



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 317 652**

(51) Int. Cl.:

C07K 14/415 (2006.01)

C12N 15/29 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **97933789 .6**

(96) Fecha de presentación : **29.07.1997**

(97) Número de publicación de la solicitud: **0917536**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.1999**

(54) Título: **Polinucleótido y su utilización para modular una respuesta de defensa en las plantas.**

(30) Prioridad: **29.07.1996 GB 9615879**
30.10.1996 GB 9622626
07.03.1997 GB 9704789

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2009

(73) Titular/es: **KEYGENE N.V.**
Agrobusiness Park 90
6798 PW Wageningen, NL

(72) Inventor/es: **Schulze-Lefert, Paul, Maria, Josef;**
Panstruga, Ralph;
Büschges, Rainer;
Simons; Augustinus, F.M.;
Groenendijk, Johannes, S. y
Van der Lee, Theodoor, A.J.

(74) Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 317 652 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Polinucleótido y su utilización para modular una respuesta de defensa en las plantas.

5 La presente invención se refiere a la estimulación de una respuesta de defensa en las plantas, con objeto de proporcionar a las plantas una mejorada resistencia al agente patógeno. Más específicamente, ha resultado a partir de la clonación del gen *Mlo* de la cebada, de los diversos alelos *mlo* mutantes, y de un número de homólogos de diferentes especies. El gen *Mlo* se ha aislado utilizando un enfoque de clonación posicional que nunca se ha logrado previamente con la cebada. Los detalles y el debate se proporcionan a continuación. El *Mlo* en estado natural ejerce una
10 función reguladora negativa en una respuesta de defensa al agente patógeno, de manera que los mutantes exhiben una respuesta de defensa en la ausencia de agente patógeno. Según la presente invención, se puede utilizar la regulación por disminución o la eliminación por competencia de la función *Mlo* para estimular una respuesta de defensa en las plantas transgénicas, que confiere una resistencia creciente al agente patógeno.

15 Las mutaciones se han descrito en diversas plantas en las que las respuestas de defensa a los agentes patógenos aparecen para expresarse constitutivamente. Los alelos recesivos de mutación inducida (*mlo*) del locus *Mlo* de la cebada exponen un fenotipo de lesión de hoja y confieren una resistencia de amplio espectro, aparentemente durable, al agente patógeno oidio, *Erysiphe graminis* f sp *hordei*.

20 Las respuestas de la resistencia al agente patógeno oidio han estado genéticamente bien caracterizadas (Wiberg, 1974; Sogaard y Jørgensen, 1988; Jørgensen, 1994). En la mayoría de los casos analizados la resistencia se especifica por los genes de resistencia raza-específica siguiendo las reglas de la hipótesis del gen a gen de Flor (Flor, 1971). En este tipo de interacción planta/agente patógeno, la resistencia se especifica por medio de y dependiendo de la presencia de dos genes complementarios, uno del huésped y uno del agente patógeno fúngico. Los genes complementarios se
25 han llamado operativamente (agente patógeno) gen resistencia ("R") y gen virulencia, respectivamente. La mayor parte de los genes de resistencia al oidio (*MLx*) actúan con rasgos dominantes o semidominantes (Jørgensen, 1994).

La resistencia monogénica lograda mediante los alelos recesivos (*Mlo*) del locus *Mlo* es diferente. Aparte de ser recesiva, difiere desde la resistencia raza-específica hasta una sola cepa del agente patógeno en que (i) confiere
30 resistencia de amplio espectro a casi todos los aislados conocidos del agente patógeno, (ii) los alelos de resistencia *Mlo* se han obtenido mediante tratamiento mutágeno de cualquier variedad en estado natural (*Mlo*) susceptible probada, y (iii) los alelos de resistencia *Mlo* exhiben un fenotipo mímico de defensa en ausencia del agente patógeno (Wolter *et al.*, 1993). De este modo, los datos genéticos indican que el alelo *Mlo* en estado natural ejerce una función reguladora negativa en las respuestas de defensa al ataque del agente patógeno.

35 La resistencia mediada por los alelos *Mlo* es actualmente utilizada ampliamente en el cultivo de la cebada y unos 10 millones de hectáreas estimadas se plantan anualmente en Europa con las semillas de este genotipo. Una resistencia al oidio heredada semejante al *mlo* en otras plantas del cereal no se ha divulgado hasta ahora aunque el hongo sea un patógeno relevante en el trigo (atacado por la *Erysiphe graminis* f sp *tritici*), la avena (atacada por la *Erysiphe graminis* f sp *avenae*), y el centeno (atacado por la *Erysiphe graminis* f sp *secalis*). Dado que los cereales se relacionan altamente morfológicamente, genéticamente y bioquímicamente entre sí (Moore *et al.*, 1995), uno predeciría la existencia de genes homólogos en estas especies. El hecho de no haber encontrado una resistencia semejante al *mlo* en el trigo ni en la avena es debido probablemente a sus genomas hexaploides, que hace difícil obtener por mutagénesis los alelos defectuosos en las seis copias del gen, y la ocasión de que todas las mutaciones tengan lugar en la naturaleza es remota.
45 El hecho de no haber encontrado un *mlo* equivalente en otros cereales es debido probablemente a la insignificante cantidad de análisis mutacional en estas especies y las complicaciones como resultado de su naturaleza outbreeding (por ejemplo, el centeno).

Los marcadores RFLP enlazados de cerca al *Mlo* en el cromosoma 4 de la cebada se identificaron previamente
50 partiendo de la base de una línea de colecciones de retrocruzamiento del *mlo* que contenía alelos *mlo* a partir de seis fondos genéticos (Hinze *et al.*, 1991). La posición del mapa de *Mlo* partiendo de la base de los marcadores RFLP concordaba con su localización cromosómica tal y como se determinó mediante un trazado anterior con los marcadores morfológicos (Jørgensen, 1977).

55 Teniendo identificado un intervalo genético de ~3 cM que contiene *Mlo* limitado con marcadores genéticos, decidimos intentar aislar el gen por medio de la clonación posicional.

Sin embargo, no existe ejemplo documentado de una tentativa positiva de la clonación posicional de un gen de la cebada. Tuvimos que hacer frente a un número de dificultades.

60 En primer lugar, el genoma de la cebada (5,3 x 10⁹ pb/haploide de equivalente del genoma; Bennett y Smith, 1991) tiene casi el doble de tamaño del genoma humano y dado que el mapa genético total cubre ~1,800 cM (Becker *et al.*, 1995) nos enfrentamos con un ratio muy desfavorable de distancias genéticas y físicas (1 cM se corresponde con ~3 Mb).

65 En segundo lugar, se tuvo que construir un mapa genético de alta resolución alrededor del *Mlo* permitiendo la colocación de marcadores ligados con una precisión superior a 0,1 cM.

En tercer lugar, nos propusimos delimitar físicamente el gen objetivo y ambos marcadores flanqueantes del ADN en clones genómicos individuales de insertos grandes, un procedimiento calificado más adelante como “aterri-
 5 precedente.” (Tanksley *et al.*, 1995). Con este propósito, una completa biblioteca de YAC de la cebada del ADN de la Megabase de la cebada se tuvo que construir con un tamaño medio de insertos de 500 - 600 kb, que no tenía

En cuarto lugar, tuvimos que preparar herramientas genéticas inusuales que nos permitieron identificar el gen *Mlo* dentro de una región delimitada físicamente sin la necesidad de una generación arrolladora de tiempo de plantas
 10 transgénicas de la cebada y de pruebas con diversos genes del candidato. Utilizamos para nuestros estudios diez
 10 mutantes *mlo* inducidos mediante radiación o químicamente (Jørgensen, 1992). Para una cadena concluyente de la
 10 evidencia del aislamiento del gen decidíamos depender de una restauración funcional del alelo *Mlo* en estado natural
 10 que partía de los alelos *mlo* defectuosos caracterizados. Con este fin, realizamos cruzamientos heteroalélicos de *mlo* y
 10 aislamos recombinantes *Mlo* intragénicos susceptibles. El análisis de la secuencia de éstos prueba la función del gen
 10 descrito.

La clonación del gen *Mlo* de la cebada y sus homólogos, incluyendo los homólogos de otras especies de plantas,
 15 da lugar a un número de prácticas aplicaciones, reflejadas en los diversos aspectos de la presente invención.

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un polinucleótido aislado según lo precisado en
 20 la Reivindicación 1. Una molécula de ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica un
 20 péptido con la función *Mlo*. Los expertos en la técnica apreciarán que la “Función *Mlo*” se refiere a la capacidad de
 20 reprimir una respuesta de defensa, siendo dicha respuesta de defensa independiente de la raza y/o el agente patógeno
 20 y siendo autónoma de la presencia de un agente patógeno tal como, por ejemplo, el gen *Mlo* de la cebada, el gen *Acd*
 20 y el gen *Lsd* de la *Arabidopsis*.

Las mutaciones *mlo* que regulan por disminución o interrumpen la expresión funcional de la secuencia *Mlo* en
 25 estado natural son recesivas, de tal manera que son complementados por la expresión de una secuencia en estado
 25 natural. De este modo, la “función *Mlo*” se puede determinar calculando el nivel de respuesta de defensa constitutiva
 25 y/o la susceptibilidad de la planta a un agente patógeno tal como, por ejemplo, el oidio o la roya (por ejemplo, la
 30 roya amarilla). Por consiguiente, una posible secuencia de nucleótidos con la función *Mlo* se puede probar sobre
 30 la complementación de un mutante *mlo* adecuado. El término “función *mlo*” se utiliza para hacer referencia a las
 30 secuencias que confieren un fenotipo de mutante *mlo* en una planta.

La capitalización de “*Mlo*” y la no capitalización de “*mlo*” se utilizan de este modo para distinguir entre la función
 35 “en estado natural” y la función “mutante”.

Un fenotipo del mutante *mlo* se caracteriza por la exposición de una creciente resistencia contra uno o más agentes
 patógenos, que es independiente de la raza y/o el agente patógeno y es autónoma de la presencia de un agente patógeno.

La planta de prueba puede ser monocotiledónea o dicotiledónea. Las monocotiledóneas adecuadas incluyen a cual-
 40 quiera de la cebada, el arroz, el trigo, el maíz o la avena, particularmente de la cebada. Las dicotiledóneas adecuadas
 40 incluyen a la *Arabidopsis*.

El ácido nucleico puede codificar un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada en la
 45 Figura 2, o un alelo, variante, derivado o mutante, o un homólogo, del mismo.

El ácido nucleico puede tener la secuencia de un gen *Mlo* de la cebada, o ser un mutante, variante (o derivado)
 o alelo de la secuencia proporcionada, o un homólogo del mismo. Los mutantes, variantes y alelos preferidos son
 50 los que codifican una secuencia que conserve una característica funcional del gen en estado natural, especialmente la
 50 capacidad de suprimir una respuesta de defensa según lo discutido en la presente invención. Otros mutantes, variantes
 50 y alelos preferidos codifican una secuencia que, en un homocigoto, provocan la activación constitutiva de una respuesta
 50 de defensa, o al menos promueven la activación de una respuesta de defensa (es decir, es una secuencia del mutante
 50 *mlo*), por ejemplo, reduciendo o suprimiendo por completo o en parte la función *Mlo*. Las mutaciones preferidas que
 55 dan secuencias del mutante *mlo* se representan en la Tabla 1. Los cambios de una secuencia, para producir un mutante,
 55 derivado o variante, pueden ser tanto por la adición, como por la inserción, la cancelación o la sustitución de uno o
 55 más nucleótidos en el ácido nucleico, llevando a la adición, la inserción, la cancelación y/o la sustitución de uno
 55 o más aminoácidos. Por supuesto, se incluyen los cambios al ácido nucleico que no hace diferenciar a la secuencia
 55 de aminoácidos codificada. Las variantes, los mutantes, los alelos y los derivados particulares se discuten además a
 55 continuación, así como sus homólogos.

Una secuencia preferida de ácido nucleico según un aspecto de la presente invención se representa en la Figura 2
 junto con la secuencia de aminoácidos prevista. El ácido nucleico puede estar sometido a alteración por la sustitución
 60 de nucleótidos y/o una combinación de adición, inserción y/o sustitución de uno o más nucleótidos con o sin la
 60 alteración de la secuencia de aminoácidos codificada (en virtud de la degeneración del código genético).

Tal y como se discute posteriormente, los homólogos de la secuencia *Mlo* representados en la Figura 2, pueden
 incluir desde el arroz (secuencia genómica en la Figura 5, resultado final, secuencia ADNc en la Figura 10, secuencia
 de aminoácidos en la Figura 13) y la cebada (secuencia genómica en la Figura 6, resultado final, secuencia ADNc en

la Figura 11, secuencia de aminoácidos en la Figura 14); también la Tabla 5B (secuencias de nucleótido) y la Figura 5A (secuencias de aminoácido) representan los homólogos de las EST del arroz y la *Arabidopsis*.

Un vector puede comprender el ácido nucleico con cualquiera de las secuencias proporcionadas, preferentemente un vector del que un producto se pueda expresar. El vector es preferentemente adecuado para la transformación en una célula de planta y/o una célula microbiana. La presente invención engloba además una célula huésped transformada con dicho vector, especialmente una célula de planta o una célula microbiana (por ejemplo, la *Agrobacterium tumefaciens*). De este modo, se proporciona una célula huésped, tal como una célula de planta, que comprende ácido nucleico. Dentro de la célula, el ácido nucleico se puede incorporar dentro del genoma nuclear, es decir, un cromosoma. Puede haber más de una secuencia de nucleótidos heteróloga por el genoma haploide.

Un vector que comprende ácido nucleico no necesita incluir a un promotor, particularmente si el vector va a ser utilizado para introducir el ácido nucleico en las células para la recombinación en el genoma.

Las moléculas y los vectores del ácido nucleico se pueden proporcionar en forma aislada y/o purificada de su ambiente natural, en forma substancialmente pura u homogénea, o libre o substancialmente libre de ácido nucleico o genes de la especie de interés u origen diferente de la secuencia relevante. El ácido nucleico puede comprender el ADNc, el ARN, el ADN genómico y puede ser totalmente o parcialmente sintético. El término “aislado” puede englobar todas estas posibilidades.

El producto de la expresión de cualquiera de las secuencias de ácido nucleico descritas se puede producir por la expresión desde la codificación, por lo tanto, de ácido nucleico en condiciones adecuadas en las células huésped adecuadamente, por ejemplo, la *E. coli*. Los expertos en la técnica pueden ser bien capaces de construir vectores y diseñar protocolos para la expresión y la recuperación de productos de la expresión del gen recombinante. Los vectores adecuados se pueden elegir o construir, conteniendo una o más secuencias reguladoras apropiadas, incluyendo secuencias del promotor, fragmentos del terminador, secuencias de poliadenilación, secuencias intensificadoras, genes del marcador y otras secuencias también apropiadas. Para detalles adicionales véase, por ejemplo, Molecular Cloning: a Laboratory Manual: 2ª edición, Sambrook *et al*, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Los procedimientos de transformación dependen del huésped utilizado, pero son bien conocidos. Muchas técnicas y protocolos conocidos para la manipulación de ácido nucleico, por ejemplo en la preparación de las construcciones de ácido nucleico, mutagénesis, secuenciación, introducción de ADN en las células y la expresión génica, y el análisis de proteínas, se describen detalladamente en Short Protocols in Molecular Biology, Segunda Edición, Ausubel *et al*. eds., John Wiley & Sons, 1992.

La proteína *Mlo* purificada, o un fragmento, un mutante o una variante de la misma, por ejemplo producida recombinantemente por la expresión de la codificación por lo tanto de ácido nucleico, se pueden utilizar para elevar los anticuerpos que emplean las técnicas que son estándar en la técnica. Se pueden utilizar anticuerpos y polipéptidos que comprenden los fragmentos de unión al antígeno de los anticuerpos en la identificación de homólogos de otras especies tal y como se discute además posteriormente.

Los procedimientos de producción de anticuerpos incluyen la inmunización de un mamífero (por ejemplo, de ser humano, ratón, rata, conejo, caballo, cabra, oveja o mono) con la proteína o un fragmento de la misma. Los anticuerpos se pueden obtener a partir de animales inmunizados utilizando cualquiera de una variedad de técnicas conocidas en la técnica, y pudieron ser cribados, preferentemente utilizando la unión del anticuerpo al antígeno de interés. Por ejemplo, se pueden utilizar las técnicas de Western-Blot o la inmunoprecipitación (Armitage *et al*, 1992, Nature 357: 80-82). Los anticuerpos pueden ser policlonales o monoclonales.

Como una alternativa o un suplemento para inmunizar a un mamífero, los anticuerpos con especificidad en la unión apropiada se pueden obtener a partir de una biblioteca producida recombinantemente de los dominios variables expresados de la inmunoglobulina, por ejemplo, utilizando el bacteriófago lambda o el bacteriófago filamentoso que exponen dominios de unión de la inmunoglobulina funcional en sus superficies; véase, por ejemplo, la patente WO92/01047.

Se pueden utilizar los anticuerpos elevados hasta un polipéptido o un péptido en la identificación y/o el aislamiento de polipéptidos homólogos, y después en la codificación de genes. Un procedimiento de identificar o aislar un polipéptido con función *Mlo* o función *mlo* puede comprender el cribaje de los péptidos o los polipéptidos del candidato con un polipéptido que comprende el dominio de unión al antígeno de un anticuerpo (por ejemplo, todo el anticuerpo o un fragmento del mismo) que es capaz de unir un péptido o un polipéptido *Mlo* o *mlo*, o fragmento, variante o variante del mismo o preferentemente tiene la especificidad de unión para dicho péptido o polipéptido, tal como tener una secuencia de aminoácidos identificada en la presente invención. Los miembros de unión específicos, tales como los anticuerpos y los polipéptidos, pueden comprender los dominios de unión al antígeno de los anticuerpos que unen y son preferentemente específicos para un péptido o polipéptido *Mlo* o *mlo* o un mutante, una variante o un derivado del mismo.

Los péptidos o los polipéptidos del candidato para el cribaje pueden ser, por ejemplo, los productos de una biblioteca de expresión creada utilizando el ácido nucleico derivado de una planta de interés, o pueden ser el producto de un proceso de purificación de una fuente natural.

Un péptido o un polipéptido encontrado para unir el anticuerpo se puede aislar y entonces puede estar sometido a la secuenciación de aminoácidos. Se puede utilizar cualquier técnica adecuada para secuenciar el péptido o el polipéptido tanto de manera total como de manera parcial (por ejemplo, se puede secuenciar un fragmento de un polipéptido). Se puede utilizar la información de la secuencia de aminoácidos en la obtención del ácido nucleico que codifica el péptido o el polipéptido, por ejemplo diseñando uno o más oligonucleótidos (por ejemplo, una fuente degenerada de oligonucleótidos) para utilizar como sondas o cebadores en la hibridación en el ácido nucleico del candidato, o buscando bases de datos de secuencias por ordenador, según se discute además posteriormente.

Un procedimiento para identificar y clonar homólogos *Mlo* de plantas, incluyendo especies diferentes a la cebada, puede emplear una secuencia de nucleótidos derivada de la demostrada en la Figura 2 o una secuencia de nucleótidos derivada de cualquiera de las otras figuras proporcionadas en la presente invención. Las bibliotecas de ácido nucleico se pueden cribar utilizando técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica y las secuencias homólogas identificadas de tal modo probadas después. La disposición de la información de la secuencia para el gen *Mlo* de la Cebada y de los diversos homólogos permite la obtención de secuencias homólogas de la cebada y de otras especies de plantas, según lo ejemplificado además en la presente invención.

También, uno puede derivar fácilmente los cebadores de la PCR basados en las posibles secuencias del exón, que se pudieron identificar por comparación con la secuencia *Mlo* proporcionada en la Figura 2 en donde se destacan los exones, y se realizan RT-PCR con ARN total de la planta del interés, por ejemplo, cebada y arroz para los homólogos representados en las Figuras 5 y 6, con las secuencias de ADNc y aminoácido representadas en otras figuras de la presente invención.

El ácido nucleico puede codificar un homólogo *Mlo* obtenido utilizando una secuencia de nucleótidos derivada de la representada en la Figura 2, o la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 2. Preferentemente, la secuencia de nucleótidos y/o la secuencia de aminoácidos comparte homología con la secuencia codificada por la secuencia de nucleótidos de la Figura 2, preferentemente al menos aproximadamente al 50%, o al menos aproximadamente al 55%, o al menos aproximadamente al 60%, o al menos aproximadamente al 65%, o al menos aproximadamente al 70%, o al menos aproximadamente al 75%, o al menos aproximadamente al 80% de homología, o al menos aproximadamente al 85% de homología, o al menos aproximadamente al 90% de homología, más preferentemente al menos aproximadamente al 95% de homología. Se puede utilizar la "homología" en relación con una secuencia de aminoácidos para referirse a la identidad o a la similitud, preferentemente la identidad. Los elevados niveles de identidad de aminoácido se pueden limitar a los dominios o las regiones funcionalmente significativos.

Una secuencia de aminoácidos mutante, alelo, variante o derivado puede incluir dentro de la secuencia representada en la Figura 2, un solo cambio de aminoácido con respecto a la secuencia representada en las Figuras 2, ó 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 cambios, aproximadamente 10, 15, 20, 30, 40 ó 50 cambios, o superior a aproximadamente 50, 60, 70, 80 ó 90 cambios. Además, hasta uno o más cambios dentro de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 2, una secuencia de aminoácidos mutante, alelo, variante o derivado puede incluir los aminoácidos adicionales en el C Terminal y/o el N terminal.

Tal y como bien se sobreentiende, la homología en el nivel de aminoácido se encuentra generalmente en términos de similitud o identidad del aminoácido. La similitud tiene en cuenta la "variación conservadora", es decir, la substitución de un residuo hidrofóbico tal como la isoleucina, la valina, la leucina o la metionina, por otro, o la substitución de un residuo polar por otro, tales como la arginina por la lisina, el ácido glutámico por el ácido aspártico, o la glutamina por la asparagina. La similitud se puede encontrar según lo definido y determinado por el programa TBLASTN, de Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10, que es de uso común en la técnica o, y si se pueden preferir, el programa estándar BestFit, que forma parte del Wisconsin Package, Versión 8, de septiembre de 1994 (Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA, Wisconsin 53711). El programa BestFit realiza una alineación óptima del mejor segmento de la similitud entre dos secuencias. Las alineaciones óptimas se encuentran insertando espacios para maximizar el número de coincidencias utilizando el algoritmo de homología local de Smith y Waterman.

La homología se puede encontrar sobre la longitud total de la secuencia relevante representada en la presente invención, o preferentemente se puede encontrar sobre una secuencia contigua de aproximadamente o superior a aproximadamente 20, 25, 30, 33, 40, 50, 67, 133, 167, 200, 233, 267, 300, 333, 400, 450, 500, 550, 600 o más aminoácidos o codones, comparados con la secuencia de aminoácidos relevante o la secuencia de nucleótidos según las circunstancias.

Las secuencias EST proporcionadas en la presente invención, tienen en promedio una similitud del 70% y una identidad del 50% con la secuencia *Mlo* de aminoácidos de la Figura 2. Con ello demostramos que el homólogo del arroz (Figura 5) y el homólogo de la cebada (Figura 6) tiene una identidad de aminoácido del 81% (secuencias de aminoácido representadas en la Figura 13 y la Figura 14).

Un alelo, variante, derivado, mutante u homólogo de la secuencia específica pueden demostrar poca homología total, se dice que aproximadamente el 20%, o aproximadamente el 25%, o aproximadamente el 30%, o aproximadamente el 35%, o aproximadamente el 40% o aproximadamente el 45%, con la secuencia específica. Sin embargo, en dominios o regiones funcionalmente significativos la homología del aminoácido puede ser mucho más alta. Los posibles dominios o las regiones funcionalmente significativos se pueden identificar utilizando procesos bioinformáticos,

que incluyen la comparación de las secuencias de homólogos. Los dominios o las regiones funcionalmente significativos de diferentes polipéptidos se pueden combinar para la expresión de la codificación del ácido nucleico como una proteína de fusión. Por ejemplo, se pueden combinar en una proteína híbrida las propiedades particularmente ventajosas o deseables de diferentes homólogos, de forma que el producto de la expresión resultante, con la función *Mlo* o la función *mlo*, puede comprender fragmentos de diversas proteínas parentales.

La información de la secuencia de nucleótidos proporcionada en la presente invención, o en cualquier parte de la misma, se puede utilizar en un buscador de base de datos para encontrar las secuencias homólogas, cuyos productos de expresión se pueden probar para la función *Mlo* y la función *mlo*. Ello puede tener la capacidad de complementar el fenotipo mutante *mlo* en una planta o puede, en la expresión una planta, conferir un fenotipo *mlo*.

En las bases de datos públicas de secuencias identificamos recientemente diversos homólogos para la secuencia de la Figura 2. Ya hemos encontrado homologías en el arroz y en la cebada, y en la dicotiledónea *Arabidopsis*.

Mediante la secuenciación de las homologías, el estudio de sus patrones de expresión y el examen del efecto de la alteración de su expresión, se pueden conseguir que los genes lleven a cabo una función similar al *Mlo* en la cebada.

La homología entre los homólogos tal y como se describe en la presente invención, se puede explotar en la identificación de homólogos adicionales, por ejemplo, utilizando oligonucleótidos (por ejemplo, una fuente degenerada) diseñada partiendo de la base de la conservación de la secuencia.

Un procedimiento de identificación o un procedimiento de clonación de un homólogo *Mlo*, por ejemplo, a partir de una especie diferente a la cebada, puede emplear una secuencia de nucleótidos derivada de la representada en la Figura 2 o la representada en cualquiera de las otras Figuras de la presente invención. Por ejemplo, dicho procedimiento puede emplear un oligonucleótido o oligonucleótidos que comprende o comprenden una secuencia o secuencias que se conservan entre las secuencias de las Figuras 2 y/o 5 y/o 6 y/o 10 y/o 11 y/o 12, o codificando una secuencia de aminoácidos conservada entre las de la Figura 2 y/o 7 y/o 13 y/o 14 y/o 15 para buscar a los homólogos. De este modo, se proporciona un procedimiento de obtención de ácido nucleico, que comprende la hibridación de un oligonucleótido o una molécula de ácido nucleico que comprende dicho oligonucleótido al ácido nucleico objetivo/candidato. El ácido nucleico objetivo o candidato puede comprender, por ejemplo, una biblioteca genómica o de ADNc obtenible a partir de un organismo conocido para contener o sospechar que contiene dicho ácido nucleico, monocotiledóneo o dicotiledóneo. La hibridación lograda se puede identificar y se puede aislar el ácido nucleico objetivo/candidato para una investigación y/o un uso posterior.

La hibridación puede suponer la prueba del ácido nucleico y la identificación de la hibridación positiva en condiciones estrictas adecuadas (según técnicas conocidas) y/o la utilización de oligonucleótidos como cebadores en un procedimiento de amplificación de ácido nucleico, tal como la PCR. Para la prueba, las condiciones preferidas son las que son suficientemente estrictas para ello para ser un patrón simple con un pequeño número de hibridaciones identificadas como positivas que se puedan investigar posteriormente. Ello es bien conocido en la técnica para incrementar el rigor de la hibridación gradualmente hasta que sólo queden unos pocos clones positivos.

Como una alternativa a la prueba, aunque aún empleando la hibridación de ácido nucleico, se pueden utilizar los oligonucleótidos diseñados para amplificar las secuencias de ADN en las reacciones PCR o en otros procedimientos que implican la amplificación del ácido nucleico, utilizando procedimientos rutinarios. Véase, por ejemplo, "PCR protocols; A Guide to Methods and Applications", Eds. Innis *et al*, 1990, Academic Press, Nueva York.

Las secuencias de aminoácidos preferidas adecuadas para utilizar en el diseño de sondas o cebadores de la PCR para algún propósito son secuencias conservadas (completamente, sustancialmente o parcialmente) entre al menos dos péptidos o polipéptidos *Mlo* codificados por genes capaces de suprimir una respuesta de defensa en una planta, por ejemplo, con cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las diferentes Figuras de la presente invención y/o codificadas por las secuencias de nucleótidos de cualquiera de las diferentes Figuras de la presente invención.

Partiendo de la base de la información de la secuencia de aminoácidos, se pueden diseñar las sondas o los cebadores del oligonucleótido, teniendo en cuenta la degeneración del código genético y, donde convenga, se deriva el uso del codón del organismo del ácido nucleico candidato.

Preferentemente un oligonucleótido, para utilizar por ejemplo en la amplificación del ácido nucleico, dispone aproximadamente de hasta 50 nucleótidos, o aproximadamente 40 nucleótidos, o aproximadamente 30, o pocos nucleótidos de largo (por ejemplo, 18, 21 ó 24).

La valoración de si dicho producto PCR corresponde o no a los genes *Mlo* homólogos se puede llevar a cabo de varias maneras. Una banda de PCR de dicha reacción pudo contener una mezcla compleja de productos. Los productos individuales se pueden colar y cada uno de ellos se puede cribar individualmente. Se pueden analizar mediante transformación para valorar la función en la introducción en una planta del interés.

Tal y como se apuntó, el ácido nucleico se obtiene utilizando oligonucleótidos, diseñados en base a la información de la secuencia proporcionada en la presente invención, como sondas o cebadores. El ácido nucleico aislado y/o

ES 2 317 652 T3

purificado a partir de una o más células de la cebada o de otra planta (véase anteriormente), o una biblioteca de ácido nucleico derivado desde el ácido nucleico aislado y/o purificado de la planta (por ejemplo, una biblioteca de ADNc derivada del mRNA aislado de la planta), se puede sondear en condiciones para el hibridación selectiva y/o se puede someter a una reacción específica de amplificación del ácido nucleico tal como la reacción en cadena de polimerasa (PCR). El ácido nucleico sondeado o utilizado como plantilla en la reacción de amplificación puede ser ADN, ADNc o ARN genómicos. Si fuera necesario, uno o más fragmentos de gen se pueden ligar para generar una longitud total de secuencia de codificación.

Hemos probado diversos cebadores de la PCR derivados de la secuencia *Mlo* descrita en la presente invención para probar su especificidad para la amplificación del ácido nucleico según la presente invención, utilizando plantillas tanto de ADN genómico de cebada como de RT-PCR. Este último se sintetizó a partir de ARN polyA⁺ de cebada. En cada caso éramos capaces de amplificar el *Mlo* esperado derivado de los fragmentos de gen tal y como se muestra por la clonación y la subsiguiente secuenciación del ADN de los productos de la PCR. Los clones de la longitud total de ADNc se pueden obtener según lo descrito por la tecnología de RACE de las terminaciones 5' y 3' si se utilizan los productos de la RT-PCR como plantillas.

Ejemplos de cebadores probados incluyen:

25 L	5' -GTG CAT CTG CGT GTG CGT A-3'
25LN	5' -GTG TGC GTA CCT GGT AGA G-3'
25R	5' -AAC GAC GTC TGG TGC GTG-3'
33	5' -TGC AGC TAT ATG ACC TTC CCC CTC-3'
37	5' -GGA CAT GCT GAT GGC TCA GA-3'
38	5' -CAG AAC TTG TCT CAT CCC TG-3'
38A	5' -GGC TAT ACA TTG GGA CTA ACA-3'
38B	5' -CGA ATC ATC ACA TCC TAT GTT-3'
39	5' -GCA AGT TCG ACT TCC AC-3'
39B	5' -TCG ACT TCC ACA AGT ACA TCA-3'
53	5' -AGC GTA CCT GCG TAC GTA G-3'

Se han probado diversas combinaciones de cebador:

38/39A; 38/39; 38/33; 38/37; 38A/39A; 38B/39A;
38/25L; 38/25LN; 25R/25L; 25R/25LN; 25R/53.

La información de la secuencia proporcionada en la presente invención permite también el diseño de pruebas de diagnóstico para la determinación de la presencia de un alelo específico de resistencia *mlo*, o un alelo de susceptibilidad (por ejemplo, en estado natural), en cualquier planta, cultivo, variedad, población, raza local, parte de una familia o la otra selección dados en un programa de cultivo u otro genotipo dicho. Una prueba de diagnóstico se puede basar en la determinación de la presencia o la ausencia de un alelo particular por medio de la determinación del ácido nucleico o el polipéptido.

En el nivel del ácido nucleico, esto puede implicar la hibridación de un oligonucleótido o un polinucleótido adecuado, tal como un fragmento del gen *Mlo* o un homólogo del mismo, incluyendo cualquier homólogo descrito en la presente invención, o cualquier alelo particular, tal como un alelo que dé un fenotipo *mlo*, tal como cualquier alelo descrito en la presente invención. La hibridación puede implicar la PCR diseñada para amplificar un producto de una versión alélica dada del *mlo*, con la subsiguiente detección de un producto amplificado por cualquier procedimiento de un número de procedimientos posibles que incluyen, pero no limitan, a la electroforesis en gel, la electroforesis capilar, la hibridación directa de sondas de secuencia de nucleótidos y así sucesivamente. Una prueba de diagnóstico se puede basar en la PCR diseñada para amplificar diversos alelos o cualquier alelo del locus *Mlo*, con una prueba para distinguir los diversos alelos posibles por cualquier procedimiento de un número de procedimientos posibles, incluyendo el tamaño de fragmento de ADN, la variación de los sitios de restricción (por ejemplo, los CAPS - sitios polimórficos amplificados escindidos) y así sucesivamente. Una prueba de diagnóstico se puede basar también en un gran número de variantes posibles del análisis del ácido nucleico que sean evidentes a los expertos en la técnica, tales como la utilización de una secuencia *mlo* derivada sintética como sonda de la hibridación.

En líneas generales, los procedimientos se dividen en los que criban la presencia de secuencias de ácido nucleico y los que confían en la detección de la presencia o la ausencia de un polipéptido. Los procedimientos pueden hacer uso de muestras biológicas de una o más plantas o células que se sospechan que contienen las secuencias de ácido nucleico o el polipéptido.

Enfoques ejemplares para detectar el ácido nucleico o los polipéptidos incluyen el análisis de una muestra de la planta o la célula de la planta mediante:

- (a) la comparación de la secuencia de ácidos nucleicos en la muestra con toda o una parte de la secuencia de nucleótidos representada en la Figura 7 para determinar si la muestra del paciente contiene una mutación;
- (b) la determinación de la presencia en la muestra de un polipéptido incluyendo la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 2 o un fragmento del mismo y, si se encuentra presente, la determinación de si el polipéptido se encuentra en longitud total, y/o está mutado, y/o se expresa en el nivel normal;
- (c) la ejecución de la huella dactilar de ADN para comparar el patrón de restricción producido cuando una enzima de restricción corta el ácido nucleico en la muestra con el patrón de la restricción obtenido de la secuencia de nucleótidos representada en la Figura 7 o de un mutante, un alelo o una variante conocido;
- (d) la entrada en contacto de la muestra con un miembro de unión específico capaz de la unión al ácido nucleico que incluye la secuencia de nucleótidos según lo expuesto en la Figura 7 o un fragmento del mismo, o un mutante, un alelo o una variante del mismo, el miembro de unión específico que incluye el ácido nucleico que se puede hibridar con la secuencia de la Figura 7 o un polipéptido que incluye un dominio de unión con especificidad para el ácido nucleico que incluye la secuencia de la Figura 7 o el polipéptido codificado por él, o una forma mutada del mismo, y determinando la unión del miembro de unión específico;
- (f) la realización de la PCR que implica una o más cebadores basados en la secuencia de nucleótidos representada en la Figura 7 para cribar la muestra para el ácido nucleico que incluye la secuencia de nucleótidos de la Figura 7 o un mutante, un alelo o una variante del mismo.

Cuando se criba un ácido nucleico del alelo de resistencia, el ácido nucleico en la muestra se amplificará inicialmente utilizando, por ejemplo, la PCR, para aumentar la cantidad del analito con respecto a otras secuencias presentes en la muestra. Esto permite que las secuencias objetivo sean detectadas con un alto nivel de sensibilidad si se encuentran presentes en la muestra. Esta etapa inicial se puede evitar utilizando las técnicas de selección de alta sensibilidad que están llegando a ser cada vez más importantes en la técnica.

Una forma variante del gen puede contener una o más inserciones, cancelaciones, substituciones y/ o adiciones de uno o más nucleótidos comparados con la secuencia en estado natural (tal y como se representa en la Figura 1) que pueden o no interrumpir la función del gen. Las diferencias en el nivel de ácido nucleico no se reflejan necesariamente por una diferencia en la secuencia de aminoácidos del polipéptido codificado. Sin embargo, la mutación u otra diferencia en un gen puede dar lugar a un codón del marco de lectura o un codón de terminación, que podría afectar seriamente a la naturaleza del polipéptido producido (en su caso), o a una mutación puntual o a un cambio mutacional grave en el polipéptido codificado, incluyendo la inserción, la cancelación, la substitución y/o la adición de uno o más aminoácidos o regiones en el polipéptido. Una mutación en la secuencia del promotor u otra región reguladora puede prevenir o reducir la expresión del gen o afectar al proceso o la estabilidad de la transcripción del mRNA.

Las pruebas se pueden llevar a cabo en las preparaciones que contienen el ADN, el ADNc y/o el mRNA genómicos. El ADNc o el mRNA de prueba tienen la ventaja de la complejidad del ácido nucleico que es reducido por la ausencia de secuencias de intrones, pero tienen la posible desventaja del tiempo y el esfuerzo adicionales que se requieren en la fabricación de las preparaciones. El ARN es más difícil de manipular que el ADN debido a la frecuencia generalizada de las ribonucleasas.

El ácido nucleico en una muestra de prueba se puede secuenciar y se puede comparar la secuencia con la secuencia representada en la Figura 2, u otra Figura de la presente invención, para determinar si una diferencia se encuentra o no presente. Si es así, la diferencia se puede comparar con los alelos de susceptibilidad conocidos (por ejemplo, según lo resumido en la Tabla 1) para determinar si el ácido nucleico de prueba contiene una o más de las variaciones indicadas, o la diferencia se puede investigar por la asociación con la resistencia a la enfermedad.

El ácido nucleico amplificado se puede secuenciar entonces tal y como se indicó anteriormente, y/o probar de cualquier otra manera para determinar la presencia o la ausencia de una característica particular. El ácido nucleico para la prueba se puede preparar a partir del ácido nucleico eliminado de las células o en una biblioteca utilizando una variedad de otras técnicas tales como la digestión enzimática de restricción y la electroforesis.

El ácido nucleico se puede cribar utilizando una sonda específica de la variante o el alelo. Dicha sonda se corresponde en secuencia a una región del gen, o a su complemento, que contiene una alteración de la secuencia conocida para ser asociada a la resistencia a la enfermedad. En condiciones adecuadamente estrictas, la hibridación específica de dicha sonda para probar el ácido nucleico es indicativa de la presencia de la alteración de secuencia en el ácido

nucleico de prueba. Para los propósitos eficientes de cribaje, se puede utilizar más de una sonda en la misma muestra de prueba.

Los oligonucleótidos específicos del alelo o la variante se pueden utilizar de modo parecido en la PCR para amplificar específicamente las secuencias particulares si se encuentran presentes en una muestra de prueba. Se puede llevar a cabo la valoración de si una banda de la PCR contiene una variante del gen mediante diversas maneras familiares para los expertos en la técnica. El producto de la PCR se puede, por ejemplo, tratar de una manera que permita a uno exhibir la mutación o el polimorfismo en un gel desnaturizante de poliacrilamida de secuenciación del ADN, con las bandas específicas que se encuentran vinculadas a las variantes del gen que son seleccionadas.

Una alternativa o un suplemento, para buscar la presencia de secuencias variables en una muestra de prueba, es buscar la presencia de la secuencia normal, por ejemplo, utilizando una sonda o un cebador del oligonucleótido adecuadamente específico.

Se puede emplear los enfoques que se basan en el hibridación entre una sonda y un ácido nucleico de prueba y la detección subsiguiente de un mal apareamiento. En condiciones apropiadas (de temperatura, pH, etc.), una sonda del oligonucleótido se hibridará con una secuencia que no sea totalmente complementaria. El grado de apareamiento de bases entre las dos moléculas será suficiente para que se aparee a pesar de un mal apareamiento. Son bien conocidos en la técnica diversos enfoques para detectar la presencia de un mal apareamiento entre dos apareamientos de moléculas de ácido nucleico.

Por ejemplo, la ribonucleasas A se divide en el sitio de un mal apareamiento. La escisión se puede detectar mediante electroforesis del ácido nucleico de prueba al que la sonda relevante o la sonda se ha apareado y ha buscado moléculas más pequeñas (es decir, moléculas con una movilidad electroforética más elevada) que la longitud total del híbrido sonda/prueba. Otros enfoques se basan en la utilización de enzimas tales como las resolvasas o las endonucleasas.

De este modo, una sonda del oligonucleótido que tiene la secuencia de una región del gen normal (cadena sentido o antisentido) en el que las mutaciones asociadas con la resistencia a la enfermedad que se sabe que van a ocurrir (por ejemplo, véase la Tabla 1) se pueden aparear al ácido nucleico de prueba y la presencia o la ausencia de un mal apareamiento determinado. La detección de la presencia de un mal apareamiento puede indicar la presencia en el ácido nucleico de prueba de una mutación asociada a la resistencia a la enfermedad. Por otra parte, una sonda del oligonucleótido que tiene la secuencia de una región del gen que incluye una mutación asociada con la resistencia a la enfermedad se puede aparear al ácido nucleico de prueba y la presencia o la ausencia de un mal apareamiento determinado. La presencia de un mal apareamiento puede indicar que el ácido nucleico en la muestra de prueba tiene la secuencia normal, o una secuencia del mutante o el alelo diferente. En cualquier caso, se puede emplear una batería de sondas en diferentes regiones del gen.

Se puede detectar la presencia de diferencias en la secuencia de las moléculas de ácido nucleico mediante la digestión enzimática de restricción, tal como en un procedimiento de huella dactilar de ADN donde el patrón de restricción producido cuando se utilizan una o más enzimas de restricción para cortar una muestra de ácido nucleico se compara con el patrón obtenido cuando una muestra que contiene el gen normal o una variante o un alelo se digiere con la misma enzima o enzimas.

Se puede también evaluar la presencia o la ausencia de una lesión en el promotor u otra secuencia reguladora determinando el nivel de producción de mRNA por transcripción o el nivel de producción de polipéptido por la translación del mRNA.

El ácido nucleico aislado y/o purificado de una o más células de una planta o una biblioteca de ácido nucleico derivado del ácido nucleico aislado y/o purificado de las células (por ejemplo, una biblioteca de ADNc derivado de mRNA aislado de las células), se puede sondear en condiciones para la hibridación selectiva y/o se puede someter a una reacción de amplificación de ácido nucleico específica tal como la reacción en cadena de polimerasa (PCR).

Un procedimiento puede incluir la hibridación de una o más (por ejemplo, dos) sondas o cebadores en el ácido nucleico objetivo. Donde el ácido nucleico es ADN de cadena doble, la hibridación será precedida generalmente por una desnaturalización para producir ADN de cadena simple. La hibridación puede formar parte de un procedimiento de la PCR, o formar parte de un procedimiento de sondeo que no implique la PCR. Un procedimiento de ejemplo sería una combinación de la PCR y la hibridación de bajo rigor. Un procedimiento de cribaje, elegido de entre muchos disponibles para los expertos en la técnica, se utiliza para identificar los acontecimientos de hibridación acertados y para aislar el ácido nucleico hibridado.

La unión de una sonda en el ácido nucleico objetivo (por ejemplo, el ADN) se puede medir utilizando cualquier variedad de técnicas a disposición de los expertos en la técnica. Por ejemplo, las sondas se pueden radiomarcarse, fluorescentemente o enzimáticamente. Otros procedimientos que no emplean el marcado de la sonda incluyen el examen de los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción, la amplificación utilizando la PCR, la ribonucleasas escindidas y el sondeo del oligonucleótido específico del alelo.

El sondeo puede emplear la técnica de transferencia Southern estándar. Por ejemplo, el ADN se puede extraer de las células y se puede digerir con diversas enzimas de restricción. Los fragmentos de restricción se pueden separar

entonces mediante electroforesis en un gel de agarosa, antes de la desnaturalización y la transferencia a un filtro de nitrocelulosa. Se puede hibridar la sonda marcada en los fragmentos de ADN en el filtro y se puede determinar la unión. Se puede preparar el ADN para el sondeo a partir de preparaciones del ARN de las células.

Los experimentos preliminares se pueden realizar por la hibridación en condiciones de bajo rigor de varias sondas para las transferencias Southern de ADN digeridas con enzimas de restricción. Las condiciones adecuadas se conseguirían cuando se obtengan una gran cantidad de fragmentos de hibridación mientras la hibridación de fondo fuera baja. Utilizando estas condiciones, se pueden buscar bibliotecas de ácido nucleico, por ejemplo, bibliotecas de ADNc representativas de secuencias expresadas.

Tal y como se apuntó, los expertos en la técnica son bien capaces de emplear condiciones adecuadas de rigor deseado para la hibridación selectiva, teniendo en cuenta factores como la longitud y la composición base del oligonucleótido, la temperatura, y así sucesivamente.

En algunos ensayos de diagnóstico, los oligonucleótidos que son fragmentos de cualquiera de las secuencias representadas en la Figura 2, o cualquier alelo asociado con la resistencia a la enfermedad, por ejemplo, tal y como se identifican en la Tabla 1, son al menos aproximadamente 10 nucleótidos en longitud, más preferentemente al menos aproximadamente 15 nucleótidos en longitud, más preferentemente al menos aproximadamente 20 nucleótidos en longitud, más preferentemente aproximadamente 30 nucleótidos en longitud. Dichos fragmentos representan individualmente por sí mismos aspectos de la presente invención. Los fragmentos y otros oligonucleótidos se pueden utilizar como cebadores o sondas tal y como se ha discutido, pero se pueden también generar (por ejemplo, mediante la PCR) en procedimientos que se ocupan en determinar la presencia en una muestra de prueba de una secuencia indicativa de la resistencia a la enfermedad.

Existen diversos procedimientos para determinar la presencia o la ausencia en una muestra de prueba de un polipéptido particular, tal como el polipéptido con la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 2, u otra figura de la presente invención, o un mutante, variantes o alelo de la secuencia de aminoácidos del mismo (por ejemplo, incluyendo una alteración representada en la Tabla 1).

Una muestra se puede probar para la presencia de una pareja de unión para un miembro de unión tal como un anticuerpo (o una mezcla de anticuerpos), específico para una o más variantes particulares del polipéptido representado en la Figura 2; véase, por ejemplo, la Tabla 1.

En tales casos, la muestra se puede probar poniéndola en contacto con un miembro de unión específico, tal como un anticuerpo en condiciones adecuadas para la unión específica, antes de que se determine la unión, por ejemplo, utilizando un sistema reportero según lo discutido. Cuando se utiliza un panel de anticuerpos, se pueden emplear diversos marcados reportantes para cada anticuerpo de modo que la unión de cada uno se pueda determinar.

Un miembro de unión específico, tal como un anticuerpo, se puede utilizar para aislar y/o purificar su polipéptido pareja de unión de una muestra de prueba, para tener en cuenta la secuencia y/o el análisis bioquímico del polipéptido para determinar si tiene la secuencia y/o las propiedades del polipéptido en estado natural o un mutante, una variante o un alelo particular del mismo. La secuencia de aminoácidos es rutinaria en la técnica utilizando máquinas de secuenciación automatizadas.

La utilización de las pruebas de diagnóstico para los alelos *mlo* permite que el investigador o el cultivado de plantas establezca, con confianza e independencia total de las pruebas de resistencia que consumen tiempo, independientemente de si un alelo deseado se encuentra presente o no en la planta del interés (o de una célula de la misma), si la planta es representante de una colección de otras plantas genéticamente idénticas (por ejemplo, una variedad consanguínea o un cultivo) o de un individuo en una muestra de plantas relacionadas (por ejemplo, la selección de los cultivadores) o sin relación. Los alelos *mlo* que confieren el fenotipo de resistencia a la enfermedad deseable son recesivos y, por lo tanto, no se detectan en todo el nivel del fenotipo de la planta en condiciones heterocigóticas y en presencia de un alelo *Mlo* en estado natural. El cribaje fenotípico para la presencia de dichos alelos recesivos es, por lo tanto, posible solamente en material homocigótico para el locus *mlo* y así retrasar substancialmente la generación en un programa de reproducción de plantas en el que la selección se pueda aplicar de manera fiable y rentable. En un programa de reproducción de retrocruzamiento donde, por ejemplo, un cultivador se propone introgresar un alelo *mlo* deseable en un genotipo objetivo de elevada realización adaptado selecto, el locus *mlo* se encontrará permanentemente en las condiciones heterocigóticas hasta que se lleve a cabo la autofecundación. La prueba del ácido nucleico o el polipéptido para la presencia del alelo recesivo evita la necesidad de probar la progenie autofecundada de individuos de generación de retrocruzamiento, ahorrando de este modo considerable tiempo y dinero. En otros tipos de esquema de reproducción basados en la selección y la autofecundación de los individuos deseables, los diagnósticos de ácido nucleico o polipéptido para los alelos *mlo* deseables en alto rendimiento, los ensayos de bajo coste, tal y como se proporcionan en la presente invención, se puede realizar la selección fiable para los alelos *mlo* deseables en las primeras generaciones y en más material que sea por lo demás posible. Esta ganancia en la fiabilidad de la selección más el tiempo ahorrado es capaz de probar el primer material y sin que el costoso cribaje del fenotipo de resistencia sea de considerable valor en la reproducción de la planta.

A modo de ejemplo para la prueba del ácido nucleico, el alelo de resistencia *mlo-5* de la cebada se caracteriza por una sustitución del nucleótido G por el nucleótido A en el codón de inicio previsto del gen *Mlo* (Tabla 1). La mutación

ES 2 317 652 T3

se puede detectar fácilmente mediante la amplificación de la PCR estándar de un segmento del gen *Mlo* de la plantilla de ADN genómico con los cebadores:

cebador hacia adelante: 5'-GTTGCCACACTTTGCCACG-3'

cebador reverso: 5'-AAGCCAAGACGACAATCAGA-3'

(por ejemplo), seguido por la digestión con la enzima de restricción PshAI. Esto genera un marcador de secuencias polimórficas amplificadas escindidas (CAPS) que se pueda visualizar utilizando electroforesis en gel de agarosa convencional. La presencia de un fragmento de 769 pb es indicativa de la presencia del alelo *mlo-5*.

El alelo de resistencia *mlo-9* se caracteriza por una sustitución de nucleótido C por el nucleótido T (Tabla 1). Este alelo es de particular relevancia ya que se utiliza con frecuencia en material de cultivo. El acontecimiento mutacional se puede detectar fácilmente utilizando los cebadores:

cebador hacia adelante: 5'-GRRGCCACACTTTGCCACG-3'

cebador reverso: 5'-AAGCCAAGACGACAATCAGA-3'

(por ejemplo), y la digestión subsiguiente de los productos genómicos de amplificación con la enzima de restricción *HhaI*. Esto genera un marcador de los CAPS que se puede visualizar utilizando electroforesis en gel de agarosa convencional. La presencia de un fragmento de 374 pb es indicativa de la presencia del alelo *mlo-9*.

Un tercer alelo, particularmente interesante, es el *mlo-12*, que se caracteriza por una sustitución de un residuo 240, específicamente un Phe240 al reemplazo de la leucina. Esto pudo resultar desde una sustitución C720 hasta una sustitución A en la secuencia de nucleótidos de codificación (Tabla 1). Éste es el único alelo *mlo* actualmente documentado para el que la prueba concluyente se encuentra disponible para que la proteína alterada retenga la actividad en estado natural residual (Hentrich, 1979, Arch. Züchtungsvorsch., Berlin 9, S. 283-291). El *mlo-12* expone reacción espontánea de muerte celular no detectable pero confiere un suficiente nivel de resistencia a los agentes patógenos tales como el hongo del oidio. El *mlo-12* puede ser, por lo tanto, el alelo de elección en programas de reproducción si los efectos pleiotrópicos mínimos (muerte celular espontánea) se desean después de la introgresión de la resistencia *mlo* en líneas de cultivo selecto. Además, el sitio molecular de la sustitución del aminoácido dentro de la proteína *Mlo* permite el diseño de alelos con una actividad en estado natural residual, y también la obtención de moléculas que interactúan y/o inhibitorias, que reducen los efectos pleiotrópicos no deseados de una pérdida completa de la función de la proteína *Mlo*.

La determinación basada en ácidos nucleicos de la presencia o la ausencia de alelos *mlo* se puede combinar con la determinación del genotipo del ADN genómico vinculado flaqueador u otro ADN genómico no vinculado utilizando sistemas establecidos de marcadores tales como los RFLPs, los microsatélites o los SSRs, los AFLPs, los RAPDs, etc.. Esto permite al investigador o cultivador de la planta el seleccionar no sólo para la presencia del alelo *mlo* deseable sino también para la planta individual o las familias de plantas que tengan las combinaciones más deseables de fondo genético vinculado y no vinculado. Dichas recombinaciones del material deseable pueden tener solamente lugar pocas veces dentro de una población de reproducción o progenie de retrocruzamiento dado. El ensayo directo del locus *mlo* según lo ofrecido por la presente invención permite al investigador realizar un enfoque paso a paso para la fijación (que lo hace homocigótico) de la combinación deseada de marcadores flaqueadores y alelos *mlo*, mediante primero la identificación de los individuos fijados por un marcador flaqueador y después la identificación de la progenie fijada en el otro lado del locus *mlo* teniendo todo el tiempo la confianza de que se encuentra todavía presente el alelo *mlo* deseable.

