



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

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

⑮ Int. Cl.:

**C07K 14/415** (2006.01)

**C12N 15/29** (2006.01)

**C12N 15/82** (2006.01)

⑫

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **97933789 .6**

⑯ Fecha de presentación : **29.07.1997**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **0917536**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.1999**

⑭ Título: **Polinucleótido y su utilización para modular una respuesta de defensa en las plantas.**

⑩ Prioridad: **29.07.1996 GB 9615879**  
**30.10.1996 GB 9622626**  
**07.03.1997 GB 9704789**

⑬ Titular/es: **KEYGENE N.V.**  
**Agrobusiness Park 90**  
**6798 PW Wageningen, NL**

⑮ Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.04.2009**

⑫ Inventor/es: **Schulze-Lefert, Paul, Maria, Josef;**  
**Panstruga, Ralph;**  
**Büschgess, Rainer;**  
**Simons; Augustinus, F.M.;**  
**Groenendijk, Johannes, S. y**  
**Van der Lee, Theodoor, A.J.**

⑮ Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.04.2009**

⑭ 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 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.

10 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 oídio, *Erysiphe graminis* f sp *hordei*.

20 25 Las respuestas de la resistencia al agente patógeno oídio han estado genéticamente bien caracterizadas (Wiberg, 1974; Søgaard 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 han llamado operacionalmente (agente patógeno) gen resistencia ("R") y gen virulencia, respectivamente. La mayor parte de los genes de resistencia al oídio (*Mlx*) actúan con rasgos dominantes o semidominantes (Jørgensen, 1994).

30 35 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 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 mimético 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.

40 45 50 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 oídio 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. 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).

55 Los marcadores RFLP enlazados de cerca al *Mlo* en el cromosoma 4 de la cebada se identificaron previamente 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).

60 65 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.

En primer lugar, el genoma de la cebada ( $5,3 \times 10^9$  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).

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 “aterrizaje cromosómico” (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 precedente.

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 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 evidencia del aislamiento del gen decidimos depender de una restauración funcional del alelo *Mlo* en estado natural que partía de los alelos *mlo* defectuosos caracterizados. Con este fin, realizamos cruzamientos heteroalélicos de *mlo* y aislamos recombinantes *Mlo* intrágénicos susceptibles. El análisis de la secuencia de éstos prueba la función del gen 15 descrito.

La clonación del gen *Mlo* de la cebada y sus homólogos, incluyendo los homólogos de otras especies de plantas, 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 péptido con la función *Mlo*. Los expertos en la técnica apreciarán que la “Función *Mlo*” se refiere a la capacidad de reprimir una respuesta de defensa, siendo dicha respuesta de defensa independiente de la raza y/o el agente patógeno y siendo autónoma de la presencia de un agente patógeno tal como, por ejemplo, el gen *Mlo* de la cebada, el gen *AcD* y el gen *Lsd* de la *Arabidopsis*.

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

40 La planta de prueba puede ser monocotiledónea o dicotiledónea. Las monocotiledóneas adecuadas incluyen a cualquiera de la cebada, el arroz, el trigo, el maíz o la avena, particularmente de la cebada. Las dicotiledóneas adecuadas 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) 50 o alelo de la secuencia proporcionada, o un homólogo del mismo. Los mutantes, variantes y alelos preferidos son los que codifican una secuencia que conserve una característica funcional del gen en estado natural, especialmente la capacidad de suprimir una respuesta de defensa según lo discutido en la presente invención. Otros mutantes, variantes y alelos preferidos codifican una secuencia que, en un homocigoto, provocan la activación constitutiva de una respuesta de defensa, o al menos promueven la activación de una respuesta de defensa (es decir, es una secuencia del mutante *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, derivado o variante, pueden ser tanto por la adición, como por la inserción, la cancelación o la sustitución de uno o más nucleótidos en el ácido nucleico, llevando a la adición, la inserción, la cancelación y/o la sustitución de uno o más aminoácidos. Por supuesto, se incluyen los cambios al ácido nucleico que no hace diferenciar a la secuencia de aminoácidos codificada. Las variantes, los mutantes, los alelos y los derivados particulares se discuten además a continuación, así como sus homólogos.

