planta transitório utilizando qualquer espécie de planta de interesse. Tais sistemas transitórios podem incluir, porém sem caráter limitativo, eletroporação de protoplastos de uma variedade de fontes de tecido ou bombardeio de partículas de tecidos específicos de interesse. O presente documento inclui o uso de qualquer sistema de expressão transitório para avaliar os promotores ou fragmentos de promotor ligados de maneira funcional a quaisquer moléculas de ácido nucleico passíveis de transcrição, inclusive, porém sem caráter limitativo, genes repórter selecionados, genes marcadores, ou genes de interesse agrônômico. Exemplos de tecidos de planta previstos para teste em transitórios através de um sistema de distribuição adequado poderiam incluir, porém sem caráter limitativo, tecidos de base de folha, calo, cotilédones, raízes, endosperma, embriões, tecido floral, pólen, e tecido epidérmico.

[0124] Os promotores e elementos de controle do presente documento são úteis para modular processos metabólicos ou catabólicos. Tais processos incluem, porém sem caráter limitativo, metabolismo de produto secundário, síntese de aminoácido, armazenamento de proteína de semente, biomassa aumentada, desenvolvimento de óleo, defesa contra praga e uso de nitrogênio. Alguns exemplos de genes, transcrições e peptídeos ou polipeptídeos que participam desses processos, que podem ser modulados pelo presente documento: são triptofano descarboxilase (tdc) e estrictosidina sintase (str1), di-hidrodipicolinato sintase (DHDPS) e aspartato quinase (AK), 2S albumina e alfa-, beta-, e gama-zeínas, ricinoleato e 3-cetoacil-ACP sintase (KAS), *Bacillus thuringiensis* (Bt) proteína inseticida, inibi-

dor de tripsina em feijão caupi (CpTI), asparagina sintetase e nitrito redutase. Alternativamente, as construções de expressão podem ser usadas para inibir a expressão desses peptídeos e polipeptídeos ao incorporar os promotores em construções para uso antissenso, uso de cosupressão ou para a produção de mutações negativas dominantes.

[0125] Como explicado acima, há diversos tipos de elementos reguladores referentes à regulação de transcrição. Cada elemento regulador pode ser combinado com o presente vetor, se desejado. A tradução de mRNA eucariótico é geralmente iniciada como o códon que codifica a primeira metionina. Assim, quando constrói-se um polinucleotídeo recombinante de acordo com o presente documento para expressar um produto de proteína, é preferido garantir que a ligação entre a porção 3', de preferência, incluindo a caixa TATA, do promotor e do polinucleotídeo que será transcrito, ou um derivado funcional desse, não contenha códons intervenientes que são capazes de codificar uma metionina.

[0126] O vetor do presente documento pode conter componentes adicionais. Por exemplo, uma origem de replicação permite a for replicação do vetor em uma célula hospedeira. Adicionalmente, as sequências homólogas que flanqueiam uma sequência específica permitem a recombinação específica da sequência específica em um local desejado no genoma alvo. As sequências de T-DNA também permitem a inserção de uma sequência específica aleatoriamente em um genoma alvo.

[0127] O vetor também pode ser fornecido com uma pluralidade de sítios de restrição para inserção de um polinucleotídeo que será transcrito bem como o promotor e/ou elementos de controle

de promotor do presente documento. O vetor pode conter adicionalmente genes marcadores selecionáveis. O vetor também pode conter uma região de iniciação de transcrição e tradução, e uma região de terminação de transcrição e tradução funcional na célula hospedeira. A região de terminação pode ser nativa com a região de iniciação de transcrição, pode ser nativa com o polinucleotídeo que será transcrito, ou pode ser derivada de outra fonte. As regiões de terminação convenientes estão disponíveis a partir do Ti-plasmídeo de *A. tumefaciens*, como as regiões de terminação de octopina sintase e nopalina sintase. Vide também, Guerineau et al. (1991) *Mol. Gen. Genet.* 262:141-144; Proudfoot (1991) *Cell* 64:671-674; Sanfacon et al. (1991) *Genes Dev.* 5:141-149; Mogen et al. (1990) *Plant Cell* 2:1261-1272; Munroe et al. (1990) *Gene* 91:151-158; Ballas et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:7891-7903; Joshi et al. (1987) *Nucleic Acid Res.* 15:9627-9639.

[0128] Quando apropriado, o polinucleotídeo que será transcrito pode ser otimizado para expressão aumentada em uma determinada célula hospedeira. Por exemplo, o polinucleotídeo pode ser sintetizado utilizando códons preferidos para transcrição e tradução aprimoradas. Vide Patente nos U.S. 5.380.831, 5.436.391; vide também Murray et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:477-498.

[0129] Modificações de sequência adicionais incluem a eliminação de sequências que codificam falsos sinais de poliadenilação, sinais de sítio de splice de exon e intron, repetições similares a transposon, e outras tais sequências bem caracterizadas como deletérias à expressão. O teor de G-C do polinucleotídeo pode ser ajustado a níveis médios para um determina-

do hospedeiro celular, como calculado por meio de referência a genes conhecidos expressos na célula hospedeira. A sequência de polinucleotídeo pode ser modificada para evitar estruturas de mRNA secundárias do tipo grampo.

[0130] Uma descrição geral de vetores de expressão e genes repórter pode ser encontrada em Gruber, et al. (1993) "Vectors for Plant Transformation" In Methods in Plant Molecular Biology & Biotechnology, Glich et al. Eds. pp. 89-119, CRC Press. Ademais os vetores de expressão GUS e cassetes de gene GUS estão disponíveis junto à Clontech Laboratories, Inc., Palo Alto, California enquanto os vetores de expressão da luciferase e cassetes de gene da luciferase estão disponíveis junto à Promega Corp. (Madison, Wisconsin). Os vetores GFP estão disponíveis junto à Aurora Biosciences.

5.3.Inserção de Polinucleotídeo Em Uma Célula Hospedeira

[0131] Os promotores de acordo com o presente documento podem ser inseridos em uma célula hospedeira. Uma célula hospedeira inclui, porém sem caráter limitativo, uma planta, mamífero, inseto, levedura, e célula procariótica, de preferência, uma célula vegetal.

[0132] O método de inserção no genoma de célula hospedeira é selecionado com base na conveniência. Por exemplo, a inserção no genoma da célula hospedeira pode ser realizada por vetores que se integram no genoma da célula hospedeira ou por vetores que são independentes do genoma da célula hospedeira.

[0133] Os promotores do presente documento podem ser autônomos ou independentes do genoma de célula hospedeira. Os vetores desses tipos são conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, alguns tipos de vetores virais não integrantes, plas-

mídeos autorreplicantes, cromossomos artificiais, e similares.

[0134] Adicionalmente, em alguns casos a expressão transitória de um promotor pode ser desejada.

[0135] As sequências de promotor, elementos de controle de promotor ou vetores do presente documento podem ser transformados em células hospedeiras. Essas transformações podem ser em protoplastos ou tecidos intactos ou células isoladas. De preferência, os vetores de expressão são introduzidos no tecido intacto. Métodos gerais de cultivo de tecidos vegetais são fornecidos, por exemplo, por Maki et al. (1993) "Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants" Em Methods in Plant Molecular Biology & Biotechnology, Glich et al. Eds. pp. 67-88 CRC Press; e por Phillips et al. (1988) "Cell-Tissue Culture and In-Vitro Manipulation" Em Corn & Corn Improvement, 3rd Edition Sprague et al. eds., pp. 345-387, American Society of Agronomy Inc. et al.

[0136] Os métodos de introdução de polinucleotídeos em tecido vegetal incluem a infecção direta ou co-cultivação de célula vegetal com *Agrobacterium tumefaciens*, Horsch et al. (1985) Science, 227:1229. Descrições de sistemas vetoriais *Agrobacterium* e métodos de transferência de gene mediada por *Agrobacterium* são fornecidos por Gruber et al. supra.

[0137] Alternativamente, os polinucleotídeos são introduzidos em células vegetais ou outros tecidos vegetais utilizando um método de transferência de gene direta como distribuição mediada por microprojéteis, injeção de DNA, eletroporação e similares. Com mais preferência, os polinucleotídeos são introduzidos em tecidos vegetais utilizando a distribuição de microprojéteis com o dispositivo biolítico. Vide, por exemplo, To-

mes et al., "Direct DNA transfer into intact plant cells via microprojectile bombardment" Em: Gamborg and Phillips (Eds.) Plant Cell, Tissue and Organ Culture: Fundamental Methods, Springer Verlag, Berlin (1995).

[0138] Os métodos de transformação específica de dicotiledôneas são bem conhecidos pelas pessoas versadas na técnica. A transformação e regeneração de plantas utilizando esses métodos foram descritas para inúmeras culturas inclusive, porém sem caráter limitativo, algodão (*Gossypium hirsutum*), soja (*Glycine max*), amendoim (*Arachis hypogaea*), e elementos do gênero *Brassica*.

[0139] Os métodos de transformação de monocotiledôneas são bem conhecidos pelas pessoas versadas na técnica. A transformação e regeneração de plantas utilizando esses métodos foram descritos para inúmeras culturas inclusive, porém sem caráter limitativo, cevada (*Hordeum vulgare*); milho (*Zea mays*); avei-as (*Avena sativa*); dátilo (*Dactylis glomerata*); arroz (*Oryza sativa*, inclusive variedades de indica e japonica); sorgo (*Sorghum bicolor*); cana de açúcar (*Saccharum* sp); festuca (*Festuca arundinacea*); espécies de gramas (por exemplo, espécies: *Agrostis stolonifera*, *Poa pratensis*, *Stenotaphrum secundatum*); trigo (*Triticum aestivum*), painço (*Panicum vigatum*) e alfalfa (*Medicago sativa*). É óbvio para as pessoas versadas na técnica que inúmeras metodologias de transformação podem ser usadas e modificadas para a produção de plantas transgênicas estáveis a partir de qualquer número de plantas alvo de interesse.

[0140] Os polinucleotídeos e vetores descritos aqui podem ser usados para transformar inúmeras plantas monocotiledôneas e

dicotiledôneas e sistemas de célula vegetal, inclusive espécies de uma das seguintes famílias: Acanthaceae, Alliaceae, Alstroemeriaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Asteraceae, Berberidaceae, Bixaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Cannabaceae, Caryophyllaceae, Cephalotaxaceae, Chenopodiaceae, Colchicaceae, Cucurbitaceae, Dioscoreaceae, Ephedraceae, Erythroxylaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Linaceae, Lycopodiaceae, Malvaceae, Melanthiaceae, Musaceae, Myrtaceae, Nyssaceae, Papaveraceae, Pinaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Solanaceae, Taxaceae, Theaceae, ou Vitaceae.

[0141] As espécies adequadas podem incluir elementos do gênero *Abelmoschus*, *Abies*, *Acer*, *Agrostis*, *Allium*, *Alstroemeria*, *Ananas*, *Andrographis*, *Andropogon*, *Artemisia*, *Arundo*, *Atropa*, *Berberis*, *Beta*, *Bixa*, *Brassica*, *Calendula*, *Camellia*, *Camptotheca*, *Cannabis*, *Capsicum*, *Carthamus*, *Catharanthus*, *Cephalotaxus*, *Chrysanthemum*, *Cinchona*, *Citrullus*, *Coffea*, *Colchicum*, *Coleus*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Cynodon*, *Datura*, *Dianthus*, *Digitalis*, *Dioscorea*, *Elaeis*, *Ephedra*, *Erianthus*, *Erythroxylum*, *Eucalyptus*, *Festuca*, *Fragaria*, *Galanthus*, *Glycine*, *Gossypium*, *Helianthus*, *Hevea*, *Hordeum*, *Hyoscyamus*, *Jatropha*, *Lactuca*, *Linum*, *Lolium*, *Lupinus*, *Lycopersicon*, *Lycopodium*, *Manihot*, *Medicago*, *Mentha*, *Miscanthus*, *Musa*, *Nicotiana*, *Oryza*, *Panicum*, *Papaver*, *Parthenium*, *Pennisetum*, *Petunia*, *Phalaris*, *Phleum*, *Pinus*, *Poa*, *Poinsettia*, *Populus*, *Rauwolfia*, *Ricinus*, *Rosa*, *Saccharum*, *Salix*, *Sanguinaria*, *Scopolia*, *Secale*, *Solanum*, *Sorghum*, *Spartina*, *Spinacea*, *Tanacetum*, *Taxus*, *Theobroma*, *Triticosecale*, *Triticum*, *Uniola*, *Veratrum*, *Vinca*, *Vitis*, e *Zea*.

[0142] As espécies adequadas incluem *Panicum* spp. ou híbridos

desse, *Sorghum* spp. ou híbridos desse, capim-sudão, *Miscanthus* spp. ou híbridos desse, *Saccharum* spp. ou híbridos desse, *Erianthus* spp., *Populus* spp., *Andropogon gerardii* (bluestem gigante), *Pennisetum purpureum* (capim-elefante) ou híbridos desse (por exemplo, *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoidum*), *Phalaris arundinacea* (capim-amarelo), *Cynodon dactylon* (grama bermuda), *Festuca arundinacea* (festuca), *Spartina pectinata* (poácea), *Medicago sativa* (alfalfa), *Arundo donax* (cana-do-reino) ou híbridos dessa, *Secale cereale* (centeio), *Salix* spp. (salgueiro), *Eucalyptus* spp. (eucalipto), *Triticosecale* (*Triticum* - trigo X centeio), *Tripsicum dactyloides* (Eastern gamagrass), *Leymus cinereus* (centeio selvagem), *Leymus condensatus* (giant centeio selvagem gigante), e bambu.

[0143] Em algumas modalidades, uma espécie adequada pode ser uma espécie de sorgo selvagem, daninha, ou cultivada como, porém sem caráter limitativo, *Sorghum alnum*, *Sorghum amplum*, *Sorghum angustum*, *Sorghum arundinaceum*, *Sorghum bicolor* (como bicolor, guinea, caudatum, kafir, e durra), *Sorghum brachypodum*, *Sorghum bulbosum*, *Sorghum burmahicum*, *Sorghum controversum*, *Sorghum drummondii*, *Sorghum ecarinatum*, *Sorghum exstans*, *Sorghum grande*, *Sorghum halepense*, *Sorghum interjectum*, *Sorghum intrans*, *Sorghum laxiflorum*, *Sorghum leiocladum*, *Sorghum macrospermum*, *Sorghum matarankense*, *Sorghum miliaceum*, *Sorghum nigrum*, *Sorghum nitidum*, *Sorghum plumosum*, *Sorghum propinquum*, *Sorghum purpureosericeum*, *Sorghum stipoides*, *Sorghum sudanense*, *Sorghum timorense*, *Sorghum trichocladum*, *Sorghum versicolor*, *Sorghum virgatum*, *Sorghum vulgare*, ou híbridos como *Sorghum* x *alnum*, *Sorghum* x sudangrass ou *Sorghum* x *drummondii*.

[0144] As espécies adequadas também incluem *Helianthus annuus* (girassol), *Carthamus tinctorius* (açafrão), *Jatropha curcas* (jatrofa), *Ricinus communis* (rícin), *Elaeis guineensis* (palma), *Linum usitatissimum* (linho), e *Brassica juncea*.

[0145] As espécies adequadas também incluem *Beta vulgaris* (beterraba sacarina), e *Manihot esculenta* (mandioca).

[0146] As espécies adequadas também incluem *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Lactuca sativa* (alface), *Musa paradisiaca* (banana), *Solanum tuberosum* (batata), *Brassica oleracea* (brócolis, couve-flor, couve de bruxelas), *Camellia sinensis* (chá), *Fragaria ananassa* (morango), *Theobroma cacao* (cacau), *Coffea arabica* (café), *Vitis vinifera* (uva), *Ananas comosus* (abacaxi), *Capsicum annum* (pimenta e pimentão), *Allium cepa* (cebola), *Cucumis melo* (melão), *Cucumis sativus* (pepino), *Cucurbita maxima* (abóbora), *Cucurbita moschata* (abóbora), *Spinacea oleracea* (espinafre), *Citrullus lanatus* (melancia), *Abelmoschus esculentus* (quiabo), e *Solanum melongena* (beringela).