La presente descripción proporciona suficiente información para una persona experta en la técnica para obtener la secuencia del ADN genómico para cualquier alelo *mlo* nuevo o existente dado y para concebir un ensayo de diagnóstico adecuado basado en ácido nucleico y/o basado en polipéptido. Los alelos *mlo* existentes a los que se puede aplicar esto incluyen, por ejemplo, el *mlo-1*, el *mlo-3*, el *mlo-4*, el *mlo-5*, el *mlo-6*, el *mlo-7*, el *mlo-8*, el *mlo-9*, el *mlo-10*, el *mlo-12*, el *mlo-13*, el *mlo-16*, el *mlo-17*, el *mlo-26* y el *mlo-28*, para los que la información de la secuencia se proporciona en la presente invención (véanse, por ejemplo, la Figura 2 y la Tabla 1). En el diseño un ensayo de ácido nucleico se tiene en cuenta la variación distintiva en la secuencia que caracteriza el alelo variable particular. Un fragmento del oligonucleótido de un alelo *mlo*, puede tener una secuencia que lo permita hibridar específicamente a ese alelo con respecto a otros alelos *mlo*. Dicho oligonucleótido abarca un nucleótido en el que tiene lugar una mutación *mlo*, y que puede incluir el nucleótido mutado en o hacia su extremo 3' ó 5'. Dicho oligonucleótido puede hibridarse con la cadena con sentido o la cadena antisentido. La variación se puede encontrar dentro de la secuencia de codificación del gen *mlo*, o puede estar dentro de una secuencia de intrones o en una secuencia no codificada localizada corriente arriba o corriente abajo, en el que la interrupción afecta o se relaciona de otra manera con la lesión en el *Mlo* que resulta en el fenotipo resistente al oidio.

El alelo *mlo-9* es comúnmente utilizado, pero no exclusivamente, en el cultivo de plantas (J Helms Jorgensen - Euphytica (1992) 63: 141-152), y el *mlo-11* también se utiliza. El uso de los mutantes *mlo* en el cultivo práctico se ha restringido en gran parte a la cebada de primavera, ya que la respuesta espontánea de la muerte celular asociada a muchos de los alelos mutantes aparece para presentar un castigo al crecimiento y al rendimiento de la planta cuando

está incorporada en los genotipos de la cebada de invierno del alto rendimiento. Sin embargo, diversos alelos *mlo* tienen diversos grados de respuesta espontánea asociada a la muerte celular, y de este modo algunos, o existentes o creados recientemente a partir de programas de mutagénesis o aislados como mutantes espontáneos, sean más adecuados que otros para la incorporación en los fondos de la cebada de invierno. El alelo *mlo-12* puede ser particularmente
5 adecuado ya que los efectos pleiotrópicos no detectables tienen lugar a pesar de conferir un suficiente nivel de resistencia al agente patógeno. La utilización de la resistencia al oidio basada en el *mlo* más extensamente en cebadas de invierno tendrá valor significativo para los cultivadores de cebada así como significativas implicaciones económicas y ambientales tales como la reducida utilización de aportaciones de fungicida con sus costes asociados al tratamiento. La previsión de diagnósticos del ácido nucleico tal y como se proporciona en la presente invención permite el rápido
10 y exacto despliegue de los alelos *mlo* nuevos y existentes en el plasma germinal de la cebada de invierno.

Se pueden proporcionar plantas que incluyen una célula de la planta según lo descrito en la presente invención, junto con cualquier parte o propágulo de la misma, semilla, progenie híbrida o autofecundada y los descendientes. Una planta puede ser una que no se reproduzca conforme a la raza en una o más propiedades. Se pueden excluir variedades
15 de plantas, particularmente las variedades de plantas inscribibles según los Derechos del Obtentor. Se observa que una planta no necesita ser considerada una “variedad de planta” simplemente porque contiene establemente un transgen dentro de su genoma, introducido en una célula de la planta o en un antepasado de la misma.

Además de una planta, se puede proporcionar cualquier clon de dicha planta, semilla, progenie híbrida o autofecundada y los descendientes, y cualquier parte de cualquiera de ellos, tal como esquejes y semillas. Se puede proporcionar cualquier propágulo de la planta, que es cualquier parte que se pueda utilizar en la reproducción o la propagación,
20 sexual o asexual, que incluye esquejes, semillas, etcétera. Se puede proporcionar también una planta que se propague sexualmente o asexualmente a la progenitura, al clon o al descendiente de dicha planta, o cualquier parte o propágulo de dicha planta, a la progenitura, al clon o al descendiente.

Un procedimiento de hacer una célula de planta que implique la introducción de la secuencia (por ejemplo, como parte de un vector adecuado) en una célula de planta y que ocasiona o permite la recombinación entre el vector y el genoma de la célula de planta para introducir la secuencia de nucleótidos en el genoma.
25

La siguiente transformación de una célula de planta de una planta se puede regenerar.
30

Un procedimiento para modular la expresión *Mlo* en una planta, que puede modular una respuesta de defensa en la planta, puede comprender la expresión de una secuencia heteróloga del gen *Mlo* (o mutante, alelo, variante u homólogo del mismo, tal y como se ha discutido) dentro de las células de la planta. Tal y como se ha discutido además
35 en la presente invención, la modulación o la alteración del nivel de respuesta de defensa constitutiva en una planta puede ser por medio de la supresión, la represión o la reducción (en la forma *Mlo* en estado natural) o la promoción, el estímulo, la activación, el incremento, la mejora o el aumento (en la forma *mlo* mutante). La activación o la mejora de la respuesta de defensa puede conferir o incrementar la resistencia de la planta al agente patógeno, especialmente la resistencia al oidio y/o la roya (tal como la roya amarilla).

El término “heterólogo” se puede utilizar para indicar que el gen/la secuencia de nucleótidos en cuestión se ha introducido en las dichas células de la planta o de un antepasado de la misma, utilizando ingeniería genética, es decir, mediante la intervención humana. Se puede proporcionar una célula de planta transgénica, es decir, transgénico para el ácido nucleico en cuestión. El transgen se puede encontrar en un vector extragenómico o incorporado, preferentemente estable, en el genoma. Un gen heterólogo puede sustituir un gen equivalente endógeno, es decir, uno que normalmente realiza la misma o similar función, o la secuencia insertada puede ser adicional al gen endógeno u otra secuencia. Una ventaja de la introducción de un gen heterólogo es la capacidad de colocar la expresión de una secuencia bajo el control de un promotor de elección, para poder influenciar la expresión según la preferencia, tal como
40 bajo el desarrollo particular, el control espacial o temporal, o bajo el control de un promotor inducible. Además, se pueden utilizar los mutantes, las variantes y los derivados del gen en estado natural, por ejemplo, con una actividad más alta o más baja que el propio gen en estado natural, en lugar del gen endógeno. El ácido nucleico heterólogo, o exógeno o ajeno, se puede encontrar en una célula de planta de forma no natural teniendo lugar en células de ese tipo, variedad o especie. De este modo, el ácido nucleico puede incluir una secuencia de codificación de, o derivada de, un tipo particular de célula o especie de planta o variedad de planta, colocada dentro del contexto de una célula
50 de planta de un tipo o especie o variedad diferentes de planta. Una posibilidad adicional se encuentra para que una secuencia de ácidos nucleicos se coloque dentro de una célula en la que o un homólogo se encuentra de forma natural, pero en el que la secuencia de ácidos nucleicos se encuentra vinculada y/o adyacente al ácido nucleico que no tiene lugar de forma natural dentro de la célula, o las células de ese tipo o especie o variedad de planta, tal como vinculado operativamente a una o más secuencias reguladoras, tal como una secuencia del promotor, para el control de la expresión. Una secuencia dentro de la planta u otra célula huésped puede ser identificablemente heteróloga, exógena o ajena.
60

La regulación por disminución de la función del gen *Mlo* en estado natural lleva a la estimulación de una respuesta de defensa constitutiva. Esto se puede conseguir de varias maneras diferentes, tal y como se ilustra más abajo.
65

El ácido nucleico se puede colocar bajo el control de un promotor inducible del gen, poniendo de este modo la expresión bajo el control del usuario.

Una construcción de gen puede comprender un promotor inducible vinculado operativamente a una secuencia de nucleótidos proporcionada por la presente invención. Según lo discutido, esto permite el control de la expresión del gen. Las plantas se pueden transformar con dicha construcción de gen y los procedimientos pueden comprender la introducción de dicha construcción en una célula de planta y/o la inducción de la expresión de una construcción dentro de una célula de planta, por ejemplo, mediante la aplicación de un estímulo adecuado, tal como un inductor exógeno o una señal endógena efectivos.

El término “inducible” que se aplica a un promotor es bien entendido por los expertos en la técnica. Esencialmente, la expresión bajo el control de un promotor inducible se “conecta” o incrementa en respuesta a un estímulo aplicado (que se puede generar dentro de una célula o proporcionar exógenamente). La naturaleza del estímulo varía entre los promotores. Algunos promotores inducibles provocan pequeños o imperceptibles niveles de expresión (o ninguna expresión) en ausencia del estímulo apropiado. Otros promotores inducibles provocan la expresión constitutiva perceptible en ausencia del estímulo. Aunque el nivel de expresión se encuentra en ausencia del estímulo, la expresión de cualquier promotor inducible se incrementa en presencia del estímulo correcto. La situación preferible es aquella donde el nivel de expresión aumenta sobre la aplicación del estímulo relevante mediante una cantidad efectiva para alterar una característica fenotípica. De este modo, se puede utilizar un promotor inducible (o “conectable”) que provoca un nivel básico de expresión en ausencia del estímulo cuyo nivel es demasiado bajo para ocasionar un fenotipo deseado (y puede de hecho ser cero). En la utilización del estímulo, la expresión se aumenta (o se conecta) hasta un nivel que ocasione el fenotipo deseado.

Los promotores adecuados incluyen el promotor del gen 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV 35S) que se expresa en un alto nivel en virtualmente todos los tejidos vegetales (Benfey *et al.*, (1990a) EMBO J 9: 1677-1684); el promotor meri-5 de la coliflor que se expresa en el meristema apical vegetativo así como diversas posiciones bien localizadas en el cuerpo de la planta, por ejemplo, en el floema interno, la primordia de la flor, los puntos de ramificación en la raíz y los brotes (Medford, J.I. (1992) Plant Cell 4, 1029-1039; Medford *et al.*, (1991) Plant Cell 3, 359-370) y el promotor LEAFY de la *Arabidopsis thaliana* que se expresa muy pronto en el desarrollo de la flor (Weigel *et al.*, (1992) Cell 69, 843-859).

El ácido nucleico se puede utilizar en la producción de una planta transgénica.

Cuando se introduce una construcción de gen elegida en una célula, se deben tener en cuenta ciertas consideraciones, bien conocidas por los expertos en la técnica. El ácido nucleico a ser insertado se debería insertar dentro de una construcción que contenga los elementos reguladores efectivos que conducirán la transcripción. Debe haber disponible un procedimiento para transportar la construcción en la célula. Una vez la construcción se encuentra dentro de la membrana celular, tendrá o no lugar la integración en el material cromosómico endógeno. Finalmente, en lo que concierne a las plantas, el tipo de la célula objetivo debe ser aquel con el que las células se puedan regenerar en todas las plantas.

Las plantas transformadas con el segmento de ADN que contiene la secuencia se pueden producir mediante técnicas estándar que son ya conocidas para la manipulación genética de plantas. El ADN se puede transformar en las células de planta utilizando cualquier tecnología adecuada, tal como un vector Ti plásmido desarmado llevado por el *Agrobacterium* que explota su capacidad natural de transferencia del gen (EP-A-270355, EP-A-0116718, NAR 12 (22) 8711 - 87215 1984), bombardeo con partículas o microproyectiles (US 5100792, EP-A-444882, EP-A-434616), microinyección (WO 92/09696, WO 94/00583, EP 331083, EP 175966, Green *et al.* (1987) Plant Tissue and Cell Culture, Academic Press), electroporación (EP 290395, WO 8706614), otras formas absorción directa de ADN (DE 4005152, WO 9012096, US 4684611), absorción de ADN por medio de liposomas (por ejemplo, Freeman *et al.* Plant Cell Physiol. 29: 1353 (1984)), o el procedimiento vórtex (por ejemplo, Kindle, PNAS USA 87: 1228 (1990d) Physical methods for the transformation of plant cells are reviewed in Oard, 1991, Biotech. Adv. 9: 1-11).

La transformación del *Agrobacterium* es ampliamente utilizada por los expertos en la técnica para transformar especies dicotiledóneas. Recientemente, ha habido un progreso substancial hacia la producción rutinaria de plantas transgénicas estables y fértiles, en casi todo plantas monocotiledóneas económicamente relevantes (Toriyama, *et al.* (1988) Bio/Technology 6, 1072-1074; Zhang, *et al.* (1988) Plant Cell Rep. 7, 379-384; Zhang, *et al.* (1988) Theor Appl Genet 76, 835-840; Shimamoto, *et al.* (1989) Nature 338, 274-276; Datta, *et al.* (1990) Bio/Technology 8, 736-740; Christou, *et al.* (1991) Bio/Technology 9, 957-962; Peng, *et al.* (1991) International Rice Research Institute, Manila, Philippines 563-574; Cao, *et al.* (1992) Plant Cell Rep. 11, 585-591; Li, *et al.* (1993) Plant Cell Rep. 12, 250-255; Rathore, *et al.* (1993) Plant Molecular Biology 21, 871-884; Fromm, *et al.* (1990) Bio/Technology 8, 833-839; Gordon-Kamm, *et al.* (1990) plant Cell 2, 603-618; D'Halluin, *et al.* (1992) Plant Cell 4, 1495-1505; Walters, *et al.* (1992) Plant Molecular Biology 18, 189-200; Koziel, *et al.* (1993) Biotechnology 11, 194-200; Vasil, I. K. (1994) Plant Molecular Biology 25, 925-937; Weeks, *et al.* (1993) Plant Physiology 102, 1077-1084; Somers, *et al.* (1992) Bio/Technology 10, 1589-1594; WO92/14828). En particular, la transformación por medio del *Agrobacterium* se encuentra ahora emergiendo también como procedimiento alternativo muy eficiente de transformación en monocotiledóneas.

La generación de plantas transgénicas fértiles se ha conseguido en los cereales de arroz, maíz, trigo, avena y cebada (resumido en Shimamoto, K. (1994) Current Opinion in Biotechnology 5, 158-162.; Vasil, *et al.* (1992) Bio/Technology 10, 667-674; Vain *et al.*, 1995, Biotechnology Advances 13 (4): 653-671; Vasil, 1996, Nature Biotechnology 14 página 702).

Se prefieren el bombardeo con microproyectiles, la electroporación y la absorción directa del ADN cuando el *Agrobacterium* no es eficiente o efectivo. Alternativamente, se puede emplear una combinación de diferentes técnicas para mejorar la eficiencia del proceso de transformación, por ejemplo, el bombardeo con micropartículas cubiertas de *Agrobacterium* (EP-A-486234) o el bombardeo con microproyectiles para inducir la herida, seguido por el cocultivo con *Agrobacterium* (EP-A-486233).

Después de la transformación, se puede regenerar una planta, por ejemplo, a partir de células individuales, tejido calloso o discos de hojas, como es estándar en la técnica. Casi cualquier planta se puede regenerar totalmente a partir de células, tejidos y órganos de la planta. Las técnicas disponibles se encuentran resumidas en Vasil *et al.*, Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vol I, II y III, Laboratory Procedures and Their Applications, Academic Press, 1984, y Weissbach y Weissbach, Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, 1989.

La opción particular de una tecnología de transformación se determinará por su eficiencia para transformar cierta especie de planta así como la experiencia y la preferencia de la persona que ensaye la presente invención con una metodología particular de la opción. Será evidente para la persona experta que la opción particular de un sistema de transformación para introducir el ácido nucleico en las células de planta no es esencial para, o una limitación de, la presente invención, ni es la opción de la técnica para la regeneración de la planta.

La expresión se puede conseguir mediante la introducción de la secuencia de nucleótidos en una orientación con sentido. De este modo, un procedimiento de modulación de una respuesta de defensa en una planta, puede comprender que cause o permita la expresión del ácido nucleico dentro de las células de la planta. Generalmente, será deseable estimular la respuesta de defensa, y esto se puede conseguir mediante la función de interrupción del gen *Mlo*.

La regulación por disminución de la expresión de un gen objetivo se puede conseguir utilizando la tecnología antisentido o la "regulación con sentido" ("cosupresión").

Al utilizar genes antisentido o secuencias parciales del gen para regular por disminución la expresión del gen, una secuencia de nucleótidos se pone bajo el control de un promotor en una "orientación inversa", de forma que la transcripción produce ARN que es complementario al mRNA normal transcrito a partir de la cadena "con sentido" del gen objetivo. Véanse, por ejemplo, Rothstein *et al.*, 1987; Smith *et al.*, (1988) Nature 334, 724-726; Zhang *et al.*, (1992) The Plant Cell 4, 1575-1588, English *et al.*, (1996) The Plant Cell 8, 179-188. La tecnología antisentido también se encuentra resumida en Bourque, (1995), Plant Science 105, 125-149, y Flavell, (1994) PNAS USA 91, 3490-3496.

Una alternativa es utilizar una copia de todo o parte del gen objetivo insertado en la orientación con sentido, que es la misma, como el gen objetivo, para conseguir la reducción en la expresión del gen objetivo mediante la cosupresión. Véanse, por ejemplo, van der Krol *et al.*, (1990) The Plant Cell 2, 291-299; Napoli *et al.*, (1990) The Plant Cell 2, 279-289; Zhang *et al.*, (1992) The Plant Cell 4, 1575-1588, y US-A-5.231.020.

No se necesita utilizar la secuencia completa que corresponde a la secuencia de codificación (en la orientación inversa para el antisentido). Por ejemplo, se pueden utilizar los fragmentos de longitud suficiente. Es una cuestión rutinaria para la persona experta en la técnica para el cribaje de los fragmentos de diversos tamaños y a partir de diversas partes de la secuencia de codificación para optimizar el nivel de inhibición antisentido. Puede ser ventajoso incluir el codón de iniciación ATG de la metionina, y quizás uno o más nucleótidos localizados corriente arriba del codón de iniciación. Una posibilidad adicional es dirigir una secuencia conservada de un gen, por ejemplo, una secuencia que sea característica de uno o más genes, tales como una secuencia reguladora. Las construcciones antisentido pueden suponer secuencias con terminación 3' o terminación 5' del *Mlo* u homólogos. En el caso de que varios homólogos del *Mlo* existan en una especie de la planta, la implicación de las secuencias no translacionadas en la terminación 5' y la terminación 3' en la construcción mejorarán la especificidad del silenciador.

La secuencia empleada puede ser de aproximadamente 500 nucleótidos o menos, posiblemente de aproximadamente 400 nucleótidos, de aproximadamente 300 nucleótidos, de aproximadamente 200 nucleótidos, o de aproximadamente 100 nucleótidos. Puede ser posible utilizar los oligonucleótidos de longitudes mucho más cortas, de 14 - 23 nucleótidos, aunque puede ser posible utilizar fragmentos más largos, y generalmente incluso más largos de aproximadamente 500 nucleótidos son más preferibles donde sea posible, por ejemplo, tales como más largos de aproximadamente 600 nucleótidos, de aproximadamente 700 nucleótidos, de aproximadamente 800 nucleótidos, de aproximadamente 1.000 nucleótidos, de aproximadamente 1.200 nucleótidos, de aproximadamente 1.400 nucleótidos, o más.

Puede ser preferible que exista identidad completa de la secuencia en la secuencia utilizada para la regulación por disminución de la expresión de una secuencia objetivo, y la secuencia objetivo, aunque no sea esencial la complementariedad o la similitud total de la secuencia. Uno o más nucleótidos pueden diferir en la secuencia utilizada a partir del gen objetivo. De este modo, una secuencia empleada en una regulación por disminución de la expresión del gen según la presente invención puede ser una secuencia en estado natural (por ejemplo, el gen) seleccionada a partir de los disponibles, o un mutante, un derivado, una variante o un alelo, por medio de la inserción, la adición, la cancelación o la substitución de uno o más nucleótidos, de dicha secuencia. La secuencia no necesita incluir un marco de lectura abierto o especificar un ARN que sería trasladable. Se puede preferir para ello que haya la suficiente homología para hibridar las moléculas de ARN antisentido y con sentido. Puede haber regulación por disminución de la expresión del

gen incluso cuando hay aproximadamente el 5%, el 10%, el 15% o el 20% o más mal apareamientos entre la secuencia utilizada y el gen objetivo.

Generalmente, el ácido nucleico transcrito puede representar un fragmento de un gen *Mlo*, así como incluir una secuencia de nucleótidos representada en la Figura 2, o el complemento del mismo, o puede ser un mutante, un derivado, una variante o un alelo del mismo, en términos similares según lo discutido anteriormente en relación con las alteraciones que se llevan a cabo a una secuencia de codificación y a la homología de la secuencia alterada. La homología puede ser suficiente para el ARN antisentido para hibridar con el ácido nucleico dentro de las células de planta, aunque con independencia de si la hibridación tiene lugar, se regula por disminución el efecto deseado de la expresión del gen.

La regulación antisentido puede ser regulada por sí mismo empleando a un promotor inducible en una construcción apropiada.

Las construcciones se pueden expresar utilizando el promotor natural, mediante un promotor constitutivamente expresado tal como el promotor 35S del CaMV, mediante un promotor específico del tejido o un promotor específico del tipo de célula, o mediante un promotor que se pueda activar mediante una señal o agente externo. El promotor 35S del CaMV, pero también los promotores *actin1* del arroz y el ubiquitino del maíz han demostrado que dan niveles elevados de expresión del gen indicador en el arroz (Fujimoto *et al.*, (1993) Bio/Technology 11, 1151-1155; Zhang, *et al.*, (1991) Plant Cell 3, 1155-1165; Cornejo *et al.*, (1993) Plant Molecular Biology 23, 567-581).

Para la utilización en la regulación antisentido, se proporciona el ácido nucleico que incluye una secuencia de nucleótidos complementaria a una secuencia de codificación de un gen *Mlo* (es decir, que incluye homólogos), o un fragmento de dicha secuencia de codificación adecuada para la utilización en la regulación antisentido de la expresión. Esto puede ser ADN y bajo el control de una secuencia reguladora apropiada para la transcripción antisentido en las células de interés.

Un procedimiento para conferir resistencia al agente patógeno en una planta, puede incluir que cause o permita la transcripción antisentido del ácido nucleico heterólogo dentro de las células de la planta.

La secuencia de nucleótidos de la Figura 2 o un fragmento, un mutante, un derivado, un alelo, una variante o un homólogo del mismo, por ejemplo, cualquier secuencia representada o identificada en la presente invención, se puede utilizar para la regulación por disminución de la expresión del gen, particularmente la regulación por disminución de la expresión de un gen *Mlo* o el homólogo del mismo, para conferir preferentemente resistencia al agente patógeno en una planta.

Cuando las copias adicionales del gen objetivo se insertan en orientación con sentido, que es igual, que el gen objetivo, se produce una gama de fenotipos que incluye a los individuos donde tiene lugar la sobreexpresión y algunos cuando tiene lugar la pérdida de expresión de la proteína del gen objetivo. Cuando el gen insertado es solamente parte del gen endógeno aumenta el número de individuos que pierden la expresión en las poblaciones transgénicas. El mecanismo por el que tiene lugar la regulación con sentido, particularmente la regulación por disminución, no se encuentra bien entendida. Sin embargo, esta técnica se encuentra bien divulgada en la literatura científica y de patente y se utiliza rutinariamente para el control del gen. Véase, por ejemplo, van der Krol *et al.*, (1990) The Plant Cell 2, 291-229; Napoli *et al.*, (1990) The Plant Cell 2, 279-289; Zhang *et al.*, 1992 The Plant Cell 4, 1575-1588.

Una vez más, los fragmentos, mutantes, y etcétera, se pueden utilizar en términos similares tal y como se describió anteriormente para la utilización en la regulación antisentido.

Un procedimiento para conferir resistencia al agente patógeno en una planta, puede incluir que cause o permita la expresión del ácido nucleico según la presente invención dentro de las células de la planta. Esto se puede utilizar para suprimir la actividad *Mlo*. Aquí, la actividad del producto se suprime preferentemente como resultado de la pérdida de expresión dentro de las células de planta.

Según lo observado, la regulación por disminución del *Mlo* puede promover la activación de una respuesta de defensa, que puede a su vez conferir o aumentar la resistencia al agente patógeno de la planta, especialmente la resistencia al oidio y/o la roya (por ejemplo, la roya amarilla).

Un procedimiento de modulación de la función *Mlo* en una planta, puede comprender que cause o permita la expresión a partir del ácido nucleico según la presente invención dentro de las células de la planta para suprimir la expresión *Mlo* endógena.

Las versiones modificadas del *Mlo* se pueden utilizar para regular por disminución la función *Mlo* endógena. Por ejemplo, se pueden emplear mutantes, variantes, derivados, etc.. Por ejemplo, la expresión de una secuencia del mutante *mlo* en un alto nivel puede eliminar por competencia la actividad del *Mlo* endógeno.

La reducción de la actividad *Mlo* en estado natural se puede conseguir utilizando ribozimas, tales como la replicación de ribozimas, por ejemplo, de la clase "hammerhead" (Haseloff y Gerlach, 1988, Nature 334: 585-591; Feyter *et al.* Mol., 1996, Gen. Genet. 250: 329-338).

Otra manera de reducir la función *Mlo* en una planta emplea la mutagénesis por transposones (resumido por Osborne *et al.*, (1995) Current Opinion in Cell Biology 7, 406-413). La inactivación de genes se ha demostrado por medio de un enfoque de “marcado específico” utilizando los elementos móviles endógenos o los transposones clonados heterólogos que conservan su movilidad en los genomas ajenos. Se podían identificar los alelos *Mlo* que llevan cualquier inserción de secuencia conocida utilizando los cebadores de la PCR con especificidades de unión tanto en la secuencia de inserción como en el homólogo *Mlo*. Se podían utilizar los “sistemas de dos elementos” para estabilizar el transposón dentro de los alelos inactivados. En el enfoque de los dos elementos, se construye un T-ADN que lleva un transposón no autónomo que contiene el gen marcador seleccionable o cribable insertado en un marcador de escisión. Las plantas que llevan estos T-ADNs se encuentran cruzadas con plantas que llevan un segundo T-ADN que expresa la función de la transposasa. Los híbridos se seleccionan dos veces para la escisión y para el marcador dentro del rendimiento transposón las plantas F_2 con los elementos transpuestos. El enfoque de los dos elementos tiene una ventaja particular con respecto al *Ac/Ds* del maíz, pues el *Ds* transpuesto es más probable que no esté vinculado a la transposasa, facilitando el outcrossing y la estabilización de la inserción *Ds* (Jones *et al.*, (1994) Science 266, 789-793; Osborne *et al.*, (1995) Current Opinion in Cell Biology 7, 406-413).

La resistencia al oidio basada en el *mlo* está provocada por la inactivación del alelo *Mlo* en estado natural, dando lugar a un fenotipo recesivo de resistencia. Se pueden utilizar sustancias que inhiban la actividad de la proteína *Mlo* en estado natural para inducir el fenotipo de resistencia.

Una importante insinuación, que la inactivación completa de la expresión *Mlo* no es esencial y puede incluso ser perjudicial, se proporciona mediante la descripción de los alelos *mlo* de resistencia inducidos por el agente mutágeno que es probable que hayan conservado la actividad residual del alelo en estado natural. Estos alelos no exhiben ninguna necrosis espontánea perceptible de la hoja que afecte negativamente a las velocidades y al rendimiento de la fotosíntesis (Hentrich, W (1979) Arch. Züchtungsvorsch., Berlin 9, S. 283-291).

La proteína *Mlo* se predice para estar anclada a la membrana mediante siete hélices transmembrana (véase, por ejemplo, la Figura 7). Esta predicción de estructura ha sido reforzada por el análisis reciente de los homólogos del *Mlo* en el arroz y la *Arabidopsis thaliana*. La predicción de la estructura del homólogo de la *Arabidopsis thaliana* también sugiere la presencia de siete hélices transmembrana. Una comparación de los homólogos del *Mlo* reveló además residuos conservados de la cisteína en los lazos extracelulares posibles 1 y 3 y altas probabilidades de hélices anfipáticas en el segundo lazo extracelular adyacente a las hélices transmembrana previstas 3 y 4. Estos conservados motivos estructurales en la familia de proteínas *Mlo* recuerdan a los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) descritos extensivamente en los sistemas de mamíferos. Los GPCRs son conocidos para activarse mediante ligandos y para amplificar señales intracelularmente por medio de las proteínas G heterotriméricas. Sin proporcionar de ninguna forma una limitación en la naturaleza o el alcance de cualquier aspecto de la presente invención, se predice que el *Mlo* activa una subunidad alfa G inhibitoria de las proteínas G heterotriméricas, llevando de este modo a una regulación por disminución de las proteínas efectoras hasta ahora desconocidas.

La previsión de la presente invención de la información de la secuencia *Mlo* permite la identificación de los antagonistas de la función de la proteína del *Mlo* (por ejemplo, la función del GPCR). Los antagonistas del *Mlo* pueden bloquear la activación del receptor por su ligando genuino desconocido, imitando mutaciones recesivas en el gen *Mlo*. Dichos antagonistas del *Mlo* se pueden utilizar como compuestos de la protección de cosechas, por ejemplo, aplicado externamente a la planta o a la cosecha o, cuando el compuesto se encuentre como peptidilo en la naturaleza, liberado internamente por medio de un vector biológico (por ejemplo, partícula viral de infección recombinante que expresa la molécula antagonista dentro de las células de planta objetivo) o por medio de una ruta transgénica (las plantas o las células de planta modificadas genéticamente para expresar la molécula del antagonista, quizás bajo el control de un promotor inducible mediante un compuesto aplicado externamente (por ejemplo, el promotor GST-II del maíz - Jepson *et al* Plant Molecular Biology 26:1855-1866 (1994)) permitiendo el control sobre el ritmo de la expresión del fenotipo de inactivación *mlo*.

Se pueden probar los segmentos de hoja de plantas *Mlo* en estado natural con una sustancia de prueba, por ejemplo, a partir de una biblioteca de compuestos aleatoria o combinatoria, para la resistencia sobre el reto con el agente patógeno tal como el oidio. El ensayo del segmento de hoja separado se utiliza como sistema de prueba estándar para anotar la susceptibilidad/resistencia sobre la inoculación con esporas del oidio. Los segmentos de hoja de semilleros de 7 días del genotipo *Mlo Rorl* se pueden poner en el agar, por ejemplo, en pocillos individuales de placas microtiter de 96 pocillos que contienen 50 μ l de agar. Se pueden aplicar diversos compuestos a la superficie del agar en cada pocillo en una concentración de aproximadamente 1 ppm disuelta en DMSO. Alrededor de siete días después de la inoculación de los segmentos separados de hoja con el agente patógeno, tal como las esporas de un aislante virulento del oidio, se pueden reconocer los compuestos que inducen la resistencia por la ausencia de micelio de los hongos en los segmentos de hoja en las placas microtiter.

Se puede utilizar una selección adicional para discriminar entre los compuestos que actúan en la ruta del *mlo* y los que confieren la resistencia mediante otros mecanismos, o los que exhiben una actividad fungitóxica directa. Con este fin, se pueden utilizar mutantes en genes (genes *Ror*) que se pueden requerir para la resistencia *mlo* (Freialdenhoven *et al.*, (1996), The Plant Cell 8, 5-14). Los mutantes de estos genes confieren susceptibilidad al ataque del oidio a pesar de la presencia de alelos *mlo* de resistencia. Se pueden utilizar las plantas del genotipo *Mlo rorl* (proteína del *Mlo* en estado natural y gen *Rorl* defectuoso), por ejemplo, para probar los compuestos que inducen resistencia en los genotipos *Mlo Rorl* pero exhiben susceptibilidad en el genotipo *Mlo rorl*, permitiendo la selección de los

antagonistas del *Mlo* del candidato. Se pueden utilizar los compuestos del candidato de prueba identificados utilizando una prueba de segmento de hoja para reducir drásticamente el número de compuestos del candidato para pruebas *in vitro* adicionales.

- 5 Una etapa de selección adicional de los antagonistas del candidato puede implicar la expresión heteróloga de la proteína *Mlo* o un fragmento de la misma (por ejemplo, en un sistema de célula del insecto baculovirus) y el posterior ensayo de unión con las moléculas marcadas. La unión específica de los compuestos a las líneas de células que expresan la proteína *Mlo* en estado natural es un buen indicador de su modo de acción antagonístico. El análisis de la secuencia de proteína *Mlo* deducida ha proporcionado una prueba evidente de que la proteína se encuentra anclada en la membrana por medio de siete hélices transmembrana y se puede representar a un miembro nuevo de la llamada familia del receptor serpentina. La conclusión se respalda por los datos de la secuencia derivados a partir de los genes homólogos identificados en la cebada, el arroz y la *Arabidopsis*. Las siete proteínas de la transmembrana se han representado para expresarse con alto nivel en el sistema de la célula de Baculovirus/insecto (hasta 107 moléculas por célula - Tate y Grishamer, 1996, TIBTECH 14: 426-430). Puesto que la familia de proteínas *Mlo* parece que se encuentran restringidas en el reino de las plantas, éste proporciona un entorno con poca radiación de fondo para las pruebas del compuesto. Los compuestos del candidato que se encuentran o no radiomarcados, se pueden probar para la unión específica en las células Sf9 de insecto que expresan la proteína *Mlo* después de la infección con una construcción recombinante del baculovirus. La especificidad de la unión se puede probar además mediante la expresión Sf9 de las proteínas *mlo* del mutante que llevan mutaciones caracterizadas (por ejemplo, como en la Tabla 1) que lleva *in vivo* a la resistencia.

De este modo, en diversos aspectos adicionales de la presente invención se refiere a los ensayos para las sustancias capaces de interferir con la función *Mlo*, es decir, que confieren un fenotipo del mutante *mlo*, dichas sustancias por si mismas y sus aplicaciones.

- 25 El *Mlo* se puede utilizar en la identificación y/o la obtención de una sustancia que inhiba la función *Mlo*. El *Mlo* se puede utilizar en la identificación y/o la obtención de una sustancia que induzca resistencia al agente patógeno en una planta.

- 30 Los agentes se pueden identificar mediante técnicas de cribaje que implican la determinación o no de un agente bajo una prueba que inhibe o interrumpe la función *Mlo* para inducir un fenotipo *mlo*. Los inhibidores del candidato son las sustancias que unen el *Mlo*.

- 35 Se debería, por supuesto, observar que las referencias al “*Mlo*” en relación a los ensayos y los cribados se debería tomar para referirse a homólogos, tal como en otra especie, incluyendo el arroz y el trigo, no sólo en la cebada, también fragmentos, variantes, alelos y derivados apropiados del mismo. La valoración de si una sustancia de prueba puede unir la proteína *Mlo* no requiere necesariamente la utilización de la longitud total de la proteína *Mlo*. Se puede utilizar un fragmento adecuado (o su análogo o su variante adecuados).

- 40 Los fragmentos adecuados del *Mlo* incluyen a los que incluyan los residuos conocidos para ser cruciales para la función *Mlo* según lo identificado por los alelos *mlo* del mutante (Tabla 1). Los fragmentos más pequeños, y los análogos y las variantes de este fragmento, se pueden emplear de modo parecido, por ejemplo, según lo identificado utilizando técnicas tales como el análisis de canceladura o el escaneado por alanina.

- 45 Además, una clase de agentes que se pueden utilizar para interrumpir actividad del *Mlo* son fragmentos de péptidos del mismo. Dichos péptidos tienden a ser cortos, y pueden ser de aproximadamente 40 aminoácidos de largo o menos, preferentemente de aproximadamente 35 aminoácidos de largo o menos, preferentemente de aproximadamente 30 aminoácidos de largo o menos, preferentemente de aproximadamente 25 aminoácidos o menos, preferentemente de aproximadamente 20 aminoácidos o menos, preferentemente de aproximadamente 15 aminoácidos o menos, preferentemente de aproximadamente 10 aminoácidos o menos, o 9, 8, 7, 6, 5 o menos de largo. Los péptidos pueden ser variantes o derivados de la secuencia de una secuencia *Mlo* en estado natural, que conservan la capacidad de interferir con la función *Mlo*, por ejemplo, para inducir un fenotipo *mlo* del mutante. Cuando se encuentran incluidos uno o más aminoácidos adicionales, dichos aminoácidos pueden ser del *Mlo* o pueden ser heterólogos o ajenos al *Mlo*. Se puede también incluir un péptido dentro de una proteína de fusión más grande, particularmente donde el péptido se funde a una secuencia no *Mlo* (es decir, heterólogo o ajena), tal como un dominio del polipéptido o la proteína.

- Los péptidos se pueden generar totalmente o parcialmente por síntesis química. Los compuestos se pueden preparar fácilmente según el líquido estándar bien establecido o, preferentemente, los procedimientos de síntesis de péptido en fase sólida, cuyas descripciones generales se encuentran en líneas generales disponibles (véanse, por ejemplo, en J. M. Stewart y J. D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 2ª edición, Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois 1984); en M. Bodanzsky y A. Bodanzsky, The Practice of Peptide Synthesis, Springer Verlag, Nueva York (1984); y Applied Biosystems 430A Users Manual, ABI Inc., Foster City, California), o se pueden preparar en solución, mediante el procedimiento de fase líquida o por cualquier combinación de fase sólida, fase líquida y solución química, por ejemplo, completando primero la respectiva parte del péptido y entonces, si se desea y es apropiado, después de la eliminación de cualquier grupo de protección que estén presentes, por la introducción del residuo X mediante la reacción del respectivo ácido carbónico o sulfónico o de su derivado reactivo.

Otra manera conveniente de producir una molécula de peptidilo (péptido o polipéptido) es expresar su codificación del ácido nucleico, mediante la utilización ácido nucleico en un sistema de expresión, tal y como se ha discutido en alguna otra parte de la presente invención. Esto tiene en cuenta los agentes del péptido que se van a liberar en las plantas transgénicamente, mediante el ácido nucleico de la codificación. Si se engancha a un promotor inducible para la expresión bajo el control del usuario, esto tiene en cuenta la flexibilidad en la inducción de un fenotipo *mlo* y una resistencia al agente patógeno. Esto puede tener en cuenta cualquier efecto secundario que se presenta desde la interferencia con la función *Mlo* a ser moderada.

Un procedimiento de ensayo para una sustancia capaz de interactuar con la región relevante del *Mlo*, puede incluir:

- (a) la puesta en contacto de un fragmento del polipéptido o el péptido *Mlo* del mismo, o una variante, derivado o análogo del mismo, y un compuesto de prueba; y
- (b) la determinación de la interacción o la unión entre dicho polipéptido o péptido y el compuesto de prueba.

Se puede probar un compuesto de prueba que se ha descubierto que interactúa con la parte relevante del *Mlo* por la capacidad de modular, por ejemplo, interrumpir o interferir con, la función *Mlo*, tal y como se ha discutido anteriormente.

Un procedimiento de ensayo para una sustancia capaz de inducir un fenotipo *mlo* mutante en una planta, puede incluir:

- (a) la puesta en contacto de una planta o una parte de la misma (por ejemplo, una hoja o segmento de hoja) y un compuesto de prueba; y
- (b) la determinando de la resistencia de la función *Mlo* y/o al agente patógeno y/o la estimulación de una respuesta de defensa en la planta.

La susceptibilidad o la resistencia a un agente patógeno se pueden determinar evaluando el crecimiento del agente patógeno, por ejemplo, para la presencia o la ausencia del oidio, o la extensión, del crecimiento micelial.

La unión de un compuesto de prueba a un polipéptido o un péptido se puede evaluar por la capacidad del compuesto de prueba de estimular una respuesta de defensa en una planta. Dichas pruebas pueden funcionar en paralelo o una prueba se puede llevar a cabo en una sustancia que de positivo en otra prueba.

Por supuesto, la persona experta en la técnica diseñará cualquier experimento de control apropiado con el que comparar los resultados obtenidos en el ensayo de prueba.

El comportamiento de un procedimiento de ensayo se puede seguir por el aislamiento y/o la fabricación y/o la utilización de un compuesto, una sustancia o una molécula que de positivo para la capacidad de modular la función *Mlo* y/o inducir la resistencia al agente patógeno, tal como resistencia al oidio.

El formato exacto de un ensayo se puede variar por los expertos en la técnica utilizando experiencia y conocimiento rutinarios. Por ejemplo, la interacción entre las sustancias se puede estudiar *in vitro* mediante el marcado con una marca detectable y puesta en contacto con otra que se ha inmovilizado en un soporte sólido. Los marcados detectables adecuados, especialmente para sustancias peptídicos, incluyen la ³⁵S-metionina que se pueda incorporar en los péptidos y los polipéptidos recombinantemente producidos. Los péptidos y los polipéptidos recombinantemente producidos se pueden también expresar como una proteína de fusión que contiene un epítopo que se pueda marcar con un anticuerpo.

Un ensayo puede también tomar la forma de un análisis *in vivo*. El análisis *in vivo* se puede realizar en una línea de células, tal como una cepa de levadura o una línea de células de mamífero en las que los polipéptidos o los péptidos relevantes se expresen a partir de uno o más vectores introducidos en la célula.

Por ejemplo, un polipéptido o un péptido que contienen un fragmento del *Mlo* o un peptidilo análogo o variante del mismo según lo descrito, se puede fusionar a un dominio de unión del ADN tal como el del factor de transcripción de la levadura GAL4. El factor de transcripción GAL4 incluye dos dominios funcionales. Estos dominios son el dominio de unión del ADN (GAL4DBD) y el dominio de activación de transcripción GAL4 (GAL4TAD). Mediante la fusión de dicho polipéptido o péptido a uno de esos dominios y otro polipéptido o péptido a los respectivos homólogos, se restaura un factor funcional de transcripción GAL4 solamente cuando interactúan dos polipéptidos o péptidos de interés. De este modo, la interacción de los polipéptidos o los péptidos se puede medir mediante la utilización de un gen indicador probablemente vinculado a un sitio de unión del ADN de GAL-4 que sea capaz de activar la transcripción de dicho gen indicador. Este formato de ensayo de encuentra descrito por Fields y Song, 1989, Nature 340; 245-246. Este tipo de formato de ensayo se puede utilizar tanto en células de mamífero como en las de levadura. Se encuentran disponibles en la técnica y se pueden preferir otras combinaciones de dominio de unión de ADN y dominio de activación de transcripción, por ejemplo, tal como el dominio de unión de ADN de LexA y el dominio de activación de transcripción VP60.

Cuando se buscan los péptidos u otras sustancias que interactúan con el *Mlo*, el polipéptido o el péptido *Mlo* se puede emplear como una fusión con (por ejemplo) el dominio de unión de ADN de LexA, con el polipéptido o el péptido de prueba (por ejemplo, una biblioteca de péptidos aleatoria o combinatoria) como una fusión con (por ejemplo) el VP60. Un incremento en la expresión del gen indicador (por ejemplo, en el caso de la β -galactosidasa una consolidación del color azul) resulta de la presencia de un péptido que interactúa con el *Mlo*, cuya interacción se requiere para la activación de transcripción del gen de la β -galactosidasa.

La cantidad de sustancia o compuesto de prueba que se puede agregar a un ensayo se determinará normalmente por ensayo y error dependiendo del tipo de compuesto utilizado. Normalmente, se puede utilizar desde aproximadamente 0,001 nM hasta 1 mM o más concentraciones de posible compuesto inhibidor, por ejemplo, a partir de 0,01 nM hasta 100 μ M, por ejemplo, desde 0,1 hasta 50 μ M, tal como aproximadamente 10 μ M. Se pueden utilizar mayores concentraciones cuando un péptido es la sustancia de prueba. Incluso una molécula que tenga un efecto débil puede ser un compuesto de plomo útil para la posterior investigación y desarrollo.

Los compuestos que se puede utilizar puede ser compuestos químicos naturales o sintéticos utilizados en programas de cribaje del fármaco. También pueden ser utilizados los extractos de plantas que contengan diversos componentes caracterizados o descaracterizados. Los anticuerpos dirigieron al *Mlo* o a una forma del fragmento del mismo una clase adicional de los posibles compuestos inhibidores. Se pueden caracterizar los anticuerpos del inhibidor candidato y se pueden determinar sus regiones de unión para proporcionar los anticuerpos de cadena simple y los fragmentos del mismo que son responsables de interrumpir la interacción. Otros compuestos del inhibidor candidato se pueden basar en el modelado de la estructura tridimensional de un fragmento de polipéptido o péptido y utilizar el diseño racional del fármaco para proporcionar al compuesto del inhibidor potencial características moleculares particulares de forma, tamaño y carga. Vale el observar, sin embargo, que la tecnología combinatoria de la biblioteca proporciona un modo eficiente de probar un potencialmente gran número de diversas sustancias para la capacidad de interactuar con y/o modular la actividad de un polipéptido. Dichas bibliotecas y su uso son conocidas por la técnica, para todo tipo de productos naturales, pequeñas moléculas y péptidos, entre otros. Se puede preferir en ciertas circunstancias el uso de las bibliotecas del péptido.

Después de la identificación de una sustancia o un agente que modulan o afectan la función *Mlo*, la sustancia o el agente se pueden además investigar. Además, se puede manufacturar y/o utilizar en preparación, es decir, fabricación o formulación, de una composición para inducir resistencia al agente patógeno en una planta. Éstos se pueden aplicar a las plantas, por ejemplo, para inducir resistencia al agente patógeno, tal como resistencia al oidio. Un procedimiento para inducir resistencia al agente patógeno en una planta puede incluir la aplicación de dicha sustancia a la planta. Se puede aplicar una molécula peptídica a una planta transgénicamente, por la expresión del ácido nucleico codificado, tal y como se apuntó.

Un polipéptido, péptido u otra sustancia, capaces de modular o interferir con la función *Mlo*, induciendo resistencia al agente patógeno en una planta según lo descrito en la presente invención, o una molécula de ácido nucleico que codifica un peptidilo tal como una molécula, se pueden proporcionar en un conjunto, por ejemplo, sellado en un envase adecuado que proteja su contenido contra el ambiente exterior. Dicho conjunto puede incluir las instrucciones para su uso.

La presente invención se ejemplificará ahora mediante la ilustración con referencia a las siguientes figuras:

Figura 1: Clonación Posicional del *Mlo*. El locus *Mlo* se ha trazado con precisión cada vez mayor en el brazo largo del cromosoma 4 de la cebada utilizando marcadores morfológicos, RFLP y AFLP. La parte superior de la figura presenta los mapas de combinaciones genéticas de estos marcadores en relación con el *Mlo*. Todas las distancias genéticas se encuentran indicadas en centiMorgan (cM) en base al análisis de vinculación de los componentes multipunto a excepción de las distancias genéticas entre los marcadores AFLP que se calculan mediante los dos puntos de las estimaciones. El mapa del marcador morfológico (Jørgensen, 1977) coloca el *Mlo* en una distancia de más de 20 cM de la vaina foliar vellosa (*Hs*) y la vaina/punta brillante (*gs1*). El mapa del marcador RFLP se basa en el análisis de 257 individuos F_2 derivados del cruzamiento Carlsberg II *Mlo* Grannenlose Zweizeilige *mlo-11*. El mapa RFLP previamente publicado (Hinze *et al.*, 1991) del mismo cruzamiento se basó en solamente 44 individuos F_2 . El gen se delimitó a un intervalo de 2,7 cM limitado por los marcadores bAO11 y bAL88. Los marcadores AFLP se identificaron y se trazaron según lo descrito en procedimientos experimentales. Su distancia genética al *Mlo* se basa en el cruzamiento Ingrid *Mlo* x BC₇ Ingrid *mlo-3*. El resultado crucial del análisis del AFLP ha sido la identificación de dos marcadores, Bpm2 y Bpm9, definiendo intervalos de 0,64 cM que contenían el locus *Mlo* y un marcador (Bpm16) cosegregando con el *Mlo* sobre la base de más de 4.000 eventos meióticos. El marcador Bxm2 que se encuentra situado a 0,1 cM en la orientación telomérica del *Mlo* se derivado de la plantilla de ADN del BAC F15 (véase posteriormente). Un clon del YAC, el YAC YHV303-A6, que contiene el marcador Bpm16 cosegregando y dos locus que lo flanquean (Bpm2 y Bpm9), se representa en la sección central de la figura. La posición del marcador Bpm9 solamente se estimaba por así decirlo dentro del clon YAC según lo indicado por la flecha. La inserción de BAC F15 representa un subfragmento de 60 kb de este YAC según lo indicado en la parte más inferior de la figura. Después de la identificación del marcador Bpm2 del AFLP en el BAC F15, el marcador Bxm2 se descubrió y se colocó a 0,1 cM en la orientación telomérica del *Mlo*. Se encuentran indicados la posición física aproximada de los marcadores Bpm2, Bpm16 y Bxm2 del AFLP (que abarca un intervalo de aproximadamente 30 kb) así como la localización de algunos sitios de restricción que tienen lugar rara vez. Las líneas discontinuas por debajo de la representación esquemática del ADN del BAC F15 representan la posición de los cóntigos más grandes establecidos de la secuencia del ADN. La estructura del gen *Mlo*

se da esquemáticamente en el fondo de la Figura. Los exones se encuentran destacados mediante barras negras. Las posiciones de los eventos mutacionales se indican para los once alelos *mlo* probados. Los alelos del mutante que llevan las cancelaciones en su secuencia de nucleótidos se marcan con un Δ ; los alelos del mutante restantes representan substituciones de un solo nucleótido dando lugar en cada caso a intercambios de aminoácidos.

La Figura 2 representa una secuencia de codificación del *Mlo* y una secuencia codificada de aminoácidos según la presente invención. Se representa la secuencia de aminoácidos precedida a partir de secuencias de ADN de productos de RT-PCR de *Mlo* Ingrid. Los números de los nucleótidos se dan según el sitio de inicio de translación.

Figura 3: El Análisis de Transferencia Northern de la Acumulación de Transcripción del *Mlo*. El ARN (20 μ g) y el ARN poly(A)⁺ (5 μ g) totales de las hojas primarias de cebada no infectadas de siete días de vida de uno en estado natural (cultivo Ingrid *Mlo*) y dos cultivos mutantes (BC Ingrid *mlo-1*, BC Ingrid *mlo-3*) se aislaron, separados en un gel de formaldehído al 1,2% y transferidos a una membrana de nitrocelulosa (Hybond). El filtro se probó en condiciones rigurosas (Sambrook *et al.*, 1989) con el producto de RT-PCR del mismo tamaño radiomarcado derivado del Ingrid *Mlo* (Figura 7). Se detecta sólo una señal clara en los carriles que contienen ARN poly(A)⁺. La señal corresponde a un tamaño de aproximadamente 2 kb.

Figura 4: El Análisis de Transferencia Southern de Recombinantes Intragénicos derivados de cruzamientos heteroalélicos de *mlo*. Los alelos de dos marcadores RFLP que flanqueaban el *Mlo* en lados opuestos de los individuos susceptibles *F*₂ o la progenie resistente homocigótica y susceptible homocigótica se determinaron mediante el Análisis de Transferencia Southern. El ADN de la planta (10 μ g) de los individuos se digirieron con *Pst* I (A) o *Hae* III (B) y se hibridó con los marcadores WG114 (panel superior; trazos a 3,1 cM en la orientación centromérica al *Mlo*; véase la Figura 1) y ABG366 (el panel más bajo; trazos a 0,7 cM en la orientación telomérica al *Mlo*; véase la Figura 1) del RFLP radiomarcados, según procedimientos estándar (Sambrook *et al.*, 1989). Se probaron un ADN de las líneas parentales *mlo-8* y *mlo-1* y dos progenies susceptibles homocigóticas (S, *Mlo Mlo*) y dos progenies resistentes (R, *mlo mlo*) derivadas a partir de dos plantas susceptibles *F*₂ (designadas 1 y 2). Los ADNs en los carriles S y R representan la selección de individuos *F*₃ a partir de familias *F*₃ obtenidas mediante la autofecundación de los individuos *F*₂ susceptibles 1 y 2. Apuntar que se espera que los individuos susceptibles *F*₂ sean heterocigóticos en el *Mlo* en este esquema de la sección. Los fenotipos de la infección se anotaron siete días después de la inoculación con el K1 aislante avirulento del *mlo*. El ADN de un tercer individuo susceptible de este cruzamiento heteroalélico (véase la Tabla 7) no se encuentra incluido en esta Figura. Se probaron el ADN B de las líneas parentales *mlo-5* y *mlo-1* y siete progenies susceptibles homocigóticas (S, *Mlo Mlo*) y siete progenies resistentes (R, *mlo mlo*) derivados a partir de siete plantas *F*₂ susceptibles (designadas del 1 al 7). Los ADNs en los carriles S y R representan los individuos *F*₃ seleccionados de las familias *F*₃ obtenidas mediante la autofecundación de los individuos *F*₂ susceptibles 1 a 7. Se analizó el ADN a partir de dos individuos susceptibles adicionales de este cruzamiento heteroalélico solamente en la generación *F*₂ (8* y 9*).

La figura 5 representa una alineación de secuencias genómicas que cubren el gen *Mlo* de la cebada y un homólogo del arroz aislado por medio de la hibridación cruzada con una sonda específica del gen de la cebada. La línea superior representa la secuencia genómica del ADN del *Mlo* de la cebada (las secuencias de exón se encuentran subrayadas). La línea del fondo representa la secuencia genómica del arroz la secuencia que contiene el homólogo del *Mlo* del arroz.

Figura 6 representa una alineación de secuencias genómicas que llevan el gen *Mlo* de la cebada y un homólogo de la cebada aislado por medio de la hibridación cruzada con una sonda específica del gen de la cebada. La línea superior representa una secuencia del ADN genómico del *Mlo* de la cebada (las secuencias de exón se encuentran subrayadas). La línea del fondo representa la secuencia genómica que contiene el homólogo del *Mlo* de la cebada.