60 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 substitución de nucleótidos y/o una combinación de adición, inserción y/o substitución de uno o más nucleótidos con o sin la alteración de la secuencia de aminoácidos codificada (en virtud de la degeneración del código genético).

65 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

## ES 2 317 652 T3

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: 2<sup>a</sup> 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, 10 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 15 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 20 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 25 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 30 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 35 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.

40 Tal y como bien se sobrentiende, 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 asparragina. 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 45 insertando espacios para maximizar el número de coincidencias utilizando el algoritmo de homología local de Smith y Waterman.

50 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 55 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 60 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 nucléico 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 mARN 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 diversas 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<sup>+</sup> 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:

20	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'
25	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'
30	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'
35	39B	5' -TCG ACT TCC ACA AGT ACA TCA-3'
	53	5' -AGC GTA CCT GCG TAC GTA G-3'

40 Se han probado diversas combinaciones de cebador:

38/39A; 38/39; 38/33; 38/37; 38A/39A; 38B/39A;  
45 38/25L; 38/25LN; 25R/25L; 25R/25LN; 25R/53.

50 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.

55 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.

## ES 2 317 652 T3

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.

5 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:

- 10 (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;
- 15 (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;
- 20 (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;
- 25 (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;
- 30 (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.

30 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 mARN.

Las pruebas se pueden llevar a cabo en las preparaciones que contienen el ADN, el ADNc y/ o el mARN genómicos. El ADNc o el mARN 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.

55 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.

60 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.

65 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

## ES 2 317 652 T3

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 desnaturalizante de poliacrilamida de secuenciación del ADN, con las bandas específicas que se encuentran vinculadas a las variantes del gen que son seleccionadas.

10 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.

15 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 aparezca 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 20 de ácido nucleico.

25 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 resolvases o las endonucleasas.

30 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 35 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.

40 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.

45 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 mARN por transcripción o el nivel de producción de polipéptido por la translación del mARN.

50 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 mARN 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).

55 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.

60 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 radiomarcar, 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.

65 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.

5 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.

10 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 oligo-nucleótido, la temperatura, y así sucesivamente.

15 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.

20 25 Existen diversos procedimientos para determinar la presencia o la ausencia en una muestra de prueba de un polipeptido particular, tal como el polipeptido 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).

30 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 polipeptido representado en la Figura 2; véase, por ejemplo, la Tabla 1.

35 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.

40 45 Un miembro de unión específico, tal como un anticuerpo, se puede utilizar para aislar y/o purificar su polipeptido pareja de unión de una muestra de prueba, para tener en cuenta la secuencia y/o el análisis bioquímico del polipeptido para determinar si tiene la secuencia y/o las propiedades del polipeptido 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.

50 55 60 65 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 heterozigóticas 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 polipeptido 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 polipeptido 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

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:

5 cebador hacia adelante: 5'-GTTGCCACACTTGCCACG-3'

cebador reverso: 5'-AAGCCAAGACGACAATCAGA-3'

(por ejemplo), seguido por la digestión con la enzima de restricción *Psh*AI. 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.

10 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:

15 cebador hacia adelante: 5'-GRRGCCACACTTGCCACG-3'

cebador reverso: 5'-AAGCCAAGACGACAATCAGA-3'

20 (por ejemplo), y la digestión subsiguiente de los productos genómicos de amplificación con la enzima de restricción *Hha*I. 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.

25 Un tercer alelo, particularmente interesante, es el *mlo*-12, que se caracteriza por una substitución 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 30 tales como el hongo del oido. 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 introducción de la resistencia *mlo* en líneas de cultivo selecto. Además, el sitio molecular de la substitución 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 35 de la proteína *Mlo*.

40 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 flanqueador 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 45 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 50 (que lo hace homocigótico) de la combinación deseada de marcadores flanqueadores y alelos *mlo*, mediante primero la identificación de los individuos fijados por un marcador flanqueador 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.

55 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 60 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 oido.

65 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 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 oídio 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 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 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, 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.