[0147] As espécies adequadas também incluem *Papaver somniferum* (papoula dormideira), *Papaver orientale*, *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Artemisia annua*, *Cannabis sativa*, *Camptotheca acuminata*, *Catharanthus roseus*, *Vinca rosea*, *Cinchona officinalis*, *Colchicum autumnale*, *Veratrum californica*, *Digitalis lanata*, *Digitalis purpurea*, *Dioscorea* spp., *Andrographis paniculata*, *Atropa belladonna*, *Datura stomonium*, *Berberis* spp., *Cephalotaxus* spp., *Ephedra sinica*, *Ephedra* spp., *Erythroxylum coca*, *Galanthus wornorii*, *Scopolia* spp., *Lycopodium serratum* (= *Huperzia serrata*), *Lycopodium* spp., *Rauwolfia serpentina*, *Rauwolfia* spp., *Sanguinaria canadensis*, *Hyoscyamus* spp., *Calendula officinalis*, *Chrysanthemum parthenium*, *Coleus fors-*

kohlui, e *Tanacetum parthenium*.

[0148] As espécies adequadas também incluem *Parthenium argentatum* (guaiúle), *Hevea* spp. (borracha), *Mentha spicata* (hortelã), *Mentha piperita* (hortelã), *Bixa orellana*, e *Alstroemeria* spp.

[0149] As espécies adequadas também incluem *Rosa* spp. (rosa), *Dianthus caryophyllus* (craveiro), *Petunia* spp. (petúnia) e *Poinsettia pulcherrima* (poinsetia)

[0150] As espécies adequadas também incluem *Nicotiana tabacum* (tabaco), *Lupinus albus* (lupina), *Uniola paniculata* (aveias), *agrostis* (*Agrostis* spp.), *Populus tremuloides* (álamo), *Pinus* spp. (pinheiro), *Abies* spp. (abeto), *Acer* spp. (ácer, *Hordeum vulgare* (cevada), *Poa pratensis* (capim do campo), *Lolium* spp. (azevém) e *Phleum pratense* (Timothy).

[0151] Assim, os métodos e composições podem ser usados em uma ampla faixa de espécies de plantas, inclusive espécies do gênero dicotiledônea *Brassica*, *Carthamus*, *Glycine*, *Gossypium*, *Helianthus*, *Jatropha*, *Parthenium*, *Populus*, e *Ricinus*; e o gênero monocotiledônea *Elaeis*, *Festuca*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Panicum*, *Pennisetum*, *Phleum*, *Poa*, *Saccharum*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticosecale*, *Triticum*, e *Zea*. Em algumas modalidades, uma planta é um elemento da espécie *Panicum virgatum* (painço amarelo), *Sorghum bicolor* (sorgo, capim-sudão), *Miscanthus giganteus* (miscanto), *Saccharum* sp. (cana-de-açúcar), *Populus balsamifera* (álamo), *Zea mays* (milho), *Glycine max* (soja), *Brassica napus* (canola), *Triticum aestivum* (trigo), *Gossypium hirsutum* (algodão), *Oryza sativa* (arroz), *Helianthus annuus* (girassol), *Medicago sativa* (alfalfa), *Beta vulgaris* (beterraba sacarina), ou *Pennisetum glaucum* (milheto).

[0152] Em algumas modalidades, os polinucleotídeos e vetores descritos aqui podem ser usados para transformar inúmeras plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas e sistemas de células vegetais, em que tais plantas são híbridos de espécies diferentes ou variedades de espécies específicas (por exemplo, *Saccharum* sp. x *Miscanthus* sp., *Panicum virgatum* x *Panicum amarum*, *Panicum virgatum* x *Panicum amarulum*, e *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoidum*).

[0153] Em outra modalidade do presente documento, as construções de expressão podem ser usadas para expressão de gene em cultura celular para o propósito de expressar genes marcadores que codificam peptídeos ou polipeptídeos que permitem a identificação de plantas transformadas. Aqui, um promotor que é ligado de maneira funcional a um polinucleotídeo que será transcrito é transformada em células vegetais e o tecido transformado é então colocado no meio de indução de calo. Se a transformação for conduzida com discos foliares, por exemplo, o calo será iniciado ao longo das bordas cortadas. Uma vez que o crescimento de calo é iniciado, as células do calo podem ser transferidas para o meio de indução de broto de calo ou de indução de raiz de calo. A expressão de gene irá ocorrer nas células do calo que se desenvolvem no meio adequado: os promotores de indução de raiz de calo serão ativados no meio de indução de raiz de calo, etc. Exemplos de tais peptídeos ou polipeptídeos úteis como marcadores de transformação incluem, porém sem caráter limitativo, barstar, glifosato, cloranfenicol acetiltransferase (CAT), canamicina, espectinomicina, estreptomomicina ou outras enzimas de resistência a antibiótico, proteína verde fluorescente (GFP), e β -glucuronidase (GUS), etc.

Alguns dos promotores fornecidos na SEQ ID nos: 1 a 18 também serão capazes de manter a expressão em alguns tecidos ou órgãos após a iniciação ou término de regeneração. Exemplos desses tecidos ou órgãos são embriões somáticos, cotilédone, hipocotil, epicotil, folha, caules, raízes, flores e semente.

[0154] A integração no genoma da célula hospedeira também pode ser realizada por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, pelas sequências homólogas ou T-DNA discutido acima ou utilizando o sistema Cre-lox (A.C. Vergunst et al. (1998) Plant Mol. Biol. 38:393).

6. Usos dos Promotores

6.1. Uso dos Promotores para Estudar e Avaliar a Expressão

[0155] Os promotores do presente pedido podem ser usados para entender adicionalmente os mecanismos de desenvolvimento. Por exemplo, os promotores que são especificamente induzidos durante a formação de calo, formação de embrião somático, formação de broto ou formação de raiz podem ser usados para explorar os efeitos de superexpressão, repressão ou expressão ectópica de genes alvo, ou para isolamento de fatores trans-atuantes.

[0156] Os vetores do presente pedido podem ser usados não só para expressão de regiões de codificação como também podem ser usados em clonagem de exon-trap, ou procedimentos de promotor trap para detectar a expressão de gene diferencial em vários tecidos (vide Lindsey et al. (1993) Transgenic Research 2:3347. Auch and Reth (1990) Nucleic Acids Research 18: 6743).

[0157] Os vetores aprisionados, primeiramente descritos para uso em bactérias (Casadaban and Cohen (1979) Proc. Nat. Aca. Sci. U.S.A. 76: 4530; Casadaban et al. (1980) J. Bacteriol.

143: 971) permitem a seleção de eventos de inserção que se situam dentro de sequências de codificação. Os vetores aprisionados podem ser introduzidos em células ES pluripotentes em cultura e então passam pela linhagem germinativa através de quimeras (Gossler et al. 1989) Science 244: 463; Skarnes (1990) Biotechnology 8: 827). O promotor ou vetores de armadilha de gene geralmente contêm um gene repórter, por exemplo, lacZ, que é desprovido de seu próprio promotor e/ou sequência aceitante de splice a montante. Ou seja, as armadilhas de gene promotor contêm um gene repórter com um sítio de splice, porém sem promotor. Se o vetor estiver em um gene e for unido no produto de gene, então o gene repórter é expresso.

[0158] Recentemente, o isolamento de genes preferencialmente induzidos se tornou possível com o uso de armadilhas de promotor sofisticadas (por exemplo, IVET) que se baseiam na complementação auxotrófica condicional ou resistência a fármaco. Em uma abordagem de IVET, vários fragmentos de genoma bacteriano são colocados em frente a um gene metabólico necessário acoplado a um gene repórter. As construções de DNA são inseridas em uma cepa bacteriana que é desprovida do gene metabólico, e as bactérias resultantes são usadas para infectar o organismo hospedeiro. Apenas as bactérias que expressam o gene metabólico sobrevivem no organismo hospedeiro; conseqüentemente, as construções inativas podem ser eliminadas ao colher apenas as bactérias que sobrevivem durante um período mínimo no hospedeiro. Ao mesmo tempo, as construções amplamente ativas podem ser eliminadas ao avaliar apenas as bactérias que não expressam o gene repórter sob condições de laboratório. As bactérias selecionadas por tal método contêm construções que são seleti-

vamente induzidas apenas durante a infecção do hospedeiro. A abordagem IVET pode ser modificada para uso em plantas para identificar os genes induzidos nas bactérias ou nas células vegetais mediante infecção por patógeno ou colonização de raiz. Para informações sobre IVET vide os artigos de Mahan et al. (1993) Science 259:686-688, Mahan et al. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:669-673, Heithoff et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:934-939, e Wang et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:10434.

6.2. Uso dos Promotores para Transcrever os Genes de Interesse

[0159] Em uma modalidade do documento, uma molécula de ácido nucleico como mostrado na SEQ ID nos: 1 a 12 é incorporada em uma construção de modo que um promotor do presente documento seja ligado de maneira funcional a uma molécula de ácido nucleico passível de transcrição que é um gene de interesse agronômico. Como usado aqui, o termo "gene de interesse agronômico" refere-se a uma molécula de ácido nucleico passível de transcrição que inclui, porém sem caráter limitativo, um gene que fornece uma característica desejada associada à morfologia da planta, fisiologia, crescimento e desenvolvimento, produção, suplementação nutricional, doença ou resistência a pragas, ou tolerância ambiental ou química. A expressão de um gene de interesse agronômico é desejada para conferir um atributo agronomicamente importante. Um gene de interesse agronômico que fornece um atributo agronômico benéfico para cultivar plantas pode ser, por exemplo, inclusive, porém sem caráter limitativo, elementos genéticos que compreendem resistência a herbicida, produção aumentada, biomassa aumentada, controle de insetos, resistência a doenças fúngicas, resistên-

cia a vírus, resistência a nemátodo, resistência a doenças bacterianas, produção de amido, produção de óleos modificada, alta produção de óleo, teor de ácido graxo modificado, alta produção de proteína, amadurecimento de frutos, nutrição animal e humana aumentada, biopolímeros, resistência a estresse ambiental, peptídeos farmacêuticos, atributos de processamento aprimorados, capacidade de digestão aprimorada, produção de enzima industrial, sabor aprimorado, fixação de nitrogênio, produção de semente híbrida, e produção e bicomcombustível. Os elementos genéticos, métodos, e transgenes descritos nas patentes listadas acima estão aqui incorporados a título de referência.

[0160] Alternativamente, uma molécula de ácido nucleico passível de transcrição pode efetuar os fenótipos mencionados acima ao codificar uma molécula de RNA que causa a inibição almejada de expressão de um gene endógeno, por exemplo, através de RNA inibidor antissenso (RNAi), ou mecanismos mediados por cossupressão. O RNA também poderia ser uma molécula de RNA catalítica (ou seja, uma ribozima) elaborada para clivar um produto de mRNA endógeno desejado. Assim, qualquer molécula de ácido nucleico que codifica uma proteína ou mRNA que expressa uma alteração de fenótipo ou morfologia de interesse pode ser útil para a prática do presente documento.

6.3. Transcrição Preferencial Induzida por Estresse

[0161] Os promotores e elementos de controle que fornecem a modulação de transcrição sob estresse oxidativo, estiagem, oxigênio, ferida, e jasmonato de metila são particularmente úteis para produzir células ou organismos hospedeiros que são mais resistentes a estresse biótico e abiótico. Em uma planta,

por exemplo, a modulação de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos em resposta ao estresse oxidativo podem proteger as células contra lesões causadas por agentes oxidativos, como peróxido de hidrogênio e outros radicais livres.

[0162] A indução pela seca de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos são úteis para aumentar a viabilidade de uma planta, por exemplo, quando água for um fator de limitação. Em contrapartida, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos induzidos durante o estresse por oxigênio podem ajudar a tolerância ao encharcamento de uma planta.

[0163] Os promotores e elementos de controle do presente documento podem modular os estresses similares àqueles descritos, por exemplo, em condições de estresse são VuPLD1 (estresse hídrico; Cowpea; vide Pham-Thi et al. (1999) Plant Mol Biol 39:1257-65), piruvato decarboxilase (estresse oxidativo; arroz; vide Rivosal et al. (1997) Plant Physiol 114(3): 1021-29), gene carotenoide específico de cromoplasto (estresse oxidativo; Capsicum; vide, Bouvier et al. (1998) J Biol Chem 273: 30651-59).

[0164] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial durante o dano ou induzida por jasmonato de metila podem produzir uma resposta de defesa em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos sob tais condições é útil para induzir uma resposta de defesa ao dano mecânico, ataque de praga ou patógeno ou tratamento com alguns produtos químicos.

[0165] Os promotores e elementos de controle do presente documento também podem ativar uma resposta similar àquela des-

crita para cf9 (patógeno viral; tomate; vide O'Donnell et al. (1998) Plant J 14(1): 137-42), inibidor de ativador de fator de crescimento de hepatócito tipo 1 (HAI-1), que aumenta a regeneração de tecido (dano tecidual; humano; Koono et al. (1999) J Histochem Cytochem 47: 673-82), amina oxidase contendo cobre (CuAO), induzida durante a ontogênese e cura do dano (dano; grão-de-bico; Rea et al. (1998) FEBS Lett 437: 177-82), inibidor de proteinase II (dano; batata; vide Pena-Cortes et al. (1988) Planta 174: 84-89), inibidor de protease II (jasmonato de metila; tomate; vide Farmer and Ryan (1990) Proc Natl Acad Sci USA 87: 7713-7716), dois genes de proteína de armazenamento vegetativo VspA e VspB (dano, ácido jasmônico, e déficit hídrico; soja; vide Mason and Mullet (1990) Plant Cell 2: 569-579).

[0166] A super-regulação e infrarregulação da transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam a tolerância oxidativa, ao encharcamento, ou estiagem podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0167] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em danos ou sob indução de jasmonata de metila, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com tipos de células, órgãos ou tecidos sob outras condições.

[0168] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.4. Transcrição Preferencial Induzida por Luz

[0169] Os promotores e elementos de controle que fornecem

transcrição preferencial quando induzidos por exposição à luz podem ser utilizados para modular o crescimento, metabolismo, e desenvolvimento; para aumentar a tolerância à estiagem; e reduzir o dano de estresse por luz de células hospedeiras ou organismos. Em uma planta, por exemplo, a modulação de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos em resposta à luz é útil:

para aumentar a taxa fotossintética;

para aumentar o armazenamento de algumas moléculas em folhas ou apenas nas partes verdes, por exemplo, silagem com alto teor de proteína ou amido;

para modular a produção de composições exógenas em tecido verde, por exemplo, algumas enzimas de alimentação;

para induzir o crescimento ou desenvolvimento, como desenvolvimento e amadurecimento de frutos, durante a exposição prolongada à luz;

para modular as células-guarda para controlar o tamanho de estômato em folhas para impedir a perda de água, ou

para induzir o acúmulo de betacaroteno para ajudar as plantas a lidar com estresse induzido por luz.

[0170] Os promotores e elementos de controle do presente documento também podem ativar respostas similares às aquelas descritas em: ácido abscísico insensível³ (ABI3) (plântulas *Arabidopsis* desenvolvidas no escuro, vide Rohde et al. (2000) *Plant Cell* 12: 35-52), asparagina sintetase (nódulos de raiz de ervilha, vide Tsai and Coruzzi (1990) *EMBO J* 9: 323-32), gene *mdm2* (tumor humano, vide Saucedo et al. (1998) *Cell Growth Differ* 9: 119-30).

[0171] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcri-

ções, e/ou polipeptídeos que aumentam a tolerância à estiagem ou luz podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0172] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em células, tecidos ou órgãos expostos à luz, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com células, tecidos, ou órgãos sob exposição à luz reduzida (intensidade ou duração).

[0173] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.5. Transcrição Preferencial Induzida no Escuro

[0174] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial quando induzidos no escuro ou intensidade de luz reduzida ou tempo reduzido de exposição à luz podem ser utilizados para calcular o tempo de crescimento, metabolismo, e desenvolvimento, para modular as capacidades fotossintéticas de células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos em resposta ao escuro é útil, por exemplo, para induzir o crescimento ou desenvolvimento, como desenvolvimento e amadurecimento de frutos, apesar da falta de luz; para modular os genes, transcrições, e/ou polipeptídeo ativo à noite ou em dias nublados; ou para preservar a ultra-estrutura de plastídeo presente quando começa a escurecer.

[0175] Os presentes promotores e elementos de controle também podem ativar uma resposta similar àquela descrita na seção acima.

[0176] A super-regulação e infrarregulação da transcrição são

úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem o crescimento e desenvolvimento podem exigir super-regulação de transcrição.

[0177] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial sob exposição ao escuro ou reduzem a intensidade de luz ou reduzem o tempo de exposição, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos.

[0178] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.6. Transcrição Preferencial de Folhas

[0179] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em uma folha podem modular o crescimento, metabolismo, e desenvolvimento ou modular a energia e utilização de nutrientes em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeo em uma folha, é útil, por exemplo, para modular o tamanho, formato, e desenvolvimento da folha; para modular o número de folhas; ou para modular o uso de energia ou nutrientes em relação a outros órgãos e tecidos

[0180] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam o crescimento, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0181] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem a transcrição preferencial nas células, tecidos, ou

órgãos de uma folha, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras células, órgãos ou tecidos.