Figura 7: Nucleótido y Secuencia de Aminoácidos Deducida a partir del ADNc del *Mlo* de la cebada. El nucleótido y la secuencia de aminoácidos deducida se basan en los datos combinados de RT-PCR y RACE obtenidos a partir de experimentos utilizando el ARN del cultivo Ingrid *Mlo*. Se marca mediante un asterisco el codón de terminación, se subraya la posible señal de poliadenilación y los términos detectados de los productos RACE se indican mediante flechas sobre la secuencia. Las posiciones de los intrones tal y como se identifican por comparación con los clones genómicos correspondientes se marcan mediante triángulos debajo de la secuencia de los ácidos nucleicos. Seis hélices precedidas que abarcan la transmembrana según el algoritmo de MEMSAT (Jones *et al.*, 1994) se encuentran en barras en color gris. Una posible señal de localización nuclear (K-K-K-V-R) y el sitio de la quinasa de la caseína II (S-IF-D) en la mitad del terminal carboxilo de la proteína se representan en negrita.

La Figura 8 representa la secuencia genómica del homólogo del arroz (*Oryza sativa*) que incluye las secuencias de codificación y flanqueadoras.

La Figura 9 representa la secuencia genómica del homólogo de la cebada (*Hordeum vulgare*) que incluye las secuencias de codificación y flanqueadoras.

La Figura 10 representa la secuencia de ADNc del homólogo del arroz.

La Figura 11 representa la secuencia de ADNc del homólogo de la cebada.

La Figura 12 representa la secuencia de ADNc del homólogo de la *Arabidopsis thaliana*.

La Figura 13 representa la secuencia de aminoácidos del homólogo del arroz.

5 La Figura 14 representa la secuencia de aminoácidos del homólogo de la cebada.

La Figura 15 representa la secuencia de aminoácidos del homólogo de la *Arabidopsis*.

10 La Figura 16 representa un buen conjunto de secuencias de aminoácidos de los homólogos del Mlo, la cebada, el arroz y la *Arabidopsis*.

Ejemplo 1

15 Clonación del Mlo de la cebada

Búsqueda objetiva de los marcadores AFLP fuertemente vinculados al Mlo

Los esfuerzos para aumentar la densidad del marcador del ADN alrededor de Mlo se coordinaron intentando
 20 construir un mapa genético de alta resolución local. Una posibilidad diferente habría sido ampliar el tamaño de la población del cruzamiento Carlsberg II Mlo x Grannenlose Zweizeilige mlo-11 caracterizado (Hinze *et al.*, 1991) pero tenía sentido para que fuera ventajoso establecer un mapa de alta resolución que comenzaba a partir de unas líneas BC de mlo adecuadas y de su línea parental recurrente. Lo que importa es que parental donante de la línea BC representa un fondo genético diferente en comparación con la línea parental recurrente. De esta manera, la búsqueda de los
 25 marcadores AFLP vinculados se podía comenzar paralelamente con la generación de una población de trazado grande a partir de un cruzamiento entre las mismas líneas genéticas. Además, la línea BC basada en el cruzamiento permitió la prueba de colinealidad de los marcadores del ADN en las inmediaciones del Mlo según lo determinado a partir del cruzamiento Carlsberg II Mlo x Grannenlose Zweizeilige mlo-11 (Hinze *et al.*, 1991). Para el nuevo cruzamiento a una línea de retrocruzamiento (BC) de mlo-3 se utilizó que se había retrocruzamiento siete veces en el fondo Ingrid genético (BC₇ Ingrid mlo-3; Hinze *et al.*, 1991). La línea se caracterizó previamente para llevar un segmento de ADN
 30 introgresado relativamente pequeño en el cromosoma 4 de la cebada. Además, la línea parental donante de la *Malteria Heda mlo-3* muestra con respecto al ADN de los polimorfismos Ingrid parentales recurrentes con la mayor parte de los locus RFLP identificados vinculados al Mlo. De este modo, buscando polimorfismos solamente entre dos plantillas de ADN, a partir de líneas Ingrid Mlo y BC₇ Ingrid mlo-3, esperábamos aumentar la densidad de los marcadores de
 35 ADN con los AFLPs alrededor del Mlo de una manera objetiva.

Las mismas dos líneas se cruzan para establecer una población de segregación para el trazado de alta resolución de los marcadores del ADN, representando formalmente unos ocho retrocruzamientos. Los individuos F₂ se anotaron para la resistencia del mlo después de la inoculación del oidio con el K1 aislante (virulento en el Ingrid Mlo y no virulento
 40 en el BC₇ Ingrid mlo-3). Inicialmente, solamente una pequeña fracción de F₂ (77 individuos) se analizaron para la recombinación de eventos con marcadores de RFLP flaqueadores. El análisis de cuatro recombinantes identificados (designados como 8-32-2, 7-38-4, 1-34-1 y 1-49-4) indicó la colinealidad del orden del marcador en este cruzamiento comparado con el cruzamiento Carlsberg II Mlo x Grannenlose Zweizeilige mlo-11 (Hinze *et al.*, 1991) analizado previamente. Varias de las 77 plantas de semillero F₂ que exhibieron un fenotipo susceptible y una heterocigocidad
 45 para los locus de marcadores del ADN flaqueadores probados (bAO11, bAL88/2, y bAP91; Hinze *et al.*, 1991) se maduraban para proporcionar además el material de la semilla autofecundada que segregaba para el Mlo/mlo-3 en la generación F₃. En total, el material de la hoja se cosechó para el marcador de alta resolución que trazaba a partir de 2.026 individuos derivados de la generación F₂ o F₃ autofecundada.

Los candidatos a marcadores de AFLP se identificaron probando todas las combinaciones posibles de cebador *Pst* I/Mse I (1.024) que se extendían en secuencias genómicas hasta las posiciones del nucleótido +2 y +3, respectivamente. De modo parecido, se ha analizado casi 1.900 combinaciones de cebador *Eco* RI/Mse I (+3/+3). Cuatro plantillas de ADN se incluyeron en este análisis: Ingrid Mlo, BC₇ Ingrid mlo-3, una fuente de ADN de dos individuos F₂ fenotípicamente resistentes del mlo, y una fuente de ADN de nueve individuos F₂ fenotípicamente susceptibles. Los individuos
 55 F₂ resistentes y susceptibles que se incluyeron como fuentes de ADN en la búsqueda de AFLPse habían seleccionado del análisis RFLP mencionado anteriormente de 77 segregantes F₂. El ADN de F₂ combinada nos permitió controlar si los polimorfismos del candidato detectados entre la plantilla de ADN de los parentales eran rasgos hereditarios en el F₂. Todos los marcadores identificados del candidato de AFLP se han reexaminado con ocho plantillas de ADN: Ingrid Mlo, BC₇ Ingrid mlo-3, fuentes de ADN de individuos de tres familias F₃ que sean susceptibles homocigóticos fenotípicamente (*Mlo Mlo*) según los experimentos de inoculación de K1; ADN de tres individuos F₂ resistentes. Un
 60 total de 18 cebadores *Pst* I/Mse I y 20 *Eco* RI/Mse I se confirmaron en base al procedimiento de selección.

El número de marcadores AFLP identificados fue útil para asignarlos primero por así decirlo para los intervalos del marcador basados en el mapa RFLP alrededor del Mlo. Se esperaba que este enfoque permitiera tanto la evaluación
 65 de la distribución de los AFLPs entre los intervalos RFLP previamente identificados cerca del Mlo como la selección de un par de marcadores AFLP flaqueadores con los que los recombinantes se podrían identificar entre los 2.026 segregantes. Para la asignación del AFLP utilizamos esos cuatro recombinantes que se habían identificado con los marcadores RFLP fuera de la pequeña muestra mencionada anteriormente de 77 segregantes F₂ a partir del Ingrid

Mlo x BC₇ Ingrid *mlo-3* (dos recombinantes en el intervalo bAP91-bAL88, uno en el *Mlo*-bAO11, y uno en el bAO11-ABG366). Se encontraron un total de 18 AFLPs para ser situados dentro de una distancia genética de aproximadamente 3,5 cM incluyendo el *Mlo*.

5 Construcción de un mapa de AFLP de alta resolución alrededor del *Mlo*

Se utilizó un procedimiento de dos etapas para construir el mapa del AFLP de alta resolución. Primero, se cribaron los 2.026 segregantes para los eventos de recombinación entre los dos marcadores del AFLP en los lados opuestos del *Mlo* y posteriormente se utilizaron solamente los pocos recombinantes identificados para trazar todo los AFLPs identificados en el intervalo objetivo de 3,5 cM. Se eligieron los marcadores Bpm1 y Bpm9 del AFLP, detectando cada uno fragmentos alélicos de ADN en el Ingrid *Mlo* y el BC₇ Ingrid *mlo-3* y situados en sitios opuestos del *Mlo* para el cribaje de las plantillas de ADN de los segregantes para los eventos de recombinación. Alternativamente, la búsqueda para los recombinantes se habría podido llevar a cabo con los marcadores bAO11 y bAL88 del RFLP flanqueadores. Sin embargo, aunque la conversión en los sitios polimórficos amplificados escindidos (CAPS) fuera acertada para ambos marcadores, se toparon con dificultades para exhibir los alelos de ambos locus simultáneamente a partir del ADN genómico purificada de forma rudimentaria. Se cribaron un total de 2.026 individuos (los segregantes F₂ o F₃) simultáneamente con los marcadores Bpm1 y Bpm9 del AFLP y se identificaron 98 recombinantes. El análisis del AFLP se llevó a cabo posteriormente con cada uno de las 98 plantillas de ADN de los recombinantes para identificar los alelos de cada uno de los identificados de los locus de AFLP. Los recombinantes se han autofecundado y los experimentos de inoculación con el K1 aislante del oídio se realizaron utilizando al menos 25 individuos de cada familia recombinante para deducir los alelos de la generación anterior en el locus *Mlo*. Los datos obtenidos permitieron la construcción de un mapa de alta resolución alrededor del *Mlo* basado en más de 4.000 eventos meióticos y una resolución de al menos 0,025 cM derivados por medio de los dos puntos de las estimaciones. El resultado esencial ha sido la identificación de un marcador del ADN cosegregando con el *Mlo* (Bpm16) y dos marcadores flanqueadores (Bpm2 y Bpm9) a una distancia de 0,25 y 0,4 cM, respectivamente (Figura 1).

Construcción de una biblioteca de YAC de la cebada de gran tamaño de insertos, aislado del Bpm16 que contiene los YACs, y la delimitación física del Mlo

La evidencia genética indica que la resistencia del *mlo* es debida a la pérdida de la función en el alelo en estado natural del *Mlo*. Por lo tanto, se decidió para establecer una biblioteca de YAC de gran tamaño de insertos a partir del cultivo Ingrid *Mlo* en el vector pYAC4 (Burke *et al.*, 1987; Hieter, 1990). El ADN de la Megabase adecuado para los experimentos de clonación del YAC se preparó en cantidades de miligramos a partir de los protoplastos mesófilos de semilleros de cinco días de vida según un protocolo modificado descrito por Siedler y Graner (1991). El ADN se digirió parcialmente con *Eco* RI en presencia de metiltransferasa de *Eco* RI para obtener fragmentos de ADN después de la electroforesis en gel en campo pulsante (PFGE) preparatoria en el rango de tamaño de 500 - 600 kb. Después de que la ligadura con *Eco* RI digiriera el pYAC4, el ADN se transformó en la cepa de la levadura AB1380 y se seleccionaron las colonias que llevaban el ADN del pYAC4 recombinante en el medio completo sintético solidificado que carecía de triptofano y uracilo (Sherman *et al.*, 1986). Se probaron cuarenta colonias de levadura aleatoriamente seleccionadas para la presencia de ADN de la cebada utilizando ADN genómico del ADN marcado de la cebada en experimentos Southern. Se encontró el tamaño de los insertos del YAC después de las separaciones del PFGE para variar entre los 500 y los 800 kb. En promedio se esperaba que una distancia genética de 0,2 cM para representarse en el clon individual del YAC recombinante. Se han generado un total de ~40.000 clones que representaban cuatro equivalentes del genoma de la cebada.

Se han aislado cuatro clones del YAC (designados como 303A6, 322G2, 400H11 y 417D1) con el marcador Bpm16 cosegregando con el *Mlo*. Su tamaño de insertos se determinó por el PFGE para ser de 650, 710, 650 y 820 kb, respectivamente. El análisis del AFLP había demostrado que tres de estos clones (303A6, 322G2 y 417D1) contienen también ambos locus del marcador flanqueador mientras que el clon 400H11 contiene solamente los locus Bpm16 y Bpm2. Estas conclusiones sugirieron con fuerza que el gen *Mlo* se había delimitado físicamente en los clones recombinantes 303A6, 322G2 y 417D1 del YAC.

El YAC 303A6 se eligió para los experimentos de subclonación en el vector pECsBAC4 del BAC que contenía un sitio *Eco* RI único (Shizuya *et al.*, 1992; el vector pECsBAC4 se encuentra descrito por Frijters y Michelmores, 1996; presentado). El ADN total de la levadura de este clon se digirió parcialmente con *Eco* RI para obtener fragmentos de ADN con un tamaño medio del 50 kb y ligado en el vector del BAC digerido y desfosforilado del *Eco* RI. Las colonias de bacterias que contenían el ADN derivado del YAC 303A6 en el pECsBAC4 se identificaron mediante replica de los experimentos de hibridación de colonias. Un conjunto de la colonia que contenía las membranas se hibridó con el ADN del AB1380 de la levadura marcado y el conjunto de replica se hibridó con el ADN del YAC303A6 marcado purificado con PFGE. Los clones recombinantes del BAC que contienen el locus Bpm16 del AFLP se identificaron posteriormente utilizando el fragmento *Pst* I/*Mse* I de Bpm16 genómico clonado de 108 pb como sonda en los experimentos de hibridación de la colonia.

Un clon BAC, el BAC F15, que contiene un inserto de ~60 kb se escogió para estudios detallados adicionales. Se encontró que el clon BAC recombinante contenía además el Bpm2 del locus del marcador del AFLP, pero no el Bpm9. En este punto, el ADN del inserto F15 del BAC indicó la acertada delimitación física en la orientación telomérica pero no se sabía si el inserto contendría secuencias que limitan en la dirección centromérica. En vez de construir un cóntigo de BAC entre el Bpm 16 y el Bpm9, se eligió la opción para desarrollar nuevos marcadores polimórficos a partir del

BAC F15. Un polimorfismo alélico *Xba* I/Mse I (designado como Bxm2) se identificó entre las líneas parentales del Ingrid *Mlo* y el BC₇ Ingrid *mlo-3*.

Un análisis de los 25 individuos recombinantes que llevaban los eventos de recombinación dentro del *Mlo* que contenía el intervalo Bpm2 - Bpm9 permitió el trazado del Bxm2 en la orientación centromérica a una distancia de 0,1 cM del *Mlo*. Solamente se encontraron cuatro de los 16 recombinantes disponibles en el intervalo Bpm9 - *Mlo* y ninguno de los 9 recombinantes en el intervalo *Mlo* - Bpm2 para exhibir un evento de recombinación entre el Bxm2 y el *Mlo*. Se concluyó que el *Mlo* se había delimitado físicamente en el BAC F15 entre los locus Bpm2 y Bxm2 del marcador (Figura 1).

Identificación del gen *Mlo* y de los mutantes del *mlo*

Se inició un proyecto de secuencia al azar para determinar los cóntigos de la secuencia del inserto de ~60 kb de BAC F15 antes de que el marcador Bxm2 se identificara y se mostrara para delimitar el gen en la orientación telomérica. En paralelo, se generó un mapa físico (Figura 1). El mapa físico indicó que los marcadores Bpm2 y Bxm2 flanqueadores son separados físicamente por ~30 kb. Los cóntigos de la secuencia se buscaron en las regiones de alta probabilidad de codificación utilizando las versiones UNIX del paquete de programas STADEN. Solamente un cóntigo de la secuencia de casi 6 kb, incluyendo el marcador Bpm16 cosegregando, reveló una extensa región con alta probabilidad de codificación.

Las reacciones de la RT-PCR se realizaron con el ARN total de la hoja derivado del cultivo Ingrid *Mlo* utilizando una serie de cebadores deducidos a partir de las regiones que indicaron altas probabilidades de la codificación y obtenidas en cada caso un distinto producto de amplificación. La secuencia de los productos de la RT-PCR más grandes reveló un solo marco de lectura abierto extenso de 1.602 pb (Figura 2). La posible proteína deducida de 533 aminoácidos tiene un peso molecular de 60,4 kDa. El producto de la RT-PCR de ~1,7 kb se utilizó como una sonda de hibridación y se detectó una sola transcripción de ARN de ~1,9 kb de longitud (Figura 3). Una comparación de la secuencia genómica y del fragmento más grande de la RT-PCR revela 12 exones y 11 intrones, cada uno flanqueado por las secuencias del sitio del empalme características (Figura 1).

Ya que el marcador Bpm16 se encuentra situado en el extremo 3' del gen descrito anteriormente (exón 11) y se cosegrega con el locus *Mlo*, comenzamos una secuencia directa de la PCR de varios alelos inducidos por el mutágeno disponibles de resistencia del *mlo*. Identificamos en 14 de 15 alteraciones probadas de nucleótido de alelos del mutante que dan lugar a alteraciones individuales del aminoácido, cancelaciones o cambios del marco de la secuencia en estado natural (Tabla 1). Sospechamos que el *mlo-2* del alelo del mutante se encuentra situado dentro del promotor o de las secuencias no translacionadas 5'. La región es de notoria dificultad para secuenciarse por medio de la secuencia directa de la PCR de la plantillas de ADN genómicos pero es probable que los experimentos que utilizan una serie de cebadores anidados solucionen este problema. En resumen, la secuencia comparativa del ADN genómico a partir de diversas líneas de *mlo* mutante y sus respectivos cultivos en estado natural de *Mlo* proporcionaron una prueba evidente que el *Mlo* se ha identificado.

Recombinantes Intragénicos

Había sido la intención proporcionar una cadena de evidencia para el aislamiento molecular del *Mlo* que no se basara en experimentos de complementación por medio de las plantas transgénicas de la cebada. Habíamos elegido desarrollar una herramienta genética inusual para confirmar que el gen identificado representaba el *Mlo*. Se razonó que si las mutaciones observadas en el gen descrito anteriormente provocaron la resistencia al hongo del oidio, los eventos de recombinación entre los sitios del alelo mutante deberían restablecer las secuencias en estado natural. Se predijo que aquellos recombinantes intragénicos pondrían de manifiesto la susceptibilidad en el ataque del oidio.

Se concibió un esquema de cruzamiento implicando los alelos de resistencia del *mlo*, el *mlo-1*, el *mlo-5* y el *mlo-8*. Los alelos mutantes se originan a partir de los fondos genéticos Haisa (*mlo-1*) y Carlsberg II (*mlo-5* y *mlo-8*). Los cruzamientos intermutantes se realizaron según se representa en la Tabla 2 que genera en cada caso por lo menos 10 plantas F₁. Las poblaciones F₂ se obtuvieron por autofertilización. Las plantas de semillero F₂ se criban para los individuos susceptibles poco comunes después de la inoculación con el K1 aislante del oidio que es virulento en cada cultivo en estado natural del *Mlo* parental. Los individuos F₂ susceptibles se identificaron con una frecuencia de ~6 x 10⁻⁴. En cambio, si los números comparables de progenies a partir de las autofecundaciones de cada uno de los mutantes del *mlo* se probaron para la resistencia al K1, no se identificó ninguna planta de semillero susceptible. Esta conclusión indicó con fuerza que la mayoría de los individuos susceptibles derivados de los cruzamientos intermutantes no era debido a los eventos de reversión espontáneos de los alelos *mlo* mutantes.

La herencia de los individuos F₂ susceptibles se probó después de la autofecundación en las familias F₃. Cada uno de los individuos F₂ segregó a los individuos F₃ susceptibles y resistentes que indicaban la heterocigocidad para la resistencia/susceptibilidad que conferían los alelos en los F₂. Las progenies F₃ susceptible homocigóticas se aislaron para la mayoría de individuos F₂ susceptibles mediante la autofecundación de individuos F₃ y la identificación posterior de familias F₄ en quienes solamente detectaron a los individuos susceptibles.

Se ha realizado un análisis molecular de los individuos susceptibles utilizando los marcadores del RFLP conocidos por estar firmemente vinculados (< 3 cM) a cada lado del locus *Mlo* (Figura 4). El marcador WG114 del RFLP

traza en orientación centromérica al *Mlo*, el marcador ABG366 traza en dirección del telómero. Los alelos del RFLP detectados se representan para los cruzamientos intermutantes *mlo-8* x *mlo-1* (A) y *mlo-1* x *mlo-5* (B). Se analizó el ADN a partir de los individuos F₂ susceptibles (indicados mediante un *) o a partir de la progenie F₃ susceptible homocigótica (S) y resistente homocigótica (R) obtenidos a partir de los individuos F₂ susceptibles autofecundados.

La progenie F₃ susceptible homocigótica de la planta F₂ número #1 susceptible del cruzamiento *mlo-1* x *mlo-8* (Figura 4) revela el alelo WG114 derivado del *mlo-1* parental en orientación centromérica al lado del *Mlo* y el alelo ABG366 del *mlo-8* parental en la orientación telomérica al *Mlo*. La progenie F₃ resistente homocigótica de la planta F₂ número #1 de este cruzamiento revela en cambio solamente los alelos del marcador flanqueador derivados del *mlo-1* parental. La conclusión indicó con fuerza que la susceptibilidad en la planta F₂ número #1 es provocada por un tipo de sobrecruzamiento de recombinación en la meiosis precedente de un cromosoma que da lugar a una restitución del alelo en estado natural del *Mlo* mientras que el segundo cromosoma F₂ del individuo 1 contiene un alelo funcionalmente inalterado del *mlo-1*. Los alelotipos de los locus del RFLP de la progenie F₃ susceptible homocigótica de la planta F₂ número #2 susceptible son idénticos a los descritos anteriormente. Sin embargo, los alelos del marcador flanqueador de la progenie F₃ resistente homocigótica de este individuo se encuentran en ambos casos derivados a partir del *mlo-8* parental. Se concluye que un tipo de cruzamiento de recombinación restituyó otra vez un alelo en estado natural del *Mlo* en el individuo F₂ número #2 susceptible.

Nueve individuos F₂ susceptibles se recuperaron del cruzamiento *mlo-1* x *mlo-5* (Figura 4). Para los individuos F₂ números #1 a #7 susceptibles se analizaron en el nivel del ADN tanto la progenie F₃ susceptible homocigótica como la resistente homocigótica. Observar que solamente el ADN de los individuos F₂ susceptibles heterocigótica se analizó en el caso de los individuos números #8 y #9 (marcados mediante un *). Se observaron los siguientes patrones del alelo con respecto a los locus del RFLP flanqueador: (i) La progenie F₃ resistente homocigótica demostró en ambos lados del *Mlo* o solamente los alelotipos de los locus WG114 y ABG366 derivados del *mlo-1* parental (los individuos números #1, #3, #6, #7) o solamente los alelotipos derivados del *mlo-5* parental (los individuos números #2, #4, #5). (ii) La progenie F₃ susceptibles homocigóticas demostró en cambio o solamente los alelotipos de ambos locus derivados del *mlo-5* parental (los individuos números #3, #5, #6) o demostraron diversos alelotipos en ambos lados del *Mlo* (los individuos números #1, #2, #4, #7). (iii) La progenie F₃ susceptible homocigótica con diversos alelotipos en ambos lados contiene siempre en orientación centromérica el alelo WG114 derivado del *mlo-1* y en orientación telomérica el alelo ABG366 derivado del *mlo-5*. (iv) El individuo F₂ número #8 susceptible heterocigótico revela en cualquier lado cerca del *Mlo* solamente a los alelos derivados del *mlo-5* parental. El individuo número #9 susceptible heterocigótico revela en los alelos en orientación centromérica derivados tanto del *mlo-1* parental como del *mlo-5* parental mientras que solamente el alelo derivado del *mlo-5* se detecta en orientación telomérica. Una interpretación global de los datos sugiere que la susceptibilidad en los individuos F₂ números #1, #2, #4, #7 y #9 sea provocada por un tipo de sobrecruzamiento de recombinación que restituye el alelo en estado natural del *Mlo*. Los tipos de no sobrecruzamiento de recombinación pudieron haber restituido el alelo en estado natural del *Mlo* en los individuos números #3, #5, #6 y #8.

Una compilación de los alelos detectados del RFLP flanqueador de todos los individuos F₂ susceptibles aislados o la progenie F₃ homocigótica se representa en la Tabla 3. Observar que el individuo número #3 del cruzamiento *mlo-1* x *mlo-8* no se representa en la Figura 4. La compilación revela que (i) los tipos de sobrecruzamiento de recombinación (CO) y los tipos de no sobrecruzamiento de recombinación (NCO) se encuentran en una proporción de 7:5, (ii) los tipos de cruzamiento de recombinación se encuentran resueltos unidireccionales, y (iii) los recombinantes del NCO no se observaron con los alelos del RFLP vinculados al *mlo-1* parental.

Los recombinantes intragénicos del tipo CO aislados de los cruzamientos *mlo* heteroalélicos se utilizaron para probar si habían sido restituidas las secuencias en estado natural del gen candidato del *Mlo*. Para los tres alelos relevantes *mlo-1* *mlo-5* y *mlo-8* se ha identificado los sitios de mutación del candidato de los alelos (Tablas 1 y 4). La secuencia directa de la PCR del ADN genómico de los recombinantes intragénicos susceptibles derivados tanto de los cruzamientos heteroalélicos *mlo-1* x *mlo-8* como de los *mlo-1* x *mlo-5* reveló la restitución de las secuencias en estado natural (Tabla 4). Esta observación sugiere con fuerza que el evento de sobrecruzamiento intragénico tuvo lugar entre el nucleótido -1 y el +483 en el primer cruzamiento y entre el +3 y el +483 en el segundo cruzamiento (según el sitio de inicio translacional). De este modo, el análisis molecular de siete recombinantes intragénicos a partir de dos cruzamientos heteroalélicos proporciona la prueba final de que el gen candidato descrito anteriormente representa el *Mlo*.

Ejemplo 2

Homólogos del gen *Mlo* identificado

Las bases de datos disponibles de la secuencia tag expresada (EST) de la *Oryza sativa* (arroz) y la *Arabidopsis thaliana* se buscaron para las secuencias homólogas de la proteína. Cinco clones de ADNc de la *Arabidopsis* se identificaron con los que se dedujeron las secuencias de aminoácidos mostraba una sustancial similitud a la proteína del *Mlo*. Notable es el clon 205N12T7 del ADNc que revela una probabilidad aleatoria de $1,2 \times 10^{-45}$. Además, se encontró al menos un homólogo significativo en el arroz (OSR16381A).

Una biblioteca de BAC de arroz (Wang *et al.*, 1995) también se ha cribado con un fragmento genómico de la cebada marcado que contenía el *Mlo*. Se aisló un clon de BAC que contenía un inserto de ~23 kb. El posterior aislamiento permite la subclonación de un fragmento de arroz genómico *Pst* I de 2,5 kb que demuestra la fuerte hibridación cruzada con la sonda del gen *Mlo* de la cebada. La secuencia del ADN de este fragmento reveló notables semejanzas de la secuencia del ADN dentro de las secuencias del exón del gen *Mlo* de la cebada (Figura 5).

Finalmente, el clon de la cebada genómica λ de 13 kb derivada del cultivo Igri (Stratagene) se aisló con un fragmento genómico de cebada marcado que contenía el *Mlo*. La secuencia de nucleótidos derivada de un fragmento *Sac* I de 2,6 kb subclonado revela otra vez amplias semejanzas de la secuencia en gen *Mlo* (Figura 6). La localización del homólogo del *Mlo* de la cebada dentro del genoma no se encuentra dentro del ADN de BAC F15.

En resumen, existe una prueba concluyente para los homólogos del *Mlo* tanto en una especie de planta monocotiledónea como dicotiledónea.

Discusión

Cualquier especulación en cuanto al modo de acción del *Mlo* y el ácido nucleico y los polipéptidos del *mlo* no debería proporcionar ninguna limitación en la naturaleza o el alcance de cualquier aspecto o realización de la presente invención.

En plantas, la resistencia a los agentes patógenos se determina con frecuencia mediante los genes de resistencia dominantes, cuyos productos se supone que reconocen los productos del gen de avirulencia derivados del agente patógeno. Este modo de defensa al agente patógeno sigue la hipótesis gen a gen de Flor (Flor, 1971). Recientemente, varios genes de resistencia del tipo “gen a gen” se han aislado molecularmente (Martin *et al.*, 1993; Bent *et al.*, 1994; Jones *et al.*, 1994; Mindrinos *et al.*, 1994; Whitham *et al.*, 1994; Grant *et al.*, 1995; Lawrence *et al.*, 1995; Song *et al.*, 1995). La sorprendente conclusión es que las proteínas deducidas comparten notables dominios estructurales similares aunque provocan las reacciones de resistencia a los agentes patógenos tales como virus, hongos y bacterias (Dangl, 1995; Staskawicz *et al.*, 1995). Los genes aislados codifican para las proteínas que contengan una región rica en leucina (LRR), con o sin un sitio de unión del nucleótido sujeto (NBS), indicativo de la unión del ligando y la interacción proteína - proteína o codifican una simple serina/treonina quinasa. Una combinación estructural de la LRR y el dominio de la quinasa se ha divulgado en la proteína deducida del gen de resistencia Xa21 del arroz (Song *et al.*, 1995). La similitud estructural de los genes de resistencia en una defensa del tipo “gen a gen” hace posible la existencia de unos mecanismos de resistencia subyacentes comunes.

La resistencia mediada por los alelos de resistencia recesivos del gen *Mlo* difieren en varios aspectos de la resistencia “gen a gen” (véase los comentarios introductorios anteriores). El aislamiento molecular del gen *Mlo* y la secuencia de varios alelos *mlo* inducidos por mutación descritos en la presente invención, confirma las interpretaciones anteriores de los estudios genéticos mutacionales y mendelianos combinados (Hentrich, 1979; Jørgensen, 1983). Se concluye que los alelos defectuosos del locus *Mlo* median la resistencia de amplio espectro a los agentes patógenos tal como el patógeno oidio. Esto es contradictorio con la implicación de un evento de reconocimiento específico de un producto derivado de un patógeno tal y como se ha propuesto para los genes de resistencia específicos de la raza.

Los efectos pleiotrópicos de los alelos *mlo* han proporcionado algunas pistas hacia el desarrollo de un concepto molecular de la respuesta de la resistencia de amplio espectro observada.

En primer lugar, las plantas del *mlo* que crecen asépticamente exhiben en una alta frecuencia una formación espontánea de las aposiciones de la pared celular (CWAs) en las células epidérmicas de la hoja (Wolter *et al.*, 1993). Esas CWAs se forman habitualmente en respuesta al intento de penetración del agente patógeno directamente por debajo del apresorio fúngico. Se cree que las CWAs forman una barrera física contra el ingreso del agente patógeno y que han estado implicadas en varias ocasiones en la resistencia mediada del *mlo* (Bayles, 1990).

En segundo lugar, en una fase posterior, las plantas desarrollan pequeñas manchas necróticas en la hoja detectables macroscópicamente. La respuesta espontánea de la necrosis de la hoja se ha estudiado extensivamente con una colección única de 95 alelos *mlo* inducidos químicamente (Hentrich, 1979). Los alelos se clasificaron como cualquiera que mostraba un fenotipo de la infección gradualmente diferente sobre la infección de una mezcla de nueve aislantes del oidio. Esos alelos *mlo* que dan lugar a un fenotipo de la infección intermedio (es decir, desarrollo de un considerable número de colonias fúngicas de esporulación sobre la inoculación) no mostraron ninguna necrosis espontánea perceptible en la hoja mientras que la categoría de los alelos de resistencia más efectivos exhibe una necrosis pronunciada en ausencia del agente patógeno. De este modo, existe evidencia sólida de que la categoría anterior de alelos *mlo* retiene la actividad residual del alelo en estado natural y esos alelos parecen que no exhiben ninguna necrosis espontánea detectable en la hoja.

En tercer lugar, una expresión constitutiva de genes relativos a la defensa se ha observado en las plantas de semillero del *mlo* que han crecido en condiciones libres de oidio, en hojas primarias con 10 - 11 días de vida; esto incluye los genes de la familia *PR-1*, las chitininas y las peroxidadas.

Hemos demostrado que el *mlo* en la cebada confiere resistencia creciente a diferentes tipos de roya amarilla (*Puccinia struiformis*) cuando una a una mezcla de polvo de talco y esporas se sopla con aire sobre las hojas de las plantas de

cebadas del *mlo* después de la aparición de la expresión constitutiva de los genes relacionados con la defensa (plantas de semillero de *mlo* con 10 - 11 días de vida).

De este modo, parece ser que las múltiples respuestas asociadas a la defensa se expresan constitutivamente en plantas del *mlo*.

La relación temporal de estos eventos es interesante: la aparición de la acumulación constitutiva de transcripción relativa a la defensa se detecta en plantas de semillero de 11 días de vida y precede a la formación de CWA que es seguida por el aspecto de la necrosis en la hoja visible macroscópicamente. Lo que es importante, sin embargo, es que la resistencia del *mlo* se puede probar experimentalmente cuanto antes en plantas de semillero de 5 días de vida y se encuentran completamente funcionales en este tiempo. Concluimos que la proteína del *Mlo* tiene una función reguladora negativa en la defensa de la planta y que las plantas con una proteína defectuosa se “preparan” para la aparición de las respuestas de defensa.

La secuencia de aminoácidos deducida del *Mlo* no revela ninguna homología significativa en cualquiera de los genes de resistencia de la planta descritos hasta ahora, apoyando la idea de un mecanismo de resistencia molecular distinto. El gen del *Mlo* no muestra tampoco similitudes llamativas en ninguna secuencia caracterizada de genes de planta o mamífero en diversas bases de datos. Sin embargo, las secuencias homólogas altamente significativas se han identificado en las bases de datos EST y genómicas tanto del arroz como de la *Arabidopsis thaliana* (Tabla 5 y Figura 5). Esto sugiere con fuerza que la proteína del *Mlo* represente a un miembro de una nueva familia de proteína. Un motivo de localización nuclear posible (NLS) se encuentra dentro del exón 12 proporcionando la indicación de la localización nuclear de la proteína (KEKKKVR; Nigg *et al.*, 1991). La importancia de este motivo se sostiene mediante un motivo de la quinasa de la caseína II localizada 14 aminoácidos en dirección del NH₂ terminal (SIFD; Rihs *et al.*, 1991). Las pruebas funcionales pueden examinar la posible localización subcelular de la proteína del *Mlo*.

Las mutaciones se han descrito también en la otras especies de plantas en la que las respuestas de defensa a los agentes patógeno parecen ser expresadas constitutivamente (Walbot *et al.*, 1983; Pryor, 1987; Jones, 1994). Se ha sugerido que esta clase de mutantes, llamados lesion mimics (Les) o los mutantes necróticos (nec), afectan al control de las respuestas de defensa de la planta. Los mutantes lesion mimics heredados recesivamente se han analizado sistemáticamente en la *Arabidopsis thaliana* (Greenberg and Ausubel, 1993; Dietrich *et al.*, 1994; Greenberg *et al.*, 1994; Weymann *et al.* 1995). Los genes afectados se han designado como *acd* (muerte celular acelerada; *acd1* y *acd2*) o *lsd* (lesiones que simulan la respuesta de la resistencia a la enfermedad; *lsd1* a *lsd7*).

Cada uno de los mutantes exhibe, en ausencia de agente patógeno, características HR tales como modificaciones en la pared celular de la planta y la acumulación de transcripciones del gen relativas a la defensa. Las hojas del mutante *acd2* se han mostrado para acumular elevados niveles de ácido salicílico y de la *Arabidopsis phytoalexin*, camelexín (Tsuji *et al.*, 1992). Lo que es importante es que los mutantes *acd* y *lsd* exhiben una elevada resistencia a un agente patógeno bacteriano (*P. syringae*) y fúngico (*P. parasitica*). El mutante *lsd1* es excepcional al conferir una acentuada resistencia al agente patógeno en un estado de prelesión, en contraste con los otros locus defectuosos que exhiben una elevada resistencia al agente patógeno solamente en el estado positivo de lesión. En este sentido, el *lsd1* se asemeja a los mutantes del *mlo* en la cebada. Otra característica llamativa del *lsd1* es la extensión indeterminada de lesiones en contraste con los otros mutantes donde se encuentra determinado el crecimiento de la lesión.

Procedimientos experimentales

Material de la Planta

Una compilación de los mutantes del *mlo* y sus variedades madre analizadas en este estudio ha sido descrita por Jørgensen (1992) [*mlo-1*, *mlo-3*, *mlo-4*, *mlo-5*, *mlo-7*, *mlo-8*, *mlo-9*, *mlo-10*, *mlo-11*] y por Habekuss y Hentrich (1988) [mutantes en el cultivo Plena 2018 (*mlo-13*), 2034 (*mlo-17*), 2118]. Ya que el mutante 2118 no se ha asignado a un número de alelo hasta ahora, señalamos aquí el alelo como el *mlo-26*, según la enumeración vigente en la base de datos Grain Gene (gopher://greengenes.cit.cornell.edu:70/77/graingenes.n dx/index?mlo).

El mapa de alta resolución se basa en un cruzamiento entre Ingrid *Mlo* x BC₇ Ingrid *mlo-3*. Las plantas F₁ se autofecundaron generando una población F₂ de segregación de aproximadamente 600 plantas. Las plantas F₂ fenotípicamente susceptibles que mostraron heterocigocidad para los marcadores del RFLP en los sitios opuestos del *Mlo* se autofecundaron y se generaron además segregantes en la generación F₃ para el trazado de alta resolución.

Pruebas de Infección con Oidio

El aislante fúngico K1 (Hinze *et al.*, 1991) es virulento en todos los cultivos utilizados en el presente estudio que lleva el alelo *Mlo* y los avirulentos en todos los genotipos probados del *mlo*. El crecimiento de las plantas y la inoculación con la *Erysiphe graminis* f sp *hordei* se llevaron a cabo según lo descrito anteriormente (Freialdenhoven *et al.*, 1996). El genotipo en el *Mlo* de los recombinantes utilizados para el mapa de alta resolución se determinó después de la autofecundación y posteriores experimentos de inoculación en las familias F₃ o F₄ que comprenden al menos a 24 individuos.

Análisis AFLP

El ADN genómico para el análisis AFLP fue aislada según Stewart y Via (1993). El análisis AFLP se llevó a cabo con modificaciones de poca importancia según lo descrito por Vos *et al.* (1995). Para el cribaje de los marcadores de AFLP vinculados al *Mlo* utilizamos las combinaciones de enzimas Pst I/Mse I con los cebadores de amplificación que llevaban las bases selectivas +2 y +3, respectivamente, en las secuencias genómicas de los fragmentos amplificados. Para los cebadores de amplificación Eco RI/Mse I utilizamos las bases selectivas +3 y +3, respectivamente. Se ha utilizado un conjunto de cuatro plantillas de ADN: a partir del cultivo Ingrid *Mlo* parental susceptible, el BC₇ Ingrid *mlo-3* parental resistente, una fuente de dos individuos F₂ resistentes (*mlo-3 mlo-3*) y una fuente de nueve individuos F₂ susceptibles (*Mlo Mlo*) derivados del cruzamiento Ingrid *Mlo* x BC₇ Ingrid *mlo-3*. Los fragmentos genómicos amplificados que representan los marcadores Bpm2, Bpm9, y Bpm16 de AFLP (Figura 1) se clonaron y se secuenciaron como sigue: las piezas de gel (fijadas mediante secado al vacío en papel 3MM de Whatman) que contenían los fragmentos genómicos amplificados se identificaron por medio de autoradiografía y se extirparon posteriormente. Se agregaron 10 µl de agua, se hirvieron durante 10 minutos y después de la centrifugación se utilizaron 5 µl del sobrenadante como una plantilla para la reamplificación no radiactiva (30 ciclos) con los cebadores de AFLP selectivos. Se aislaron los productos de amplificación después del gel de agarosa utilizando un equipo de aislamiento de ADN (Jetsorb, Genomed Inc., Estados Unidos). El ADN se hizo reaccionar con polimerasa Klenow y T4 polinucleótido quinasa y posteriormente se clonó en el sitio EcoRV del pBluescript SK (Stratagene). Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo utilizando un equipo de reacción de secuenciación DYE Terminator Cycle (Perkin Elmer) y se resolvieron en un secuenciador automatizado ABI 373 o uno 377 (Applied Biosystems).

Biblioteca de YAC de la Cebada y Construcción de Subbiblioteca de BAC de la YAC YHV303-A6

La biblioteca de YAC del cultivo Ingrid de la cebada se estableció utilizando el vector pYAC4 (Burke *et al.*, 1987; Kuhn and Ludwig 1994) y la cepa AB 1380 de la levadura. Los detalles de la construcción de la biblioteca y su caracterización se describirán en otro lugar. El cribaje de los clones YAC que contienen el marcador Bpm16 se hizo mediante el análisis AFLP. Para la construcción de una subbiblioteca de BAC de YAC YHV303-A6, se utilizó el ADN total de este clon de la levadura. Después de la digestión parcial Eco RI y la electroforesis en gel en campo pulsante preparatoria, se recuperaron los fragmentos de ADN en el rango de tamaño de 50 kb y se subclonaron en el vector pECSBAC4. Se identificaron los clones que llevaban los insertos derivados YHV303-A6 mediante un procedimiento de hibridación de la colonia en dos etapas. Se utilizó el primer ADN marcado total de la cepa no recombinante de la levadura AB 1380 como una sonda para eliminar la mayor parte de los clones que llevaban el inserto de ADN derivado de la cepa del huésped. En una etapa de hibridación posterior los clones restantes se sondearon con el cromosoma recombinante marcado YHV303-A6 después del enriquecimiento mediante la electroforesis en gel preparatoria en campo pulsante.

Secuencia de ADN del BAC F15

El ADN del BAC F15 se aisló mediante una preparación alcalina de un plásmido a gran escala de lisis según Sambrook *et al.* (1989). Se nebulizaron 50 µg de ADN purificado mediante un tratamiento a alta presión con gas argón en una cámara de reacción durante 150 segundos. Los extremos del ADN cortado y reprecipitado se hicieron romos mediante un relleno mediado por T4 polimerasa de ADN en la reacción. Los fragmentos de ADN en el rango de tamaños entre 800 pb y 3 kb se aíslan de los geles de la agarosa utilizando un equipo de aislamiento de ADN (Jetsorb, Genomed Inc., Estados Unidos), subclonado en el vector pBluescript SK (Stratagene) y propagado en la *E. coli* DN5α. Se seleccionaron los clones que llevaban un inserto derivado del BAC F15 mediante hibridación utilizando el ADN cortado del BAC F15 como una sonda. Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo tal y como se describió anteriormente. La evaluación de los datos de la secuencia, la construcción de los cóntigos de la secuencia, y la valoración de las probabilidades de codificación se llevaron a cabo mediante el paquete de software de STADEN para los usuarios de Unix (4ª edición, 1994). La valoración de las probabilidades de codificación se basó en una evaluación combinada de frecuencias de bases posicionales irregulares, preferencia de bases posicionales y el uso del codón de la cebada en los cóntigos investigados. Las búsquedas de homología se llevaron a cabo utilizando el software BLAST.

Secuenciación Basada en la PCR de Alelos en el *Mlo*

El ADN cromosómico de la planta para este propósito se aisló según Chunwongse *et al.* (1993). Las secuencias de ADN de los alelos *Mlo* de las diferentes variedades de la cebada, los mutantes *mlo*, las líneas BC, y los recombinantes intragénicos utilizados en el presente estudio se obtuvieron mediante la secuenciación basada en la PCR. Siete subfragmentos traslapados del gen (cada uno de 400 pb - 600 pb de longitud) se amplificaron mediante PCR (35 ciclos, a 60°C de temperatura de apareamiento) utilizando los conjuntos de cebadores específicos. Después de la electroforesis en gel de agarosa preparatoria y el aislamiento de los productos de amplificación utilizando el equipo de Jetsorb (Genomed Inc., Estados Unidos) los fragmentos se reamplificaron para aumentar la especificidad. Los productos resultantes se purificaron posteriormente de los nucleótidos y los oligonucleótidos (Jetpure, Genomed Inc., Estados Unidos) y se utilizaron como plantilla de ADN que secuenciaba las reacciones (véase anteriormente). Todas las secuencias del ADN de los alelos mutantes y las regiones correspondientes de las líneas parentales y los recombinantes intragénicos se derivaron de ambos cepas y se confirmaron dos veces en sistemas independientes de experimentos. Además, los alelos mutantes *mlo-1*, *mlo-3*, *mlo-4*, *mlo-5*, *mlo-7*, *mlo-8*, *mlo-9* y *mlo-10* también se verificaron en las correspondientes líneas BC en el cultivo Ingrid.

La RT-PCR y la Rápida Ampliación de las Terminaciones de ADNc (RACE).

La RT-PCR se llevó a cabo utilizando el sistema de preamplificación SUPERScript para una primera síntesis de cadenas de ADN (Gibco BRL). El ARN total (1 μ g) de hojas primarias de la cebada (cultivo Ingrid) de siete días de vida sirvió como plantilla. La primera síntesis de cadenas de ADN se cebó mediante un cebador oligo(dT). La región de codificación del gen *Mlo* se amplificó posteriormente utilizando oligonucleótidos 25L (GTGCATCTGCGTGTCGTA) y 38 (CAGAACTTGTCTCATCCCTG) en una sola etapa de amplificación (35 ciclos, a 60°C de temperatura de apareamiento). El producto resultante se analizó mediante secuenciación directa. Las terminaciones 5' y 3' del ADNc del *Mlo* se determinaron mediante RACE (Frohman *et al.*, 1988) utilizando el equipo de amplificación de ADNc MARATHON (Clontech). Los procedimientos experimentales correspondientes se llevaron a cabo principalmente según las instrucciones del fabricante. Para obtener los productos RACE específicos, fueron necesarias dos series de amplificación consecutivas (35 ciclos, a 55°C de temperatura de apareamiento). Para este propósito, se utilizaron dos juegos de cebadores nidados en combinación con los cebadores adaptadores del equipo: oligonucleótidos 46 (AGGGTCAGGATCGCCAC) y 55 (TTGTGGAGGCCGTGTTCC) para la terminación 5' y cebadores 33 (TGCAGC TATATGACCTTCCCCCTC) y 37 (GGACATGCTGATGGCTCAGA) para la terminación 3'. Los productos RACE se subclonaron en el pBluescript SK (Stratagene). Diez clones de terminaciones 5' y ocho clones de terminaciones 3' se escogieron para el análisis de la secuencia del ADN.

El término "AFLPs" se utiliza en la presente invención para referirse a los "marcadores AFLP".

La Tabla 1 resume los sitios de mutación identificados de diversos mutantes dentro del gen *Mlo*. Se encuentran indicados el origen, el mutágeno y el efecto previsto de la mutación en el nivel de aminoácido.

La Tabla 2 representa el resultado de los cruzamientos heteroalélicos *mlo* y las autofecundaciones de las respectivas líneas *mlo* para aislar los eventos de recombinación intrangénicos.

La Tabla 3 resume los genotipos en los marcadores RFLP flanqueador en la progenie F₂ susceptible o F₃ homocigótica a partir de cruzamientos intermutantes. CO y NCO indican los recombinantes de tipo sobrecruzamiento y de tipo no sobrecruzamiento deducido a partir del intercambio de marcador molecular flanqueador. La Tabla 3 resume el análisis de la secuencia del ADN de los recombinantes intrangénicos susceptibles de tipo sobrecruzamiento (a partir de progenie F₃ susceptible homocigótica) y las correspondientes líneas mutantes *mlo* parentales. Se representan las secuencias que flanquean los sitios de mutación identificados.

La Tabla 4 representa los resultados de la secuenciación directa de la PCR del ADN genómico de los recombinantes intrangénicos susceptibles derivados tanto del cruzamiento heteroalélico *mlo-1* x *mlo-8* como del *mlo-1* x *mlo-5*, dejando ver la restitución de las secuencias en estado natural.

La Tabla 5 representa diversa *Arabidopsis thaliana* y dos tags de secuencias expresada (ETSs) del arroz con homología a la proteína *Mlo*.

La Tabla 5A representa las secuencias de aminoácidos, con "secuencia problema" indicando la parte de la secuencia de proteína *Mlo* con la que se ha encontrado homología, con la secuencia de aminoácidos prevista de cada EST identificado marcado con "secuencia introducida".

La Tabla 5B representa las secuencias de nucleótidos de la EST que codifican las secuencias de aminoácidos representadas en la Tabla 5A. Se representan el número de acceso GenBank T22145 (definición 4153 clon 97N8T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*, NCBI identificación de secuencia 932185), número T22146 (definición 4153 clon 97N9T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*, NCBI identificación de secuencia 932186), número N37544 (definición 18771 clon 205N12T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*, NCBI identificación de secuencia 1158686), número T88073 (definición 11769 clon 155I23T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*, NCBI identificación de secuencia 935932) número H76041 (definición 17746 clon 193P6T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*, NCBI identificación de secuencia 1053292), número D24287 (secuencia parcial de ADNc de arroz R16381A, nID g428139) y D24131 (secuencia parcial de ADNc de arroz R14081A, nID g427985). Las secuencias de *Arabidopsis* son de Newman *et al.* (1994) Plant Physiol. 106 1241-55. Las secuencias de arroz son de Minobe, Y. y Sasaki, T. presentado el 2 de noviembre de 1993 al DDBJ.

ES 2 317 652 T3

Tabla 1. Alelos Mutantes *mlo*.

Alelo	Variedad Madre	Mutágeno	Evento Mutacional en el <i>Mlo</i>	Efecto en el Nivel de Aminoácido
<i>mlo-1</i>	Haisa	Rayos X	T ⁴⁸⁴ → A	trp ¹⁶² → arg
<i>mlo-3</i>	Malteria Heda	Rayos γ	supresión de 2 nucleótidos (1188 - 1189)	marco de lectura después del phe ³⁹⁵
<i>mlo-4</i>	Foma	Rayos X	supresión de 11 nucleótidos (478 - 488)	marco de lectura después del trp ¹⁵⁹
<i>mlo-5</i>	Carlsberg II	EMS	G ³ → A	met ¹ → ile ^a
<i>mlo-7</i>	Carlsberg II	EMS	G ⁶⁷⁷ → A	gly ²²⁶ → asp
<i>mlo-8</i>	Carlsberg II	EMS	A ¹ → G	met ¹ → val ^a
<i>mlo-9</i>	Diamant	EMS	C ²⁸ → T	arg ¹⁰ → trp
<i>mlo-10</i>	Foma	Rayos γ	supresión de 6 nucleótidos (543 - 548)	faltan 2 aminoácidos (phe ¹⁸² , thr ¹⁸³)
<i>mlo-12</i>	Elgina	NMU	C ⁷²⁰ → A	phe ²⁴⁰ → leu
<i>mlo-13</i>	Plena	EMS	T ⁸⁹ → A	val ³⁰ → glu
<i>mlo-16</i>	Alsa	EMS	G ^{1917*} → A	alteración en el borde de empalme 3' del intrón 9
<i>mlo-17</i>	Plena	EMS	C ⁹² → T	ser ³¹ → phe
<i>mlo-26</i>	Plena	EMS	T ⁸⁰⁹ → A	leu ²⁷⁰ → his
<i>mlo-28</i>	Nadja	NaN ₃	C ⁶⁶⁵ → T	thr ²²² → ile

Los números de nucleótidos y aminoácidos se dan según el sitio de inicio translacional de la secuencia de ADNc del *Mlo*.

* Números de nucleótidos según el sitio de inicio translacional de la secuencia genómica de ADNc del *Mlo*.

EMS = sulfonato de etilmetano, NMU = nitrosometilurea, NaN₃ = azida de sodio.

^a El codón de inicio siguiente se encuentra en las posiciones de nucleótido 79 - 81 y se encuentra en el marco con la secuencia de codificación.