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

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 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 oídio 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 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 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.

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.

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).

## ES 2 317 652 T3

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 5 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 10 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 15 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 20 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 25 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 mARN normal transcrita a partir de la cadena "con sentido" del 30 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 35 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 40 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 45 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 50 500 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 55 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 60 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 65 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 transladable. 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 transcritio 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<sub>2</sub> 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 oídio 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 anfípáticas 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 oídio. 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 oídio. Los segmentos de hoja de semilleros de 7 días del genotipo *Mlo Ror1* se pueden poner en el agar, por ejemplo, en pocillos individuales de placas microtiter de 96 pocillos que contienen 50 µl 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 oídio, 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 oídio a pesar de la presencia de alelos *mlo* de resistencia. Se pueden utilizar las plantas del genotipo *Mlo ror1* (proteína del *Mlo* en estado natural y gen *Ror1* defectuoso), por ejemplo, para probar los compuestos que inducen resistencia en los genotipos *Mlo Ror1* pero exhiben susceptibilidad en el genotipo *Mlo ror1*, 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 antagónico. El análisis de la secuencia de proteína *Mlo* deducida ha proporcionado una prueba evidente de que la proteína se encuentra anclada en la membrana 10 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 Grisshamer, 1996, TIBTECH 14: 426-430). Puesto que la familia de proteínas *Mlo* parece que se encuentran 15 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 20 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 inhibía 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.

50 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, 2<sup>a</sup> 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, 55 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 oídio, 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 oídio.

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 peptidilos, incluyen la <sup>35</sup>S-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 epitopo 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.

5 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  $\beta$ -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  $\beta$ -galactosidasa.

10 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  $\mu$ M, por ejemplo, desde 0,1 hasta 50  $\mu$ M, tal como aproximadamente 10  $\mu$ 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.

15 20 25 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.

30 35 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 peptídilo a una planta transgénicamente, por la expresión del ácido nucleico codificado, tal y como se apuntó.

40 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 peptídilo 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:

45 50 55 60 65 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 (*gsl*). El mapa del marcador RFLP se basa en el análisis de 257 individuos F<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>. 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 BC<sub>7</sub> 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. Despues 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 cónigos 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  $\Delta$ ; los alelos del mutante restantes representan substituciones de un solo nucleótido dando lugar en cada caso a intercambios de aminoácidos.

5 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 predecida 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.

10 Figura 3: El Análisis de Transferencia Northern de la Acumulación de Transcripción del *Mlo*. El ARN (20  $\mu$ g) y el ARN poly(A)<sup>+</sup> (5  $\mu$ 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 15 del Ingrid *Mlo* (Figura 7). Se detecta sólo una señal clara en los carriles que contienen ARN poly(A)<sup>+</sup>. La señal corresponde a un tamaño de aproximadamente 2 kb.

20 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*<sub>2</sub> o la progenie resistente homocigótica y susceptible homocigótica se determinaron mediante el Análisis de Transferencia Southern. El ADN de la planta (10  $\mu$ 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 25 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*<sub>2</sub> (designadas 1 y 2). Los ADNs en los carriles S y R representan la selección de individuos *F*<sub>3</sub> a partir de familias *F*<sub>3</sub> obtenidas mediante la autofecundación de los individuos *F*<sub>2</sub> susceptibles 1 y 2. Apuntar que se espera que los individuos susceptibles *F*<sub>2</sub> sean heterocigóticos en el *Mlo* en este 30 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*<sub>2</sub> susceptibles (designadas del 1 al 7). Los ADNs en los carriles S y R representan los individuos *F*<sub>3</sub> seleccionados de las familias *F*<sub>3</sub> obtenidas mediante la autofecundación de los individuos *F*<sub>2</sub> susceptibles 1 a 7. Se analizó el ADN a 35 partir de dos individuos susceptibles adicionales de este cruzamiento heteroalélico solamente en la generación *F*<sub>2</sub> (8\* y 9\*).

40 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.

45 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.

50 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 55 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 del 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.

60 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.

65 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.

