



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0807428-3 A2



(22) Data de Depósito: 04/02/2008
(43) Data da Publicação: 22/07/2014
(RPI 2272)

(51) Int.Cl.:
C12N 15/11
C12N 15/82
A01H 5/00

(54) Título: MOLÉCULA DE DSRNA, COLEÇÃO DE MOLÉCULAS DSRNA, PLANTA TRANSGÊNICA, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA PLANTA TRANSGÊNICA, E PARA CONCEDER RESISTÊNCIA A NEMATÓDEO A UMA PLANTA, E, VETOR DE EXPRESSÃO

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 06/02/2007 US 60/899739

(73) Titular(es): Basf Plant Science Gmbh

(72) Inventor(es): Aaron Wiig

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT EP2008051326 de 04/02/2008

(87) Publicação Internacional: WO 2008/095886de 14/08/2008

“MOLÉCULA DE dsRNA, COLEÇÃO DE MOLÉCULAS DE dsRNA, PLANTA TRANSGÊNICA, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA PLANTA TRANSGÊNICA, E PARA CONCEDER RESISTÊNCIA A NEMATÓDEO A UMA PLANTA, E, VETOR DE EXPRESSÃO”

5 REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido reivindica o benefício de prioridade de Pedido Provisório US de Número de Série 60/899739 depositado aos 06 de Fevereiro de 2007.

CAMPO DA INVENÇÃO

10 O campo desta invenção é o controle de nematódeos, em particular o controle de nematódeos de cisto de feijão-soja. A invenção também se refere à introdução de material genético dentro de plantas que são suscetíveis aos nematódeos com o propósito de aumentar a resistência aos nematódeos.

15 FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Nematódeos são animais vermiformes microscópicos que se alimentam de raízes, folhas, e caules de mais do que 2.000 plantações de escala, verduras/hortaliças, frutas, e plantas ornamentais, causando uma perda de plantação mundial estimada de 100 bilhões. Um tipo comum de nematódeo 20 é o nematódeo de galhas (RKN), cuja alimentação causa as características galhas sobre raízes. Outros nematódeos que se alimentam de raiz são os dos tipos de cisto e lesão, que são mais hospedeiro-específicos.

Nematódeos estão presentes por toda parte nos Estados Unidos, mas são principalmente um problema em áreas quentes, úmidas do 25 Sul e do Oeste, em solos arenosos. Nematódeo do cisto de feijão-soja (SCN), *Heterodera glycines*, foi primeiro descoberto nos Estados Unidos na Carolina do Norte em 1954. É a mais séria peste das plantas de feijão-soja. Algumas áreas estão tão intensamente infestadas por SCN que a produção de feijão-soja não é mais economicamente possível sem medidas de controle. Embora

feijão-soja seja a plantação econômica maior atacada por SCN, parasitas SCN somam no total cinquenta hospedeiros, incluindo plantações de campo, verduras/hortaliças, plantas ornamentais, e ervas daninhas.

5 Sinais de dano de nematódeo incluem atrofiamento e amarelecimento de folhas, e murchamento das plantas durante períodos quentes. Contudo, nematódeos, incluindo SCN, podem causar perda de rendimento sem sintomas óbvios acima do solo. Em adição, raízes infectadas com SCN são ananizadas ou atrofiadas. Infestação de nematódeo pode diminuir o número de nódulos fixadores de nitrogênio sobre as raízes, e
10 podem tornar as raízes mais suscetíveis aos ataques por patógenos de planta provenientes do solo.

O ciclo de vida de nematódeo tem três estágios maiores: ovo, juvenil, e adulto. O ciclo de vida varia entre as espécies de nematódeos. Por exemplo, o ciclo de vida de SCN pode costumeiramente ser completado em
15 24 a 30 dias sob condições ótimas enquanto que outras espécies podem demorar tão longamente quanto um ano, ou mais longo, para completar o ciclo de vida. Quando os níveis de temperatura e de umidade tornam-se adequados no verão, nematódeos juvenis vermiformes eclodem de ovos no solo. Estes nematódeos juvenis são apenas o estágio de vida do nematódeo
20 que infecta as raízes de feijão-soja.

O ciclo de vida de SCN tem sido submetido a muitos estudos e portanto pode ser usado como um exemplo para entender um ciclo de vida de nematódeo. Após penetrarem nas raízes de feijão-soja, nematódeos juvenis SCN movem-se através da raiz até contatarem tecido vascular, onde param e
25 começam a se alimentar. O nematódeo injeta secreções que modificam certas células da raiz e as transformam em sítios de alimentação especializados. As células de raiz são morfologicamente transformadas em sincícios multinucleados grandes (ou células gigantes no caso de RKN), que são usadas como uma fonte de nutrientes para os nematódeos. Os nematódeos ativamente

se alimentando assim roubam nutrientes essenciais da planta resultando em perda de rendimento. À medida que os nematódeos se alimentam, incham e eventualmente os nematódeos fêmeas se tornam tão grandes que rompem o tecido da raiz e são expostos sobre a superfície da raiz.

5 Após um período de alimentação, nematódeos SCN machos, que não estão inchados como adultos, migram para fora da raiz para dentro do solo e fertilizam as fêmeas adultas na forma de limão. Os machos então morrem, enquanto que as fêmeas permanecem fixadas no sistema de raiz e continuam a se alimentar. Os ovos nas fêmeas inchadas começam a se
10 desenvolver, inicialmente em uma massa ou saco de ovos fora do corpo, então mais tarde dentro da cavidade corporal. Eventualmente a cavidade corporal inteira da fêmea adulta está cheia de ovos, e o nematódeo fêmea morre. É o corpo cheio de ovos da fêmea morta que é chamado de cisto. Cistos eventualmente se desalojam e são encontrados livres no solo. As paredes do
15 cisto tornam-se muito resistentes, proporcionam excelente proteção para os aproximadamente 200 a 400 ovos contidos dentro das mesmas. Ovos de SCN sobrevivem dentro do cisto até ocorrerem condições apropriadas de eclosão. Embora muitos dos ovos possam eclodir dentro do primeiro ano, muitos também sobreviverão dentro dos cistos por vários anos.

20 Um nematódeo pode se mover por si mesmo através do solo apenas umas poucas polegadas por ano. Contudo, infestação de nematódeo pode ser espalhada por distâncias substanciais em uma variedade de maneiras. Qualquer coisa que possa mover solo infestado é capaz de espalhar a infestação, incluindo maquinário, veículos e ferramentas de fazenda, vento,
25 água, animais, e trabalhadores de fazenda. Partículas de solo do tamanho de semente freqüentemente contaminam semente colhida. Conseqüentemente, infestação de nematódeo pode ser espalhada quando semente contaminada de campos infestados é plantada em campos não-infestados. Há até mesmo evidência de que certas espécies de nematódeos podem ser espalhadas por

aves. Apenas algumas das causas podem ser prevenidas.

Práticas tradicionais para manejar infestação de nematódeo incluem: manutenção de níveis de pH de solo e de nutrientes de solo apropriados em terra infestada com nematódeo; controle de outras doenças de planta, bem como de pestes de ervas daninhas e de insetos; usando práticas de sanitização tais com aração, plantio, e cultivo de campos infestados com nematódeos apenas após trabalhar campos não-infestados; limpeza cuidadosa de equipamento com vapor de água ou água de pressão alta após trabalho em campos infestados; não uso de semente crescida em terra infestada para plantio de campos não-infestados a não ser que a semente tenha sido apropriadamente limpa; rotação de campos infestados e alternância de plantações hospedeiras com plantações não-hospedeiras; usando nematicidas; e plantio de variedades de planta resistentes.

Têm sido propostos métodos para a transformação genética de plantas com o objetivo de conceder resistência aumentada aos nematódeos parasitas de plantas. Patentes US Nos. 5.589.622 e 5.824.876 são direcionadas para a identificação de genes de planta expressados especificamente em ou adjacientemente aos sítio de alimentação da planta após fixação pelo nematódeo. Os promotores destes genes alvo de planta podem ser então usados para dirigir a expressão específica de enzimas ou proteínas prejudiciais, ou a expressão de RNA de anti-senso para o gene alvo ou os genes celulares gerais. Os promotores de planta também podem ser usados para conceder resistência a nematódeo especificamente no sítio de alimentação pela transformação da planta com um construto compreendendo o promotor do gene alvo da planta ligado em um gene cujo produto induz letalidade no nematódeo após ingestão

Recentemente, interferência de RNA (RNAi), também chamada de silenciamento de gene, tem sido proposta como um método para controlar nematódeos. Quando DNA de fita dupla (dsRNA) correspondendo

essencialmente à sequência de um gene alvo ou mRNA é introduzido em uma célula, expressão do gene alvo é inibida (veja e.g., Patente US No. 6.506.559). Patente US No. 6.506.559 demonstra a efetividade de RNAi contra genes conhecidos de *Caenorhabditis elegans*, mas não demonstra a utilidade de RNAi para controlar nematódeos parasitas de planta.

Uso de RNAi para selecionar genes de nematódeo essenciais tem sido proposto, por exemplo, em Publicação PCT WO 01/96584, WO 01/17654, US 2004/0098761, US 2005/0091713, US 2005/0188438, US 2006/0037101, US 2006/0080749, US 2007/0199100, e US 2007/0250947.

Têm sido propostos numerosos modelos para ação de RNAi. Em sistemas de mamífero, dsRNAs maiores do que 30 nucleotídeos causam indução de síntese de interferon e uma parada global de síntese de proteína, em uma maneira não específica de sequência. Contudo, Patente US No. 6.506.559 revela que em nematódeos, o comprimento do dsRNA correspondendo à sequência de gene alvo pode ser pelo menos de 25, 50, 100, 200, 300, ou 400 bases, e que até dsRNAs maiores (742 nucleotídeos, 1033 nucleotídeos, 785 nucleotídeos, 531 nucleotídeos, 576 nucleotídeos, 651 nucleotídeos, 1015 nucleotídeos, 1033 nucleotídeos, 730 nucleotídeos, 830 nucleotídeos, veja Tabela 1) também foram eficazes na indução de RNAi em *C. elegans*. É sabido que quando construtos de RNA grampo-de-cabelo compreendendo regiões de fita dupla variando de 98 a 854 nucleotídeos foram transformados em numerosas espécies de planta, os genes de planta alvo foram eficientemente silenciados. Há concordância geral de que em muitos organismos, incluindo nematódeos e plantas, pedaços grandes de dsRNA são clivados em cerca de 19-24 fragmentos de 19-24 (siRNA) dentro de células, e que estes siRNAs são os mediadores reais do fenômeno de RNAi.

Embora tenha havido numerosos esforços para usar RNAi para controlar nematódeos parasitas de planta, até o presente momento nenhuma planta resistente a nematódeo tem sido desregulada em algum país.

Conformemente, continua a haver uma necessidade para identificar composições e métodos seguros e eficazes para o controle de nematódeos parasitas de planta usando RNAi, e para a proteção de plantas tendo resistência aumentada aos nematódeos parasitas de planta.

5 SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Os presentes inventores têm descoberto um novo gene alvo de planta ("50657480") que é sobre-expressado em sincícios induzidos por infecção de raízes de feijão-soja por SCN. Os inventores têm adicionalmente descoberto que quando expressão do gene 50657480 é suprimida em um
10 sistema modelo de raiz de feijão-soja, a capacidade dos nematódeos para infectar tais raízes é diminuída.

Em uma primeira modalidade, portanto, a invenção fornece uma molécula de RNA de fita dupla (dsRNA) compreendendo a) uma primeira fita compreendendo uma seqüência substancialmente idêntica a uma
15 porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 e b) uma segunda fita compreendendo uma seqüência substancialmente complementar à primeira fita.

A invenção é adicionalmente representada como modalidade em uma coleção de moléculas de dsRNA compreendendo uma multiplicidade
20 de moléculas de RNA cada uma compreendendo uma região de fita dupla tendo um comprimento de cerca de 19 a 24 nucleotídeos, sendo que ditas moléculas de RNA são derivadas de um polinucleotídeo sendo substancialmente idêntico a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

25 Em outra modalidade, a invenção fornece uma planta transgênica resistente a nematódeo capaz de expressar um dsRNA que é substancialmente idêntico a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

Em outra modalidade, a invenção fornece uma planta

transgênica capaz de expressar uma coleção de moléculas de dsRNA, sendo que cada molécula de dsRNA compreende uma região de fita dupla tendo um comprimento de cerca de 19-24 nucleotídeos, e sendo que as moléculas de RNA são derivadas de um polinucleotídeo substancialmente idêntico a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

Em outra modalidade, a invenção fornece um método de preparar uma planta transgênica capaz de expressar uma coleção de moléculas de dsRNA cada uma das quais é substancialmente idêntica a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 em uma planta, dito método compreendendo as etapas de: a) preparar um ácido nucleico tendo uma região que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480, sendo que o ácido nucleico é capaz de formar um transcrito de fita dupla de uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 uma vez expressado na planta; b) transformar uma planta recipiente com dito ácido nucleico; c) produzir uma ou mais progênies transgênicas de dita planta recipiente; e d) selecionar a progênie para expressão de dito transcrito.

A invenção adicionalmente fornece um método de conceder resistência a nematódeo a uma planta, dito método compreendendo as etapas de: a) preparar um ácido nucleico tendo uma região que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480, sendo que o ácido nucleico é capaz de formar um transcrito de fita dupla de uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 uma vez expressado na planta; b) transformar uma planta recipiente com dito ácido nucleico; c) produzir uma ou mais progênies transgênicas de dita planta recipiente; e d) selecionar a progênie para resistência a nematódeo.

A invenção adicionalmente fornece um vetor de expressão compreendendo uma sequência substancialmente idêntica a uma porção de

um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

DESCRIÇÃO BREVE DOS DESENHOS

Figuras 1a-1c: Tabela descrevendo iniciadores usados para gerar o construto de dsRNA RAW464 e os fragmentos RACE correspondendo a 50657480/

Figura 2: Alinhamento de sequência de DNA de variante A de sequência RACE (SEQ ID NO:7) com sequência 50657480 cDNA (SEQ ID NO:1)

Figura 3: Sequência de consenso de contig (SEQ ID NO:8) de variante A de RACE e 50657480 descrevendo a matriz de leitura aberta em letras em negrito.

Figura 4: Tabela mostrando homólogos representativos de sequência de aminoácidos de comprimento total de 50657480 descrita para SEQ ID NO:10. A tabela mostra SEQ ID NO, tipo de sequência, organismo, e Id de sequência de GenBank para homólogos representativos.

Figura 5a-5c: Alinhamento de sequência de aminoácidos dos homólogos representativos de SEQIDNO:10.

Figura 6: Tabela de matriz descrevendo a identidade percentual de aminoácidos global dos homólogos representativos identificados.

Figura 7: Tabela de matriz descrevendo a identidade percentual de nucleotídeos global das sequências de DNA dos homólogos representativos identificados.

Figuras 8a a 8i: mostram vários 21mers possíveis em SEQ ID NO:8 por posição de nucleotídeo. Por exemplo o 21mer poderia compreender nucleotídeos na posição 1 a 21, nucleotídeos na posição 2-22, nucleotídeos na posição 3-23, etc. Esta tabela também pode ser usada para calcular os 19, 20, 22, 23 ou 24-mers por adição ou subtração do número apropriado de nucleotídeos de cada 21mer.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção pode ser entendida mais prontamente referindo-se à seguinte descrição detalhada das modalidades preferidas da invenção e dos exemplos aqui incluídos. A não ser que seja indicado de outra maneira, os termos aqui usados são para serem entendidos de acordo com o uso convencional por aquelas pessoas ordinariamente experientes na arte relevante. Em adição às definições de termos fornecidos abaixo, definições de termos comuns em biologia molecular também podem ser encontrados em Rieger et al., 1991 Glossary of genetics: classical and molecular, 5th Ed., Berlin: Springer- Verlag; e em Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., Eds., Current Protocols, um empreendimento conjunto entre Greene Publishing Associates, Inc. e John Wiley & Sons, Inc., (1998 Supplement). É para ser entendido que como usado no relatório descritivo e nas reivindicações, "um" ou "uma" pode significar um ou mais, dependendo do contexto no qual é usado. Assim, por exemplo, referência a "uma célula" pode significar que pelo menos uma célula pode ser utilizada. É para ser entendido que a terminologia aqui usada é apenas para o propósito de descrever modalidades específicas e não é intencionada para ser limitante. Em todo este pedido, são feitas referências a várias publicações de patente e de literatura. As revelações de todas estas publicações e daquelas referências citadas dentro daquelas publicações em suas totalidades são por meio deste incorporados como referências neste pedido com o propósito de descrever mais completamente o estado da técnica ao qual esta invenção pertence.

De acordo com a invenção, uma planta é transformada com um ácido nucleico ou um dsRNA, que especificamente inibe a expressão de um gene alvo 50657480, um gene semelhante a 50657480, ou um homólogo de 50657480 na raiz de planta que é essencial para o desenvolvimento ou a manutenção de um sítio de alimentação, sincícios, ou célula gigante; basicamente afetando a sobrevivência, a metamorfose, ou a reprodução do nematódeo. Em uma modalidade preferida, inibição do gene alvo 50657480,

um gene semelhante a 50657480, ou um homólogo de 50657480 ocorre usando dsRNA capaz de selecionar dito gene, cujo dsRNA tem sido transformado em um ancestral da planta infectada. Preferivelmente, a sequência de ácido nucleico expressando o dsRNA está sob o controle de transcrição de um promotor específico de raiz ou um promotor específico de sítio de alimentação de nematódeo parasita ou de um promotor induzível por nematódeo.

Como aqui usados os termos "gene alvo", "gene alvo 50657480", "gene semelhante a 50657480" e "gene 50657480" refere-se aos genes, que são pelo menos cerca de 50-60%, pelo menos cerca de 60-70%, ou pelo menos cerca de 70-75%, 75-80%, 80-85%, 85-90%, ou 90-95%, e também podem ser pelo menos cerca de 96%, 97%, 98%, 99%, ou mais idênticos ao polinucleotídeo compreendendo a sequência mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8. Alternativamente, genes alvo 50657480 adequados compreendem um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estridentes com um polinucleotídeo compreendendo a sequência mostrada em SEQ ID NO:1 nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8. O termo "homólogo 50657480" inclui genes ou seqüências, que podem ser identificadas pelo uso de uma parte ou do comprimento total de qualquer uma das seqüências aqui reveladas, em particular SEQ ID NO: 8, 9, 17, 19, 21, 23,25,27,29 ou SEQ ID NO: 4, 5, 14 ou 15.

Como aqui usado, "RNAi" ou "interferência de RNA" refere-se a um processo de silenciamento de gene pós-transcricional específico de sequência em plantas, mediado por RNA de fita dupla (dsRNA). Como aqui usado, "dsRNA" refere-se a RNA que é de fita parcial ou completamente dupla. RNA de fita dupla também é chamado de um RNA interferente curto ou pequeno (siRNA), ácido nucleico interferente curto (siRNA), RNA

interferente curto, micro-RNA (miRNA), e semelhantes. No processo de RNAi, dsRNA compreendendo uma primeira fita que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene alvo e uma segunda fita que é complementar à primeira fita é introduzido em uma planta. Após introdução na planta, o dsRNA específico de gene alvo é processado em fragmentos relativamente pequenos (siRNAs) e pode ser subsequenteiramente tornado distribuído em toda a planta, causando uma mutação de perda-de-função tendo um fenótipo que, durante um período de regeneração, pode se tornar muito proximamente parecido com o fenótipo decorrente de uma deleção parcial ou completa do gene alvo. Alternativamente, o dsRNA específico de gene alvo está operacionalmente associado em um elemento regulatório ou promotor que resulta em expressão do dsRNA em um tecido, maneira temporal, espacial ou induzível e pode ser adicionalmente processado em fragmentos relativamente pequenos por uma célula de planta contendo o maquinário de processamento de RNAi, e é obtido o fenótipo de perda-de-função. Também, o elemento regulatório ou promotor pode dirigir a expressão quer constitutivamente naqueles tecidos quer sob indução pela alimentação do nematódeo ou nematódeo juvenil, tal como nematódeos J2.

Como aqui usado, tomando-se em consideração a substituição de timina por uracila quando se comparam seqüências de RNA e DNA, o termo "substancialmente idêntico" como aplicado a dsRNA significa que a seqüência de nucleotídeos de uma fita do dsRNA é pelo menos 80%-90% idêntica a 20 ou mais nucleotídeos contíguos do gene alvo, mais preferivelmente, pelo menos 90-95%, idêntico a 20 ou mais nucleotídeos contíguos do gene alvo, e mais preferivelmente pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica ou absolutamente idêntica a 20 ou mais nucleotídeos contíguos do gene alvo. 20 ou mais nucleotídeos contíguos significa uma porção, sendo pelo menos cerca de 20, 21, 22, 23, 24, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 1500, ou 2000 bases ou até o comprimento total do gene alvo.

Como aqui usado, polinucleotídeos "complementares" são aqueles que são capazes de parear bases de acordo com as regras de complementaridade padrão de Watson-Crick. Especificamente, purinas parearão com pirimidinas para formar uma combinação de guanina pareada com citosina (G:C) e quer adenina pareada com timina (A:T) no caso de DNA, quer adenina pareada com uracila (A:U) no caso de RNA. É entendido que dois polinucleotídeos podem hibridizar um com o outro até mesmo se não forem complementares entre si, desde que cada um tenha pelo menos uma região que é substancialmente complementar a do outro. . Como aqui usado, o termo "substancialmente complementar" significa que duas seqüências de ácido nucleico são complementares em mais de pelo menos 80% de seus nucleotídeos. Preferivelmente, as duas seqüências de ácido nucleico são complementares em mais de pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de seus nucleotídeos. Alternativamente, "substancialmente complementar" significa que duas seqüências de ácido nucleico podem hibridizar sob condições de estringência. Como aqui usado, o termo "substancialmente idêntico" ou "correspondendo a" significa que duas seqüências de ácido nucleico têm pelo menos 80% de identidade de seqüência. Preferivelmente, as duas seqüências de ácido nucleico têm pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de seqüência.

Também como aqui usados, os termos "ácido nucleico" e "polinucleotídeo" referem-se a RNA ou DNA que é linear ou ramificado, de fita simples ou dupla, ou um seu híbrido. O termo também inclui híbridos de RNA/DNA. Quando dsRNA é produzido sinteticamente, bases menos comuns, tais como inosina, 5-metil-citosina, 6-metil-adenina, hipoxantina e outras também podem ser usadas para pareamento de anti-senso, dsRNA, e ribozima. Por exemplo, tem sido mostrado que polinucleotídeos que contêm análogos de C-5 propino de uridina e citidina se ligam em RNA com afinidade alta e são inibidores de anti-senso potentes da expressão de gene.

Outras modificações, tais como modificações na estrutura principal de fosfodiéster, ou na 2'-hidroxila no grupo açúcar ribose do RNA também podem ser feitas.

5 Como aqui usado, o termo "controle", quando usado no contexto de uma infecção, refere-se à redução ou prevenção de uma infecção. Redução ou prevenção de uma infecção por um nematódeo fará com que uma planta tenha resistência aumentada ao nematódeo, contudo, tal resistência aumentada não implica que a planta necessariamente tenha resistência de 100% à infecção. Em modalidades preferidas, a resistência à infecção por um
10 nematódeo em uma planta resistente é maior do que 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, ou 95% em comparação com uma planta de tipo selvagem que não é resistente a nematódeos. Preferivelmente a planta de tipo selvagem é uma planta de um genótipo similar, mais preferivelmente idêntico ao da planta tendo resistência aumentada ao nematódeo. A resistência da
15 planta à infecção pelo nematódeo pode ser devido à morte, esterilidade, parada no desenvolvimento, ou mobilidade prejudicada do nematódeo sob exposição à planta compreendendo dsRNA específico para um gene essencial para o desenvolvimento ou a manutenção de um sítio de alimentação funcional, sincícios, ou célula gigante. O termo "resistente à infecção por
20 nematódeo" ou "uma planta tendo resistência ao nematódeo" como aqui usado refere-se à capacidade de uma planta, em comparação com uma planta de tipo selvagem, para evitar infecção por nematódeos, para matar nematódeos ou para impedir, reduzir ou parar o desenvolvimento, o crescimento ou a multiplicação de nematódeos. Isto pode ser conseguido por um processo
25 ativo, e.g. pela produção de uma substância prejudicial para o nematódeo, ou por um processo passivo, como ter um valor nutricional reduzido para o nematódeo ou não desenvolver estruturas induzidas pelo sítio de alimentação de nematódeo como sincícios ou células gigantes. O nível de resistência de nematódeo de uma planta pode ser determinado em várias maneiras, e.g. pela

contagem dos nematódeos que são capazes de estabelecer parasitismo sobre aquela planta, ou pela medição dos tempos de desenvolvimento de nematódeos, pela proporção de nematódeos machos e fêmeas ou, para nematódeos de cisto, pela contagem do número de cistos ou ovos de nematódeo produzidos sobre raízes de uma planta infectada ou um sistema de
5 ensaio de planta.