[0182] Para a super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.7. Transcrição Preferencial de Raiz

[0183] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em uma raiz podem modular o crescimento, metabolismo, desenvolvimento, absorção de nutrientes, fixação de nitrogênio, ou modular a energia e utilização de nutrientes em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeo em uma raiz, é útil, para modular o tamanho, formato, e desenvolvimento de raiz; para modular o número de raízes, ou radiculares; para modular a absorção de mineral, fertilizante, ou água; para modular o transporte de nutrientes; ou para modular o uso de energia ou nutrientes em relação a outras células, órgãos e tecidos.

[0184] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem o crescimento, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0185] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em células, tecidos, ou órgãos de uma raiz, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras células, órgãos ou tecidos.

[0186] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.8. Transcrição Preferencial de Caule/Broto

[0187] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em um caule ou broto podem modular o crescimento, metabolismo, e desenvolvimento ou modular a utilização de energia e nutrientes em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeo em um caule ou broto, é útil, por exemplo, para modular o tamanho, formato, e desenvolvimento do caule/broto; ou para modular o uso de energia ou nutrientes em relação a outros órgãos e tecidos

[0188] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam o crescimento, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0189] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial nas células, tecidos ou órgãos de um caule ou broto, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras células, órgãos ou tecidos.

[0190] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.9. Transcrição Preferencial de Frutos e Sementes

[0191] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em uma siliqua ou fruto podem calcular o tempo de crescimento, desenvolvimento, ou amadurecimento

to; ou modular a fertilidade; ou modular a utilização de energia e nutrientes em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos em um fruto, é útil, para modular o tamanho, formato, desenvolvimento, e amadurecimento do fruto; para modular o número de frutos ou sementes; para modular a fragmentação de semente; para modular os componentes de sementes, como, moléculas de armazenamento, amido, proteína, óleo, vitaminas, componentes antinutricionais, como ácido fítico; para modular o vigor ou viabilidade da semente e/ou plântula; para incorporar composições exógenas em uma semente, como proteínas ricas em lisina; para permitir a sincronização similar de amadurecimento de fruto para flores de florescimento precoce e tardio; ou para modular o uso de energia ou nutrientes em relação a outros órgãos e tecidos.

[0192] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem o crescimento, por exemplo, podem exigir a super -regulação de transcrição.

[0193] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em células, tecidos ou órgãos de siliquas ou frutos, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras células, órgãos ou tecidos.

[0194] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.10. Transcrição Preferencial de Calo

[0195] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em um calo podem ser úteis para modular a transcrição em células hospedeiras diferenciadas. Em uma transformação de planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, em calo é útil para modular a transcrição de um gene marcador, que pode facilitar a seleção de células que são transformadas com polinucleotídeos exógenos.

[0196] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam a capacidade de detecção de gene marcador, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0197] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.11. Transcrição Específica de Flores

[0198] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em flores podem modular a pigmentação; ou modular a fertilidade em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos em uma flor, é útil, para modular a cor das pétalas; ou para modular a fertilidade de pistilo e/ou estame.

[0199] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem a pigmentação, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0200] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em flores, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras células, órgãos ou tecidos.

[0201] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.12. Transcrição Preferencial de Inflorescência e Botão/Flor Imatura

[0202] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em um botão/flor imatura ou inflorescência podem calcular o tempo de crescimento, desenvolvimento, ou amadurecimento; ou modular a fertilidade ou viabilidade em células ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeo em um botão imaturo e/ou inflorescência, é útil, para modular o desenvolvimento, tamanho, e maturidade do embrião; para modular o desenvolvimento, tamanho, e composição do endosperma; para modular o número de sementes e frutos; ou para modular o desenvolvimento e viabilidade da semente.

[0203] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem o crescimento, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0204] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em botões/flores imaturas e inflorescências, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras células,

órgãos ou tecidos.

[0205] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.13. Transcrição Preferencial de Senescência

[0206] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial durante a senescência podem ser usados para modular a degeneração celular, mobilização de nutrientes, e sequestro de radicais livres em célula ou organismos hospedeiros. Outros tipos de respostas que podem ser modulados incluem, por exemplo, genes associados à senescência (SAG) que codificam as enzimas as quais se acredita estarem envolvidas na degeneração celular e mobilização de nutrientes (Arabidopsis; vide Hensel et al. (1993) Plant Cell 5: 553-64), e o gene theCP-2/catepsina L (rat; Kim and Wright (1997) Biol Reprod 57: 1467-77), ambos induzidos durante a senescência.

[0207] Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeos durante a senescência é útil para modular o amadurecimento do fruto.

[0208] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem o sequestro de radicais livres, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0209] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em células, tecidos, ou órgãos durante a senescência, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outras condições.

[0210] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

6.14.Transcrição Preferencial de Germinação

[0211] Os promotores e elementos de controle que fornecem transcrição preferencial em uma semente germinante podem calcular o tempo de crescimento, desenvolvimento, ou maturidade; ou modular a viabilidade em célula ou organismos hospedeiros. Em uma planta, por exemplo, a modulação preferencial de genes, transcrições, e/ou polipeptídeo em uma semente germinante, é útil, para modular o aparecimento dos hipocótilos, cotilédones e radical; ou para modular o crescimento e desenvolvimento de broto e raiz primária;

[0212] A super-regulação e infrarregulação de transcrição são úteis para essas aplicações. Por exemplo, os genes, transcrições, e/ou polipeptídeos que aumentam ou reduzem o crescimento, por exemplo, podem exigir a super-regulação de transcrição.

[0213] Tipicamente, o promotor ou elementos de controle, que fornecem transcrição preferencial em uma semente germinante, produzem níveis de transcrição que são estatisticamente significativos como comparado com outros tipos de células, órgãos ou tecidos.

[0214] Para super-regulação preferencial de transcrição, o promotor e elementos de controle produzem níveis de transcrição que estão acima daqueles de testes anteriores.

7.PROCEDIMENTOS E RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Transformação de Arroz Mediada por Agrobacterium

Indução de formação de calos a partir de sementes de arroz ma-

duras

[0215] As sementes maduras sem casca utilizam descascadores (Kett; Cat # TR120) e descartam aquelas manchadas se presentes. Transferir 100 sementes descascadas para um tubo cônico de 50 mL. Adicionar 24mL de água destilada autoclavada e então 6ml de Clorox™ (Clorox contém 5,25% de hipocloreto de sódio para que a concentração final seja 1,05%) e 2 a 3 gotas de Liqui-Nox®. Agitar o tubo de vez em quando durante 30min. Despejar a solução Clorox™ e enxaguar as sementes 5 vezes com água estéril. Secar as sementes em Kimwipes™ autoclavado durante alguns minutos. Transferir as sementes para o meio de N6-P semissólido (3,98 g/L N6 de mistura salina basal, 0,8 mg/L de KI, 0,025 mg/L de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,025 mg/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,25 mg/L de $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 mg/L de Glicina, 100 mg/L de Mio-inositol, 5 mg/L de Tiamina.HCl, 1 mg/L de Piridoxina.HCl, 1 mg/L de Ácido nicotínico, 2,8 g/L de Prolina, 300 mg/L de Ácido casamino, 30 g/L de Sucrose, 2 mg/L de Ácido 2,4-Dicloro-Fenoxiacético, 4g/L de Gel rite, pH 5,6); 10 sementes em cada placa de Petri. Cada placa de Petri contém 30 ml de meio N6-P. As placas são vedadas com uma fita antifúngica para permitir a troca de ar. Colocar as placas a 28°C sob luz fria fluorescente. Muitos calos granulares devem ser formados dentro de 4 semanas. Os calos de qualidade satisfatória consistem em células pequenas e esféricas com citoplasma denso, que são competentes para transformação. Os calos podem ser usados diretamente para infecção por *Agrobacterium*, ou podem ser subcultivados para uso posterior.

Infecção e co-cultivo de calos com células de *Agrobacterium*

[0216] Selecionar um único clone de *Agrobacterium* do estoque

e cultivá-lo em 2 mL de meio líquido YEB ao desenvolver o mesmo durante a noite em um agitador. Os antibióticos adequados são incluídos em 50 mg/L ou mais. Colocar o agitador a 28°C durante a noite. No dia seguinte, reinocular 25 µL de cultura em 5 mL de YEB líquido com seleção e crescimento a 28°C. No dia seguinte, utiliza-se essa cultura para transformação. Transferir a cultura líquida para um microtubo de 1,5 mL e centrifugar a mesma a 10.000 RPM durante 2 minutos. Descartar o sobrenadante e ressuspender as células em 15mL de meio líquido N6-AS (3,98g/L N6 de mistura salina basal, 0,8 mg/L de KI, 0,025 mg/L de CoCl₂.6H₂O, 0,025 mg/L de CuSO₄.5H₂O, 0,25 mg/L de NaMoO₄.2H₂O, 2 mg/L de Glicina, 100mg/L de Mio-inositol, 5 mg/L de Tiamina.HCl, 1 mg/L de Piridoxina.HCl, 1 mg/L de Ácido nicotínico, 1 g/L de Ácido casamino, 30 g/L de Sucrose, 10 g/L de Glicose, 2 mg/L de Ácido 2,4-Dicloro-Fenoxiacético, pH 5,6). Ajustar a densidade celular com o meio N6-AS. A densidade pode ser medida por um espectrofotômetro (utilizar alíquota de 750 µL para leitura). A leitura de OD600 ótima varia significativamente dependendo das cepas de Agrobacterium e às vezes vetores. Leitura ótima significa que não há crescimento excessivo de células de Agrobacterium em ao menos 3 dias de co-cultivo. O OD600 ótimo para arroz é 0,2. Misturar os calos de arroz com células de Agrobacterium . Isso é feito em um tubo cônico estéril de 50 mL. Colocar os tubos em uma bolsa plástica estéril de 3,78 litros (1 galão) e colocar a mesma de maneira horizontal em um agitador Durante 30 minutos. Pipetar a solução com uma pipeta de 10 mL. Transferir os calos para Kimwipes³ autoclavado para remover o excesso de solução. Remover qualquer meio de ágar, se presente, visto que

Agrobacterium irá se desenvolver mais rápido em ágar. Cultivar os calos em papel filtro autoclavado colocado no meio semissólido (meio N6-AS contendo 4g/L de Gel rite). Cada placa de 100 mm x 20 mm contém 10 a 20 mL de meio N6-AS. Vedar a placa com fita antifúngica. Cobrir as placas com folha de alumínio, pois a acetosiringona presente no meio é sensível à luz. Cocultivar os calos e células de *Agrobacterium* a 22oC no escuro até a massa de *Agrobacterium* poder ser observada a olho nu.

Seleção de calos transformados

[0217] Transferir os calos infectados com uma espátula estéril, descartável em um tubo estéril de 50 mL contendo 35 mL de água destilada estéril. Agitar o tubo durante alguns segundos e pipetar a água. Repetir a lavagem 3 vezes ou mais se necessário, até a solução ficar transparente. Para a lavagem final, adicionar carbenicilina à concentração de 500 mg/L. Transferir os calos com um "blue ino-loop" sobre 2 camadas grossas de papel Kimwipes³ autoclavado em uma placa Petri esférica grande para coloração. Cultivar os calos em placas contendo meio N6-P semissólido com 250mg/L de carbenicilina a 28oC sob luz fria fluorescente durante 6 dias. Cada placa de 100mm x 20mm contém 30 mL de meio N6-P, utilizar aproximadamente 4 placas de calos para cada construção. As placas são vedadas com fita antifúngica. Transferir os calos do meio de repouso para o meio de seleção contendo 250mg/L de carbenicilina e 5 mg/L de Bialaphos³ purificado (para seleção de gene BAR) ou 100 mg/L de sulfato de paromomicina (para seleção de gene NPTII) durante 14 dias. Para a segunda etapa de seleção, subcultivar os calos durante mais 14 dias. Os calos transformados tipicamente podem ser claramente observados no final

dessa seleção. A terceira seleção é feita se a segunda seleção não produzir calos suficientemente resistentes.

Regeneração de plantas transgênicas

[0218] Transferir os calos resistentes independentes para o meio de regeneração vegetal N6-R (3,98 g/L N6 de mistura salina basal, 0,8 mg/L KI, 0,025 mg/L de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,025 mg/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,25 mg/L de $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 mg/L de Glicina, 100 mg/L de Mio-inositol, 5 mg/L de Tiamina.HCl, 1 mg/L de Piridoxina.HCl, 1 mg/L de Ácido nicotínico, 1 g/L de Ácido casamino, 25 g/L de Sucrose, 25 g/L de Sorbitol, 2 mg/L de 6-Benzilaminopurina, 0,05 mg/L de ácido 1-naftalenoacético, 7 g/L de Agarose (Omnipur), pH 5,6). Cada placa de 100mm x 20mm contém 30 mL de meio N6-R, 4 ou 6 linhagens de calo sobre cada placa. As placas são vedadas com fita antifúngica. Cultivar os calos a 28°C sob luz fria fluorescente até os brotos e raízes serem formados. Tipicamente, os brotos devem ser observados dentro de 3 semanas. Transferir as plântulas para caixas Magenta contendo 30 mL $\frac{1}{2}$ de MS1A (2,165 g/L de sais MS, 1ml/L de estoque de vitaminas 1000x B5, 15 g/L de Sucrose, 5 g/L de ágar, pH 5,7). Desenvolver as plântulas a 28°C sob luz fria fluorescente durante 10 a 14 dias.

[0219] Dez eventos independentemente transformados (plântulas) são selecionados com um perfilho de cada evento avaliado para Expressão de GFP na geração de T0.

[0220] Preparação de Mistura de Terra: 6L de composto orgânico (Potting Soil) (Farmers Organic Potting Soil, Chino, CA) são misturados com 4L de "Turface" em um misturador de cimento para produzir uma mistura de terra de 60:40. À mistura de terra adiciona-se 1 tsp de Marathon com 1% de grânulos (Hummert,

Earth City, MO), 2 Tbsp de OSMOCOTE® 14-14-14 (Hummert, Earth City, MO). Uma vez por mês 1 Tbsp de fertilizante Peters 20-20-20 (J.R. Peters, Inc., Allentown, PA) é misturado em 11,35 litros (3 galões) de água e despejado no fundo plano para fertilizar. Vasos de azálea com 6 polegadas de diâmetro são usados para transplantação com 1 a 2 plantas por vaso.

[0221] Plantio: as plantas que se desenvolvem e caixas magenta são cuidadosamente retiradas do meio Agar MS. As raízes das plantas são limpas e divididas em perfilhos únicos em que cada perfilho possui uma raiz viável e nenhum material caloso residual. Os perfilhos são avaliados para expressão GFP e um perfilho de expressão positiva por evento independentemente transformado é transplantado para a terra e desenvolvido até a maturidade para análise adicional.

[0222] Manutenção de Planta: as plantas são bem regadas ao longo da duração do ciclo de vida. O fundo da caixa é limpo e água nova é adicionada duas vezes ao dia. Aproximadamente 21 dias após o plantio, o arroz é sub-irrigado com fertilizante de Peter em uma concentração de 1 Tsp por 11,35 litros (3 galões) de água. As plantas são analisadas para expressão de GFP nas gerações T0 plântula, T0 maduras e T1.

Teste e Imagem de GFP

[0223] As sequências de polinucleotídeo do presente documento foram testadas para atividade de promotor utilizando testes de Proteína Verde Fluorescente (GFP) da seguinte maneira.

[0224] Cada ácido nucleico isolado descrito na Listagem de Sequência foi clonado em um vetor de plasmídeo Ti, CRS380_Binary_DF_EGFP utilizando iniciadores adequados caudais com sítios de restrição SfiI. Reações de PCR padrão que utili-

zam esses iniciadores e DNA genômico foram realizadas. O produto resultante foi isolado, clivado com SfiI e clonado no sítio SfiI de um vetor adequado, como, CRS380_Binary_DF_EGFP (vide figura 1).

Teste de GFP em Calo de arroz

[0225] A expressão de GFP em calo de arroz pode ser observada entre o 4° e 7° dias após o co-cultivo. O calo de arroz usado para co-cultivo é observado sob um microscópio de dissecação Zeiss Stemi SVII para expressão de GFP. Para visualização da expressão de GFP utiliza-se um filtro GFP 500 no microscópio. As imagens observadas sob o microscópio podem ser transferidas, capturadas e armazenadas em um computador utilizando a câmera AxioCam (Zeiss) e software Axiovision.