# ES 2 317 652 T3

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*

20 Los esfuerzos para aumentar la densidad del marcador del ADN alrededor de *Mlo* se coordinaron intentando 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 del 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 (BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*; Hinze *et al.*, 1991). La línea se caracterizó previamente para llevar un segmento de ADN 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 BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*, esperábamos aumentar la densidad de los marcadores de 30 ADN con los AFLPs alrededor del *Mlo* de una manera objetiva.

35 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 F<sub>2</sub> se anotaron para la resistencia del *mlo* después de la inoculación del oídio con el K1 aislante (virulento en el Ingrid *Mlo* y no virulento en el BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*). Inicialmente, solamente una pequeña fracción de F<sub>2</sub> (77 individuos) se analizaron para la 40 recombinación de eventos con marcadores de RFLP flanqueadores. 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 F<sub>2</sub> que exhibieron un fenotipo susceptible y una heterocigocidad 45 para los locus de marcadores del ADN flanqueadores 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 F<sub>3</sub>. 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 F<sub>2</sub> o F<sub>3</sub> autofecundada.

50 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*, BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*, una fuente de ADN de dos individuos F<sub>2</sub> fenotípicamente resistentes del *mlo*, y una fuente de ADN de nueve individuos F<sub>2</sub> fenotípicamente susceptibles. Los individuos 55 F<sub>2</sub> resistentes y susceptibles que se incluyeron como fuentes de ADN en la búsqueda de AFLP se habían seleccionado del análisis RFLP mencionado anteriormente de 77 segregantes F<sub>2</sub>. El ADN de F<sub>2</sub> combinada nos permitió controlar si los polimorfismos del candidato detectados entre la plantilla de ADN de los parentales eran rasgos hereditarios en el F<sub>2</sub>. Todos los marcadores identificados del candidato de AFLP se han reexaminado con ocho plantillas de ADN: Ingrid *Mlo*, BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*, fuentes de ADN de individuos de tres familias F<sub>3</sub> que sean susceptibles homocigóticos 60 fenotípicamente (*Mlo Mlo*) según los experimentos de inoculación de K1; ADN de tres individuos F<sub>2</sub> resistentes. Un total de 18 cebadores *Pst I/Mse I* y 20 *Eco RI/Mse I* se confirmaron en base al procedimiento de selección.

65 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 de la distribución de los AFLPs entre los intervalos RFLP previamente identificados cerca del *Mlo* como la selección de un par de marcadores AFLP flanqueadores 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 F<sub>2</sub> a partir del Ingrid

*Mlo* x BC<sub>7</sub> 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 BC<sub>7</sub> 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 purificado de forma rudimentaria. Se cribaron un total de 2.026 individuos (los segregantes F<sub>2</sub> o F<sub>3</sub>) 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*

30     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 triptófano 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.

45     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.

50     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 Michelmore, 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.

55     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 cónigo 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 BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*.

Un análisis de los 25 individuos recombinantes que llevaban los eventos de recombinación dentro del *Mlo* que

5 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).

10

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

Se inició un proyecto de secuencia al azar para determinar los cíntigos 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 cíntigos de la secuencia se buscaron en las regiones de alta probabilidad de codificación utilizando las versiones UNIX del paquete de programas STADEN. Solamente un cíntigo de la secuencia de casi 6 kb, incluyendo el marcador Bpm16 cosegregando, reveló una extensa región con alta probabilidad de codificación.

20

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).

30 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 35 secuencias no translacionadas 5'. La región es de notoria dificultad para secuenciarse por medio de la secuencia directa de la PCR de las 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.

40

#### *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 oídio, 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 oídio.

50 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 F<sub>1</sub>. Las poblaciones F<sub>2</sub> se obtuvieron por autofertilización. Las plantas de semillero F<sub>2</sub> se criban para los individuos susceptibles poco comunes después de la inoculación con el K1 aislante del oídio que es virulento en cada cultivo en estado natural del *Mlo* parental. Los individuos F<sub>2</sub> susceptibles se identificaron con una frecuencia de ~6 x 10<sup>-4</sup>. 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.