O termo "planta" é intencionado para incluir plantas em qualquer estágio de maturidade ou desenvolvimento, bem como quaisquer tecidos ou órgãos (partes de planta) obtidos de ou derivados de qualquer tal
10 planta a não ser que seja indicado diferentemente pelo contexto. Partes de planta incluem, mas não são limitadas a, caules, raízes, flores, óvulos, estames, sementes, folhas, embriões, regiões meristemáticas, tecido de calo, culturas de antera, gametófitos, esporófitos, pólen, microesporos, protoplastos, culturas de raiz peluda, e semelhantes. A presente invenção
15 também inclui sementes produzidas pelas plantas da presente invenção. Em uma modalidade, as sementes são geração verdadeira para uma resistência aumentada à infestação por nematódeo em comparação com uma variedade de tipo selvagem da semente de planta. Como aqui usada, uma "célula de planta" inclui, mas não é limitada a, um protoplasto, célula produtora de gametas, e
20 uma célula que regenera em uma planta inteira. Cultura de tecido de vários tecidos de plantas e regeneração de plantas a partir dos mesmos são bem conhecidas na arte e estão amplamente publicadas.

Como aqui usado, o termo "transgênico" refere-se a qualquer planta, célula de planta, calo, tecido de planta, ou parte de planta que contém
25 todo ou parte de pelo menos um polinucleotídeo recombinante. Em muitos casos, todo ou parte do polinucleotídeo recombinante está estavelmente integrado(a) em um cromossomo ou elemento extra-cromossômico estável, de modo que é passado para as gerações sucessivas. Para os propósitos da invenção, o termo "polinucleotídeo recombinante" refere-se a um

polinucleotídeo que tem sido alterado, rearranjado, ou modificado por engenharia genética. Exemplos incluem qualquer polinucleotídeo clonado, ou polinucleotídeos, que estão ligados ou unidos em seqüências heterólogas. O termo "recombinante" não se refere às alterações de polinucleotídeos que resultam de eventos naturalmente ocorrentes, tais como mutações espontâneas, ou de mutagênese não-espontânea seguida por geração seletiva.

Como aqui usado, o termo "quantidade suficiente para inibir expressão" refere-se a uma concentração ou quantidade do dsRNA que é suficiente para reduzir níveis ou estabilidade de mRNA ou proteína produzido(a) a partir de um gene alvo em uma planta. Como aqui usado, "inibir expressão" refere-se à ausência ou decréscimo observável no nível de proteína e/ou produto de mRNA a partir de um gene alvo. Inibição de expressão de gene alvo pode ser letal para o nematódeo parasita quer direta quer indiretamente através de modificação ou erradicação do sítio de alimentação, sincícios, ou célula gigante, ou tal inibição pode retardar ou prevenir a entrada em uma etapa desenvolvvente particular (e.g., metamorfose), se acesso a um sítio de alimentação totalmente funcional, sincícios, ou célula gigante estiver associado com um estágio particular do ciclo de vida de nematódeo parasita. As conseqüências de inibição podem ser confirmadas pelo exame da raiz da planta para redução ou eliminação de cistos ou outras propriedades do nematódeo ou da infestação por nematódeo (como apresentado abaixo no Exemplo 2).

A molécula de dsRNA da invenção compreende uma primeira fita que é substancialmente idêntica a pelo menos uma porção do gene alvo 50657480, o gene semelhante a 50657480, ou homólogo de 50657480. Preferivelmente a porção do gene é de comprimento total do gene alvo 50657480 como mostrado em SEQ ID NO:8, ou dos genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480 como mostrado em SEQ ID NOs:17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29. Mais preferivelmente, o dsRNA da invenção

compreende uma primeira fita que é substancialmente idêntica a de cerca de 19 a cerca de 477 nucleotídeos consecutivos de uma sequência selecionada do grupo consistindo de: a) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8; b) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 80% de identidade de sequência com SEQ ID NO.1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8; c) um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estridentes com um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8 d) um polinucleotídeo sendo obtível com iniciadores tendo a sequência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 14, ou 15, e) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 50% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29, f) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 40% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO:10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28. O dsRNA da invenção adicionalmente compreende uma segunda fita que é substancialmente idêntica à primeira fita. O dsRNA da invenção, pode ser preparado por técnicas de síntese padrão, e.g., usando um sintetizador de DNA automatizado.

Genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480 adicionais podem ser identificados com técnicas conhecidas na arte, tais como, mas não excluindo outras, hibridização, RT-PCR, PCR, e semelhantes. Por exemplo, genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480 são obtíveis com iniciadores tendo a sequência como mostrada em SEQ ID NO:

4, 5, 12, 13, 14, ou 15. Homólogos de 50657480 têm pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29, ou têm pelo menos 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO:10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28. Preferivelmente Têm pelo menos 50%, 60%, 70, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, ou têm pelo menos 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO: 10. Também são preferidos genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480 tendo pelo menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29, ou têm pelo menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO:10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.

Por exemplo, uma molécula de ácido nucleico codificadora de um gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480 pode ser isolada de um polinucleotídeo derivado de uma planta que hibridiza sob condições estridentes com uma sequência de nucleotídeos de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO:8. Um tal polinucleotídeo pode ser isolado de bibliotecas de cDNA de tecido de planta. Alternativamente, mRNA pode ser isolado de células de planta (e.g., pelo procedimento de extração em tiocianato de guanidínio de Chirgwin et al., 1979, *Biochemistry* 18:5294-5299), e cDNA pode ser preparado usando transcriptase reversa (e.g.,

transcriptase reversa de Moloney MLV, disponível na Gibco/BRL, Bethesda, MD; ou transcriptase reversa de AMV, disponível na Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL). Iniciadores de oligonucleotídeo sintéticos para amplificação por reação em cadeia da polimerase podem ser projetados baseados na seqüência de nucleotídeos mostrada em SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8. Moléculas de ácido nucleico correspondendo aos genes alvos de planta da invenção podem ser amplificadas usando cDNA ou, alternativamente, DNA genômico, como um modelo e iniciadores de oligonucleotídeo apropriados de acordo com técnicas de amplificação por PCR padrão. As moléculas de ácido nucleico assim amplificadas podem ser clonadas em vetores apropriados e caracterizadas por análise de seqüência de DNA. As seqüências de ácido nucleico determinadas da clonagem dos genes de feijão-soja permitem a geração de sondas e indiciadores projetados para uso em identificação e/ou clonagem de genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480 em outros tipos de célula e organismos, bem como homólogos de outras espécies de planta. E.g. iniciadores tendo a seqüência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 12, 13, 14, ou 15 podem ser usados em identificação e/ou clonagem de genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480.

Tais iniciadores também podem ser usados para clonar variantes de genes semelhantes a 50657480 e homólogos de 50657480. Variantes são costumeiramente variantes de seqüência tendo pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de seqüência com uma seqüência de nucleotídeos ou uma seqüência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO: 8, 9 ou 10. Preferivelmente tais variantes são obtidas de plantas da família Fabaceae, em particular do gênero Glycine.

Como discutido acima, fragmentos de dsRNA maiores do que cerca de 19-24 nucleotídeos em comprimento são clivados intracelularmente por nematódeos e plantas para siRNAs de cerca de 19-24 nucleotídeos em

comprimento, e estes siRNAs são os mediadores reais do fenômeno de RNAi. Assim o dsRNA da presente invenção pode variar em comprimento de cerca de 19 nucleotídeos a até o comprimento total do gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480. Preferivelmente, o dsRNA da invenção tem um comprimento de cerca de 21 nucleotídeos a cerca de 600 nucleotídeos. Mais preferivelmente, o dsRNA da invenção tem um comprimento de cerca de 21 nucleotídeos a cerca de 500 nucleotídeos, ou de cerca de 21 nucleotídeos a cerca de 400 nucleotídeos.

Quando dsRNA da invenção tem um comprimento maior do que cerca de 21 nucleotídeos, por exemplo de cerca de 50 nucleotídeos a cerca de 1000 nucleotídeos, ele será clivado aleatoriamente para dsRNAs de cerca de 21 nucleotídeos dentro da célula da planta ou do nematódeo parasita, os siRNAs. A clivagem de um dsRNA mais longo da invenção dará uma coleção de cerca de 21mer dsRNAs (variando de cerca de 19mers a cerca de 24mers), derivados do dsRNA mais longo. Esta coleção de cerca de 21mer dsRNAs é também incluída dentro do escopo da presente invenção, gerada intracelularmente dentro da planta ou do nematódeo ou sinteticamente usando métodos conhecidos de síntese de oligonucleotídeo.

Os dsRNAs ou siRNAs da invenção têm seqüências correspondendo a fragmentos de cerca de 19-24 nucleotídeos contíguos ao longo da seqüência inteira do gene semelhante a 50657480 ou do homólogo de 50657480. Figuras 8a-8e mostram 21-mers exemplares derivados de SEQ ID NO:8. Em uma maneira similar, 19-20, 22, 23, e 24-mers derivados de SEQ ID NO:8 são incluídos pela presente invenção.

A invenção é adicionalmente representada por modalidade como uma coleção de moléculas de dsRNA derivadas de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480, ou homólogo de 50657480. Por exemplo, uma coleção de siRNA da invenção derivada do gene 50657480 como mostrado em SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO:8 pode

compreender uma multiplicidade de moléculas de RNA que são selecionadas do grupo consistindo de oligonucleotídeos substancialmente idênticos aos 21mer nucleotídeos de SEQ ID NO:8 como revelado em Figuras 8a-8e ou qualquer gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480. Uma coleção de siRNA da invenção derivada do gene semelhante a 50657480 ou do homólogo de 50657480 e.g. de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO:8 também pode compreender qualquer combinação das moléculas de RNA específicas tendo qualquer uma das seqüências de 21 nucleotídeos contíguos derivadas de 21 SEQ ID NO:8 como mostradas em Figuras 8a-8e.

A tabela de Figuras 8a-8e também pode ser usada para calcular vários 19, 20, 22, 23 ou 24-mers ou início e término de uma porção do gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480. Quais 19, 20, 22, 23 ou 24-mers ou qual porção são / é a melhor escolha para uma planta particular pode(m) ser determinado(s) com a informação dada em Figuras 5, 6 e 7. Os 19, 20, 22, 23 ou 24-mers ou a porção tendo a identidade de seqüência mais alta com um gene semelhante a 50657480 particular ou um homólogo de 50657480 de uma planta particular ou mostrando um grau alto de conservação de seqüência em genes semelhantes a 50657480 ou um homólogo de 50657480s é o (a) mais preferido(a) 19, 20, 22, 23 ou 24-mer ou porção.

Um dsRNA compreendendo uma seqüência de nucleotídeos idêntica a uma porção do gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480 é preferido para inibição. Como aqui revelado 100% de identidade de seqüência entre o RNA e o gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480 é preferida, mas não exigida para praticar a presente invenção. Uma pessoa experiente na arte reconhecerá que o siRNA pode ter uma má combinação com o gene alvo de pelo menos 1, 2, ou mais nucleotídeos. Ademais, estas más combinações são intencionadas para serem incluídas na presente invenção. Por exemplo, é contemplado na presente invenção que as seqüências de 21mer dsRNA exemplificadas em

Figuras 8a-8e podem conter uma adição ou substituição de 1, 2, ou mais nucleotídeos e a sequência resultante ainda interferir com a função do gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480. Assim, a invenção tem a vantagem de ser capaz de tolerar variações de sequência que podem ser esperadas devido à síntese ou manipulação de gene, mutação genética, polimorfismo de cepa, ou divergência evolucionária.

O grau de identidade de sequência entre o dsRNA e o gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480 pode ser otimizado por algoritmos de alinhamento e comparação de sequências conhecidos na arte (veja Gribskov e Devereux, Sequence Analysis Primer, Stockton Press, 1991, e referências lá citadas) e cálculo da diferença percentual entre as sequências de nucleotídeos, por exemplo, pelo algoritmo de Smith-Waterman e como implementado no programa de computador BESTFIT usando parâmetros padrão (e.g., University of Wisconsin Genetic Computing Group). Mais do que 80 % de identidade de sequência, 90% de identidade de sequência, ou até mesmo 100% de identidade de sequência, entre o RNA inibitório e a porção do gene alvo é preferida. Alternativamente, a região duplex do RNA pode ser definida funcionalmente como uma sequência de nucleotídeos que é capaz de hibridizar com uma porção do gene alvo transcrita sob condições estridentes (e.g., NaCl 400 mM, PIPES 40 mM pH 6,4, EDTA 1 mM, hibridização a 60°C por 12-16 horas; seguida por lavagem a 65°C com 0,1%SDS e 0,1% SSC por cerca de 15-60 minutos). O comprimento da porção ou das sequências de nucleotídeos de fita dupla substancialmente idênticas pode ser pelo menos cerca de 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 1500, ou 2000 bases ou até o comprimento total do gene. Em uma modalidade preferida, o comprimento da porção é aproximadamente de cerca de 19 a cerca de 500 nucleotídeos em comprimento. Em outra modalidade a porção é de cerca de 50 a cerca de 700 nucleotídeos em comprimento, em uma modalidade mais preferida a porção

se de cerca de 100 a cerca de 600 nucleotídeos em comprimento, em uma modalidade ainda mais preferida a porção é de cerca de 200 a 500 nucleotídeos em comprimento. Em uma outra modalidade a porção consiste de cerca de 19 nucleotídeos a 25% do comprimento total do gene alvo, mais preferido de 25% a 50% ainda mais preferido de 50% a 75% e muito mais preferido de 75% a 100% do comprimento total do gene alvo.

O dsRNA da invenção pode opcionalmente compreender uma saliência de fita simples em cada uma ou em ambas as extremidades. A estrutura de fita dupla pode ser formada por uma fita de RNA auto-complementar simples (i.e. formando uma alça de grampo-de-cabelo) ou duas fitas de RNA complementares. Formação de duplex de RNA pode ser iniciada quer dentro quer fora da célula. Quando o dsRNA da invenção forma uma alça de grampo-de-cabelo, ele pode opcionalmente compreender um íntron, como mostrado em US 2003/0180945A1 ou um espaçador de nucleotídeo, que é um segmento de sequência entre as fitas de RNA complementares para estabilizar o transgene de grampo-de-cabelo em células. Métodos para preparar várias moléculas de dsRNA são mostrados, por exemplo, em WO 99/53050 e em Pat. US No. 6.506.559. O RNA pode ser introduzido em uma quantidade que permite liberação de pelo menos uma cópia por célula. Doses mais altas de material de fita dupla podem dar inibição mais eficaz.

Em outra modalidade, a invenção fornece um vetor de expressão recombinante isolado compreendendo um ácido nucleico codificador de uma molécula de dsRNA como descrita acima, sendo que a expressão do vetor em uma célula hospedeira de planta resulta em resistência aumentada a um nematódeo parasita em comparação com uma variedade de tipo selvagem da célula hospedeira de planta. Como aqui usado, o termo "vetor" refere-se a uma molécula de ácido nucleico capaz de transportar outro ácido nucleico no qual tem estado ligada. Um tipo de vetor é um "plasmídeo," que se refere a uma alça de DNA de fita dupla circular na qual segmentos de

DNA adicionais podem ser ligados. Outro tipo de vetor é um vetor viral, no qual segmentos de DNA adicionais podem ser ligados no genoma viral. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em uma célula hospedeira de planta na qual estão introduzidos. Outros vetores são integrados no genoma de uma célula hospedeira de planta sob introdução na célula hospedeira, e deste modo são replicados juntamente com o genoma hospedeiro. Além disso, certos vetores são capazes de dirigir a expressão de genes nos quais estão operacionalmente ligados. Tais vetores são aqui chamados de "vetores de expressão". Em geral, vetores de expressão de utilidade em técnicas de DNA recombinante estão freqüentemente na forma de plasmídeos. No presente relatório descritivo, "plasmídeo" e "vetor" pode ser usado intercambiavelmente porque o plasmídeo é a forma de vetor mais comumente utilizada. Contudo, a invenção é intencionada para incluir tais outras formas de vetores de expressão, tais como vetores virais (e.g., vírus X da batata, vírus das manchas cloróticas amarelas do tabaco, e Geminivirus), que servem com funções equivalentes.

Os vetores de expressão recombinantes da invenção compreendem um ácido nucleico da invenção em uma forma adequada para expressão do ácido nucleico em uma célula hospedeira de planta, o que significa que o vetor de expressão recombinante inclui uma ou mais seqüências regulatórias, selecionadas baseando-se nas células hospedeiras de planta a serem usadas para expressão, que está operacionalmente ligado na seqüência de ácido nucleico a ser expressada. Com respeito a um vetor de expressão recombinante, os termos "operacionalmente ligado" e "em associação operativa" são intercambiáveis e são intencionados para significar que a seqüência de ácido nucleico de interesse está ligada na(s) seqüência(s) regulatória(s) em uma maneira que permite a expressão da seqüência de nucleotídeos (e.g., em uma célula hospedeira de planta quando o vetor é introduzido na célula hospedeira de planta). O termo "seqüência regulatória" é

intencionado para incluir promotores, intensificadores, e outros elementos de controle de expressão (e.g., sinais de poliadenilação). Tais seqüências regulatórias são descritas, por exemplo, em Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990) e Gruber e Crosby, em: *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Eds. Glick and Thompson, Chapter 7, 89-108, CRC Press: Boca Raton, Florida, incluindo as referências dos mesmos. Seqüências regulatórias incluem aquelas que dirigem a expressão constitutiva de uma seqüência de nucleotídeos em muitos tipos de células hospedeiras e aquelas que dirigem a expressão da seqüência de nucleotídeos apenas em certas células hospedeiras ou sob certas condições. Será reconhecido por aquelas pessoas experientes na arte que o projeto do vetor de expressão pode depender de tais fatores como a escolha da célula hospedeira a ser transformada, do nível de expressão de dsRNA desejado, etc. Os vetores de expressão da invenção podem ser introduzidos nas células hospedeiras de planta para deste modo produzirem moléculas de dsRNA da invenção codificadas por ácido nucleicos como aqui descrito.

De acordo com a invenção, o vetor de expressão recombinante compreende uma seqüência regulatória, e.g. um promotor, operacionalmente ligado em uma seqüência de nucleotídeos que é um modelo para uma ou ambas as fitas das moléculas de dsRNA da invenção. Em uma modalidade, a molécula de ácido nucleico adicionalmente compreende um promotor flanqueando qualquer extremidade da molécula de ácido nucleico, sendo que os promotores dirigem a expressão de cada fita individual de DNA, gerando deste modo dois RNAs complementares que hibridizam e formam o dsRNA. Em outra modalidade, a molécula de ácido nucleico compreende uma seqüência de nucleotídeos que é transcrita em ambas as fitas do dsRNA em uma unidade de transcrição, sendo que a fita de senso é transcrita da extremidade 5' da unidade de transcrição e a fita de anti-senso é transcrita da

extremidade 3', sendo que as duas fitas são separadas por cerca de 3 a cerca de 500 pares de bases, e sendo que após a transcrição, o transcrito de RNA dobra-se sobre si mesmo para formar um grampo-de-cabelo. De acordo com a invenção, a região espaçadora no transcrito de grampo-de-cabelo pode ser qualquer fragmento de DNA.

De acordo com a presente invenção, o polinucleotídeo introduzido pode ser mantido na célula de planta estavelmente se ele é incorporado em um replicon autônomo de não-cromossomo ou integrado nos cromossomos da planta. Alternativamente, o polinucleotídeo introduzido pode estar presente em um vetor não-replicativo extra-cromossômico e ser transientemente expressado ou transientemente ativo. Se presente em um vetor não-replicativo extra-cromossômico ou um vetor que está integrado em um cromossomo, o polinucleotídeo preferivelmente reside em um cassete de expressão em planta. Um cassete de expressão em planta preferivelmente contém seqüências regulatórias capazes de dirigir a expressão de gene em células de planta que estão operacionalmente ligadas de modo que cada seqüência possa realizar sua função, por exemplo, terminação de transcrição por sinais de poliadenilação. Sinais de poliadenilação preferidos são aqueles originários de t-DNA de *Agrobacterium tumefaciens* tal como o gene 3 conhecido como octopina sintase do plasmídeo-Ti pTiACH5 (Gielen et al., 1984, EMBO J. 3:835) ou seus equivalentes funcionais, mas também outros terminadores funcionalmente ativos em plantas são adequados. Como o vetor de expressão de gene de planta é muito freqüentemente não limitado aos níveis transcricionais, um cassete de expressão em planta contém outras seqüências overdrive contendo seqüência líder 5'-não-traduzida do vírus do mosaico do tabaco intensificando a razão de polipeptídeo por RNA (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15:8693-8711). Exemplos de vetores de expressão em planta incluem aqueles detalhados em: Becker, D. et al., 1992, "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left

border", Plant Mol. Biol. 20:1195-1197; Bevan, M.W., 1984, "Binary Agrobacterium vectors for plant transformation", Nucl. Acid. Res. 12:8711-8721; e "Vectors for Gene Transfer in Higher Plants"; em: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds.: Kung and R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38.

Expressão de gene de planta deve estar operacionalmente ligada em um promotor apropriado que concede expressão de gene em uma maneira temporal-preferida, espacial-preferida, tipo-de-célula-preferida, e/ou tecido-preferida. Promotores úteis os cassetes de expressão da invenção incluem qualquer promotor que é capaz de iniciar transcrição em uma célula de planta presente nas raízes de planta. Tais promotores incluem, mas não são limitados àqueles que podem ser obtidos de plantas, vírus de planta e bactérias que contêm genes que são expressados em plantas, tais como Agrobacterium e Rhizobium. Preferivelmente, o cassete de expressão da invenção compreende um promotor específico para raiz, um promotor induzível por patógeno ou um promotor induzível por nematódeo. Mais preferivelmente o promotor induzível por nematódeo é um promotor específico de sítio de alimentação de nematódeo parasita. Um promotor específico de sítio de alimentação de nematódeo parasita pode ser específico para células sinciciais ou células gigantes ou específico para ambos os tipos de células. Um promotor é induzível, se sua atividade, medida sobre a quantidade de RNA produzido sob controle do promotor é pelo menos 30%, 40%, 50% preferivelmente pelo menos 60%, 70%, 80%, 90% mais preferido pelo menos 100%, 200%, 300% maior em seu estado induzido, do que em seu estado não-induzido. Um promotor é específico para célula, tecido ou órgão, se sua atividade, medida sobre a quantidade de RNA produzida sob controle do promotor, for pelo menos 30%, 40%, 50% preferivelmente pelo menos 60%, 70%, 80%, 90% mais preferido pelo menos 100%, 200%, 300% maior em um tipo de célula, tecido ou órgão particular, do que em outros tipos de

célula, ou tecidos da mesma planta, preferivelmente os outros tipos de célula ou tecidos são tipos de célula ou tecidos do mesmo órgão de planta, e.g. uma raiz. No caso de promotores específicos para órgão, a atividade de promotor tem que ser comparada com a atividade de promotor em outros órgãos de planta, e.g. folhas, caules, flores ou sementes.