ES 2 317 652 T3

Tabla 2

Cruzamientos y autofecundaciones intermutantes de la progenie F₂

Cruzamiento de prueba	resistentes	susceptibles	frecuencia de progenie F ₂ susceptible
<i>mlo-8</i> x <i>mlo-1</i>	5.281	3	5,7 x 10 ⁻⁴
<i>mlo-5</i> x <i>mlo-1</i>	915	0	---
<i>mlo-5</i> x <i>mlo-1</i>	14.474	9	6,2 x 10 ⁻⁴
autofecundaciones	resistentes	susceptibles	
<i>mlo-1</i>	12.634	0	
<i>mlo-5</i>	5.498	0	
<i>mlo-8</i>	8.435	0	

Tabla 3. Genotipos en los Marcadores RFLP Flanqueadores en la Progenie Susceptible

Derivada del Cruzamiento Heteroalélico *mlo*

Cruzamiento de prueba	Susceptible Planta	Genotipo Parental en la Orientación Centromérica Mlo ¹	Genotipo Parental en la Orientación Telomérica al Mlo ²	Parental	Tipo de Recombinación
<i>mlo-8</i> x <i>mlo-1</i>	1	<i>mlo-1</i>	<i>mlo-8</i>		CO
	2	<i>mlo-1</i>	<i>mlo-8</i>		CO
	3	<i>mlo-8</i>	<i>mlo-8</i>		NCO
<i>mlo-1</i> x <i>mlo-5</i>	1	<i>mlo-1</i>	<i>mlo-5</i>		CO
	2	<i>mlo-1</i>	<i>mlo-5</i>		CO
	3	<i>mlo-5</i>	<i>mlo-5</i>		NCO
	4	<i>mlo-1</i>	<i>mlo-5</i>		CO
	5	<i>mlo-5</i>	<i>mlo-5</i>		NCO
	6	<i>mlo-5</i>	<i>mlo-5</i>		NCO
	7	<i>mlo-1</i>	<i>mlo-5</i>		CO
	8*	<i>mlo-5</i>	<i>mlo-5</i>		NCO
	9*	<i>mlo. + mlo-1</i>	<i>mlo-5</i>		CO

¹ deducido a partir de alelos del marcador RFLP WG114 (véase la Figura 1)

² deducido a partir de alelos del marcador RFLP ABG366 (véase la Figura 1)

CO = tipo de recombinación de sobre cruzamiento, NCO = tipo de recombinación de no sobre cruzamiento

* Los genotipos de los marcadores RFLP flanqueadores se han determinado en individuos F₂ heterocigóticos susceptibles; en todos los otros casos se probaron la progenie F₂ heterocigótica susceptible derivada de los individuos F₂ susceptibles

ES 2 317 652 T3

Tabla 4. Restitución de las Secuencias Mlo en Estado Natural mediante Eventos de Recombinación Intragénicos

		Secuencias de Nucleótidos		Sitios de Mutantes de Nucleótidos	
		Genotipos		Flanqueadores ¹	
		Nucleótidos -3 a +3		Nucleótidos 481 a 486	
5					
10	Haisa	<i>Mlo</i>	CCGATG	AATGGG	
		<i>mlo-1</i>	CCGATG	AAAGGG	
15	Carlsberg II	<i>Mlo</i>	CCGATG	AATGGG	
		<i>mlo-5</i>	CCGATA	AATGGG	
		<i>mlo-8</i>	CCGGTG	AATGGG	
20	Recombinante Intragénico	<i>mlo-1</i> x <i>mlo-8</i>	1 CCGATG	AATGGG	
			2 CCGATG	AATGGG	
		<i>mlo-1</i> x <i>mlo-5</i>	1 CCGATG	AATGGG	
25			2 CCGATG	AATGGG	
			4 CCGATG	AATGGG	
			7 CCGATG	AATGGG	
30			9 CCGATG	AATGGG	

¹ Los números de nucleótidos se dan según el sitio de inicio translacional (véase la Figura 2)

TABLA 5A

>EM EST1:AT1452 T22145 4153 clon 97N8T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*. 11/95

Longitud = 382

HSPs de cadena positiva:

Resultado = 248 (115,9 bits), Estimado = $2,9 \times 10^{27}$, P = $2,9 \times 10^{27}$

Identities = 47 / 100 (47%), Positivas = 67 / 100 (67%), Marco = +2

Secuencia problema: 242 KYIKRSMEDDFKVVVGISLPLNGVAITLFLDINGVGTLIWISFIPLVILLCVGKLEMI 301
 KY+ R++EDDFK VVGIS LW ++ L++NG T WI+FIPL +LL VGTKLE +
 Secuencia introducida: 2 KYMRALEDDFKQVVGISWYLVXFFVIFXLLNVNGWHTYFWIAFIFFXLLAVGKLEHV 181
 Secuencia problema: 302 IMEMALEIQDRASVIKGA PVVEPSNKEFFWFHRPDVLFPI 341
 I ++A E+ ++ I+G VV+P . + FWF +P VL+ I
 Secuencia introducida: 182 IAQLAHEVAEKHVAIEGDLVVKPPXHEFWFSKPQIVLYLI 301

ES 2 317 652 T3

>EM EST1:AT1462 T22146 4154 clon 97N9T7 de ADNC de la *Arabidopsis thaliana*. 11/95

Longitud = 390

5

HSPs de cadena positiva:

Resultado = 212 (99,1 bits), Estimado = $4,2 \times 10^{-26}$, Suma P (2) = $4,2 \times 10^{-26}$

10 Identidades = 47 / 83 (49%), Positivas = 58 / 83 (69%), Marco = +2

Secuencia problema: **242 KYIKRSMEDDFKVVVGISLPLWGVAILTLFLDINGVGTLIWISFIPLVILLCVGTKLEMI 301**
KY+ R++EDDFK VVGIS LN ++ L L++NG T WI+FIPL +LL VGTKLE +
 15 Secuencia introducida: **2 KYMRALEDDFKQVVGISWYLWKFVVFLLNVNGWHITYFWIAFIPFALLAVGKLEHV 181**
 Secuencia problema: **302 IMEMALEIQDRASVIKGAPEVEP 324**
I ++A E+ ++ I+G VV+P
 Secuencia introducida: **182 IAQLAHEVAEKHVAIEGDIVVKP 250**

20

Resultado = 52 (24,3 bits), Estimado = 1,9, Suma P (2) = 0,85

Identidades = 9 / 32 (28%), Positivas = 26 / 32 (50%), Marco = +2

25

Secuencia problema: **18 WAVAVVEAAMVLVSVLMEHGLHKLGHWFQHRH 49**
W + FA ++ V +EH + +L H +H
 Secuencia introducida: **122 WIAFIPFALLAVGKLEHVIAQLAHEVAEKH 217**

30

Resultado = 49 (22,9 bits), Estimado = $4,2 \times 10^{-26}$, Suma P (2) = $4,2 \times 10^{-26}$

Identidades = 8 / 17 (47%), Positivas = 12 / 17 (70%), Marco = +2

35

Secuencia problema: **323 EPSNKFVWFHPRDVLV 339**
E S++ FWF +P VL+
 Secuencia introducida: **244 ETSDEHFWFSKPQXVLY 294**

40

>EM EST1:AT4418 N37544 18771 clon 20SN12T7 de ADNC de la *Arabidopsis thaliana*. 1/96

Longitud = 585

45

HSPs de cadena positiva:

Resultado = 277 (129,5 bits), Estimado = $1,2 \times 10^{-45}$, Suma P (2) = $1,2 \times 10^{-45}$

50

Identidades = 51 / 96 (53%), Positivas = 71 / 96 (73%), Marco = +1

Secuencia problema: **236 SKFDFHKYIKRSMEDDFKVVVGISLPLWGVAILTLFLDINGVGTLIWISFIPLVILLCVG 295**
S+DFE KYI+RS+E DFK VV.IS +W VA+L L + G+ + +W+ FIPLV++L VG
 55 Secuencia introducida: **127 SRFDPRKYIQRSLKDFKTVEISPVIWFVAVLFLLTNSYGLRSYLWLPFIPLVVILIVG 306**
 Secuencia problema: **296 TKLEMIEMEMALEIQDRASVIKGAPEVEPSNKFVWF 331**
TKLE+II ++ L IQ+ V++GAPVV+P + FWF
 Secuencia introducida: **307 TKLEVIITKLGLRIQEEGDVVRGAPVVQPGDDXFWF 414**

60

65

ES 2 317 652 T3

Resultado = 121 (56,6 bits), Estimado = $1,2 \times 10^{-45}$, Suma P (2) = $1,2 \times 10^{-45}$

Identities = 25 / 45 (55%), Positivas = 29 / 45 (64%), Marco = +1

5

Secuencia problema: **196 SSTPGIRWVVAFFRQFFRSVTKVDYLTLRAGFINAHLSONSKFDF 240**
S T W+V FFRQFF SVTKVDYL L GFI AH + ++ F
 Secuencia introducida: **1 SKIRVTLWIVCFFRQFFGSVTKVDYLALXHGFIAMHFAFGNESRF 135**

10

>EM EST1:AT04117 H76041 17746 clon 193P6T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*. 11/95

Longitud = 476

15

HSPs de cadena positiva:

Resultado = 210 (98,2 bits), Estimado = $9,0 \times 10^{-36}$, Suma P (2) = $9,0 \times 10^{-36}$

20

Identities = 43 / 86 (50%), Positivas = 58 / 86 (67%), Marco = +1

25

Secuencia problema: **196 SSTPGIRWVVAFFRQFFRSVTKVDYLTLRAGFINAHLSONSKFDFHKYIKRSMEDDFKVV 255**
++TP V FFRQFF SV + DYLT LR GF +AHL+ KP+F +YIK S+EDDFK+V
 Secuencia introducida: **124 TTTPFXFNVCFFRQFFVSVERTDYLT LRHGFXSAHLAPGRKFNFRYIKXSLEDDFKIV 303**
 Secuencia problema: **256 VGISLPINGVAILTLFLDINGVGTLI 281**
VGI LW ++ L + +GT++
 Secuencia introducida: **304 VGIXPVLNASFVIFLAVQX*WLGTV 381**

30

Resultado = 119 (55,6 bits), Estimado = $9,0 \times 10^{-36}$, Suma P (2) = $9,0 \times 10^{-36}$

Identities = 24 / 57 (42%), Positivas = 32 / 57 (56%), Marco = +1

35

Secuencia problema: **156 MRTWKKEWETETTSLEYQFANDPARFRFTHQTSFVKRLGLSSTPGIRWVVAFFRQFF 212**
+R WKKWE T S +Y F D +R R TH+TSFV+ B +T + V F + P
 Secuencia introducida: **1 IRGWKKWEQXTLSNDYXFXIDHSRLRLTHETSFVREHTSFMTTTPFXFNVCFFRQF 171**

40

Resultado = 40 (18,7 bits), Estimado = $1,2 \times 10^{-08}$, Suma P (2) = $1,2 \times 10^{-08}$

Identities = 8 / 19 (42%), Positivas = 10 / 19 (52%), Marco = +2

45

Secuencia problema: **269 TLFLDINGVGTLIWISFIP 287**
+L + NG G L W S P
 Secuencia introducida: **344 SLLFNXNGWGPLFWASVPP 400**

50

>EM EST1:AT0739 T88073 11769 clon 155I23T7 de ADNc de la *Arabidopsis thaliana*. 11/95

Longitud = 460

55

HSPs de cadena positiva:

Resultado = 175 (81,8 bits), Estimado = $1,2 \times 10^{-24}$, Suma P (2) = $1,2 \times 10^{-24}$

60

65

ES 2 317 652 T3

Identities = 31 / 67 (46%), Positivas = 43 / 67 (64%), Marco = +1

Secuencia problema: **146 VITIALSRLLKMRWNKKWETETTSLEYQFANDPARFRFTHQTSFYKRHLGLSSTPGIRWVV 205**
 ++T A ++KMRTWK WE ET ++EYQ++NDP RFRF TSF +RHL S + +
 Secuencia introducida: **4 IVTYAFGKIQRWTKSWEEETKTIEYQYSNDPERFRFARDTSFGRRHLNFWSKTRVTLNI 183**

Resultado = 121 (56,6 bits), Estimado = $1,4^{-14}$, Suma P (2) = $1,4^{-14}$
 Identities = 25 / 45 (55%), Positivas = 29 / 45 (64%), Marco = +1

Secuencia problema: **196 SSTPGIRWVVAFFRQFFRSVTKVDYLTLRAGFINAHLSONSKFDF 240**
 S T W+V FFRQFF SVTKVDYL L GFI AH + ++ F
 Secuencia introducida: **157 SKTRVTLNIWVCFRQFFGSVTKVDYLALXHGFIAMFAPGNESRF 291**

Resultado = 75 (35,1 bits), Estimado = $1,2 \times 10^{-24}$, Suma P (2) = $1,2 \times 10^{-24}$
 Identities = 14 / 21 (66%), Positivas = 17 / 21 (80%), Marco = +1

Secuencia problema: **236 SKFDFHKYIKRSMEDDFKVVV 256**
 S+DFE KYI+RS+ DFK VV
 Secuencia introducida: **283 SRDFRKYIQRSLXDDFKTVV 345**

>EM EST5:OSR16381A D24287 ADnc de arroz, secuencia parcial (R1638_1A). 5/95
 Longitud = 400

HSPs de cadena positiva:
 Resultado = 147 (68,7 bits), Estimado = $1,9 \times 10^{-16}$, Suma P (2) = $1,9 \times 10^{-16}$
 Identities = 26 / 53 (49%), Positivas = 35 / 53 (66%), Marco = +1

Secuencia problema: **236 SKFDFHKYIKRSMEDDFKVVVGISLPLWGVAILTLFLDINGVGTILINISFIPL 288**
 ++F+F KYIKR +EDDFK VVGIS P W A+ + ++G L W S PL
 Secuencia introducida: **202 TRFNFRKYIKRXLEDDFKTVVGISAPXWASALAIMLENVHGWHNLFWFSTXPL 360**

Resultado = 45 (21,0 bits), Estimado = $1,9 \times 10^{-16}$, Suma P (2) = $1,9 \times 10^{-16}$
 Identities = 9 / 15 (55%), Positivas = 11 / 15 (64%), Marco = +2

Secuencia problema: **287 PLVILICVGTKLEMI 301**
 PL + L VGTKL+ I
 Secuencia introducida: **356 PLXVTLAVGTKLQAI 400**

ES 2 317 652 T3

>EM EST5:OSS1692A D39989 ADNC de arroz, secuencia parcial (S1692_1A). 11/94

Longitud = 343

5

HSPs de cadena positiva:

Resultado = 957 (44,4 bits), Estimado = 0,00059, P = 0,00059

10

Identidades = 24 / 58 (41%), Positivas = 31 / 58 (53%), Marco = +3

Secuencia problema: 43 HWFQHRHKALWEALEKMKAEMLVGFISLLLVITODPIIAKICISEDAADVMWPCRR 100
 H + H+ L +A+EKM E+ML+QFISLLL T I S+ PC R
 15 Secuencia introducida: J HXSEKTHRNPLHKAMEKMEEMLLGFISLLLAATSRIISGICIDSKYNSNFSPECTR 176

20

TABLA 5B

Número de Acceso GenBank T22145

25

1 caagtatatg atgcgcgctc tagaggatga tttcaaacaa gttggttggt ttagtttggt
 61 tctttggntc tttgtcgta tcttttctct gctaaatgtt aacggatggc acacatattt
 121 ctggatagca tttattccct ttctttgtct tcttgctgtg ggaacaaagt tggagcatgt
 181 nattgcacag ttagctcatg aagttgcaga gaaacatgta gccattgaag gagacttagt
 241 ggtgaaaccc ncanatgagc atttctgggt cagcaaacct caaattgttc tctacttgat
 301 cccattttat cctctttccc agaatgcntt tttagantgc ntttttntt tttggntttt
 361 ggggtaanan annggtttcg nc

30

Número de Acceso GenBank Número T22146

35

1 caagtatatg atgcgcgctc tagaggatga tttcaaacaa gttggttggt ttagtttggt
 61 tctttggntc tttgtcgta tcttttctct gctaaatgtt aacggatggc acacatattt
 121 ctggatagca tttattccct ttgtttgtct tcttgctgtg ggaacaaagt tggagcatgt
 40 181 nattgcacag ttagctcatg aagttgcaga gaaacatgta gccattgaag gagacttagt
 241 ggtgaaacct cagatgagca tttctgggtc agcaaacctc aaantgttct ctactngatc
 301 cncctttatc cctctccaga atgccttttt nangattcnn ntttttcctt nttgganntt
 361 ttgggnnnnc aaacgggntt nggacctccg

45

Número de Acceso GenBank Número N37544

50

1 agcaagacga gagtcacact atggattgtt tgttttttta gacagttctt tggatctgtc
 61 accaaagtgt attacttagc actaagncat ggtttcatca tggcgcatth tgctcccggt
 121 aacgaatcaa gattcgatth ccgcaagtat attcagagat cattagagaa agacttcaaa
 181 accgttggtg aaatcagttc gggtatctgg tttgtcgctg tgctattcct cttgaccaat
 241 tcatatggat tacgtttctta cctctgggtt ccattcattc cactagtcgt aattctaata
 55 301 gttggaacaa agcttgaaagt cataataaca aaattgggtc taaggatcca agaggaaggt
 361 gatgtggtga gaggcgcccc agtggttcag cctggtgatg accncttctg gtttngnaan
 421 cacgnttcaa thttttccnt antcacttng gcctttttan ggggtgaatt caacttcatn
 481 ctttncctgg ggnccggatga ttcaatccaa naatnttccc ctgaagnctn caagtttggtg
 541 cataggcttt nggtgggntt ttcaganttt nagtttggt tncct

60

65

ES 2 317 652 T3

Número de Acceso GenBank Número T88073

```

1 tgcattgtta cttatgcttt cggaaagatc aagatgagga cgtggaagtc gtgggaggaa
61 gagacaaaga caatagagta tcagtattcc aacgatcctg agagggttcag gtttgcnagg
121 gacacatctt ttgggagaag acatctcaat ttctggagca agacgagagt cacactatgg
181 attgtttgtt tttttagaca gttctttgga tctgtcacca aagttgatta cttagcacta
241 agncatgggt tcatcatggc gcattttgct cccggtaacg aatcaagatt cgatttccgc
301 aagtatatcc agagatcatt agngnaagac ttcaaaaaccg ttgtttgaaa tcagtccggt
361 tatctgggtt gtcggctgtg ctattccnct tgaccaatcc atatggntnc ggtnttnenc
421 tgggtaccatt attcnctagc ggaatntaaa agttggcnga

```

Número de Acceso GenBank Número H76041

```

1 attcgtggat ggaaaaagtg ggagcaagan acattatcta atgactatna gtttntctatt
61 gatcattcaa gacttaggct cactcatgag acttcttttg tnagagaaca tacaagtttc
121 tggacaacaa cncctttctn ctttaacgtc ggatgcttct ttaggcagtt ctttgtatct
181 gtngaaagaa cggactactt gactctgcgc catggattca nctctgccca tttagctcca
241 ggaagaaagt tcaacttcca gagatatatc aaangatttc tcgaggatga tttcaagttg
301 ttagttggaa taagnccagt tctttgggca tcatttgtaa tcttccttgc tgttcaatgn
361 taatggctgg ggaccattgt tttgggntc ggtaccgcct ntactcanaa ncccaggctt
421 ttggccaagg ttcaaggaat ttngggacaa tggggtagaa tcgtgggchc atnngg

```

Número de Acceso GenBank Número D24287

```

1 tcntnttttn ttttcgnntn cntccacccc tnnntnctc nancncnttn nnttatctc
61 tntntntntc ncntntcccn ncaccaccnn ncgacgggcn tggactnngc ccnnggttcg
121 aggctgcccc ctgncgtctg agacctacct tgn catttga cggcacngga cttcanttgc
181 tgctcacttt atctctacgg gactaggttc aattttcgga aatacatcaa aaggncactg
241 gaggacgatt ttaagacagt tgttggcatt agtgaccccn tatgggcttc tgcgttggcc
301 attatgctct tcaatgttca tggatggcat aacttgttct ggttctctac aatnccctt
361 gntagtaact ttagcagttg gaacaaagct gcaggctata

```

Número de Acceso GenBank Número D24131

```

1 cagactacct gactttgagg cacggattca ttgctgctca tttatctcta gggactaggt
61 tcaattttcg gaaatacatc aaaagggtcac tggaggacga ttttaagaca gttgttggca
121 ttagtgaccc cttatgggct tctgcgttgg ccattatgct cttnaatgtt catggatggc
181 ataacttgtt ctggttctct acaatcccc ttgtagtaac tttagcagtt ggaacaaagc
241 tgcaggctat aattgcaatg atggtgttgg aaattaaaga gaggcataca gtaattcaag
301 gaatgccggt ggtgaactca gtgat

```

Referencias

1. Bayles, et al. (1990). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 36, 63-72.
2. Becker, et al. (1995). *Mol. and Gen. Genet.* 49, 65-73.
3. Bennet, et al. (1991). *Phil. Trans. R. Soc. London (Biol)* 334, 309-345.
4. Bent, et al. (1994). *Science* 265, 1856-1860.
5. Boyd, et al. (1995). *Plant. J.*, 7, 959-968.
6. Bourque, J. E. (1995). *Plant Science* 105, 125-149.
7. Burke, et al. (1987). *Science* 236, 806-812.
8. Cao, et al. (1992). *Plant Cell Rep.* 11, 585-591.

9. **Christou**, *et al.* (1991). *Bio/Technology* 9, 957-962.
10. **Chunwongse**, *et al.* (1993). *Ther. Appl. Genet.*, 86, 694-698.
- 5 11. **Civardi** (1994).
12. **Cornejo**, *et al.* (1993). *Plant Molecular Biology* 23, 567-581.
13. **Dangl**, J. L. (1995). *Cell* 80, 363-366.
- 10 14. **Dangl**, J. L., *et al.* (1996). *Plant Cell* (en prensa).
15. **Datta**, *et al.* (1990). *Bio/Technology* 8, 736-740.
- 15 16. de **Feyter**, *et al.* (1996). *Molecular and General Genetics* 250, 329-338.
17. **D'Halluin**, *et al.* (1992). *Plant Cell* 4, 1495-1505.
18. **Dietrich**, *et al.* (1994). *Cell* 77, 565-577.
- 20 19. **Doke**, N. (1983). *Physiol. Plant Pathol.*, 23, 345-357.
20. **Doke**, N. y **Ohashi**, Y. (1988). *Physiol. Mol. Plant Path.*, 32, 163-175.
- 25 21. **Dooner**, H.K. y **Kermicle**, J.L. (1986). *Genetics*, 113, 135-143.
22. **Dujon**, B. (1996). *Trends Genet.*, 12, 263-270.
23. **Flavell**, R. B. (1994). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 3490-3496.
- 30 24. **Flor**, H. H. (1971). *Annu. Rev. Phytopathol.* 9, 275-296.
25. **Freeling**, M. (1978). *Genetics*, 89, 211-224.
- 35 26. **Freialdenhoven**, A., *et al.* (1996). *Plant Cell*, 8, 5-14.
27. **Frohman**, N.A., *et al.* (1988). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85, 8998-9002.
28. **Fromm**, *et al.* (1990). *Bio/Technology* 8, 833-839.
- 40 29. **Fugimoto**, *et al.* (1993). *Bio/Technology* 11, 1151-1155.
30. **Giovannoni**, J.J., *et al.* (1991). *Nucl. Acids Res.*, 19, 6553-6558.
- 45 31. **Gordon-Kamm**, *et al.* (1990). *Plant Cell* 2, 603-618.
32. **Görg**, R., *et al.* (1993). *Plant J.*, 3, 857-866.
33. **Grant**, *et al.* (1995). *Science* 269, 843-846.
- 50 34. **Greenberg**, *et al.* (1993). *The Plant Journal* 4, 327-341.
35. **Greenberg**, *et al.* (1994). *Cell* 77, 551-563.
- 55 36. **Habekuss**, A. y **Hentrich**, W. (1988). *Tag. Ber., Akad. Lanwirtsch.-Wiss. DDR, Berlín*, 272: 229-237.
37. **Hammond-Kosack**, K.E. y **Jones**, J.D.G. (1996). *The Plant Cell* (en prensa).
38. **Hartmann**, E., *et al.* (1989). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86: 5786-5790.
- 60 39. **Haselhoff**, *et al.* (1988). *Nature* 334, 585-491.
40. **Heath**, M.C. (1980). *Annu. Rev. Phytopathol.*, 18: 211-236.
- 65 41. **Hentrich**, W. (1979). *Arch. Zuchtungsvorsch.*, Berlin 9, S. 283-291.
42. **Heslop-Harrison**, J.S. (1991). *J. Cell Sci.*, 100, 15-21.

43. **Hiei**, *et al.* (1994). *The Plant Journal* 6, 271-282.

44. **Hieter**, *et al.* (1990). Cold Spring Harbor, NY, Col Spring Harbor Press.

45. **Hinze**, *et al.* (1991). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 3691-3695.

46. **Jabs**, T., *et al.* (1996). *Science*, 273, 1853-55.

47. **Jones**, D.T., *et al.* (1994). *Biochemistry*, 33, 3038-3049.

48. **Jones**, *et al.* (1994). *Science* 266, 789-793.

49. **Jones**, J. D. G. (1994). *Current Biology* 4, 749-751.

50. **Jørgensen**, J. H. (1977). Induced mutations against plant diseases (Simposio de Cultivos de Viena) 533-547.

51. **Jørgensen**, J. H. (1983). Induced mutations for disease resistance in crop plants II (Agencia Internacional de la Energía Atómica, Viena) 73-87.

52. **Jørgensen**, J. H. (1992). *Euphytica* 63, 141-152.

53. **Jørgensen**, J. H. (1994). *Critical Reviews in Plant Sciences* 13, 97-119.

54. **Jørgensen**, J.H. y **Mortensen**, K. (1977). *Phytopathology*, 67, 678-685.

55. **Klein**, P., *et al.* (1985). *Biochim. Biophys. Acta*, 815, 468-476.

56. **Koga**, H., *et al.* (1990). *Can. J. Bot.*, 68, 2344-2352.

57. **Koornneef**, M., *et al.* (1983). *Genet. Res. Camb.*, 41, 57-68.

58. **Kosslak**, R., *et al.* (1996). *J. Hered* (en prensa).

59. **Kuhn**, R.M. y **Ludwig**, R.A. (1994). *Gene*, 141, 125-127.

60. **Künzel**, G. (1982). *Theor. Appl. Genet.*, 64, 25-29.

61. **Kozziel**, *et al.* (1993). *Biotechnology* 11, 194-200.

62. **Lamb**, C.J. (1994). *Cell*, 76: 419-422.

63. **Lawrence**, *et al.* (1995). *The Plant Cell* 7, 1195-1206.

64. **Levine**, A., *et al.* (1994). *Cell*, 79: 583-593.

65. **Li**, *et al.* (1993). *Plant Cell Rep.* 12, 250-255.

66. **Linde-Laursen**, I., *et al.* (1982). *Z. Pflanzenzüchtg.*, 81, 191-219.

67. **Lundqvist**, U., *et al.* (1991). *Hereditas*, 115, 227-239.

68. **Martin**, *et al.* (1993). *Science* 262, 1432-1436.

69. **McClintock**, B. (1984). *Science*, 226, 792-801.

70. **Mindrin**, *et al.* (1994). *Cell* 78, 1089-1099.

71. **Moore**, *et al.* (1995). *Current Biology* 5, 737-739.

72. **Mourad**, G., *et al.* (1994). *Mol. Gen. Genet.*, 243, 178-184.

73. **Negassa**, M. (1985). *Hereditas*, 102, 113-121.

74. **Nigg**, *et al.* (1991). *Cell* 66, 15-22.

75. **Osborne**, *et al.* (1995). *Current Opinion in Cell Biology* 7, 406-413.

76. **Olsen**, O., *et al.* (1993). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 8043-8047.

ES 2 317 652 T3

77. **Peng**, *et al.* (1992). *Theor Appl Genet* 83, 855-863.
78. **Peng**, *et al.* (1991). *International Rice Research Institute*, Manila, Filipinas. 563-574.
- 5 79. **Pryor**, A. J. (1987). *Trends in Genetics* 3, 157-161.
80. **Raff**, M.C. (1992). *Nature*, 356, 397-400.
81. **Raff**, M.C., *et al.* (1993). *Science*, 262, 695-700.
- 10 82. **Rathore**, *et al.* (1993). *Plant Molecular Biology* 21, 871-884.
83. **Rihs**, *et al.* (1991). *EMBO J.* 10, 633-639.
- 15 84. **Ryerson**, D.E. y **Heath**, M.C. (1996). *Plant Cell*, 8, 393-402.
85. **Salamini**, F., y **Lorenzoni**, C. (1970). *Mol. Gen. Genet.*, 108, 225-232.
86. **Sambrook**, J., *et al.* (1989). *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, Nueva York.
- 20 87. **Schmidt**, R., *et al.* (1995). *Science*, 270, 480-483.
88. **Sherman**, *et al.* (1986). *Cold Spring Harbor, Nueva York, Cold Spring Harbor Laboratory Press*.
- 25 89. **Shimamoto**, K. (1994). *Current Opinion in Biotechnology* 5, 158-162.
90. **Shimamoto**, *et al.* (1989). *Nature* 338, 274-276.
91. **Shirley**, B.W., *et al.* (1992). *Plant Cell*, 4, 333-347.
- 30 92. **Shizuya**, *et al.* (1992). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8794-8797.
93. **Siedler**, *et al.* (1991). *Molecular and General Genetics* 226, 117-181.
- 35 94. **Søgaard**, *et al.* (1988). *Barley Genet. Newslett.* 17, 120-134.
95. **Somers**, *et al.* (1992). *Bio/Technology* 10, 1589-1594.
96. **Song**, *et al.* (1995). *Science* 270, 1804-1806.
- 40 97. **Stakman**, E.C. (1915). *J. Ag. Research*, 4: 193-199.
98. **Staskawicz**, *et al.* (1995). *Science* 268, 661-667.
- 45 99. **Stewart**, C.N. y **Via**, L.E. (1993). *BioTechniques*, 14: 748-750.
100. **Szostak**, J.W., *et al.* (1983). *Cell*, 33: 25-35.
101. **Tanksley**, *et al.* (1995). *Trends in Genetics* 11, 63-68.
- 50 102. **Thomas**, C.M., *et al.* (1995). *Plant J.*, 8: 785-794.
103. **Toriyama**, *et al.* (1988). *Bio/Technology* 6, 1072-1074.
- 55 104. **Tsuji**, *et al.* (1992). *Plant Physiology* 98, 1304-1309.
105. **Vasil**, I. K. (1994). *Plant Molecular Biology* 25, 925-937.
106. **Vasil**, *et al.* (1992). *Bio/Technology* 10, 667-674.
- 60 107. **Vos**, *et al.* (1995). *Nucleic Acids Research* 23, 4407-4414.
108. **Walbot**, *et al.* (1983). Nueva York, *Plenum Press*, 431-442.
- 65 109. **Walters**, *et al.* (1992). *Plant Molecular Biology* 18, 189-200.
110. **Wang**, *et al.* (1995). *Plant Journal* 7, 525-533.

111. **Weeks, et al.** (1993). *Plant Physiology* 102, 1077-1084.

112. **Weymann, et al.** (1995). *The Plant Cell* 7, 2013-2022.

5 113. **White, E.** (1996). *Genes & Development*, 10: 1-15.

114. **Whitham, et al.** (1994). *Cell* 78, 1011-1115.

115. **Wiberg, A.** (1974). *Hereditas* 77, 89-148.

10 116. **Wolter, et al.** (1993). *Mol. Gen. Genet.* 239, 122-128.

117. **Wyllie, A.H.** (1995). *Current Biology*, 5: 97-104.

15 118. **Zhang, et al.** (1988). *Plant Cell Rep.* 7, 379-384.

119. **Zhang, et al.** (1991). *Plant Cell* 3, 1155-1165.

20 120. **Zhang, et al.** (1988). *Theor Appl Genet* 76, 835-840.

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el solicitante está prevista únicamente para ayudar al lector y no forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha puesto el máximo cuidado en su realización, no se pueden excluir errores u omisiones y la OEP declina cualquier responsabilidad en este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| • WO 9201047 A [0029] | • EP 270355 A [0104] |
| • EP 0116718 A [0104] | • US 5100792 A [0104] |
| • EP 444882 A [0104] | • EP 434616 A [0104] |
| • WO 9209696 A [0104] | • WO 9400583 A [0104] |
| • EP 331083 A [0104] | • EP 175966 A [0104] |
| • EP 290395 A [0104] | • WO 8706614 A [0104] |
| • DE 4005152 [0104] | • WO 9012096 A [0104] |
| • US 4684611 A [0104] | • WO 9214828 A [0105] |
| • EP 486234 A [0107] | • EP 486233 A [0107] |
| • US 5231020 A [0113] | • GB 9702046 W [0217] |
| • GB 9615879 A [0217] | • GB 9622626 A [0217] |
| • GB 9704789 A [0217] | |

Documentos que no son patentes citados en la descripción

- **SAMBROOK et al.** *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 [0026]
- Short Protocols in Molecular Biology. John Wiley & Sons, 1992 [0026]
- **ARMITAGE et al.** *Nature*, 1992, vol. 357, 80-82 [0028]
- **ALTSCHUL et al.** *J. Mol. Biol.*, 1990, vol. 215, 403-10 [0037]
- PCR protocols; A Guide to Methods and Applications. Academic Press, 1990 [0047]
- **HENTRICH.** *Arch. Züchtungsvorsch*, 1979, vol. 9, 283-291 [0087]

ES 2 317 652 T3

- J Helms **Jorgensen** - *Euphytica*, 1992, vol. 63, 141-152 [0090]
- **BENFEY** *et al.* *EMBO J*, 1990, vol. 9, 1677-1684 [0101]
- 5 • **MEDFORD**, J.I. *Plant Cell*, 1992, vol. 4, 1029-1039 [0101]
- **MEDFORD** *et al.* *Plant Cell*, 1991, vol. 3, 359-370 [0101]
- **WEIGEL** *et al.* *Cell*, 1992, vol. 69, 843-859 [0101]
- 10 • **NAR**, 1984, vol. 12 (22), 8711-87215 [0104]
- **GREEN** *et al.* *Plant Tissue and Cell Culture. Academic Press*, 1987 [0104]
- 15 • **FREEMAN** *et al.* *Plant Cell Physiol*, 1984, vol. 29, 1353 [0104]
- **KINDLE**. *PNAS U.S.A.*, 1990, vol. 87, 1228 [0104]
- 20 • Physical methods for the transformation of plant cells are reviewed in *Oard. Biotech. Adv.*, 1991, vol. 9, 1-11 [0104]
- **TORIYAMA** *et al.* *Bio/Technology*, 1988, vol. 6, 1072-1074 [0105] [0216]
- **ZHANG** *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1988, vol. 7, 379-384 [0105] [0216]
- 25 • **ZHANG** *et al.* *Theor Appl Genet*, 1988, vol. 76, 835-840 [0105] [0216]
- **SHIMAMOTO** *et al.* *Nature*, 1989, vol. 338, 274-276 [0105] [0216]
- 30 • **DATTA** *et al.* *Bio/Technology*, 1990, vol. 8, 736-740 [0105] [0216]
- **CHRISTOU** *et al.* *Bio/Technology*, vol. 9, 957-962 [0105]
- **PENG** *et al.* *International Rice Research Institute*, 1991, 563-574 [0105] [0216]
- 35 • **CAO** *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1992, vol. 11, 585-591 [0105]
- **LI** *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1993, vol. 12, 250-255 [0105] [0216]
- 40 • **RATHORE** *et al.* *Plant Molecular Biology*, 1993, vol. 21, 871-884 [0105] [0216]
- **FROMM** *et al.* *Bio/Technology*, 1990, vol. 8, 833-839 [0105] [0216]
- **GORDON-KAMM** *et al.* *Plant Cell*, 1990, vol. 2, 603-618 [0105]
- 45 • **D'HALLUIN** *et al.* *Plant Cell*, 1992, vol. 4, 1495-1505 [0105] [0216]
- **WALTERS** *et al.* *Plant Molecular Biology*, 1992, vol. 18, 189-200 [0105] [0216]
- 50 • **KOZIEL** *et al.* *Biotechnology*, 1993, vol. 11, 194-200 [0105] [0216]
- **VASIL**, I. K. *Plant Molecular Biology*, 1994, vol. 25, 925-937 [0105] [0216]
- **WEEKS** *et al.* *Plant Physiology*, 1993, vol. 102, 1077-1084 [0105] [0216]
- 55 • **SOMERS** *et al.* *Bio/Technology*, 1992, vol. 10, 1589-1594 [0105] [0216]
- **HIEI** *et al.* *The Plant Journal*, 1994, vol. 6, 271-282 [0105] [0216]
- 60 • **SHIMAMOTO**, K. *Current Opinion in Biotechnology*, 1994, vol. 5, 158-162 [0106] [0216]
- **VASIL** *et al.* *Bio/Technology*, 1992, vol. 10, 667-674 [0106] [0216]
- **VAIN** *et al.* *Biotechnology Advances*, 1995, vol. 13 (4), 653-671 [0106]
- 65 • **VASIL**. *Nature Biotechnology*, 1996, vol. 14, 702 [0106]

ES 2 317 652 T3

• Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. **VASIL** *et al.* Laboratory Procedures and Their Applications. *Academic Press*, 1984, vol. I,II,III [0108]

• **WEISSBACH; WEISSBACH.** Methods for Plant Molecular Biology. *Academic Press*, 1989 [0108]

• **SMITH** *et al.* *Nature*, 1988, vol. 334, 724-726 [0112]

• **ZHANG** *et al.* *The Plant Cell*, 1992, vol. 4, 1575-1588 [0112] [0113] [0123]

• **ENGLISH** *et al.* *The Plant Cell*, 1996, vol. 8, 179-188 [0112]

• **BOURQUE.** *Plant Science*, 1995, vol. 105, 125-149 [0112]

• **FLAVELL.** *PNAS USA*, 1994, vol. 91, 3490-3496 [0112]

• **VAN DER KROL** *et al.* *The Plant Cell*, 1990, vol. 2, 291-299 [0113]

• **NAPOLI** *et al.* *The Plant Cell*, 1990, vol. 2, 279-289 [0113] [0123]

• **FUJIMOTO** *et al.* *Bio/Technology*, 1993, vol. 11, 1151-1155 [0119]

• **ZHANG** *et al.* *Plant Cell*, 1991, vol. 3, 1155-1165 [0119] [0216]

• **CORNEJO** *et al.* *Plant Molecular Biology*, 1993, vol. 23, 567-581 [0119] [0216]

• **VAN DER KROL** *et al.* *The Plant Cell*, 1990, vol. 2, 291-229 [0123]

• **HASELOFF; GERLACH.** *Nature*, 1988, vol. 334, 585-591 [0129]

• **FEYTER** *et al.* *Gen. Genet.*, 1996, vol. 250, 329-338 [0129]

• **OSBORNE** *et al.* *Current Opinion in Cell Biology*, 1995, vol. 7, 406-413 [0130] [0130] [0216]

• **JONES** *et al.* *Science*, 1994, vol. 266, 789-793 [0130] [0216]

• **HENTRICH**, W. *Arch. Züchtungsvorsch.*, 1979, vol. 9, 283-291 [0132]

• **JEPSON** *et al.* *Plant Molecular Biology*, 1994, vol. 26, 1855-1866 [0134]

• **FREIALDENHOVEN** *et al.* *The Plant Cell*, 1996, vol. 8, 5-14 [0136]

• **TATE; GRISSHAMER.** *TIBTECH*, 1996, vol. 14, 426-430 [0137]

• **J.M. STEWART; J.D. YOUNG.** Solid Phase Peptide Synthesis. *Pierce Chemical Company*, 1984 [0144]

• **M. BODANZSKY; A. BODANZSKY.** The Practice of Peptide Synthesis. *Springer Verlag*, 1984 [0144]

• Applied Biosystems 430A *Users Manual*. ABI Inc, [0144]

• **NEWMAN** *et al.* *Plant Physiol.*, 1994, vol. 106, 1241-55 [0215]

• **MINOBE, Y.; SASAKI, T.** *DDBJ*, 02 November 1993 [0215]

• **BAYLES** *et al.* *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 1990, vol. 36, 63-72 [0216]

• **BECKER** *et al.* *Mol. and Gen. Genet.*, 1995, vol. 249, 65-73 [0216]

• **BENNET** *et al.* *Phil. Trans. R. Soc. London (Biol)*, 1991, vol. 334, 309-345 [0216]

• **BENT** *et al.* *Science*, 1994, vol. 265, 1856-1860 [0216]

• **BOYD** *et al.* *Plant. J.*, 1995, vol. 7, 959-968 [0216]

• **BOURQUE, J. E.** *Plant Science*, 1995, vol. 105, 125-149 [0216]

• **BURKE** *et al.* *Science*, 1987, vol. 236, 806-812 [0216]

• **CAO.** *Plant Cell Rep.*, 1992, vol. 11, 585-591 [0216]

ES 2 317 652 T3

- **CHRISTOU** *et al. Bio/Technology*, 1991, vol. 9, 957-962 [0216]
- **CHUNWONGSE** *et al. Ther. Appl. Genet.*, 1993, vol. 86, 694-698 [0216]
- 5 • **DANGL**, J. L. *Cell*, 1995, vol. 80, 363-366 [0216]
- **DANGL**, J. L. *et al. Plant Cell*, 1996 [0216]
- **FEYTER** *et al. Molecular and General Genetics*, 1996, vol. 250, 329-338 [0216]
- 10 • **DIETRICH** *et al. Cell*, 1994, vol. 77, 565-577 [0216]
- **DOKE**, N. *Physiol. Plant Pathol.*, 1983, vol. 23, 345-357 [0216]
- 15 • **DOKE**, N.; **OHASHI**, Y. *Physiol. Mol. Plant Path.*, 1988, vol. 32, 163-175 [0216]
- **DOONER**, H.K.; **KERMICLE**, J.L. *Genetics*, 1986, vol. 113, 135-143 [0216]
- **DUJON**, B. *Trends Genet.*, 1996, vol. 12, 263-270 [0216]
- 20 • **FLAVELL**, R. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, vol. 91, 3490-3496 [0216]
- **FLOR**, H. H. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 1971, vol. 9, 275-296 [0216]
- 25 • **FREELING**, M. *Genetics*, 1978, vol. 89, 211-224 [0216]
- **FREIALDENHOVEN**, A. *et al. Plant Cell*, 1996, vol. 8, 5-14 [0216]
- **FROHMAN**, N.A. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1988, vol. 85, 8998-9002 [0216]
- 30 • **FUGIMOTO** *et al. Bio/Technology*, 1993, vol. 11, 1151-1155 [0216]
- **GIOVANNONI**, J.J. *et al. Nucl. Acids Res.*, 1991, vol. 19, 6553-6558 [0216]
- 35 • **GORDON-KAMM** *et al. Plant Cell*, 1990, vol. 2, 603-618 [0216]
- **GÖRG**, R. *et al. Plant J.*, 1993, vol. 3, 857-866 [0216]
- 40 • **GRANT** *et al. Science*, 1995, vol. 269, 843-846 [0216]
- **GREENBERG** *et al. The Plant Journal*, 1993, vol. 4, 327-341 [0216]
- **GREENBERG** *et al. Cell*, 1994, vol. 77, 551-563 [0216]
- 45 • **HABEKUSS**, A.; **HENTRICH**, W. *Tag. Ber., Akad. Lanwirtsch.-Wiss. DDR*, 1988, vol. 272, 229-237 [0216]
- **HAMMOND-KOSACK**, K.E.; **JONES**, J.D.G. *The Plant Cell*, 1996 [0216]
- 50 • **HARTMANN**, E. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1989, vol. 86, 5786-5790 [0216]
- **HASELHOFF** *et al. Nature*, 1988, vol. 334, 585-491 [0216]
- **HEATH**, M.C. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 1980, vol. 18, 211-236 [0216]
- 55 • **HENTRICH**, W. *Arch. Zuchtungsvorsch.*, 1979, vol. 9, 283-291 [0216]
- **HESLOP-HARRISON**, J.S. J. *Cell Sci.*, 1991, vol. 100, 15-21 [0216]
- 60 • **HINZE** *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991, vol. 88, 3691-3695 [0216]
- **JABS**, T. *et al. Science*, 1996, vol. 273, 1853-55 [0216]
- **JONES**, D.T. *et al. Biochemistry*, 1994, vol. 33, 3038-3049 [0216]
- 65 • **JONES**, J. D. G. *Current Biology*, 1994, vol. 4, 749-751 [0216]
- **JØRGENSEN**, J. H. Induced mutations against plant diseases. *Crop Symposium Vienna*, 1977, 533-547 [0216]

ES 2 317 652 T3

- **JØRGENSEN, J. H.** Induced mutations for disease resistance in crop plants II. *International Atomic Energy Agency*, 1983, 73-87 [0216]
- **JØRGENSEN, J. H.** *Euphytica*, 1992, vol. 63, 141-152 [0216]
- 5 • **JØRGENSEN, J. H.** *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1994, vol. 13, 97-119 [0216]
- **JØRGENSEN, J.H.; MORTENSEN, K.** *Phytopathology*, 1977, vol. 67, 678-685 [0216]
- 10 • **KLEIN, P. et al.** *Biochim. Biophys. Acta*, 1985, vol. 815, 468-476 [0216]
- **KOGA, H. et al.** *Can. J. Bot.*, 1990, vol. 68, 2344-2352 [0216]
- **KOORNNEEF, M. et al.** *Genet. Res. Camb.*, 1983, vol. 41, 57-68 [0216]
- 15 • **KOSSLAK, R et al.** *J. Hered.*, 1996 [0216]
- **KUHN, R.M.; LUDWIG. R.A.** *Gene*, 1994, vol. 141, 125-127 [0216]
- 20 • **KÜNZEL, G.** *Theor. Appl. Genet.*, 1982, vol. 64, 25-29 [0216]
- **LAMB, C.J.** *Cell*, 1994, vol. 76, 419-422 [0216]
- **LAWRENCE et al.** *The Plant Cell*, 1995, vol. 7, 1195-1206 [0216]
- 25 • **LEVINE, A. et al.** *Cell*, 1994, vol. 79, 583-593 [0216]
- **LINDE-LAURSEN, I. et al.** *Z. Pflanzenzüchtg.*, 1982, vol. 81, 191-219 [0216]
- 30 • **LUNDQVIST, U. et al.** *Hereditas*, 1991, vol. 115, 227-239 [0216]
- **MARTIN et al.** *Science*, 1993, vol. 262, 1432-1436 [0216]
- **MCCLINTOCK, B.** *Science*, 1984, vol. 226, 792-801 [0216]
- 35 • **MINDRINOS et al.** *Cell*, 1994, vol. 78, 1089-1099 [0216]
- **MOORE et al.** *Current Biology*, 1995, vol. 5, 737-739 [0216]
- 40 • **MOURAD, G. et al.** *Mol. Gen. Genet.*, 1994, vol. 243, 178-184 [0216]
- **NEGASSA, M.** *Hereditas*, 1985, vol. 102, 113-121 [0216]
- 45 • **NIGG et al.** *Cell*, 1991, vol. 66, 15-22 [0216]
- **OLSEN, O. et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, 8043-8047 [0216]
- **PENG et al.** *Theor Appl Genet*, 1992, vol. 83, 855-863 [0216]
- 50 • **PRYOR, A. J.** *Trends in Genetics*, 1987, vol. 3, 157-161 [0216]
- **RAFF, M.C.** *Nature*, 1992, vol. 356, 397-400 [0216]
- 55 • **RAFF, M.C. et al.** *Science*, 1993, vol. 262, 695-700 [0216]
- **RIHS et al.** *EMBO J.*, 1991, vol. 10, 633-639 [0216]
- **RYERSON, D.E.; HEATH, M.C.** *Plant Cell*, 1996, vol. 8, 393-402 [0216]
- 60 • **SALAMINI, F.; LORENZONI, C.** *Mol. Gen. Genet.*, 1970, vol. 108, 225-232 [0216]
- **SCHMIDT, R. et al.** *Science*, 1995, vol. 270, 480-483 [0216]
- 65 • **SHIRLEY, B.W. et al.** *Plant Cell*, 1992, vol. 4, 333-347 [0216]
- **SHIZUYA et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, vol. 89, 8794-8797 [0216]

ES 2 317 652 T3

- **SIEDLER** *et al. Molecular and General Genetics*, 1991, vol. 226, 117-181 [0216]
- **SØGAARD** *et al. Barley Genet. Newslett.*, 1988, vol. 17, 120-134 [0216]
- 5 • **SONG** *et al. Science*, 1995, vol. 270, 1804-1806 [0216]
- **STAKMAN**, E.C. *J. Ag. Research*, 1915, vol. 4, 193-199 [0216]
- **STASKAWICZ** *et al. Science*, 1995, vol. 268, 661-667 [0216]
- 10 • **STEWART**, C.N.; **VIA**, L.E. *BioTechniques*, 1993, vol. 14, 748-750 [0216]
- **SZOSTAK**, J.W. *et al. Cell*, 1983, vol. 33, 25-35 [0216]
- 15 • **TANKSLEY** *et al. Trends in Genetics*, 1995, vol. 11, 63-68 [0216]
- **THOMAS**, C.M. *et al. Plant J.*, 1995, vol. 8, 785-794 [0216]
- **TSUJI** *et al. Plant Physiology*, 1992, vol. 98, 1304-1309 [0216]
- 20 • **VOS** *et al. Nucleic Acids Research*, 1995, vol. 23, 4407-4414 [0216]
- **WANG** *et al. Plant Journal*, 1995, vol. 7, 525-533 [0216]
- 25 • **WEYMANN** *et al. The Plant Cell*, 1995, vol. 7, 2013-2022 [0216]
- **WHITE**, E. *Genes & Development*, 1996, vol. 10, 1-15 [0216]
- **WHITHAM** *et al. Cell*, 1994, vol. 78, 1011-1115 [0216]
- 30 • **WIBERG**, A. *Hereditas*, 1974, vol. 77, 89-148 [0216]
- **WOLTER** *et al. Mol. Gen. Genet.*, 1993, vol. 239, 122-128 [0216]
- 35 • **WYLLIE**, A.H. *Current Biology*, 1995, vol. 5, 97-104 [0216]

REIVINDICACIONES

1. Polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácido representada en la Figura 2.
2. Polinucleótido según la Reivindicación 1 en el que la secuencia de codificación es la secuencia de codificación representada en la Figura 2.
3. Polinucleótido aislado que en la expresión en una planta transgénica ejerce un efecto regulador negativo en una respuesta de defensa a un agente patógeno de la planta al oidio o la roya, cuya respuesta de defensa es independiente del agente patógeno y autónoma de la presencia del agente patógeno, que codifica el polinucleótido a un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que es un mutante, alelo, variante o derivado de la secuencia *Mlo* de la Cebada representada en la Figura 2, o es un homólogo de otra especie o un mutante, alelo, variante o derivado del mismo, la secuencia de aminoácidos diferente de la representada en la Figura 2 por medio de la adición, la sustitución, la supresión y/o la inserción de uno o más aminoácidos.
4. Polinucleótido según la Reivindicación 3 que codifica un polipéptido que incluye la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 13.
5. Polinucleótido según la Reivindicación 4 en el que la secuencia de codificación es la que se representa en la Figura 10.
6. Polinucleótido según la Reivindicación 3 que codifica un polipéptido que incluye la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 14.
7. Polinucleótido según la Reivindicación 6 en el que la secuencia de codificación es la que se representa en la Figura 11.
8. Polinucleótido según la Reivindicación 3 que codifica un polipéptido que incluye la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 15.
9. Polinucleótido según la Reivindicación 8 en el que la secuencia de codificación es la que se representa en la Figura 12.
10. Polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores vinculado operativamente una secuencia regulatoria para la expresión.
11. Polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que en la expresión en una planta transgénica produce un polipéptido que puede estimular o mantener una respuesta de defensa de la planta al oidio o la roya, incluyendo el polipéptido codificado una secuencia de aminoácidos que es un mutante, alelo, variante o derivado de la secuencia *Mlo* de la Cebada representada en la Figura 2, o de un homólogo de otra especie, la secuencia de aminoácidos diferente de la representada en la Figura 2 por medio de la adición, la sustitución, la supresión y/o la inserción de uno o más aminoácidos.
12. Polinucleótido según la Reivindicación 11 que estimula o mantiene dicha respuesta de defensa de la planta en la expresión homocigótica en la planta.
13. Polinucleótido según la Reivindicación 11 en el que la secuencia de aminoácidos incluye una modificación seleccionada a partir del grupo consistente en:
Trp¹⁶² a Arg, marco de lectura después de Phe³⁹⁵, marco de lectura después de Trp¹⁵⁹, Met¹ a Ile^a, Gly²²⁶ a Asp, Met¹ a Val^a, Arg¹⁰ a Trp, supresión de Phe¹⁸² y Thr¹⁸³, Val³⁰ a Glu, Ser³¹ a Phe, y Leu²⁷⁰ a His,
en el que ^a indica que el codón de inicio siguiente se encuentra en las posiciones del nucleótido 79 - 81 y se encuentra en el marco con la secuencia de codificación y,
en el que dichos nucleótidos y aminoácidos se encuentran numerados en el sitio de inicio translacional de la secuencia de ADNc de *Mlo* representado en la Figura 2.
14. Polinucleótido según la Reivindicación 13 en el que la secuencia de aminoácidos es la de la Figura 2 que incluye una sustitución en el residuo 240.
15. Polinucleótido según la Reivindicación 13 en el que la secuencia de aminoácidos incluye la leucina en el residuo 240.
16. Polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 11 a 15 vinculado operativamente a una secuencia regulatoria para la expresión.

ES 2 317 652 T3

17. Polinucleótido aislado que tiene al menos aproximadamente 600 nucleótidos contiguos de la secuencia de nucleótidos según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 9 o son complemento.

18. Polinucleótido según la Reivindicación 17 vinculado operativamente a una secuencia regulatoria para la transcripción.

19. Polinucleótido aislado que tiene al menos aproximadamente 300 nucleótidos contiguos de la secuencia de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 9 o son complemento, vinculados operativamente a una secuencia regulatoria para la transcripción.

20. Polinucleótido según la Reivindicación 18 o la Reivindicación 19 en el que la secuencia regulatoria comprende un promotor inducible.

21. Vector de ácido nucleico adecuado para la transformación de una célula de planta y que incluye un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones precedentes.

22. Célula de planta que contiene un polinucleótido heterólogo o un vector de ácido nucleico según cualquiera de las Reivindicaciones precedentes.

23. Célula según la Reivindicación 22 que se encuentra comprendida en una planta.

24. Planta que comprende una célula de planta según la Reivindicación 22.

25. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10 para la estimulación de una respuesta de defensa en una planta.

26. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 11 a 16 para la estimulación de una respuesta de defensa en una planta.

27. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 17 a 20 para la estimulación de una respuesta de defensa en una planta.

28. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 17 a 20 para la regulación por disminución de la expresión de un gen codificado por un polipéptido codificado por un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10.

29. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10 en la producción de una planta transgénica.

30. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 11 a 16 en la producción de una planta transgénica.

31. Utilización de un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 17 a 20 en la producción de una planta transgénica.

32. Utilización de un polinucleótido codificado por un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10, en el cribaje de compuestos capaces de estimular una respuesta de defensa en una planta.

33. Utilización de un polinucleótido codificado por un polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 11 a 16, en el cribaje de compuestos capaces de estimular una respuesta de defensa en una planta.