Ensaio de GFP em Plântula T0

[0226] Cada evento independentemente transformado é dividido em perfilhos únicos que então são submetidos à imagem a laser de scanner Typhoon. Um perfilho de expressão positiva de GFP por evento é selecionado para análise GFP subsequente por microscopia confocal e por fim para transplantação para análise de tecido maduro adicional.

[0227] Varredura Typhoon: as plantas são inicialmente varridas com um Scanner Typhoon para examinar a expressão de GFP das plantas a um nível global. Se a expressão estiver presente, imagens são coletadas por imagem a laser de varredura Typhoon e microscopia confocal de varredura a laser. As imagens varridas do scanner Typhoon são obtidas como imagens 2-D de toda a planta e podem ser abertas utilizando o programa ImageQuant.

[0228] Microscopia Confocal: os tecidos são dissecados a olho

nu ou sob ampliação utilizando um fórceps de INOX grau 5 e colocados sobre uma lâmina com água e cobertos com uma lâmina. Uma tentativa é feita para gravar as imagens de padrões de expressão observados em estágios preliminares e mais recentes de desenvolvimento de tecidos listados abaixo. Tecidos específicos serão definidos possuindo expressão positiva ou nenhuma expressão.

Colmo Principal	Invólucro do feixe vascular, endoderme, epiderme, internódio, lígula, nó, não específico, periciclo, floema, camada de esclerênquima, vasculatura, xilema.
Espigueta por Panícula de Raiz	Córtex, epiderme, não específico, casca da raiz, vascular. Folha bandeira, não específica, ovário, pedúnculo, ramo principal, ráquila, raque, espigueta Camada de aleurona, antera, carpelo, embrião, endosperma, filamento, folha bandeira, flor (pálea), lema, não específico, óvulo, pedículo, pólen, semente, estigma
Folha	Epiderme, lâmina foliar, bainha foliar, margem, mesofilo, não específico, pecíolo, primórdios, estípula, estômato, tricoma, vasculatura
Meristema	Meristema floral, não específico, meristema apical caulinar, meristema vegetativo

[0229] Estereoscópio UV Ziess :os tecidos reprodutivos que são muito grandes para uso com o microscópio confocal são preparados utilizando um microscópio de dissecação sob alta ampliação utilizando um fórceps de INOX de grau 5 e colocados em uma lâmina. Uma tentativa é feita para gravar imagens de padrões de expressão observados em tecidos reprodutivos de ar-

roz maduros. Auxiovision é o programa usado para capturar imagens GFP sob as seguintes configurações:

GFP: 4900ms, ganho=3, resolução=1300 x 1030 interpolada

Campo claro: 100ms, conversão =raiz quadrada, resolução =1300 x 1030 interpolada.

T0 Madura

[0230] Essas são as plantas T0 que resultam de um único perfilho de cada evento de transformação independente que possui expressão GFP positiva predeterminada. Essas são avaliadas entre os estágios 3 a 5 (ou seja, entre o último ciclo vegetativo até a iniciação de panícula e maturação floral), que possui 6 a 8 semanas de idade. Nesse estágio a planta madura possui inflorescência em panícula jovem a flores adolescentes, folhas completamente expandidas, múltiplos nós e caule maduro e tecido de raiz. As plantas são inicialmente representadas em imagem utilizando o scanner Typhoon e então representadas em imagem em detalhes utilizando o microscópio Leica Confocal e Ziess UV Stereoscope para permitir o exame das plantas maduras em um nível global.

Plântula T1

[0231] A semente é coletada das plantas T0 e armazenadas para uso adicional em experimentos de indução.

RESULTADOS

[0232] Os Relatórios de Expressão de Promotor das tabelas apresentam os resultados dos testes GFP como relatado por seu número e número de linhagem de construção correspondente.

Análise de atividade de Promotor PD3525

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3525 (SEQ ID nº: 1)	
Promotor Testado Em: <i>Oryza sativa</i>	
Construção: PD3525	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3525 (SEQ ID nº: 1)																																																																							
Linhagem SR/OS: OS00669																																																																							
I.D de Promotor candidato: 60304231																																																																							
Expressão de eventos: 01																																																																							
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 PERFILHO ☒ TODOS OS TECI- DOS CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> </table> ☒ TODOS OS TECIDOS <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> <td></td> </tr> </table> RAIZ <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>EPIDERME</td> <td>TODOS OS TECI- DOS</td> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA FO LIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>TODOS OS TECI- DOS</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> </tr> </table> MERISTEMA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA FLORAL</td> <td>TODOS OS TECIDOS</td> <td>MERISTEMA CAL CAULINAR</td> <td>API- MERISTEMA VEGETATIVO</td> </tr> </table> T0 Madura						☐	☐	☐	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☐	☐	☐	☐	☐	☐	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA		☐	☐	☒	☐	☐	CÓRTEX	EPIDERME	TODOS OS TECI- DOS	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☐	☐	☐	☐	☐	☒	EPIDERME	LÂMINA FO LIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECI- DOS	☐	☐	☐	☐	☐	☐	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA	☐	☒	☐	☐	MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA CAL CAULINAR	API- MERISTEMA VEGETATIVO
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																		
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																																		
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																		
PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA																																																																			
☐	☐	☒	☐	☐																																																																			
CÓRTEX	EPIDERME	TODOS OS TECI- DOS	CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																																			
☐	☐	☐	☐	☐	☒																																																																		
EPIDERME	LÂMINA FO LIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECI- DOS																																																																		
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																		
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																																		
☐	☒	☐	☐																																																																				
MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA CAL CAULINAR	API- MERISTEMA VEGETATIVO																																																																				
Padrão de expressão observado: Plântula T0: Expressão fortemente observada em todos os tecidos da plântula. T0 Madura:																																																																							
Gene: Sorghum ID anot.: 8660387																																																																							
cDNA I.D: 71469037																																																																							
GenBank: S-adenosilmetionina sintetase por homologia a At3g17390																																																																							
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																																																																							
Vetor: CRS830_Binary_DF_EGFP																																																																							
Tipo de Marcador: EGFP																																																																							
Geração Varrida: Plântula T0																																																																							
Tabela 1. Expressão de Plântula T0 Órgãos/Tecidos varridos																																																																							
Eventos Varridos: n = 1 Expressão de Eventos: n = 1 (01)																																																																							
Órgãos PERFILHO ☒ TODOS OS TECI- DOS CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> </table>						☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																												
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																		

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3525 (SEQ ID nº: 1)					
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ
☒	☐	☐	☐	☐	☐
TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA
RAIZ					
☐	☐	☒	☐	☐	
CÓRTEX	EPIDERME	TODOS OS TECI- DOS	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	
FOLHA					
☐	☐	☐	☐	☐	☒
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECI- DOS
☐	☐	☐	☐	☐	☐
PECÍOLO	PRIMÓDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA
MERISTEMA					
☐	☒	☐	☐		
MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA APICAL CAULI- NAR	MERISTEMA VEGETATIVO		
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura			Órgãos/Tecidos varridos		
Eventos Varridos: n =			Expressão de Eventos: n =		
Órgãos					
Tabela 3. Utilidade de promotor					
Área Traço: Tolerância a sal, Eficácia de Uso de Água, Eficácia de Uso de Nutrientes, Utilização de Nutrientes, Biomassa Aumentada, BioConfinamento					
Área Sub-traço: Tolerância a sal, Tolerância à seca, Eficácia de Uso de Fosfato e Nitrato, Utilização de Fosfato e Nitrato, Arquitetura da Planta, Fotossíntese Aumentada, Composição e conversão de parede celular, Esterilidade masculina, Esterilidade feminina, Esterilidade total					
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, afetam a biologia reprodutiva, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.					
Observações:					

Análise de atividade de Promotor PD3559

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3559 (SEQ ID nº: 2)
Promotor Testado Em: Oryza sativa
Construção: PD3559
SR/OS Linhagem: OS00681
I.D de Promotor candidato: 72581236
Expressão de eventos: 01, 03, 04, 10, 11
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 PERFILHO
☒ NÃO ESPECÍFICO

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3559 (SEQ ID nº: 2)						
CULMO PRINCIPAL						
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	
☒	☐	☐	☐	☐	☐	☐
NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA	
RAIZ						
☐	☐	☒	☐	☐		
CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR		
FOLHA						
☐	☐	☐	☐	☐	☒	
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	
☐	☐	☐	☐	☐	☐	
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA	
MERISTEMA						
☐	☒	☐	☐			
MERISTEMA RAL	FLO- NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA APICAL CAULINAR	MERISTEMA VEG-ETATIVO			
T0 Madura						
Padrão de expressão observado: Plântula T0: a expressão é observada ao longo da folha e caule da planta. Entretanto, a expressão mais forte parece estar concentrada nos feixes vasculares do caule. Expressão de T0 Madura:						
Gene: Sorghum ID anot.: 8644338						
cDNA I.D: 71513981						
GenBank: pfam: Photosystem I reaction center subunit psaK						
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor						
Vetor: CRS830 Binary DF EGFP						
Tipo de Marcador: EGFP						
Geração Varrida: plântula T0						
Tabela 1. Expressão de Plântula T0 Órgãos/Tecidos varridos						
Eventos Varridos: n = 11 Expressão de Eventos: n = 5 (01, 03, 04, 10, 11)						
Órgãos						
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos						
Eventos Varridos: n = Expressão de Eventos: n =						
Órgãos						
Tabela 3. Utilidade de promotor						
Área Traço: tolerância a sal, Eficácia de Uso de Água, Eficácia de Uso de Nutrientes, Utilização de Nutrientes, Biomassa Aumentada						
Área Sub-traço: Tolerância a sal, Tolerância à seca, Eficácia de Uso de Fosfato e Nitrato, Utilização de Fosfato e Nitrato, Arquitetura da Planta, Fotossíntese Aumentada, Composição e conversão de parede celular						
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superex-						

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3559 (SEQ ID nº: 2)

pressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.

Análise de atividade de Promotor PD3560

Relatório de Expressão de Promotor para PD3560 (SEQ ID nº: 3)																																																																			
Promotor Testado em: Oryza sativa																																																																			
Construção: PD3560																																																																			
SR/OS Linhagem: OS00695																																																																			
I.D de Promotor candidato: 66557367																																																																			
Expressão de eventos: 01-02-03-04-05-06-07-09-10-11-12-13-14																																																																			
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 PERFILHO ☒ TODOS OS TECIDOS CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>TODOS OS TECI- DOS</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA ESCLERÊNQUIMA</td> <td>DE VASCULA- TURA</td> <td>XILEMA</td> </tr> </table> RAIZ <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>EPIDERME</td> <td>NÃO PECÍFICO</td> <td>ES- CASCA RAIZ</td> <td>DE VASCULAR</td> </tr> </table> FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA LIAR</td> <td>FO- BAINHA LIAR</td> <td>FO- MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>TODOS OS TECIDOS</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATU- RA</td> </tr> </table> MERISTEMA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA FLORAL</td> <td>TODOS OS TECIDOS</td> <td>MERISTEMA CAL CAULINAR</td> <td>API- MERISTEMA VEGETATIVO</td> </tr> </table> T0 Madura Padrão de expressão observado: Plântula T0: Expressão amplamente observada ao longo da planta. A expressão mais forte é observada em tecidos da parte aérea e mais fraca na raiz.		☐	☐	☐	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☒	☐	☐	☐	☐	☐	TODOS OS TECI- DOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA ESCLERÊNQUIMA	DE VASCULA- TURA	XILEMA	☐	☐	☒	☐	☐	CÓRTEX	EPIDERME	NÃO PECÍFICO	ES- CASCA RAIZ	DE VASCULAR	☐	☐	☐	☐	☐	☒	EPIDERME	LÂMINA LIAR	FO- BAINHA LIAR	FO- MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECIDOS	☐	☐	☐	☐	☐	☐	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATU- RA	☐	☒	☐	☐	MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA CAL CAULINAR	API- MERISTEMA VEGETATIVO
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																														
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																														
☒	☐	☐	☐	☐	☐																																																														
TODOS OS TECI- DOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA ESCLERÊNQUIMA	DE VASCULA- TURA	XILEMA																																																														
☐	☐	☒	☐	☐																																																															
CÓRTEX	EPIDERME	NÃO PECÍFICO	ES- CASCA RAIZ	DE VASCULAR																																																															
☐	☐	☐	☐	☐	☒																																																														
EPIDERME	LÂMINA LIAR	FO- BAINHA LIAR	FO- MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECIDOS																																																														
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																														
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATU- RA																																																														
☐	☒	☐	☐																																																																
MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA CAL CAULINAR	API- MERISTEMA VEGETATIVO																																																																

Relatório de Expressão de Promotor para PD3560 (SEQ ID nº: 3)																																																																				
T0 Madura:																																																																				
Gene: Sorghum ID anot.: 8654813																																																																				
cDNA I.D: 71484775																																																																				
GenBank: PFAM PSI_PSAK; Herpes_gp2; Abhydrolase_1																																																																				
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																																																																				
Vetor: CRS830_Binary_DF_EGFP																																																																				
Tipo de Marcador: EGFP																																																																				
Geração Varrida: Plântula T0																																																																				
Tabela 1. Expressão de Plântula T0 Órgãos/Tecidos varridos																																																																				
Eventos Varridos: n = 15 Expressão de Eventos: n = 13 (01-07, 09-14)																																																																				
Órgãos PERFILHO ☒ TODOS OS TECIDOS CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDO-DERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>TODOS OS TECIDOS</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> </tr> </table> RAIZ <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>EPIDERME</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>TODOS OS TECIDOS</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> </tr> </table> MERISTEMA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA FLORAL</td> <td>TODOS OS TECIDOS</td> <td>MERISTEMA CAULINAR</td> <td>MERISTEMA VEGETATIVO</td> </tr> </table> Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos Eventos Varridos: n = Expressão de Eventos: n = Órgãos			☐	☐	☐	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDO-DERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☒	☐	☐	☐	☐	☐	TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA	☐	☐	☒	☐	☐	CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☐	☐	☐	☐	☐	☒	EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECIDOS	☐	☐	☐	☐	☐	☐	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA	☐	☒	☐	☐	MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																															
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDO-DERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																															
☒	☐	☐	☐	☐	☐																																																															
TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA																																																															
☐	☐	☒	☐	☐																																																																
CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																																
☐	☐	☐	☐	☐	☒																																																															
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECIDOS																																																															
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																															
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																															
☐	☒	☐	☐																																																																	
MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TECIDOS	MERISTEMA CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO																																																																	

Relatório de Expressão de Promotor para PD3560 (SEQ ID nº: 3)	
Tabela 3. Utilidade de promotor	
Área Traço: Tolerância a sal, Eficácia de Uso de Água, Eficácia de Uso de Nutrientes, Utilização de Nutrientes, Biomassa Aumentada, Bio-Confinamento	
Área Sub-traço: Tolerância a sal, Tolerância à seca, Eficácia de Uso de Fosfato e Nitrato, Utilização de Fosfato e Nitrato, Arquitetura da Planta, Fotossíntese Aumentada, Composição e conversão de parede celular, Esterilidade masculina, Esterilidade feminina, Esterilidade total	
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, afetam a biologia reprodutiva, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.	