O promotor pode ser constitutivo, induzível, preferido para estágio desenvolvendo, preferido para tipo de célula, preferido para tecido ou preferido para órgão. Promotores constitutivos são ativos sob a maioria das condições. Exemplos não limitantes de promotores constitutivos incluem os promotores 19S e 35S de CaMV (Odell et al., 1985, Nature 313:810-812), o promotor sX CaMV 35S (Kay et al., 1987, Science 236:1299-1302), o promotor Sep1, o promotor de actina de arroz (McElroy et al., 1990, Plant Cell 2:163-171), o promotor de actina de Arabidopsis, o promotor de ubiquitina (Christensen et al., 1989, Plant Molec. Biol. 18:675-689); pEmu (Last et al., 1991, Theor. Appl. Genet. 81:581-588), o promotor 35S do vírus do mosaico de escrofulária, o promotor Smas (Velten et al., 1984, EMBO J. 3:2723-2730), o promotor GRP1-8, o promotor de cinamil álcool desidrogenase (Patente US No. 5.683.439), promotores do T-DNA de Agrobacterium, tais como promotor de manopina sintase, promotor de nopalina sintase, e promotor de octopina sintase, o promotor de subunidade pequena de ribulose bifosfato carboxilase (ssuRUBISCO), e semelhantes. Promotores que expressam o dsRNA em uma célula que é contatada por nematódeos parasitas são preferidos. Alternativamente, o promotor pode conduzir expressão do dsRNA em um tecido de planta remoto do sítio de contato com o nematódeo, e o dsRNA pode ser então transportado pela planta para uma célula que é contatada pelo nematódeo parasita, em particular células de ou próximas pelos sítio de alimentação, e.g. células sinciciais ou células gigantes.

Promotores induzíveis são ativos sob certas condições, tais

como a presença ou ausência de um nutriente ou metabólito, calor, frio, luz, ataque patogênico, condições anaeróbicas, e semelhantes. Por exemplo, tem sido mostrado que os promotores TobRB7, AtRPE, AtPyk10, Gemini19, e AtHMG1 são induzidos por nematódeos (para uma revisão de promotores induzíveis por nematódeos, veja Ann. Rev. Phytopathol. (2002) 40:191-219; veja também Pat. US No. 6.593.513). Método para isolar promotores adicionais, que são induzíveis por nematódeos são mostrados em Pat. US Nos. 5.589.622 e 5.824.876. Outros promotores induzíveis incluem o promotor hsp80 de Brassica, sendo induzível por choque térmico; o promotor PPDK é induzido por luz; o promotor PR-1 de tabaco, Arabidopsis, e milho são induzíveis por infecção com um patógeno; e o promotor Adh1 é induzido por hipoxia e estresse frio. Expressão de gene de planta também pode ser facilitada via um promotor induzível (para revisão, veja Gatz, 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48:89-108). Promotores quimicamente induzíveis são especialmente adequados se for desejada expressão de gene tempo-específica. Exemplos não-limitantes de tais promotores são um promotor induzível por ácido salicílico (Pedido PCT No. WO 95/19443), um promotor induzível por tetraciclina (Gatz et al., 1992, Plant J. 2:397-404) e um promotor induzível por etanol (Pedido PCT No. WO 93/21334).

Promotores preferidos para estágio desenvolvendo são preferivelmente expressados em certos estágios de desenvolvimento. Promotores específicos de tecido e de órgão incluem aqueles que são preferencialmente expressados em certos tecidos ou órgãos, tais como, mas não limitados a folhas, raízes, sementes, ou xilema. Exemplos de promotores preferidos para tecido e preferidos para órgão incluem, mas não são limitados a promotores preferidos para fruta, preferidos para óvulo, preferidos para tecido masculino, preferidos para semente, preferidos para tegumento, preferidos para tubérculo, preferidos para pedúnculo, preferidos para pericarpo, preferidos para folha, preferidos para estigma, preferidos para

pólen, preferidos para antera, um preferido para pétala, preferidos para sépala, preferidos para pedicelo, preferidos para siliqua, preferidos para caule, preferidos para raiz e semelhantes. Promotores preferidos para semente são preferivelmente expressados durante desenvolvimento e/ou germinação de semente. Por exemplo, promotores preferidos para semente podem ser preferidos para embrião, preferidos para endosperma e preferidos para capa de semente. Veja Thompson et al., 1989, BioEssays 10:108. Exemplos de promotores preferidos para semente incluem, mas não limitados a celulose sintase (celA), Cim1, gama-zeína, globulina-1, zeína de 19 kD de milho (cZ19B1) e semelhantes.

Outros promotores preferidos para tecido ou preferidos para órgão adequados incluem, mas não são limitados a, o promotor de gene de napina de colza (Patente US No. 5.608.152), o promotor USP de Vicia faba (Baeumlein et al., 1991, Mol Gen Genet. 225(3):459-67), o promotor de oleosina de Arabidopsis (Pedido PCT No. WO 98/45461), o promotor de faseolina de Phaseolus vulgaris (Patente US No. 5.504.200), o promotor Bce4 de Brassica (Pedido PCT No. WO 91/13980), ou o promotor de legumina B4 (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2(2):233-9), bem como promotores que concedem expressão específica em semente em plantas monocotiledôneas como milho, cevada, trigo, centeio, arroz, etc. Promotores adequados para anotar são o promotor de gene Ipt2 ou Ipt1 de cevada (Pedido PCT No. WO 95/15389 e Pedido PCT No. WO 95/23230) ou aqueles descritos em Pedido PCT No. WO 99/16890 (promotores do gene de hordeína de cevada, gene de glutelina de arroz, gene orizina de arroz, gene prolamina de arroz, gene gliadina de arroz, gene glutelina de trigo, gene de glutelina de aveia, gene casirina de sorgo, e gene de secalina de centeio).

Outros promotores úteis nos cassetes de expressão da invenção incluem, mas não são limitados a, o promotor de proteína ligante de clorofila a/b maior, promotores de histona, o promotor Ap3, o promotor de β -

conglucina, o promotor de napina, o promotor de lecitina de feijão-soja, o promotor de zeína de 15kD de milho, o promotor de zeína de 22kF, o promotor de zeína de 27kD, o promotor de g-zeína, os promotores ceroso, shrunken 1, shrunken 2, e bronze, o promotor Zm13 (Patente US No. 5.086.169), os promotores de poligalacturonase (PG) de milho (Patentes US Nos. 5.412.085 e 5.545.546), e o promotor SGB6 (Patente US No. 5.470.359), bem como promotores sintéticos e outros promotores naturais.

De acordo com a presente invenção, o cassete de expressão compreende uma seqüência de controle de expressão operacionalmente ligada em uma seqüência de nucleotídeos que é um modelo para uma ou ambas as fitas do dsRNA. O modelo dsRNA compreende (a) uma primeira fita tendo uma seqüência substancialmente idêntica a de cerca de 19 a cerca de 500, ou até o comprimento total de, nucleotídeos consecutivos de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO:8; e (b) uma segunda fita tendo uma seqüência substancialmente complementar à primeira fita. Em outras modalidades, um promotor flanqueia qualquer extremidade da seqüência de nucleotídeos modelo, sendo que os promotores conduzem a expressão de cada fita de DNA individual, gerando deste modo dois RNAs complementares que hibridizam e formam o dsRNA. Em modalidades alternativas, a seqüência de nucleotídeos é transcrita em ambas as fitas do dsRNA na mesma unidade de transcrição, sendo que a fita de senso é transcrita da extremidade 5' da unidade de transcrição e a fita de anti-senso é transcrita da extremidade 3', sendo que as duas fitas estão separadas por cerca de 3 a cerca de 500 pares de base, e sendo que após a transcrição, o transcrito de RNA dobra-se sobre si mesmo para formar um grampo-de-cabelo.

Em outra modalidade, o vetor contém um promotor bidirecional, dirigindo a expressão das duas moléculas de ácido nucleico, deste modo uma molécula de ácido nucleico codifica a seqüência substancialmente idêntica a uma porção de um gene semelhante a 50657480

ou um homólogo de 50657480 e a outra molécula de ácido nucleico codifica uma segunda seqüência sendo substancialmente complementar à primeira fita e capaz de formar um dsRNA, quando ambas as seqüências são transcritas. Um promotor bidirecional é um promotor capaz de mediar expressão em duas

5 direções.

Em outra modalidade, o vetor contém dois promotores um mediando a transcrição da seqüência substancialmente idêntica a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 e outro promotor mediando a transcrição de uma segunda seqüência sendo

10 substancialmente complementar à primeira fita e capaz de formar um dsRNA, quando ambas as seqüências são transcritas. O segundo promotor pode ser um promotor diferente. Um promotor diferente significa um promotor tendo uma atividade diferente em relação à especificidade de célula ou tecido, ou mostrando expressão em indutores diferentes por exemplo, patógenos,

15 estresse abiótico ou agentes químicos. Por exemplo, um promotor pode ser constitutivo ou específico para tecido e outro pode ser específico para tecido ou induzível por patógenos. Em uma modalidade um promotor medeia a transcrição de uma molécula de ácido nucleico adequada para sobre-expressão de um gene 50657480, enquanto que outro promotor medeia

20 transcrição específica para célula ou tecido ou expressão induzível por patógeno do ácido nucleico complementar.

A invenção também é representada como modalidade em uma planta transgênica capaz de expressar o dsRNA da invenção e deste modo inibir os genes semelhantes a 50657480 ou homólogo 50657480 (gene alvo)

25 nas raízes, no sítio de alimentação, nos sincícios e/ou na célula gigante.

A planta ou planta transgênica pode ser qualquer planta, tal como, mas não limitada a árvores, flores cortadas, plantas ornamentais, verduras/hortaliças ou plantas de colheita. A planta pode ser de um gênero selecionado do grupo consistindo de *Medicago*, *Lycopersicon*, *Brassica*,

- Cucumis, Solanum, Juglans, Gossypium, Malus, Vitis, Antirrhinum, Populus, Fragaria, Arabidopsis, Picea, Capsicum, Chenopodium, Dendranthema, Pharbitis, Pinus, Pisum, Oryza, Zea, Triticum, Triticale, Secale, Lolium, Hordeum, Glycine, Pseudotsuga, Kalanchoe, Beta, Helianthus, Nicotiana,
- 5 Cucurbita, Rosa, Fragaria, Lotus, Medicago, Onobrychis, trifolium, Trigonella, Vigna, Citrus, Linum, Geranium, Manihot, Daucus, Raphanus, Sinapis, Atropa, Datura, Hyoscyamus, Nicotiana, Petunia, Digitalis, Majorana, Ciahorium, Lactuca, Bromus, Asparagus, Antirrhinum, Heterocallis, Nemesis, Pelargonium, Panieum, Pennisetum, Ranunculus,
- 10 Senecio, Salpiglossis, Browaalia, Phaseolus, Avena, e Allium, ou a planta pode ser selecionada de um gênero selecionado do grupo consistindo de Arabidopsis, Medicago, Lycopersicon, Brassica, Cucumis, Solanum, Juglans, Gossypium, Malus, Vitis, Antirrhinum, Brachipodium, Populus, Fragaria, Arabidopsis, Picea, Capsicum, Chenopodium, Dendranthema, Pharbitis,
- 15 Pinus, Pisum, Oryza, Zea, Triticum, Triticale, Secale, Lolium, Hordeum, Glycine, Pseudotsuga, Kalanchoe, Beta, Helianthus, Nicotiana, Cucurbita, Rosa, Fragaria, Lotus, Medicago, Onobrychis, trifolium, Trigonella, Vigna, Citrus, Linum, Geranium, Manihot, Daucus, Raphanus, Sinapis, Atropa, Datura, Hyoscyamus, Nicotiana, Petunia, Digitalis, Majorana, Ciahorium,
- 20 Lactuca, Bromus, Asparagus, Antirrhinum, Heterocallis, Nemesis, Pelargonium, Panieum, Pennisetum, Ranunculus, Senecio, Salpiglossis, Browaalia, Phaseolus, Avena, e Allium. Em uma modalidade a planta é uma planta monocotiledônea ou uma planta dicotiledônea.

Preferivelmente a planta é uma planta de colheita. Plantas de

25 colheita são todas as plantas, usadas em agricultura. Conformemente em uma modalidade a planta é uma planta monocotiledônea, preferivelmente uma planta da família Poaceae, Musaceae, Liliaceae ou Bromeliaceae, preferivelmente da família Poaceae. Conformemente, em ainda uma outra modalidade a planta é uma planta Poaceae do gênero Zea, Triticum, Oryza,

- Hordeum, Secale, Avena, Saccharum, Sorghum, Pennisetum, Setaria, Panieum, Eleusine, Miscanthus, Brachypodium, Festuca ou Lolium. Quando a planta é do gênero Zea, a espécie preferida é *Z. mays*. Quando a planta é do gênero Triticum, a espécie preferida é *T. aestivum*, *T. speltae* ou *T. durum*.
- 5 Quando a planta é do gênero Oryza, a espécie preferida é *O. sativa*. Quando a planta é do gênero Hordeum, a espécie preferida é *H. vulgare*. Quando a planta é do gênero Secale, a espécie preferida é *S. cereale*. Quando a planta é do gênero Avena, a espécie preferida é *A. sativa*. Quando a planta é do gênero Saccarum, a espécie preferida é *S. officinarum*. Quando a planta é do gênero
- 10 Sorghum, a espécie preferida é *S. vulgare*, *S. bicolor* ou *S. sudanense*. Quando a planta é do gênero Pennisetum, a espécie preferida é *P. glaucum*. Quando a planta é do gênero Setaria, a espécie preferida é *S. italica*. Quando a planta é do gênero Panieum, a espécie preferida é *P. miliaceum* ou *P. virgatum*. Quando a planta é do gênero Eleusine, a espécie preferida é *E. coracana*.
- 15 Quando a planta é do gênero Miscanthus, a espécie preferida é *M. sinensis*. Quando a planta é uma planta do gênero Festuca, a espécie preferida é *F. arundinaria*, *F. rubra* ou *F. pratensis*. Quando a planta é do gênero Lolium, a espécie preferida é *L. perenne* ou *L. multiflorum*. Alternativamente, a planta pode ser Triticosecale.
- 20 Alternativamente, em uma modalidade a planta é uma planta dicotiledônea, preferivelmente uma planta da família Fabaceae, Solanaceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, Asteraceae, Malvaceae, Linaceae, Euphorbiaceae, Convolvulaceae Rosaceae, Cucurbitaceae, Theaceae, Rubiaceae, Sterculiaceae ou Citrus. Em uma modalidade a planta é uma
- 25 planta da família Fabaceae, Solanaceae ou Brassicaceae. Conformemente, em uma modalidade a planta é da família Fabaceae, preferivelmente do gênero Glycine, Pisum, Arachis, Cicer, Vicia, Phaseolus, Lupinus, Medicago ou Lens. Espécies preferidas da família Fabaceae são *M. truncatula*, *M. sativa*, *G. max*, *P. sativum*, *A. hypogea*, *C. arietinum*, *V. faba*, *P. vulgaris*, *Lupinus*

albus, *Lupinus luteus*, *Lupinus angustifolius* ou *Lens culinaris*. Mais preferidas são as espécies *G. max*, *A. hypogea* e *M. sativa*. Mais preferida é a espécie *G. max*. Quando a planta é da família *Solanaceae*, o gênero preferido é *Solanum*, *Lycopersicon*, *Nicotiana* ou *Capsicum*. Espécies preferidas da família *Solanaceae* são *S. tuberosum*, *L. esculentum*, *N. tabaccum* ou *C. chinense*. Mais preferido é *S. tuberosum*. Conformemente, em uma modalidade a planta é da família *Brassicaceae*, preferivelmente do gênero *Brassica* ou *Raphanus*. Espécies preferidas da família *Brassicaceae* são as espécies *B. napus*, *B. oleracea*, *B. juncea* ou *B. rapa*. Mais preferida é a espécie *B. napus*. Quando a planta é da família *Chenopodiaceae*, o gênero preferido é *Beta* e a espécie preferida é a *B. vulgaris*. Quando a planta é da família *Asteraceae*, o gênero preferido é *Helianthus* e a espécie preferida é *H. annuus*. Quando a planta é da família *Malvaceae*, o gênero preferido é *Gossypium* ou *Abelmoschus*. Quando o gênero é *Gossypium*, a espécie preferida é *G. hirsutum* ou *G. barbadense* e a espécie mais preferida é *G. hirsutum*. A espécie preferida do gênero *Abelmoschus* é a espécie *A. esculentus*. Quando a planta é da família *Linaceae*, o gênero preferido é *Linum* e a espécie preferida é *L. usitatissimum*. Quando a planta é da família *Euphorbiaceae*, o gênero preferido é *Manihot*, *Jatropha* ou *Rhizinus* e as espécies preferidas são *M. esculenta*, *J. curcas* ou *R. communis*. Quando a planta é da família *Convolvulaceae*, o gênero preferido é *Ipomea* e a espécie preferida é *I. batatas*. Quando a planta é da família *Rosaceae*, o gênero preferido é *Rosa*, *Malus*, *Pyrus*, *Prunus*, *Rubus*, *Ribes*, *Vaccinium* ou *Fragaria* e a espécie preferida é o híbrido *Fragaria x ananassa*. Quando a planta é da família *Cucurbitaceae*, o gênero preferido é *Cucumis*, *Citrullus* ou *Cucurbita* e a espécie preferida é *Cucumis sativus*, *Citrullus lanatus* ou *Cucurbita pepo*. Quando a planta é da família *Theaceae*, o gênero preferido é *Camellia* e a espécie preferida é *C. sinensis*. Quando a planta é da família *Rubiaceae*, o gênero preferido é *Coffea* e a espécie preferida é *C. arabica* ou *C. canephora*.

Quando a planta é da família Sterculiaceae, o gênero preferido é *Theobroma* e a espécie preferida é *T. cacao*. Quando a planta é do gênero *Citrus*, a espécie preferida é *C. sinensis*, *C. limon*, *C. reticulata*, *C. maxima* e híbrido de espécie *Citrus*, ou semelhantes. Em uma modalidade preferida da invenção, a planta é

5 uma planta de feijão-soja, uma planta de batateira ou uma planta de milho.

Métodos adequados para transformar ou transfectar células hospedeiras incluindo células de planta são bem conhecidos na arte de biotecnologia de planta. Qualquer método pode ser usado para transformar o vetor de expressão recombinante para dentro de células de planta para dar as

10 plantas transgênicas da invenção. Métodos gerais para transformar plantas dicotiledôneas são revelados, por exemplo, em Pat. US Nos. 4.940.838; 5.464.763, e semelhantes. Métodos para transformar plantas dicotiledôneas específicas, por exemplo, algodoeiro, são mostrados em Pat. US Nos. 5.004.863; 5.159.135; e 5.846.797. Métodos de transformação de feijão-soja

15 são mostrados em Pat. US Nos. 4.992.375; 5.416.011; 5.569.834; 5.824.877; 6.384.301 e em EP 0301749B1 podem ser usados.

Métodos de transformação podem incluir métodos diretos e indiretos de transformação. Métodos diretos adequados incluem absorção de DNA induzida por poli(etileno-glicol), transformação mediada por lipossomo

20 (US 4.536.475), métodos biolísticos usando pistola de gene (Fromm ME et al., *Bio/Technology*. 8(9):833-9, 1990; Gordon-Kamm et al. *Plant Cell* 2:603, 1990), eletroporação, incubação de embriões secos em solução compreendendo DNA, e microinjeção. No caso destes métodos diretos de transformação, os plasmídeos usados não necessitam atender às exigências

25 particulares. Plasmídeos simples, tais como aqueles da série pUC, pBR322, da série M13mp, pACYC184 e semelhantes podem ser usados. Se plantas intactas são para serem regeneradas a partir das células transformadas, um gene marcador selecionável é preferivelmente localizado no plasmídeo. As técnicas de transformação diretas são igualmente adequadas para plantas

dicotiledôneas e monocotiledôneas.

Transformação também pode ser realizada por infecção bacteriana por meio de *Agrobacterium* (por exemplo EP 0 116 718), infecção viral por intermédio de vetores virais (EP 0.067.553; US 4.407.956; WO 95/34668; WO 93/03161) ou por meio de pólen (EP 0.270.356; WO 85/01856; US 4.684.611). Técnicas de transformação baseadas em *Agrobacterium* (especialmente para plantas dicotiledôneas) são bem conhecidas na arte. A cepa de *Agrobacterium* (e.g., *Agrobacterium tumefaciens* ou *Agrobacterium rhizogenes*) compreende um plasmídeo (plasmídeo Ti ou Ri) e um elemento T-DNA que é transferido para a planta após infecção com *Agrobacterium*. O T-DNA (DNA transferido) é integrado no genoma da célula de planta. O T-DNA pode estar localizado no plasmídeo-Ri ou -Ti ou está separadamente compreendido em um denominado vetor binário. Métodos para a transformação mediada por *Agrobacterium* são descritos, por exemplo, em Horsch RB et al. (1985) *Science* 225:1229. A transformação mediada por *Agrobacterium* é melhor adequada para plantas dicotiledôneas mas também tem sido adaptada para plantas monocotiledôneas. A transformação de plantas por *Agrobacteria* é descrita em, por exemplo, White FF, *Vectors for Gene Transfer in Higher Plants, Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization*, editado por S.D. Kung e R. Wu, Academic Press, 1993, pp. 15 - 38; Jenes B et al. *Techniques for Gene Transfer, Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization*, editado por S.D. Kung e R. Wu, Academic Press, 1993, pp. 128-143; Potrykus (1991) *Annu Rev Plant Physiol Plant Molec Biol* 42:205- 225.

Transformação pode resultar em expressão e transformação estável ou transiente. Embora uma sequência de nucleotídeos da presente invenção possa ser inserida em qualquer planta e célula de planta caindo dentro destas classes amplas, é particularmente útil em células de planta de colheita.

As plantas transgênicas da invenção podem ser cruzadas com plantas transgênicas similares ou com plantas transgênicas faltantes dos ácido nucleicos da invenção ou com plantas não-transgênicas, usando métodos conhecidos de geração de planta, para preparar sementes. Ademais, a planta transgênica da presente invenção pode compreender, e/ou ser cruzada com outra planta transgênica que compreende um ou mais ácido nucleicos, criando assim uma "pilha" de transgenes na planta e/ou sua progênie. A semente é então plantada para obter uma planta transgênica fértil cruzada compreendendo o ácido nucleico da invenção. A planta transgênica fértil cruzada pode ter o cassete de expressão particular herdado através de uma planta parental fêmea ou através de uma planta parental macho. A segunda planta pode ser uma planta congênita. A planta transgênica fértil cruzada pode ser um híbrido. Também estão incluídas dentro da presente invenção sementes de qualquer uma destas plantas transgênicas férteis cruzadas. As sementes desta invenção podem ser colhidas das plantas transgênicas férteis e usadas para crescer gerações de progênie de plantas transformadas desta invenção incluindo linhagens de planta híbridas compreendendo o construto de DNA.

"Empilhamento de gene" também pode ser realizado por transferência de dois ou mais genes para dentro do núcleo de célula por transformação de planta. Genes múltiplos podem ser introduzidos no núcleo de célula durante transformação quer sequencialmente quer simultaneamente. Genes múltiplos em plantas ou espécies de patógeno alvo podem ser infra-regulados por mecanismos de silenciamento de gene, especialmente RNAi, pelo uso de um único transgene selecionando múltiplas seqüências parciais ligadas de interesse. Múltiplos genes, empilhados, sob o controle de promotores individuais também podem ser sobre-expressados para alcançar um fenótipo único ou múltiplo desejado. Construtos contendo pilhas de gene de ambos os genes sobre-expressados e os alvos silenciados também podem

ser introduzidos em plantas dando fenótipos único ou múltiplos agronomicamente importantes. Em certas modalidades as seqüências de ácido nucleico da presente invenção podem ser empilhadas com qualquer combinação de seqüências de polinucleotídeo de interesse para criar fenótipos desejados. As combinações podem produzir plantas com uma variedade de combinações de feições incluindo mas não limitadas a resistência à doença, tolerância a herbicida, intensificação de rendimento, tolerância ao frio e à estiagem. Estas combinações empilhadas podem ser criadas por qualquer método incluindo mas não limitado a geração cruzada de plantas por métodos convencionais ou por transformação genética. Se as feições são empilhadas por transformação genética, as seqüências de polinucleotídeo de interesse podem ser seqüencial ou simultaneamente combinadas em qualquer ordem. Por exemplo se dois genes são para serem introduzidos, as duas seqüências podem estar contidas em cassetes de transformação separados ou no mesmo cassete de transformação. A expressão das seqüências pode ser conduzida por promotores iguais ou diferentes.

De acordo com esta modalidade, a planta transgênica da invenção é produzida por um método compreendendo as etapas de fornecer uma preparação de um cassete de expressão tendo uma primeira região que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480, e uma segunda região que é complementar à primeira região, transformar o cassete de expressão em uma planta, e selecionar a progênie da planta transformada que expressa o construto de dsRNA da invenção.