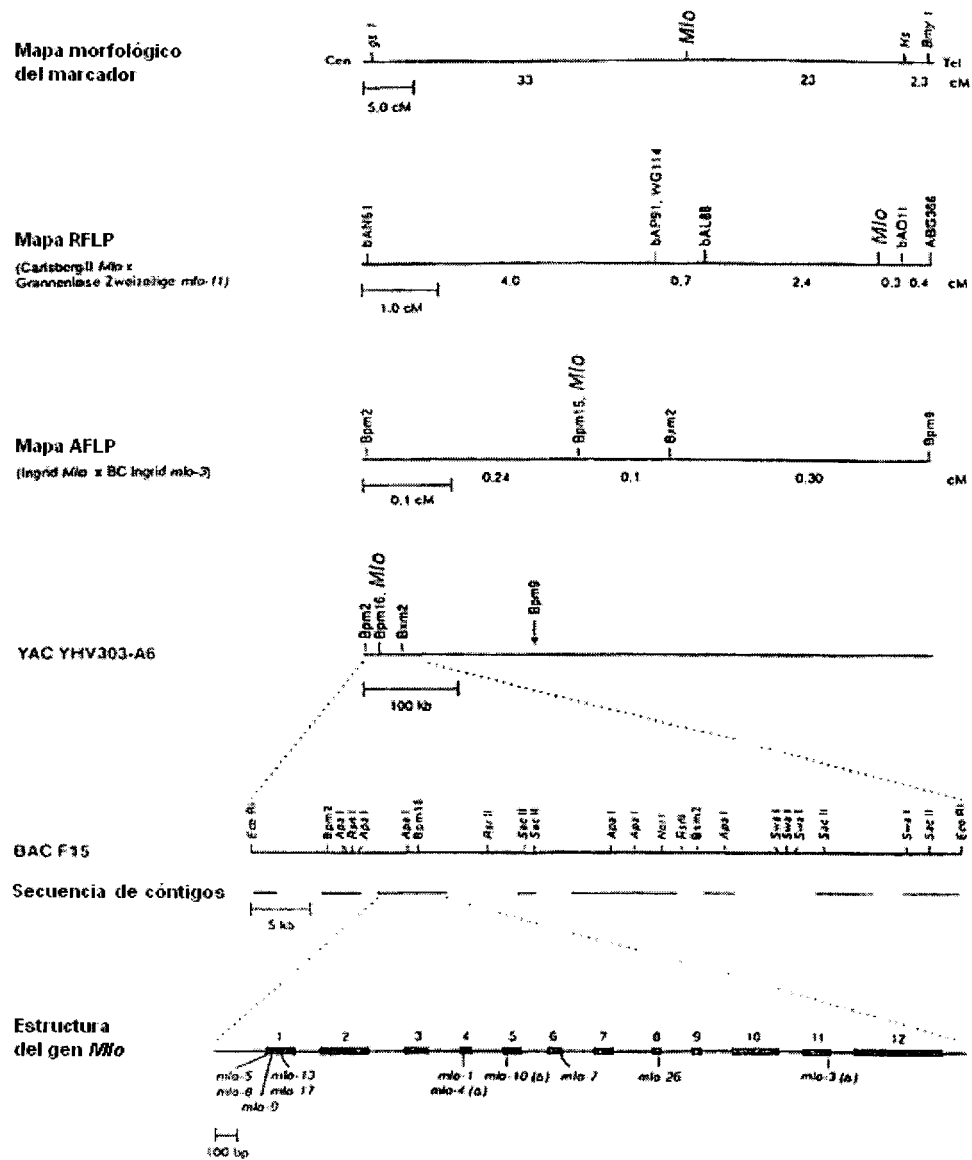


Figura 1

ES 2 317 652 T3

H S O K K E G V P F A G E L P E T P S W A V	60
ATGTCGGACAAAGGGGTGCGCGCGCGGAGCTGCGCGAGACGCGCTCGTGGCGGTG	
A V V V F A A H V L V S V L M H E H G L I K	120
GCGTGGTCTTGGCGCCATGCTGCTGCTGCTCTCATGGAACAGGGCTCCACAG	
L G H N F Q H R H K K A L H E A L E K M	180
CTCGGCATTGGTTCCAGCACCGGCACAGAGGCCCTGTGGGAGGCGCTGGAGAAGATG	
K A E L H L V G F I S L L L L I V T O D P	240
AAGCGGAGCTCATGCTGGCTTCATATCCCTGCTCTCATCGTCAAGCAGGACCC	
I I A K I C I S E D A A D V H N P C K R	300
ATCATCGCAAGATATGCATCTGGGAGGTGCCCGCAGCTCATGTGGCCCTGCAAGCGC	
G T E G R K P S K Y V D Y C P E G K V A	360
GGCAGCGAGGGCCGCAAGCCGAGCAAGTACGTTGACTACTGCCCGAGGGCAAGGTGGCG	
L M S T G S L H Q L H V F I F V L A V F	420
CTCATGTCCAGCGGAGCTTGCACAGCTGCAAGCTTTCATCTTCTGCTGCGGCTTTC	
H V T Y S V I T I A L S R L K H R T H K	480
CATGTCACTACGCGCTCATCACCATAGCTCTAAGCGCTCTCAAAATGAGAACATGGAAG	
K W E T E T T S L E Y Q F A N D P A R F	540
AAATGGGAGACAGAGCACCTCTTGGAAATACCACTTCGCAATGATCTGCAAGCGTTC	
R F T H Q T S F V M K R H L G L S S T P G	600
CGGTTCAGCGACCGAGCTGCTGCTGGAAGCCACCACTGGGCGCTTCGACGACCCCTGGC	
I R W V V A F P P R O P F R S V T K V D Y	660
ATCAGATGGGTGGTGGCTTCTTCAGGCACTTCTTCAGGTCAGTCAACCAAGGTGGACTAC	
L T L R A G F I N A H L S Q N S K F D F	720
CTGACCTTGAGGGCAGGCTTCATCAACCGCGATTGTGCCAAGACAGCAAGTTCGACTTC	
H A K I X R S M G A D D F K V V V G G I S L	780
CACAAATACATCAAGAGGTGCATGGAGGACCACTTCAGGTCTGCTGGCTCATAGGCTC	
P L W G V A I L T L F L D I N G V G T L	840
CCGCTGTGGGTGTGGCGATCTCACCTCTTCTCTTGACATCAATGGGTGTGCAAGCTC	
I W I S F I R L V I L L C V G Y K L E H	900
ATCTGGATTCTTTCATCCCTCTCGTGATCTCTTGTGTGTGGAACCAAGCTGGAGATG	
I I M E A L E I O D R A S V I K G A P	960
ATCATGTGAGATGGCGCTGGAGATCCAGGACCGGGCAGCGTCAACAGGGGGCCCC	
V V E P S M X C F H F H R R P D H W L F F	1020
GTGGTCGAGGCAACCAAGTCTCTTCTGGTTCAAGCGCCCGACTGGGTCTCTTCTTC	
I H E T L T Q N A E Q H A H F V H I V A	1080
ATACACCTCAAGTGTGTCAGAACCGCTTTCAGATGGCGCATTTTGTGTGGACAGTGGC	
T P G L R K C Y R T Q I G L S I H K V V	1140
ACGCGCGCTTGAGGAATCTTACACACCGCATCGGCTGGAGCATCAAGCTGGTG	
V G L A L Q F L C S Y M T F P E Y A L V	1200
GTGGCGCTAGCTCTCCAGTCTCTTGCAGCTATATGACCTTCCGCTCTACGGCTCGTC	
T O M G S N M H R S I F D E O T S K A L	1260
ACACAGTGGGATCAAGATGAAGAGTCCATCTTCGACGACGACGCTCCAGCGGCTC	
T N H R N T A K E K K V R O T D H L H	1320
ACCACTTGGCGAGACGGGCAAGGAGAGAGAAAGTCCGAGACACCGCATCTGATG	
A Q H I C G A T U S R G S S P M H S R G	1380
GCTCAGATGATCGCGCAGCAACACCGAGCCGAGGCTCTGTCGGGATGCGCAGCCGGGG	
S S P V A L L L H K G M G R S D D P Q S A	1440
TCATCACCGGTGCACTCTCTCACAGGGCATGGGCGGTGCGGACGACCCGACAGCGCG	
P T S P R T Q Q E A R D H Y P V V V A H	1500
CCCACTCGCCAGGACCGCAGGAGGCTAGGGACATGTACCGGTTGTGGTGGCAC	
P V H R L N P N D R R R S A S S S A L E	1560
CGGTGCAACAGCTAAATCCTAACGACAGGAGGAGGTCCGCTCTGCTGGGCGCTCGAA	
A D I F S A D T P S S Q G *	
GGGACATCCCACTGACAGATTTTCTCTTCAGCCAGGATGA	1602

Figura 2

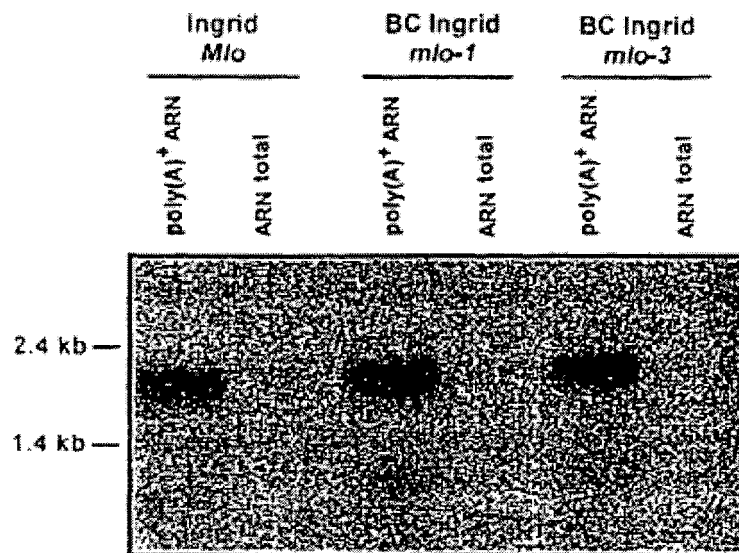


Figura 3

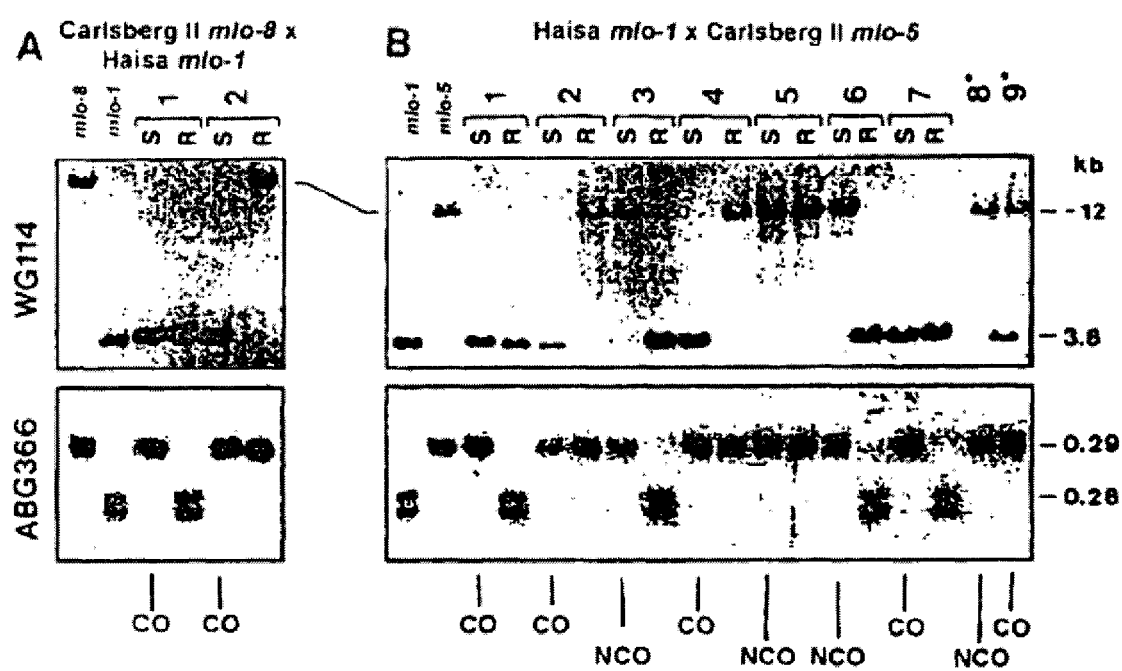


Figura 4

```

292 GCGGAGCTCATGCTGGTGGGCTTCATATCCCTGCTGCTCATCGTCAGCA 341
   || :||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
80 GCANAGCTGATGCTGCTGGGCTTCATNTCCCTGCTTCTCACCGTGGCACA 129

342 GGACCCCATCATCGCCAAAGATATGCATCTCCGAGGATGCCCGCGAGCTCA 391
   || || ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
130 GGGGCC...CATCTCCAANATCTGCATCCCCAAGTCGGCTGCCAACATCT 176

392 TGTGGGCTCTGCAAGCGCGCCACCGAGGGCGGC..AAGCCCAAGCAAGTACGT 440
   ||| ||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
177 TGTTCGGTGCAGGCGAGGCCNAGATGCCATCGAAGAANAAGCAGCAAGT 226

441 TGACTACTGCCCGGAGGTGAGCAGCAGAGCCCGGACCGCAGCTTCACGA 490
   ||| ||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
227 GGTCTCCGCTCC..TTGGCCGGCGCCCGCGGGCGGGACTACTGCTCNAAT 275

491 TGATGAAGAAATCAATACC.....GAACTTTTCTTGTTTTCT 528
   ||| ||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
276 TCGATGTGAGATAACNCCAGCTGCCCGCAGCACACACCTCGATNCHNATN 325

529 TCTGATTGTCTGCTTGGCTTGGCTTAATTGGTGTGTGTGTGTGTGTGTTC 578
   ||| ||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
326 ACTNATT.....TAACTATAATTGATTTTTCTTGGGTTTTCTGC 364

579 AGGGCAAGGTGGCGCTCATGTCCACGGGCAGCTTGCACCGAGCTGCACGTC 628
   ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
365 AGGGCAAGGTGGCGCTGATGTCCGCAAGAGCATGCACCGAGCTGCACATT 414

629 TTCATCTTCTGCTCTCGCGGCTTCCATGTTCACCTACAGCGTCATCAACAT 678
   ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
415 TTCATCTTCTGCTCTCGCGGCTTCCATGTTCACCTACTGCATCATCACCA? 464

579 AGCTCTAAGCGCTCTCAAGGTGAGCCTTTGCTTCT.....TCTTCTTCTT 723
   ||| ||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
465 GGGTTTAGGGCGCTCAAAGTGAGTTTGTGTTCTGTCCCTCATGCACAT 514

724 CTTTTACC.....GCACTCTGTCTGTCTAGGGCTACCTACCTGTTCA 765
   ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
515 GTTTTCTCTAGTTCTAGCAANATTGTCTAGTCTTCAAATGGATTGTTTCG 564

766 TCAGGCTTGGTAAACTGTTCCATAATCTGC.....TCCGGCATAA 807
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
565 ACA.....AGAAACCAATTTATTAATTGCCAGTTAAATATATAATAA 608

808 TCTCTCTCTCTG....CAGATGAGAACATGGAAAGAAATGGGAGACAGAG 853
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
609 TTGATCTTCTTGGTTTAGATGAAGAAATGGAAGAAAGTGGGAGTCACAG 658

854 ACCGCTCTCTGGGAATACCACTTCGCAAAATGCTCAGGATCCCCACTCTG 903
   ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
659 ACCAATCATTTGGAGTATCAGTTCCGAATCGGTAGTG.....AATTAA 701

904 CAATCTCCC...CTTCTTCGAAACCAACC...TGATGATCCATTTAAA 946
   ||||| || || || || || || || || || || || || || || || ||
702 GAATCTCCCTAATATTTTCAATTCAGAACCTTTATGATAATGTCTTGAAA 751

947 GAGCGAGGCACGATCAGAGTGAGTGAACCTGATGTATGTTCAATTTTTGTG 996
   || | | ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
752 GAGGAGGAGCAATCAG..CTGAAAAATATGATCGA..... 785

997 TCCTTTTCAGATCTCTG..CGGGTTCCGGTTTCACGCACAGACGTCGTTCCG 1046
   ||| | ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
786 TCCATGCAGATCCTTCACGATTCAGGTTACGCATCAGACGTCGTTCCGTG 835

```

Figura 5

```

1047 AAGCGGCACCTGGG...CTCTCCAGCAGCCCTGGCATCAGATGGGTTGGT 1093
      ||||| || ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
836 AAGGGGCATCTGGGATCATTCTCAAGCACCCCTGGGCTCAGATGGATCGT 885
1094 GAGTTTTTTAGCTTCTTATCTGCCCCCTCATCTGTGTGTAAATGTT..... 1137
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
886 GAGTTATCAATCTCCGAAT.....ACATGCTTGTTTTTTATTCTTGCA 928
1138 ..TGGCGTA.....TGGAGTCAGGTGATTT.....ACCTT 1165
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
929 ACTGGCCTAGCTGTTCCAATTCAATCCATAATTTTTGAAAAAAAAAATAT 978
1166 GCGTGTGATGTTTGTGGCTTGTGAGGTGGGCTTCTTCAGGCAGTTCTTC 1215
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
979 TCATGCCGTGTTT.....TTGTTAGGTAGCATTCCTTCAGGCAGTTCTTT 1023
1216 AGGTTCAGTCCACCAAGGTGGACTACCTGACCTTGAGGGCAGGCTTCATCAA 1265
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1024 GGGTCCGTCAOCCAAGGTGGACTACCTGACCATGCGGCAAGGCTTCATCAA 1073
1266 GGTACGTGC....CTOCCCTTCTAGCTCCGGCATTGCTGCGCGATGTAG 1311
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1074 TGTATATACTAATCAACCTGACCAATTCAACATTGATGATGC.AAACAG 1122
1312 CAGCAAAGCTTCT.....CAAGTTATCCTTCTGACGCTAAAGTTCCCA 1354
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1123 AAGACCAGGTTTTTTTTTTCGGAGTTGTCCAT.TGAGTTAATG..... 1165
1355 TGTTTTTTCCTCAAATTATTCTGCGCAGGCG.CATTGTGCGAABAACAGC 1403
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1166 .GTTTTAGCTTC...TTCCTTTTTCAGGCGCCATTGTGCGCAGAATAGC 1211
1404 AAGTTGACCTTCCACBAGTACATCAAGAGGTGATGGAGGACGACTTCAA 1453
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1212 AAGTTGACTTCCACAAATACATCAAGAGGTCTTTGGAGGACGACTTCAA 1261
1454 GGTGCTGCTGGGCATCAGGTACGTTCCATTCCTTCTCTGACCAGACCA 1503
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1262 AGTTGTGCTTGGCATCAGGTCCG.....TCTCGCTTT..... 1294
1504 CACCCCATGGATAGATTTTAACAATTGCTGTGAGGTTCCACATGATAACA 1553
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1295 .....ATTAATTATAGGA....CTCTTATATTCAACATTTTTTTT 1330
1554 ATATACTATGA.ACTTGGTCTTTGCTCCTTGTCTCTG.....CACGATCA 1597
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1331 ATAAAGAAACATATTAGTCT...CCAGTTGTGTATGTGTATGTGGATCT 1377
1598 TGACACATTTGGCCTGTTTTCGAGGCTCCGCTGTGGGTGTGGGATC 1647
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1378 TGACACATTTGG.CTGGTTTTCGAGGCTCCCTCTGTGTTGTGTCGGAATC 1426
1648 CTCAGGCTTCTTCTTGACATCAATGGTATGGACCTTCTCTCTCCGGTTT 1697
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1427 CTGTACTCTTCTCGATATCCACGGTA..ATCCTTGTCT.....ATTT 1469
1698 CTCTATTGCTTTGCAGCTAAATAAAACACTTGCAATTCTGCTCGTGATCA 1747
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1470 CATTCTTTTTTTTACTCTCAAAACCTTGTCTGAATTGGTCTTATAATCA 1519
1748 CCGCTCATTTTTCAACCATTTCTTTTCTACTCATAGGGGTGGGACGCT 1797
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1520 CCATCGATTTTTTTCAACTT.TTCCCGCGGTGAGGTCTTGGCACACT 1568
1798 CATCTGGATTCTTTTCATCCCTCTGGTGGTAAGTGC.AGATTTCTCC.AT 1845
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1569 TATTTGGATCTCTTTTGTCTCTCATCGTAAGAGCGAAATTTCCCTGT 1618

```

Figura 5 (continuación)

```

1846 CGAAGCAACAGCAAACCCAATT.....TGATCGCAAT 1878
    | ||| |||| | | | | | | | | | | | | | | | |
1619 CCAAAGAAACAGTTAACATAATTAAATTATGCTTTAATTTATCATGAAAT 1668
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1879 GGAAACCCACACCTAATATTAACCAAAATGTCAATTGTGGTGCGTCTT 1928
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1669 TAATATGATCATATAACTAATGAACAAACATTCA..TGTGAATGCCACCG 1716
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1929 CCTCAACAGATCCTCTTGTGTGTGGAAACCAAGCTGGAGATGATCATCAT 1978
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1717 TTGTCTCAGATCGTCTTGTAGTTGGGAACCAAGCTAGAGATGGTGATCAT 1766
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1979 GGAGATGGCCCTGGAGATCCAGGACCGGGGAGCGTCATCAAGGGGGGCC 2028
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1767 GGAGATGGCCCAAGAGATACAGGACAGGGCCACTGTGATCCAGGGAGCAC 1816
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2029 CCGTGGTCCGAGCCCAGCAACAAGTCTCTCTGGTTCCACCGCCCGGACTGG 2078
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1817 CTATGGTTGAACCAAGCAACAAGTACTTCTGGTTCAACCGCCCTGACTGG 1866
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2079 GTCTCTCTCTTCATACACCTGACGTTTGT..... 2107
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1867 GTCTTGTCTTCATACACCTGACACTCTTCCCATGTACATGTTTAAACCC 1916
    .
    .
    .
2108 .....CCAGAACGC..GTTTCAGATGGCGCATTTTG 2136
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2017 GAGGAGCGGATCGATCATCAACAGAACGCATTTTCAGATGGCGCATTTCG 2066
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2137 TGTEGACAGTG...GTACGCCAC.....CGATGAACCTGTTCAGTT 2173
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2067 TATGGACTATGGTGTGTATGCTACTTGTCTTAGTTGTGGCATTTATCAGTT 2116
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2174 .....AACATGGGTGTCA...AGGCACCGAGTGCCCGCTGATGA..... 2208
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2117 CTTAAGCAAAATTAAGTGTGATGCATGCACTGA.....CTAATGAGACAA 2160
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2209 .....ACTGCTCTGACCGAGATTACCTGTGTGT.....AGGCG 2243
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2161 AAAATGACACAGCTTGTTCATCGATCTGGTTGTTTGTGTGTGACAGGCA 2210
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2244 ACGCCCGGCTTGAAGAAATGCTACCAACGCGAGATCGGGCTGAGCATCAT 2293
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2211 ACACTGGTCTGAAGAAATGCTTCATGAAATATTTGGCTGAGCATCGT 2260
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2294 GAAGGTGGTGTCTGGGGCTAGCTCTCCAGTTCCCTCTGCAGCTATATGAOCT 2343
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2261 GGAAGTCATTGTGGGGATCTCTCTTCAGGTGCTATGCAGCTACATCAOCT 2310
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2344 TCCCGCTCTACCGGCTCGTCCACACAGGTAATAAAACCGTCCAGGAA 2389
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
2311 TCCCGCTCTACCGGCTCGTCCACACAGGTGAACAAGCCATTTCACAA 2356

```

Figura 5 (continuación)

```

295 GAGCTCATGCTGGTGGGCTTCATATCCCTGCTCCTCATCGTCACGCAGGA 344
   |||||:|||||:|||||:|||||:|||||:|||||:|||||:|||||:|||||:
   1 GAGCTCNTGCTGGTGGGCTTCATATCCCTGCTCCTCATCGTCACGCAGGA 50
345 CCCCATCATCGCCAAGATATGCATCTCCGAGGATGCCGCCGACGTCATGT 394
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
   51 TCC...CGTCTCCAGGATCTGCATCTCCAAGGAGGCCGGCGGANAANATGC 97
395 GGGCCCTGCAAG _____ CGCGGCACCGAGGGCCGCAAGCCCA 430
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
   98 TCCCGTGCAAGCCTTACNACGGCGCGCGCGGTGGCAAAGGCAATGACAAT 147
431 _____ GCAGGTACGTTGACTACTGCCCCGA 455
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
148 CACCGGAGGCTTCTCTGGCTCCAAGGCCGANAGCGANACCCACCGCGCGGT 197
456 GGTGAGCAGCAGAGCCCCGGAACAG ..... 479
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
198 CCTG.GCTGCCCGCGCGGANTGGACGTCTGCCCAAACAGGTGAGCACC 246
480 CAGCTTCACGATGATGAAGAAA.TCAATACCGAACTTTTCTTGTTTTCT 528
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
247 TANCGTCNCCACAAACCACAACTANCTAATGAGCATGGACCTGAATTTC 296
529 TCTGATTGTCTGCTTTGGCTTGGCTTAATTGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGC 578
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
297 TTCTCTTCTTGCTTGGCTTGACTAAATTGGT.....TGTC 333
579 AGGGCAAGGTGGCGCTCATGTCCACGGGCAGCTTGCACCTAGCTGCACGTC 628
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
334 ACGGCAAGGTGGCGCTGATGTGNKCGGGAANCATGCACCAACTGCACATA 383
629 TTATCTTCTGTCTCGCGCTTCCATSTCACTACAGCGTCATCACCAT 678
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
384 TTATCTTCTGTCTCGCGCTTCCACGTCTTGACAGCGTCGTCAACAT 433
679 AGCTCTAAGCCGCTCTCAAAGTGAGCCTTTGCTTCTTCTTCTTCTTT 728
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
434 GACCTAAGCCGCTCTCAAAGTGAGCATCATCTC..... 467
729 ACCGCACGTCTGTCTGTCTAGGCGTACCTACCTGTTTCATCAGGCTTGAGTA 778
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
468 .....GAGCTGTTTGTCAATAATCCTT...GGTTTCCAATCCAATCCA 508
779 AAACGTGTTCCATAATCTGCTCCGGCATAATCCTCTCCTCCTGCAGATGAG 828
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
509 AAGCTGGCACTGATCTCTGCTCCGG.....CTTCTGCAATGAA 547
829 AACATGGAAGAAATGGGAGACAGAGACCACCTCCTTGAATACCAATTGG 878
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
548 GCAATGGAAGAAGTGGGAGTGGGAGACCGCCTCGCTGGAGTATCAGTTGG 597
879 CAAATGGTCAGGATCCCCCACTCTGCAATCTCCCCTTCTTGAACCAAAA 928
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
598 CGAATGGTCAG.....CTTCAACTTTTCTTACTGAAA 629
929 CCTGATGATCCATTT...AAAGACGCAGGCACGATCA.....GAGTGAGT 970
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
630 CCGGATG...CATTTACAAACAAACGCACGCACGATCAATCATCACAGTGT 676
971 GAACTGAT.GTATGTTTCAATTTTTTGTGTCCT.TTCAGATCC.TGCACGG 1016
   || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
677 GAGCCGATACGTTGAACCCGATTGAAATCCTCCGCAGATCCCATCGCCGG 726

```

Figura 6

ES 2 317 652 T3

```

1017 TTCCGGTTTCACGCACCAGACGCTCGT..GTGAAGGCCCACTTGCGCCTCT 1065  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
727 TGCCGGTTTCACGCACCAGACGACTTGGGTAAGGGCGCACCTGGCGCCTCT 778  
  
1066 CCAGCAACCCATGGCATTCAGATTGGGTGGTAGTTTTTTAGCTTCTTATCTG 1115  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
777 CCAGCAACCCCCGGGCTCAGATTGGT..... 801  
  
. . . . .  
  
1166 GCCTGTGATGTTTGTTCCTTGTCAAGTGGCTTCTTCAGGCAGTTCTCTC 1215  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
802 .....GGTGGCCTTCTTCAGGCAGTTCTCTC 826  
  
1216 AGGTCACTTCAACAAGGTGGACTACCTTGAACTTGGAGGGCAAGCTTCATCAA 1265  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
827 ACGTCGGTGAACCAAGGTGGACTACCTTGAACTTGGAGGGCAAGGTTCATCAA 876  
  
1266 CGTACGTGCTTCCCCTTCTAAGCTCCGCCATTGCTGGCGGAGATGTAGCAGC 1315  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
877 C..... 877  
  
. . . . .  
  
1366 CAATAATTCTGCGCAGGCGCAATTGTCTCCAACAGCAGTTTCGACTTC 1415  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
878 .....GCGCATCTCTCCAGGCGAACAGGTTTCGACTTC 910  
  
1416 CACAAGTACATCAAGAAGGTGGATGGAGGAGCACTTCAAGGTGGTGGCGG 1465  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
911 CACAAGTACATCAAGAAGGTGGTGGAGGAGCACTTCAAGGTGGTGGCGG 960  
  
1466 CATCAGGTACGTTCCATTCTTCTCTCTGCAC.....CACACCACAC 1506  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
961 CATCAGGTACGCGCCATTCTCTTCTCTGCACAAATTAATACATCCACCAC 1010  
  
1507 CCCATGGATAGATTTTAACAATTGCTGTCAAGTTCCACATGATAACARTA 1556  
| | | : | | | | | | | | | | | | |  
1011 CACATANGTAGATAGATAGA.....TCGATANATANATTA 1045  
  
1557 TACTATGAACCTTGGTCTTTTGTCTCTTGTCTTGCACGATCATGACACATT 1606  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
1046 TAC.AAGTGGCGGTACGTACGTACGTCTCAT...ATGATCTTGACACATC 1091  
  
1607 TGGGCTGTTTTTGGCAAGCTTCCGCTTGTGGGGGTGGGGATCTTCAACCTC 1656  
|| || || || | | | | | | | | | | | |  
1092 GTCTCTCTTGCCGCAATCTCAAGCTCTGGTTGGTGGGGTCTCTCATCTC 1141  
  
1657 TTCCTTGACATCAATSGTATGGAACTTCTCC.TCTCCGGTTTCTCTATTG 1705  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
1142 TTCCTTGATTTTCAGCGGTAGCCGGCTTGTCCATGCCCTGCTCGCCCTCTC 1191  
  
1706 CTITTCAGCTAAAATAAACACTTGCANTCGTCTCGTGATCACCGCTCAT 1755  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
1192 CTCGGCTTCTCTCCATAATTTGTG..AATTTGTCGGT.....AT 1229  
  
1756 TTTTCAACCATTTCTTTTCTACTCATAGGGG..TTGGCAGCTTCATTTGG 1804  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
1230 ATAAACCACACCACCGCTCGTCTTCTCGCAGGGGATCGGCACTCTTCTTGG 1279  
  
1805 ATTICTTTTCATCCCTCTCGTGGTAAGTGCAGATTTCTCCATCGAAAGCAA 1854  
|| || | | | | | | | | | | | | | |  
1280 ATGTCGGTGGTCTCTCTCGTGGTAAGTCCA.....CAATTGTAATAGA 1322  
  
1855 CAGCAAAACCAATTGTATCGCAATGGAAACCCACACCTAATATTAACTCA 1904  
| | | | | | | | | | | | | | | |  
1323 CAACCTGTCCAATTGTGATGTACAGTACCTCCAAACTTAA.....TTA 1365
```

Figura 6 (continuación)

ES 2 317 652 T3

```

1905 AAATGTCAATTGTGGTGGTCTTCC.....TCAACAGATGCTCTTGGT 1949
      ||||| ||| || ||||| || ||||| |||
1366 ACATGTCAATTGTGAT..GTCTTGGGTGAACATTAGATGCTCTTGTGG 1413
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1950 GTTGGAAACCAAGCTGGAGATGATCATCATGGAGATGGCCCTGGAGATCCA 1999
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1414 GTTGGGACCAAGCTGGAGATGGTATCATGGAGATGGCCAGGANATCCA 1463
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2000 GGACCGGGGAGCGCTATCAAGGGGGCCCGGTGGTGGAGCCAGCAACA 2049
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1464 TGACCGGGGAGCGCTGCTCAAGGGTGTCCCGCCGTGGAGCCAGCAACA 1513
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2050 AGTTCTCTTGGTTCACCGCCCGGACTGGGTCTCTCTCTCATACAGCTG 2099
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1514 AGTACTTCTGGTTCAACCGGCTGACTGGGTCTCTCTCTCATGCACTC 1563
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2100 ACCTTGTCTCAGAACCGCTTTCAGATGGCGCATTTTGTGTGGACAGTGGT 2149
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1564 ACACCTTCTCAGAACCGCTTTCAGATGGCTCATTTCTGTGTGGACAGTGGT 1613
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2150 ACGCCACCGATGAACCTTGTCACTTAAACATGGG..... 2181
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1614 A...CNTACAAGTACTTGTCACTTCACTTANGCTAACTCCAACAAACGAA 1660
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

2182 .....TGTCAGGACCGAGTGCCGCTGATGAACCTGCTCTGACGGAG 2223
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1711 GACACAAACTCAATCCACGCGGGTAGCAACGAACGTTTTTCCGTAC 1760
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2224 ATTAC.....TTG 2232
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1761 GTTTTCGTCCGCTTTCGCCCATCCAGCCCAATTCGTTGACGTTGTG 1810
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2233 TGTGTAGCCACGCGCGCTTGAAGAAATGCTACCAACGCGAGATCGGG 2282
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1811 CATCGCAGGCCACGCGCGCTTGAAGAAATGCTACCAACGAGAAATGCCA 1860
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2283 CTGAGCATCATGAAGGTGGTGGTGGGGCTAGCTCTCCAGTTCTCTGCAG 2332
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1861 ATGAGCATCGCCAAAGGTGCTGCTGGGGGTAGCCGCCAGATCTTGTGCAG 1910
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2333 CTATATGACCTTCCCGCTCTACGCGCTGCTCAGACAGGTAATAAAACCGT 2382
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1911 NTACATCACCTTCCCGCTNTACGCGCTCGTCAC..... 1943
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

2433 AATCATCTGTGTGTGCTGGCTTTGTATGCAGATGGGATCAAAACATGAAGA 2482
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1944 .....GCAGATGGGCTCACACATGAAGA 1966
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2483 GTTCCATCTTTCGAGGAGCAGACGTCGAAGGC..GCTCACCACCTGGCGGAA 2531
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1967 GAAGCANCTTCGACGAGCAGACGCGCAAGCGGCTGACCAACTGGCGGAAA 2016
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2532 CACGGCCAAAGGAGAAGAAGAAGTCCGAGACACGACATGCTGATGGCTC 2581
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2017 GATGGCCAAGGAGAAGAAGAAGGCCCGAGACGCGGCAATGCTGATGGCGC 2066
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2582 AGATGATCGGCTACGCAACACCGAGCCGAGGGCTCGTGGCCGATGGCGAGC 2631
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
2067 AGATGGGCGGCGCGGAGCGCGGAGCGTGGGCTNGTCGCCG..... 2107
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

```

Figura 6 (continuación)

[illegible]

Figura 6 (continuación)

	GGCTGCTCCGCGAGCAACCGACACACAGCAGCGTACCTGCGT	
	ACGTAGCGTGGCTTTCTTTTTCCTTTTCGCTCTCTGCTGCTCGGCGCGGCGACG	
	TGGATAGCGGCGACGCGGCGACGCTCGGCTTGGCTCGGCTGCTCTGCTGCTGCTG	
	CCTGCTAGAGCGCGGCTCTGCTGCTCGGCGCAGGAGGAGCTTGGCGCGGCTGACCG	
hélice I	M S D K R G V P A R E L P K T P S V-2233	20
	ATGTGCGACAAAGGGGTGCGGCGCGGAGCTGCGGAGACCGCTGCTGCGGCGGTG	60
	A-V-V-F-A-A-M-V-L-V-E-V-L-M E M G L N K	40
	CGGCTGGTCTTCCGCGCATGGTGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	120
	L G N W F Q H A H X X A L V E A L E R M	60
	CTGGGCAATGGTTCCAGCACCGGCAAGAGAGGCCCTGTGGGAGGCGCTGGAGAGATG	180
hélice II	K A E L-M-L-V-G-F-I-S-L-L-L-I-V-M-T-A-Q-M-T-B	80
	AAGCGGAGCTCATGCTGGTGGCTTCATATCCCTGCTCTCATGCTGACGCGAGCGCC	140
	I-D-F-A-K-T-C-I-S E D A A D V M W P C R R	100
	ATCATGCCAAGATATGCTATCTCGAGGATGCGCGGAGCTCATGCTGCGCTGCAAGCGC	160
	G T E G N K P S K Y V D Y C P E G X V A	120
	CGCACGAGGGCGGCAAGCCAGCAAGTACGTTGACTAGTCCCGGAGGCGCAAGGTGGC	180
hélice III	L M S T G S L H Q L H V-F-F-F-V-L-A-G-V-T	140
	CTCATCTCCAGCGGAGCTTGCACGAGCTGACGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	200
	H-V-T-T-S-V-I-T-L-L S R L K M R T V K	160
	CATGTACCTAGCGGCTATCACCATAGCTCTAAGCGCTCTCAAAATGAGAACATGGAAG	220
	K W E T E T T S L S T Q F A N D P A R F	180
	AAATGGGAGACAGAGACCTCTCTGGAATACGAGTTCGAAATGATCTGACGCTTC	240
	R F T H Q T S F V X A H L G L S S T P G	200
	CGGTTACGCGACAGAGCTGCTGCTGAGGCGGACCTGGGCTCTCCAGCACCGCTGGC	260
	I A M V V A F F R Q F F R S V T X V D T	220
	ATCAGATGGGTGCGCTTCTTCAGGCGTCTTCAGGTCAGTCACCAAGGTGGACTAC	280
	L T L R A G F I N A H L S Q M S K F D F	240
	CTGACCTGAGGCGAGGCTTCATCAAGCGGCAITTTGTCGCAAAACAGCAAGTTCGACTTC	300
hélice IV	H K Y I H R S M E D D F R V-V-V-E-T-S-P-L	260
	CACAGTACATCAAGAGCTCGATGGAGGAGGACTTCAAGGTGCTGCTGCTGCTGCTG	320
hélice V	P-L-M-G-V-A-I-L-T-F-L D I N G V G T-L-I	280
	CGGCTGTTGGGTGGGCGATCCTCAGCTCTCTCTTGCATCAATGGGCTTGGCGCTC	340
	I-W-I-S-F-I-P-L-V-I-L-L-C-V-S T K L E M	300
	ATCTGGATTTCTTTCATCCCTCTGCTGATCTCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	360
	I I H E M A L E I O D R A S V I K G A P	320
	ATCATCATGGAGATGGCTTGGAGATCAGGAGCGGGCGAGCGTCTCAAGGGGCGCCC	380
	V V E P S M K R F F M F H A P D W V L F F	340
	GTGGTGGAGCGCAGCAAGCTTCTTCTGCTTCCACCGCGCGAGCTGGGTCTCTCTCTC	400
	I H L T L F Q N A F Q M A H F V W T V A	360
	ATACAGCTGAGCTGTTCTCAGAACGCTTTCAGATGGCGCATTTTGTGAGACAGTGGC	420
	T P G L R K C Y H T Q I G L S I M K V-M	380
hélice VI	ACGGCCGGCTTGAAGAAATGCTACACAGCGAGATCGGCTGAGCATCATGAAGTGGTG	440
	V-G-L-A-A-Q-F-L-C-S-Y-M-T-F-P-L-T-A-L-V	400
	GTGGGCTAGCTCTCAGTTCTCTGCGCTATATGACCTTCCCTCTACGCGCTGCTG	420
	T Q M G S N H K R D I F D E Q T S R A L	420
	ACACAGATGGGATCAAAATGAAGAGTCCATCTTCCAGGAGCAGAGTCCAGGCGCTC	480
	T N W R H T A R E K-E-R-V-R D T D M L M	440
	ACCAACTGGCGGAGCAGCGCCAGGAGAGAGAGAGTCCAGACACCGGACATCGTGTATG	500
	A Q M I G D A T P S R G S S P M F S R G	460
	TCCTAGATGATCGGCGACGCAACCGAGCGAGGCTCTGCGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	520
	S S P V H L L H K G M G R S D D P Q S A	480
	TCATCACCGGCTGCTGCTTCAAGAGGCTATGGGCGGTCGGACGACCGCGAGCGCG	540
	P T S P R T Q Q E A R D M Y P V V V A R	500
	CCGCTCTCGCAAGACCGAGAGGAGGCTAGGAGATGTACCGGTTGCTGGTGGCGAC	560
	P V H R L N P N D R R S A S S S A L E	520
	CGGTTGCAGAGCTAAATCTAAGCAGAGGAGGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	580
	A D I P S A D T S T S Q G	540
	CGCGACATCCGAGTGCAGATTTTCTTCCGCGAGGAGGAGAGTTCGTGATTC	600
	TGTTAGTCCCAATGATAGCAACATAGATGTGATGATTCCTACATAGAAATACAT	
	TTTTTACGAGTC	

Figura 7

ES 2 317 652 T3

```

1  GARTTCAATT AAGGACAACA ACCGATGATA GCGTTAAGCT AGAGAGGATT
51  CATATGGATT AATTAACTGT ACTTAAGTTG AGGTAAAAC CTATCGATTG
101 CTTTGGACAC CGGCTCTCCC ATGATCTGCC AAGTTGAGCC GGCCTACCTA
151 ATTTCTTTCG AAAGCACACA ACAACGGAAG GTAACCACTA ATCTAGACAC
201 CACGGCTAAG TTATCAATTA CTACTCTAGT CTGGCGTAGA AACTTCATTG
251 TTTATGGAGA GTGCTAGTAC TAGACTACTT AATATAATAG TAAGCGACAA
301 ACCCACGACG ATGAGAATGT ACCTCACTTA CGTAGTCAAT TAAGTCGAAA
351 AGGAAATCTT GAACACTTAC TTTATTAAAG AAGTATTCCC CGAGGTACAG
401 GAGAGGAGAG CACGCCAATP ACTCCAGCAC TCCTCCGAAA CCTTCTCAC
451 TCTCTACCGT TTTCTCCAC ACAACTAAAA TGATGTCTAA TGTATGAAAG
501 TGAGTTGTAC TGTATTTTGT TGTGTGTTTG GAAGTGAAAT TAGCTCATCC
551 TTTTATAGCA ACTTAATGGT CGGTGTAGG TTGCTAATTA AGTCGGTAAA
601 CACTCACAAAC CACCATCGTC AACCAATAGG AGATCGCCAC ATGATCGAAA
651 GCTGACAGTT AGGGGTGCGA ACCGTGTTTT GTCCGAACCA AGCAACAAC
701 CTCTATCTAG GACCTCTCTT CTATGCTCTG CAAGTCGGCC CATATGCGG
751 TGCACATGG ATTAAGTCAA TTTGAGTCGT TTTGGACTGT CATGTGGGCC
801 CTTCCAATCC TTGTGCTCCC ATATGATTGG TCGAAGTAC ATTTAATTCC
851 TGGGTGAGTG CTAGAAGTAA TATGATAGAT GTGCTCCGGC TCCTGGGAAA
901 GAGGCCACTT GACATACTTG GGGTAGTGCC CCAAGGGTAT TCCCTATCGC
951 TTTTTCATAA TTTTCTCTCT CCAAAATCGG ACCGAACCA TAAAAAGAG
1001 AGGCGATGTT CATCGGCAMA TATCTATTTT TTTGATAGTG TCTTCCCTTA
1051 AAACCTGATT TTGCGAAGA CTTCGGGCTA AAACCATGAA ATCAGAGTTC
1101 CTTGTAAACA ATTTAATTTG CCTAANTAGA AAAAGATCG AATGGAGATA
1151 GCATTAAACT TGCTCCATAC GAATCATATT AGTTGGACCG TAACTCATAG
1201 AAAAAGTGC AAGTTGGTTG ACCTATCAAC CCTCTTATGT TGACCGTAAA
1251 CCTTTTATGC ATTAAGGATT AAGTACCGGC AGATCGTCAC TACTCACGAA
1301 TGCACAAATT TCGCGTAACG TAGGATGGGA TGAGTTGGTC AGAACCGGT
1351 CACCACGTG CCCAACCTGC CGGATCGAG CCATGGCCCG GCGATGCACG
1401 CGCTTTGACA CAGCCGCCCG CCGCCGCCCG GCGCCGCCCG GTTTTAAATA
1451 AAAACCGGCC GCGCCCTGTC AAAGGTGTC AAGTGTCAAG TGCAATCAGAG
1501 CTAAGCTAGC GGTCAACCCAG TCAGGTCACC CCGAGACGCA CCAGGGGATC
1551 TATUGGATCA TGGCAGGTG GAGATCGGGA TCGCGGAGT TCGCGGAGAC
1601 GCGGACGTG GCGGTGGCG TCGTCTCGCG CGTCTCTGTG CTCGTCTCCG
1651 CCGGCATGGA GCACGGGCTC CACAACCTCA GGCATGTACG CGCGCGGCA
1701 CGCGGTGTGC TCATCTCTCG AGTTAATTTC GTTGTGTGTTG TTGTGTGTT
1751 CTTGTGACAT CTCATTAAE ATCGATCGT GGTGATCGA TCGCCCTGTG
1801 GTGGCGATAC TCGTTGCATT GCAGTGCTTC CGTAGGCGGC AGAAGAAGGC
1851 CATGGGCGAC GCGCTCGACA AGATCAAGC AAGTCACCT CAGCCTCAGC

```

Figura 8

ES 2 317 652 T3

```

1901 TCACCCCTCAG CCTCCATCTC TAAATATTTG ACGCCGTTGA CTTTTTTAAA
1951 TATGTTTGAC CATTGCTCTT ATTTAAAAAA TTAAAGTAAT TATTAATCTT
2001 TTTTCTACCA TTTGATTCAT TGCTAAATAT ACTATTATGT ATACATATAG
2051 TTTTACATAT TTCACTAAAG TTTTAAATA AGACGAATGG TCAAACATGT
2101 TTAAAAAAGT CAACGCGCTC AAACATTTAG GAAGAAGAGA ATATTATATT
2151 GCTGCTCCCC TCTAGCCACT TTGCTGCCCT CCTCGTCATT TTTTCAAGTA
2201 TTTTACGCAA GACTGGTCCCT CCAATCAAA CGTCACAAAT AAGCCATTTA
2251 TAGTTTCTTT TCGCTTTTAA AGGGGGACTA CTGTATTTTA ATCATGGAGG
2301 AAACACCAG TCGGATGTCC GATTACTTAA AAAAAATTC GGGGACTAA
2351 TTTTTTTGGC TGATCATCGG TGAAATATTA GGTATATAT GTTGAAAAAA
2401 AATCAGCCAC AAACAATGAA ATATTTTGTG AAACACATAT TAGACACGTT
2451 GAAACGTATC ATTGTTACGT ATAAACATC GAATGTTAAC AGATTAAAC
2501 ATATGTTTTT TTTTAATCAG AATATAATCA TCGGATATAT TATGTAAAG
2551 ATATAATTAC AACGAATACA ACAGTCCGAT CGGATTATAT ATATATTAGT
2601 AGTTTAAGAG AAAAAATCATT TTGAAGATTA CTAGATACAT ACACGTATAG
2651 ATGGATGAAG TGGAGAGAGA TTAGAGATAA GTAGTTATAT GAATTTGTG
2701 AAACACACTT AAGACATATG TTCAACATA CTGCTATTAT GTATGAAATA
2751 TTGAGTTTAA ACGGTTTAAA ACACATATTC TTTTAATTAG AATGTAATAA
2801 TGTGATATCT TGTGTAAAA TTTAATTACA TCTAATATAA CGGTGTGATT
2851 AGATTGTATG TTGGATAACA TGCCCATCGG TTGGCTTATT TAGGGAATAA
2901 GCCAAATGGT ATATTGCAA ACGAAAAATA ATTTGTAAAT AAAACTTTTA
2951 TGTATGTATT CTTAACGATC TAGCAGCAAA GGCTGAAAAA TAAACTTTCA
3001 TGAAAAATCT CAAAATCAAC TCTTAAATTT TAAATTTTGG CTTATAAGTA
3051 TAGTTCTTAA CTAGTTTAGA AGAAAAATA TTTAAAGCGG GGAAGAGGAA
3101 AAGGAATAAA CTAATAGCTA AATTATTGCA TGCATGTAGC GATTTGAGGA
3151 CGACCGAGTT GTTTTGTCTG GATCAGCGGA CCGAGACAGA GCAATCTTCT
3201 TTAATCATAA ATAACCAGAA AAACCATAOC AGTTCATCAC AATGGACCGA
3251 GTCAGAGTCA TTACATATTT TTCAATGTTG CGCACAGGAT TCACCATGTT
3301 CTTATGGGAA ATATTTTAA CTCTCAAATG GTTATGATTT TGAACCTCTA
3351 TTTTGGAGAG AGAATTAACA AGCGAGCGAG CAATCAGGCC AAAAAGGAG
3401 AAAGAAAAAT ATTTTGTGTA ATTTTTTTT AAGGTAGGGT GGAGGACTCA
3451 TTACATGATT TTTTTTTATA TTCCCTCGTT GATTATATGC TGTTCAAATG
3501 GTTATGATTT TTTTAAAAGA TAACAACAAT ACAAATTAGT ATGTGATAGA
3551 TCATTTCAAG AOCATATAGG ATTAAATTTA ACTTCTGTAA ATTACAAAAC
3601 AAACAAGTTT AACTGTTAAT ATACATTAAA TTTGTTTTTT TCAACTTAGG
3651 AATTGAATTT TATGTATATA TTTGTAAAAT GATATATTAA TTTATTTTTT
3701 TAAAAAATA ATTATTTAGA TAACACOCOA ACTAGAAAAC CACCGCAGAA
3751 GTTCTCATAT TTCTGTCTCT ATCTGCACTT GCAGAGCTGA TGCTGCTGGG
3801 CTTCATATCC CTGCTTCTCA CCGTGGCACA GCGGCCCATC TCCAAGATCT

```

Figura 8 (continuación)

```

3851 GCATCCCCAA GTCGGGTGCC AACATCTTGT TCCCGTGCAA GGCAGGCCAA
3901 GATGCCATCG AAGAAAGAAG CAGCAAGTGG TCCCCCGTCC TTGCCCGCG
3951 CCGGCGCGG GGACTACTGC TCGAAATTCG ATGTGAGAAAT AACACCAGCT
4001 CCCGCCAAGC ACAACCTCGA TCCAATAACT AATTAACTA TAATTGATTT
4051 TTCTTGGGTT TTCTGCAGGG CAAAGTGGCG CTGATGTGG CAAAGAGCAT
4101 GCACCAGCTG CACATTTTCA TCTTGGTGCT CGCCGTGTTT CATGTTACCT
4151 ACTGCATCAT CACCATGGGT TTAGGGCCCT TCAAAGTGAG TTGTCTGTT
4201 TGTCCCTCAT GCACATGTTT TCTCTAGTTC TAGCAAGATT GTCAGTCCTT
4251 CAANTOGATT GTTTCGACAA GAAACCCAAT TTATTAATTT GCCAGTAAAT
4301 ATATAATAAT TGATCTTTCT TGGTTTTAGA TGAAGAAAAG GAAGAAGTGG
4351 GAGTCACAGA CCAACTCATT GGAGTATCAG TTGCGAATCG GTAGTGAATT
4401 AAGAATCTCC CTAACATTTT CATTTTCAGAA CCTTTATGAT AATGTCTTGA
4451 AAGAGGAGGA GCMAATCAGC TGAAAAATAT GATCGATCCA TGCAGATCCT
4501 TCACGATPCA GGTTCACGCA TCAGACGTCG TTGCTGAAGC GGCATCTGGG
4551 ATCATTCTCA AGCACCCCTG GGCTCAGATG GATCGTGAGT TATCAATCTC
4601 CGAATACATG CTGTGTTTTT ATTCTTGCAA CTGGCCTAOC TGTTCCAATT
4651 CAATCCATAT TTTTGA AAAAATAT CATGCCGTGT TTGTTGTTAG
4701 GTAGCATTCY TCAGGCAGTT CTTCGGGTCC GTCACCAAGG TGGACTACCT
4751 GACCATGCGG CAAGGCTTCA TCAATGTATA TACTAATCAA ACCTGACCAA
4801 TTCAACATG ATGATGCAA CAGAGACCAG GTTTTTTTTT TCGAGTGTGC
4851 ATTGAGTAAT GGTTTAGCT TCTCTCTTTC TCGAGCGCA TTTGTCCGAG
4901 AATAGCAAGT TCGACTTCCA CAAATACATC AAGAGGTCTT TGGAGGACGA
4951 CPTCAAAGTT GTCGTTGGCA TCAGGTCCGT CCTCGCTTTA TTAATTATAG
5001 GACTCTTATA TTCAACATTT TTTTATATAA GAAACATATT TAGTCTCCAG
5051 TTGTGTATGT GTATGTGAT CTGACACAT TTGGCTGGTT TTGCAGCCTC
5101 CCTCTGTGGT TCGTGGGAAT CCTGTACTC TTCTCGATA TCCACGGTAA
5151 TCCTTGTCCT ATTICATTC TTTTTTACT CTCAAAACCT TGTCTGAAT
5201 TGGTCTTATA ATCACCATCG ATTTTTTTTC AACTTTTTTC CGCGTGTAG
5251 GTCTTGGCAC ACTTATTTGG ATCTCTTTTG TTCTCTCAT CGTAAGAGCG
5301 AAATTTCCCT GTCCAAAGAA ACAGTTAACA TAATTAATTA TGCTTTAATT
5351 TATCATGAAA ATTAATATGA TCATATAACT AATGAACAAA CATTCATGTG
5401 AATGCCACCG TTGTCTCAGA TCGTCTGTT AGTTGGGACC AAGCTAGAGA
5451 TGGTGATCAT GGAGATGGCC CAAGAGATAC AGGACAGGGC CACTGTGATC
5501 CAGGAGCAC CTATGTTGA ACCAAGCAAC AAGTACTTCT GGTTCACCCG
5551 CCCTGACTGG GTCTTGTCT TCATACACCT GACACTCTTC CATGTACATG
5601 TTTAAACCT AAACCTTGGT GTCACACTAC AAATAGTACT TTATCTTTCA
5651 CAATTAACAC CTAATTAAC AACATAGCAT CCATCCATTT GTGGCTACTG
5701 ATCGATGGGA CGACGGATCG ATCATCACC GAAACGATTT CAGATGGCG
5751 ATTTCTATG GACTATGGT TGTATGCTAC TTGCTTAGTT GTTGCCATTA