Análise de atividade de Promotor PD3561

Relatório de Expressão de Promotor para PD3561 (SEQ ID nº: 4)	
Promotor Testado em: Oryza sativa	
Construção: PD3561	
SR/OS Linhagem: OS00683	
I.D de Promotor candidato: 66234711	
Expressão de eventos: 01-03, 06, 07	
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 RAIZ	
☒	☒
CÓRTEX	EPIDERMÉ
☐	☒
CASCA DE RAIZ	VASCULAR
T0 Madura	
Padrão de expressão observado: Plântula T0: Expressão mais fortemente observada ao longo da raiz com a exceção da casca de raiz. T0 Madura:	
Gene: Sorghum ID anot.: 8702241	
cDNA I.D: 71499032	
GenBank: similar a 14 kDa polipeptídeo [Catharanthus roseus] GI:407410; contém inibidor Pfam de protease/armazenamento de semente/domínio de família LTP PF00234; go_function: ligação lipídica [goid 0008289]; go_process: transporte lipídico [goid 0006869] protein_id NP_567391.1 PFAM Tryp_alpha_amyl;	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor	
Vetor: CRS830_Binary_DF_EGFP	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varrida: Plântula T0	
Tabela 1. Expressão de Plântula T0	Órgãos/Tecidos varridos

Eventos Varridos: n = 7 Expressão de Eventos: n = 5 (01-03, 06, 07)	
Relatório de Expressão de Promotor para PD3561 (SEQ ID nº: 4)	
Órgãos ☒ CÓRTEX ☒ EPIDERMIS ☐ CASCA RAIZ ☒ DE VASCULAR	
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos	
Eventos Varridos: n = Expressão de Eventos: n =	
Órgãos	
Tabela 3. Utilidade de promotor	
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes	
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato	
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram a absorção e transporte de água e nutrientes	
Observações:	

Análise de atividade de Promotor PD3562

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3562 (SEQ ID nº: 5)	
Promotor Testado em: Oryza sativa	
Construção: PD3562	
SR/OS Linhagem: OS00684	
I.D de Promotor candidato: 72581080	
Expressão de eventos: 02-06-09-10	
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 CULMO PRINCIPAL ☐ INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR ☒ ENDODERMIS ☒ EPIDERMIS ☐ INTERNÓDIO ☐ LÍGULA ☐ NÓ ☐ TODOS OS TECIDOS ☐ PERICICLO ☐ FLOEMA ☐ CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA ☐ VASCULATURA XILEMA FOLHA ☒ EPIDERMIS ☐ LÂMINA FOLIAR ☐ BAINHA FOLIAR ☐ MARGEM ☒ MESÓFILO ☐ TODOS OS TECIDOS ☐ PECÍOLO ☐ PRIMÓDIOS ☐ ESTÍPULA ☐ ESTÔMATO ☐ VASCULATURA T0 Madura	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3562 (SEQ ID nº: 5)																																																	
Padrão de expressão observado: Plântula T0: expressão observada em tecidos da parte aérea, que inclui apenas o perfilho, folha, e culmo principal. A expressão parece restrita a tecidos verdes. T0 Madura:																																																	
Gene: Sorghum ID anot.: 8716063																																																	
cDNA I.D: 71571625																																																	
GenBank: PFAM Epimerase; Herpes_gp2; Herpes_BLLF1;																																																	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																																																	
Vetor: CRS830_Binary_DF_EGFP																																																	
Tipo de Marcador: EGFP																																																	
Geração Varrida: Plântula T0																																																	
Tabela 1. Expressão de Plântula T0 Órgãos/Tecidos varridos																																																	
Eventos Varridos: n = 10 Expressão de Eventos: n = 4 (02, 06, 09, 10)																																																	
Órgãos Plântula T0 CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>TODOS OS TECIDOS</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA XILEMA</td> <td></td> </tr> </table> FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>TODOS TECIDOS</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>VASCULATURA</td> <td></td> </tr> </table>		☐	☒	☒	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☐	☐	☐	☐	☐	☐	TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA XILEMA		☒	☐	☐	☐	☒	☐	EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS TECIDOS	☐	☐	☐	☐	☐		PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	VASCULATURA	
☐	☒	☒	☐	☐	☐																																												
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																												
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																												
TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA XILEMA																																													
☒	☐	☐	☐	☒	☐																																												
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS TECIDOS																																												
☐	☐	☐	☐	☐																																													
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	VASCULATURA																																													
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos																																																	
Eventos Varridos: n = Expressão de Eventos: n =																																																	
Órgãos																																																	
Tabela 3. Utilidade de promotor																																																	
Área Traço: Biomassa Aumentada, Composição Alterada																																																	
Área Sub-traço: Arquitetura da Planta, Fotossíntese Aumentada, Composição e conversão de parede celular																																																	
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.																																																	

Análise de atividade de Promotor PD3564

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3564 (SEQ ID n°:6)																																																																																																		
Organismo Avaliado: Oryza sativa																																																																																																		
Construção: PD3564																																																																																																		
SR/OS Linhagem: OS00686																																																																																																		
I.D de Promotor candidato: 72581280																																																																																																		
Expressão de eventos: 01-03, 07, 10-11, 13																																																																																																		
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varridos: n = 13 Expressão de Eventos: n = 7 (01-03, 07, 10-11, 13) MERISTEMA <table> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA FLORAL</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>MERISTEMA CAULINAR</td> <td>MERISTEMA VEGETATIVO</td> </tr> </table> FOLHA <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>CÉLULAS FIBROSAS</td> <td>FOLHA BANDEIRA</td> <td>CÉLULA-GUARDA</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> PERFILHO <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>FLOEMA</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> CULMO PRINCIPAL <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>DE ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> </tr> </table> T0 Madura Eventos Varridos: n = 5 Expressão de Eventos: n = 5 (01-03, 07, 10) MERISTEMA <table> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> </table>			☐	☒	☐	☐	MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO	☐	☐	☐	☐	☐	☐	EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FOLHA BANDEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	☐	☐	☒	☐	☐	☐	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	☐	☐	☐				ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA				☐	☐	☐	☐	☒	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	FLOEMA	☐	☐	☐				CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA				☐	☐	☐	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	DE ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☒	☐	☐	☐	☐	☐	NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA	☒	☐	☒	☒
☐	☒	☐	☐																																																																																															
MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO																																																																																															
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																																													
EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FOLHA BANDEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR																																																																																													
☐	☐	☒	☐	☐	☐																																																																																													
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA																																																																																													
☐	☐	☐																																																																																																
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																																																																
☐	☐	☐	☐	☒	☐																																																																																													
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	FLOEMA																																																																																													
☐	☐	☐																																																																																																
CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA																																																																																																
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																																													
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	DE ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																																																													
☒	☐	☐	☐	☐	☐																																																																																													
NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA																																																																																													
☒	☐	☒	☒																																																																																															

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3564 (SEQ ID n°:6)					
MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA CAL CAULINAR	API-MERISTEMA VEGETATIVO		
FOLHA					
☐	☐	☒	☐	☒	☒
EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FOLHA BANDA DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA LIAR	FO-BAINHA FOLIAR
☐	☐	☐	☐	☐	☐
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA
☒	☐	☒			
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA			
ESPIGUETA					
☐	☒	☒	☐	☐	☒
CAMADA DE ALEURONA	ANTERA	CARPELO	EMBRIÃO	ENDOSPERMA	FILAMENTO
☐	☐	☐	☐	☒	☐
LEMA	NÃO ESPECÍFICO	ÓVULO	PÁLEA	PEDICELO	PÓLEN
☐	☐				
SEMENTE	STIGMA				
PANÍCULO					
☐	☒	☒	☐	☐	☐
NÃO ESPECÍFICO	OVÁRIO	PEDÚNCULO	RAMO PRINCIPAL	RÂQUILA	RAQUE
☒					
ESPIGUETA					
CULMO PRINCIPAL					
☐	☒	☒	☐	☐	☒
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ
☐	☐	☒	☒	☒	☒
NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA
Padrão de expressão observado: Plântula T0: a expressão de GFP foi principalmente detectada no broto emergente. Expressão de T0 Madura: De modo vegetativo, a expressão foi principalmente observada nas camadas epidérmicas do espaço internodal, compatível com o papel em função meristemática. Expressão significativa também foi detectada nas anteras nos órgãos reprodutores. Nenhuma expressão foi detectada nas raízes.					

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3564 (SEQ ID n°:6)	
Critérios de Seleção: Baseado em: 1) # clones EST publicamente disponíveis mapeados no genoma de sorgo e 2) # clones em agrupamentos SWG EST	
Gene: Gene Putativo Tryp_alpha_amyl com função proposta em transporte lipídico	
cDNA I.D: 71472091	
GenBank: Tryp_alpha_amyl;	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor	
Vetor: CRS830 Binário DF EGFP	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varreda: Plântula T0 and T0 Madura	

Utilidade de promotor
Área Traço: Aumento de Biomassa, Esterilidade
Área Sub-traço: Arquitetura da Planta, Crescimento da Planta, Esterilidade Masculina
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: o crescimento e desenvolvimento de tecidos meristemáticos nos nós para aprimorar a arquitetura da planta e/ou aumentar a biomassa, e elaborar a esterilidade masculina afetando o crescimento e/ou desenvolvimento das anteras.

Análise de atividade de Promotor PD3565

Relatório de Expressão de Promotor para PD3565 (SEQ ID n°:7)		
Organismo Avaliado: Oryza sativa		
Construção: PD3565		
SR/OS Linhagem: OS00687		
I.D de Promotor candidato: 66234721		
Expressão de eventos: 02, 05-07, 09, 12-13		
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varredos: n = 14 Expressão de Eventos: n = 7 (02, 05-07, 09, 12-13) RAIZ		
☐	☐	☐
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME
☐	☐	☒
CASCA DE	VASCULAR	RAIZ LATERAL
		NÃO-ESPECÍFICO

Relatório de Expressão de Promotor para PD3565 (SEQ ID n°:7)																																																													
RAIZ T0 Madura Eventos Varridos: n = 6 Expressão de Eventos: n = 6 (02, 05-07, 09, 12) FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>CÉLULAS FI- BROSAS</td> <td>FOLHA BAN- DEIRA</td> <td>CÉLULA- GUARDA</td> <td>LÂMINA FO- LIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ES- PECÍFICO</td> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> RAIZ <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>EXODERME</td> <td>RAIZ LATER- AL</td> <td>NÃO ES- PECÍFICO</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td colspan="4"></td> </tr> <tr> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> <td colspan="4"></td> </tr> </table> Padrão de expressão observado: Plântula T0: a expressão de GFP foi detectada apenas nas raízes laterais. Expressão de T0 Madura: a expressão é mais forte nas raízes. As raízes laterais, fibrosas possuem expressão mais forte do que raízes mais antigas, mais maduras. Critérios de Seleção: ortólogo putativo em lg77330. Gene: 1-Aminociclopropano-1-carboxilato oxidase putativa cDNA I.D: 71472091 GenBank: Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor Vetor: CRS830 Binary DF EGFP Tipo de Marcador: EGFP Geração Varrida: Plântula T0 e T0 Madura		☐	☒	☐	☐	☐	☐	EPIDERME	CÉLULAS FI- BROSAS	FOLHA BAN- DEIRA	CÉLULA- GUARDA	LÂMINA FO- LIAR	BAINHA FOLIAR	☐	☒	☐	☐	☐	☐	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ES- PECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	☐	☐	☐				ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA				☐	☒	☒	☒	☐	☒	CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATER- AL	NÃO ES- PECÍFICO	☐	☒					CASCA DE RAIZ	VASCULAR				
☐	☒	☐	☐	☐	☐																																																								
EPIDERME	CÉLULAS FI- BROSAS	FOLHA BAN- DEIRA	CÉLULA- GUARDA	LÂMINA FO- LIAR	BAINHA FOLIAR																																																								
☐	☒	☐	☐	☐	☐																																																								
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ES- PECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA																																																								
☐	☐	☐																																																											
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																											
☐	☒	☒	☒	☐	☒																																																								
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATER- AL	NÃO ES- PECÍFICO																																																								
☐	☒																																																												
CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																												
Utilidade de promotor Área Traço: Aumento de Biomassa, Esterilidade Área Sub-traço: Arquitetura da Planta, Crescimento da																																																													

Planta, Esterilidade Masculina

Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: o crescimento e desenvolvimento de tecidos meristemáticos nos nós para aprimorar a arquitetura da planta e/ou aumentar a biomassa, e elaborar a esterilidade masculina afetando o crescimento e/ou desenvolvimento das anteras.

Análise de atividade de Promotor PD3567y

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3567 (SEQ ID n°: 13)																																	
Organismo Avaliado: Oryza sativa																																	
Construção: PD3567																																	
SR/OS Linhagem: OS00814																																	
I.D de Promotor candidato: 71811444																																	
Expressão de eventos: 2-7																																	
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varridos: n = 10 (01-02-08-09) Expressão de Eventos: n = 4 RAIZ <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>EXODERME</td> <td>RAIZ LAT-ERAL</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> </tr> </table> <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> T0 Madura Eventos Varridos: n = 4 (01-02-08-09) Expressão de Eventos: n = 4 (01-02-08-09) RAIZ <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>EXODERME</td> <td>RAIZ LAT-ERAL</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> </tr> </table> <table> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> Padrão de expressão observado: Plântula T0: expressão observadas nas raízes. Expressão de T0 Madura: expressão observada especificamente na epiderme e vasculatura das raízes Critérios de Seleção: Ortólogo em 4g13180		☐	☐	☐	☐	☐	☒	CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LAT-ERAL	NÃO ESPECÍFICO	☐	☐	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☐	☐	☒	☐	☐	☐	CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LAT-ERAL	NÃO ESPECÍFICO	☐	☒	CASCA DE RAIZ	VASCULAR
☐	☐	☐	☐	☐	☒																												
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LAT-ERAL	NÃO ESPECÍFICO																												
☐	☐																																
CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																
☐	☐	☒	☐	☐	☐																												
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LAT-ERAL	NÃO ESPECÍFICO																												
☐	☒																																
CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3567 (SEQ ID n°: 13)	
Gene: Sorghum ID anot.: 6004190	
cDNA I.D: 71396005	
GenBank: pfam: similar à desidrogenase/redutase do tipo cadeia curta	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor	
Vetor: CRS830 Binary DF EGFP	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varreda: plântula T0 and T0 Madura	

Utilidade de promotor
Área Traço: eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes
Área Sub-traço: absorção de água aumentada, absorção de nitrogênio aumentada
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a absorção e/ou transporte de água e/ou nutrientes até e através do sistema radicular.

Análise de atividade de Promotor PD3573

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3573 (SEQ ID n°:8)	
Organismo Avaliado: Oryza sativa	
Construção: PD3573	
SR/OS Linhagem: OS00675	
I.D de Promotor candidato: 58715949	
Expressão de eventos: 01-04	
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 RAIZ ☐ ☒ ☒ ☐ ☐ CÓRTEX EPIDERME EXODERME CASCA DE RAIZ VASCULAR T0 Madura	
Padrão de expressão observado: Plântula T0: a expressão de GFP é detectada especificamen-	

Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos	
Eventos Varridos: n =	Expressão de Eventos: n =
Órgãos	
Tabela 3. Utilidade de promotor	
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes	
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato	
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram a absorção de água e nutrientes e eficácia de uso.	

Relatório de Expressão de Promotor para PD3574 (SEQ ID n°:9)	
Promotor Testado em: Oryza sativa	
Construção: PD3574	
SR/OS Linhagem: OS00677	
I.D de Promotor candidato: 57384231	
Expressão de eventos: 01-03-05-07-11-12-13	

Relatório de Expressão de Promotor para PD3574 (SEQ ID nº:9)																																																																								
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 PERFILHO ☒ NÃO ESPECÍFICO CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>ES-PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> </tr> </table> RAIZ <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>EPIDERME</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> </tr> </table> MERISTEMA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA FLORAL</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>MERISTEMA APICAL CAULINAR</td> <td>MERISTEMA VEGETATIVO</td> </tr> </table> T0 Madura							☐	☐	☐	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☒	☐	☐	☐	☐	☐	NÃO ESPECÍFICO	ES-PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA	☐	☐	☒	☐	☐	CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☐	☐	☐	☐	☐	☒	EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	☐	☐	☐	☐	☐	☐	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA	☐	☒	☐	☐	MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA APICAL CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																			
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																																			
☒	☐	☐	☐	☐	☐																																																																			
NÃO ESPECÍFICO	ES-PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA																																																																			
☐	☐	☒	☐	☐																																																																				
CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																																				
☐	☐	☐	☐	☐	☒																																																																			
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO																																																																			
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																			
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																																			
☐	☒	☐	☐																																																																					
MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA APICAL CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO																																																																					
Padrão de expressão observado: Plântula T0: expressão observada ao longo da planta, porém não tão fortemente. Expressão em raízes parece limitada às raízes secundárias. Expressão de T0 Madura:																																																																								
Gene: Sorghum ID anot.: 8656219																																																																								
cDNA I.D: 71490667																																																																								
GenBank: pfam: fator de prolongamento de tradução																																																																								
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																																																																								
Vetor: CRS830_Binary_DF_EGFP																																																																								
Tipo de Marcador: EGFP																																																																								
Geração Varrida: Plântula T0																																																																								

Relatório de Expressão de Promotor para PD3574 (SEQ ID n°:9)							
Tabela 1. Expressão de Plântula T0						Órgãos/Tecidos varridos	
Eventos Varridos: n = 13 Expressão de Eventos: n = 7 (01,03,05,07,11-13)							
Órgãos							
PERFILHO							
☒							
NÃO ESPECÍFICO							
CULMO PRINCIPAL							
☐		☐		☐		☐	
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR		ENDODERME		EPIDERME		INTERNÓDIO	
☐		☐		☐		☐	
NÃO ESPECÍFICO		PERICICLO		FLOEMA		CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	
☒		☐		☐		☐	
RAIZ							
☐		☐		☒		☐	
CÓRTEX		EPIDERME		NÃO ESPECÍFICO		CASCA DE RAIZ	
☐		☐		☐		☐	
FOLHA							
☐		☐		☐		☐	
EPIDERME		LÂMINA FOLIAR		BAINHA FOLIAR		MARGEM	
☐		☐		☐		☐	
MESÓFILO		NÃO ESPECÍFICO		VASCULATURA			
☐		☐		☐		☐	
PECÍOLO		PRIMÓRDIOS		ESTÍPULA		ESTÔMATO	
☐		☐		☐		☐	
TRICOMA		VASCULATURA					
MERISTEMA							
☐		☒		☐		☐	
MERISTEMA FLORAL		NÃO ESPECÍFICO		MERISTEMA APICAL CAULINAR		MERISTEMA VEGETATIVO	
☐							
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura						Órgãos/Tecidos varridos	
Eventos Varridos: n =						Expressão de Eventos: n =	
Órgãos							
Tabela 3. Utilidade de promotor							
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes, biomassa aumentada.							
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato, arquitetura da planta, fotossíntese aumentada, composição e conversão de parede celular.							