A presente invenção pode ser usada para reduzir a destruição de plantação por qualquer nematódeo parasita de planta. Preferivelmente, os nematódeos parasitas pertencem às famílias de nematódeos induzindo células gigantes ou sinciciais. Nematódeos induzindo células gigantes ou sinciciais são encontrados nas famílias Longidoridae, Trichodoridae, Heterodidae,

Meloidogynidae, Pratylenchidae ou Tylenchulidae. Em particular nas famílias Heterodidae e Meloidogynidae.

Conformemente, nematódeos parasitas selecionados pela presente invenção pertencem a um ou mais gêneros selecionados do grupo de Naccobus, Cactodera, Dolichodera, Globodera, Heterodera, Punctodera, Longidorus ou Meloidogyne. Em uma modalidade preferida os nematódeos parasitas pertencem a um ou mais gêneros selecionados do grupo de Naccobus, Cactodera, Dolichodera, Globodera, Heterodera, Punctodera ou Meloidogyne. Em uma modalidade mais preferida os nematódeos parasitas pertencem a um ou mais gêneros selecionados do grupo de Globodera, Heterodera, ou Meloidogyne. Em uma modalidade ainda mais preferida os nematódeos parasitas pertencem a um ou mais gêneros selecionados do grupo de Globodera ou Heterodera. Em outra modalidade os nematódeos parasitas pertencem ao gênero Meloidogyne.

Quando os nematódeos parasitas são do gênero Globodera, as espécies são preferivelmente do grupo consistindo de *G. achilleae*, *G. artemisiae*, *G. hypolysi*, *G. mexicana*, *G. millefolii*, *G. mali*, *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *G. tabacum*, e *G. virginiae*. Em outra modalidade preferida os nematódeos parasitas Globodera incluem pelo menos uma das espécies *G. pallida*, *G. tabacum*, ou *G. rostochiensis*. Quando os nematódeos parasitas são do gênero Heterodera, as espécies podem ser preferivelmente do grupo consistindo de *H. avenae*, *H. carotae*, *H. ciceri*, *H. cruciferae*, *H. delvii*, *H. elachista*, *H. filipjevi*, *H. gambiensis*, *H. glycines*, *H. goettingiana*, *H. graduni*, *H. humuli*, *H. hordecalis*, *H. latipons*, *H. major*, *H. medicaginis*, *H. oryzicola*, *H. pakistanensis*, *H. rosii*, *H. sacchari*, *H. schachtii*, *H. sorghi*, *H. trifolii*, *H. urticae*, *H. vigni* e *H. zaeae*. Em outra modalidade preferida os nematódeos parasitas Heterodera incluem pelo menos uma das espécies *H. glycines*, *H. avenae*, *H. cajani*, *H. gottingiana*, *H. trifolii*, *H. zaeae* ou *H. schachtii*. Em uma modalidade mais preferida os nematódeos parasitas incluem pelo menos uma

das espécies *H. glycines* ou *H. schachtii*. Em uma modalidade mais preferida o nematódeo parasita é a espécie *H. glycines*.

Quando os nematódeos parasitas são do gênero *Meloidogyne*, os nematódeos parasitas podem ser selecionados do grupo consistindo de *M. acronea*, *M. arabica*, *M. arenaria*, *M. artiellia*, *M. brevicauda*, *M. camelliae*, *M. chitwoodi*, *M. coffeicola*, *M. esigua*, *M. graminicola*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. indica*, *M. inornata*, *M. javanica*, *M. lini*, *M. mali*, *M. microcephala*, *M. microtyla*, *M. naasi*, *M. salasi* e *M. thamesi*. Em uma modalidade preferida os nemátodes parasitas incluem pelo menos uma das espécies *M. javanica*, *M. incognita*, *M. hapla*, *M. arenaria* ou *M. chitwoodi*.

A presente invenção também fornece um método para inibir a expressão de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480, ou um homólogo de 50657480. De acordo com esta modalidade, o método compreende a etapa de administrar à planta um dsRNA da invenção.

Os seguintes exemplos não são intencionados para limitar o escopo das reivindicações da invenção, mas são em vez disso intencionados para serem exemplares de certas modalidades. Quaisquer variações nos métodos exemplificados que estão dentro do nível ordinário de perícia na arte são intencionadas para caírem dentro do escopo da presente invenção.

EXEMPLO 1: CLONAGEM DE 50657480 DE FEIJÃO-SOJA

Excisão de sincícios a laser

Glycine max cv. Williams 82 foi germinada sobre placas de ágar por três dias e então transferida para bolsas de germinação. Um dia mais tarde, cada planta jovem foi inoculada com nematódeos juvenis de segundo estágio (J2) de *H. glycines* race 3. Seis dias após a inoculação, tecido de raiz novo foi fatiado em pedaços de 1 cm de comprimento, fixado, embebido em um criomolde, e seccionado usando métodos conhecidos. Células de sincícios foram identificadas por sua morfologia singular de tamanho de célula aumentado, parede celular espessada, e citoplasma denso e dissecadas em

tampão de extração de RNA usando um microscópio PALM (P.A.L.M. Microlaser Technologies GmbH, Bernried, Alemanha). RNA celular total foi extraído, amplificado, e fluorescentemente marcado usando métodos conhecidos. Como controles, RNA total foi isolado de ambos "não-sincícios" e raízes de controle não tratadas submetido ao mesmo processo de amplificação de RNA. O RNA amplificado foi hibridizado para arranjos de cDNA de feijão-soja patenteados.

Como demonstrado em Tabela 2, clone 50657480 de cDNA de feijão-soja foi identificado como estando supra-regulado em sincícios de raízes de feijão-soja infectadas com SCN. A sequência de aminoácidos de clone 50657480 de cDNA de feijão-soja (SEQ ID NO: 1) é descrita como SEQ ID NO: 3. Sequência de cDNA 50657480 (SEQ ID NO:1) determinada foi de comprimento não-total porque não havia códon de iniciação ATG.

Tabela 2

Nome do Gene	Sincícios #1(N)	Sincícios #2 (N)	Não-Sincícios	Raízes de Controle
50657480 ^s	299±47 (4)	369±157 (5)	não detectados	não detectados

EXEMPLO 2 GERAÇÃO DE RAIZ PELUDA DE FEIJÃO-SOJA TRANSGÊNICO E BIOMASSA DE NEMATÓDEOS

Este método exemplificado emprega vetores binários contendo fragmentos do gene alvo 50657480. O vetor consiste de um fragmento de anti-senso do gene alvo 50657480, um espaçador, um fragmento de senso do gene alvo e uma estrutura principal de vetor. A sequência do clone 50657480 de cDNA é descrita como SEQ ID NO:1. O fragmento de gene alvo descrito por SEQ ID NO:2 correspondendo aos nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO:1 foi usado para construir o vetor binário RAW464. Em RAW464 o dsRNA para o gene alvo 50657480 foi expressado sob um promotor p-At5g05340 preferido para sincícios ou raiz (Pedido Provisório US No: 60/899.693 SEQ ID NO: 6), um promotor de gene de peroxidase. Este promotor condiz a expressão de transgene preferencialmente em raízes e/ou sincícios ou células

gigantes. O marcador selecionável de planta nos vetores binários é uma forma resistente a herbicida do gene de aceto-hidróxi-ácido sintase (AHAS) de *Arabidopsis thaliana* conduzido pelo promotor *Arabidopsis* AHAS nativo (Sathasivan et al., Plant Phys. 97:1044-50, 1991). ARSENAL (imazapyr, BASF Corp, Florham Park, NJ) foi usado como o agente de seleção.

O vetor binário RAW464 foi transformado em cepa K599 de *Agrobacterium rhizogenes* por eletroporação e raízes peludas transgênicas foram geradas usando métodos conhecidos. Várias linhagens de raízes peludas transgênicas independentes foram geradas da transformação. Raízes peludas não-transgênicas de feijão-soja cultivar Williams 82 (suscetível a SCN) e Jack (resistente a SCN) também foram geradas pelo uso de *A. rhizogenes* não-transformada, para servir como controles para crescimento de nematódeo neste ensaio. Culturas de raiz peluda de cada linhagem foram inoculadas com nematódeos juvenis de segundo estágio (J2) SCN race 3. Quatro semanas após inoculação com nematódeo, o número de cistos em cada cavidade foi contado. Para linhagens de raízes transgênicas RAW464 houve múltiplas linhagens demonstrando contagens médias de cistos de cerca de 6-7 e 11-18 em comparação com uma contagem média de cistos de 24 e 26 para a linhagem suscetível Williams 82 (W82) e 1 e 1 para a linhagem resistente conhecida, Jack, respectivamente. Estes resultados de bioensaio indicam que o RNA de fita dupla expressado em RAW464 resulta em contagem de cistos reduzida.

EXEMPLO 3 RACE PARA DETERMINAR SEQÜÊNCIA TRANSCRITA TOTAL PARA 50657480 (SEQ ID NO:1)

Amplificação de seqüência de transcrito de comprimento total correspondendo à seqüência de cDNA descrita por 50657480 (SEQ ID NO:1) foi realizada usando o GeneRacer Kit (L1502-01) de Invitrogen seguindo as instruções do fabricante. Os iniciadores usados para a reação PCR primária são descritos por SEQ ID NOs 12 e 14. Os iniciadores de reação PCR

aninhada secundária são descritos por SEQ ID NOs 13 e 15.

Como mostrado em Figura 2, SEQ ID NO:7 é o fragmento 5' de 50657480. Baseado no alinhamento de SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:1 mostrado em Figura 2, uma sequência de contig de comprimento total putativa foi isolada e é descrita por SEQ ID NO:8. Há uma matriz de leitura aberta em sequência de contig SEQ ID NO:8 que abarca das bases 124 até 1440 como mostrado em Figura 3. A sequência de matriz de leitura aberta é descrita por SEQ ID NO:9. A sequência de aminoácidos da matriz de leitura aberta descrita por SEQ ID NO:9 é mostrada como SEQ ID NO:10.

EXEMPLO 4 DESCRIÇÃO DE HOMÓLOGOS (NUCLEOTÍDEO E AA)

Como revelado em Exemplo 3, a sequência de transcrito de comprimento total putativa do gene correspondendo a SEQ ID NO:1 contém uma matriz de leitura aberta com a sequência de aminoácidos revelada como SEQ ID NO:10. A identificação de homólogos de gene à sequência de aminoácidos descrita por SEQ ID NO: 10 identifica sequências adicionais. Uma amostra de genes com sequências de aminoácidos e de DNA homólogas às SEQ ID NO: 10 e SEQ ID NO:9, respectivamente, foi identificada e é descrita por SEQ ID NOs 16 a 29 e mostrada em Figura 4. O alinhamento de aminoácidos dos homólogos truncados identificados com SEQ ID NO:10 é mostrado em Figura 5. Uma tabela de matriz mostrando a identidade percentual de aminoácido entre os homólogos identificados e SEQ ID NO:10 é mostrada em Figura 6. Uma tabela de matriz mostrando a identidade percentual de DNA entre os homólogos identificados e SEQ ID NO:9 é mostrada em Figura 7.

Aquelas pessoas experientes na arte reconhecerão, ou serão capazes de averiguar usando experimentação não mais do que rotineira, muitos equivalentes às modalidades específicas da invenção aqui descritas. Tais equivalentes são intencionados para serem incluídos pelas seguintes reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. Molécula de dsRNA, caracterizada pelo fato de compreender a) uma primeira fita compreendendo uma sequência substancialmente idêntica a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 e b) uma segunda fita compreendendo uma sequência substancialmente complementar à primeira fita.

2. Molécula de dsRNA de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a porção do gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 é uma sequência selecionada do grupo consistindo de:

a) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8;

b) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 80% de identidade de sequência com SEQ ID NO.1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8;

c) um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estridentes com um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO:1 nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8,

d) um polinucleotídeo sendo obtível com iniciadores tendo a sequência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 14, ou 15,

e) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 50% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21,23, 25, 27 ou 29.

f) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo

pelo menos 40% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO:10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.

3. Molécula de dsRNA de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a porção do gene alvo é de cerca de 19 a 500 nucleotídeos.

4. Coleção de moléculas de dsRNA, caracterizada pelo fato de compreender uma multiplicidade de moléculas de RNA cada uma compreendendo uma região de fita dupla tendo um comprimento de cerca de 19 a 24 nucleotídeos, sendo que ditas moléculas de RNA são derivadas de um polinucleotídeo sendo substancialmente idêntico a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

5. Coleção de moléculas de dsRNA de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que ditas moléculas de RNA são derivadas de um polinucleotídeo selecionado do grupo consistindo de:

a) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8;

b) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 80% de identidade de sequência com SEQ ID NO.1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8;

c) um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estridentes com um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8

d) um polinucleotídeo sendo obtível com iniciadores tendo a sequência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 14, ou 15,

e) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo

pelo menos 50% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29.

5 f) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 40% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO: 10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.

10 6. Planta transgênica, caracterizada pelo fato de ser capaz de expressar um dsRNA que é substancialmente idêntico a uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

7. Planta transgênica de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que o gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480 compreende uma sequência selecionada do grupo consistindo de:

15 a) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8;

20 b) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 80% de identidade de sequência com SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8;

25 c) um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estritas com um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8,

d) um polinucleotídeo sendo obtível com iniciadores tendo a sequência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 14, ou 15,

e) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 50% de identidade de sequência com um polinucleotídeo

codificador de uma sequência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29.

f) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 40% de identidade de sequência com um polinucleotídeo codificador de uma sequência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO: 10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.

8. Planta transgênica, caracterizada pelo fato de ser capaz de expressar uma coleção de moléculas de dsRNA, em que cada uma das moléculas da coleção de moléculas de RNA compreende uma região de fita dupla tendo um comprimento de cerca de 19-24 nucleotídeos, sendo que as moléculas de RNA são derivadas de um polinucleotídeo substancialmente idêntico a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

9. Planta transgênica de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que ditas moléculas de RNA são derivadas de um polinucleotídeo selecionado do grupo consistindo de:

a) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8;

b) um polinucleotídeo compreendendo uma sequência tendo pelo menos 80% de identidade de sequência com SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8;

c) um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estridentes com um polinucleotídeo compreendendo uma sequência como mostrada em SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8

d) um polinucleotídeo sendo obtível com iniciadores tendo a sequência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 14, ou 15,

e) um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência tendo pelo menos 50% de identidade de seqüência com um polinucleotídeo codificador de uma seqüência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ou 29.

5 f) um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência tendo pelo menos 40% de identidade de seqüência com um polinucleotídeo codificador de uma seqüência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO: 10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.

10 10. Método para preparar uma planta transgênica capaz de expressar uma coleção de moléculas de dsRNA que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 em uma planta, dito método caracterizado pelo fato de compreender as etapas de:

15 a) preparar uma seqüência de ácido nucleico tendo uma região que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480, sendo que o ácido nucleico é capaz de formar um transcrito de fita dupla de uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 uma vez expressado na planta;

20 b) transformar uma planta recipiente com dito ácido nucleico;

c) produzir uma ou mais progênes transgênicas de dita planta recipiente; e

d) selecionar a progênie para expressão de dito transcrito.

25 11. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que o gene alvo compreende uma seqüência selecionada do grupo consistindo de:

a) um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência como mostrada em SEQ ID NO: 1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8;

b) um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência tendo pelo menos 80% de identidade de seqüência com SEQ ID NO.1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8;

5 c) um polinucleotídeo que hibridiza sob condições estridentes com um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência como mostrada em SEQ ID NO:1, nucleotídeos 7 a 483 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7, nucleotídeos 1 a 1096 de SEQ ID NO:7 ou SEQ ID NO:8

10 d) um polinucleotídeo sendo obtível com iniciadores tendo a seqüência como mostrada em SEQ ID NO: 4, 5, 14, ou 15,

e) um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência tendo pelo menos 50% de identidade de seqüência com um polinucleotídeo codificador de uma seqüência de nucleotídeos como mostrada em SEQ ID NO: 9, 17, 19, 21,23, 25, 27 ou 29.

15 f) um polinucleotídeo compreendendo uma seqüência tendo pelo menos 40% de identidade de seqüência com um polinucleotídeo codificador de uma seqüência de aminoácidos como mostrada em SEQ ID NO:10, 16, 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.

20 12. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a porção do gene 50657480, gene semelhante a 50657480 ou homólogo de 50657480 é de cerca de 19 a cerca de 500 nucleotídeos.

25 13. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a planta é selecionada do grupo consistindo de: feijão-soja, batateira, tomateiro, amendoim, algodoeiro, mandioca, cafeeiro, coqueiro, ananás, árvores cítricas, bananeira, milho, colza, beterraba, girassol, sorgo, trigo, aveias, centeio, cevada, arroz, feijão verde, feijão lima, ervilha, e tabaco.

14. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a planta é uma planta de feijão-soja.

15. Método para conceder resistência a nematódeo a uma planta, dito método caracterizado pelo fato de que as etapas de:

5 a) preparar uma seqüência de ácido nucleico tendo uma região que é substancialmente idêntica a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480, sendo que o ácido nucleico é capaz de formar um transcrito de fita dupla de uma porção de um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480 uma vez expressado na planta;

b) transformar uma planta recipiente com dito ácido nucleico;

10 c) produzir uma ou mais progênes transgênicas de dita planta recipiente; e

d) selecionar a progênie para resistência a nematódeo.

15 16. Vetor de expressão, caracterizado pelo fato de compreender uma seqüência substancialmente idêntica a uma porção de um gene 50657480, um gene semelhante a 50657480 ou um homólogo de 50657480.

20 17. Vetor de expressão de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de compreender uma segunda seqüência substancialmente complementar à primeira fita, capaz de formar um dsRNA, quando ambas as seqüências são transcritas.

18. Vetor de expressão de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de compreender um promotor preferível para raiz.

Figura 1 Tabela de iniciadores

Nome de iniciador	Sequência de iniciador	SEQ ID NO:
RNAi50657480for	TTAATTAAGACGTCGTGCAGCCTGCTTCC	SEQ ID NO:4
RNAi50657480rev	CTCGAGGGCGCGCCGCTTACGAACAACATTAC	SEQ ID NO:5
GeneRacer™ Iniciador 5'	CGACTGGAGCACGAGGACACTGA	SEQ ID NO:12
GeneRacer™ Iniciador 5' aninhado	GGACACTGACATGGACTGAAGGAGTA	SEQ ID NO:13
50657480-5RACE	CCGAGGAACCATTTGAAGGGGTCCAAGC	SEQ ID NO:14
50657480-5RACE- aninhado	GCCCCTGCCATAAAGCCTGTTGGAAGAG	SEQ ID NO:15

Figura 2a Alinhamento de variante A de seqüência RACE com seq. 50657480.

	1	50
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(1)	GATGTTCTTCTATTGATTCTCAATTTCTCCAACCTCAAACTAAGTTTCG
	51	100
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(51)	TCTTTGTGATCTCTTGATTATATTATATCGATTTGTGAATTGTTTTCCA
	101	150
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(101)	CAAAAAAAAAAATTCATTCAAACCATGGCTTCATTATGCCGGCGGTTATCC
	151	200
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(151)	GCCGCCGCACCGGCCGGTCACTTCCGATTCCATCGGCCCGCCGGGATTG
	201	250
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(201)	CGCGGTTTCGATACGGTTATTCCGTCGGCGGCCAATGCGGTTGGTTGCGG
	251	300
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(251)	CGGGGACCACCGTGGGCGGCGGCGTGGGTGACATCCGATGACGTCGGA
	301	350
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(301)	GGGAGGGAGGAGAAGGTGGGGCCCTGCTCCTACGCCGTGGAGGATCGGAG
	351	400
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(351)	GGTGGCGGAAGATGGCGGAAGCGATGCGGTGGTAGGAAGTAGGAACCGGG
	401	450
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(401)	TGGTGGAAGTGGCGGCGGCGGCGGTGCAACGGTGGTGCTGGGTGTTGGG
	451	500
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(451)	AACCGGGTTCGTATAAGTTGGCTTGGTTCCGTTGAAGCACTACCCTTT
	501	550
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(501)	CTTCCTTGCTCAACTTGCCACTTTCGGATATGTAATAGTGTAAGTTGCGA
	551	600
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(551)	TTTTGTATATTCGACACCATGCGGGCATTGTTACTGATGAGATGTTAGAT
	601	650
SEQ ID NO:1	(1)	-----
SEQ ID NO:7	(601)	GCTCCAAAGGCTCCATTTATAGTTGTTGGTCTATTGGAGGCTCTCGCTGC

Figura 2b

SEQ ID NO:1	(1)	651	700
SEQ ID NO:7	(651)	TGCCACTGGAATGGCCGCAGGAGCAATTCTCTCTGGAGCTTCGATTCCAA	
SEQ ID NO:1	(1)	701	750
SEQ ID NO:7	(701)	TTTATCTCAGACTTTTCTAGTGTGGCAAATACTCCTGTCAATTATTTT	
SEQ ID NO:1	(1)	751	800
SEQ ID NO:7	(751)	CTTGGGAGAAGATATAAAGTCAACCAATTACTTGGATGCTTTCTTGTAAC	
SEQ ID NO:1	(1)	801	850
SEQ ID NO:7	(801)	CATTGGTGTAGTTGTTACTGTAGCAAGTGGAGCTGGTGTGGGAATTTAT	
SEQ ID NO:1	(1)	851	900
SEQ ID NO:7	(851)	TAAAGGAAGGTGGTATGTTTTGGAGTCTTTTGATGATAGTTTCATTTTC	
SEQ ID NO:1	(1)	901	950
SEQ ID NO:7	(901)	CTCCAAGCGGCTGATACCGTGCTGAAGGAAATTATCTTTTGGATTCAATC	
SEQ ID NO:1	(1)	951	1000
SEQ ID NO:7	(951)	CCGAAAATTGAAGGGAGGTTGTGTATGGACCTTTTGTGTCAATTCGT	
SEQ ID NO:1	(1)	1001	1050
SEQ ID NO:7	(1001)	ACGGATCTGCTTTCCAAGCACTATTCGTGTGCCTTCTTCTCCCTTCTTG	
SEQ ID NO:1	(1)	1051	1100
SEQ ID NO:7	(1051)	TCAAAATTATGGGGCATTCCCTTCAGTCAACTACCAAACCTTAAAGA	
SEQ ID NO:1	(5)	1101	1150
SEQ ID NO:7	(1101)	TGGTGCAGCCTGCTTCCTAAATTTGGTACATTATCAAGTGGATGTGATG	
SEQ ID NO:1	(55)	1151	1200
SEQ ID NO:7	(1151)	GTGCCCCTCTGCTTCCTCTGCTGTTTATTATTGTAAACATAGGTTTCAAT	
SEQ ID NO:1	(105)	1201	1250
SEQ ID NO:7	(1201)	ATTGCATTGCTTCATCTCCTCAAGATCTCTTCAGCTGTTGTATCTTGTCT	
SEQ ID NO:1	(155)	1251	1300
SEQ ID NO:7	(1251)	TGCTTCCACATTTTCAGTCCCAATATCCATCTACGTGTTACCATGCCAT	
SEQ ID NO:1	(205)	1301	1350
SEQ ID NO:7	(1301)	TGCCATACCTTGGTGTGCTCCTCTCTTCCAACAGGCTTTATGGCAGGG	

Figura 2c

		1351	1400
SEQ ID NO:1	(255)	GCCATTATCCTCATTTTGGGCTTACTCATTTATGCTTGGACCCCTTCAAA	
SEQ ID NO:7	(1351)	GC-----	
		1401	1450
SEQ ID NO:1	(305)	TGGTTCCTCGGGTGCTTCCTTCTCAACTTCCTCCACCTAGAGAGGCTAGA	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	
		1451	1500
SEQ ID NO:1	(355)	ATGAGTTGACATGTCATTGCAGATAGTACAACACCACAAGGAAC TAATTC	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	
		1501	1550
SEQ ID NO:1	(405)	AGGTTTCGCTTTTAGGAGACGGCTATAAGAAGGAGAAAGAAATAGGGCGTT	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	
		1551	1600
SEQ ID NO:1	(455)	CTTGTAAGTTGTAATAGTTGTTTCGTAAGCATTTTTTATGAGCTAAGCTTA	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	
		1601	1650
SEQ ID NO:1	(505)	AGTAAGAAAGAGACTAGACTATAGATAGAACAGGTTCCAAGTTCAATTTT	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	
		1651	1700
SEQ ID NO:1	(555)	TATGTAAGCTAAGGAAAGTAAATAGAGAATAAAAGTCACTTTGTTGACAG	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	
		1701	1743
SEQ ID NO:1	(605)	AGGAAATGATATTGGACCATTGATGCAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
SEQ ID NO:7	(1353)	-----	