```

Figura 8 (continuación)

```

5801 TCAGTTCTTA AGCAAAATTAA GTGTGATGCA TGCACCTGACT AATGAGACAA
5851 AAAATGACAC AGCTTCTTCA TCGATCTGGT TGTTTTGTGT GTGACAGGCA
5901 ACACCTGGTC TGAAGAAATG CTTCATGAA AATATTTGGC TGAGCATCGT
5951 GGAAGTCATT GTGGGATCT CTCTTCAGGT GCTATGCAGC TACATCACCT
6001 TCCCGCTCTA CGCGCTCGTC ACACAGGTGA ACAAGCCATT CACAAATTC
6051 ATTAGCCGTT TCTTAATTGA TGACACTGTT AATTTTTAGA CACACGTTTT
6101 GACCATTGTG CTTATTAATA ATATTTATGT AATTATCATT TGAGTTGTTT
6151 TATCACTAAA AGTACTTTTT AAATAATTTA TATTTTGCAT TTGTACAATT
6201 CTTTAAATAA GATAATGGTC AAACATGTGT CCAAAAGTTA ACAGCATCAT
6251 CTATTAAGAA AAGGAGGGGT TTTTTTTTTT TGGAAATTTG CAAAATTTGT
6301 TCAAAATCAG TCCAAAACCT TTTTTTTTTT CGAAATTTCA GTTTCACCTAC
6351 CAGTCCCAT AAAATGTCTT TTCTTTATTT CCACAAGATT GAACCCATGA
6401 GATGCCCTTT GTGTTGCTAT GTGTTTTGCC CATCACTTGC AGATGGGATC
6451 GAACATGAAG AAGACAATTT TCGAGGAGCA AACGATGAAG GCGCTGATCA
6501 ACTGGAGGAA GAGGCCGATG GAGAAGAAGA AGGTCCGGGA CCGCGACGCG
6551 TTCCTGGCGC AGATGAGCGT CGACTTCGCG ACGCCGGCGT CGAGCCGGTC
6601 CGCGTCGCGG GTGCACCTGC TGCAGGTCAC AGGGCGGGTC GGACGCCCGC
6651 CGAGCCCAAT CACGCTGGCC TCACCAACGG CACCGGAGGG GACATGTACC
6701 CGGTGCCGGC GCGCGCTGCG TCTGCCCAGC TGCTAGACGA CCGCGCCGAC
6751 AGGAGGTGGA TGCCATCCTC GTCGCCCGAC ATCGCCGATT CTGATTTTTC
6801 CTTCAGCGCA CAACGGTGAC GGGGGCGATC GGTTCCTGTA TTGATGCTGT
6851 ACCAAACATA CGAGTTTAAT ATATATATAA TTGTTACGGT AAAATCTAAT
6901 TATTGTGCGC GCACCTATAT TAGTCTTATA GCGCGACTGG TTCGTGATTA
6951 GACAAGGTGA TGCATGCTGT TTAGTTATAA AGGATATCAG CGCAGCTAAA
7001 AAAACTTACT CCTACTTAA TAGATGACCT CGTTGATTTT TAACATTATT
7051 CGTCTTATTT AAAAAATTTA TGCAAAATGT TAAAACATAA ATCATGCTTA
7101 AAGTACTTTT AGTGATAAAA CAACCTACAA CAAAATAAAT TATAGTTACC
7151 TAATTTTTTT TAATAAATCG AATGG

```

Figura 8 (continuación)

ES 2 317 652 T3

```

1   TTATACCATG TGAGAAAGGC TGAAGCATA TGCTCTTAGC AGGGACGCGT
51  GCATGTTTAT ATAGGAGGCA TAAGCCGAAG AGATATACAT GAGGAGAGGT
101 TTAAGATCAG TCTATCTTAT TTACAGTTTA AACACAAGGA GATAGAAAGA
151 GATCCTAACC TACACATGTT ATACAAGTCA CGTATAATAC AAGAGTTATT
201 TCGTCTAACA CCTTCCCCTC TGATATGATA AGTCGCCGGG AGAGAGAGAG
251 AGTGTGTGGC TGCCCTCGCT GCACTGCACG CACATGTTTA CTTCTCCGAC
301 TGAAACCACG GTGAAACCGG CGGCGGTGTC GCACTCCCCT GACTTTCCTC
351 GCCGGGGTCC CGTCCGGACA ATTAAACCGT CTGTACCTGC CGGGCGTCGA
401 CCGGATCGTG ATGTGGCGCC GCTTTGTCTG CAGCGAGCTG CGTGGCCGAT
451 GGCAACAAAA CTGCGGTAC ACACATGCAT ACCCCGCATA CCCCAGCGCT
501 CACCAGTAAG TAGGCTGTGG TCGGCGACCA CGGGCTCGCC GCCATTTCATG
551 CCATGCATGG GCCACCCGCC GCGGAAACCG CGGCGCTGCT GCCTGCCACC
601 CCGCCGCGGT TGACGAAGAC TTGCCCCGGC CATCCATAAA AGCATGCATG
651 GCTTGCTCTC ACCGGTCCGG CCACACACAC CACACTTCAC TTCGCCATTC
701 GCACCACCGA GAGCGTAGCG TAACGTGTGT TTGAAGTCCT ACCATTAATT
751 TTGCTGGATC GATGGCTGGG CCGGCGGGAG GTCGGGAGCT GTCGGACACG
801 CCGACGTGGG CGGTGGCGGT AGTCTGCGCC GTCATGATAC TCGTCTCCGT
851 CGCCATGGAG CACGCGCTCC ACAAGCTCGG CCACGTACGT GCTCTCGGTT
901 CACTAGTGCT TAACTGTTTT TGATGTTTTT GGGCGTGTTC GGTAGCCTGC
951 ATGGAGAGTG TATGAGCCCA AAAGTTCCTT CCCCAGCCCA CTTTTCGCTG
1001 TTTGGTAGGG TGTATGGGCT GAGGAGAGCA TGCACTCACT GATGCAAAAA
1051 GGGCCTCAGC ATAGCTGAGC CCAGCACCCC CGCAGAGGCG AGCTGAGGCG
1101 AGTTATGCTG AGCCCATGCA CCTTGGCCCC GTGCCCCCGT CGCCCCGTCG
1151 CTCCCCCCCT GCACCTCTTC CTCTCCCTC TTCCTACCAA ACACAGTCTC
1201 ATCCAAACAT GTAACAACAC ATGCATGACC ACCAAACAAC TGAAGATGAA
1251 TGTATTTCATC ATGTCTATAC TTACCATGCA TCAACAGGGA ACAACTATGC
1301 TAGGGTGAGA ACAGCTGCCA AACACACCCG TGCACCTACT CATGCTGTGC
1351 CGGCGCTGGC GTACGTGTGC AGTGGTTCCA CAAGTGGCGC AAGAAGGCCC
1401 TGGGGGAGGC GCTGGAGAAG ATGAAGGCGG AGCTCATGCT GGTGGGCTTC
1451 ATATCCCTGC TCCTCATCGT CACGAGGAT CCGTCTCCA GGATCTGCAT
1501 CTCCAAGGAG GCCGGCGAGA AGATGCTCCC GTGCAAGCCT TACGACGGCG
1551 CCGGCGGTGG CAAAGGCAAG GACAATCACC GGAGGCTTCT CTGGCTCCAA
1601 GCGGAGAGCG AGACCCACCG CCGGTTCCCTG GCTGCCCCCG CCGGAGTGGA
1651 CGTCTGCGCC AAACAGGTGA GCACCTAGCG TCGCCACAAA CCACAAACTA
1701 GCTAATGAGC ATGGACCTGA ATTTCTTCTC TTCTTGGCTT GGTGTGACTA
1751 AATTGGTTGT GCAGGGCAAG GTGCGCTGA TGTACGCGG AAGCATGCAC
1801 CAACTGCACA TATTCATCTT CGTCTCGCC GTCTTCCAGC TCTGTACAG
1851 CGTCGTCACC ATGACCCATA GCCGTCTCAA AGTGAGCATC ATACTCGAGC

```

Figura 9

```

1901 TGTTTGTCAG TAATCCTTGG TTTCCAATCC AATTCCAAAG CTGGCACTGA
1951 TCCTGCTCCG GCTTCCTGCA GATGAAGCAA TGGGAAGAAAT GGGAGTCGGA
2001 GACCCGCTCG CTGGAGTATC AGTTGCGGAA TGGTCAGCTT CAACTTTCT
2051 TACTGAAACC GGATGCATTT ACAACAAACG CACGCACGAT CAATCATCAC
2101 AGTGTGAGCC GATACGTTGA ACCGATTGAA TCCTCGCAGA TCCATCGCGG
2151 TGCCGGTTCA CGCACCAGAC GACGTTGGTG AGGCGGCACC TGGSCCTCTC
2201 CAGCACCCCC GGCCTCAGAT GGGTGGTGGC CTTCTTCAGG CAGTTCTTCA
2251 CGTCGGTGAC CAAGGTGGAC TACCTGACCT TGCAGCAGGG CTTCATCAAC
2301 GCGCATCTCT CGCAGGGCAA CAGGTTGAC TTCCACAAGT ACATCAAGAG
2351 GTCGTTGGAG GACGACTTCA AAGTCGTCGT CCGCATCAGG TACGCGCCAT
2401 TCCTTTCTCT GCACAAATTA ATACATCCAC CACCACATAG GTAGATAGAT
2451 AGATCGATAG ATAGATTATA CAAGTGCCGG TACGTACGTA CGTCTCATAT
2501 GATCTTGACA CATCTGTCTT CTTGCGCAG TCTCAAGCTC TGGTTCGTGG
2551 CGGTCCTCAT CCTCTTCTCT GATTTCGACG GTAGCCGCCCT TGTCCATGCC
2601 CTGCTCGCCC TCTCCTCCGC TTCTCTCCAT AATTGTGAA CTGTGCCGT
2651 ATATAACCAC ACCACCGTCG TCTTCTCGCA GGGATCGGCA CTCTTCTCTG
2701 GATGTCCGTG GTTCTCTCTG TGGTAAGTCC ACAATTTGAA TAGACAACCT
2751 GTCCAATTGT GATGTACAGT ACCTCAAAC TTAATTAACA TGTCAATTCG
2801 TGATGTCTTG CGTGTAACAT TAGATCCTCT TGTGGGTTGG GACCAAGCTG
2851 GAGATGGTGA TCATGGAGAT GGCCAGGAG ATCCATGACC GGGAGAGCGT
2901 CGTCAAGGGT GCTCCCGCCG TCGAGCCAG CAACAAGTAC TTCTGGTTCA
2951 ACCGGCTGA CTGGGTCTCT TTCTCATGC ACCTCACACT CTTCAGAAC
3001 GCGTTTCAGA TGGCTCATTT CGTGTGGACA GTGGTACGTA CAAGTACTTG
3051 TCACTTCACT TAGGCTAAT CCAACAAACG ACCCAAATT AATGGTCCGT
3101 CGCGTCTGTT TGGGGTATGT TTGGGGTAAA CGGACACAAA ACTCAATCCA
3151 ACGCGCGGTA GCAAACGAAC GTTTTTCCTG ACGTTTTCGT CCGCTTTTCG
3201 CCCATCCCAG CCCAAATTCG TTGACGTTGT TGCATCGCAG GCCACGCCCG
3251 GCTTGAAGAA ATGCTACCAC GAGAAAATGG CAATGAGCAT CGCCAAGGTC
3301 GTGCTGGGGG TAGCCGCCCA GATCTTGTGC AGCTACATCA CCTTCCCGCT
3351 CTACGCGCTC GTCACGCAGA TGGGCTCACA CATGAAGAGA AGCATCTTCG
3401 ACGAGCAGAC GGCCAAGGCG CTGACCAACT GCGGAAAGAT GGCCAAGGAG
3451 AAGAAGAAGG CCGGAGACGC GGCCATGCTG ATGGCGCAGA TGGGCGGCGG
3501 CGCGACGCCG AGCGTCGGCT CGTCGCCGGT GCACCTGCTC CACAAGGCCG
3551 GGGCGCGGTC CGACGACCCC CAGAGCGTGC CGGCGTCCC GAGGGCCGAG
3601 AAGGAAGGCG GCGGCGTGCA GCATCCGGCG CGCAAGGTAC CTCCTTGTGA
3651 CGGGTGGAGG TCGGCCTCGT CGCCGGCGCT CGACGCTCAC ATCCCGGCTG
3701 CAGATTTTGG CTTTCAGCAG CAACGTTGAC CGATCAGACA AGTTCTTTT
3751 TTTTTCGGTG AATAGAAAGC TATCATTTCA TTGATAGACA GTAGAAATTA
3801 CAGGAATGGC TGTCTACTA CTATGTACAC AAGGGCACAG CAAAGGATCA

```

Figura 9 (continuación)

```

3851 TTGATCTTGT TACAAGAGCA GTAGAAAGGG ATTGCTCTCC ATTGATCTTG
3901 TTAAGTTGTA TGTCACAAAT TGTTGCAGAA AAAAGTGTAT GTCATCCCAA
3951 CCAAGAGCTG AGTTTGTGAT GATTCGTGCA ATAAGAATTG CAAGTTTCAC
4001 CGAGTCAAAA ATGAACCTTC TAGGTACGCA CCAACCAACG GACTCTTTCA
4051 TCTCAACAAA AGAACTGTAA ATGGCAATAA TTCTGATAAC ATCGGAAGGG
4101 AGCTC

```

Figura 9 (continuación)

ES 2 317 652 T3

```

1  ATGCGAGGTG GGAGATCGGG ATCGCGGQAG TTGCGGGAGA CGCCGACGTG
51  GGCGGTGGCC GTCGTCTGGG CCGTCTCGT GCTCGTCTCC GCGGCCATGG
101 AGCAGGGCCT CCACFACCIC AGCCATAAAA CCACCGCAGA AGTTCTGATA
151 TTTCTTGTC TATCTGCACT TGCAGAGCTG ATGCTGCTGG GCTTCATATC
201 CCTGCTTCTC ACCGTGCGAC AGGCGCCCAT CTCCAAGATC TGCATCCCCA
251 AGTCGGCTGC CAACATCTTC TTGCGGTGCA AGGCAGGCCA AGATGCCATC
301 GAAGAAGAAG CAGCAAGTGG TCGCCGCTCC TTGCGCGGGC CCGGCGGGGG
351 GGACTACTGC TCGAATTTGG ATGGCAAGGT GGCGCTGATG TCGGCAAGA
401 GCATGCACCA GCTGCACATT TTCATCTTCG TGCTCGCCGT GTTCCATGTT
451 ACCTACTGCA TCATCAGCAT GGGTTTAGGG CGGCTCAAAA TGAAAGAAATG
501 GAAGAAGTGG GAGTCACAGA CCACCTCATT GGAGTATCAG TTGCGAATCG
551 ATCCTTCACG ATTCAAGGTC AGGCATCAGA CGTCGTTCTG GAAGCGGCAT
601 CTGGGATCAT TCTCAGCAC CCTGGGCTC AGATGGATCG TAGCATTTCT
651 CAGGCAGTTC TTTGGGTCCG TCACCAAGGT GGACTACCTG ACCATGCGGC
701 AAGGCTTCAT CAATGCGCAT TTGTCCGAGA ATAGCAAGTT CGACTTCCAC
751 AAATACATCA AGAGGTCTTT GGAGGAGGAC TTCAAAGTTG TCCTTGGCAT
801 CAGCTCCCT CTGTGCTTCG TCGGAATCTT TGTACTCTTC CTCGATATCC
851 ACGGTCTTGG CAGACTTATT TGGATCTCTT TTGTCTCTCT CATCATGCTC
901 TTGTTAGTTG GGACCAAGCT AGAGATGGTG ATCATGGAGA TGGCCCAAGA
951 GATACAGGAC AGGGCCACTG TGATCCAGGG AGCACCTATG GTTGAACCAA
1001 GCAACAAGTA CTTCGTGTTG AACCGCCCTG ACTGGGTCTT GTTTTTCATA
1051 CACCTGACAC TCTTCCATAA CGCATTTCAG ATGGCGCATT TCGTATGGAC
1101 TATGGCAACA CCTGGTCTGA AGAATGCTT CCATCAAAAT ATTTCCCTGA
1151 GCATCGTGGA AGTCATTGTC GGGATCTCTC TTCAGGTGCT ATGCAGCTAC
1201 ATCACCTTCC CGCTCTACCG GCTCGTCACA CAGATGGGAT CGAACATGAA
1251 GAAGACAATT TTGAGGAGC AAACGATGAA GCGGCTGATG AACTGAGGGA
1301 AGAAGGCGAT GGAAGAAGAAG AAGGTCCGGG AGCCCGAGCC GTTCTTGCGG
1351 CAGATGAGCG TCGACTTCGC GACCGCGGGG TCGAGCGGCT CCGGCTCGCC
1401 GCTGCACCTG CTGCAGGTCA CAGGCGCGGT CGGACGCGCG CCGAGCCCAA
1451 TCACGGTGGC CTCACCAACG GACCGGAGG AGGACATGTA CCGGTTGCGG
1501 GCGGCGGCTG CGTCTCGCCA GCTGCTAGAC GACCGCGCGG ACAGGAGGTG
1551 GATGGCATCC TCGTGGGCGG ACATGCGCGA TTCTGATTCT TCCTTCAGCG
1601 CACNACGGTG A

```

Figura 10

ES 2 317 652 T3

```

1  ATGGCTGGGC CGCGGGGAGG TCGGGAGCTG TCGGACACGC CGACGTGGGC
51  GGTGGCGGTA GTCTGGCGCG TCATGATACT CGTCTCCGTC GCCATGGAGC
101  AGCGCGTCCA CAAGCTCGGC CACTGGTTCC ACAAGTGGCG CAAGAAGGCC
151  CTGGGGGAGG CGCTGGAGAA GATGAAGGCG GAGCTCATGC TGGTGGGCTT
201  CATATCCCTG CTCCTCATCG TCACGCAGGA TCCCGTCTCC AGGATCTGCA
251  TCTCCAAGGA GCGCGGCGAG AAGATGCTCC CGTGCAGGCC TTACGACGGC
301  GCGGGGCGTG GCAAAGGCA AAGACAATAC CGGAGGCTTC TCTGGCTCCA
351  AGCGGAGAGC GAGACCCAGC GCGCGTTCTT GCGTGCCTCG GCGGAGTGG
401  ACGTCTGGCG CAAACAGGGC AAGGTGGGCG TGATGTGAGC GCGAAGCATG
451  CACCAACTGC ACATATTAT CATTCGTCTC GCGTCTCTCC ACGTCTGTGA
501  CAGCGTCTGC ACCATGACCC TAAGCCGTCT CAAATGAAAG CAATGGAAGA
551  AGTGGGAGTC GAGAGCCGCC TCGCTGAGT ATCAGTTCCG GAATGATCCA
601  TCGCGGTGCC GGTTCACGCA CCAGACGAGC TTGGTGAGGC GGCACCTGGG
651  CCTCTCCAGC ACCCCCGGCG TCAGATCGGT GGTGGCCTTC TTCAGGCAGT
701  TCTTACGTC GGTGACCAAG GTGGACTACC TGACCTTCCG GCAGGGCTTC
751  ATCAACGGCG ATCTCTCGCA GGGCAACAGC TTCGACTTCC ACAAGTACAT
801  CAAGAGGTCC TTGGAGGAGC ACTTCAAGT CGTGGTCCGC ATCAGTCTCA
851  AGCTCTGGTT CGTGGCGGTC CTCATCCTCT TCCTTGATTT CGACGGGATC
901  GGCACCTTTC TCTGGATGTC CGTGGTCTCT CTCGTGATCC TCTTGTGGT
951  TGGGACCAAG CTGGAGATGG TGATCATGGA GATGGCCAG GAGATCCATG
1001  ACCGGGAGAG CGTGTCAAG GGTGCTCCCG CCGTCCAGCC CAGCAACAAG
1051  TACTTCTGGT TCAACCGGCC TGAATGGGTC CTCTTCTCA TGACCTCAC
1101  ACTCTTCCAG AACCGGTTTC AGATGGCTCA TTCTGTGTGG ACAGTGGCCA
1151  CGCCCGGCTT CAGAAATGC TACCAGGAGA AAATGGCAAT GAGCATCGCC
1201  AAGGTCTGTC TGGGGTAGC CGCCAGATC TTGTCCAGCT ACATCAGCTT
1251  CCGCTCTAC CGCTCTCTCA CGCAGATGGG CTCACACATC AAGAGAAGCA
1301  TCTTCCAGCA GCAGACGGCC AAGGGCTGA CCAACTGCGG AAGATGGCC
1351  AAGGAGAAGA AGAAGGCGCG AGACCGGCC ATGCTGATGG CCGAGATGGG
1401  CGCGGGCGCG ACGCCAGCG TCGGCTCGTC GCGGTGCAAC CTGCTCAACA
1451  AGGCGGGGCG GCGGTGCGAC GACCCCTAGA GCGTGGCGGC GTCCCGGAGG
1501  GCGGAGAAGG AAGCGGCGCG CGTGCAGCAT CCGCGCGGCA ACGTACCTCC
1551  TTGTGACGCG TGGAGGTCCG CCTGCTCGCC GCGGTGCGAC GGTACATCC
1601  CCGCTGAGCA TTTTGGCTTC AGCAGCGAAC GTTGA

```

Figura 11

ES 2 317 652 T3

```

1      GTTGGTACAT AAAAGACTCT TCCTTTGTCT GTTTTTTGTT CCCAGATTCA
51     TCTTFACTTA TTGACTAAAT TCTCTCTGGT GTGAGAAGTA AAATGGGTCA
101    CGGAGGAGAA GGGATGTGCG TTGAATTAC TCCGACGTGG GTCGTGCGCG
151    GAGTTTGTAC GGTTCATCGTC GCGATTTAC TGGCGGTGGA GCGTTTGTCTT
201    CACTATTTTCG GTACTGTTCT TAAGAAGAAG AAGCAAAAAC CCCTTTACGA
251    AGCCCTTCAA AAGGTTAAAG AAGAGCTGAT GTTGTTAGGG TTTATATCGC
301    TGTACTGAC GGTATTCCAA GGGCTCATT CCAAATTCTG TGTGAAGAA
351    AATGTGCTTA TGCATATGCT TCCATGTTCT CTCGATTCAA GACGAGAAGC
401    TGGGGCAAGT GAACATAAAA ACGTTACAGC AAAAGAACAT TTTCAGACTT
451    TTTTACCTAT TGTTGGAACC ACTAGGCGTC TACTTGCTGA ACATGCTGCT
501    GTGCAAGTTG GTTACTGTAG CGAAAAGGGT AAAGTACCAT TGCTTTGCGT
551    TGAGGCATTG CACCATCTAC ATATTTTCAT CTTGTCCTC GCCATATCCC
601    ATGTGACATT CTGTGTCCTT ACCGTGATT TTGGAAGCAC AAGGATTAC
651    CAATGGAAGA AATGGGAGGA TTCGATCGCA GATGAGAAGT TTGACCCCGA
701    AACAGCTCTC AGGAAAAGAA GGGTCACTCA TGTACACAAC CATGCTTTTA
751    TTAAAGAGCA TTTTCTTGGT ATTGGCAAAG ATTCAGTCAT CCTCGGATGG
801    ACGCAATCCT TTCTCAAGCA ATTCTATGAT TCTGTGACGA AATCAGATTA
851    CGTGACTTTA CGTCTTGGTT TCATTATGAC ACAATTGTAAG GGAAACCCCA
901    AGCTTAATTT CCACAAGTAT ATGATGCGCG CTCTAGAGGA TGATTTCAAA
951    CAAGTTGTTG GTATTAGTTG GTATCTTTGG ATCTTTGTG TCATCTTTTT
1001   GCTGCTAAAT GTTAACGGAT GGCACACATA TTTCTGGATA GCATTTATTC
1051   CCTTTGCTTT GCTTCTTGCT GTGGGAACAA AGTTGGAGCA TGTGATTGCA
1101   CAGTTAGCTC ATGAAGTTC AGAGAAACAT GTAGCCATTG AAGGAGACTT
1151   AGTGGTGAAA CCCTCAGATG AGCATTCTCG GTTCAGCAAA CCTCAAATTG
1201   TTCTCTACTT GATCCATTTT ATCCTCTTCC AGAATGCTTT TGAGATTGCG
1251   TTTTCTTTTT GGATTTGGGT TACATACGGC TTOGACTCGT GCATTATGGG
1301   ACAGGTGAGA TACATTGTTC CAAGATTGGT TATCGGGGTC TTCATTCAAG
1351   TGCTTTGCAG TTACAGTACA CTGCCCTTTT ACGCCATCGT CTCACAGATG
1401   GGAAGTAGCT TCAAGAAAGC TATATTCGAG GAGAATGTGC AGGTGGTCTT
1451   TGTTNGTTGG GCACAGAAAG TGAACAAAA GAGAGACCTA AAAGCTGCAG
1501   CTAGTAATGG AGACGAAGGA AGCTCTCAGG CTGGTCCTGG TCCTGATTCT
1551   GGTTCTGGTT CTGCTCCTGC TGCTGGTCCT GGTGCAGGTT TTGCAGGAAT
1601   TCAGCTCAGC AGAGTAACAA GAAACAACGC AGGGGACACA AACAATGAGA
1651   TTACACCTGA TCATAACAAC TGAGCAGAGA TATTATCTTT TCCATTTAGA
1701   GGATCATCAT CAGATTTTAG CTTCAAGGTC CGGTTTTGTG GTTTATACAT
1751   AAGTTATAGT GACTTGATTT TTTTGTTTTG TTACAAAGTT ACCATCTTTG
1801   GATTAGAATT GGGAAATTGA ATCTGTTTGT ATATTGTATT ATTTGGAACA
1851   TTGTGGATGC CCATGGATAT GTTCTGTTC

```

Figura 12

```

1  MAGGRSGSRE LPETPTWAVA VCAVLVLVS AAMEHGLHNL SHKTTAEVLI
51  FLVLSALAEI MLLGFISLLL TVAQAPISKI CIPKSAANIL LPCKAQQDAI
101 EEEAASGRRS LAGAGGGDYC SKPDGKVALM SAKSMHQLHI FIFVLAVPHV
151 TYCIITMGLG RLKMKKKKKW ESQINSLEYQ FAIDPSRFRF THQTSFVKRH
201 LGSFSSTPGL RWIVAFFRQF FGSVTKVDYL TMRQGFINAH LSONSKFDFH
251 KYIKRSLEDD FKVVVGISLP LMFVGILVLF LDINGLGTLI WISFVPLIIV
301 LLVGTKLEMV IMEMAQEIQD RATVIQGAHM VEPSNKYFWF NRPDWLFFI
351 HLTLPIDAFQ MAHFVVTMAT PGLKKCFHEN IWLSEIVEVIV GISLQVLCST
401 ITFFLYALVT QMGSNMKKTI FEEQTMKALM NMRKKAMEKK KVRDADAFLA
451 QMSVDFATPA SSRSASPVHL LQVTGRVGRP PSPITVASPP APEEDMYPVP
501 AAAASROLLO DPPDRRWMAE SSADIADSDF SPSAQR*

```

Figura 13

```

1  MAGPAGGREL SDTPTWAVAV VCAVMILVSV AMEHALHKLG HWFHKWRKKA
51  LGEALEKMKA ELMLVGFISL LLIVTQDPVS RICISKEAGE KMLPCKPYDG
101 AGGGKQKDNH RRLNLQGES ETHRRFLAAP AGVDVCAKOG KVALMSAGSM
151 HQLHIFIFVL AVFHVLYSVV TMTLSRLKMK QNKKWESETA SLEYQFANDP
201 SRCRFTHQTT LVRRHLGLSS TPGVRNVVAF FRQFFTSVTK VDYLTLRQGF
251 INAHLSCQNR FDFHKYIKRS LEDDFKVVVR ISLKLWVAV LILFLDFDGI
301 GTLLWMSVVP LVILLWVGTK LEMVIMEMAQ EIHDRSVVK GAPAVEPSNK
351 YFWFNRPDNV LFLMHLTLFQ NAFQMAHFVN TVATPGLKKC YHEKMAMSA
401 KVVLGVAQI LCSYITFFLY ALVTQMGSHM KRSIFDEQTA KALTNRKMA
451 KEKKKARDAA MLMAQMGGA TPSVQSSPVH LLHKAGARSD DPQSVPASPR
501 AEKEGGGVQH PARKVPFCDG WRSASSPALD AHIPGADFGF STQR*

```

Figura 14

```

1  MCHGQGGMSL EFTPTWVWAG VCTVIVAISL AVERLLSVFG TVLKKKXOKP
51  LYEALQKVKE ELMLLGFISL LLTVFQGLIS KFCVKENVLN HMLPCSLDSR
101 REAGASEHKN VTAKHEHQT7 LPIVCTTRRL LAEBAAPQVG YCSEKQKVPL
151 LSLEALHHLH IFIFVLAISH VTFCVLTVIF GSTRIHQWKK WEDSIADK7
201 DPETALRKR VTHVHMHAFI KEHFLGIGKD SVILGWTQSF LKQFYDSVTK
251 SDYVTLRLGF IMTHCKGHPK LNFHKYMMRA LEDDFKQVVG ISWYLMIPVV
301 IFLLLVNCGW HTYFWIAFIP FALLLAUGTX LEHVIAQIAH EVAETHVAIK
351 GDLVVKPSDE HFWFSKPQIV LYLIHFILFQ NAFETAPFTW IWVTYGFDSK
401 DMGOVRYIVP RLVTGVFIQV LCSYSTLPY AIVSOMGSSP KKAILEENWQ
451 VGLVGNAQKV KQKRDKAAA SNGDEGSSQA GPGFOSGSGS APAAGPGAG7
501 AGIQLSRVTR NNA6DTNEI TPOHNN*

```

Figura 15

Hvmlc-H1	AGPAG	GR	ELSDPTWAV	AVGCAVNLV	BAHEHA	GGWFHWRK	KALGEALERM
Mio	MDCKG	PAR	ELPETPMWAV	AVVFAANLV	SVLHENC	GGWFHWRK	KALGEALERM
Osmlo-H1m	AGGGS	QSR	ELPETPMWAV	AVVCAVNLV	SAHEHCHN	GGWFHWRK	KALGEALERM
Atmlc-H1	MOHGG	QSR	SLPETPTWAV	AGVCAVNLV	SLAMEHLLHY	GGWFHWRK	KALGEALERM
Consensus	AGPAG	GR	ELSDPTWAV	AVGCAVNLV	BAHEHA	GGWFHWRK	KALGEALERM
Hvmlc-H1	KAEHLV	GGPI	SLLLIVTQDP	WKKICISKE	AGEKHLPC	KPYDGA	GGKXKDNHRL
Mio	KAEHLV	GGPI	SLLLIVTQDP	WKKICISKE	AGEKHLPC	KPYDGA	GGKXKDNHRL
Osmlo-H1m	KAEHLV	GGPI	SLLLIVTQDP	WKKICISKE	AGEKHLPC	KPYDGA	GGKXKDNHRL
Atmlc-H1	KAEHLV	GGPI	SLLLIVTQDP	WKKICISKE	AGEKHLPC	KPYDGA	GGKXKDNHRL
Consensus	KAEHLV	GGPI	SLLLIVTQDP	WKKICISKE	AGEKHLPC	KPYDGA	GGKXKDNHRL
Hvmlc-H1	LWLGSETH	RRFLA	PAAGV	DVCAK	OGK	VALMSAGSMH	QLHPIPIFVLA
Mio	KYVD	RRFLA	PAAGV	DVCAK	OGK	VALMSAGSMH	QLHPIPIFVLA
Osmlo-H1m	KYVD	RRFLA	PAAGV	DVCAK	OGK	VALMSAGSMH	QLHPIPIFVLA
Atmlc-H1	QPLPIVGT	RRFLA	PAAGV	DVCAK	OGK	VALMSAGSMH	QLHPIPIFVLA
Consensus	LWLGSETH	RRFLA	PAAGV	DVCAK	OGK	VALMSAGSMH	QLHPIPIFVLA
Hvmlc-H1	MTLSRLK	KQ	WKKWETETAS	LEYQFANDPS	RCRFT	NOT	TSFVRHHLG
Mio	MTLSRLK	KQ	WKKWETETAS	LEYQFANDPS	RCRFT	NOT	TSFVRHHLG
Osmlo-H1m	MTLSRLK	KQ	WKKWETETAS	LEYQFANDPS	RCRFT	NOT	TSFVRHHLG
Atmlc-H1	MTLSRLK	KQ	WKKWETETAS	LEYQFANDPS	RCRFT	NOT	TSFVRHHLG
Consensus	MTLSRLK	KQ	WKKWETETAS	LEYQFANDPS	RCRFT	NOT	TSFVRHHLG
Hvmlc-H1	VAFPRQFFTS	TS	VTXVDYLTLR	QGFINAHLSQ	QMKFDPHXYI	KRSLEDDPKV	VVRISL
Mio	VAFPRQFFTS	TS	VTXVDYLTLR	QGFINAHLSQ	QMKFDPHXYI	KRSLEDDPKV	VVRISL
Osmlo-H1m	VAFPRQFFTS	TS	VTXVDYLTLR	QGFINAHLSQ	QMKFDPHXYI	KRSLEDDPKV	VVRISL
Atmlc-H1	VAFPRQFFTS	TS	VTXVDYLTLR	QGFINAHLSQ	QMKFDPHXYI	KRSLEDDPKV	VVRISL
Consensus	VAFPRQFFTS	TS	VTXVDYLTLR	QGFINAHLSQ	QMKFDPHXYI	KRSLEDDPKV	VVRISL
Hvmlc-H1	VAVLFLD	DF	DGIGTLINMS	VPLVILLMV	GTKLENVINE	MAQRIHDMES	VSKGAP
Mio	VAVLFLD	DF	DGIGTLINMS	VPLVILLMV	GTKLENVINE	MAQRIHDMES	VSKGAP
Osmlo-H1m	VAVLFLD	DF	DGIGTLINMS	VPLVILLMV	GTKLENVINE	MAQRIHDMES	VSKGAP
Atmlc-H1	VAVLFLD	DF	DGIGTLINMS	VPLVILLMV	GTKLENVINE	MAQRIHDMES	VSKGAP
Consensus	VAVLFLD	DF	DGIGTLINMS	VPLVILLMV	GTKLENVINE	MAQRIHDMES	VSKGAP
Hvmlc-H1	SNKY	PWFMRP	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF
Mio	SNKY	PWFMRP	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF
Osmlo-H1m	SNKY	PWFMRP	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF
Atmlc-H1	SNKY	PWFMRP	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF
Consensus	SNKY	PWFMRP	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF	DNVLEF

Figura 16

Hvmlc-H1	AGILCSYITF	PLYALVTQNG	SNMRSIFDE	QTSKALTNNR	KMAKEKKKAR	DAAHLMHQM
Hic	LQFLCSYMTF	PLYALVTQNG	SNMRSIFDE	QTSKALTNNR	NTAKEKKKVR	DTDLMLHQM
Osmic-H1a	LQVLCSYITF	PLYALVTQNG	SNMRSIFDE	QTSKALTNNR	KKAMEKKKVR	DAADFLAQM
Atmlc-H1	LQVLCSYITF	PLYALVTQNG	SNMRSIFDE	QTSKALTNNR	QKVKKQRDLK	AAASMGDCS
Consensus	-Q-LCSY-ITF	PLYALVTQNG	S-KK--IF-E	QT-KAL-NNR	--AKEKKK-R	DA-- --AQM-
Hvmlc-H1	GGAT	PSVGSSPV	HLLHKAGARS	DDPOSVPASP	RAKEG	GGVQHPARK
Hic	GGATPSRGSS	PMPSRGSSPV	HLLHKAGARS	DDPOSVPASP	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR
Osmic-H1a	GGATPSRGSS	PMPSRGSSPV	HLLHKAGARS	DDPOSVPASP	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR
Atmlc-H1	GGATPSRGSS	PMPSRGSSPV	HLLHKAGARS	DDPOSVPASP	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR
Consensus	-A-- --SPV	PSVGSSPV	HLLHKAGARS	DDPOSVPASP	RAKEG	GGVQHPARK
Hvmlc-H1	V	PPCDGWR	IPGADPSFST	QR	RAKEG	GGVQHPARK
Hic	L	PPCDGWR	IPGADPSFST	QR	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR
Osmic-H1a	LLDDPPDRRW	SASSSALRAD	IPGADPSFST	QR	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR
Atmlc-H1	LLDDPPDRRW	SASSSALRAD	IPGADPSFST	QR	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR
Consensus	--P-D--	SASSSALRAD	IPGADPSFST	QR	RTQQSEARDNY	PVVVAHPVHR

Figura 16 (continuación)

ES 2 317 652 T3

LISTA DE SECUENCIAS

(1) INFORMACIÓN GENERAL:

- 5 (i) SOLICITANTE:
- (A) NOMBRE: John Innes Centre Innovations Limited
(B) CALLE: Norwich Research Park, Colney Lane
(C) CIUDAD: Norwich
10 (D) ESTADO: Norfolk
(E) PAÍS: Reino Unido
(F) CÓDIGO POSTAL (CP): NR4 7UH
15 (G) TELÉFONO: 01603-456500
- (A) NOMBRE: Schulze-Lefert, Paul Maria Josef
20 (B) CALLE: Sainsbury Laboratory, Norwich Research Park, Colney Lane
(C) CIUDAD: Norwich
(E) PAÍS: Reino Unido
(F) CÓDIGO POSTAL (CP): NR4 7UH
25
- (A) NOMBRE: Panstruga, Ralph
(B) CALLE: Sainsbury Laboratory, Norwich Research Park, Colney Lane
(C) CIUDAD: Norwich
30 (E) PAÍS: Reino Unido
(F) CÓDIGO POSTAL (CP): NR4 7UH
- 35 (A) NOMBRE: Büschges, Rainer
(B) CALLE: Sainsbury Laboratory, Norwich Research Park, Colney Lane
(C) CIUDAD: Norwich
(E) PAÍS: Reino Unido
40 (F) CÓDIGO POSTAL (CP): NR4 7UH
- (ii) TÍTULO DE LA INVENCIÓN: Métodos y Materiales para la Modulación de una Respuesta de Defensa
en las Plantas
- 45 (iii) NÚMERO OF SECUENCIAS: 56
- (iv) FORMA DE LECTURA DEL ORDENADOR:
- (A) TIPO DE MEDIO: Disquete
50 (B) ORDENADOR: IBM compatible PC
(C) SISTEMA OPERATIVO: PC-DOS/MS-DOS
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPO)
- 55 (v) DATOS DE LA SOLICITUD VIGENTE: NÚMERO DE SOLICITUD: PCT/GB97/02046
- (vi) DATOS DE LA SOLICITUD PREVIA:
- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: GB9615879.5
60 (B) FECHA DE SOLICITUD: 29 de julio de 1996
- (vi) DATOS DE LA SOLICITUD PREVIA:
- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: GB9622626.1
65 (B) FECHA DE SOLICITUD: 30 de octubre de 1996
- (vi) DATOS DE LA SOLICITUD PREVIA:
- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: GB9704789.8

ES 2 317 652 T3

(B) FECHA DE SOLICITUD: 7 de marzo de 1997

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 1:

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 533 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- 10 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína
- 15 (iii) HIPOTÉTICO: No
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*
- 20 (vii) FUENTE INMEDIATA:
- (B) CLON: *Mlo*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 1:
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

ES 2 317 652 T3

Met Ser Asp Lys Lys Gly Val Pro Ala Arg Glu Leu Pro Glu Thr Pro
 1 5 10 15
 Ser Trp Ala Val Ala Val Val Phe Ala Ala Met Val Leu Val Ser Val
 20 25 30
 Leu Met Glu His Gly Leu His Lys Leu Gly His Trp Phe Gln His Arg
 35 40 45
 His Lys Lys Ala Leu Trp Glu Ala Leu Glu Lys Met Lys Ala Glu Leu
 50 55 60
 Met Leu Val Gly Phe Ile Ser Leu Leu Leu Ile Val Thr Gln Asp Pro
 65 70 75 80
 Ile Ile Ala Lys Ile Cys Ile Ser Glu Asp Ala Ala Asp Val Met Trp
 85 90 95
 Pro Cys Lys Arg Gly Thr Glu Gly Arg Lys Pro Ser Lys Tyr Val Asp
 100 105 110
 Tyr Cys Pro Glu Gly Lys Val Ala Leu Met Ser Thr Gly Ser Leu His
 115 120 125
 Gln Leu His Val Phe Ile Phe Val Leu Ala Val Phe His Val Thr Tyr
 130 135 140
 Ser Val Ile Thr Ile Ala Leu Ser Arg Leu Lys Met Arg Thr Trp Lys
 145 150 155 160
 Lys Trp Glu Thr Glu Thr Thr Ser Leu Glu Tyr Gln Phe Ala Asn Asp
 165 170 175
 Pro Ala Arg Phe Arg Phe Thr His Gln Thr Ser Phe Val Lys Arg His
 180 185 190
 Leu Gly Leu Ser Ser Thr Pro Gly Ile Arg Trp Val Val Ala Phe Phe
 195 200 205
 Arg Gln Phe Phe Arg Ser Val Thr Lys Val Asp Tyr Leu Thr Leu Arg
 210 215 220
 Ala Gly Phe Ile Asn Ala His Leu Ser Gln Asn Ser Lys Phe Asp Phe
 225 230 235 240
 His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser Met Glu Asp Phe Lys Val Val Val
 245 250 255
 Gly Ile Ser Leu Pro Leu Trp Gly Val Ala Ile Leu Thr Leu Phe Leu
 260 265 270
 Asp Ile Asn Gly Val Gly Thr Leu Ile Trp Ile Ser Phe Ile Pro Leu
 275 280 285
 Val Ile Leu Leu Cys Val Gly Thr Lys Leu Glu Met Ile Ile Met Glu
 290 295 300
 Met Ala Leu Glu Ile Gln Asp Arg Ala Ser Val Ile Lys Gly Ala Pro
 305 310 315 320
 Val Val Glu Pro Ser Asn Lys Phe Phe Trp Phe His Arg Pro Asp Trp
 325 330 335
 Val Leu Phe Phe Ile His Leu Thr Leu Phe Gln Asn Ala Phe Gln Met
 340 345 350
 Ala His Phe Val Trp Thr Val Ala Thr Pro Gly Leu Lys Lys Cys Tyr
 355 360 365
 His Thr Gln Ile Gly Leu Ser Ile Met Lys Val Val Val Gly Leu Ala
 370 375 380
 Leu Gln Phe Leu Cys Ser Tyr Met Thr Phe Pro Leu Tyr Ala Leu Val
 385 390 395 400
 Thr Gln Met Gly Ser Asn Met Lys Arg Ser Ile Phe Asp Glu Gln Thr
 405 410 415
 Ser Lys Ala Leu Thr Asn Trp Arg Asn Thr Ala Lys Glu Lys Lys Lys
 420 425 430
 Val Arg Asp Thr Asp Met Leu Met Ala Gln Met Ile Gly Asp Ala Thr
 435 440 445
 Pro Ser Arg Gly Ser Ser Pro Met Pro Ser Arg Gly Ser Ser Pro Val
 450 455 460
 His Leu Leu His Lys Gly Met Gly Arg Ser Asp Asp Pro Gln Ser Ala
 465 470 475 480
 Pro Thr Ser Pro Arg Thr Gln Gln Glu Ala Arg Asp Met Tyr Pro Val
 485 490 495
 Val Val Ala His Pro Val His Arg Leu Asn Pro Asn Asp Arg Arg Arg
 500 505 510
 Ser Ala Ser Ser Ser Ala Leu Glu Ala Asp Ile Pro Ser Ala Asp Phe
 515 520 525
 Ser Phe Ser Gln Gly
 530

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 2:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1602 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

ES 2 317 652 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 2:

```

ATGTCGGACA AAAAAGGGGT GCGGGGGGG GAGTGGCGG AGACGGCGTC GTGGGGGGTG      60
CGGTTGGTCT TGGCGGCCAT GGTGGTGGTG TCGGTCTTCA TGGAAACGG CCTCCACAAG      120
CTCGGCCATT GGTTCAGCA CCGGCACAAG AAGGCCCTGT GGGAGGGGCT GGAGAAGATG      180
AAGGGGAGG TCATGCTGGT GGGCTTATA TCCCTGCTCC TCATGCTCAC GGAGGACCCC      240

ATCATCGCCA AGATATGCAT CTCGGAGGAT GCGGCGGAG TCATGTGGCC CTGCAAGGCG      300
GGCAACGAGG GCGGCAAGCC CAGCAAGTAC GTTGACTACT GCGCGAGGG CAAGGTGGCG      360
CTCATGTCCA CCGGCAGCTT GCACGAGCTG CAGCTCTTCA TCTTGGTGGT CCGGCTCTTC      420
CATGTCACTT ACAGGCTCAT CAGCATAGCT CTAAGCCGTC TCAAAATGAG AACATGGAAG      480

AAATGGGAGA CAGAGACGAC CTGCTTGGAA TACCAGTTGG CAAATGATCC TGCACGGTTC      540
CGGTTCAAGC ACCAGACGTC GTTGGTGAAG CCGCACCTGG GCCTCTCCAG CAGCCCTGGC      600
ATCAGATGGG TGGTGGGCTT CTTCAGGCAG TTCTTCAGGT CAGTCACCAA GGTGGACTAC      660
CTGACCTTGA GGGCAGGCTT CATCAACGGG CATTTGTGG AAAACAGCAA GTTGGACTTC      720
CACAGTACA TCAAGAGGTC GATGGAGGAC GACTTCAAGG TGTGTGTGG CATCAGCTTC      780
CGGCTGTGGG GTGTGGCGAT CCTCACCTTC TTCTTGACA TCAATGGGGT TGGCAGGCTC      840
ATCTGGATT CTTCATCCC TGTGTGATC CTCTTGTGTG TTGGAACCAA GGTGGAGATG      900
ATCATCATGG AGATGGCCTT GGAGATCCAG GACGGGGGGA GGTTCATCAA GGGGGCCCCC      960
GTGGTGGAGC CCAGCAACAA GTTCTTGTGG TTCCACGGCC CCGACTGGGT CCTCTTCTTC      1020
ATACACCTGA CTTTGTTCGA GAACGGCTTT CAGATGGGCG ATTTGTGTGT GACAGTGGCC      1080
ACGCCCCGCT TGAAGAAATG CTACCACAGC CAGATGGGCG TGAGCATCAT GAAGGTGGTG      1140
GTGGGGCTAG CTCTCAGTTC CCTCTGCAGC TATATGACCT TCCCCCTCTA CGCGCTGCTC      1200
ACACAGATGG CATCAACAT GAGAGGTTCC ATCTTCGAGC AGCAGACGTC CAAGGGGCTC      1260
ACCAACTGGC GGAACACGCG CAAGGAGAAG AAGAAAGTCC GAGACACGGA CATGCTGATG      1320
GCTCAGATGA TCGGCGAGC AACACCGAGC CGAGGCTGCT CCGGATGCC GAGCCGGGGC      1380
TCATCACCGG TGCACCTGCT TCACAAGGGC ATGGGGGGGT CGGACGATCC CCAGAGCGCG      1440
CCCACCTGGC CAAGGACCCA GGAGGAGGCT AGGACATGT ACCCGGTTGT GGTGGCGCAC      1500
CCGTTGCACA GACTAAATCC TAAAGACAGG AGGAGGTCCG CCTGCTGCTC GGGCCCTGAA      1560
GCGGACATCC CCAGTGCAGA TTTTTCCTTC AGCCAGGGAT GA      1602

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 3:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 2098 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucléico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

ES 2 317 652 T3

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 3:

	GCAGAGTCA TGCTGGTGG GTTCATATCC CTGCTCTCA TCGTCACCA GGACCCCATC	60
	ATGCCCCAGA TATGCATCTC GAGGATGCC GCGACGTCA TGTGGCCCTG CAAGCCCGGC	120
10	ACCGAGGGCC GCAAGCCAG CAGGTACGTT GACTACTGCC CGGAGGTGAG CAGCAGAGCC	180
	CUGAACGACA GTTTCAGAT GATGAAGAAA TCAATACGA ACTTTTCTT GTTTCCTCT	240
	GATTGTCTC TTGGCTTGGC TTAATTCGTG TGTGTGTGTG TGTTCACAG GCAAGGTGGC	300
	GCTCATGTCC ACGGGCAGCT TGCACCAGCT GCACTCTTC ATCTTCGTGC TGGCGTCTT	360
15	CCATGTCAAC TACAGCTCA TCACCATAGC TCTAAGCCCT CTCAAAGTGA GCTTTTCTT	420
	CTTCTTCTTC TTCTTTTACC GCACGTCTGT CTGTACGGCG TACCTACCTG TTCATCAGGC	480
	TTGAGTAAAA CTGTTCATA ATCTGCTCCG GCATAATCTT CTCTCTCTGC AGATGAGAAC	540
20	ATGGAAGAAA TGGGAGACAG AGACCACCTC CTTCGAATAC CAGTTCGCAA ATGGTCAGGA	600
	TCCCCCACTC TGCAATCTCC GCTTCTTGA AACCAACCT GATGATCCAT TTAAGAAGC	660
	AGGCACGATC AGAGTGAGTG AACTGATGTA TGTTCATTTT TTGTGTCTTT TCAGATCTCG	720
	CACGGTTCCG GTTCACGCAC CAGACGTGTT TGTGAAGCG CCACCTGGGC CTCTCCAGCA	780
25	CCCTGGGCAT CAGATGGGTG GTGAGTPTTT TAGCTTCTTA TCTGCCCTC ATCTGTCTGT	840
	AATGTTTGGC GTATGGACTC AGGTGATTTA CTTTCCCTGT GATGTTTGTT GCTTGTCTAG	900
	GTGGCTTCTT TCAAGCAGTT CTTCAGGTCA GTACCAAGG TGGACTACCT GACCTTGAGG	960
	GCAGCTTCA TCAACGTACG TGCCCTCCCT TCTAGTCCG CCATTTGTCG CGGATGTAG	1020
30	CAGCAAGCT TCTCAAGTTA TCTTCTGAC GCTAAAGTTC CCATGTTTTT TCTTCAAAAT	1080
	ATTCTGGCA GCGGCATTG TCGCAAAACA GCAAGTTGGA CTTCACCAAG TACATCAAGA	1140
	GGTCATGGA GACGACTTC AAGGTCTGTG TGGCATCAG GTACGTTCOA TTCTTCTCTC	1200
	TGCACCACAC CACACCCCAT GGATAGATTT TAACAATTGC TGTCAAGTTC CACATGATAA	1260
35	CAATATACTA TGAATTTGGT CTTTCTCTCT TGTCTCTGCA CGATCATGAC ACATTTGGCC	1320
	TGTTTTGCA GCTTCCGCT GTGGGTGTG GGGATCTCA CCTCTTCTT TCACATCAAT	1380
	GGTATGGACC TTCTCTCTC GGGTTCTCT ATTGCTTTC AGCTTAAATA AACACTTGA	1440
40	ATTCTCTCTG TGATCAGGC TCATTTTTC ACCATTTCTT TTTCTACTCA TAGGGTTGG	1500
	CACGCTCATC TGGATTTCTT TCATCTCTCT GTGTGTAAGT GCAGATTCTT CCATCGAAAG	1560
	CAACAGCAAA CCAATTTTGA TCGCAATGGA AACCCACCC TAATATTATC TCAAAATGTC	1620
	AATTGTCGCT GCGTCTCTT CAACAGATCC TCTGTGTGT TGGAAACCAAG CTGGAGATGA	1680
45	TCATCATGGA GATGCCCCG GAGATCCAGG ACCGGGCGAG CGTCATCAAG GGGGCCCGCG	1740
	TGTTCAGGC CAGCAACAAG TTCTTCTGCT TCCACCGCC CCACTGGTTC CTCTTCTTCA	1800
	TACACCTGAC GTTGTTCAG AACCGCTTC AGATGGGCA TTTTGTGTGG ACAGTGTATC	1860
	GGCAACGATG AACTTCTCAG TTAACATGCG TGTCAAGGCA CCGAGTCCCG CTGATGAAGT	1920
50	GCTCTGAGG AGATTACTT GTGTGTAGG CCACGCGCG CTTCGAAGAA TGCTACCACA	1980
	CCAGATCGG GTGAGCATC ATGAAGGTGG TGTGGGGCT AGCTCTCCAG TTCTCTGCA	2040
	GCTATATGAC CTTCGCCCTC TACGGCTCG TCACACAGGT AATAAAACCG TCCAGGAA	2098

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 4:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 2177 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

ES 2 317 652 T3

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 4:

	GCAGAGCTGA TGCTGCTGGG CTTCATNTCC CTGCTTCTCA CCGTGGCACA GCGGCCCATC	60
	TCCAANAATC GCATCCGCAA GTCCGCTGCC AACATCTTGT TCCCGTGCAA GCGAGGCNA	120
10	GATGCCATCG AAGAANAAGC AGCAAGTGGT CNGCNGTCC TGGCGGGGCG CGCGGGCGGG	180
	CACTACTGCT CNAATTCGA TGTGAGAATA ACNCCAGCTG CCGGCAAGCA CAACCTCGAT	240
	NCNATNACTN ATTAACTAT AATTGATTTT TCTTGGTTTT TCTGCAGGGC AAGGTGGCGC	300
15	TGATGTCCGC AAAGAGCATG CACCAGCTGC ACATTTTCAT CTTCTGCTC GCCGTGTTCC	360
	ATGTTACCTA CTGCATCATC ACCATGGGTT TAGGGGGGCT CAAAGTGAGT TTGTCGTTCT	420
	GTCCCTCATG CACATGTTTT CTCTAGTTCT AGCAANAATG TCAGTCTCTC AAATGGATTG	480
	TTTGGACAAG AAACCCAATT TATTAAATTT CCACTTAAAT ATATAAATAT TGATCTTTCT	540
20	TGGTPTTAGA TGAAGAAATG GAAGAAGTGG GAGTCACAGA CCAACTCATT GGAGTATCAG	600
	TTGGCAATGG GTAGTGAATT AAGAATCTCC CTAACTATTT CATTTACAGAA CTTTATGAT	660
	AATGCTTTGA AAGAGGAGGA GCAAATCAGC TGAATAATAT GATCGATCCA TGCAGATCCT	720
	TCACGATTCA GGTTCACGCA TCAGACCTCG TTCGTGAAGC GGCATCTGGG ATCATTTCTA	780
25	AGCACCCCTG GGCTCAGATG GATCGTGAAT TATCAATCTC CGAATACATG CTGTTTTTTT	840
	ATCTTTGCAA CTGGGCTAGC TGTTCGAATT CAATCCATAT TTPTGGAAAA AAAAAATATT	900
	CATGGCGGTG TTGTTTTAG GTAGCATTTT TCAGGCAGTT CTPTGGGTCC GTACCAAAGG	960
	TGAGTACCT GACCATGCGG CAAGGCTTCA TCAATGTATA TACTAATCAA ACCTGACCAA	1020
30	TTCAACATTS ATGATGCAAA CAGAAGACCA GGTTTTTTTT TTCCGAGTTG TGCATTGAAG	1080
	TTAATGGTTT TAGCTTCTTC TCTTTTGCAG GCGCCATTG TCGCAGAATA GCAAGTTGGA	1140
	CTTUCACAAA TACATCAAGA GGTCTTTGGA GGACGACTTC AAAGTTGTGG TTGCAATCAG	1200
35	GTCCGCTCTC GCTTTATTAA TTATAGGACT CTTATATTCA ACATTTTTTT TATAAGAAAA	1260
	CATATTTAGT CTCAGTTGTT GTATGTGTAT GTGGATCTTG ACACATTTGG CTGGTTTTGC	1320
	AGCCTCCCTC TGTGTTGCT CCGAATCCTT GTAATCTTCC TCGATATCCA CGCTAATCCT	1380
	TGTCCTATTT CATTCCTTTT TTACTCTCA AAACCTTGTT CTGAATTGGT CTTATAATCA	1440
40	CCATCGAATT TTTTCAACT TTTCCTCCG GTGTAGGTCT TGGCAGCTT ATTTGGATCT	1500
	CTTTTGTTC TCTCATCGTA AGAGCGAAT TTCCCTGTC CAAAGAAACA GTTAACATAA	1560
	TTAATTATGC TTTAATTTAT CATGAAAAT AATATGATCA TATACTAAT GAACAAACAT	1620
45	TCATGTGAAT GCCACCTTTG TCTCAGATCG TCTTGTAGT TGGACCAAG CTAGAGATGG	1680
	TGATCATGGA GATGGCCCAA GAGATACAGG ACAGGGCCAC TGTGATCCAG GGAGCACCTA	1740
	TGGTGAAGC AAGCAACAG TACTTCTGGT TCAACCGGCC TGACTGGGTC TTGTTCTTCA	1800
	TACACCTGAC ACTCTTCCA TGTACATGTT TAAAAACGAC GGACGGATCG ATCGATCACC	1860
50	AGAACCAATT TTCAGATGGC GCATTCGTAT GGACTATGTT GTGTATGCTA CTTCTTTAGT	1920
	TGTTGCCATT ATCAGTTCTT AAGCAAAATTA AGTGTGATGC ATGCACTGAC TAATGAGACA	1980
	AAAAATGACA CAGCTTCTTC ATCGATCTGG TTGTTTTGTG TGTGACAGGC AACACCTGGT	2040
	CTGAAGAAAT GCTTCCATGA AAATATTTGG CTGAGCATCG TGGAACTCAT TGTGGGATC	2100
55	TCTCTTCAGG TGCTATGCGG CTGATCACC TTCCCGCTCT ACCTGCTGTT CACACAGGTG	2160
	AACAAGCAAT TCACAAA	2177

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 5:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 2431 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucléico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

ES 2 317 652 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 5:

```

GAGCTCATGC TGGTGGGCTT CATATCCCTG CTCTCTCATG TCAGGCAGGA CCCCATCATC      60
GCCAAGATAT GCATCTCCGA GGATGCCGCC GACGTCATGT GGGCCCTGCA GCGCGGCACC      120
GAGGGCGCGA AGCCGAGCAA GTACGTTGAC TACTGCCCGG AGGTGAGCAG CAGAGCCCGG      180
ACCAGCAGCT TCACGATGAT GAAGAAATCA ATACCGAACT TTTCTCTGTT TTCTCTGAT      240
TGTCCTCTTG GCTTGGCTTA ATTGGTGTGT GTGTGTGTGT TTGCAGGCGA AGGTGGCGCT      300
CATGTCCACG GGCAGGTTGC ACCAGCTGCA CGTCTTCATC TTCTGTCTCG CGGTCTTCCA      360
TGTCACCTAC AGGCTCATCA CCATAGCTCT AAGCGGCTC AAAGTGAGCC TTTCCTTCTT      420
CTTCTCTCTC TTTTACCGCA CGTCTGTCTG TCAGGCGTAC CTACCTGTTC ATCAGGCTTG      480
AGTAAACTG TTCCATAATC TGCTCCGCGA TAATCCTCTC CTCTCTGAGA TGAGAACATG      540
GAAGAAATGC GAGACACAGA CCACCTCCTT GGAATACCAG TTGCAAAATG GTCAGGATCC      600
CCCCTCTGCA AATCTCCCTT TCTTGAAAC CAAACCTGAT GATCCATTTA AAGAGCGAGG      660
CAGCATCAGA GTGAGTGAAC TGATGTATGT TCATTTTTTG TGCTCTTCA GATCTTGCAC      720
GGTTCGGGTT CAGGCACCAG AGGTGCTTGC TGAAGCGCA CCTGGGCTC TCCAGCACCC      780
CTGGCATCAG ATGGGTGGTG AGTTTTTTAG CTCTCTATCT GGGCTGTGAT GTTGTGTGCC      840
TTGTCAAGTG GCTTCTTCA GGCAGTCTT CAGGTCAGTC ACCAAGGTGG ACTACCTGAC      900
CTTGAGGCGA GGCTTCATCA AGTACCTTGC CTCCCTTCT AGCTCCGCA TTCTTCCGCG      960
GATGTAGCAG CCAAAATTAT CTGCGCAAGC GCATTTGTCG CAAAACAGCA AGTTGACATT      1020
CCACAAGTAC ATCAAGAGGT CGATGGAGGA CGACTTCAAG GTCTGTCTCG GCATCAGGTA      1080
CGTTCATTC CTCTCTTGC ACCACACCAC ACCCATGGA TAGATTTTAA CAATTCCTGT      1140
CAGGTTCAC ATGATAACAA TATACTATGA ACTTGGTCTT TGCTCTTGT CTTCGACGA      1200
TCATGACAGA TTGGGCTGT TTTGGCAGCG TCCGCTGTG GGGTGTGCG ATCCTCACCC      1260
TCTTCTTGA CATCAATGCT ATGACCTTC TCCTCTCGG TTCTCTATT GCTTTGACG      1320
TAATAAAAC ACTTGCAATT CGTCTGTGA TCACCGCTCA TTTTCAAC ATTTCTTTT      1380
CTACTCATAG GGGTGGGAC GCTCATCTGG ATTTCTTCA TCCCTCTCT GGTAAATGCA      1440
GATTTCTCCA TCGAAAGCAA CAGCAAACCC AATTTGATCG CAATGGAAC CCACACCTAA      1500
TATTAATCA AAATGTCAAT TGTCGGTGGC TCTTCTCAA CAGATCTCT TGTGTGTGG      1560
AACCAGGCTG GAGATGATCA TCATGGAGAT GGGCCGTGAG ATCCAGGACC GGGCGAGCGT      1620
CATCAAGGGG GGGCCGCTG TCGAGCCAG CAACAAGTTC TTCTGGTTCC ACCGCCCCGA      1680
CTGGGTCTC TTCTTCATAC ACCTGACGTT GTTCCAGAAC GCGTTTCA TGGGCAATTT      1740
TGTGTGGACA GTGTACGCC ACCGATGAAC TTGTCACTTA ACATGGGTGT CAAGGCACCG      1800
AGTGGCGCTG ATGAAGTCT CTGACGAGA TTTACTTGT TTGTAGGCCA GGGCCGCTT      1860
GAAGAAATGC TACCAACGCG AGATCGGCT GAGCATCATG AAGTGTGTG TGGGCTAGC      1920
TCTCCAGTTC CTGTGAGCT ATATGACCTT GGGCTCTAC GGGCTCTCA CACAGTAAT      1980
AAAACCGTAA TCATCTGTGT GTGTGTGCT TGTATGAGA TGGATCAAA CATGAAGAG      2040
TCCATCTTCG ACCAGCAGAC GTCAAAGCG CTCACCACT GCGGAACAC GGCCTAGGAG      2100
AAGAAGAAAG TCCGAGACAC GGACATGCTG ATGGCTCAGA TGATCGGCGA CGCAACACCG      2160
AGCGAGGCT CTCTGCGGAT GCGAGCGCG GGTCTATCAC CGTTCACCT GTTTCACAAG      2220
GECATGGGGC GGTGAGCGA CCGGAGAGC GCGGCGACCT CCGCAAGGAC CCAGCAGGAG      2280
GCTAGGGACA TGTACCGGT TGTGTGGCG CACCGGTCG ACAGACTAAA TCCTAACGAC      2340

```

ES 2 317 652 T3

```
AGGAGGAGGT CCGCTCTCTC GTGGGCTTC GAAGCGACA TCCCAGTGC AGATTTTTC 2400
TTGAGCCAGG GATGAGACAA GTTCTGTAT T 2431
```

5

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 6:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

10

(A) LONGITUD: 2281 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

15

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

20

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

25

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 6:

30

```
GAGCTCTTGC TGGTGGGCTT CATATCCCTG CTCCTCATCG TCACGCAGGA TCCCGTCTCC 60
AGGATCTGCA TCTCCAAGGA GCGCGGCGAN AANATGCTCC CGTGCAAGCC TTACNACGGC 120
GCGCGCGGTC GCAAAGGCAA TGACAATCAC CGGAGGCTTC TCTGGCTCCA AGCGGANAGC 180
GANACCCACC GCGGGTTCTT GGCTGCCCCG GCGGANTGG ACCTCTGCGC CAAACAGGTG 240
AGCACCTANC GTCTCCACAA ACCACAAACT ANCTAATGAG CATGGACCTG AATTCTCTCT 300
CTTCTTGCTT TGGCTTGAAT AAATTGGTTG TGCACGGCMA GGTGGCGCTG ATGTUNXCG 360
GAANCAATGA CCAACTGCAC ATATTCATCT TCGTCTGCGC CGTCTTCAC GTCTTGTACA 420
GCGTCTGTCAC CATGACCCTA AGCGGTCTCA AAGTGAGCAT CATACTGAG CTGTTTGTCA 480
ATAATCTCTG GTTCCAATC CAATTCGAAA GCTGGGACTG ATCTCTCTCC GCTTCTCTGC 540
AGATGAAGCA ATGGAAGAAG TGGGATTCGG AGACCGCTC GCTGAGTAT CAGTTCGCGA 600
ATGCTCAGCT TCACTTTTC TTAAGGAAC CGATGCATT TACAACAAAC GCACGCAGCA 660
```

45

50

55

60

65

ES 2 317 652 T3

	TCAATCATCA CAGTGTGAGC CGATACGTTG AACCCGATPG AAATCCTCCG CAGATCCCAT	720
	CGCCCGTACC GGTTCACGCA CCAAGACGAG TTGGGTGAGG CGGCACCTGG GCCTCTCCAG	780
5	CACCCCGGGC GTCAGATGGG TGGTGGCCTT CTTGAGGAG TTCTTCACGT CGGTGAUCAA	840
	GGTGGACTAC CTGACCTTGC GGCAGGGCTT CATCAACGCG CATCTCTCGC AGGGCAACAG	900
	GTTCGACTTC CACAAGTACA TCAAGAGGTC GTTGGAGGAC GACTTCAAAG TCGTCGTCCG	960
	CATCAGGTAC GCGCCATTCC TTTCTCTGCA CAAATTAATA CATCCACAC CACATAGTA	1020
10	GATAGATAGA TCGATANATA NATTTATCAA GTGCCGGTAC GTACGTACGT CTCATATGAT	1080
	CTTGACACAT CTGTCCCTTT GCGGCAATCT CAAGCTCTGG TCGTGGCGG TCCTCATCCT	1140
	CTTCCTTGAT TTGACCGTA GCGGCTTGT CATGCCCCG CTGCCCCCTT CCTCCGCTTC	1200
	TCTCCATAAT TTGTGAACCT GTCCCGTATA TAACCACACC ACGTCTGTCT TCTCGCAGGG	1260
15	GATCGCACT CTTCTCTGGA TGTCCGTGGT TCTCTCGTG GTAAGTCCAC AATTGAATA	1320
	GACAACTGT CCAATTGTGA TGTACAGTAC CTCCAAACCT AATTACATG TCATTTGCTG	1380
	ATGTCTTGGC TGTAACTTA GATCCTCTTG TGGTTGGGA CCAAGCTGGA GATGGTGATC	1440
20	ATGGAGATGG CCCAAGANAT CCATGACCGG GAGAGGGTCG TCAAGGGTC TCCCGCGTC	1500
	GAGCCGACGA ACAAGTACTT CTGGTTCAC CCGGCTGACT GGTCTCTCTT CTTCTATGAC	1560
	CTCAGACTCT TCCAGAACGC GTTTCAGATG GCTCATTTTG TGTGGACAGT GGTACNTACA	1620
	AGTACTTGTC ACTTCACTTA NGCTAACTCC AACAAAGAA GACACAAAC TCAATCCAC	1680
25	GCGCGGTAGC AAACGAACGT TTTTCCGTAC GTTTTGTCC GCTTTGCCCC CATCCCAGCC	1740
	CAAAATCGTT GACGTTGTTG CATCCGAGGC CACGCCCCGC TTGAAGAAAT GGTACCACGA	1800
	GAATAATGCA ATGAGCATCG CCAAGGTCTT GTGGGGTA GCGGCCAGA TCTTGTCAG	1860
	NTACATCAC TTCCCGCTNT AGCGCTCTGT CACCCAGATG GGTTCACACA TGAAGAGAAG	1920
30	CANCTTGAC GAGCAGACCG CCAAGGCGGC TGAACCACTG GCGAAGATG GCGAAGGAGA	1980
	AGAAGAAQC CCGAGACGCG GCGATGCTGA TGGGACAGT GCGGGGCGC GCGACCCGA	2040
	GCCTCGGCTN GTGCGCGTG CACCTGCTCC ACAAGGCGG GCGCGGTCC GAGGACCCC	2100
35	AGAGCTGCC GCGTCCCCG AGGGCGGAGA AGAAGGCGG CCGGCTGCAG CATCCGCGC	2160
	GCAAGGTACC TCCTTGTGAC GGGTGGAGGT CCGCTTCCTC GCCCGCGTC GAGGCTACA	2220
	TCCCGGTGC AGATTTTGGC TTCAGCACGC AACGTTGACC GATCAGACAA GTTCCTTTT	2280
	T	2281

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 7:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 1917 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 7:

ES 2 317 652 T3

```

5      GCGTGCCTCCG CCAGCAAACC AGACACACAG CAGCCTACCT GCGTACGTAG CGTGCGCTTT      60
      CTTTPTPTTC CTTTGGCCTC TCTTGGCTTG TCCGGCCGCG CAGGTGATA GCGGGCCACG      120
      GCCAGGCACC TCGCGGTTCG GTGGCGTGCA TCTGCGTGTG CGTACCTGGT AGAGGCGCGC      180
10     GTCTGCTTGC TCCGGCAAG GAAGGAGGTT GCGGCGGTG ACCGATGTG GACAAAAAG      240
      GGGTGCGGC GGGGAGCTG CCGAGACGC CCGCTGGGC GGTGGCGTG GTTTTCGCG      300
      CCATGGTGCT CGTGCCCTC CTCATGGAA ACGCCCTCCA CAAGCTCGGC CATTTGGTTC      360
      AGCACCGCA CAAGAAGGC CTGTGGGAG CGCTGGAGAA GATGAAGCG GAGTTCATG      420
15     TGGTGGGCTT CATATCCCTG CTCTCATCG TCACGCAGGA CCCCATCAT GCCAAGATAT      480
      GCATCTCCGA GGATGCGGC GACCTCATGT GCGCTGCAA GCGCGCACG GAGGGCGCA      540
      AGGCCAGCA GTACGTTGAC TACTGCCGG AGGCAAGGT GCGGCTCATG TCCACGGCA      600
20     GCTGCACCA GCTGCACGC TTCACTTCG TGCTCGGCT CTTCCATGT ACCTACAGG      660
      TCATCACCAT AGCTTAAGC CGTCTCAAAA TGAGAACATG GAAGAAATG GAGACAGAG      720
      CCACCTCCTT GGAATACCAG TTGCAAAATG ATCTGCAGG GTTCCGCTT ACCCACCAG      780
      CGTCTTCCT GAAGCGCAC CTGGCCCTCT CCAGCACCC TGGCATCAG TGGGTGCTG      840
25     CCGCTTCAG GCAGTTCTT AGGTCACTA CCAAGTGA CTACCTGACC TTGAGGCGAG      900
      GCTTCATCAA CGGCATTG TCGCAAAACA GCAAGTTGA CTTCCACAAG TACATCAAG      960
      GGTGATGGA GGAAGACTT AAGGTCTG TCGGCATCAG CTTCCGCTG TGGGTGCTG      1020
      CGATCCTCAC CTTTCTCTT GACATCAATG GGTGTGCA GCTCATCTG ATTTCCTTA      1080
30     TCCCTCTCGT GATCTCTTG TGTGTGGAA CCAAGCTGA GATGATCAT ATGGAGATG      1140
      CCGTGAGAT CCAGGACCG GCGAGCTCA TCAAGGGGC CCGCTGCTC GAGCCAGCA      1200
      ACAAGTCTT CTGTTCCAC CCGCCGACT GGTCTCTCT CTTCATACAC CTGACCTGT      1260
      TCAGAACGC GTTTCAGATG GCGCATTTG TGTGACAGT GCGCAGGCC GCGTTGAAG      1320
35     AATGTACCA CACGAGATC GGGTGAGCA TCATGAAGT GGTGGTGCG CTAGCTCTC      1380
      AGTCTCTCT CAGCTATATG ACCTCCCCC TCTACGGCT GGTACACAG ATGGGATCA      1440
      ACATGAAGAG GTCCATCTT GACGACAGA CGTCAAGG GTCACCAAC TGCGGAACA      1500
      CGGCCAAGGA GAAGAAGAA GTCCGAGACA CGACATCTT GATGGCTCAG ATGATCGCG      1560
      AGCAACACC GAGCGAGGC TCGTCCCGA TCGGAGCG GCGCTCATCA CCGTGCAC      1620
40     TGCTTCACA GGCATGCG CGGTGAGG AGCCCCAG CCGGCCACC TCGCAAGGA      1680
      CCGACAGGA GGTAGGUA ATGTACCGG TTGTGCTGC GCACCGCTG CACAGCTAA      1740
      ATCTAACGA CAGGAGAGG TCGGCTCTG CTTGGGCTT CGAAGCCAC ATCCCGAGT      1800
      CAGATPTTC CTTACGCCG GGATGAGACA AGTTCTGTA TTCACTTAG TCCCAATGA      1860
      TAGCCAACAT AGGATGTGAT GATTCGTACA ATAAGAAATA CAATTTTTTA CTGAGTC      1917

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 8:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 533 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 8:

ES 2 317 652 T3

	Met	Ser	Asp	Lys	Lys	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Glu	Leu	Pro	Glu	Thr	Pro
	1			5					10					15		
	Ser	Trp	Ala	Val	Ala	Val	Val	Phe	Ala	Ala	Met	Val	Leu	Val	Ser	Val
			20					25					30			
5	Leu	Met	Glu	His	Gly	Leu	His	Lys	Leu	Gly	His	Trp	Phe	Gln	His	Arg
			35					40					45			
	His	Lys	Lys	Ala	Leu	Trp	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Met	Lys	Ala	Glu	Leu
			50				55					60				
	Met	Leu	Val	Gly	Phe	Ile	Ser	Leu	Leu	Leu	Ile	Val	Thr	Gln	Asp	Pro
	65					70					75				80	
10	Ile	Ile	Ala	Lys	Ile	Cys	Ile	Ser	Glu	Asp	Ala	Ala	Asp	Val	Met	Trp
				85					90					95		
	Pro	Cys	Lys	Arg	Gly	Thr	Glu	Gly	Arg	Lys	Pro	Ser	Lys	Tyr	Val	Asp
				100					105					110		
	Tyr	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Val	Ala	Leu	Met	Ser	Thr	Gly	Ser	Leu	His
			115				120						125			
15	Gln	Leu	His	Val	Phe	Ile	Phe	Val	Leu	Ala	Val	Phe	His	Val	Thr	Tyr
			130				135					140				
	Ser	Val	Ile	Thr	Ile	Ala	Leu	Ser	Arg	Leu	Lys	Met	Arg	Thr	Trp	Lys
	145				150					155					160	
20	Lys	Trp	Glu	Thr	Glu	Thr	Thr	Ser	Leu	Glu	Tyr	Gln	Phe	Ala	Asn	Asp
			165						170					175		
	Pro	Ala	Arg	Phe	Arg	Phe	Thr	His	Gln	Thr	Ser	Phe	Val	Lys	Arg	His
			180					185					190			
	Leu	Gly	Leu	Ser	Ser	Thr	Pro	Gly	Ile	Arg	Trp	Val	Val	Ala	Phe	Phe
			195				200					205				
25	Arg	Gln	Phe	Phe	Arg	Ser	Val	Thr	Lys	Val	Asp	Tyr	Leu	Thr	Leu	Arg
			210				215					220				
	Ala	Gly	Phe	Ile	Asn	Ala	His	Leu	Ser	Gln	Asn	Ser	Lys	Phe	Asp	Phe
	225				230						235				240	
	His	Lys	Tyr	Ile	Lys	Arg	Ser	Met	Glu	Asp	Phe	Lys	Val	Val	Val	
			245						250				255			
30	Gly	Ile	Ser	Leu	Pro	Leu	Trp	Gly	Val	Ala	Ile	Leu	Thr	Leu	Phe	Leu
			260					265					270			
	Asp	Ile	Asn	Gly	Val	Gly	Thr	Leu	Ile	Trp	Ile	Ser	Phe	Ile	Pro	Leu
			275				280					285				
35	Val	Ile	Leu	Leu	Cys	Val	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Met	Ile	Ile	Met	Glu
			290				295					300				
	Met	Ala	Leu	Glu	Ile	Gln	Asp	Arg	Ala	Ser	Val	Ile	Lys	Gly	Ala	Pro
	305				310						315				320	
	Val	Val	Glu	Pro	Ser	Asn	Lys	Phe	Phe	Trp	Phe	His	Arg	Pro	Asp	Trp
			325						330					335		
40	Val	Leu	Phe	Phe	Ile	His	Leu	Thr	Leu	Phe	Gln	Asn	Ala	Phe	Gln	Met
			340						345				350			
	Ala	His	Phe	Val	Trp	Thr	Val	Ala	Thr	Pro	Gly	Leu	Lys	Lys	Cys	Tyr
			355				360					365				
45	His	Thr	Gln	Ile	Gly	Leu	Ser	Ile	Met	Lys	Val	Val	Val	Gly	Leu	Ala
			370				375					380				
	Leu	Gln	Phe	Leu	Cys	Ser	Tyr	Met	Thr	Phe	Pro	Leu	Tyr	Ala	Leu	Val
			385			390					395				400	
	Thr	Gln	Met	Gly	Ser	Asn	Met	Lys	Arg	Ser	Ile	Phe	Asp	Glu	Gln	Thr
			405						410				415			
50	Ser	Lys	Ala	Leu	Thr	Asn	Trp	Arg	Asn	Thr	Ala	Lys	Glu	Lys	Lys	
			420					425					430			
	Val	Arg	Asp	Thr	Asp	Met	Leu	Met	Ala	Gln	Met	Ile	Gly	Asp	Ala	Thr
			435				440					445				
	Pro	Ser	Arg	Gly	Ser	Ser	Pro	Met	Pro	Ser	Arg	Gly	Ser	Ser	Pro	Val
			450				455					460				
55	His	Leu	Leu	His	Lys	Gly	Met	Gly	Arg	Ser	Asp	Asp	Pro	Gln	Ser	Ala
			465			470					475				480	
	Pro	Thr	Ser	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Glu	Ala	Arg	Asp	Met	Tyr	Pro	Val
				485					490					495		
60	Val	Val	Ala	His	Pro	Val	His	Arg	Leu	Asn	Pro	Asn	Asp	Arg	Arg	Arg
			500						505				510			
	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala	Leu	Glu	Ala	Asp	Ile	Pro	Ser	Ala	Asp	Phe
			515				520					525				

65 (2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 9:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

ES 2 317 652 T3

- (A) LONGITUD: 7175 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucléico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 9:

```

GAATTCGAATT AAGGACAACA ACGGATGATA GGCTTAAGCT AGAGAGGATT CATATGATT      60
AATTAACTGT ACTTAAGTTG AGGTAAACT CTATCGATTG CTTGGGACAC GGGCTCTCCC      120
ATGATCTGCC AAGTTGAGCC GGGCTACCTA ATTTCTCTCG AAGGCACACA ACAAACGAAG      180
GTAACCACTA ATCTAGACAC CAGCCCTAAG TTATCAATTA CTACTCTAGT CTCGCCGTAGA      240
AACTTCATTC TTTATGGAGA GTGCTAGTAC TAGAGTACTT AATATAATAG TAAGCGACAA      300
ACCCACGACG ATGAGAATGT ACCTCACTTA CGTAAGTCMA TAAGTCGAAA AGGAAATCTT      360
GAACACTTAC TTTATTAAAG AAGTATTCCT CGAGGTACAG GAGAGGAGAG CACGCCAATA      420
ACTCCAGCAC TCCTCCGAAA CCTTCTCAG TCTCTACCTT TTTTCTCCAC ACAACTAATA      480
TGATGCTCAA TGATGAAAG TGAGTTGTAC TCTATTTTGT TGCTGTGTTG GAAGTGAAAT      540
TAGCTCATCC TTTTATAGCA ACTTAATGTT CGGTGTAGG TTGCTAGTTA AGTCGGTAAA      600
CACTCACAAC CACCATCGTC AACCAATAGG AGATCGGCAC ATGATCGAAA GCTGACAGTT      660
AGGGGTGCCA ACGCTCTTTT GTCCGAACCA AGCAAAACAC CTCTATCTAG GAGCTCTCTT      720
CTATCTCTGA CAAGTCGGCC CATATGGCCG TCCACTATGG ATTAAGTCAA TTTCAGTGTG      780
TTTGGACTGT CATGTGGGCC CTTCGAATCC TTGTCTGCC ATATGATTGG TCGAAGGTAC      840
ATTTAATTC TGGGTGAGTG CTAGAACTAA TATGATAGAT GTCTCCGGC TCCTGGGAAA      900
GAGGCCACTT GACATACCTC GGTAGTGC CCAAGGATAT TCCCTATGCG TTTTCTATAA      960
TTTTCTCTCT CCAAAATCGG ACGGAAACAA TAAAAAGAG AGGGATGTT CATCGGCAAA     1020
TATCTATTTT TTGATAGTG TCTTCCCTTA AAACCTGATT TTTGCGAAGA CTTCGGCTA     1080

```

ES 2 317 652 T3

	AAACCATGAA ATCAGAGTTC CTTGTAACAA ATTTAATTTG CCTAAATACA AAAAAGATCG	1140
	AATGGAGATA GCATTAAACT TGCTCCATAC GAATCATATT AGTTGGACCG TAAGTCATAG	1200
	AAAAAGTTGC AAGTTGGPTG ACCTATCAAC CCTCTTATGT TGACCCGTAA CCGTPTATGC	1260
5	ATPAAGGATT AAGTACCGGC AGATCCTCAC TACTCAGCAA TGCACAAATT TCGGTAAAG	1320
	TAGGATGGGA TGAGTTGGTC AGAAACGGGT CACCAAGTGC CCCAACCTGC CGCGATCGAG	1380
	CCATTGGGCG GCGATGCACG CGCTTTACAA CAGCTGCGCG CCGCCCCCGG GCGCGCCCCC	1440
	GTTTTAAATA AAAACCGGCC GCGCCCTGTC AAAGGTTTCA AAGTTTCAAG TGCATCAGAG	1500
10	CTAAGCTAGC GGTCACTCAG TCAGCTCACC CCGAGACGCA CCAGGGGATC TATCGGATCA	1560
	TGCGAGGTGG GAGATCGGGA TCGCGGGAGT TCGCGGAGAC GCGGAGGTGG GCGGTGGCGG	1620
	TGCTTCGCGC CGTCTCTGTC CTCGCTCTCG CCGGCATGGA GCACGGGCTC CACAACTTCA	1680
	GCCATGTACG CCGCGGGGCA CCGGGTGTGC TCATCTCTCG AGTTAATTTG GTGTGTGTGG	1740
15	TTGTGTGTGT CTGTGTGACAT CTCAAATTAAC ATCGGATGCT GGTGGATGGA TCGCCCTGTC	1800
	GTGGCGATAC TGCTTCGATT GCAGTGGTTC CGTAGGCGGC AGAAGAAGGC CATGGGCGAC	1860
	GCCCTCGACA AGATCAAAAG AAGTCACGCT CAGCCTCAGC TCACCTTCAG CTCCTCATTC	1920
20	TAAATAATTT ACGCCGTGGA CTTTTTAAAT TATGTTTGAC CATTCGCTTT ATTTAAAAAA	1980
	TTTAAGTAAT TATTAATCTT TTTTCTACCA TTGATTCGAT TGCTAAATAT ACTATTATGT	2040
	ATACATATAG TTTTACATAT TTCACTAAAG TTTTAAATA AGACGAATCG TCAACATGCT	2100
	TTAAAAAAGT CAACGGCGTC AAACATTTAG GAAGAAGAGA ATATTATATT GCTGCTCCCC	2160
25	TCTAGCCACT TTGCTGCGTC CCTCGTCATT TTTTCAGTGA TTTTACGCAA GACTGGTCCT	2220
	CCAAATCAAA CGTCAAAAT AACCCATTTA TAGTTTCCTT TCGCTTTTGA AGGGGGACTA	2280
	CTGTGATTTA ATCATGGAGG AAACATCCAG TGGATGTGCG GATTACTTAA AAAAAAATTC	2340
	GGGGGACTAA TTTTTTTGGC TGATCATCGG TGAATATTTA GGTATATAT GTTGAAAAAA	2400
30	AAACAGCCAC AAACAATGAA ATATTTTGTG AAACACATAT TAGACACGTT GAAAGTATC	2460
	ATTGTTACGT ATAAACATC GAATGTTAAC AGATTAAAC ATATGTTTTT TTTTAATCAG	2520
	AATATAATCA TCGGATATAT TATTTGAAAG ATATAATTAC AACGAATACA ACAGTGGGAT	2580
	CGGATTATAT ATATATTAAG AGTTTAAGAG AAAAAATCATT TTGAAGATTA CTAGATACAT	2640
35	ACACGTATAG ATGGATGAAG TGGAGAGAGA TTAGAGAGAA GTAGTTATAT GATTTTTGTG	2700
	AAACACACTT AAGACATATG TTCAACATA CTGCTATTAT GTATGAAATA TTGAGTTTTA	2760
	ACGGTTTAAA ACACATATTC TTTTAATTAG AATGTAATAA TGTGATATCT TGTGTAAAAA	2820
	TTTAATTACA TCTAATATAA CCGTGTGATT AGATTGTATG TTGGATAACA TGCCCATCGG	2880
40	TTGGCTTATT TAGGCAATAA GCGAAATGGT ATATTTGCAA ACGAAAAATA ATTTGTAAAT	2940
	AAAACTTTGA TGTATGTATT CTTAACGATC TAGCAGCAAA GCGTGAAAAA TAACTTCTGA	3000
	TGAAAAATCT CAAATCAAC TCTTAAATTT TAAATTTTGG CTTATAAGTA TAGTTCTCTA	3060
45	CTAGTTTAGA AGAAAAAATA TTTAAAGCGG GGAAGAGGAA AAGGAATAAA CTAATAGCTA	3120
	AATTATTGCA TGCAATGTAAC GATTTGAGGA CGACCGAGTT GTTTTGTCTG GATCAGCCGA	3180
	CGGAGACAGA GCAATCTTCT TTAATCATAA ATAACAGAA AAACCATAGC AGTTTATCAC	3240
	AATGGACCGA GTCAGAGTCA TTACATATTT TTCATTGTTG CGCACAGGAT TCACCAATGT	3300
50	CTTATGGGAA ATATTTTAA CTCTCAATG GTTATGATTT TGAACCTTCA TTTTGGAGAG	3360
	AGAAATTAACA AGCGAGCGAG CAATCAGGCC AAAAAGCGAG AAAGAAAAAT ATTTTGTPTA	3420
	ATTTTTTTTT AAGGTAGGGT GGGGAGTCA TTACATGATT TTTTTTTATA TTGCTTCTTT	3480
	GATPATATGC TGTTCAATAG GTTATGATTT TTTTAAAGCA TAAACAACAT ACAAATTAGT	3540
55	ATGTGATAGA TCATTTTCAG AGCATATAGG ATTAATTTTA ACTTCTGTAA ATTACAAAAC	3600
	AAACAAGTTT AACTGTTAAT ATACATTAAA TTTGTTTTTT TCAACTTAGG AATGAAATTT	3660
	TATGTATATA TTTGTAAAAAT GATATATPAA TTTATTTTTT TAAAAAATA ATTATTTAGA	3720
60	TAACACGCAA ACTAGAAAAC CAGCGCAGAA GTTCTCATAT TTCTTGTGCT ATCTGCACTT	3780
	GCAGAGCTGA TGCTGTGGG CTTCATATTC CTGCTTCTCA CCGGCGCACA GCGCGCCAGC	3840
	TCCAAGATCT GCATGCCCAA GTGCGCTGCG AACATCTGCT TGGCTGTGAA GGCAGGCCAA	3900
	GATGCCATCG AAGAAAGAAG CAGCAAGTGG TCGCGCGTCC TTGCGCGGCG CCGCGCGCGG	3960

65

ES 2 317 652 T3

	GGACTACTGC TCGAAATTCG ATGTGAGAAT AACACCAGCT GCGGGCAAGC ACAACCTCGA	4020
	TGCAATAACT AATTTAACTA TAATTGATTT TTCTTGGGTT TTCTGCAGGG CAAGGTGGCG	4080
5	CTGATGTGGG CAAAGAGCAT GCACCAGCTG CACATTTTCA TCTTCGTGCT CCGCGTGTTC	4140
	CATGTTACCT ACTGCATCAT CACCATGGGT TTAGGGGGGC TCAAAGTGAG TTTGTGGTTC	4200
	TGTCCTCAT GCACATGTTT TCTCTAGTTC TAGCAAGATT GTGAGTCCTT CAAATGGATT	4260
	GTTTCGACAA GAAACCGAAT TTATTAAATT GCCAGTAAAT ATATAATAAT TGATCTTTCT	4320
10	TGGTTTTAGA TGAAGAAATG GAAGAAGTGG GAGTCACAGA CCAACTCATT GGAGTATCAG	4380
	TTGCGAATCG GTAGTGAATT AAGAATCTCC CTAACATATT CATTTGAGAA CTTTTATGAT	4440
	AATGTCTTGA AAGAAGAGGA GCAATCAGC TGAATAATAT GATCGATCCA TGCAGATCCT	4500
	TCACGATTCA GGTTCACCCA TCAGACGTCG TTCTGGAAGC GGCATCTGGG ATCATTTCTCA	4560
15	AGCAGCCCTG GGTCTCAGATG GATCGTGAGT TATCAATCTC CGAATACATG CTTGTTTTTT	4620
	ATTCTTGCAA CTGGCTTAGC TGTTCGAATT CAATCCATAT TTTTGGAAAA AAAAAATATT	4680
	CATGCCGTGT TTGTTGTTAG GTAGCATCTT TCAGGCAGTT CTTCGGGTCC GTCACCAAGG	4740
	TGGACTACCT GACCATGGGG CAAGGCTTCA TCAATGTATA TACTAATENA AACTGACCAA	4800
20	TTCAACATTC ATGATCCAAA CAGAGACCCG GTTTTTTTTT TCGAGTGTGC ATTGAGTAAT	4860
	GGTTTTAGCT TCTTCTCTTT TGCAGGGGCA TTTGTGGCAG AATAGCAAGT TCGACTTCCA	4920
	CAAAATACATC AAGAGGTCTT TGAAGGACGA CTTCAAAGTT GTCGTTGGCA TCAAGTCCGT	4980
	CCTCGCTTTA TTAATTATAG GACTCTTATA TTCAACATTT TTTTATATAA GAAACATATT	5040
25	TAGTCTCCAG TTGTGTATGT GTATGTGGAT CTGACACAT TTGGCTGGTT TGCAGGCTC	5100
	CCTCTGTGTT TCGTCGGAAT CTTGTACTTC TTCTCGATA TCCACGGTAA TCGTGTCTCT	5160
	ATTTCATTCT TTTTTTACT CTCAAAACCT TGTCTGAAT TGTCTTATA ATCACCATCG	5220
30	ATTTTTTTTC AACTTTTCC GCGGTGTAG GTCTTGGCAC ACTTATTTGG ATCTCTTTTG	5280
	TTCTCTCAT CGTAAGAGGG AATTTCCCT GTCCAAAGAA ACAGTTAACA TAATTAATTA	5340
	TGCTTTAATT TATCATGAAA ATTAATATGA TCATATAACT AATGAACAAA CATTCATGTG	5400
	AATGCCACCG TTCTCTCAGA TGTCTTGT TTGTGGAGCC AAGCTAGAGA TCGTATCAT	5460
35	GGAGATGGCC CAAGAGATAC AGGACAGGGC CACTGTGATC CAGGGAGCAC CTATGTTTGA	5520
	AGCAAGCAAC AAGTACTTCT GGTTCACCG CCTGACTGG GTCTTGTCTC TCATACAGCT	5580
	GACACTCTTC CATGTACATG TTTAAAACCT AAACCTTGCT GCTCAACTAC AAATAGTACT	5640
	TTATCTTTCA CAATTAACAC CTAATTAAC AACATAGCAT CCATCCATTT GTGGCTACTG	5700
40	ATCGATGGGA CGACGGATCG ATCATCAGCA GAACGCATTT CAGATGGGCG ATTTGCTATG	5760
	GACATATGTC TGATGTCTAC TTGCTTAGTT GTTCCCATTA TCAGTTCTTA AGCAAATTAA	5820
	GTGTGATGCA TGCACTGACT AATGAGACAA AUAATGACAC AGCTTGTCTA TCGATCTGCT	5880
45	TGTTTTGTGT GTGACAGGCA ACACCTGGTC TGAAGAAATG CTTCCATGAA AATATTTGGC	5940
	TGAGCATGCT GGAAGTCATT GTGGGATCT CTCTTCAGGT GCTATGCAGC TACATCACCT	6000
	TCCCGCTCTA CCGCTCGTC ACACAGGTGA ACAAGCCATT CACAAATTCT ATTAAGCCTT	6060
	TCTTAATTGA TGCACTGCTT AATTTTAGA CACAGTTTT GACCATTTGT CTTATPAAAA	6120
50	ATATTTATGT AATTATCATT TGAGTTGTTT TATCACTAAA AGTACTTTTT AAATAATTTA	6180
	TATTTTGCAT TTGTACAATT CTTTAAATAA GATAATGCTC AAACATGTCT CCAAAAGTTA	6240
	ACAACATCAT CTATTAGAA AAGGAGGGGT TTTTTTTTTT TGGAATTTTG CAAAATTGCT	6300
	TCAAAATCAG TCCAAAACCT TTTTTTTTTT CGAAATTTCA GTTTCACCTAC CAGTCCCAT	6360
55	AAAATGTCTT TTCTTTATTT CCACAAGATT GAACCCATGA GATGCCCTTT GTGTTGGTAT	6420
	GTGTTTTGCT CATCACTTGC AGATGGGATC GAACATGAGG AAGACAATTT TGAAGGAGCA	6480
	AACGATGAAG GGGGTGATGA ACTGAGAGAA GAAGGGGATG GAGAAGAAGA AGGTCCGGGA	6540
	CGCCGAGCGG TTCTGGGGC AGATGAGGGT CGACTTCGCG AGCCCGGGGT CAGCGGGTTC	6600
60	CGCTTGGGCG GTGCACCTTC TGCAAGTAC AGGGCGGGTC GGAAGCCGCG CAGGCCCAAT	6660
	CACCGTGGCC TCACCACCGG CACCGGAGGG GACATGTACC CGGTGCCGCG GCGCGCTGCG	6720
	TCTCGCCAGC TGCTAGACGA CCGCCCGGAC AGGAGGTGGA TGGATCCCTC GTCCGCGGAC	6780
65		

ES 2 317 652 T3

5	ATGCGCGATT CTGATTTTTC CTTCAGCGCA CAACGGTGAC GGGGGCGATC GGTTCCTGTA	6840
	TTGATGCTGT ACCAAACATA GGAGTTTAAT ATATATATAA TTGTTACGGT AAAATCTAAT	6900
	TATTGTGCGC GCACTTATAT TACTCTTATA GCGCGACTGG TTCGTGATTA GACAAGGTGA	6960
	TGCATGCTGT TTAGTTATAA AGGATATCAG CCGAGCTAAA AAAACTTACT CCTACTTAA	7020
	TAGATGACCT CGTTGATTTT TAACATTATT CGTCTATTTT AAAAAATTTA TGCAAAATGTT	7080
	TAAACATATA ATCATGCTTA AACTACTTTT ACTGATAAAA CAACTTACAA CAAAATAAAT	7140
10	TATAGTTACC TAATTTTTTTT TAATAAATCG AATGG	7175

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 10:

15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 4105 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucléico

20 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

25 (iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

30 (vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo* homologue

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 10:

35	TTATACCATG TGAGAAAGGC TGGAAGCATA TGCTTTTACC AGCGACGGCT GCATCTTTAT	60
	ATAGGAGGCA TAAGCGGAGG AGATATACAT GAGGAGAGGT TTAAGATCAG TCTATCTTAT	120
	TTACAGTTTA AACACAAGGA GATAGAAAGA GATGCTAACC TACACATGTT ATACAAGTCA	180
	CGTATAATAC AAGAGTTATT TCGTCTAACA CCTCTCCCTC TGATAAGATA AGTGGCGGGG	240
40	AGAGAGAGAG AGTGTTGGC TGCCCTGCGT GCATGCGACG CACATGTTTA CTCTCCGAC	300
	TGAACCCACG GTGAACCCG CGCGGGTGC GCATCCCTT GACTTCCCTC GCGGGGTCC	360

45

50

55

60

65

ES 2 317 652 T3

	CGTCCGACATA ATTAACCGT CTGTACCTGC CGGGCGTCCA CCGGATCGTG ATGTGGCGCC	420
	GCTTTGTCTG CAGCGAGCTG CGTGGCGGAT GCCAACAAA CTGGGCTCAC ATACATGCAT	480
	ACCCCGCATA CCCCAGCCT CACCAGTAAG TAGGCTGTGG TGGCGACCA CCGGCTCGCC	540
5	GCCATTTCATG CCATGCATGG GCCACCCGCC GCGGAAACCG CCGGCTGCT GCTTGCACG	600
	CGGCGCGCGT TGACGAAGAG TTGCGCGCGG TATCTATAAA*AGCTTGCATG*GCTTGCCTTC	660
	ACCGGTCCGG CCACACACAC CACACTTCAC TTGCGCATTC GCACACCGA GAGCGTAGCG	720
	TAACGTGTGT TTGAAGTCTT ACCATTAAAT TTGCTGGATC GATGGCTGGG CCGCGGGAG	780
10	GTGCGGAGCT GTGCGACAG CGACGTGGG CGGTGGCGGT AGTCTGCGCC GTCATGATAC	840
	TGCTCTCGGT CCGCATGGAG CAGCGCTGCC ACAAGCTGGG CCAAGTACGT GCTCTCGGT	900
	CACCTAGTCT TAACGTCTTT TGATGTTTT CCGCGTGTCT GGTAGCTTGC ATGGAGAGTG	960
	TATGAGCCCA AAAGTTCCCT CCGCGACCA CTTTTCGCTG TTGCTAGGG TGATGGCGT	1020
15	GAGGAGAGCA TGCAATCACT GATGCAAAAA GGGCTCAAG ATAGCTGAGC CAGCGCGCC	1080
	CGCAGAGGG AGCTGAGGG AGTTATGCTG AGCGCATGCA CCGTGGCGCC GTGCGCGGT	1140
	CGCGCGGTGC CTGCGCGCT GCACCTCTTC CTCTCTCTTC TTCTTACCA ACACAGTCTC	1200
20	ATCCAAACAT GTACCAACAC ATGCATGACC ACCAAACAC TGAGATGAA TGTATTTCATC	1260
	ATCTCTATAC TTACCATGCA TCAACAGGGA ACAACTATGC TAGGCTGAGA ACAGCTGCCA	1320
	AACACACCGG TGCACCTACT CATGCTGTGC CGGCGCTGCC GTACGCTGCG AGTGGTTCGA	1380
	CAAGTGGCGC AAGAAGCGCC TGGCGAGGC GTGCGAGAG ATGAAGCGCG ACCTCATGCT	1440
25	GCTGGGCTTC ATATCGCTGC TCTCATGCT CAGCGAGGAT CCGCTCTCCA GGATCTGCAT	1500
	CTGCAAGGAG GCGGCGGAGA AGATGCTGCC GTGCAAGCCT TACGAAGCGG CCGGCGGTGG	1560
	CAAGGCGAAG GACAATCAAC GGAGGCTTCT CTGGCTCCAA GCGAGAGCGG ACACCCACCG	1620
	CGGCTTCTCG GCTGCGCGCG CCGGAGTGG CBTCTCGCC AACAGGTGA GCACCTAGCG	1680
30	TGCGCACAAA CCACAACTA GCTAATGAGC ATGAGCTTGA ATTTCTTCTC TTCTTGGCTT	1740
	GGCTTGACTA AATTGCTTGT GCGAGGCAAG GTGCGCTTGA TGTCAGCGGG AAGCATGCAC	1800
	CAACGCGACA TATTATCTTT CBTGCTCGCC GTCTTCCAGG TCTTGATACG CBTGCTCAC	1860
	ATGACCGTAA GCGCTCTCAA AGTGAGATC ATACTCGAGC TGTTTGTCAA TAATCTTGG	1920
35	TTTCCAAATC AATTCGAAAG CTGCTACTGA TCTGCTCGG GCTTCTTCCA GATGAAGCAA	1980
	TGGAAGAAGT GCGAGTCCGA GACCGCTCG CTGAGATATC AGTTCGCGAA TGGTCAGCTT	2040
	CAACTTTTCT TACTGAAGAC GATGCAATTT ACAACAAGG CACGACGAT CAATCATCAC	2100
40	AGTGTGAGCC GATACCTTGA ACCGATTGAA TCTTCCGAGA TCCATCGCGG TCGCGGTTCA	2160
	CGACACAGAC GACCTTGGTG AGGCGGCAAC TGGCGCTCTC CAGCACCGCC GCGCTCAGAT	2220
	GGTGTCTGGC CTCTTTCAGG CAGTCTTCCA CGTGGGTGAC CAAGGTGGAC TACCTGACCT	2280
	TGCGCGAGGG CTTCATCAAC GCGCATCTCT CCGAGGCGAA CAGGTTGGAC TTCCACAAGT	2340
	ACATCAAGAG GTGCTTGGAG GAGGACTTCA AAGTGTCTGT CCGCATCAGG TACCGCGCAT	2400
45	TCTTTCTCTT GCACAAATTA ATACATCCAC CACCACATAG GTAGATAGAT AGATCGATAG	2460
	ATAGATTATA CAAGTGCGGG TACGTACGTA CGTCTCATAT GATCTTGACA CATCTGTCTT	2520
	CTTGGCGCAG TGTCAAGCTC TGGTGTGTGG CCGTCTCATT CCTCTTCTCT GATTTCGAGG	2580
	GTAGCGCGCT TGTCCATGCC CTGCTCGGCC TCTCTCGCG TTCTCTCCAT AATTTGTGAA	2640
50	CTGTGCGCT ATATAACCA ACACCGTGG TCTTCTCGCA CGGATCGGCA CTCTTCTCTG	2700
	GATGTGCGTG GTTCTCTCGG TGGTAAGTCC ACAATTTGAA TAGACAACCT GTCCAATTGT	2760
	GATGTACACT ACCTCCAAAC TTAATTAACA TGTCATTTGC TGATGTCTTG CBTGTAACAT	2820
55	TAGATCTCTT TGTGGTGGG GACCAAGCTG GAGATGGTGA TCATGGAGAT GCGCCAGGAG	2880
	ATCCATGACC GCGAGAGCTT CBTCAAGGCT GCTCGCGCG TCGAGCGCAG CAACAAGTAC	2940
	TTCTGGTTCA ACCGCGTGA CTGGGCTCTC TTCTCATGAC ACCTCACACT CTTCAGAAC	3000
	GCGTPTTAGA TGGCTCATTT CBTGTGGACA GTGGTACCTA CAAGTACTTG TCACTTCACCT	3060
60	TAGGCTAACT CCAACAAAGC ACCCAAAAT AATGGTCTCT CCGCTCTGTT TGGGCTATGT	3120
	TTGGGTGAAA CCGACACAAA ACTCAATCCA ACCTGGGCTA GCAAAAGAAC GTTTTTCGCT	3180
	ACCTTTTCGT GCGCTTTTGG CCGATCCGAG CCGAAATTCG TTGACGTGTG TGATCGCAG	3240

ES 2 317 652 T3

	GCCACGCCCC GCTTGAAGAA ATGCTACCAC GAGAAAATGG CAATGAGCAT GGCACAGGTC	3300
	GTGCTGGGGG TAGCCGCCCA GATCTTGTGC AGCTACATCA CCTTCCCGCT CTACGGGCTC	3360
5	GTACGCAGAA TGGGCTCACA CATGAAGAGA AGCATCTTTC ACGAGCAGAC GGCACAGGCG	3420
	CTGACCAACT GGCAGAAAGT GGCACAGGAG AAGAAGAAGG CCGAGAGCCG GGCATGCTC	3480
	ATGGCCAGAA TGGGCGGCGG CCGGACGCGG AGCGTCGGCT CCGCGCGGCT GCACCTGCTC	3540
	CACAAGGCGG GCGGCGGCTC CGACGACCCC CAGAGCGTGC CCGGCTCCCG GAGGCGCGAG	3600
10	AAGCAAGCGG GCGGCGGCGA GCATCCGCGG CCGAAGGTAC CTCCTTGTGA CCGGTGGAGG	3660
	TGCGCTCTGT CCGCGGCGCT CGACGCTCAC ATCCCGCGTG CAGATTTTGG CTTCAGCAGC	3720
	CAACGTTGAC CGATCAGACA AGTTCTTTTT TTTTTCGGTG AATAGAAGCG TATCATTTCA	3780
	TTGATAGACA GTAGAAATTA CAGGAATGGC TGTCTACTA CTATGTACAC AAGGCGACAG	3840
15	CAAAGGATCA TTGATCTTGT TACAAGAGCA GTAGAAAGGG ATTGCTCTCC ATTGATCTTG	3900
	TTAAGTTGTA TGTACAAAT TGTTCAGAA AAAAGTGAT GTCATCCCAA CCAAGAGCTG	3960
	AGTTTGTGAT GATTCTGCA ATAAGAATTG CAAGTTTCAC CGAGTCAAAA ATGAGCTTC	4020
20	TAAATACGCA CCAACCAAGC GACTCTTTCA TCTCAACAAA AGAACTGTAA ATGGCAATAA	4080
	TTCTGATAAC ATCGGAAGGG AGCTC	4105

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 11:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1611 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucléico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 11:

ES 2 317 652 T3

```

5      ATGGCAGGTG GGAGATCGGG ATGCGGGGAG TTGCCGGAGA CGCCGACGTG GCGCGTGGCC      60
      GTCTCTTGGG CCGTCTCTGT GCTCTCTTCC GCGGCCATGG AGCAAGGCGT CCACAACCTC      120
      AGCCATAAAA CCACCCGAGA AGTTCTCATA TTTCTTCTCC TATCTGCACT TGCAGAGCTG      180
      ATGCTGCTGG GCTTCATATC CTTGCTTCTC ACCGTGGCAC AGGCGCCCAT CTCCAAGATC      240
      TGCATCCCA ACTCGCTGC CAACATCTTG TTGCCGTGCA AGGCAGGCCA AGATGCCATC      300
      GAAGAAGAG CAGCAAGTGG TCCCGGTCC TTGGCGGGCG CCGCGCGCGG GGACTACTGC      360
10     TCGAAATTCG ATGGCAAGGT GCGCTGATG TGGCAAAGA GCATGCACCA GCTGCACATT      420
      TTCACTTCG TGTGCGCGT GTTCATGTT ACCTACTGCA TCATCACCAT GGGTTTAGGG      480
      CCGCTCAAAA TGAAGAAATG GAAGAAGTGG GAGTCACAGA CCAACTCATT GAGTATCAG      540
      TTGCAATCG ATCTTCAAG ATTCAAGTTC ACGCATCAGA CGTCGTCGT GAAGCGGCAT      600
15     CTGGATCAT TCTCAAGCAC CCTGGGCTC AGATGGATCG TAGCATCTTT CAGGCAGTTC      660
      TTGGGTTCG TCACCAAGGT GGACTACCTG ACCATGCGGC AAGGCTTCAT CAATGCGCAT      720
      TTGTGCGAGA ATAGCAAGTT CGACTTCAC AAATACATCA AGAGGTCCTT GGAGGACGAC      780
      TTCAAGTTC TGTTCGGAT CAGCTCCCT CTGTGCTTCG TCGGAATCCT TGTACTCTTC      840
20     CTCGATATCC ACGGTCTTGG CACACTTAPT TGGATCTCTT TTGTTCTCTT CATCATCTTC      900
      TTGTTAGTTG GGACCAAGCT AGAGATGGTG ATCATGGAGA TGGCCCAAGA GATACAGGAC      960
      AGGGCCACTG TGATCCAGGG AGCAGCTATG GTTGAACCA GCAACAAGTA CTCTGCTTC      1020
25     AACCGCCCTG ACTGGGTCTT GTTCTTCATA CACCTGACAC TCTTCATAA CGCATTTTCAG      1080
      ATGGCGCATT TCGTATGGAC TATGGCAACA CCTGCTCTGA AGAAATGCTT CCATGAAAAT      1140
      ATTTGGCTGA GCATCTGGA AGTCATTTG GGGATCTCTC TTCAGGTGCT ATGCAGCTAC      1200
      ATCACTTCC GCTCTTACGC GCTCGTCACA CAGATGGGAT CGAACATGAA GAAGACAATT      1260
30     TTCGAGGAGC AAACGATGAA GCGGCTGATG AACTGGAGGA AGAAGGCGAT GGAGAAGAAG      1320
      AAGGTCCGGG AGCGCGACGC GTTCTGGCG CAGATGAGCG TCGACTTCGC GACGCGGCG      1380
      TCGAGCCCGT CCGGCTCGCC GGTGCACCTG CTCAGGTCA CAGGCGGGT CGGACGCGCG      1440
35     CCGAGCCCAA TCACGCTGSC CTCACCCCG GCACCGGAGG AGGACATGTA CCGGTGCGG      1500
      GCGGCGGCTG CTTCTGCCA GCTGCTAGAC GACCGCGCG ACAGGAGGTG GATGGCATCC      1560
      TGTGCGCGC ACATCGCGGA TTTGATTTT TCCTTCAGCG CACAACGGTG A      1611

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 12:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1635 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 12:

ES 2 317 652 T3

	ATGGCTGGGC CGCCGGGAGG TCGGGAGCTG TCGGACACGC CGACGTGGGC GGTGGCGGTA	60
	GTCTGGGCGG TCATGATAC TGTCTCCGTC GCCATGGAGC ACCGGCTCCA CAAGCTCGGC	120
5	CACCTGGTTCC ACAAGTCCG CAAGAGGCC CTGGGGGAGG CGCTGGAGAA GATGAAGGCG	180
	GAGGTCATGC TGGTGGGCTT CATATCCCTG CTCCTCATCG TCACGGAGGA TCCGCTCTCC	240
	AGGATCTGCA TCTCCAAGGA GCGCGGCGAG AAGATGCTCC CGTCCAAGCC TTACGACCGC	300
	GCGGGCGGTG GCAAAGGCAA GGACAATCAC CGGAGGCTTC TCTGGCTCCA AGGCGAGAGC	360
10	GAGACCCACC GCGCGTTCTT GCGTCCCGCG GCCCGAGTGG ACGTCTGCGC CAAACAGGGC	420
	AAGGTGGCTC TGATGTCAGC GGGGAAGCATG CACCAACTGC ACATATTTCAT CTTCGTGCTC	480
	GCGGTCTTCC ACGTCTTGT ACGGTCTGTC ACCATGACCC TAAGCGGTCT CAAAATGAAG	540
	CAATGGAAGA AGTGGGAGTC GGAGACCGCC TCGCTGGAGT ATCAGTTCCG GAATGATCCA	600
15	TGCGGCTGCC GGTTCACGCA CCAGACGAAG TTGGTGAAGG GGCACCTGGG CCTCTCCAGC	660
	ACCCCGCGCG TCAGATGGGT GGTGGCTTTC TTCAGGCAGT TCTTCACGTC GGTGACCAAG	720
	GTGGACTAGC TGACCTTGGG GCAGGGCTTC ATCAACGGGC ATCTCTGCGA GGGCAACAGG	780
20	TTGGACTTCC ACAAGTACAT CAAGAGGTGG TTGGAGGAGC ACTTCAAAGT CGTCTGCGCC	840
	ATCAGTCTCA AGCTCTGGTT CGTGGCGGTC CTCATCTCTT TCCTTGATTT CGACGGGATC	900
	GGCACTCTTC TCTGGATGTC CGTGGTTCTT CTCGTGATCC TCTTGTGGGT TGGGACCAAG	960
	CTGGAGATGG TGATCATGGA GATGGCCAG GAGATCCATG ACCGGGAGAG CGTCGTCAAG	1020
25	GGTGTCTCCG CGGTGGAGCC CAGCAACAAG TACTTCTGGT TCAACCGGCC TGACTGGGTC	1080
	CTCTTCCCTA TGCACCTCAC ACTCTTCCAG AACGCGTTTC AGATGCTTCA TTTGCTGTGG	1140
	ACAGTGGCTA CGCCCGGCTT GAAGAAATGC TACCACGAGA AAATGGCAAT GAGCATGGCC	1200
	AAGGTGCTGC TGGGGGTAGC CGCCGAGATC TTGTGCACT ACATCACCTT CCGGCTCTAC	1260
30	GCGCTCGTCA CGCAGATGGG CTCACACATG AAGAGAAGCA TCTTCAACGA CCAGACGGCC	1320
	AAGGCGCTGA CCAACTGGCG AAGATGGCC AAGGAGAAGA AGAAGGCGCG AGACCGGGCC	1380
	ATGCTGATCG CGCAGATGGG CGGGGCGCG ACCCGGAGCG TCGCTCGTC GCGGTGCAC	1440
35	CTGCTGCACA AGGCCGGGGC GCGGTCCGAC GACCCCGAGA CGGTCCCGGC GTCCCGGAGG	1500
	GCGGAGAAGG AAGGCGGCGG CGTGCAGCAT CCGGCGGCA AGGTACCTCC TTGTGACGGG	1560
	TGGAGGTGCG CCGCTGCGCC GCGGCTCGAC GCTCACATCC CGGTGCAGA TTTTGGCTTC	1620
40	AGCAGGCAAC GTTGA	1635

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 13:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 1880 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucléico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 13:

ES 2 317 652 T3

	GTGGTACAT AAAAGACTCT TCCTTTGTCT GTTTTTTUTT CCGAGATTCA TCTTTACTTA	60
	TTGACTAAAT TCTCTCTGGT GTGAGAAGTA AAATGGGTCA CCGAGGAGAA GGGATGTGGC	120
5	TTGAATTCAC TCCGACGTGG GTGCTGCCCG GAGTTTGTAC GGTGATGGTC GGGATTTCAC	180
	TGCGGTGGA GCGTTTCTTT CACTATTTCG GTACTGTTCT TAAGAAGAGG AAGCAAAAAC	240
	CCCTTTACGA AGCCCTTCAA AAGGTTAAAG AAGAGCTGAT GTTGTTAGGG TTTATATCGC	300
	TGTTACTGAC GGTATTCCAA GGGCTCATTT CCAAAATCTG TGTGAAAGAA AATGTGCTTA	360
10	TGCATATGCT TCCATGTTCT CTCGATTCAA GACGAGAAGC TGGGCCAAGT GAACATAAAA	420
	ACGTTACAGC AAAAGAACAT TTTCAGACTT TTTTACCTAT TGTGGGAACC ACTAGGCGTC	480
	TACTTGCTGA ACATGCTGCT GTGCAAGTTG GTTACTGTAG CGAAAAGGGT AAAGTACCAT	540
	TGCTTTGCTC TGAGGCATTC CACCATCTAC ATATTTTCAT CTTGTTCTTC GGCATATCCC	600
15	ATGTGACATT CTGTGTTCTT ACCGTGATTT TTGGAAGCAC AAGGATTTCAC CAATGGAGAG	660
	AATGGGAGGA TTGATTCGCA GATGAGAAGT TTGACCCCGA AACAGCTCTC AGGAAAAGAA	720
	GGGTCACTCA TGTACACAAC CATGCTTTTA TTAAAGAGCA TTTCTTGGT ATTGGCAAAAG	780
	ATTCAGTCAT CCGCGGATGG ACCGAATCCT TTCTCAAGCA ATTCTATGAT TGTGTGAGGA	840
20	AATCAGATTA CGTGACTTTA CGTCTGHTT TCATTATGAC ACATCTTAAG GGAAACCCCA	900
	AGCTTAATTT CCACAAGTAT ATGATCGCGC CTCTAGAGGA TGATTTCAAA CAAGTTGTTG	960
	GTATTAGTTG GTATCTTTGG ATCTTTGTGG TCATCTTTTT GCTGCTAAAT GTTAACGGAT	1020
25	GGCACACATA TTTCTGATA GCATTTATTC CCTTTGCTTT GCTTCTTGCT GTGGGAACAA	1080
	AGTTGAGACA TGTGATTGCA CAGTTAGCTC ATGAAGTTGC AGAGAAACAT GTAGCCATTG	1140
	AAGGAGACTT AGTGTGAAA CCTCAGATG AGCATTTCTG GTTCAACAAA CCTCAAAATTG	1200
	TTCTCTACTT GATOCATTTT ATCTCTTCC AGAATGCTTT TGAGATTGCG TTTTCTTTTT	1260
30	GGATTTGGGT TACATAAGGC TTGACTCGT GCATTATGGG ACAAGTGAGA TACAATGTTT	1320
	CAAGATTGGT TATCGGGGTC TTCAATCAAG TGTCTTCCAG TTACAGTACA CTGCTCTTTT	1380
	ACCGCATCCT CTCACAGATG GGAAGTAGCT TCAAGAAAGC TATATTCCAG GAGAATGTGC	1440
35	AGGTTGGTCT TGTGGTTGG GCACAGAAAG TGAACAAAA GAGAGACCTA AAAGCTGACG	1500
	CTAGTAATGG AGACGAAGGA AGCTCTCAGG CTGCTCTGG TCCTGATTCT GGTCTGCTT	1560
	CTGCTCTGCG TGCTGGTCTT GGTGCAGGTT TTGCAGGAT TCAGCTCAGC AGAGTAACAA	1620
	GAACACAAGC AGGGGACACA AACAAAGAGA TTACACCTGA TCATAACAAC TGAGCAGAGA	1680
40	TATTATCTTT TCCATTAGA GGATCATCAT CAGATTTTAG CTTCAGGTC CGGTTTGTG	1740
	GTTTATACAT AAGTTATAGT GACTTGATTT TTTGTTTTG TTACAAAGTT ACCATCTTTG	1800
	GATTAGAATT GGGAAATGA ATCTGTTTGT ATATTGTATT ATTGGAACA TTGTGGATGC	1860
45	CCATGATAT GTTCTGTTT	1880

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 14:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 536 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

55 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

60 (iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

65 (vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 14:

ES 2 317 652 T3

Met Ala Gly Gly Arg Ser Gly Ser Arg Glu Leu Pro Glu Thr Pro Thr
 1 5 10 15
 Trp Ala Val Ala Val Val Cys Ala Val Leu Val Ser Ala Ala
 20 25 30
 Met Glu His Gly Leu His Asn Leu Ser His Lys Thr Thr Ala Glu Val
 35 40 45
 Leu Ile Phe Leu Val Leu Ser Ala Leu Ala Glu Leu Met Leu Leu Gly
 50 55 60
 Phe Ile Ser Leu Leu Leu Thr Val Ala Gln Ala Pro Ile Ser Lys Ile
 65 70 75 80
 Cys Ile Pro Lys Ser Ala Ala Asn Ile Leu Leu Pro Cys Lys Ala Gly
 85 90 95
 Gln Asp Ala Ile Glu Glu Glu Ala Ala Ser Gly Arg Arg Ser Leu Ala
 100 105 110
 Gly Ala Gly Gly Gly Asp Tyr Cys Ser Lys Phe Asp Gly Lys Val Ala
 115 120 125
 Leu Met Ser Ala Lys Ser Met His Gln Leu His Ile Phe Ile Phe Val
 130 135 140
 Leu Ala Val Phe His Val Thr Tyr Cys Ile Ile Thr Met Gly Leu Gly
 145 150 155 160
 Arg Leu Lys Met Lys Lys Trp Lys Lys Trp Glu Ser Gln Thr Asn Ser
 165 170 175
 Leu Glu Tyr Gln Phe Ala Ile Asp Pro Ser Arg Phe Arg Phe Thr His
 180 185 190
 Gln Thr Ser Phe Val Lys Arg His Leu Gly Ser Phe Ser Ser Thr Pro
 195 200 205
 Gly Leu Arg Trp Ile Val Ala Phe Phe Arg Gln Phe Phe Gly Ser Val
 210 215 220
 Thr Lys Val Asp Tyr Leu Thr Met Arg Gln Gly Phe Ile Asn Ala His
 225 230 235 240
 Leu Ser Gln Asn Ser Lys Phe Asp Phe His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser
 245 250 255
 Leu Glu Asp Asp Phe Lys Val Val Val Gly Ile Ser Leu Pro Leu Trp
 260 265 270
 Phe Val Gly Ile Leu Val Leu Phe Leu Asp Ile His Gly Leu Gly Thr
 275 280 285
 Leu Ile Trp Ile Ser Phe Val Pro Leu Ile Ile Val Leu Leu Val Gly
 290 295 300
 Thr Lys Leu Glu Met Val Ile Met Glu Met Ala Gln Glu Ile Gln Asp
 305 310 315 320
 Arg Ala Thr Val Ile Gln Gly Ala Pro Met Val Glu Pro Ser Asn Lys
 325 330 335
 Tyr Phe Trp Phe Asn Arg Pro Asp Trp Val Leu Phe Phe Ile His Leu
 340 345 350
 Thr Leu Phe His Asn Ala Phe Gln Met Ala His Phe Val Trp Thr Met
 355 360 365
 Ala Thr Pro Gly Leu Lys Lys Cys Phe His Glu Asn Ile Trp Leu Ser
 370 375 380
 Ile Val Glu Val Ile Val Gly Ile Ser Leu Gln Val Leu Cys Ser Tyr
 385 390 395 400
 Ile Thr Phe Pro Leu Tyr Ala Leu Val Thr Gln Met Gly Ser Asn Met
 405 410 415
 Lys Lys Thr Ile Phe Glu Glu Gln Thr Met Lys Ala Leu Met Asn Trp
 420 425 430
 Arg Lys Lys Ala Met Glu Lys Lys Val Arg Asp Ala Asp Ala Phe
 435 440 445
 Leu Ala Gln Met Ser Val Asp Phe Ala Thr Pro Ala Ser Ser Arg Ser
 450 455 460
 Ala Ser Pro Val His Leu Leu Gln Val Thr Gly Arg Val Gly Arg Pro
 465 470 475 480
 Pro Ser Pro Ile Thr Val Ala Ser Pro Pro Ala Pro Glu Glu Asp Met
 485 490 495
 Tyr Pro Val Pro Ala Ala Ala Ala Ser Arg Gln Leu Leu Asp Asp Pro
 500 505 510
 Pro Asp Arg Arg Trp Met Ala Ser Ser Ser Ala Asp Ile Ala Asp Ser
 515 520 525
 Asp Phe Ser Phe Ser Ala Gln Arg
 530 535

ES 2 317 652 T3

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 15:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 544 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 15:

ES 2 317 652 T3

Met Ala Gly Pro Ala Gly Gly Arg Glu Leu Ser Asp Thr Pro Thr Trp
 1 5 10
 Ala Val Ala Val Val Cys Ala Val Met Ile Leu Val Ser Val Ala Met
 20 25 30
 Glu His Ala Leu His Lys Leu Gly His Trp Phe His Lys Trp Arg Lys
 35 40 45
 Lys Ala Leu Gly Glu Ala Leu Glu Lys Met Lys Ala Glu Leu Met Leu
 50 55 60
 Val Gly Phe Ile Ser Leu Leu Leu Ile Val Thr Gln Asp Pro Val Ser
 65 70 75 80
 Arg Ile Cys Ile Ser Lys Glu Ala Gly Glu Lys Met Leu Pro Cys Lys
 85 90 95
 Pro Tyr Asp Gly Ala Gly Gly Lys Gly Lys Asp Asn His Arg Arg
 100 105 110
 Leu Leu Trp Leu Gln Gly Glu Ser Glu Thr His Arg Arg Phe Leu Ala
 115 120 125
 Ala Pro Ala Gly Val Asp Val Cys Ala Lys Gln Gly Lys Val Ala Leu
 130 135 140
 Met Ser Ala Gly Ser Met His Gln Leu His Ile Phe Ile Phe Val Leu
 145 150 155 160
 Ala Val Phe His Val Leu Tyr Ser Val Val Thr Met Thr Leu Ser Arg
 165 170 175
 Leu Lys Met Lys Gln Trp Lys Lys Trp Glu Ser Glu Thr Ala Ser Leu
 180 185 190
 Glu Tyr Gln Phe Ala Asn Asp Pro Ser Arg Cys Arg Phe Thr His Gln
 195 200 205
 Thr Thr Leu Val Arg Arg His Leu Gly Leu Ser Ser Thr Pro Gly Val
 210 215 220
 Arg Trp Val Val Ala Phe Phe Arg Gln Phe Phe Thr Ser Val Thr Lys
 225 230 235 240
 Val Asp Tyr Leu Thr Leu Arg Gln Gly Phe Ile Asn Ala His Leu Ser
 245 250 255
 Gln Gly Asn Arg Phe Asp Phe His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser Leu Glu
 260 265 270
 Asp Asp Phe Lys Val Val Val Arg Ile Ser Leu Lys Leu Trp Phe Val
 275 280 285
 Ala Val Leu Ile Leu Phe Leu Asp Phe Asp Gly Ile Gly Thr Leu Leu
 290 295 300
 Trp Met Ser Val Val Pro Leu Val Ile Leu Leu Trp Val Gly Thr Lys
 305 310 315 320
 Leu Glu Met Val Ile Met Glu Met Ala Gln Glu Ile His Asp Arg Glu
 325 330 335
 Ser Val Val Lys Gly Ala Pro Ala Val Glu Pro Ser Asn Lys Tyr Phe
 340 345 350
 Trp Phe Asn Arg Pro Asp Trp Val Leu Phe Leu Met His Leu Thr Leu
 355 360 365
 Phe Gln Asn Ala Phe Gln Met Ala His Phe Val Trp Thr Val Ala Thr
 370 375 380
 Pro Gly Leu Lys Lys Cys Tyr His Glu Lys Met Ala Met Ser Ile Ala
 385 390 395 400
 Lys Val Val Leu Gly Val Ala Ala Gln Ile Leu Cys Ser Tyr Ile Thr
 405 410 415
 Phe Pro Leu Tyr Ala Leu Val Thr Gln Met Gly Ser His Met Lys Arg
 420 425 430
 Ser Ile Phe Asp Glu Gln Thr Ala Lys Ala Leu Thr Asn Trp Arg Lys
 435 440 445
 Met Ala Lys Glu Lys Lys Lys Ala Arg Asp Ala Ala Met Leu Met Ala
 450 455 460
 Gln Met Gly Gly Gly Ala Thr Pro Ser Val Gly Ser Ser Pro Val His
 465 470 475 480

ES 2 317 652 T3

```

Leu Leu His Lys Ala Gly Ala Arg Ser Asp Asp Pro Gln Ser Val Pro
 485                                490                                495

Ala Ser Pro Arg Ala Glu Lys Glu Gly Gly Gly Val Gln His Pro Ala
 500                                505                                510

Arg Lys Val Pro Pro Cys Asp Gly Trp Arg Ser Ala Ser Ser Pro Ala
 515                                520                                525

Leu Asp Ala His Ile Pro Gly Ala Asp Phe Gly Phe Ser Thr Gln Arg
 530                                535                                540

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 16:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 526 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 16:

```

Met Gly His Gly Gly Glu Gly Met Ser Leu Glu Phe Thr Pro Thr Trp
 1      5      10      15

Val Val Ala Gly Val Cys Thr Val Ile Val Ala Ile Ser Leu Ala Val
 20     25     30

Glu Arg Leu Leu His Tyr Phe Gly Thr Val Leu Lys Lys Lys Lys Glu
 35     40     45

Lys Pro Leu Tyr Glu Ala Leu Gln Lys Val Lys Glu Glu Leu Met Leu
 50     55     60

```

ES 2 317 652 T3

Leu Gly Phe Ile Ser Leu Leu Leu Thr Val Phe Gln Gly Leu Ile Ser
 65 70 75 80
 Lys Phe Cys Val Lys Glu Asn Val Leu Met His Met Leu Pro Cys Ser
 85 90 95
 Leu Asp Ser Arg Arg Glu Ala Gly Ala Ser Glu His Lys Asn Val Thr
 100 105 110
 Ala Lys Glu His Phe Gln Thr Phe Leu Pro Ile Val Gly Thr Thr Arg
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Glu His Ala Ala Val Gln Val Gly Tyr Cys Ser Glu
 130 135 140
 Lys Gly Lys Val Pro Leu Leu Ser Leu Glu Ala Leu His His Leu His
 145 150 155 160
 Ile Phe Ile Phe Val Leu Ala Ile Ser His Val Thr Phe Cys Val Leu
 165 170 175
 Thr Val Ile Phe Gly Ser Thr Arg Ile His Gln Trp Lys Lys Trp Glu
 180 185 190
 Asp Ser Ile Ala Asp Glu Lys Phe Asp Pro Glu Thr Ala Leu Arg Lys
 195 200 205
 Arg Arg Val Thr His Val His Asn His Ala Phe Ile Lys Glu His Phe
 210 215 220
 Leu Gly Ile Gly Lys Asp Ser Val Ile Leu Gly Trp Thr Gln Ser Phe
 225 230 235 240
 Leu Lys Gln Phe Tyr Asp Ser Val Thr Lys Ser Asp Tyr Val Thr Leu
 245 250 255
 Arg Leu Gly Phe Ile Met Thr His Cys Lys Gly Asn Pro Lys Leu Asn
 260 265 270
 Phe His Lys Tyr Met Met Arg Ala Leu Glu Asp Asp Phe Lys Gln Val
 275 280 285
 Val Gly Ile Ser Trp Tyr Leu Trp Ile Phe Val Val Ile Phe Leu Leu
 290 295 300
 Leu Asn Val Asn Gly Trp His Thr Tyr Phe Trp Ile Ala Phe Ile Pro
 305 310 315 320
 Phe Ala Leu Leu Leu Ala Val Gly Thr Lys Leu Glu His Val Ile Ala
 325 330 335
 Gln Leu Ala His Glu Val Ala Glu Lys His Val Ala Ile Glu Gly Asp
 340 345 350
 Leu Val Val Lys Pro Ser Asp Glu His Phe Trp Phe Ser Lys Pro Gln
 355 360 365
 Ile Val Leu Tyr Leu Ile His Phe Ile Leu Phe Gln Asn Ala Phe Glu
 370 375 380
 Ile Ala Phe Phe Phe Trp Ile Trp Val Thr Tyr Gly Phe Asp Ser Cys
 385 390 395 400
 Ile Met Gly Gln Val Arg Tyr Ile Val Pro Arg Leu Val Ile Gly Val
 405 410 415
 Phe Ile Gln Val Leu Cys Ser Tyr Ser Thr Leu Pro Leu Tyr Ala Ile
 420 425 430
 Val Ser Gln Met Gly Ser Ser Phe Lys Lys Ala Ile Phe Glu Glu Asn
 435 440 445
 Val Gln Val Gly Leu Val Gly Trp Ala Gln Lys Val Lys Gln Lys Arg
 450 455 460
 Asp Leu Lys Ala Ala Ala Ser Asn Gly Asp Glu Gly Ser Ser Gln Ala
 465 470 475 480
 Gly Pro Gly Pro Asp Ser Gly Ser Gly Ser Ala Pro Ala Ala Gly Pro
 485 490 495
 Gly Ala Gly Phe Ala Gly Ile Gln Leu Ser Arg Val Thr Arg Asn Asn
 500 505 510
 Ala Gly Asp Thr Asn Asn Glu Ile Thr Pro Asp His Asn Asn
 515 520 525

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 17:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 544 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

ES 2 317 652 T3

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 17:

```

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

```

ES 2 317 652 T3

Ala Val Phe His Val Leu Tyr Ser Val Val Thr Met Thr Leu Ser Arg
 165 170 175
 Leu Lys Met Lys Gln Trp Lys Lys Trp Glu Ser Glu Thr Ala Ser Leu
 180 185 190
 Glu Tyr Gln Phe Ala Asn Asp Pro Ser Arg Cys Arg Phe Thr His Gln
 195 200 205
 Thr Thr Leu Val Arg Arg His Leu Gly Leu Ser Ser Thr Pro Gly Val
 210 215 220
 Arg Trp Val Val Ala Phe Phe Arg Gln Phe Phe Thr Ser Val Thr Lys
 225 230 235 240
 Val Asp Tyr Leu Thr Leu Arg Gln Gly Phe Ile Asn Ala His Leu Ser
 245 250 255
 Gln Gly Asn Arg Phe Asp Phe His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser Leu Glu
 260 265 270
 Asp Asp Phe Lys Val Val Val Arg Ile Ser Leu Lys Leu Trp Phe Val
 275 280 285
 Ala Val Leu Ile Leu Phe Leu Asp Phe Asp Gly Ile Gly Thr Leu Leu
 290 295 300
 Trp Met Ser Val Val Pro Leu Val Ile Leu Leu Trp Val Gly Thr Lys
 305 310 315 320
 Leu Glu Met Val Ile Met Glu Met Ala Gln Glu Ile His Asp Arg Glu
 325 330 335
 Ser Val Val Lys Gly Ala Pro Ala Val Glu Pro Ser Asn Lys Tyr Phe
 340 345 350
 Trp Phe Asn Arg Pro Asp Trp Val Leu Phe Leu Met His Leu Thr Leu
 355 360 365
 Phe Gln Asn Ala Phe Gln Met Ala His Phe Val Trp Thr Val Ala Thr
 370 375 380
 Pro Gly Leu Lys Lys Cys Tyr His Glu Lys Met Ala Met Ser Ile Ala
 385 390 395 400
 Lys Val Val Leu Gly Val Ala Ala Gln Ile Leu Cys Ser Tyr Ile Thr
 405 410 415
 Phe Pro Leu Tyr Ala Leu Val Thr Gln Met Gly Ser His Met Lys Arg
 420 425 430
 Ser Ile Phe Asp Glu Gln Thr Ala Lys Ala Leu Thr Asn Trp Arg Lys
 435 440 445
 Met Ala Lys Glu Lys Lys Lys Ala Arg Asp Ala Ala Met Leu Met Ala
 450 455 460
 Gln Met Gly Gly Gly Ala Thr Pro Ser Val Gly Ser Ser Pro Val His
 465 470 475 480
 Leu Leu His Lys Ala Gly Ala Arg Ser Asp Asp Pro Gln Ser Val Pro
 485 490 495
 Ala Ser Pro Arg Ala Glu Lys Glu Gly Gly Gly Val Gln His Pro Ala
 500 505 510
 Arg Lys Val Pro Pro Cys Asp Gly Trp Arg Ser Ala Ser Ser Pro Ala
 515 520 525
 Leu Asp Ala His Ile Pro Gly Ala Asp Phe Gly Phe Ser Thr Gln Arg
 530 535 540

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 18:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 536 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

ES 2 317 652 T3

(B) CLON: homólogo *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 18:

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

ES 2 317 652 T3

5 Phe Val Gly Ile Leu Val Leu Phe Leu Asp Ile His Gly Leu Gly Thr
 275 280 285
 Leu Ile Trp Ile Ser Phe Val Pro Leu Ile Ile Val Leu Leu Val Gly
 290 295 300
 Thr Lys Leu Glu Met Val Ile Met Glu Met Ala Gln Glu Ile Gln Asp
 305 310 315 320
 Arg Ala Thr Val Ile Gln Gly Ala Pro Met Val Glu Pro Ser Asn Lys
 325 330 335
 10 Tyr Phe Trp Phe Asn Arg Pro Asp Trp Val Leu Phe Phe Ile His Leu
 340 345 350
 Thr Leu Phe His Asn Ala Phe Gln Met Ala His Phe Val Trp Thr Met
 355 360 365
 Ala Thr Pro Gly Leu Lys Lys Cys Phe His Glu Asn Ile Trp Leu Ser
 370 375 380
 15 Ile Val Glu Val Ile Val Gly Ile Ser Leu Gln Val Leu Cys Ser Tyr
 385 390 395 400
 Ile Thr Phe Pro Leu Tyr Ala Leu Val Thr Gln Met Gly Ser Asn Met
 405 410 415
 20 Lys Lys Thr Ile Phe Glu Gln Gln Thr Met Lys Ala Leu Met Asn Trp
 420 425 430
 Arg Lys Lys Ala Met Glu Lys Lys Lys Val Arg Asp Ala Asp Ala Phe
 435 440 445
 Leu Ala Gln Met Ser Val Asp Phe Ala Thr Pro Ala Ser Ser Arg Ser
 450 455 460
 25 Ala Ser Pro Val His Leu Leu Gln Val Thr Gly Arg Val Gly Arg Pro
 465 470 475 480
 Pro Ser Pro Ile Thr Val Ala Ser Pro Pro Ala Pro Glu Glu Asp Met
 485 490 495
 30 Tyr Pro Val Pro Ala Ala Ala Ala Ser Arg Gln Leu Leu Asp Asp Pro
 500 505 510
 Pro Asp Arg Arg Trp Met Ala Ser Ser Ser Ala Asp Ile Ala Asp Ser
 515 520 525
 35 Asp Phe Ser Phe Ser Ala Gln Arg
 530 535

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 19:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 526 aminoácidos
 - (B) TIPO: aminoácido
 - 45 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
 - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína
- 50 (iii) HIPOTÉTICO: Si
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*
- 55 (vii) FUENTE INMEDIATA:
- (B) CLON: homólogo *Mlo*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 19:

ES 2 317 652 T3

Met Gly His Gly Gly Glu Gly Met Ser Leu Glu Phe Thr Pro Thr Trp
 1 5 10 15
 Val Val Ala Gly Val Cys Thr Val Ile Val Ala Ile Ser Leu Ala Val
 20 25 30
 Glu Arg Leu Leu His Tyr Phe Gly Thr Val Leu Lys Lys Lys Lys Gln
 35 40 45
 Lys Pro Leu Tyr Glu Ala Leu Gln Lys Val Lys Glu Glu Leu Met Leu
 50 55 60
 Leu Gly Phe Ile Ser Leu Leu Leu Thr Val Phe Gln Gly Leu Ile Ser
 65 70 75 80
 Lys Phe Cys Val Lys Glu Asn Val Leu Met His Met Leu Pro Cys Ser
 85 90 95
 Leu Asp Ser Arg Arg Glu Ala Gly Ala Ser Glu His Lys Asn Val Thr
 100 105 110
 Ala Lys Glu His Phe Gln Thr Phe Leu Pro Ile Val Gly Thr Thr Arg
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Glu His Ala Ala Val Gln Val Gly Tyr Cys Ser Glu
 130 135 140
 Lys Gly Lys Val Pro Leu Leu Ser Leu Glu Ala Leu His His Leu His
 145 150 155 160
 Ile Phe Ile Phe Val Leu Ala Ile Ser His Val Thr Phe Cys Val Leu
 165 170 175
 Thr Val Ile Phe Gly Ser Thr Arg Ile His Gln Trp Lys Lys Trp Glu
 180 185 190
 Asp Ser Ile Ala Asp Glu Lys Phe Asp Pro Glu Thr Ala Leu Arg Lys
 195 200 205
 Arg Arg Val Thr His Val His Asn His Ala Phe Ile Lys Glu His Phe
 210 215 220
 Leu Gly Ile Gly Lys Asp Ser Val Ile Leu Gly Trp Thr Gln Ser Phe
 225 230 235 240
 Leu Lys Gln Phe Tyr Asp Ser Val Thr Lys Ser Asp Tyr Val Thr Leu
 245 250 255
 Arg Leu Gly Phe Ile Met Thr His Cys Lys Gly Asn Pro Lys Leu Asn
 260 265 270
 Phe His Lys Tyr Met Met Arg Ala Leu Glu Asp Asp Phe Lys Gln Val
 275 280 285
 Val Gly Ile Ser Trp Tyr Leu Trp Ile Phe Val Val Ile Phe Leu Leu
 290 295 300
 Leu Asn Val Asn Gly Trp His Thr Tyr Phe Trp Ile Ala Phe Ile Pro
 305 310 315 320
 Phe Ala Leu Leu Leu Ala Val Gly Thr Lys Leu Glu His Val Ile Ala
 325 330 335
 Gln Leu Ala His Glu Val Ala Glu Lys His Val Ala Ile Glu Gly Asp
 340 345 350
 Leu Val Val Lys Pro Ser Asp Glu His Phe Trp Phe Ser Lys Pro Gln
 355 360 365
 Ile Val Leu Tyr Leu Ile His Phe Ile Leu Phe Gln Asn Ala Phe Glu
 370 375 380
 Ile Ala Phe Phe Phe Trp Ile Trp Val Thr Tyr Gly Phe Asp Ser Cys
 385 390 395 400
 Ile Met Gly Gln Val Arg Tyr Ile Val Pro Arg Leu Val Ile Gly Val
 405 410 415
 Phe Ile Gln Val Leu Cys Ser Tyr Ser Thr Leu Pro Leu Tyr Ala Ile
 420 425 430
 Val Ser Gln Met Gly Ser Ser Phe Lys Lys Ala Ile Phe Glu Glu Asn
 435 440 445
 Val Gln Val Gly Leu Val Gly Trp Ala Gln Lys Val Lys Gln Lys Arg
 450 455 460
 Asp Leu Lys Ala Ala Ala Ser Asn Gly Asp Glu Gly Ser Ser Gln Ala
 465 470 475 480
 Gly Pro Gly Pro Asp Ser Gly Ser Gly Ser Ala Pro Ala Ala Gly Pro
 485 490 495
 Gly Ala Gly Phe Ala Gly Ile Gln Leu Ser Arg Val Thr Arg Asn Asn
 500 505 510
 Ala Gly Asp Thr Asn Asn Glu Ile Thr Pro Asp His Asn Asn
 515 520 525

ES 2 317 652 T3

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 20:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 100 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 20:

```

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

Ile Ser Leu Pro Leu Trp Gly Val Ala Ile Leu Thr Leu Phe Leu Asp
20      25      30

Ile Asn Gly Val Gly Thr Leu Ile Trp Ile Ser Phe Ile Pro Leu Val
35      40      45

Ile Leu Leu Cys Val Gly Thr Lys Leu Glu Met Ile Ile Met Glu Met
50      55      60

Ala Leu Glu Ile Gln Asp Arg Ala Ser Val Ile Lys Gly Ala Pro Val
65      70      75      80

Val Glu Pro Ser Asn Lys Phe Phe Trp Phe His Arg Pro Asp Trp Val
85      90      95

Leu Phe Phe Ile
100

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 21:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 100 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: T22145

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 21:

```

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

Ile Ser Trp Tyr Leu Trp Xaa Phe Val Val Ile Phe Xaa Leu Leu Asn
20      25      30

```

ES 2 317 652 T3

5 Val Asn Gly Trp His Thr Tyr Phe Trp Ile Ala Phe Ile Pro Phe Xaa
35 40 45

Leu Leu Leu Ala Val Gly Thr Lys Leu Glu His Val Ile Ala Gln Leu
50 55 60

Ala His Glu Val Ala Glu Lys His Val Ala Ile Glu Gly Asp Leu Val
65 70 75 80

Val Lys Pro Xaa Xaa Glu His Phe Trp Phe Ser Lys Pro Gln Ile Val
85 90 95

10 Leu Tyr Leu Ile
100

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 22:

15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 83 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

20 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

25 (iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

30 (B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 22:

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

Ile Ser Leu Pro Leu Trp Gly Val Ala Ile Leu Thr Leu Phe Leu Asp
20 25 30

Ile Asn Gly Val Gly Thr Leu Ile Trp Ile Ser Phe Ile Pro Leu Val
35 40 45

Ile Leu Leu Cys Val Gly Thr Lys Leu Glu Met Ile Ile Met Glu Met
50 55 60

Ala Leu Glu Ile Gln Asp Arg Ala Ser Val Ile Lys Gly Ala Pro Val
65 70 75 80

45 Val Glu Pro

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 23:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 83 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

55 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

60 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

65 (B) CLON: T22146

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 23:

ES 2 317 652 T3

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

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 24:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 32 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 24:

Trp Ala Val Ala Val Val Phe Ala Ala Met Val Leu Val Ser Val Leu
 1 5 10 15
 Met Glu His Gly Leu His Lys Leu Gly His Trp Phe Gln His Arg His
 20 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 25:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 32 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: T22146

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 25:

Trp Ile Ala Phe Ile Pro Phe Ala Leu Leu Leu Ala Val Gly Thr Lys
 1 5 10 15
 Leu Glu His Val Ile Ala Gln Leu Ala His Glu Val Ala Glu Lys His
 20 25 30

ES 2 317 652 T3

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 26:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 17 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 26:

Glu	Pro	Ser	Asn	Lys	Phe	Phe	Trp	Phe	His	Arg	Pro	Asp	Trp	Val	Leu
1				5					10					15	
Phe															

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 27:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 17 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: T22146

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 27:

Glu	Thr	Ser	Asp	Glu	His	Phe	Trp	Phe	Ser	Lys	Pro	Gln	Asa	Val	Leu
1				5					10					15	
Tyr															

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 28:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 96 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

ES 2 317 652 T3

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 28:

```

Ser Lys Phe Asp Phe His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser Met Glu Asp Asp
1      5      10      15
Phe Lys Val Val Val Gly Ile Ser Leu Pro Leu Trp Gly Val Ala Ile
20      25      30
Leu Thr Leu Phe Leu Asp Ile Asn Gly Val Gly Thr Leu Ile Trp Ile
35      40      45
Ser Phe Ile Pro Leu Val Ile Leu Leu Cys Val Gly Thr Lys Leu Glu
50      55      60

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 29:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 96 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: N37544

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 29:

```

Met Ile Ile Met Glu Met Ala Leu Glu Ile Gln Asp Arg Ala Ser Val
65      70      75      80
Ile Lys Gly Ala Pro Val Val Glu Pro Ser Asn Lys Phe Phe Trp Phe
85      90      95

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 30:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 45 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 30:

ES 2 317 652 T3

```

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

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 31:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 45 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: N37544

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 31:

```

Ser Ser Thr Pro Gly Ile Arg Trp Val Val Ala Phe Phe Arg Gln Phe
1      5      10      15
Phe Arg Ser Val Thr Lys Val Asp Tyr Leu Thr Leu Arg Ala Gly Phe
20      25      30
Ile Asn Ala His Leu Ser Gln Asn Ser Lys Phe Asp Phe
35      40      45

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 32:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 86 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

```

Ser Lys Thr Arg Val Thr Leu Trp Ile Val Cys Phe Phe Arg Gln Phe
1      5      10      15
Phe Gly Ser Val Thr Lys Val Asp Tyr Leu Ala Leu Xaa His Gly Phe
20      25      30
Ile Met Ala His Phe Ala Pro Gly Asn Glu Ser Arg Phe
35      40      45

```

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

ES 2 317 652 T3

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 32:

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

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 33:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 85 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: H76041

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 33:

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

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 34:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 57 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

ES 2 317 652 T3

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 34:

5 Met Arg Thr Trp Lys Lys Trp Glu Thr Glu Thr Thr Ser Leu Glu Tyr
1 5 10 15
Gln Phe Ala Asn Asp Pro Ala Arg Phe Arg Phe Thr His Gln Thr Ser
20 25 30
10 Phe Val Lys Arg His Leu Gly Leu Ser Ser Thr Pro Gly Ile Arg Trp
35 40 45
Val Val Ala Phe Phe Arg Gln Phe Phe
50 55

15 (2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 35:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 57 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: H76041

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 35:

35 Ile Arg Gly Trp Lys Lys Trp Glu Gln Xaa Thr Leu Ser Asn Asp Tyr
1 5 10 15
Xaa Phe Xaa Ile Asp His Ser Arg Leu Arg Leu Thr His Glu Thr Ser
20 25 30
40 Phe Val Arg Glu His Thr Ser Phe Trp Thr Thr Thr Pro Phe Xaa Phe
35 40 45
Asn Val Gly Cys Phe Phe Arg Gln Phe
50 55

45 (2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 36:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 36:

ES 2 317 652 T3

Thr Leu Phe Leu Asp Ile Asn Gly Val Gly Thr Leu Ile Trp Ile Ser
1 5 10 15
Phe Ile Pro

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 37:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 19 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: H76041

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 37:

Ser Leu Leu Phe Asn Xaa Asn Gly Trp Gly Pro Leu Phe Trp Ala Ser
1 5 10 15
Val Pro Pro

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 38:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 60 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 38:

Val Ile Thr Ile Ala Leu Ser Arg Leu Lys Met Arg Thr Trp Lys Lys
1 5 10 15
Trp Glu Thr Glu Thr Thr Ser Leu Glu Tyr Gln Phe Ala Asn Asp Pro
20 25 30
Ala Arg Phe Arg Phe Thr His Gln Thr Ser Phe Val Lys Arg His Leu
35 40 45
Gly Leu Ser Ser Thr Pro Gly Ile Arg Trp Val Val
50 55 60

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 39:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 60 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido

ES 2 317 652 T3

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: T88073

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 39:

```

Ile Val Thr Tyr Ala Phe Gly Lys Ile Lys Met Arg Thr Trp Lys Ser
1          5          10          15
Trp Glu Glu Thr Lys Thr Ile Glu Tyr Gln Tyr Ser Asn Asp Pro
20          25          30
Glu Arg Phe Arg Phe Ala Arg Asp Thr Ser Phe Gly Arg Arg His Leu
35          40          45
Asn Phe Trp Ser Lys Thr Arg Val Thr Leu Trp Ile
50          55          60

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 40:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 45 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 40:

```

Ser Ser Thr Pro Gly Ile Arg Trp Val Val Ala Phe Phe Arg Gln Phe
1          5          10          15
Phe Arg Ser Val Thr Lys Val Asp Tyr Leu Thr Leu Arg Ala Gly Phe
20          25          30
Ile Asn Ala His Leu Ser Gln Asn Ser Lys Phe Asp Phe
35          40          45

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 41:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 45 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

ES 2 317 652 T3

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: T88073

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 41:

```

5      Ser Lys Thr Arg Val Thr Leu Trp Ile Val Cys Phe Phe Arg Gln Phe
      1          5          10          15
10     Phe Gly Ser Val Thr Lys Val Asp Tyr Leu Ala Leu Xaa His Gly Phe
      20          25          30
      Ile Met Ala His Phe Ala Pro Gly Asn Glu Ser Arg Phe
      35          40          45

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 42:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 21 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 42:

```

35     Ser Lys Phe Asp Phe His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser Met Glu Asp Asp
      1          5          10          15
      Phe Lys Val Val Val
      20

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 43:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 21 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: T88073

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 43:

```

65     Ser Arg Phe Asp Phe Arg Lys Tyr Ile Gln Arg Ser Leu Xaa Xaa Asp
      1          5          10          15
      Phe Lys Thr Val Val
      20

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 44:

ES 2 317 652 T3

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 53 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 44:

```

Ser Lys Phe Asp Phe His Lys Tyr Ile Lys Arg Ser Met Glu Asp Asp
 1      5      10      15
Phe Lys Val Val Val Gly Ile Ser Leu Pro Leu Trp Gly Val Ala Ile
 20      25      30
Leu Thr Leu Phe Leu Asp Ile Asn Gly Val Gly Thr Leu Ile Trp Ile
 35      40      45
Ser Phe Ile Pro Leu
 50

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 45:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 53 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: D24287

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 45:

```

Thr Arg Phe Asn Phe Arg Lys Tyr Ile Lys Arg Xaa Leu Glu Asp Asp
 1      5      10      15
Phe Lys Thr Val Val Gly Ile Ser Ala Pro Xaa Trp Ala Ser Ala Leu
 20      25      30
Ala Ile Met Leu Phe Asn Val His Gly Trp His Asn Leu Phe Trp Phe
 35      40      45
Ser Thr Xaa Pro Leu
 50

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 46:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

ES 2 317 652 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 46:

Pro Leu Val Ile Leu Leu Cys Val Gly Thr Lys Leu Glu Met Ile
1 5 10 15

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 47:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 15 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: D24287

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 47:

Pro Leu Xaa Val Thr Leu Ala Val Gly Thr Lys Leu Gin Ala Ile
1 5 10 15

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 48:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 58 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 48:

ES 2 317 652 T3

```

His Trp Phe Gln His Arg His Lys Lys Ala Leu Trp Glu Ala Leu Glu
1          5          10          15
Lys Met Lys Ala Glu Leu Met Leu Val Gly Phe Ile Ser Leu Leu Leu
20          25          30
Ile Val Thr Gln Asp Pro Ile Ile Ala Lys Ile Cys Ile Ser Glu Asp
35          40          45
Ala Ala Asp Val Met Trp Pro Cys Lys Arg
50          55

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 49:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 58 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: D39989

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 49:

```

His Xaa Ser Glu Lys Thr His Arg Asn Pro Leu His Lys Ala Met Glu
1          5          10          15
Lys Met Lys Glu Glu Met Met Leu Leu Gly Phe Ile Ser Leu Leu Leu
20          25          30
Ala Ala Thr Ser Arg Ile Ile Ser Gly Ile Cys Ile Asp Ser Lys Tyr
35          40          45
Tyr Asn Ser Asn Phe Ser Pro Cys Thr Arg
50          55

```

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 50:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 382 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: T22145

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 50:

ES 2 317 652 T3

	CAAGTATATG ATGCGCGCTC TAGAGGATGA TTTCAAACAA GTTGTTGGTA TTAGTTGGTA	60
	TCTTTGGNTC TTGTGCTCA TCTTTTNCCT GCTAAATGTT AACGGATGGC ACACATATTT	120
5	CTGGATAGCA TTTATTCCTT TTNCCTTGGT TCTTGCTGTG GGAACAAAGT TGGAGCATGT	180
	NATTGCACAG TTAGCTCATG AAGTTGCAGA GAAACATGTA GCCATTGAAG GAGACTTAGT	240
	GGTGAACCC NCANATGAGC ATTTCTGTTT CAGCAAACTT CAAATTGTTT TCTACTTGAT	300
	CCCATTTTAT CCTCTTCCC AGAATGCNTT TTAGANTGC NTTTTNTT TTGGNHTT	360
10	GGGGTAANAN AHHGGTTTCG NC	382

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 51:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 390 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc
- (iii) HIPOTÉTICO: No
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*
- (vii) FUENTE INMEDIATA:
- (B) CLON: T22146

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 51:

	CAAGTATATG ATGCGCGCTC TAGAGGATGA TTTCAAACAA GTTGTTGGTA TTAGTTGGTA	60
	TCTTTGGNTC TTGTGCTCA TCTTTTNCCT GCTAAATGTT AACGGATGGC ACACATATTT	120
35	CTGGATAGCA TTTATTCCTT TTGCTTGGT TCTTGCTGTG GGAACAAAGT TGGAGCATGT	180
	NATTGCACAG TTAGCTCATG AAGTTGCAGA GAAACATGTA GCCATTGAAG GAGACTTAGT	240
	GGTGAACCT CAGATGAGCA TTCTGCTTC AGCAAACTC AAANTGTTCT CTACTNGATC	300
40	CNCTTTATCC CCTTCCAGA ATGCTTTTIT NANGATTCNN NTTTTTCCTT NTGGANHTT	360
	TTGGGNHNC AAACGGGNTT NGGACCTCCG	390

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 52:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 585 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc
- (iii) HIPOTÉTICO: No
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*
- (vii) FUENTE INMEDIATA:
- (B) CLON: N37544

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 52:

	AGCAAGACGA GAGTCACACT ATGGAATGTT TGTTTTTTTA GACAGTTCCT TGGATCTGTC	60
	ACCAAGGTTG ATTACTTAGC ACTAAGCAT GGTTCATCA TGGCGCATTT TGCTCCCGT	120

ES 2 317 652 T3

	AACGAATCAA GATTGATTT CCGCAAGTAT ATTGAGAGAT CATTAGAGAA AGACTTCAAA	180
	ACCGTTGTTG AAATCAGTCC GGTATCTGG TTGTGCGTG TGCTATTCTT CTGACCAAT	240
	TCATATGGAT TACGTTCTTA CCTCTGGTTA CCATTCATTC CACTAGTGGT AATTCFAATA	300
5	GTTGGAACAA AGCTTGAAGT CATAATAACA AAATPGGGTC TAAGGATCCA AGAGGAAGGT	360
	GATGNGTGA GAGGCGCCCC AGTGGTTCAG CCTGGTGATG ACCNCTTCTG GTTTNGHAAN	420
	CACGNTTCAA THTTTTCNT ATCACTTNG GCGTTTAN GGGTGAATTT CAACTTCATN	480
	CTTNCCTGG GGNCGGATGA TTCAATCCAA NAATNTTCCC CTGAAGNCTN CAAGTTTGGG	540
10	CATAGGCTTT NGGTGGGNTT TTCAGANTTT NAGTTTGGCT TNECC	585

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 53:

- 15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 460 pares de bases
 - (B) TIPO: ácido nucleico
 - 20 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
 - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc
- 25 (iii) HIPOTÉTICO: No
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*
- 30 (vii) FUENTE INMEDIATA:
- (B) CLON: T88073
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 53:

35	TCATCTGTTA CTTATGCTTT CCGAAAGATC AAGATGAGGA CTGGAAGTC GTGGGAGGAA	60
	GACACAAAGA CAATAGACTA TCATATCTTC AAGGATCTTG AGAGGTTGAG GPTTGNAGG	120
	GACACATCTT TTGGGAGAG ACATCTCAAT TTCTGGAGCA AGACGAGAGT CACACTATGG	180
40	ATTGTTGTTT TTTTATGACA GTTCTTTGGA TCTGTACCA AAGTTGATTA CTTAGCACTA	240
	AGNCATGGTT TCATCATGGC GCATTTTGGT CCGGTAAAG AATCAAGATT CGATTTCCGC	300
	AAGTATATTC AGAGATCATT AGNGNAAGAC TTCAAAACCG TTGTTTGAAA TCAGTCCCGT	360
45	TATCTGGTTC GTGGGCTGTC CTATTCNCT TGACCAATTC ATATGGTNC GGTNTTNCN	420
	TGCTACCAIT ATTCTAGC GGAATNTAAA AGTTGGCHGA	460

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 54:

- 50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 476 pares de bases
 - (B) TIPO: ácido nucleico
 - 55 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
 - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc
- 60 (iii) HIPOTÉTICO: Si
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*
- 65 (vii) FUENTE INMEDIATA:
- (B) CLON: H76041

ES 2 317 652 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 54:

	ATTGCTGGAT GGAAAAAGTG GGAGCAAGAN ACATTATCTA ATGACTATNA GTTTNCTATT	60
5	GATCATTCAA GACTTAGGCT CACTCATGAG ACTTCPTTIG TNAGAGAACA TACAAGTTTC	120
	TGGACAACAA CNGCTTCTN CTTPAACGTC GGATGCTTCT TTAGGCAGTT GTTGTATCT	180
	GTNGAAAGAA CGACTACTT GACTCTGCC CATGGATCA NCTGNGCCA TTTAGCTCCA	240
	GGAGAAAGT TCAACTTCCA GAGATATATC AAAGATCTC TCGAGGATGA TTTCAGTTTC	300
10	GTAGTTGGAA TAAGNCAAT TCTTGGGCA TCATTGTAA TTTCTTTGC TGTTCAATGN	360
	TAATGGCTGG GGACCATGT TTTGGGCTG GGTACCGCT NTAATCANAA NCCGAGGCTT	420
	TTGCCAAGG TTCAAGGAT TTNGGACAA TGGGTAGAA TGTGCGCNC ATNNGC	476

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 55:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 400 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucléico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: D24287

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 55:

	TCNTNTTNN TTTTGNNTN CTTCCACCC TNNNTNCTC NANCNCTTN NNTTATCTC	60
40	TNTNTNTTC NCTNTTCCN NCACCACCN NCGACGGCN TGGACTNNGC CENNNTTCC	120
	AGGCTGCCCA CTGNGTCTG AGACTACCT TGNATTTGA CCGCACNGGA CTTCANTTGC	180
	TGCTCACTT ATCTCTACGG GACTAGCTC AATTTCCGA AATACATCA AAGGNCATG	240
	GAGGACGAT TTAAGACAGT TGTTCGCAT AGTGACCCN TATGGGCTC TGCGTTGGCC	300
45	ATTATGCTCT TCAATGTCA TGGATGGCAT AACTTGTCT GGTCTCTAC AATNCCCTT	360
	GNTAGTAAT TTAGCAGTT GAACAAAGCT CCAGGCTATA	400

(2) INFORMACIÓN PARA EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 56:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 325 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucléico
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

ES 2 317 652 T3

(B) CLON: D24131

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 56:

5	CAGACTACCT GACTTIGAGG CACGGATTCA TTGCTGCTCA TTTATCTCTA GGGACTAGGT	60
	TCAATTTTCG GAAATACATC AAAAGGTCAC TGGAGGACGA TTTAAGACA GTTGTTCGCA	120
	TTAGTGCACC GTTATGGGCT TGTGCTTGG CCATTATGCT CTTHAATGTT CATGGATGGC	180
	ATAACTTGT CTGGTTCTCT ACAATCCCC TTGTAGTAAC TTAGCAGTT GGAACAAAGC	240
10	TGCAGGCTAT AATTGCAATG ATGGCTGTTG AAATTAAAGA GAGGCATACA GTAATTCAG	300
	GAATCCCGGT GGTGAACCTA GTGAT	325

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65