Relatório de Expressão de Promotor para PD3574 (SEQ ID n°:9)	
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.	

Análise de atividade de Promotor PD3578

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3578 (SEQ ID n°:10)																									
Organismo Avaliado: Oryza sativa																									
Construção: PD3578																									
SR/OS Linhagem: OS00676																									
I.D de Promotor candidato: 58715987																									
Expressão de eventos: 01-04, 06-07																									
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 FOLHA <table border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> </tr> </table> T0 Madura		☒	☐	☐	☐	☐	☒	EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	☐	☐	☐	☐	☐	☐	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA
☒	☐	☐	☐	☐	☒																				
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO																				
☐	☐	☐	☐	☐	☐																				
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																				
Padrão de expressão observado: Plântula T0: A expressão é detectada especificamente em tecidos de folhas verdes. Expressão de T0 Madura:																									
Gene: Sorghum Annot ID: 8743381																									
cDNA I.D: 88992707																									
GenBank: observação similar à frutose-bisfosfato aldolase PIR S65073 (EC 4.1.2.13) isoenzima C-1, citosólico [Oryza sativa]; contém perfil Pfam PF00274 Frutose-bisfosfato aldolase classe-I; go_component: citoplasma [goid 0005737]; go_function: atividade de frutose-bisfosfato aldolase [goid 0004332]; go_process: pentose-fosfato [goid 0006098] PFAM Glicolítico;																									
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																									
Vetor: CRS830 Binary DF EGFP																									
Tipo de Marcador: EGFP																									
Geração Varrida																									

Tabela 1. Expressão de Plântula T0			Órgãos/Tecidos varridos		
Eventos Varridos: n = 7			Expressão de Eventos: n = 7 (01-04, 06, 07)		
Órgãos					
FOLHA					
☒	☐	☐	☐	☒	☒
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FO-LIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ES-PECÍFICO
☐	☐	☐	☐	☐	☒
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA

Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura		Órgãos/Tecidos varridos	
Eventos Varridos: n =		Expressão de Eventos: n =	
Órgãos			

Tabela 3. Utilidade de promotor	
Área Traço: Biomassa Aumentada	
Área Sub-traço: Fotossíntese Aumentada, Composição e conversão de parede celular	
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram a eficácia fotossintética, a composição dos caules, e/ou o equilíbrio entre carbono-nitrogênio.	

[0233] PD3775, uma versão truncada de promotor PD3578 (SEQ ID nº:10) contendo nucleotídeos 1801 a 2500 da SEQ ID nº:10 foi construída e testada como descrito aqui. Nenhuma expressão foi observada nessa função truncada.

Análise de atividade de Promotor PD3579

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3579 (SEQ ID nº:11)	
Promotor Testado em: Oryza sativa	
Construção: PD3579	
SR/OS Linhagem: OS00678	
I.D de Promotor candidato: 57384219	
Expressão de eventos: 01-11	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3579 (SEQ ID n°:11)																																																																			
Resumo de expressão espacial: Calo: Expressão forte Plântula T0 PERFILHO ☒ NÃO ESPECÍFICO CULMO PRINCIPAL <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> </table> <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ES-CLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA XILEMA</td> <td></td> </tr> </table> RAIZ <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>EPIDERME</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> FOLHA <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> </tr> </table> <table> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> </tr> </table> MERISTEMA <table> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA FLORAL</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>MERISTEMA APICAL CAULINAR</td> <td>MERISTEMA VEGETATIVO</td> </tr> </table> T0 Madura		☒	☒	☒	☒	☒	☒	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	☒	☒	☒	☒	☒	☒	NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ES-CLERÊNQUIMA	VASCULATURA XILEMA		☒	☒	☒	☒	☐	CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☒	☒	☒	☐	☒	☒	EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	☒	☐	☒	☒	☐	☒	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA	☐	☒	☐	☐	MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA APICAL CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO
☒	☒	☒	☒	☒	☒																																																														
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																														
☒	☒	☒	☒	☒	☒																																																														
NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ES-CLERÊNQUIMA	VASCULATURA XILEMA																																																															
☒	☒	☒	☒	☐																																																															
CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																															
☒	☒	☒	☐	☒	☒																																																														
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO																																																														
☒	☐	☒	☒	☐	☒																																																														
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																														
☐	☒	☐	☐																																																																
MERISTEMA FLORAL	NÃO ESPECÍFICO	MERISTEMA APICAL CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO																																																																
Padrão de expressão observado: Calo: Expressão forte Plântula T0: forte expressão em todos os tecidos analisados T0 Madura:																																																																			
Gene: Sorghum ID anot.: 7953526																																																																			
cDNA I.D: 88923113																																																																			
GenBank: pfam: Ubiquitina; função: degradação de proteína;																																																																			

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3579 (SEQ ID n°:11)																																																																																															
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																																																																																															
Vetor: CRS803_Promotor_EGFP																																																																																															
Tipo de Marcador: EGFP																																																																																															
Geração Varrida: Plântula T0																																																																																															
Tabela 1. Expressão de Plântula T0 Órgãos/Tecidos varridos																																																																																															
Eventos Varridos: n = 11 Expressão de Eventos: n = 11 (01-11)																																																																																															
Órgãos Plântula T0 PERFILHO ☒ NÃO ESPECÍFICO CULMO PRINCIPAL <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> <tr> <td>FEIXE VASCU-</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>LAR</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>NÃO ESPECÍFI-</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA DE ES-</td> <td>VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> </tr> <tr> <td>CO</td> <td></td> <td></td> <td>CLERÊNQUIMA</td> <td></td> <td></td> </tr> RAIZ <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>EPIDERME</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> FOLHA <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>LÂMINA</td> <td>FO- BAINHA</td> <td>FO- MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO</td> </tr> <tr> <td></td> <td>LIAR</td> <td>LIAR</td> <td></td> <td></td> <td>ESPECÍFICO</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> </tr> <tr> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULA-TU</td> </tr> MERISTEMA <table> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MERISTEMA</td> <td>NÃO ES-</td> <td>MERISTEMA</td> <td>API- MERISTEMA</td> </tr> <tr> <td>FLORAL</td> <td>PECÍFICO</td> <td>CAL CAULINAR</td> <td>VEGETATIVO</td> </tr> </table> </table></table></table>		☒	☒	☒	☒	☒	☒	INVÓLUCRO DE	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	FEIXE VASCU-						LAR						☒	☒	☒	☒	☒	☒	NÃO ESPECÍFI-	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ES-	VASCULATURA	XILEMA	CO			CLERÊNQUIMA			☒	☒	☒	☒	☐	CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☒	☒	☒	☐	☒	☒	EPIDERME	LÂMINA	FO- BAINHA	FO- MARGEM	MESÓFILO	NÃO		LIAR	LIAR			ESPECÍFICO	☒	☐	☒	☒	☐	☒	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULA-TU	☐	☒	☐	☐	MERISTEMA	NÃO ES-	MERISTEMA	API- MERISTEMA	FLORAL	PECÍFICO	CAL CAULINAR	VEGETATIVO
☒	☒	☒	☒	☒	☒																																																																																										
INVÓLUCRO DE	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																																																																										
FEIXE VASCU-																																																																																															
LAR																																																																																															
☒	☒	☒	☒	☒	☒																																																																																										
NÃO ESPECÍFI-	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ES-	VASCULATURA	XILEMA																																																																																										
CO			CLERÊNQUIMA																																																																																												
☒	☒	☒	☒	☐																																																																																											
CÓRTEX	EPIDERME	NÃO ESPECÍFICO	CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																																																											
☒	☒	☒	☐	☒	☒																																																																																										
EPIDERME	LÂMINA	FO- BAINHA	FO- MARGEM	MESÓFILO	NÃO																																																																																										
	LIAR	LIAR			ESPECÍFICO																																																																																										
☒	☐	☒	☒	☐	☒																																																																																										
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULA-TU																																																																																										
☐	☒	☐	☐																																																																																												
MERISTEMA	NÃO ES-	MERISTEMA	API- MERISTEMA																																																																																												
FLORAL	PECÍFICO	CAL CAULINAR	VEGETATIVO																																																																																												
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos																																																																																															
Eventos Varridos: n = Expressão de Eventos: n =																																																																																															

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3579 (SEQ ID n°:11)	
Órgãos	
Tabela 3. Utilidade de promotor	
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes, biomassa aumentada, bioconfinamento	
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato, arquitetura da planta, fotossíntese aumentada, composição e conversão de parede celular, esterilidade masculina, esterilidade feminina, esterilidade total	
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, afetam a biologia reprodutiva, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.	

Análise de atividade de Promotor PD3580

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3580 (SEQ ID n°:12)																																					
Promotor Testado Em: Oryza sativa																																					
Construção: PD3580																																					
SR/OS Linhagem: OS00679																																					
I.D de Promotor candidato: 57384217																																					
Expressão de eventos: 03-05-06-08-10-12																																					
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 PERFILHO ☒ TODOS OS TECIDOS CULMO PRINCIPAL <table border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>INTERNÓDIO</td> <td>LÍGULA</td> <td>NÓ</td> </tr> <tr> <td>FEIXE VASCULAR</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>TODOS OS TECIDOS</td> <td>PERICICLO</td> <td>FLOEMA</td> <td>CAMADA</td> <td>DE VASCULATURA</td> <td>XILEMA</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>ESCLERÊNQUIMA</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		☒	☐	☐	☐	☐	☐	INVÓLUCRO DE	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ	FEIXE VASCULAR						☒	☐	☐	☐	☐	☐	TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA	DE VASCULATURA	XILEMA				ESCLERÊNQUIMA		
☒	☐	☐	☐	☐	☐																																
INVÓLUCRO DE	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ																																
FEIXE VASCULAR																																					
☒	☐	☐	☐	☐	☐																																
TODOS OS TECIDOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA	DE VASCULATURA	XILEMA																																
			ESCLERÊNQUIMA																																		

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3580 (SEQ ID n°:12)		
RAIZ ☐ CÓRTEX ☐ EPIDERME ☒ TODOS OS TECIDOS ☐ CASCA DE RAIZ ☐ VASCULAR FOLHA ☐ EPIDERME ☐ LÂMINA FOLIAR ☐ BAINHA FOLIAR ☐ MARGEM ☐ MESÓFILO ☒ TODOS OS TECIDOS ☐ PECÍOLO ☐ PRIMÓDIOS ☐ ESTÍPULA ☐ ESTÔMATO ☐ TRICOMA ☐ VASCULATURA MERISTEMA ☐ MERISTEMA FLORAL ☒ TODOS OS TECIDOS ☐ MERISTEMA APICAL CAULINAR ☐ MERISTEMA VEGETATIVO T0 Madura Padrão de expressão observado: Plântula T0: Expressão mais fortemente observada ao longo de todos os tecidos da plântula. Expressão de T0 Madura: Gene: Sorghum ID anot.: 8744325 cDNA I.D: 88993479 GenBank: pfam: Ubiquitina; função: degradação de proteína; Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor Vetor: CRS830_Binary_DF_EGFP Tipo de Marcador: EGFP Geração Varrida: Plântula T0 Tabela 1. Expressão de Plântula T0 Órgãos/Tecidos varridos Eventos Varridos: n = 12 Expressão de Eventos: n = 6 (03,05,06,08,10,12) Órgãos PERFILHO ☒ TODOS OS TECIDOS CULMO PRINCIPAL ☐ INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR ☐ ENDODERME ☐ EPIDERME ☐ INTERNÓDIO ☐ LÍGULA ☐ NÓ		

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3580 (SEQ ID n°:12)						
☒	☐	☐	☐	☐	☐	
TODOS OS TECI- DOS	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUI- MA	VASCULATU- RA	XILEMA	
RAIZ						
☐	☐	☒	☐	☐		
CÓRTEX	EPIDERME	TODOS OS TECIDOS	CASCA DE RAIZ	VASCULAR		
FOLHA						
☐	☐	☐	☐	☐	☒	
EPIDERME	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FO- LIAR	MARGEM	MESÓFILO	TODOS OS TECIDOS	
☐	☐	☐	☐	☐	☐	
PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA	
MERISTEMA						
☐	☒	☐	☐			
MERISTEMA FLORAL	TODOS OS TE- CIDOS	MERISTEMA APIC- AL CAULINAR	MERISTEMA VEGETATIVO			
Tabela 2. Expressão de Planta T0 Madura Órgãos/Tecidos varridos						
Eventos Varridos: n =			Expressão de Eventos: n =			
Órgãos						
Tabela 3. Utilidade de promotor						
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes, biomassa aumentada, bioconfinamento						
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato, arquitetura da planta, fotossíntese aumentada, composição e conversão de parede celular, esterilidade masculina, esterilidade feminina, esterilidade total						
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, afetam a biologia reprodutiva, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.						

Análise de atividade de Promotor PD3655

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3655 (SEQ ID n°:14)	
Organismo Avaliado: Oryza sativa	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3655 (SEQ ID nº:14)																																	
Construção: PD3655																																	
SR/OS Linhagem: OS00802																																	
I.D de Promotor candidato: 66234713																																	
Expressão de eventos: 01-07, 09-14																																	
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varridos: n = 15 (01-07, 09-14) Expressão de Eventos: n = 14 RAIZ <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>EXODERME</td> <td>RAIZ LATERAL</td> <td>NÃO ES-PECÍFICO</td> </tr> </table> <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table> T0 Madura Eventos Varridos: n = 14 (02-05-06-07-09-12) Expressão de Eventos: n = 6 RAIZ <table> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>EXODERME</td> <td>RAIZ LA-TERAL</td> <td>NÃO ES-PECÍFICO</td> </tr> </table> <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> </tr> </table>		☒	☒	☒	☐	☐	☐	CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ES-PECÍFICO	☐	☐	CASCA DE RAIZ	VASCULAR	☒	☐	☐	☐	☐	☐	CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LA-TERAL	NÃO ES-PECÍFICO	☐	☐	CASCA DE RAIZ	VASCULAR
☒	☒	☒	☐	☐	☐																												
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ES-PECÍFICO																												
☐	☐																																
CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																
☒	☐	☐	☐	☐	☐																												
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LA-TERAL	NÃO ES-PECÍFICO																												
☐	☐																																
CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																
Padrão de expressão observado: Plântula T0: a expressão de GFP foi detectada apenas nas raízes laterais. Expressão de T0 Madura: a expressão é mais forte nas raízes. As raízes laterais, fibrosas possuem expressão mais forte do que as raízes mais antigas, mais maduras.																																	
Critérios de Seleção: Ortólogo putativo em 4g12520/At4g12510.																																	
Gene:																																	
cDNA I.D: 71499034																																	
GenBank: Pfam inibidor de protease/armazenamento de semente /domínio de família LTP PF00234																																	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor																																	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3655 (SEQ ID n°:14)	
Vetor: CRS830 Binary DF EGFP	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varreda: plântula T0 e T0 Madura	