Figura 3

Seqüência de consenso de config de variante A de RACE e 50657480 descrevendo orf (matriz de leitura aberta)

```

1  GATGTTCTTC TATTGATTCC TCAATTTCTC CAACTCAAAA CTAAGTTTCG
51  TCTTTGTGAT CTCTTGATTA TATTATATCG ATTTGTGAAT TGTTTTTCCA
101 CAAAAAAAAA ATTCATTCAA ACCATGGCTT CATTATGCCG GCGGTTATCC
151 GCCGCCGCAC CGGCCGGTCA CTTCCGATTC CATCGGCCCG CCGGGATTTG
201 CGCGGTTTCA TACGGTTATT CCGTCCGGCG GCCAATGCCG TTGGTTGCCG
251 CGGGGACCAC CGTGGGCGGC GGCGCGTGGG TGACATCCGA TGACGTCCGA
301 GGGAGGGAGG AGAAGGTGGG GCCCTGCTCC TACGCCGTGG AGGATCCGGAG
351 GGTGGCGGAA GATGGCGGAA GCGATGCGGT GGTAGGAAGT AGGAACCGGG
401 TGGTGGAAGT GGCGGCGGCG GCGGTTGCAA CGGTGGTGCT GGGTGTGGG
451 AACCGGGTTC TGTATAAGTT GGCTTTGGTT CCGTTGAAGC ACTACCCTTT
501 CTTCCTTGCT CAACTTGCCA CTTTCGGATA TGTAATAGTG TACTTTGCCA
551 TTTTGTATAT TCGACACCAT GCGGGCATTG TTACTGATGA GATGTTAGAT
601 GCTCCAAAGG CTCCATTAT AGTTGTTGGT CTATTGGAGG CTCTCGCTGC
651 TGCCACTGGA ATGCCCGCAG GAGCAATTCT CTCTGGAGCT TCGATTCCAA
701 TTTTATCTCA GACTTTTCTA GTGTGGCAAA TACTCCTGTC AATTATTTTT
751 CTTGGGAGAA GATATAAAGT CAACCAATTA CTTGGATGCT TTCTTGTAAC
801 CATTGGTGTA GTTGTTACTG TAGCAAGTGG AGCTGGTGCT GGGAAATTTAT
851 TAAAGGAAGG TGGTATGTTT TGGAGTCTTT TGATGATAGT TTCATTTTTTC
901 CTCCAAGCGG CTGATACCGT GCTGAAGGAA ATTATCTTTT TGGATTCACT
951 CCGAAAATTG AAGGGAGGTT GTTGTATGGA CCTTTTTGTT GTCAATTCGT
1001 ACGGATCTGC TTTCCAAGCA CTATTCGTGT GCCTTCTTCT CCCCTTCTTG
1051 TCAAAATTAT GGGGCATTCC CTTCACTCAA CTACCAAAC ACCTTAAAGA
1101 TGGTGCAGCC TGCTTCCTAA ATTTTGGTAC ATTATCAAGT GGATGTGATG
1151 GTGCCCCTCT GCTTCCTCTG CTGTTTATTA TTGTAAACAT AGGTTTCAAT
1201 ATTGCATTGC TTCATCTCCT CAAGATCTCT TCAGCTGTTG TATCTTGTCT
1251 TGCTTCCACA TTTTCAGTCC CAATATCCAT CTACGTGTTT ACCATGCCAT
1301 TGCCATACCT TGGTGTGGCC TCCTCTCTTC CAACAGGCTT TATGGCAGGG
1351 GCCATTATCC TCATTTTGGG CTTACTCATT TATGCTTGGA CCCCTTCAAA
1401 TGGTTCCTCG GGTGCTTCCT TCTCAACTTC CTCCACCTAG AGAGGCTAGA
1451 ATGAGTTGAC ATGTCATTGC AGATAGTACA ACACCACAAG GAACTAATTC
1501 AGGTTTCGCTT TTAGGAGACG GCTATAAGAA GGAGAAAAGAA ATAGGGCGTT
1551 CTTGTAAGTT GTAATAGTTG TTCGTAAGCA TTTTTTATGA GCTAAGCTTA
1601 AGTAAGAAAG AGACTAGACT ATAGATAGAA CAGGTTCCAA GTTCAATTTT
1651 TATGTAAGCT AAGGAAAGTA AATAGAGAAT AAAAGTCACT TTGTTGACAG
1701 AGGAAATGAT ATTGGACCAT TTGGATGCAA AAAAAAAAAA AAA

```

Matriz de leitura aberta é mostrada em negrito de bases 124 a 1440

Figura 4: Tabela de homólogos mostrando Id de GenBank para seq. de AA (aminoácidos) e de DNA.

SEQ ID NO:	Tipo de sequência	Organismo	Genbank ID
16	aminoácido	<i>Vitis vinifera</i>	CA016866
17	dna	<i>Vitis vinifera</i>	CU459242
18	aminoácido	<i>Vitis vinifera</i>	CA061583
19	dna	<i>Vitis vinifera</i>	CU459218
20	aminoácido	<i>Oryza sativa</i>	NP 001066868
21	dna	<i>Oryza sativa</i>	NM 001073400
22	aminoácido	<i>Oryza sativa</i>	NP 001045437
23	dna	<i>Oryza sativa</i>	NM 001051972
24	aminoácido	<i>Oryza sativa</i>	EAY77278
25	dna	<i>Oryza sativa</i>	CM000126
26	aminoácido	<i>Arabidopsis thaliana</i>	BAB10035
27	dna	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AB007727
28	aminoácido	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AAM62809
29	dna	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AY085588

Figura 5a: Alinhamento de AA (aminoácidos) de homólogos

		1	50
SEQ ID NO:10	(1)	-MASLCRRLSAAAPA-----GHFRFHRPAGICAVRYGYSVRRPMLRV	
SEQ ID NO:16	(1)	-MSASCRRLTAGVRVPMVARQVLGASEISRLCGVRMNRKGI VLRGRRLV	
SEQ ID NO:18	(1)	-----MAFSCAVSCVRFHVIPP KPLTLHTYTAHLSPFSP LISM	
SEQ ID NO:20	(1)	-----	
SEQ ID NO:22	(1)	-----MELLPTVRRREAVRA	
SEQ ID NO:24	(1)	-MASSTTTAPPVSCR PSTARGRLRLLPANGPAAAMELLPTVRRREAVRA	
SEQ ID NO:26	(1)	-----	
SEQ ID NO:28	(1)	MATTSSDRLIAGLTASIGSIESRYANPAQSVSLICRNQINGAPP IVLRSS	
		51	100
SEQ ID NO:10	(42)	AAGTTVGGGAWVTSDDVGGREEKVGPCSYAVEDRR-----VAEDGGS	
SEQ ID NO:16	(50)	VAEAEAMGRGGVRVRSDDGGGEERVEKWSYGSEDRRRGDLVVVEEKEDVGC	
SEQ ID NO:18	(39)	HISQNPRIYHLHFPSRSP LHGVSSHNSPKTPNFRVR-----ASA	
SEQ ID NO:20	(1)	-----	
SEQ ID NO:22	(16)	AHVRRIEAAAWLGARRATRREDAAARCAAAGEVVG-----	
SEQ ID NO:24	(50)	AHVRRIEAAAWLGARRATRREDAAARCAAAGEVVG-----	
SEQ ID NO:26	(1)	-----	
SEQ ID NO:28	(51)	RRSRLWLIEAIPPAKSWNGSNDGDEDIKKSDTRNY-----AIGGTGG	
		101	150
SEQ ID NO:10	(84)	DAVVGSRNRVVEVAAA AVATVVLGVGNRVLYKLALVPLKHYPFFLAQLAT	
SEQ ID NO:16	(100)	AGGGCEGDRRMKVVI AAFTVVLGVGNRVLYKLALVPLKHYPFFLAQLAT	
SEQ ID NO:18	(77)	DNSQTSSSNTGLVIVCSAITVILAVVNRV FYKLALVPLKQYPFFLAQFTT	
SEQ ID NO:20	(1)	-----MSSSPAIAAASA AVVALAVANRVLYKLALVPLKQYPFFLAQLTT	
SEQ ID NO:22	(51)	SAAGVGRSAGMEVAIATAAVVAMGTGNRVLYKLALVPLRDYPFFLAQLAT	
SEQ ID NO:24	(85)	SAAGVGRSAGMEVAIATAAVVAMGTGNRVLYKLALVPLRDYPFFLAQLAT	
SEQ ID NO:26	(1)	-----	
SEQ ID NO:28	(93)	HAVAGKDDRTMEIVIAAATTAALGVGNRVLYKLAL IPLKQYPFFLAQLST	
		151	200
SEQ ID NO:10	(134)	FGYVIVYFAILYIRHHAGIVTDEMLDAP----KAPFIVVGLLEALAAATG	
SEQ ID NO:16	(150)	VGIVLVYFSILSLRYNAGIVTDEM LSLP----KTPYVAVGLLEALGAATG	
SEQ ID NO:18	(127)	FGYAAIYFSILYIRYRAGIVTDEMIALP----KSRFMAIGILEALGVASG	
SEQ ID NO:20	(45)	FGYVAVYFSILYARYRAGVVTGDM LALP----KRRLAAIGLLEALGLAAG	
SEQ ID NO:22	(101)	FG--LCDGCLVLGVHLSGRITGRDFLLVNISIPVRLCAFFLVGGRARELA	
SEQ ID NO:24	(135)	FGYVVVYFSILYLRHQAGIVTDEM LSLP----QKPFLAVGLLEALSAAAG	
SEQ ID NO:26	(1)	-----MLSVP----KSPFLIVGILEALAAAAG	
SEQ ID NO:28	(143)	FGYVAVYFSILYFRYRAGIVTKEMLSVP----KLPFLIVGVLESIALAAG	
		201	250
SEQ ID NO:10	(180)	MAAGAILSGASIPILSQTFLVWQILL SIIFLGRRYKVNQLLGCFLVTIGV	
SEQ ID NO:16	(196)	MAAGAILSGASIPILSQSFLVWQ LLLSAIFLGRRYKVNQLLGCFLVAIGV	
SEQ ID NO:18	(173)	MASAAMLPGPAIPLLNQTF L VWQ LALSTLILGRKYSFNQILGCFLVAAGV	
SEQ ID NO:20	(91)	MSAGAMLPGPAIPILSQSFLVWQ LIFSALLLGRITYSMRQIIGCFLVASGV	
SEQ ID NO:22	(149)	FQASWRLYQQHQGWLLET YLVWQ LLLSAIFLKRRYRINEITGCFLVTIGV	
SEQ ID NO:24	(181)	MAAGAVLSGASIPILSQT YLVWQ LLLSAIFLKRRYRINEITGCFLVTIGV	
SEQ ID NO:26	(24)	MAAANLSGPSTTVLSQ-----RKPNTRMYS CSSRCNRQCCKVRSFAF--	
SEQ ID NO:28	(189)	MAAASNLSGPSTTVLSQTFLVWQ ILFSIIFLGRRYRINQILGCTLVAFGV	

Figura 5b

		251	300
SEQ ID NO:10	(230)	VVTVASGAGAGNLLKEGGMFWSLLMIVSFFLQAADTVLKEIIFLDSSRKL	
SEQ ID NO:16	(246)	IITVASGSSAGASLKGAGIFWSLLMMVSFLFQAADTVLKERIFLKAERL	
SEQ ID NO:18	(223)	VTAVASGSNGDQMLSGIEFIWPAIMIASSAFQAGASIIKEFVFVDAATRL	
SEQ ID NO:20	(141)	ILAVASGANEGQFLSEVKFIWLALMVASSAFQAGASILKESVFIDGAKRL	
SEQ ID NO:22	(199)	IITVASGSSAGASLKG TGILWPLLMIIISFFLQAADTVLKEIIFLNAAKKL	
SEQ ID NO:24	(231)	IITVASGSSAGASLKG TGILWPLLMIIISFFLQAADTVLKEIIFLNAAKKL	
SEQ ID NO:26	(66)	-VLIFCGSGAAHSLNEAGVLWILLMVLSFLLQGAGTVLKEVIFIDSQRRL	
SEQ ID NO:28	(239)	IVSVASGSGAAHSFKDTGILWSLLMVFSFLLQGADTVMKEVIFLDSKKRL	
		301	350
SEQ ID NO:10	(280)	KGGCCMDLFVVNSYGSFAQALFVCLLLPFLSKLWGIPFSQLPNYLKDGAA	
SEQ ID NO:16	(296)	KGGS-VDLFVVNSYGSFAQALFICLLLPFLSKLWGVPFSHLPNYLKDGA	
SEQ ID NO:18	(273)	KGKL-LDIFVVNSFGSGFQALFVLLLLPLLSNFRGIPFPQLPSYKAGAG	
SEQ ID NO:20	(191)	KGRR-PDIFVVNSFGSGFQALFVLLLLPLLSNLKGIFAEPLPAYLNGGAE	
SEQ ID NO:22	(249)	KGGS-VDLFVVNSYGSAYQALFMCLLLPFLSKLWGVPFHQLPTYIRDGTA	
SEQ ID NO:24	(281)	KGGS-VDLFVVNSYGSAYQALFMCLLLPFLSKLWGVPFHQLPTYIRDGTA	
SEQ ID NO:26	(115)	KGAS-LDLFIVNSYGSFAQALFICLLLPFLSKLWGIPFNQLGTYLKDGA	
SEQ ID NO:28	(289)	KGAS-LDLFVVNSYGSIFQVICIALLLPFLSKLWGIPFNQLPSYIRDGGA	
		351	400
SEQ ID NO:10	(330)	CFLNFGTLSSGCDGAPLLPLLFIIIVNIGFNIALHLHLKISSAVVSCLAST	
SEQ ID NO:16	(345)	CFLNIGSLSSGCDGAPLLPLLFVVVNMGFNISLLHLHLKISSAVVSCLAST	
SEQ ID NO:18	(322)	CFLNIGSNIPGCDGAPLLPLLYLATNIAFNISLLNLVKISSAVVSTLAAM	
SEQ ID NO:20	(240)	CFLNVDDSLIDCGGAPFLPLLFILVNMAFNIALNLVLKSSALVASLTAT	
SEQ ID NO:22	(298)	CFLNMGSLSSGCEGAPLLPLLFVLVNMGFNISLLHLHLKISSAVVSSLAST	
SEQ ID NO:24	(330)	CFLNMGSLSSGCEGAPLLPLLFVLVNMGFNISLLHLHLKISSAVVSSLAST	
SEQ ID NO:26	(164)	CFLNNGTITKCDGAPFLPLLFVIMNIGYNIALLRLLKISSAVVSCLAST	
SEQ ID NO:28	(338)	CFLNIGSXITGCEGAPLLPVMFVMMNMAYNISLLRLIKISSAVVSSLAST	
		401	450
SEQ ID NO:10	(380)	FSVPISIIYVFTMPLPYLGVASSLPTGFMAGAIILILGLLIYAWTPS----	
SEQ ID NO:16	(395)	FSVPIAVYMFTLPLPYLGVASSLPPAFVTGAIILLVGLMIYAWTPP----	
SEQ ID NO:18	(372)	ASVPISIIYVLSLPLPYLPQGASLSPFFLFGGVILLGLLIYNIPQP----	
SEQ ID NO:20	(290)	SAVPISIIYILSLPLPYIPHGAEISSFFILGGVLLMGLIIYNLPQS----	
SEQ ID NO:22	(348)	FSVPLSIYAFTLPLPYIGVASTLPPGFVAGAMFLDGTREKRRSIITTG	
SEQ ID NO:24	(380)	FSVPLSIYAFTLPLPYIGVASTLPPGFVAGAVLGDASTVSRDK---NQG	
SEQ ID NO:26	(214)	VSVPIAVFLFTMPLPYLGVASSLPKGFMMGGTIIILVGLMIYSWTPHGANS	
SEQ ID NO:28	(388)	VSVPIAVYCFTLPLPYLGVASTLPRGFVAGTIIILVVGMLLIYAWTPS---T	
		451	500
SEQ ID NO:10	(426)	NGSSG-----ASFSTST-----	
SEQ ID NO:16	(441)	SMDLN-----SSSSPSIH-----	
SEQ ID NO:18	(418)	-----AKQAP-----	
SEQ ID NO:20	(336)	-----SKKQSKIE-----	
SEQ ID NO:22	(398)	MKSKNGGGGGSGGNTNGSHRRITAAAINIIRTLLSILASPAAVDWTASS	
SEQ ID NO:24	(427)	EKKE-----HHHDGDEEQEMAAAATAATPIGEPQGGSPPPPPSTSS	
SEQ ID NO:26	(264)	SHTDS-----VIPSPPT-----	
SEQ ID NO:28	(435)	NTSDS-----IIPSPXST-----	

Figura 5c

		501		550
SEQ ID NO:10	(439)	-----		
SEQ ID NO:16	(454)	-----		
SEQ ID NO:18	(423)	-----		
SEQ ID NO:20	(344)	-----		
SEQ ID NO:22	(448)	GR-----	RLTGCSTLRCSSVDLWVPSLGRRGFRWSPGVR	
SEQ ID NO:24	(469)	GRSCPSWPPLQLLTGLPPPAGGSPVAPLSGVHPSTCGSLLWEVEDSGGPR		
SEQ ID NO:26	(277)	-----		
SEQ ID NO:28	(448)	-----		
		551	564	
SEQ ID NO:10	(439)	-----		
SEQ ID NO:16	(454)	-----		
SEQ ID NO:18	(423)	-----		
SEQ ID NO:20	(344)	-----		
SEQ ID NO:22	(482)	QGGHDPDKHRVMGI		
SEQ ID NO:24	(519)	GCGREAMTPTSIG-		
SEQ ID NO:26	(277)	-----		
SEQ ID NO:28	(448)	-----		

Figura 6: Tabela de matriz de homólogos de AA (aminoácidos)

SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:24	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:28
100	69	49	54	54	60	62	56
	100	48	56	55	61	60	56
		100	67	39	44	46	46
			100	45	53	41	51
				100	72	43	49
					100	52	52
						100	70
							100

Figura 7: Tabela de matriz de nt (nucleotídeos) de homólogos

SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:21	SEQ ID NO:23	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:29
100	75	53	59	62	63	66	63
	100	54	58	60	63	65	63
		100	67	50	52	54	52
			100	54	58	53	57
				100	93	55	57
					100	58	59
						100	75
							100

FIGURA 8a

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
1	22	44	65	87	108	130	151	173	194
2	23	45	66	88	109	131	152	174	195
3	24	46	67	89	110	132	153	175	196
4	25	47	68	90	111	133	154	176	197
5	26	48	69	91	112	134	155	177	198
6	27	49	70	92	113	135	156	178	199
7	28	50	71	93	114	136	157	179	200
8	29	51	72	94	115	137	158	180	201
9	30	52	73	95	116	138	159	181	202
10	31	53	74	96	117	139	160	182	203
11	32	54	75	97	118	140	161	183	204
12	33	55	76	98	119	141	162	184	205
13	34	56	77	99	120	142	163	185	206
14	35	57	78	100	121	143	164	186	207
15	36	58	79	101	122	144	165	187	208
16	37	59	80	102	123	145	166	188	209
17	38	60	81	103	124	146	167	189	210
18	39	61	82	104	125	147	168	190	211
19	40	62	83	105	126	148	169	191	212
20	41	63	84	106	127	149	170	192	213
21	42	64	85	107	128	150	171	193	214
22	43	65	86	108	129	151	172	194	215
23	44	66	87	109	130	152	173	195	216
24	45	67	88	110	131	153	174	196	217
25	46	68	89	111	132	154	175	197	218
26	47	69	90	112	133	155	176	198	219
27	48	70	91	113	134	156	177	199	220
28	49	71	92	114	135	157	178	200	221
29	50	72	93	115	136	158	179	201	222
30	51	73	94	116	137	159	180	202	223
31	52	74	95	117	138	160	181	203	224
32	53	75	96	118	139	161	182	204	225
33	54	76	97	119	140	162	183	205	226
34	55	77	98	120	141	163	184	206	227
35	56	78	99	121	142	164	185	207	228
36	57	79	100	122	143	165	186	208	229
37	58	80	101	123	144	166	187	209	230
38	59	81	102	124	145	167	188	210	231
39	60	82	103	125	146	168	189	211	232
40	61	83	104	126	147	169	190	212	233
41	62	84	105	127	148	170	191	213	234
42	63	85	106	128	149	171	192	214	235
43	64	86	107	129	150	172	193	215	236

FIGURA 8b

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
216	237	259	280	302	323	345	366	387	408
217	238	260	281	303	324	346	367	388	409
218	239	261	282	304	325	347	368	389	410
219	240	262	283	305	326	348	369	390	411
220	241	263	284	306	327	349	370	391	412
221	242	264	285	307	328	350	371	392	413
222	243	265	286	308	329	351	372	393	414
223	244	266	287	309	330	352	373	394	415
224	245	267	288	310	331	353	374	395	416
225	246	268	289	311	332	354	375	396	417
226	247	269	290	312	333	355	376	397	418
227	248	270	291	313	334	356	377	398	419
228	249	271	292	314	335	357	378	399	420
229	250	272	293	315	336	358	379	400	421
230	251	273	294	316	337	359	380	401	422
231	252	274	295	317	338	360	381	402	423
232	253	275	296	318	339	361	382	403	424
233	254	276	297	319	340	362	383	404	425
234	255	277	298	320	341	363	384	405	426
235	256	278	299	321	342	364	385	406	427
236	257	279	300	322	343	365	386	407	428
237	258	280	301	323	344	366	387	408	429
238	259	281	302	324	345	367	388	409	430
239	260	282	303	325	346	368	389	410	431
240	261	283	304	326	347	369	390	411	432
241	262	284	305	327	348	370	391	412	433
242	263	285	306	328	349	371	392	413	434
243	264	286	307	329	350	372	393	414	435
244	265	287	308	330	351	373	394	415	436
245	266	288	309	331	352	374	395	416	437
246	267	289	310	332	353	375	396	417	438
247	268	290	311	333	354	376	397	418	439
248	269	291	312	334	355	377	398	419	440
249	270	292	313	335	356	378	399	420	441
250	271	293	314	336	357	379	400	421	442
251	272	294	315	337	358	380	401	422	443
252	273	295	316	338	359	381	402	423	444
253	274	296	317	339	360	382	403	424	445
254	275	297	318	340	361	383	404	425	446
255	276	298	319	341	362	384	405	426	447
256	277	299	320	342	363	385	406	427	448
257	278	300	321	343	364	386	407	428	449
258	279	301	322	344	365	387	408	429	450

FIGURA 8c

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
430	451	473	494	516	537	559	580	602	623
431	452	474	495	517	538	560	581	603	624
432	453	475	496	518	539	561	582	604	625
433	454	476	497	519	540	562	583	605	626
434	455	477	498	520	541	563	584	606	627
435	456	478	499	521	542	564	585	607	628
436	457	479	500	522	543	565	586	608	629
437	458	480	501	523	544	566	587	609	630
438	459	481	502	524	545	567	588	610	631
439	460	482	503	525	546	568	589	611	632
440	461	483	504	526	547	569	590	612	633
441	462	484	505	527	548	570	591	613	634
442	463	485	506	528	549	571	592	614	635
443	464	486	507	529	550	572	593	615	636
444	465	487	508	530	551	573	594	616	637
445	466	488	509	531	552	574	595	617	638
446	467	489	510	532	553	575	596	618	639
447	468	490	511	533	554	576	597	619	640
448	469	491	512	534	555	577	598	620	641
449	470	492	513	535	556	578	599	621	642
450	471	493	514	536	557	579	600	622	643
451	472	494	515	537	558	580	601	623	644
452	473	495	516	538	559	581	602	624	645
453	474	496	517	539	560	582	603	625	646
454	475	497	518	540	561	583	604	626	647
455	476	498	519	541	562	584	605	627	648
456	477	499	520	542	563	585	606	628	649
457	478	500	521	543	564	586	607	629	650
458	479	501	522	544	565	587	608	630	651
459	480	502	523	545	566	588	609	631	652
460	481	503	524	546	567	589	610	632	653
461	482	504	525	547	568	590	611	633	654
462	483	505	526	548	569	591	612	634	655
463	484	506	527	549	570	592	613	635	656
464	485	507	528	550	571	593	614	636	657
465	486	508	529	551	572	594	615	637	658
466	487	509	530	552	573	595	616	638	659
467	488	510	531	553	574	596	617	639	660
468	489	511	532	554	575	597	618	640	661
469	490	512	533	555	576	598	619	641	662
470	491	513	534	556	577	599	620	642	663
471	492	514	535	557	578	600	621	643	664
472	493	515	536	558	579	601	622	644	665

FIGURA 8d

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
645	666	688	709	731	752	774	795	817	838
646	667	689	710	732	753	775	796	818	839
647	668	690	711	733	754	776	797	819	840
648	669	691	712	734	755	777	798	820	841
649	670	692	713	735	756	778	799	821	842
650	671	693	714	736	757	779	800	822	843
651	672	694	715	737	758	780	801	823	844
652	673	695	716	738	759	781	802	824	845
653	674	696	717	739	760	782	803	825	846
654	675	697	718	740	761	783	804	826	847
655	676	698	719	741	762	784	805	827	848
656	677	699	720	742	763	785	806	828	849
657	678	700	721	743	764	786	807	829	850
658	679	701	722	744	765	787	808	830	851
659	680	702	723	745	766	788	809	831	852
660	681	703	724	746	767	789	810	832	853
661	682	704	725	747	768	790	811	833	854
662	683	705	726	748	769	791	812	834	855
663	684	706	727	749	770	792	813	835	856
664	685	707	728	750	771	793	814	836	857
665	686	708	729	751	772	794	815	837	858
666	687	709	730	752	773	795	816	838	859
667	688	710	731	753	774	796	817	839	860
668	689	711	732	754	775	797	818	840	861
669	690	712	733	755	776	798	819	841	862
670	691	713	734	756	777	799	820	842	863
671	692	714	735	757	778	800	821	843	864
672	693	715	736	758	779	801	822	844	865
673	694	716	737	759	780	802	823	845	866
674	695	717	738	760	781	803	824	846	867
675	696	718	739	761	782	804	825	847	868
676	697	719	740	762	783	805	826	848	869
677	698	720	741	763	784	806	827	849	870
678	699	721	742	764	785	807	828	850	871
679	700	722	743	765	786	808	829	851	872
680	701	723	744	766	787	809	830	852	873
681	702	724	745	767	788	810	831	853	874
682	703	725	746	768	789	811	832	854	875
683	704	726	747	769	790	812	833	855	876
684	705	727	748	770	791	813	834	856	877
685	706	728	749	771	792	814	835	857	878
686	707	729	750	772	793	815	836	858	879
687	708	730	751	773	794	816	837	859	880

FIGURA 8e

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
881	902	924	945	967	988	1010	1031	1053	1074
882	903	925	946	968	989	1011	1032	1054	1075
883	904	926	947	969	990	1012	1033	1055	1076
884	905	927	948	970	991	1013	1034	1056	1077
885	906	928	949	971	992	1014	1035	1057	1078
886	907	929	950	972	993	1015	1036	1058	1079
887	908	930	951	973	994	1016	1037	1059	1080
888	909	931	952	974	995	1017	1038	1060	1081
889	910	932	953	975	996	1018	1039	1061	1082
890	911	933	954	976	997	1019	1040	1062	1083
891	912	934	955	977	998	1020	1041	1063	1084
892	913	935	956	978	999	1021	1042	1064	1085
893	914	936	957	979	1000	1022	1043	1065	1086
894	915	937	958	980	1001	1023	1044	1066	1087
895	916	938	959	981	1002	1024	1045	1067	1088
896	917	939	960	982	1003	1025	1046	1068	1089
897	918	940	961	983	1004	1026	1047	1069	1090
898	919	941	962	984	1005	1027	1048	1070	1091
899	920	942	963	985	1006	1028	1049	1071	1092
900	921	943	964	986	1007	1029	1050	1072	1093
901	922	944	965	987	1008	1030	1051	1073	1094
902	923	945	966	988	1009	1031	1052	1074	1095
903	924	946	967	989	1010	1032	1053	1075	1096
904	925	947	968	990	1011	1033	1054	1076	1097
905	926	948	969	991	1012	1034	1055	1077	1098
906	927	949	970	992	1013	1035	1056	1078	1099
907	928	950	971	993	1014	1036	1057	1079	1100
908	929	951	972	994	1015	1037	1058	1080	1101
909	930	952	973	995	1016	1038	1059	1081	1102
910	931	953	974	996	1017	1039	1060	1082	1103
911	932	954	975	997	1018	1040	1061	1083	1104
912	933	955	976	998	1019	1041	1062	1084	1105
913	934	956	977	999	1020	1042	1063	1085	1106
914	935	957	978	1000	1021	1043	1064	1086	1107
915	936	958	979	1001	1022	1044	1065	1087	1108
916	937	959	980	1002	1023	1045	1066	1088	1109
917	938	960	981	1003	1024	1046	1067	1089	1110
918	939	961	982	1004	1025	1047	1068	1090	1111
919	940	962	983	1005	1026	1048	1069	1091	1112
920	941	963	984	1006	1027	1049	1070	1092	1113
921	942	964	985	1007	1028	1050	1071	1093	1114
922	943	965	986	1008	1029	1051	1072	1094	1115
923	944	966	987	1009	1030	1052	1073	1095	1116

FIGURA 8f

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
1096	1117	1139	1160	1182	1203	1225	1246	1268	1289
1097	1118	1140	1161	1183	1204	1226	1247	1269	1290
1098	1119	1141	1162	1184	1205	1227	1248	1270	1291
1099	1120	1142	1163	1185	1206	1228	1249	1271	1292
1100	1121	1143	1164	1186	1207	1229	1250	1272	1293
1101	1122	1144	1165	1187	1208	1230	1251	1273	1294
1102	1123	1145	1166	1188	1209	1231	1252	1274	1295
1103	1124	1146	1167	1189	1210	1232	1253	1275	1296
1104	1125	1147	1168	1190	1211	1233	1254	1276	1297
1105	1126	1148	1169	1191	1212	1234	1255	1277	1298
1106	1127	1149	1170	1192	1213	1235	1256	1278	1299
1107	1128	1150	1171	1193	1214	1236	1257	1279	1300
1108	1129	1151	1172	1194	1215	1237	1258	1280	1301
1109	1130	1152	1173	1195	1216	1238	1259	1281	1302
1110	1131	1153	1174	1196	1217	1239	1260	1282	1303
1111	1132	1154	1175	1197	1218	1240	1261	1283	1304
1112	1133	1155	1176	1198	1219	1241	1262	1284	1305
1113	1134	1156	1177	1199	1220	1242	1263	1285	1306
1114	1135	1157	1178	1200	1221	1243	1264	1286	1307
1115	1136	1158	1179	1201	1222	1244	1265	1287	1308
1116	1137	1159	1180	1202	1223	1245	1266	1288	1309
1117	1138	1160	1181	1203	1224	1246	1267	1289	1310
1118	1139	1161	1182	1204	1225	1247	1268	1290	1311
1119	1140	1162	1183	1205	1226	1248	1269	1291	1312
1120	1141	1163	1184	1206	1227	1249	1270	1292	1313
1121	1142	1164	1185	1207	1228	1250	1271	1293	1314
1122	1143	1165	1186	1208	1229	1251	1272	1294	1315
1123	1144	1166	1187	1209	1230	1252	1273	1295	1316
1124	1145	1167	1188	1210	1231	1253	1274	1296	1317
1125	1146	1168	1189	1211	1232	1254	1275	1297	1318
1126	1147	1169	1190	1212	1233	1255	1276	1298	1319
1127	1148	1170	1191	1213	1234	1256	1277	1299	1320
1128	1149	1171	1192	1214	1235	1257	1278	1300	1321
1129	1150	1172	1193	1215	1236	1258	1279	1301	1322
1130	1151	1173	1194	1216	1237	1259	1280	1302	1323
1131	1152	1174	1195	1217	1238	1260	1281	1303	1324
1132	1153	1175	1196	1218	1239	1261	1282	1304	1325
1133	1154	1176	1197	1219	1240	1262	1283	1305	1326
1134	1155	1177	1198	1220	1241	1263	1284	1306	1327
1135	1156	1178	1199	1221	1242	1264	1285	1307	1328
1136	1157	1179	1200	1222	1243	1265	1286	1308	1329
1137	1158	1180	1201	1223	1244	1266	1287	1309	1330
1138	1159	1181	1202	1224	1245	1267	1288	1310	1331

FIGURA 8g

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
1312	1333	1355	1376	1398	1419	1441	1462	1484	1505
1313	1334	1356	1377	1399	1420	1442	1463	1485	1506
1314	1335	1357	1378	1400	1421	1443	1464	1486	1507
1315	1336	1358	1379	1401	1422	1444	1465	1487	1508
1316	1337	1359	1380	1402	1423	1445	1466	1488	1509
1317	1338	1360	1381	1403	1424	1446	1467	1489	1510
1318	1339	1361	1382	1404	1425	1447	1468	1490	1511
1319	1340	1362	1383	1405	1426	1448	1469	1491	1512
1320	1341	1363	1384	1406	1427	1449	1470	1492	1513
1321	1342	1364	1385	1407	1428	1450	1471	1493	1514
1322	1343	1365	1386	1408	1429	1451	1472	1494	1515
1323	1344	1366	1387	1409	1430	1452	1473	1495	1516
1324	1345	1367	1388	1410	1431	1453	1474	1496	1517
1325	1346	1368	1389	1411	1432	1454	1475	1497	1518
1326	1347	1369	1390	1412	1433	1455	1476	1498	1519
1327	1348	1370	1391	1413	1434	1456	1477	1499	1520
1328	1349	1371	1392	1414	1435	1457	1478	1500	1521
1329	1350	1372	1393	1415	1436	1458	1479	1501	1522
1330	1351	1373	1394	1416	1437	1459	1480	1502	1523
1331	1352	1374	1395	1417	1438	1460	1481	1503	1524
1332	1353	1375	1396	1418	1439	1461	1482	1504	1525
1333	1354	1376	1397	1419	1440	1462	1483	1505	1526
1334	1355	1377	1398	1420	1441	1463	1484	1506	1527
1335	1356	1378	1399	1421	1442	1464	1485	1507	1528
1336	1357	1379	1400	1422	1443	1465	1486	1508	1529
1337	1358	1380	1401	1423	1444	1466	1487	1509	1530
1338	1359	1381	1402	1424	1445	1467	1488	1510	1531
1339	1360	1382	1403	1425	1446	1468	1489	1511	1532
1340	1361	1383	1404	1426	1447	1469	1490	1512	1533
1341	1362	1384	1405	1427	1448	1470	1491	1513	1534
1342	1363	1385	1406	1428	1449	1471	1492	1514	1535
1343	1364	1386	1407	1429	1450	1472	1493	1515	1536
1344	1365	1387	1408	1430	1451	1473	1494	1516	1537
1345	1366	1388	1409	1431	1452	1474	1495	1517	1538
1346	1367	1389	1410	1432	1453	1475	1496	1518	1539
1347	1368	1390	1411	1433	1454	1476	1497	1519	1540
1348	1369	1391	1412	1434	1455	1477	1498	1520	1541
1349	1370	1392	1413	1435	1456	1478	1499	1521	1542
1350	1371	1393	1414	1436	1457	1479	1500	1522	1543
1351	1372	1394	1415	1437	1458	1480	1501	1523	1544
1352	1373	1395	1416	1438	1459	1481	1502	1524	1545
1353	1374	1396	1417	1439	1460	1482	1503	1525	1546
1354	1375	1397	1418	1440	1461	1483	1504	1526	1547

FIGURA 8h

Posições de nucleotídeo de 21mers de SEQ ID NO: 8									
nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo		nucleotídeo a nucleotídeo	
1527	1548	1570	1591	1613	1634	1656	1677	1699	1720
1528	1549	1571	1592	1614	1635	1657	1678	1700	1721
1529	1550	1572	1593	1615	1636	1658	1679	1701	1722
1530	1551	1573	1594	1616	1637	1659	1680	1702	1723
1531	1552	1574	1595	1617	1638	1660	1681	1703	1724
1532	1553	1575	1596	1618	1639	1661	1682	1704	1725
1533	1554	1576	1597	1619	1640	1662	1683	1705	1726
1534	1555	1577	1598	1620	1641	1663	1684	1706	1727
1535	1556	1578	1599	1621	1642	1664	1685	1707	1728
1536	1557	1579	1600	1622	1643	1665	1686	1708	1729
1537	1558	1580	1601	1623	1644	1666	1687	1709	1730
1538	1559	1581	1602	1624	1645	1667	1688	1710	1731
1539	1560	1582	1603	1625	1646	1668	1689	1711	1732
1540	1561	1583	1604	1626	1647	1669	1690	1712	1733
1541	1562	1584	1605	1627	1648	1670	1691	1713	1734
1542	1563	1585	1606	1628	1649	1671	1692	1714	1735
1543	1564	1586	1607	1629	1650	1672	1693	1715	1736
1544	1565	1587	1608	1630	1651	1673	1694	1716	1737
1545	1566	1588	1609	1631	1652	1674	1695	1717	1738
1546	1567	1589	1610	1632	1653	1675	1696	1718	1739
1547	1568	1590	1611	1633	1654	1676	1697	1719	1740
1548	1569	1591	1612	1634	1655	1677	1698	1720	1741
1549	1570	1592	1613	1635	1656	1678	1699	1721	1742
1550	1571	1593	1614	1636	1657	1679	1700	1722	1743
1551	1572	1594	1615	1637	1658	1680	1701		
1552	1573	1595	1616	1638	1659	1681	1702		
1553	1574	1596	1617	1639	1660	1682	1703		
1554	1575	1597	1618	1640	1661	1683	1704		
1555	1576	1598	1619	1641	1662	1684	1705	n-5	n+15
1556	1577	1599	1620	1642	1663	1685	1706	n-4	n+16
1557	1578	1600	1621	1643	1664	1686	1707	n-3	n+17
1558	1579	1601	1622	1644	1665	1687	1708	n-2	n+18
1559	1580	1602	1623	1645	1666	1688	1709	n-1	n+19
1560	1581	1603	1624	1646	1667	1689	1710	n	n+20
1561	1582	1604	1625	1647	1668	1690	1711		
1562	1583	1605	1626	1648	1669	1691	1712		
1563	1584	1606	1627	1649	1670	1692	1713		
1564	1585	1607	1628	1650	1671	1693	1714		
1565	1586	1608	1629	1651	1672	1694	1715		
1566	1587	1609	1630	1652	1673	1695	1716		
1567	1588	1610	1631	1653	1674	1696	1717		
1568	1589	1611	1632	1654	1675	1697	1718		
1569	1590	1612	1633	1655	1676	1698	1719		

FIGURA 8i

n = número total de nucleotídeos de comprimento total de um gene semelhante a 50657480 ou um polinucleotídeo - 20 codificador de homólogo de 50657480.

Por exemplo:

- n = 627 (647-20) for SEQ ID NO:1
- n = 1335 (1352-20) for SEQ ID NO:7;
- n = 1297 (1317-20) for SEQ ID NO:9;
- n = 1342 (1362-20) for SEQ ID NO:17;
- n = 1249 (1269-20) for SEQ ID NO:19;
- n = 1012 (1032-20) for SEQ ID NO:21;
- n = 1468 (1488-20) for SEQ ID NO:23;
- n = 1576 (1596-20) for SEQ ID NO:25;
- n = 811 (831-20) for SEQ ID NO:27;
- n = 1324 (1344-20) for SEQ ID NO:29;

RESUMO

“MOLÉCULA DE dsRNA, COLEÇÃO DE MOLÉCULAS DE dsRNA, PLANTA TRANSGÊNICA, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA PLANTA TRANSGÊNICA, E PARA CONCEDER RESISTÊNCIA A NEMATÓDEO A UMA PLANTA, E, VETOR DE EXPRESSÃO”

A presente invenção concerne às composições de RNA de fita dupla e às plantas transgênicas capazes de inibirem a expressão de genes para estabelecer ou manter infestação de nematódeo em uma planta, e aos métodos associados com as mesmas. Especificamente, a invenção refere-se ao uso de interferência de RNA para inibir expressão de um gene de planta alvo, que é um gene 50657480 ou um seu homólogo, e se refere à geração de plantas que têm resistência aumentada aos nematódeos parasíticos.

LISTAGEM DA SEQUÊNCIA

<110> BASF Plant Science GmbH
 Wiig, Aaron
 <120> "COMPOSIÇÃO E MÉTODOS UTILIZANDO INTERFERÊNCIA DE RNA PARA
 CONTROLE DE NEMATÓDEOS"
 <130> PF 58859
 <160> 29
 <170> PatentIn version 3.4
 <210> 1
 <211> 647
 <212> DNA
 <213> Glycine max
 <400> 1
 aagatggtgc agcctgcttc ctaaattttg gtacattatc aagtggatgt gatggtgccc 60
 ctctgcttcc tctgctgttt attattgtaa acatagggtt caatattgca ttgcttcatc 120
 tcctcaagat ctcttcagct gttgtatctt gtcttgcttc cacattttca gtcccaatat 180
 ccatctacgt gttcaccatg ccattgocat accttggtgt tgcctcctct cttccaacag 240
 gcttttatggc aggggccatt atcctcattt tgggcttact catttatgct tggacccctt 300
 caaatgggtc ctcggtgtct tcctttctcaa cttcctccac ctagagaggc tagaatgagt 360
 tgacatgtca ttgcagatag tacaacacca caaggaaacta attcagggtc gcttttagga 420
 gacggctata agaaggagaa agaaataggg cgttcttgta agttgtaata gttgttcgta 480
 agcatttttt atgagctaag cttaagtaag aaagagacta gactatagat agaacagggt 540
 ccaagttcaa tttttatgta agctaaggaa agtaaataga gaataaaagt cactttgttg 600
 acagaggaaa tgatattgga ccatttggat gcaaaaaaaa aaaaaa 647
 <210> 2
 <211> 477
 <212> DNA
 <213> Glycine max
 <400> 2
 gtgcagcctg cttcctaaat tttggtacat tatcaagtgg atgtgatggt gccctctgct 60
 ttctctgctt gtttattatt gtaaacaatag gtttcaatat tgcattgctt catctcctca 120
 agatctcttc agctgttgta tcttgtcttg cttccacatt ttcagtccca atatccatct 180
 acgtgttcac catgccattg ccataccttg gtgttgcttc ctctcttcca acaggcttta 240
 tggcaggggc cattatcctc attttgggt tactcattta tgcttgacc ctttcaaagt 300
 gttcctcggtg tgcttccttc tcaacttctt ccacctagag aggctagaat gagttgacat 360
 gtcattgcag atagtacaac accacaagga actaattcag gttcgctttt aggagacggc 420
 tataagaagg agaaagaaat agggcgcttct tgtaagttgt aatagttggt cgtaagc 477
 <210> 3
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Glycine max
 <400> 3
 Asp Gly Ala Ala Cys Phe Leu Asn Phe Gly Thr Leu Ser Ser Gly Cys
 1 5 10 15
 Asp Gly Ala Pro Leu Leu Pro Leu Leu Phe Ile Ile Val Asn Ile Gly
 20 25 30
 Phe Asn Ile Ala Leu Leu His Leu Leu Lys Ile Ser Ser Ala Val Val
 35 40 45
 Ser Cys Leu Ala Ser Thr Phe Ser Val Pro Ile Ser Ile Tyr Val Phe
 50 55 60
 Thr Met Pro Leu Pro Tyr Leu Gly Val Ala Ser Ser Leu Pro Thr Gly
 65 70 75 80
 Phe Met Ala Gly Ala Ile Ile Leu Ile Leu Gly Leu Leu Ile Tyr Ala
 85 90 95
 Trp Thr Pro Ser Asn Gly Ser Ser Gly Ala Ser Phe Ser Thr Ser Ser
 100 105 110
 Thr
 <210> 4
 <211> 29
 <212> DNA

<213> Artificial
 <220>
 <223> Sequência de iniciador
 <400> 4
 ttaattaaga cgtcgtgcag cctgcttcc 29
 <210> 5
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Sequência de iniciador
 <400> 5
 ctcgagggcg cgccgcttac gaacaactat tac 33
 <210> 6
 <211> 1449
 <212> DNA
 <213> Arabidopsis thaliana
 <400> 6
 cataacggag tatgatatta aatgaacact ttctgttcgt atcaaatggt atcgaatatt 60
 attagagtga tcattcagaa gaaaaaaga gagagaagaa aacctacagt gtaaacattt 120
 ttttttttgc taaataccta cagtgtaaac atgaagtgtc ataattttctg caaatagaaa 180
 tcaagaacag aaagagttgc ttggaggaaa agaaatagaa aattaagaaa tctagtgatg 240
 taataaatct ttccataaaa tcaaatgttt ggtccaaagt attagttaaa taattaggcc 300
 actattcttg acaactcttt ttaacaaact cttctatatt ttctcgtggt acatatgctg 360
 aaaaagatgt atgtctaate cataatatat ctgtataatg cgactttcat tatctattag 420
 tacgacttct aacctagaag ataacaagca ttagttaggg catcaaaatc aacgtggaaa 480
 aacctacgaa aagcacgaag tgattaatct gtgtaggggg ggcgtaaggg taaagactaa 540
 agactgagaa tctagggttc aaggcgtaaa cttgttctgc tttttgggtt tcattttatt 600
 ggcgaaacac attgatgtgt gtggaccatt tgggtgttcag ggattgagac aagataatat 660
 gtttgctctc accttctagg attactcggg tgctaagact cacttagtac tattgctata 720
 tcgatatact agttcattac caaaaaatgg agtcttcaaa ttctcgagttc caatatctga 780
 aagcattggt taaagagatt tgttttctcc ctgcacaatt agttttataac ttcatatata 840
 cacaatctta tcaattttaca accagggtgtg tgtgaacctt cacataatct ctcttattca 900
 ttcatgtata tatccaataa aagttcagata tgtgaaatta tatactctcca tctaattgta 960
 gactattccc gggctttgac tataaattta aagtattaga cgagctaatt atatttagca 1020
 caaacaattt cttctgtaac agtgtcacgc ttatcactac caaagaataa acactgatct 1080
 gttttaatct cttattttct caccatatt caaagtcaac tattgcaaga cttcgagata 1140
 attaatgtga tggctatact atttacttga catttgaggaa aatataattt cgctgataaa 1200
 tttgggtttt acttctctct ccgacggata tagaaacaat tcaattacat gcgaaaatga 1260
 taattcaacc ctataaacca aaacaaataa cagaatgcac atttttttca acgcgttagg 1320
 tcacctatct ttcaactttag aacatccctt cacgtctcta tataaacctc gactctgtta 1380
 tcctttgttc ttcaagtaca acaatcaact ctaagtctat tatattcaag tctttgtttt 1440
 aacctaaca
 <210> 7
 <211> 1352
 <212> DNA
 <213> Glycine max
 <400> 7
 gatgttcttc tattgattcc tcaattttct caactcaaaa ctaagtttcg tctttgtgat 60
 ctcttgatta tattatatcg atttgtgaat tgtttttcca caaaaaaaa attcattcaa 120
 accatggctt cattatgccg gcggttatcc gccgcgcac cgcccggtca cttccgattc 180
 catcgcccg cggggatttg cgcggttcga tacggttatt ccgtccggcg gccaatgcgg 240
 ttggttcgag cggggaccac cgtgggcgcg ggcgcgtggg tgacatccga tgacgtcgga 300
 gggaggagg agaagggtgg gccctgtcc tacgcgtgg aggatcggag ggtggcgga 360
 gatggcgga gcgatgcggt ggttaggaagt aggaaccggg tgggtggaagt ggccgcggcg 420
 gcggttgcaa cggtggtgct ggggtgtggg aaccgggttc tgtataagtt ggctttgggt 480
 ccggtgaagc actacccttt cttccttgct caacttgcca ctttcggata tgtaatatgt 540
 tactttgcga ttttgtatat tcgacaccat gcgggcattg ttactgatga gatgttagat 600
 gctccaaagg ctccatttat agttgttggg ctattggagg ctctcgtctc tgccactgga 660
 atggccgcag gagcaattct ctctggagct tcgattccaa ttttatctca gacttttcta 720
 gtgtggcaaa tactcctgtc aattattttt cttgggagaa gatataaagt caaccaatta 780
 cttggatgct ttcttgtaac catttggtga ttgtttactg tagcaagtgg agctgggtgct 840
 ggaatttat taaaggaagg tggatgttt tggagtcttt tgatgatagt ttcatttttc 900

ctccaagcgg	ctgataccgt	gctgaaggaa	attatctttt	tggattcatc	ccgaaaattg	960
aagggaggtt	gttgtatgga	cctttttgtt	gtcaattcgt	acggatctgc	tttccaagca	1020
ctattcgtgt	gccttcttct	ccccttcttg	tcaaaattat	ggggcattcc	cttcagtcac	1080
ctaccaaact	accttaaaga	tgggtgcagcc	tgcttcctaa	atttttggtac	attatcaagt	1140
ggatgtgatg	gtgccccctc	gcttcctctg	ctgtttatta	ttgtaaacaat	aggtttcaat	1200
attgcattgc	ttcatctcct	caagatctct	tcagctgttg	tatcttgtct	tgcttcacac	1260
ttttcagtc	caatatccat	ctacgtgttc	accatgccat	tgccatacct	tgggtgttgc	1320
tcctctcttc	caacaggctt	tatggcaggg	gc			1352