Análise de atividade de Promotor PD3720

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3720 (SEQ ID n°:15)																																					
Data do Relato: 3 de março de 2009																																					
Organismo Avaliado: Oryza sativa																																					
Construção: PD3720																																					
SR/OS Linhagem: OS00833																																					
I.D de Promotor candidato: 73638700																																					
Expressão de eventos: 06, 13-15																																					
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varredos: n = 16 Expressão de Eventos: n = 0 (--)) Sem Expressão T0 Madura Eventos Varredos: n = 15 Expressão de Eventos: n = 4 (06, 13-15) ESPIGUETA <table border="0"> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CAMADA DE ALEURONA</td> <td>ANTERA</td> <td>CARPELO</td> <td>EMBRIÃO</td> <td>ENDOSPERMA</td> <td>FILAMENTO</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>LEMA</td> <td>NÃO ES-PECÍFICO</td> <td>ÓVULO</td> <td>PÁLEA</td> <td>PEDICELO</td> <td>PÓLEN</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>SEMENTE</td> <td>STIGMA</td> <td>ESTILETE</td> <td>LODÍCULO</td> <td></td> <td></td> </tr> </table> Padrão de expressão observado: Plântula T0: Nenhuma expressão foi detectada. Expressão de T0 Madura: A expressão foi detectada apenas no estigma, estilete, e lodícula da flor. Critérios de Seleção: Elemento da família SEP de genes em sorgo Expressão esperada em meristema floral, antes do desenvolvimento do		☐	☐	☐	☐	☐	☐	CAMADA DE ALEURONA	ANTERA	CARPELO	EMBRIÃO	ENDOSPERMA	FILAMENTO	☐	☐	☐	☐	☐	☐	LEMA	NÃO ES-PECÍFICO	ÓVULO	PÁLEA	PEDICELO	PÓLEN	☐	☒	☒	☒			SEMENTE	STIGMA	ESTILETE	LODÍCULO		
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																
CAMADA DE ALEURONA	ANTERA	CARPELO	EMBRIÃO	ENDOSPERMA	FILAMENTO																																
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																
LEMA	NÃO ES-PECÍFICO	ÓVULO	PÁLEA	PEDICELO	PÓLEN																																
☐	☒	☒	☒																																		
SEMENTE	STIGMA	ESTILETE	LODÍCULO																																		

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3720 (SEQ ID n°:15)	
órgão floral.	
Gene: Domínio putativo MADS-BOX contendo fator de transcrição	
cDNA I.D: 71491493	
GenBank: caixa K; SRF-TF	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor	
Vetor: CRS830 Binary DF EGFP	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varrida: Plântula T0 e T0 Madura	

Análise de atividade de Promotor PD3777

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3777 (nucleotídeos 501-2000 of SEQ ID n°:12)																																																																			
Organismo Avaliado: Oryza sativa																																																																			
Construção: PD3777																																																																			
SR/OS Linhagem: OS00865																																																																			
I.D de Promotor candidato: 89744768																																																																			
Expressão de eventos: 2-7																																																																			
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varridos: n = 7 Expressão de Eventos: n = 6 (02-07) FOLHA <table> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>CÉLULAS FIBROSAS</td> <td>FOLHA BAN-DEIRA</td> <td>CÉLULA-GUARDA</td> <td>LÂMINA FOLLIAR</td> <td>BAINHA FOLLIAR</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td colspan="6">RAIZ</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☒</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>CÓRTEX</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>EXODERME</td> <td>RAIZ LATERAL</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☒</td> <td colspan="4"></td> </tr> <tr> <td>CASCA DE RAIZ</td> <td>VASCULAR</td> <td colspan="4"></td> </tr> </table>		☒	☒	☒	☐	☒	☐	EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLLIAR	BAINHA FOLLIAR	☐	☐	☐	☐	☐	☐	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	☒	☐	☒				ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA				RAIZ						☒	☒	☒	☒	☒	☐	CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ESPECÍFICO	☒	☒					CASCA DE RAIZ	VASCULAR				
☒	☒	☒	☐	☒	☐																																																														
EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLLIAR	BAINHA FOLLIAR																																																														
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																														
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA																																																														
☒	☐	☒																																																																	
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																																	
RAIZ																																																																			
☒	☒	☒	☒	☒	☐																																																														
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ESPECÍFICO																																																														
☒	☒																																																																		
CASCA DE RAIZ	VASCULAR																																																																		

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3777 (nucleotídeos 501-2000 of SEQ ID nº:12)

T0 Madura

Eventos Varridos: n = 4
07)

Expressão de Eventos: n = 4 (03-05,

FOLHA



EPIDERME



CÉLULAS FI-
BROSAS



FOLHA BAN-
DEIRA



CÉLULA-
GUARDA



LÂMINA FO-
LIAR



BAINHA
FOLIAR



MARGEM



MESÓFILO



NÃO ES-
PECÍFICO



PECÍOLO



PRIMÓRDIOS



ESTÍPULA



ESTÔMATO



TRICOMA



VASCULATURA

ESPIGUETA



CAMADA DE
ALEURONA



ANTERA



CARPELO



EMBRIÃO



ENDOSPERMA



FILAMENTO



LEMA



NÃO ES-
PECÍFICO



ÓVULO



PÁLEA



PEDICELO



PÓLEN



SEMENTE



STIGMA

PANÍCULO



NÃO ES-
PECÍFICO



OVÁRIO



PEDÚNCU-
LO



RAMO PRIN-
CIPAL



RÁQUILA



RAQUE



ESPIGUETA

RAIZ



CÓRTEX



ENDO-
DERME



EPIDERME



EXODERME



RAIZ LA-
TERAL



NÃO ES-
PECÍFICO



CASCA DE
RAIZ



VASCULAR

CULMO PRINCIPAL



INVÓLUCRO
DE FEIXE
VASCULAR



ENDODERME



EPIDERME



INTERNÓDIO



LÍGULA



NÓ



NÃO ES-



PERICICLO



FLOEMA



CAMADA DE ES-



VASCULATU-



XILEMA

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3777 (nucleotídeos 501-2000 of SEQ ID nº:12)	
PECÍFICO	CLERÊNQUIMA RA
Padrão de expressão observado: Plântula T0: Expressão mais fortemente observada ao longo de todos os tecidos da plântula. Expressão de T0 Madura: Expressão mais fortemente observada ao longo de todos os tecidos da planta madura.	
Critérios de Seleção: Deleção de promotor PD3580	
Gene: Sorghum ID anot.: 8744325	
cDNA I.D: 88993479	
GenBank: pfam: Ubiquitina; função: degradação de proteína;	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor	
Vetor: NB4_Kan	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varreda: Plântula T0 e T0 Madura	

Utilidade de promotor
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes, biomassa aumentada, bioconfinamento
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato, arquitetura da planta, fotossíntese aumentada, composição e conversão de parede celular, esterilidade masculina, esterilidade feminina, esterilidade total
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, afetam a biologia reprodutiva, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.

Análise de atividade de Promotor PD3786

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3786 (SEQ ID nº:16)	
Organismo Avaliado: Oryza sativa	

Construção: PD3786																																																																																																					
SR/OS Linhagem: OS00877																																																																																																					
I.D de Promotor candidato: 72581277																																																																																																					
Expressão de eventos: 3-7,11,12																																																																																																					
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varridos: n = 14 Expressão de Eventos: n = 7 (3-7,11,12) FOLHA <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>CÉLULAS BROSAS</td> <td>FI-FOLHA BAN-DEIRA</td> <td>CÉLULA-GUARDA</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> PERFILHO <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR</td> <td>ENDODERME</td> <td>EPIDERME</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>FLOEMA</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA</td> <td>VASCULATURA XILEMA</td> <td></td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> T0 Madura Eventos Varridos: n = 3 Expressão de Eventos: n = 3 (06, 11, 12) FOLHA <table> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>EPIDERME</td> <td>CÉLULAS BROSAS</td> <td>FI-FOLHA BAN-DEIRA</td> <td>CÉLULA-GUARDA</td> <td>LÂMINA FOLIAR</td> <td>BAINHA FOLIAR</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> <tr> <td>MARGEM</td> <td>MESÓFILO</td> <td>NÃO ESPECÍFICO</td> <td>PECÍOLO</td> <td>PRIMÓRDIOS</td> <td>ESTÍPULA</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>☐</td> <td>☐</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td>ESTÔMATO</td> <td>TRICOMA</td> <td>VASCULATURA</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> ESPIGUETA						☐	☐	☐	☐	☐	☐	EPIDERME	CÉLULAS BROSAS	FI-FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	☐	☒	☐	☐	☐	☐	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	☐	☐	☐				ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA				☐	☐	☐	☒	☐	☐	INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	FLOEMA	☐	☐	☐				CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA XILEMA					☐	☐	☐	☐	☐	☐	EPIDERME	CÉLULAS BROSAS	FI-FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR	☐	☒	☐	☐	☐	☐	MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	☐	☐	☐				ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA			
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																																																
EPIDERME	CÉLULAS BROSAS	FI-FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR																																																																																																
☐	☒	☐	☐	☐	☐																																																																																																
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA																																																																																																
☐	☐	☐																																																																																																			
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																																																																			
☐	☐	☐	☒	☐	☐																																																																																																
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	FLOEMA																																																																																																
☐	☐	☐																																																																																																			
CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA XILEMA																																																																																																				
☐	☐	☐	☐	☐	☐																																																																																																
EPIDERME	CÉLULAS BROSAS	FI-FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA FOLIAR	BAINHA FOLIAR																																																																																																
☐	☒	☐	☐	☐	☐																																																																																																
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA																																																																																																
☐	☐	☐																																																																																																			
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA																																																																																																			

☐	☐	☐	☒	☒	☐
CAMADA DE ALEURONA	ANTERA	CARPELO	EMBRIÃO	ENDOSPERMA	FILAMENTO
☒	☐	☐	☐	☐	☐
LEMA	NÃO ESPECÍFICO	ES-ÓVULO	PÁLEA	PEDICELO	PÓLEN
☒	☐				
SEMENTE	STIGMA				
PANÍCULO					
☒	☐	☐	☐	☐	☐
NÃO ESPECÍFICO	OVÁRIO	PEDÚNCULO	RAMO PRINCIPAL	RÁQUILA	RAQUE
☒					
ESPIGUETA					
RAIZ					
☐	☐	☒	☒	☐	☐
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ESPECÍFICO
☐	☒				
CASCA DE RAIZ	VASCULAR				
CULMO PRINCIPAL					
☒	☐	☐	☐	☐	☐
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ
☐	☐	☒	☐	☐	☐
NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA
Padrão de expressão observado: Plântula T0: a expressão de GFP foi detectada apenas no mesófilo das folhas e caules. Expressão de T0 Madura: a expressão foi muito forte nas células do mesófilo dos tecidos da parte aérea. Expressão fraca foi detectada nas raízes.					
Critérios de Seleção: baseada em : 1) # clones EST publicamente disponíveis mapeados no genoma de sorgo e 2) # clones em agrupamentos SWG EST					
Gene: Proteína de ligação A-B de Clorofila Putativa					
cDNA I.D: 71463851					

GenBank: proteína de ligação A-B de Clorofila
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor
Vetor: CRS830 Binary DF EGFP
Tipo de Marcador: EGFP
Geração Varrida: Plântula T0 e T0 Madura

Utilidade de promotor
Área Traço: Biomassa
Área Sub-traço: Fotossíntese aumentada
Utilidade: Entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para elaborar o aprimoramento das vias fotossintéticas para aumentar a captura de energia da luz solar.

Análise de atividade de Promotor PD3805

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3805 (SEQ ID n°:17)	
Organismo Avaliado: Oryza sativa	
Construção: PD3805	
SR/OS Linhagem: OS00888	
I.D de Promotor candidato: 90379178	
Expressão de eventos: 2,3,5	
Resumo de expressão espacial: Plântula T0 Eventos Varridos: n = 5 Expressão de Eventos: n = 3 (2,3,5)	
FOLHA	
☐	☐
EPIDERME	CÉLULAS FI-BROSAS
☐	☐
FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA
☐	☐
LÂMINA FO-LIAR	BAINHA FOLIAR
☐	☐
MARGEM	MESÓFILO
☒	☐
NÃO ES-PECÍFICO	PECÍOLO
☐	☐
PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA
☐	☐
ESTÔMATO	TRICOMA
☐	☐
VASCULATURA	
PERFILHO	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3805 (SEQ ID n°:17)						
☐	☐	☐	☐	☒	☐	
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	MESÓFILO	NÃO ES- PECÍFICO	FLOEMA	
☐	☐	☐				
CAMADA DE ES- CLERÊNQUIMA	VASCULA- TURA	XILEMA				
RAIZ						
☐	☐	☐	☐	☐	☒	
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LAT- ERAL	NÃO ESPECÍFICO	
☐	☐					
CASCA DE RAIZ	VASCULAR					
T0 Madura						
Eventos Varridos: n = 3 Expressão de Eventos: n = 3 (2,3,5)						
FOLHA						
☒	☐	☒	☒	☒	☐	
EPIDERME	CÉLULAS FI- BROSAS	FOLHA BAN- DEIRA	CÉLULA- GUARDA	LÂMINA FO- LIAR	BAINHA LIAR	
☐	☒	☐	☐	☐	☐	
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ES- PECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	
☐	☐	☒				
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA				
ESPIGUETA						
☐	☒	☐	☐	☐	☒	
CAMADA DE ALEURONA	ANTERA	CARPELO	EMBRIÃO	ENDOSPERMA	FILAMENTO	
☒	☐	☒	☐	☐	☒	
LEMA	NÃO ES- PECÍFICO	ÓVULO	PÁLEA	PEDICE- LO	PÓLEN	
☐	☒					
SEMENTE	STIGMA					
PANÍCULO						
☐	☐	☒	☐	☐	☐	
NÃO ES-						

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3805 (SEQ ID n°:17)					
PECÍFICO	OVÁRIO	PEDÚNCULO	RAMO PRINCIPAL	RÁQUILA	RAQUE
☒					
ESPIGUETA					
RAIZ					
☒	☐	☐	☐	☐	☐
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ESPECÍFICO
☐	☒				
CASCA DE RAIZ	VASCULAR				
CULMO PRINCIPAL					
☒	☒	☒	☒	☐	☒
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ
☐	☒	☐	☐	☒	☐
NÃO-ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA ESCLERÊNQUIMA	DE VASCULATURA	XILEMA
Padrão de expressão observado: Plântula T0: expressão mais fortemente observada na parte aérea e tecidos vegetativos radiculares. Expressão de T0 Madura: expressão mais fortemente observada ao longo de todos os tecidos da planta madura.					
Critérios de Seleção: ortólogo em 4g38970, expressão de parte aérea em Arabidopsis.					
Gene: Sorghum ID anot.: 8715723					
cDNA I.D: 88878990					
GenBank: forte similaridade à frutose-bisfosfato aldolase plastídica					
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor					
Vetor: NB4_Kan					
Tipo de Marcador: EGFP					
Geração Varrida: Plântula T0 e T0 Madura					

Análise de atividade de Promotor PD3812

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3812 (SEQ ID n°: 18)						
Organismo Avaliado: Oryza sativa						
Construção: PD3812						
SR/OS Linhagem: OS00867						
I.D de Promotor candidato: 89744767						
Expressão de eventos: 01,02, 04-09						
Resumo de expressão espacial:						
Plântula T0						
Eventos Varridos: n = 9			Expressão de Eventos: n = 8 (01,02, 04-09)			
FOLHA						
☒	☒	☐	☐	☐	☐	
EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA LIAR	FO-BAINHA LIAR	
☐	☐	☐	☐	☐	☐	
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	
☒	☐	☐				
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA				
RAIZ						
☒	☐	☒	☐	☐	☐	
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO PECÍFICO	
☒	☐					
CASCA DE RAIZ	VASCULAR					
T0 Madura						
Eventos Varridos: n = 7			Expressão de Eventos: n = 7 (02, 04-09)			
FOLHA						
☒	☒	☒	☒	☒	☐	
EPIDERME	CÉLULAS FIBROSAS	FI-FOLHA BAN-DEIRA	CÉLULA-GUARDA	LÂMINA LIAR	FO-BAINHA FOLIAR	
☐	☒	☐	☐	☐	☐	
MARGEM	MESÓFILO	NÃO ESPECÍFICO	PECÍOLO	PRIMÓRDIOS	ESTÍPULA	

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3812 (SEQ ID n°: 18)					
☒	☐	☒			
ESTÔMATO	TRICOMA	VASCULATURA			
ESPIGUETA					
☐	☒	☒	☐	☐	☒
CAMADA DE ALEURONA	ANTERA	CARPELO	EMBRIÃO	ENDOSPERMA	FILAMENTO
☒	☐	☐	☐	☐	☐
LEMA	NÃO ESPECÍFICO	ÓVULO	PÁLEA	PEDICELO	PÓLEN
☐	☒				
SEMENTE	STIGMA				
PANÍCULO					
☐	☐	☒	☒	☐	☐
NÃO ESPECÍFICO	OVÁRIO	PEDÚNCULO	RAMO PRINCIPAL	RÁQUILA	RAQUE
☒					
ESPIGUETA					
RAIZ					
☒	☐	☒	☐	☐	☐
CÓRTEX	ENDODERME	EPIDERME	EXODERME	RAIZ LATERAL	NÃO ESPECÍFICO
☒	☒				
CASCA DE RAIZ	VASCULAR				
CULMO PRINCIPAL					
☒	☒	☒	☐	☐	☐
INVÓLUCRO DE FEIXE VASCULAR	ENDODERME	EPIDERME	INTERNÓDIO	LÍGULA	NÓ
☐	☐	☐	☐	☒	☐
NÃO ESPECÍFICO	PERICICLO	FLOEMA	CAMADA DE ESCLERÊNQUIMA	VASCULATURA	XILEMA
Padrão de expressão observado: Plântula T0: forte expressão em todos os tecidos analisados T0 Madura: forte expressão em todos os tecidos analisados					

Relatório de Expressão de Promotor Para PD3812 (SEQ ID n°: 18)	
Critérios de Seleção: homólogo promotor de Ubiquitina de Sorgo	
Gene: Sorghum ID anot.: 7953526	
cDNA I.D: 88923100	
GenBank: pfam: Ubiquitina; função: degradação de proteína;	
Organismo de Promotor de Origem: Sorghum bicolor	
Vetor: NB4_Kan	
Tipo de Marcador: EGFP	
Geração Varreda: Plântula T0 e T0 Madura	

Utilidade de promotor
Área Traço: tolerância a sal, eficácia de uso de água, eficácia de uso de nutrientes, utilização de nutrientes, biomassa aumentada, bioconfinamento
Área Sub-traço: tolerância a sal, tolerância à seca, eficácia de uso de fosfato e nitrato, utilização de fosfato e nitrato, arquitetura da planta, fotossíntese aumentada, composição e conversão de parede celular, esterilidade masculina, esterilidade feminina, esterilidade total
Utilidade: entre outros usos, essa sequência de promotor poderia ser útil para aprimorar: a biomassa das plantas sob condições normais e de estresse através da superexpressão de transgenes que aprimoram uso de água, uso de nutrientes, alteram a composição, alteram a arquitetura da planta, afetam a biologia reprodutiva, e aprimoram o equilíbrio de carbono-nitrogênio.