<210> 8

<211> 1743

<212> DNA

<213> Glycine max

<400> 8

gatgttcttc	tattgattcc	tcaatttctc	caactcaaaa	ctaagtttcg	tctttgtgat	60
ctcttgatta	tattatatcg	atgtgtgaat	tgtttttcca	caaaaaaaaa	attcattcaa	120
accatggctt	cattatgccg	gcggttatcc	gccgccgcac	cggccgggtca	cttcgcgattc	180
catcggcccg	cggggatttg	cgcggttcga	tacggttatt	ccgtccggcg	gccaatgcgg	240
ttggttgccg	cggggaccac	cgtgggcggc	ggcgcgtggg	tgacatccga	tgacgtcggga	300
gggaggagg	agaaggtggg	gccctgctcc	tacgccgtgg	aggatcggag	ggtggcggaa	360
gatggcggaa	gcgatgcggg	ggtaggaagt	aggaaccggg	tgggtggaagt	ggcggcggcg	420
gcggttgcaa	cgggtggtgct	gggtgttggg	aaccgggttc	tgtataagtt	ggctttgggt	480
ccgttgaagc	actacccttt	cttccttgct	caacttgcca	ctttcggata	tgtaaatagt	540
tactttgcga	ttttgtatat	tcgacaccat	gcgggcattg	ttactgatga	gatgttagat	600
gctccaaagg	ctccatttat	agttgttggg	ctattggagg	ctctcgctgc	tgccactgga	660
atggccgcag	gagcaattct	ctctggagct	tcgattccaa	ttttatctca	gacttttcta	720
gtgtggcaaa	tactcctgtc	aattattttt	cttgggagaa	gatataaagt	caaccaatta	780
cttggatgct	ttcttgtaac	cattggtgta	gttgttactg	tagcaagtgg	agctggtgct	840
gggaatttat	taaaggaagg	tggatatgtt	tggagtcttt	tgatgatagt	ttcatttttc	900
ctccaagcgg	ctgataccgt	gctgaaggaa	attatctttt	tggattcatc	ccgaaaattg	960
aagggaggtt	gttgtatgga	cctttttgtt	gtcaattcgt	acggatctgc	tttccaagca	1020
ctattcgtgt	gccttcttct	ccccttcttg	tcaaaattat	ggggcattcc	cttcagtcac	1080
ctaccaaact	accttaaaga	tgggtgcagcc	tgcttcctaa	atttttggtac	attatcaagt	1140
ggatgtgatg	gtgccccctc	gcttcctctg	ctgtttatta	ttgtaaacaat	aggtttcaat	1200
attgcattgc	ttcatctcct	caagatctct	tcagctgttg	tatcttgtct	tgcttcacac	1260
ttttcagtc	caatatccat	ctacgtgttc	accatgccat	tgccatacct	tgggtgttgc	1320
tcctctcttc	caacaggctt	tatggcaggg	gccattatcc	tcattttggg	cttactcatt	1380
tatgcttgga	ccccttcaaa	tggttcctcg	ggtgcttctc	tctcaacttc	ctccacctag	1440
agaggctaga	atgagttgac	atgtcattgc	agatagtaca	acaccacaag	gaactaattc	1500
aggttcgctt	ttaggagacg	gctataagaa	ggagaaagaa	atagggcggt	cttgtaagtt	1560
gtaatatgtg	ttcgtaagca	ttttttatga	gctaagctta	agtaagaaag	agactagact	1620
atagatagaa	caggttccaa	gttcaatttt	tatgtaagct	aaggaaagta	aatagagaat	1680
aaaagtcact	ttgttgacag	aggaaatgat	attggaccat	ttggatgcaa	aaaaaaaaaa	1740
aaa						1743

<210> 9

<211> 1317

<212> DNA

<213> Glycine max

<400> 9

atggcttcat	tatgccggcg	gttatccgcc	gccgcaccgg	cgggtcactt	ccgattccat	60
cggccccgcc	ggatttgccg	ggttcgatac	ggttattccg	tcgggcggcc	aatgcggttg	120
gttgcggcgg	ggaccaccgt	gggcggcgcc	gcgtgggtga	catccgatga	cgtcggaggg	180
agggaggaga	aggtggggcc	ctgctcctac	gccgtggagg	atcggagggt	ggcgggaagt	240
ggcggaagcg	atgcggtggg	aggaagttag	aaccgggtgg	tggaaagtgg	ggcggcgccg	300
gttgcaacgg	tgggtgctgg	tgttgggaa	cgggttctgt	ataagttggc	tttggttccg	360
ttgaagcact	accttttctt	ccttgcctca	cttgccactt	tcggatatgt	aatagtgtac	420
tttgcgattt	tgtatatctg	acaccatgcg	ggcattgtta	ctgatgagat	gttagatgct	480
ccaaaggctc	catttatagt	tgttgggtct	ttggaggctc	tcgctgctgc	cactggaatg	540
gccgcaggag	caattctctc	tggagcttcg	attccaattt	tatctcagac	ttttctagt	600
tggcaaaatac	tcctgtcaat	tatttttctt	gggagaagat	ataaagtcaa	ccaattactt	660
ggatgctttc	ttgtaaccat	tgggtgtagtt	gttactgtag	caagtggagc	tgggtgctggg	720
aatttattaa	aggaaggtgg	tatgttttgg	agtccttttg	tgatagtttc	atttttcttc	780
caagcggctg	ataccgtgct	gaaggaaatt	atcttttttg	attcatcccg	aaaattgaag	840
ggagggttgt	gtatggacct	ttttgttgtc	aattcgtacg	gatctgcttt	ccaagcacta	900

```

ttcgtgtgcc ttcttctccc cttcttgtca aaattatggg gcattccctt cagtcaacta 960
ccaaactacc ttaaagatgg tgcagcctgc ttctctaaatt ttggtacatt atcaagtgga 1020
tgtgatgggtg cccctctgct tctctgtgtg tttattattg taaacatagg tttcaatatt 1080
gcattgcttc atctctctcaa gatctcttca gctgttgtat cttgtcttgc ttccacattt 1140
tcagtcccaa tatccatcta cgtgttcacc atgccattgc cataccttgg tgttgccctcc 1200
tctcttccaa caggctttat ggcagggggc attatcctca ttttgggctt actcatttat 1260
gcttggaccc cttcaaattg ttctctgggt gcttccctct caacttcctc cacctag 1317
<210> 10
<211> 438
<212> PRT
<213> Glycine max
<400> 10
Met Ala Ser Leu Cys Arg Arg Leu Ser Ala Ala Ala Pro Ala Gly His
1 5 10 15
Phe Arg Phe His Arg Pro Ala Gly Ile Cys Ala Val Arg Tyr Gly Tyr
20 25 30
Ser Val Arg Arg Pro Met Arg Leu Val Ala Ala Gly Thr Val Gly
35 40 45
Gly Gly Ala Trp Val Thr Ser Asp Asp Val Gly Gly Arg Glu Glu Lys
50 55 60
Val Gly Pro Cys Ser Tyr Ala Val Glu Asp Arg Arg Val Ala Glu Asp
65 70 75 80
Gly Gly Ser Asp Ala Val Val Gly Ser Arg Asn Arg Val Val Glu Val
85 90 95
Ala Ala Ala Ala Val Ala Thr Val Val Leu Gly Val Gly Asn Arg Val
100 105 110
Leu Tyr Lys Leu Ala Leu Val Pro Leu Lys His Tyr Pro Phe Phe Leu
115 120 125
Ala Gln Leu Ala Thr Phe Gly Tyr Val Ile Val Tyr Phe Ala Ile Leu
130 135 140
Tyr Ile Arg His His Ala Gly Ile Val Thr Asp Glu Met Leu Asp Ala
145 150 155 160
Pro Lys Ala Pro Phe Ile Val Val Gly Leu Leu Glu Ala Leu Ala Ala
165 170 175
Ala Thr Gly Met Ala Ala Gly Ala Ile Leu Ser Gly Ala Ser Ile Pro
180 185 190
Ile Leu Ser Gln Thr Phe Leu Val Trp Gln Ile Leu Leu Ser Ile Ile
195 200 205
Phe Leu Gly Arg Arg Tyr Lys Val Asn Gln Leu Leu Gly Cys Phe Leu
210 215 220
Val Thr Ile Gly Val Val Val Thr Val Ala Ser Gly Ala Gly Ala Gly
225 230 235 240
Asn Leu Leu Lys Glu Gly Gly Met Phe Trp Ser Leu Leu Met Ile Val
245 250 255
Ser Phe Phe Leu Gln Ala Ala Asp Thr Val Leu Lys Glu Ile Ile Phe
260 265 270
Leu Asp Ser Ser Arg Lys Leu Lys Gly Gly Cys Cys Met Asp Leu Phe
275 280 285
Val Val Asn Ser Tyr Gly Ser Ala Phe Gln Ala Leu Phe Val Cys Leu
290 295 300
Leu Leu Pro Phe Leu Ser Lys Leu Trp Gly Ile Pro Phe Ser Gln Leu
305 310 315 320
Pro Asn Tyr Leu Lys Asp Gly Ala Ala Cys Phe Leu Asn Phe Gly Thr
325 330 335
Leu Ser Ser Gly Cys Asp Gly Ala Pro Leu Leu Pro Leu Leu Phe Ile
340 345 350
Ile Val Asn Ile Gly Phe Asn Ile Ala Leu Leu His Leu Leu Lys Ile
355 360 365
Ser Ser Ala Val Val Ser Cys Leu Ala Ser Thr Phe Ser Val Pro Ile
370 375 380
Ser Ile Tyr Val Phe Thr Met Pro Leu Pro Tyr Leu Gly Val Ala Ser
385 390 395 400
Ser Leu Pro Thr Gly Phe Met Ala Gly Ala Ile Ile Leu Ile Leu Gly

```

405 410 415
 Leu Leu Ile Tyr Ala Trp Thr Pro Ser Asn Gly Ser Ser Gly Ala Ser
 420 425 430
 Phe Ser Thr Ser Ser Thr
 435
 <210> 11
 <211> 44
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Oligonucleotídeo de RNA
 <400> 11
 cgacuggagc acgaggacac ugacauggac ugaaggagua gaaa 44
 <210> 12
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Sequência de iniciador
 <400> 12
 cgactggagc acgaggacac tga 23
 <210> 13
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Sequência de iniciador
 <400> 13
 ggacactgac atggactgaa ggagta 26
 <210> 14
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Sequência de iniciador
 <400> 14
 ccgaggaacc atttgaaggg gtccaagc 28
 <210> 15
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Sequência de iniciador
 <400> 15
 gccctgcca taaagcctgt tggaagag 28
 <210> 16
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Vitis vinifera
 <400> 16
 Met Ser Ala Ser Cys Arg Arg Leu Thr Ala Gly Val Arg Val Pro Met
 1 5 10 15
 Val Ala Arg Gln Val Leu Gly Ala Ser Glu Ile Ser Arg Leu Cys Gly
 20 25 30
 Val Arg Met Asn Arg Arg Lys Gly Ile Val Leu Arg Gly Arg Arg Leu
 35 40 45
 Val Val Ala Glu Ala Glu Ala Met Gly Arg Gly Gly Val Arg Val Arg
 50 55 60
 Ser Asp Gly Gly Gly Glu Glu Arg Val Glu Lys Trp Ser Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Arg Arg Arg Gly Asp Leu Val Val Glu Glu Lys Glu Asp
 85 90 95
 Val Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Glu Gly Asp Arg Arg Met Lys Val

				100						105					110		
Val	Ile	Ala	Ala	Ala	Phe	Thr	Val	Val	Leu	Gly	Val	Gly	Asn	Arg	Val		
		115					120					125					
Leu	Tyr	Lys	Leu	Ala	Leu	Val	Pro	Leu	Lys	His	Tyr	Pro	Phe	Phe	Leu		
	130					135					140						
Ala	Gln	Leu	Ala	Thr	Val	Gly	Tyr	Val	Leu	Val	Tyr	Phe	Ser	Ile	Leu		
145					150					155					160		
Ser	Leu	Arg	Tyr	Asn	Ala	Gly	Ile	Val	Thr	Asp	Glu	Met	Leu	Ser	Leu		
				165					170					175			
Pro	Lys	Thr	Pro	Tyr	Val	Ala	Val	Gly	Leu	Leu	Glu	Ala	Leu	Gly	Ala		
			180					185					190				
Ala	Thr	Gly	Met	Ala	Ala	Gly	Ala	Ile	Leu	Ser	Gly	Ala	Ser	Ile	Pro		
		195					200					205					
Ile	Leu	Ser	Gln	Ser	Phe	Leu	Val	Trp	Gln	Leu	Leu	Leu	Ser	Ala	Ile		
	210					215						220					
Phe	Leu	Gly	Arg	Arg	Tyr	Lys	Val	Asn	Gln	Leu	Leu	Gly	Cys	Phe	Leu		
225					230					235					240		
Val	Ala	Ile	Gly	Val	Ile	Ile	Thr	Val	Ala	Ser	Gly	Ser	Ser	Ala	Gly		
				245					250					255			
Ala	Ser	Leu	Lys	Gly	Ala	Gly	Ile	Phe	Trp	Ser	Leu	Leu	Met	Met	Val		
			260					265					270				
Ser	Phe	Leu	Phe	Gln	Ala	Ala	Asp	Thr	Val	Leu	Lys	Glu	Arg	Ile	Phe		
		275					280					285					
Leu	Lys	Ala	Ala	Glu	Arg	Leu	Lys	Gly	Gly	Ser	Val	Asp	Leu	Phe	Val		
	290					295					300						
Val	Asn	Ser	Tyr	Gly	Ser	Ala	Phe	Gln	Ala	Leu	Phe	Ile	Cys	Leu	Leu		
305					310					315					320		
Leu	Pro	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	Trp	Gly	Val	Pro	Phe	Ser	His	Leu	Pro		
				325					330					335			
Asn	Tyr	Leu	Lys	Asp	Gly	Ala	Ala	Cys	Phe	Leu	Asn	Ile	Gly	Ser	Leu		
			340					345					350				
Ser	Ser	Gly	Cys	Asp	Gly	Ala	Pro	Leu	Leu	Pro	Leu	Leu	Phe	Val	Val		
		355					360						365				
Val	Asn	Met	Gly	Phe	Asn	Ile	Ser	Leu	Leu	His	Leu	Leu	Lys	Ile	Ser		
	370					375					380						
Ser	Ala	Val	Val	Ser	Cys	Leu	Ala	Ser	Thr	Phe	Ser	Val	Pro	Ile	Ala		
385					390					395					400		
Val	Tyr	Met	Phe	Thr	Leu	Pro	Leu	Pro	Tyr	Leu	Gly	Val	Ala	Ser	Ser		
				405					410					415			

<210> 17

<211> 1362

<212> DNA

<213> Vitis vinifera

<400> 17

atgtctgctt	cttgccgccc	gctaaccgcc	ggcggttcgtg	ttccaatggt	tgccaggcag	60
gttctgggag	ccagcgagat	ttcgaggctt	tgtggagttc	gaatgaaccg	gcggaagggg	120
atcgttttga	gggggaggcg	gctggttggtg	gcggaggcgg	aggctatggg	aagaggagga	180
gtgcgggtga	gatcggatgg	gggaggtgag	gagagggttg	agaagtggtc	gtacgggtcg	240
gaggatcggc	ggaggggcga	tttggttggtg	gtggaggaaa	aggagtagtg	tggctgcgct	300
ggtggcgggt	gtgaggtgta	tcggaggatg	aaagtggtta	tcgcagcggc	gtttacggtg	360
gtgctggggc	tagggaatcg	agtctgttac	aagctggcct	tggttcctct	caaacattac	420
ccattcttcc	tcgctcagct	tgccactgtc	ggatatgtac	ttgtgtactt	ctctatcttg	480
tctctgcgtt	acaatgctgg	aattgtttaca	gatgagatgc	tttccttgcc	aaagactccc	540
tatgttgctg	tgggcctttt	agaggctctt	ggtgctgcta	ctggaatggc	agctggagca	600
attctttctg	gagcatcaat	tccaatttta	tctcagagct	ttcttgtctg	gcaacttctc	660
ctatcagcta	tttttcttgg	taggagatac	aaagtcaccc	aattacttgg	atgttttctt	720
gtggctattg	gtgtaataat	aactgtagca	agtqqatcta	gtgctggtgc	ttcattgaag	780

```

ggagctggca tattttggag tcttttgatg atggtttctt ttttgtttca agcggctgat      840
acagtcttga aggagagaat tttcttgaag gctgctgagc gattaaaggg aggttcagtg      900
gatctatttg ttgtaaatc ctatggatct gctttccaag cattgttcat atgccttctc      960
ctgcccttct tatcaaagtt atggggtgtt ccatttagtc atctgccaaa ctaccttaaa    1020
gatgggtgcag cctgctttct gaacatcggt tctttgtcca gtggatgtga tgggtgcaccg    1080
ctactgccat tgctctttgt tgtagtcaac atgggcttca acatatcact gctgcatctc    1140
ctcaagatat cttctgctgt ggtatcttgc cttgcatcca ctttttcagt gccaatgtgt    1200
gtgtacatgt tcacactgcc gcttccatat cttgggtgtcg catcttctct tccaccagct    1260
tttgtgacag gtgctattat ccttctgggt ggcctaata tttatgcatg gacaccgccg    1320
tcaatggatc tgaacagttc ttcctcacct tcaatccact ag                        1362

```

<210> 18

<211> 422

<212> PRT

<213> Vitis vinifera

<400> 18

```

Met Ala Phe Ser Cys Ala Val Ser Cys Val Arg Phe His Val Ile Pro
1          5          10          15
Pro Lys Pro Leu Thr Leu His Thr Tyr Thr Ala His Leu Ser Pro Phe
          20          25          30
Ser Pro Leu Ile Ser Met His Ile Ser Gln Asn Pro Arg Tyr His Leu
          35          40          45
His Phe Pro Ser Arg Ser Pro Leu His Gly Val Ser Ser His Asn Ser
          50          55          60
Pro Lys Thr Pro Asn Phe Arg Val Arg Ala Ser Ala Asp Asn Ser Gln
65          70          75          80
Thr Ser Ser Ser Asn Thr Gly Leu Val Ile Val Cys Ser Ala Ile Thr
          85          90          95
Val Ile Leu Ala Val Val Asn Arg Val Phe Tyr Lys Leu Ala Leu Val
          100          105          110
Pro Leu Lys Gln Tyr Pro Phe Phe Leu Ala Gln Phe Thr Thr Phe Gly
          115          120          125
Tyr Ala Ala Ile Tyr Phe Ser Ile Leu Tyr Ile Arg Tyr Arg Ala Gly
          130          135          140
Ile Val Thr Asp Glu Met Ile Ala Leu Pro Lys Ser Arg Phe Met Ala
145          150          155          160
Ile Gly Ile Leu Glu Ala Leu Gly Val Ala Ser Gly Met Ala Ser Ala
          165          170          175
Ala Met Leu Pro Gly Pro Ala Ile Pro Leu Leu Asn Gln Thr Phe Leu
          180          185          190
Val Trp Gln Leu Ala Leu Ser Thr Leu Ile Leu Gly Arg Lys Tyr Ser
          195          200          205
Phe Asn Gln Ile Leu Gly Cys Phe Leu Val Ala Ala Gly Val Val Thr
          210          215          220
Ala Val Ala Ser Gly Ser Asn Gly Asp Gln Met Leu Ser Gly Ile Glu
225          230          235          240
Phe Ile Trp Pro Ala Leu Met Ile Ala Ser Ser Ala Phe Gln Ala Gly
          245          250          255
Ala Ser Ile Ile Lys Glu Phe Val Phe Val Asp Ala Ala Thr Arg Leu
          260          265          270
Lys Gly Lys Leu Leu Asp Ile Phe Val Val Asn Ser Phe Gly Ser Gly
          275          280          285
Phe Gln Ala Leu Phe Val Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ser Asn Phe
          290          295          300
Arg Gly Ile Pro Phe Pro Gln Leu Pro Ser Tyr Leu Lys Ala Gly Ala
305          310          315          320
Gly Cys Phe Leu Asn Ile Gly Ser Asn Ile Pro Gly Cys Asp Gly Ala
          325          330          335
Pro Leu Leu Pro Leu Leu Tyr Leu Ala Thr Asn Ile Ala Phe Asn Ile
          340          345          350
Ser Leu Leu Asn Leu Val Lys Ile Ser Ser Ala Val Val Ser Thr Leu
          355          360          365
Ala Ala Met Ala Ser Val Pro Ile Ser Ile Tyr Val Leu Ser Leu Pro
          370          375          380

```

Leu Pro Tyr Leu Pro Gln Gly Ala Ser Leu Ser Pro Phe Phe Leu Phe
 385 390 395 400
 Gly Gly Val Ile Leu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Tyr Asn Ile Pro Gln
 405 410 415
 Pro Ala Lys Gln Ala Pro
 420

<210> 19
 <211> 1269
 <212> DNA
 <213> Vitis vinifera
 <400> 19

```

atggccttct cgtgcgcggt gtccctgcgtc cgtttccatg tcattcctcc taaaccctta 60
actcttcata cctacaccgc ccattctctc cctttctctc ctctaatttc aatgcatatt 120
tctcaaaacc ctagatacca tcttcatttt ccttccagat caccctcca tggagtttca 180
agtcacaatt caccgaaaac cccaacttc agagtcgcgc catccgcgca caattcccaa 240
acttcatcct ccaacaccgg actagtaatc gtctgctcgg caatcaactgt aattttggcg 300
gttgccaatc gcgtgtttta caagcttgct cttgttcctc tgaagcaata cccattcttt 360
ttagcccggt tcactacttt cgggtatgog gctatttatt tttctatact atatatagcg 420
tatcgtgcgg ggattgtaac ggatgaaatg atagcccttc caaaatcacg ttttatggca 480
atcgggtattc tagaagccct tgggtgttgc tctgggatgg cttctgcagc tatgcttcct 540
ggaccagcta tacccttatt gaatcagaca tttttggttt ggcagctggc tctttctact 600
cttatttttg ggagaaaata ctcttcaat caaattcttg gatgctttct tgtagctgct 660
ggtgtagtaa ccgctgttgc gagtgggtca aatggtgatc aaatgctgct aggaattgag 720
tttatatggc cagcattaat gatagcttca agtgcatcc aagctggtgc atctattatc 780
aaggaatttg tttttgttga tgctgcaacc cggcttaagg ggaagcttct tgacatatatt 840
gttgccaatt cttttggatc cggattccag gctctttttg tgcttctcct tctgcctttg 900
ctgtcaaaact tcagaggtat accttttcca cagctccctt catacctaaa agctggtgct 960
gggtgctttt tgaatattgg atccaatata ccagggtgtg atggagctcc attgctgccc 1020
ctgctttatt tggctaccaa tatagctttc aacatatcat tgcttaattc agtaaaaaatt 1080
tcctctgcag tagtttctac tcttgctgca atggcatcag tgccaatttc aatttatggt 1140
cttagccttc cattgccata tctccacaa ggtgccagct tgagtcctt ttttctctt 1200
ggtggtgtga ttctcctgtt gggccttctt ctatacaaca tacctcagcc tgccaagcaa 1260
gccccttga 1269

```

<210> 20
 <211> 343
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa
 <400> 20

```

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

```


195 200 205
Ala Leu Phe Val Phe Leu Leu Pro Leu Leu Ser Asn Leu Lys Gly
210 215 220
Ile Lys Phe Ala Glu Leu Pro Ala Tyr Leu Asn Gly Gly Ala Glu Cys
225 230 235 240
Phe Leu Asn Val Asp Asp Ser Leu Ile Asp Cys Gly Gly Ala Pro Phe
245 250 255
Leu Pro Leu Leu Phe Ile Leu Val Asn Met Ala Phe Asn Ile Ala Leu
260 265 270
Leu Asn Leu Val Lys Leu Ser Ser Ala Leu Val Ala Ser Leu Thr Ala
275 280 285
Thr Ser Ala Val Pro Ile Ser Ile Tyr Ile Leu Ser Leu Pro Leu Pro
290 295 300
Tyr Ile Pro His Gly Ala Glu Leu Ser Ser Ser Phe Ile Leu Gly Gly
305 310 315 320
Val Val Leu Leu Met Gly Leu Ile Ile Tyr Asn Leu Pro Gln Ser Ser
325 330 335
Lys Lys Gln Ser Lys Ile Glu
340

<210> 21

<211> 1032

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<400> 21

atgagctcgt	cgccggcgat	cgccgcggcg	tggcgggcag	tgggtggcgt	ggccgtcgcc	60
aaccgcgtgc	tgtacaagct	cgcgctcgtg	ccgctcaagc	agtacccgtt	cttcctcgcc	120
cagctcacca	ccttcgggta	cgtcgcgctg	tacttctcga	tactctacgc	gaggtaccgc	180
gcgggggtgg	tgacggggga	catgctggcg	ctgccgaagc	gccggttggc	cgccatcggc	240
ttgctggagg	ccctcgggct	tgcggccggc	atgtctgcag	gagctatgct	tcctgggcct	300
gctattccta	tactgtccca	gtcattcctg	gtgtggcagc	ttatcttctc	tgcgctgctg	360
ttgggaagaa	cgtattcaat	gaggcaaadc	attggttgtt	tccttggttg	ttctggtgtg	420
attcttgctg	ttgcaagtgg	agcgaatgag	ggcgaatttc	tgtctgaagt	caagtttatt	480
tggctagcac	tgatggttgc	atcatcgaca	tttcaagcag	gtgcttcaat	tctgaaggaa	540
tctgttttca	ttgatggtgc	aaagcgtctt	aaggggaggc	gcccagatat	ctttgtgggtt	600
aattcgtttg	ggtcaggatt	tcaggctctc	tttgtctttc	ttcttctccc	acttctttct	660
aatttgaagg	gaataaagtt	tgctgagctt	cctgcttatt	taaattggtg	tgctgagtgc	720
ttcctaaatg	tcgatgatag	tctgattgat	tgtggaggag	ctccatttct	accattgctg	780
tttatattgg	tgaatatggc	cttcaatata	gcattgctca	atttggtgaa	gctgtcatct	840
gcgctgggtg	cttcgcttac	tgctacttca	gcagtgccaa	tatcaatcta	catactttca	900
cttcgcgttg	cctacatccc	tcattggcga	gagtttaagt	catctttcat	cctaggcggt	960
gtgggtattg	tgatggggct	gattatatat	aaccttccgc	aatcatcgaa	gaaacaatcc	1020
aagattgagt	ga					1032

<210> 22

<211> 495

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 22

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

Ser Ile Pro Val Arg Leu Cys Ala Phe Phe Leu Val Gly Gly Arg Ala
 130 135 140
 Arg Glu Leu Ala Phe Gln Ala Ser Trp Arg Leu Tyr Gln Gln His Gln
 145 150 155 160
 Gly Trp Leu Leu Glu Thr Tyr Leu Val Trp Gln Leu Leu Leu Ser Ala
 165 170 175
 Ile Phe Leu Lys Arg Arg Tyr Arg Ile Asn Glu Ile Thr Gly Cys Phe
 180 185 190
 Leu Val Thr Val Gly Val Ile Ile Thr Val Ala Ser Gly Ser Ser Ala
 195 200 205
 Gly Ala Ser Leu Lys Gly Thr Gly Ile Leu Trp Pro Leu Leu Met Ile
 210 215 220
 Ile Ser Phe Phe Leu Gln Ala Ala Asp Thr Val Leu Lys Glu Ile Ile
 225 230 235 240
 Phe Leu Asn Ala Ala Lys Lys Leu Lys Gly Gly Ser Val Asp Leu Phe
 245 250 255
 Val Val Asn Ser Tyr Gly Ser Ala Tyr Gln Ala Leu Phe Met Cys Leu
 260 265 270
 Leu Leu Pro Phe Leu Ser Lys Leu Trp Gly Val Pro Phe His Gln Leu
 275 280 285
 Pro Thr Tyr Ile Arg Asp Gly Thr Ala Cys Phe Leu Asn Met Gly Ser
 290 295 300
 Leu Ser Ser Gly Cys Glu Gly Ala Pro Leu Leu Pro Leu Leu Phe Val
 305 310 315 320
 Leu Val Asn Met Gly Phe Asn Ile Ser Leu Leu His Leu Leu Lys Ile
 325 330 335
 Ser Ser Ala Val Val Ser Ser Leu Ala Ser Thr Phe Ser Val Pro Leu
 340 345 350
 Ser Ile Tyr Ala Phe Thr Leu Pro Leu Pro Tyr Ile Gly Val Ala Ser
 355 360 365
 Thr Leu Pro Pro Gly Phe Val Ala Gly Ala Met Phe Leu Asp Gly Thr
 370 375 380
 Arg Thr Arg Glu Lys Arg Arg Ser Ile Ile Thr Thr Gly Met Lys Ser
 385 390 395 400
 Lys Asn Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asn Thr Asn Gly Ser His
 405 410 415
 Arg Arg Ile Thr Ala Ala Ala Ala Ile Asn Ile Ile Arg Thr Leu Leu
 420 425 430
 Ser Ile Leu Ala Ser Pro Ala Ala Val Asp Trp Thr Ala Ser Ser Gly
 435 440 445
 Arg Arg Leu Thr Gly Cys Ser Thr Leu Arg Cys Ser Ser Val Asp Leu
 450 455 460
 Trp Val Pro Ser Leu Gly Arg Arg Gly Phe Arg Trp Ser Pro Gly Val
 465 470 475 480
 Arg Gln Gly Gly His Asp Pro Asp Lys His Arg Val Met Gly Ile
 485 490 495

<210> 23

<211> 1488

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<400> 23

atggagctcc	tccctaccgt	gaggcggagg	gaggcgggtgc	gggcggcgca	cgtgcggcgg	60
atcgaggcgg	cggcgtggtt	gggggcgagg	agggcgaccc	ggaggaggga	tgcggcggcg	120
aggtgcgcgg	cggccgggga	ggtggtgggg	agcgcgcgtg	gggtcgggag	gagcgccggg	180
atggaggtgg	caatcgccac	cgcgggcggtc	gtggccatgg	gtacggggaa	ccgcgtcctc	240
tacaagctcg	cctcgtgcc	gctccgcgac	taccctttct	tcctcgccca	gctcgccacg	300
ttcggccttt	gcgatgggtg	cctggtgttg	ggggtccact	tgtctgggag	aataactgga	360
cgagattttt	tgcttgtaaa	tatctcaatt	cctgtacggc	tatgcgcttt	ttttctggtg	420
ggtggctcgag	ctcgtgagct	ggccttccag	gcctcttgga	ggctttatca	gcagcatcag	480
ggatggctgc	tggagacgta	tcttggttgg	cagcttcttt	tatctgotat	ttttttgaag	540
aggcgctata	gaataaatga	gataactgga	tgctttcttg	tgacgggttg	tgtaataata	600
actgtagcaa	gtggatctag	tgctggtgct	tcattaaaag	gtactggaat	tttggtggcca	660
ctgctcatga	taatatcggt	ctttctccaa	gccgctgata	cagtattgaa	ggagataata	720

```

tttctgaatg ctgccaagaa attgaagggt ggctcgggtg atctttttgt cgtcaactca 780
tatggctctg cttatcaagc tcttttcatg tgtctcttgt tgccattctt gtcaaagtta 840
tggggagtgc cattccatca actaccaaca tacatcagag atggcaccgc ctgctttctg 900
aacatgggat cactatcttc tggctgtgaa ggggcaccac tattaccact actatttgtg 960
ttggttaata tgggcttcaa tatatcactt ctacacttac taaagatttc ttcagcagtt 1020
gtatcttctc tggcctctac attttcagtt ccactgtcca tctacgcctt caccctaccg 1080
ttgccgtaca tcgggtgtggc gtctactctc cctcctgggt ttggttcagg cgccatgttt 1140
ctagacggga caagaaccag ggagaaaaga aggagcatca tcacgacggg gatgaagagc 1200
aagaatggcg gcggcgggcg tagcggcgcg aacaccaatg ggagccacag gaggatcacc 1260
gccgcggcg ccatcaacat catcaggagc ctcttggtcca tcttggcctc cctgcagct 1320
gttgactgga ctgcctcctc cggccggag ctcaccggtt gctccactct ccggtgttca 1380
tccgtcgact tgtgggtccc ttctctggga cgtcgaggat tcaggtggtc cccgggggtg 1440
cggcagggag gccatgaccc cgacaagcat cgcgtgatgg ggatctag 1488

```

<210> 24

<211> 531

<212> PRT

<213> *Oryza sativa*

<400> 24

```

Met Ala Ser Ser Thr Thr Thr Ala Pro Pro Val Ser Cys Arg Pro Ser
1          5          10          15
Thr Ala Arg Gly Arg Leu Leu Arg Leu Leu Pro Ala Asn Gly Pro Ala
20        25        30
Ala Ala Met Glu Leu Leu Pro Thr Val Arg Arg Arg Glu Ala Val Arg
35        40        45
Ala Ala His Val Arg Arg Ile Glu Ala Ala Ala Trp Leu Gly Ala Arg
50        55        60
Arg Ala Thr Arg Arg Glu Asp Ala Ala Ala Arg Cys Ala Ala Ala Gly
65        70        75        80
Glu Val Val Gly Ser Ala Ala Gly Val Gly Arg Ser Ala Gly Met Glu
85        90        95
Val Ala Ile Ala Thr Ala Ala Val Val Ala Met Gly Thr Gly Asn Arg
100       105       110
Val Leu Tyr Lys Leu Ala Leu Val Pro Leu Arg Asp Tyr Pro Phe Phe
115       120       125
Leu Ala Gln Leu Ala Thr Phe Gly Tyr Val Val Val Tyr Phe Ser Ile
130       135       140
Leu Tyr Leu Arg His Gln Ala Gly Ile Val Thr Asp Glu Met Leu Ser
145       150       155       160
Leu Pro Gln Lys Pro Phe Leu Ala Val Gly Leu Leu Glu Ala Leu Ser
165       170       175
Ala Ala Ser Gly Met Ala Ala Gly Ala Val Leu Ser Gly Ala Ser Ile
180       185       190
Pro Ile Leu Ser Gln Thr Tyr Leu Val Trp Gln Leu Leu Ser Ala
195       200       205
Ile Phe Leu Lys Arg Arg Tyr Arg Ile Asn Glu Ile Thr Gly Cys Phe
210       215       220
Leu Val Thr Val Gly Val Ile Ile Thr Val Ala Ser Gly Ser Ser Ala
225       230       235       240
Gly Ala Ser Leu Lys Gly Thr Gly Ile Leu Trp Pro Leu Leu Met Ile
245       250       255
Ile Ser Phe Phe Leu Gln Ala Ala Asp Thr Val Leu Lys Glu Ile Ile
260       265       270
Phe Leu Asn Ala Ala Lys Lys Leu Lys Gly Gly Ser Val Asp Leu Phe
275       280       285
Val Val Asn Ser Tyr Gly Ser Ala Tyr Gln Ala Leu Phe Met Cys Leu
290       295       300
Leu Leu Pro Phe Leu Ser Lys Leu Trp Gly Val Pro Phe His Gln Leu
305       310       315       320
Pro Thr Tyr Ile Arg Asp Gly Thr Ala Cys Phe Leu Asn Met Gly Ser
325       330       335
Leu Ser Ser Gly Cys Glu Gly Ala Pro Leu Leu Pro Leu Leu Phe Val
340       345       350
Leu Val Asn Met Gly Phe Asn Ile Ser Leu Leu His Leu Leu Lys Ile

```

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

<210> 25

<211> 1596

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<400> 25

atggcgctcgt cgacgacgac ggcgcccccc gtctcgtgcc gccctccac ggcgcggggg 60
 cggctgctcc gcctcctccc cggaacggg cggcggtg cgatggagct cctccctacc 120
 gtgagggcga gggagggcgt gcggggcgcg cagtgcggc ggatcgaggc ggcgggcgtg 180
 ttgggggcga ggagggcgac ccggagggag gatgcggcgg cgaggtgcgc ggcgggcggg 240
 gaggtggtgg ggagcgccgc tggggtcggg aggagcgccg ggatggaggt ggcaatcgcc 300
 accgcgcgcg tcgtggccat gggtacgggg aaccgcgtcc tctacaagct cgccctcgtg 360
 ccgctcccg actaccctt ctctctcgcc cagctcgcca cgttcggcta tgtggttgc 420
 tttttctga tcctgtatct tcgccatcaa gctggcattg tcaactgatga gatgctgtct 480
 ctaccacaaa aaccttttct ggctgtaggc ctcttgagg ctttatcagc agcatcaggg 540
 atggctgctg gagccgttct ttctggggct tcgatacaca tactgtcaca gacgtatctt 600
 gtttggcagc ttcttttata tgctattttt ttgaagaggc gctatagaat aaatgagata 660
 actggatgct ttcttgtgac ggttggtgta ataataactg tagcaagtgg atctagtgt 720
 ggtgcttcat taaaaggtag tggaattttg tggccactgc tcatgataat atcgttcttt 780
 ctccaagccg ctgatacagt attgaaggag ataattttc tgaatgctgc caagaaattg 840
 aagggtggct cggttgatct ttttgtcgct aactcatatg gctctgctta tcaagctctt 900
 ttcatgtgct tcttgttgc attcttgc aagttatggg gagtgcatt ccatcaacta 960
 ccaacatata tcagagatgg caccgcctgc tttctgaaca tgggatcact atcttctggc 1020
 tgtgaagggg caccactatt accactacta tttgtgttgg ttaatatggg cttcaatata 1080
 tcacttctac acttactaaa gatttcttca gcagttgtat cttctctggc ctctacattt 1140
 tcagttccac tgtccatcta cgccttcacc ctaccgttgc cgtacatcgg tgtggcgtct 1200
 actctcctc ctggctttgt tgcaggcgcc gtgttggggg atgccagtag agtttctaga 1260
 cgggacaaga accagggaga aaagaaggag catcatcacg acggggatga agagcaagaa 1320
 atggcgggcg cggcggtagc ggcggaaca ccaattgggg agccacaagg aggatcaccg 1380
 ccgcccgcgc catcaacatc atcaggacgc tcttgtccat cttggcctcc cctgcagctg 1440
 ttgactggac tgcctcctcc ggccggagge tcaccggttg ctccactctc cgggtgtcat 1500
 ccgtcgactt gtgggtccct tctctgggag gtcgaggatt caggtgggtc ccgggggtgc 1560
 ggcagggagg ccatgacccc gacaagcatc ggggtga 1596

<210> 26

<211> 276

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 26

Met Leu Ser Val Pro Lys Ser Pro Phe Leu Ile Val Gly Ile Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Ala Ala Ala Ala Gly Met Ala Ala Ala Ala Asn Leu Ser Gly

[illegible]

<210> 27

$\langle 211 \rangle$	83
-----------------------	----

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 27

atgctctcgg	tgccaaaatc	tccatttttta	attggttgga	tcttagaggc	tctagctgca	60
gctgctggca	tggcagccgc	agcgaatctt	tcggggccat	caacgacagt	tttatctcag	120
cgtaaaccaa	atactcggat	gtactcttgt	agctctcggg	gtaatcgtea	gtgtggcaag	180
gttagatctg	cttttgta	tatcttttgt	ggatcagggtg	ctgctcattc	attgaatgaa	240
gccggagtat	tatggattct	tctaattggt	ctctctttct	tgcttcaagg	agcaggtaca	300
gtattgaagg	aagtcatctt	tatagatagc	caaagacgat	taaaggggtc	ttcactcgat	360
ctatttatag	taaattcata	tgggtcagct	ttccaagcca	tctgcattgc	gttgcttctt	420
ccatttcttt	caaaactttg	gggcataccg	tttaaccaac	tcggtaccta	ccataaagat	480
ggtgcggttt	gttttctcaa	caatgggaca	ataacaaaag	gatgtgatgg	ggctccgttt	540
ttgcctctgt	tgtttgtgat	aatgaacatt	ggctataaca	ttgctctttt	aagactcctc	600
aagatttcat	ccgcggtggt	ttcatgtctt	gcatacaacg	tctcagtgcc	aattgcagtg	660
tttctgttca	caatgccatt	accgtacctt	ggagttgcatt	catcactacc	aaaagggttc	720
atgggaggaa	caatcatact	tgtattggga	atgattcttt	atagttggac	accacacgga	780
gctaactctt	ctcatactga	ttcagtcatt	ccttcacctc	ctccaacata	g	831

<210> 28

<211> 447

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

 $\langle 220 \rangle$

<221> misc feature

$$\langle 222 \rangle \quad (345) \dots (345)$$

<223> Xaa pode ser qualquer aminoácido ocorrendo naturalmente

 $\langle 220 \rangle$

<221> misc feature

$$\langle 222 \rangle \quad (445) \dots (445)$$

<223> Xaa pode ser qualquer aminoácido ocorrendo naturalmente
 <400> 28
 Met Ala Thr Thr Ser Ser Asp Arg Leu Ile Ala Gly Leu Thr Ala Ser
 1 5 10 15
 Ile Gly Ser Ile Glu Ser Arg Tyr Ala Asn Pro Ala Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Leu Ile Cys Arg Asn Gln Ile Asn Gly Ala Pro Pro Ile Val Leu Arg
 35 40 45
 Ser Ser Arg Arg Ser Arg Leu Trp Leu Ile Glu Ala Ile Pro Pro Ala
 50 55 60
 Lys Ser Trp Asn Gly Ser Asn Asp Gly Asp Glu Asp Ile Lys Lys Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Arg Asn Tyr Ala Ile Gly Gly Thr Gly Gly His Ala Val Ala
 85 90 95
 Gly Lys Asp Asp Arg Thr Met Glu Ile Val Ile Ala Ala Ala Thr Thr
 100 105 110
 Ala Ala Leu Gly Val Gly Asn Arg Val Leu Tyr Lys Leu Ala Leu Ile
 115 120 125
 Pro Leu Lys Gln Tyr Pro Phe Phe Leu Ala Gln Leu Ser Thr Phe Gly
 130 135 140
 Tyr Val Ala Val Tyr Phe Ser Ile Leu Tyr Phe Arg Tyr Arg Ala Gly
 145 150 155 160
 Ile Val Thr Lys Glu Met Leu Ser Val Pro Lys Leu Pro Phe Leu Ile
 165 170 175
 Val Gly Val Leu Glu Ser Leu Ala Leu Ala Ala Gly Met Ala Ala Ala
 180 185 190
 Ser Asn Leu Ser Gly Pro Ser Thr Thr Val Leu Ser Gln Thr Phe Leu
 195 200 205
 Val Trp Gln Ile Leu Phe Ser Ile Ile Phe Leu Gly Arg Arg Tyr Arg
 210 215 220
 Ile Asn Gln Ile Leu Gly Cys Thr Leu Val Ala Phe Gly Val Ile Val
 225 230 235 240
 Ser Val Ala Ser Gly Ser Gly Ala Ala His Ser Phe Lys Asp Thr Gly
 245 250 255
 Ile Leu Trp Ser Leu Leu Met Val Phe Ser Phe Leu Leu Gln Gly Ala
 260 265 270
 Asp Thr Val Met Lys Glu Val Ile Phe Leu Asp Ser Lys Lys Arg Leu
 275 280 285
 Lys Gly Ala Ser Leu Asp Leu Phe Val Val Asn Ser Tyr Gly Ser Ile
 290 295 300
 Phe Gln Val Ile Cys Ile Ala Leu Leu Leu Pro Phe Leu Ser Lys Leu
 305 310 315 320
 Trp Gly Ile Pro Phe Asn Gln Leu Pro Ser Tyr Ile Arg Asp Gly Gly
 325 330 335
 Ala Cys Phe Leu Asn Ile Gly Ser Xaa Ile Thr Gly Cys Glu Gly Ala
 340 345 350
 Pro Leu Leu Pro Val Met Phe Val Met Met Asn Met Ala Tyr Asn Ile
 355 360 365
 Ser Leu Leu Arg Leu Ile Lys Ile Ser Ser Ala Val Val Ser Ser Leu
 370 375 380
 Ala Ser Thr Val Ser Val Pro Ile Ala Val Tyr Cys Phe Thr Leu Pro
 385 390 395 400
 Leu Pro Tyr Leu Gly Val Ala Ser Thr Leu Pro Arg Gly Phe Val Ala
 405 410 415
 Gly Thr Ile Ile Leu Val Val Gly Met Leu Leu Tyr Ala Trp Thr Pro
 420 425 430
 Ser Thr Asn Thr Ser Asp Ser Ile Ile Pro Ser Pro Xaa Ser Thr
 435 440 445
 <210> 29
 <211> 1344
 <212> DNA
 <213> Arabidopsis thaliana
 <400> 29

atggcaacaa	cgagctccga	ccggttaatc	gccggtttaa	cggcgtcgat	cggctcaatc	60
gaatctcggt	acgcaaatac	agctcaatcc	gtttctctaa	tctgtcgaaa	tcaaataaat	120
ggcgacccgc	ctatcgctct	gcggtccctc	cgaagggtcca	ggctgtgggt	aatcgaggcg	180
attcctccgg	caaagtcctg	gaacggatct	aacgatggcg	acgaagatat	caagaagtca	240
gacactcgta	attacgcgat	cggtggaacc	ggtgggtcacg	cggtcgcccg	aaaagatgac	300
agaacgatgg	agatagtaat	agcmgcggcg	accacggcg	cgctgggtgt	cgggaatcgc	360
gtactgtata	agctggctct	tattcctctc	aagcaataatc	ccttcttctc	cgcgcaactc	420
tccacattcg	ggtatgtagc	tgtatacttt	tcgattttgt	atttcagata	ccgagctgga	480
attggttacia	aagagatgct	atcagttoca	aaacttccat	ttttaattgt	tggcgtcttg	540
gagtctcttg	ctctagctgc	tgggatggcg	gccgcatcaa	atctttctgg	accatctact	600
acagttttat	ctcagacatt	tottgtctgg	caaattcttt	tctccattat	atttctcggg	660
aggagatata	gaataaatca	aatattggga	tgtactcttg	tagcatttgg	tgtaatcgtc	720
agtgtagcaa	gtgggtcggg	tgccgctcat	tcattttaaag	atacaggaat	actttggagt	780
cttcttatgg	tgttttcttt	tctgcttcaa	ggagcagata	cagtaatgaa	ggaagtcac	840
tttctagata	gcaaaaagcg	attgaagggt	gcttcacttg	atttgtttgt	tgtaaactca	900
tatggttcaa	ttttccaagt	catatgcatt	gcgttgcttc	ttccttttct	ttcaaagctt	960
tggggcatac	cgtttaacca	actaccgagc	tatatcagag	acgggggtgc	ttgctttcta	1020
aatattgggt	ckrgaataac	aggatgcgaa	ggggctcccc	ttcttctgt	aatgtttgtc	1080
atgatgaaca	tggcttataa	catctctctt	ctacgcctca	tcaagatttc	atctgcagtt	1140
gtgtcgtctc	tggcatccac	cgtttcagtg	cccatagcgg	tgtactgttt	cacgcttccc	1200
ctaccatacc	ttgggggtggc	atctacacta	ccaagggggt	ttgttgagg	cacaatcatc	1260
cttgtagtcg	gcatgcttct	atatgcttgg	acaccatcta	ctaacacttc	cgattcaatt	1320
atccccctcac	cccbatccac	atag				1344