[0234] Derivados de PD3525, PD3559, PD3560, PD3561, PD3562, PD3564, PD3565, PD3573, PD3574, PD3578, PD3579, PD3580, PD3567, PD3655, PD3720, PD3786, PD3805, ou PD3812 são gerados ao introduzir mutações na sequência de nucleotídeo apresentada na SEQ ID n°: 1-SEQ ID n°:18 como descrito na Patente n° U.S. 6.747.189, aqui incorporada a título de referência. Uma plu-

ralidade de segmentos de DNA mutagenizados derivados de PD3525, PD3559, PD3560, PD3561, PD3562, PD3564, PD3565, PD3573, PD3574, PD3578, PD3579, PD3580, PD3567, PD3655, PD3720, PD3786, PD3805, ou PD3812, inclusive derivados com deleções e modificações de nucleotídeos são gerados e inseridos em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Cada vetor de transformação de plantas é preparado essencialmente como descrito acima, exceto que o promotor inteiro é substituído por um derivado mutagenizado. As plantas (por exemplo, plantas de arroz) são transformadas com cada vetor de transformação de plantas e analisadas para expressão de marcador GFP para identificar aqueles derivados mutagenizados que possuem atividade de promotor.

[0235] Fragmentos de PD3525, PD3559, PD3560, PD3561, PD3562, PD3564, PD3565, PD3573, PD3574, PD3578, PD3579, PD3580, PD3567, PD3655, PD3720, PD3786, PD3805, ou PD3812 são isolados ao desenhar os iniciadores de modo a clonar os fragmentos dos promoters apresentados na SEQ ID nº:1 a 18. Uma pluralidade de fragmentos clonados de PD3525, PD3559, PD3560, PD3561, PD3562, PD3564, PD3565, PD3573, PD3574, PD3578, PD3579, PD3580, PD3567, PD3655, PD3720, PD3786, PD3805, ou PD3812 que varia em tamanho de 50 nucleotídeos até a sequência inteira apresentada na SEQ ID nº: 1 a 18 é obtida utilizando PCR. Por exemplo, um fragmento de PD3525 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, ou 990 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3525 (SEQ ID nº: 1) é obtido e inserido em um ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de

PD3535 podem incluir um ou mais entre um motivo GARE1OSREP1, ACIIPVPAL2, ABRERATCAL, e TATABOX.

[0236] Um fragmento de PD3559 de cerca de 50, 75, 100, 125, 150, 175, 190, ou 200 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3559 (SEQ ID n°:2) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3559 podem incluir um ou mais entre um motivo AUXRETGA2GMGH3, ACGTABREMOTIFA2OSEM, TATCCAYMOTIFOSRAMY3D, AMYBOX1, e GAREAT.

[0237] Um fragmento de PD3560 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 275, 300, 350, 375, ou 390 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3560 (SEQ ID n°:3) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3560 podem incluir um ou mais entre um motivo ARE1, SBOXATRBSC, TE2F2NTPCNA, GADOWNAT, ACGTABREMOTIFA2OSEM, e TATABOX.

[0238] Um fragmento de PD3561 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 275, 300, 350, 375, 390, 400, ou 410 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3561 (SEQ ID n°: 4) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3561 podem incluir um ou mais entre um motivo ROOTMOTIFTA-POX1, RYREPEATVFLEB4, e TATABOX.

[0239] Um fragmento de PD3562 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 725, ou 750 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3562 (SEQ ID n°:5) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3562 podem incluir um ou mais entre um

motivo CARGCW8GAT, INRNTPSADB, e TATABOX2.

[0240] Um fragmento de PD3564 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, ou 1010 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3564 (SEQ ID n°:6) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3564 podem incluir um ou mais entre um motivo MARTBOX, RYREPEATVFLEB4, NRRBNEXTA, TRANSINITMONOCOTS, TATABOXOSPAL, e P1BS.

[0241] Um fragmento de PD3565 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1010, 1025, 1050, ou 1060 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3565 (SEQ ID n°: 7) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3565 podem incluir um ou mais entre um motivo CARGCW8GAT, P1BS, e TATABOX.

[0242] Um fragmento de PD3573 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, ou 1000 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3573 (SEQ ID n°:8) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3573 podem incluir um ou mais entre um motivo ROOTMOTIFTAPOX1, ATHB6COREAT, TATABOX2, e UP2ATMSD.

[0243] Um fragmento de PD3574 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250,

1300, 1350, ou 1400 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3574 (SEQ ID nº: 9) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3574 podem incluir um ou mais entre um motivo PRECONSCRHSP70A, IBOXCORENT, AGC-BOXNPGLB, UP2ATMSD, e TATABOX4.

[0244] Um fragmento de PD3578 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, 2000, 2050, 2100, 2150, 2200, 2250, 2300, 2350, 2400, 2450, ou 2475 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3578 (SEQ ID nº: 10) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3578 podem incluir um ou mais entre um motivo IBOXCORENT, ERELEE4, ABRE-ATRD22, P1BS, e TATABOX.

[0245] Um fragmento de PD3579 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, 2000, 2050, ou 2075 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3579 (SEQ ID nº: 11) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3579 podem incluir um ou mais entre um motivo CAC-GCAATGMGH3 e UPRMOTIFIIAT. Por exemplo, um fragmento de PD3579 pode conter nucleotídeos 1 a 896 da SEQ ID nº: 11.

[0246] Um fragmento de PD3580 de cerca de 50, 100, 150, 200,

250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, ou 1975 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3580 (SEQ ID nº: 12) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3580 podem incluir um ou mais entre um motivo PRECONSCRHSP70A, ACIIPVPAL2, TATABOX4, caixa CAAT, CAATBOX1, e UPRMOTIFIIAT. Por exemplo, um fragmento pode conter nucleotídeos 501 a 2000 da SEQ ID nº: 12.

[0247] Um fragmento de PD3567 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, ou 1275 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3567 (SEQ ID nº: 13) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3567 podem incluir um ou mais entre um motivo RYREPEATVFLEB4, SPHCOREZMC1, e AGCBOXNPGLB.

[0248] Um fragmento de PD3655 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, ou 975 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3655 (SEQ ID nº:14) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3655 podem incluir um ou mais entre um motivo ROOTMOTIFTAPOX1, RYREPEATVFLEB4, P1BS, e TATABOX1. Por exemplo, um fragmento de PD3655 pode conter nucleotídeos 501 a 990 da SEQ ID nº: 14.

[0249] Um fragmento de PD3720 de cerca de 50, 100, 150, 200,

250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, ou 1475 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3720 (SEQ ID n°:15) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3720 podem incluir um ou mais entre um motivo SBOXATRBCS, MYBbindingsite, ATHB1ATCONSENSUS, ABRE, E2FAT, PRECONSCRHSP70A, MYBPLANT, e E2FCONSENSUS. Por exemplo, um fragmento de PD3720 pode conter nucleotídeos 702 a 1500 da SEQ ID n°: 15.

[0250] Um fragmento de PD3786 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, ou 1875 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3786 (SEQ ID n°: 16) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3786 podem incluir um ou mais entre um motivo P1BS, ABREZMRAB28, SP8BFIBSP8BIB, CCA1ATLHCB1, BOXIIPCCHS, e LRENPCABE.

[0251] Um fragmento de PD3805 de cerca de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, ou 990 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3805 (SEQ ID n°:17) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3805 podem incluir um ou mais entre um motivo P1BS, MYBGAHV, e CEREGLOB-OX2PSLEGA.

[0252] Um fragmento de PD3812 de cerca de 50, 100, 150, 200,

250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 975, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, ou 1475 nucleotídeos de comprimento de várias partes de PD3812 (SEQ ID n°: 18) é obtido e inserido em um vetor de transformação de plantas ligado de maneira funcional a um gene marcador GFP. Tais fragmentos de PD3812 podem incluir um ou mais entre um motivo CACGCAATGMGH3 ou UPRMOTIFI-IAT. Por exemplo, um fragmento de PD3812 pode conter nucleotídeos 353 a 1248 da SEQ ID n°: 18.

[0253] Cada vetor de transformação de plantas é preparado essencialmente como descrito acima exceto que a sequência inteira é substituída por um fragmento que contém um ou mais dos motivos descritos aqui. As plantas Arabidopsis são transformadas com cada vetor de transformação de plantas e analisadas para expressão do marcador GFP para identificar aqueles fragmentos que possuem atividade de promotor.

[0254] A invenção que é descrita desse modo, será óbvia para uma pessoa versada na técnica que podem ser feitas várias modificações dos materiais e métodos para a prática do documento. Tais modificações devem ser consideradas dentro do escopo do documento como definido pelas reivindicações a seguir.

[0255] Cada referência da patente e literatura periódica citada aqui está aqui expressamente incorporada em sua totalidade por tal citação.

REIVINDICAÇÕES

1. Ácido nucleico isolado **caracterizado** por compreender um primeiro ácido nucleico e um segundo ácido nucleico, em que o primeiro ácido nucleico compreende uma região reguladora que possui a sequência de nucleotídeos apresentada na SEQ ID NO: 12, em que a dita região reguladora conduz a transcrição de um polinucleotídeo heterólogo ligado de maneira funcional e em que o dito primeiro ácido nucleico é ligado de maneira funcional a um segundo ácido nucleico heterólogo a ser transcrito, em que o dito ácido nucleico é um ácido nucleico recombinante.
2. Ácido nucleico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por o nucleotídeo ser compreendido em um genoma de uma planta ou célula vegetal.
3. Construção de vetor **caracterizado** por compreender o ácido nucleico, conforme definido na reivindicação 1.
4. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** por o dito segundo ácido nucleico compreender uma sequência de ácido nucleico que codifica um polipeptídeo.
5. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** por o dito segundo ácido nucleico ser ligado de maneira funcional ao dito primeiro ácido nucleico em orientação senso.
6. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** por o dito segundo ácido nucleico ser transcrito em uma molécula de RNA que expressa o polipeptídeo codificado pelo dito segundo ácido nucleico.
7. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 3,

caracterizado por o dito segundo ácido nucleico ser ligado de maneira funcional ao dito primeiro ácido nucleico em orientação antissenso.

8. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** por o dito segundo ácido nucleico ser transcrito em uma molécula de RNA antissenso.

9. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** por o dito segundo ácido nucleico ser transcrito em um RNA interferente contra um gene endógeno.

10. Construção de vetor, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** por o vetor ser compreendido em uma planta ou célula vegetal.

11. Método de condução de transcrição **caracterizado** por combinar, em um ambiente adequado para transcrição:

- a) fornecer um primeiro ácido nucleico, em que o primeiro ácido nucleico compreende uma região reguladora que possui a sequência de nucleotídeos apresentada na SEQ ID NO: 12;
- b) fornecer um segundo ácido nucleico que será transcrito;
- c) ligar de maneira funcional o primeiro e segundo ácidos nucleicos,

em que os ditos primeiro e segundo ácidos nucleicos são heterólogos um ao outro.

12. Método, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** por o método compreender adicionalmente:

- d) introduzir os ditos primeiro e segundo ácidos nucleicos ligados de maneira funcional em uma célula vegetal; e

e) regenerar a dita célula vegetal em uma planta.

13. Método de expressão de uma região de codificação exógena em uma planta **caracterizado** por compreender:

(a) transformar uma célula vegetal com o vetor conforme definido na reivindicação 5;

(b) regenerar uma planta estavelmente transformada a partir da célula vegetal transformada da etapa (a); e

(c) selecionar as plantas contendo uma célula vegetal transformada,

em que a expressão do vetor resulta na produção de um polipeptídeo codificado pelo dito segundo ácido nucleico.

14. Método de alteração da expressão de um gene em uma planta **caracterizado** por compreender:

a) transformar uma célula vegetal com o ácido nucleico conforme definido na reivindicação 1, e

b) regenerar as plantas estavelmente transformadas a partir da dita célula vegetal transformada.

15. Método de produção de uma planta transgênica, sendo o dito método **caracterizado** por compreender:

(a) introduzir em uma célula vegetal:

(i) um polinucleotídeo isolado que compreende o ácido nucleico conforme definido na reivindicação 1, ou

(ii) o vetor conforme definido na reivindicação 3, e

(b) desenvolver uma planta a partir da dita célula vegetal.

16. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** por o dito polinucleotídeo heterólogo compreender uma sequência

de ácido que codifica um polipeptídeo.

17. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** por o dito polinucleotídeo heterólogo ser ligado de maneira funcional à dita região reguladora na orientação antissenso.

18. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** por o dito polinucleotídeo heterólogo ser transcrito em um RNA interferente.

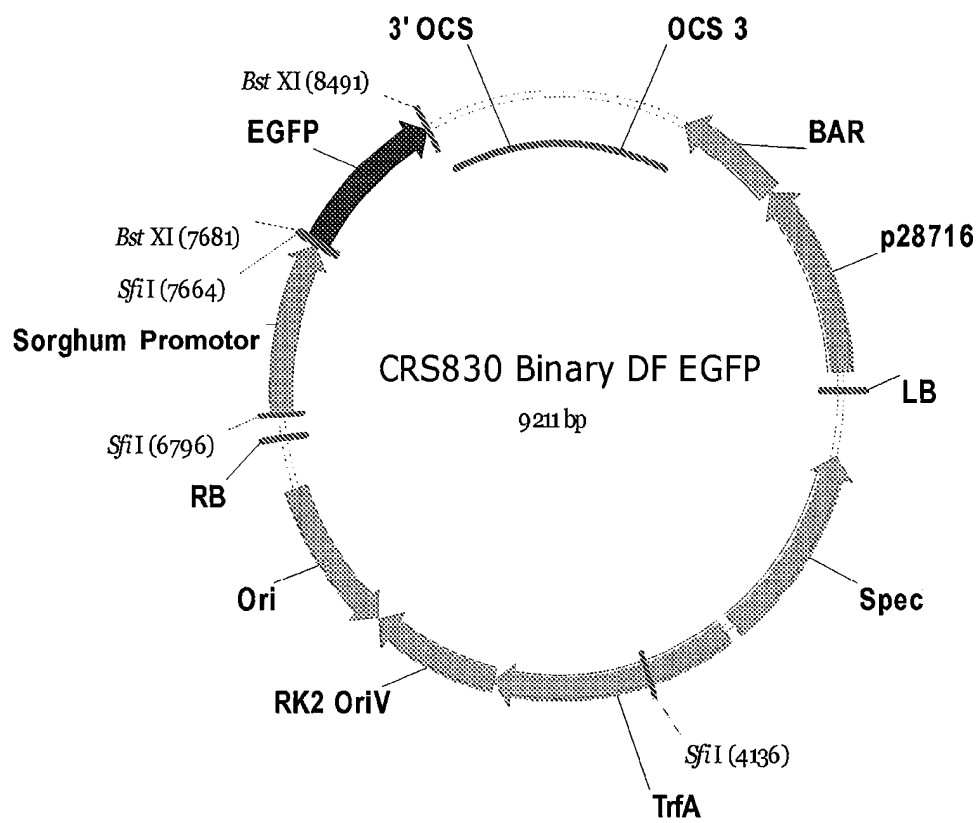


FIG 1