60

La herencia de los individuos F<sub>2</sub> susceptibles se probó después de la autofecundación en las familias F<sub>3</sub>. Cada uno de los individuos F<sub>2</sub> segregó a los individuos F<sub>3</sub> susceptibles y resistentes que indicaban la heterocigocidad para la resistencia/susceptibilidad que conferían los alelos en los F<sub>2</sub>. Las progenies F<sub>3</sub> susceptible homocigóticas se aislaron para la mayoría de individuos F<sub>2</sub> susceptibles mediante la autofecundación de individuos F<sub>3</sub> y la identificación posterior de familias F<sub>4</sub> en quienes solamente detectaron a los individuos susceptibles.

65 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 *F*<sub>2</sub> susceptibles (indicados mediante un \*) o a partir de la progenie *F*<sub>3</sub> susceptible homocigótica (S) y resistente homocigótica (R) obtenidos a partir de los individuos *F*<sub>2</sub> susceptibles autofecundados.

La progenie *F*<sub>3</sub> susceptible homocigótica de la planta *F*<sub>2</sub> 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 *F*<sub>3</sub> resistente homocigótica de la planta *F*<sub>2</sub> 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 *F*<sub>2</sub> 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 *F*<sub>2</sub> del individuo 1 contiene un alelo funcionalmente inalterado del *mlo-1*. Los alelotipos de los locus del RFLP de la progenie *F*<sub>3</sub> susceptible homocigótica de la planta *F*<sub>2</sub> número #2 susceptible son idénticos a los descritos anteriormente. Sin embargo, los alelos del marcador flanqueador de la progenie *F*<sub>3</sub> 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 *F*<sub>2</sub> número #2 susceptible.

Nueve individuos *F*<sub>2</sub> susceptibles se recuperaron del cruzamiento *mlo-1* x *mlo-5* (Figura 4). Para los individuos *F*<sub>2</sub> números #1 a #7 susceptibles se analizaron en el nivel del ADN tanto la progenie *F*<sub>3</sub> susceptible homocigótica como la resistente homocigótica. Observar que solamente el ADN de los individuos *F*<sub>2</sub> 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 *F*<sub>3</sub> 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 *F*<sub>3</sub> susceptibles homocigóticos 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 *F*<sub>3</sub> 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 *F*<sub>2</sub> 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 *F*<sub>2</sub> 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 *F*<sub>2</sub> susceptibles aislados o la progenie *F*<sub>3</sub> 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  $\lambda$  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.

## 15 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 virulencia 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 oídio. 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 oídio. 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 oídio, en hojas primarias con 10 - 11 días de vida; esto incluye los genes de la familia *PR-1*, las chitinasas y las peroxidases.

Hemos demostrado que el *mlo* en la cebada confiere resistencia creciente a diferentes tipos de roya amarilla (*Puccinia struciformis*) 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 5 plantas del *mlo*.

La relación temporal de estos eventos es interesante: la aparición de la acumulación constitutiva de transcripción 10 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 15 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 20 aparición de las respuestas de defensa.

15 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 20 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 NH<sub>2</sub> terminal (SIFD; Rihs *et al.*, 1991). Las pruebas funcionales pueden examinar la posible localización subcelular de la proteína del *Mlo*.

25 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 30 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*).

35 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 40 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

### 45 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 Henrich (1988) 50 [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](http://greengenes.cit.cornell.edu:70/77/.graingenes.n dx/index?mlo)).

55 El mapa de alta resolución se basa en un cruzamiento entre Ingrid *Mlo* x BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo-3*. Las plantas F<sub>1</sub> se autofecundaron generando una población F<sub>2</sub> de segregación de aproximadamente 600 plantas. Las plantas F<sub>2</sub> 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 F<sub>3</sub> para el trazado de alta resolución.

### 60 Pruebas de Infección con Oidio

65 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 F<sub>3</sub> o F<sub>4</sub> 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 BC<sub>7</sub> Ingrid *mlo*-3 parental resistente, una fuente de dos individuos F<sub>2</sub> resistentes (*mlo*-3 *mlo*-3) y una fuente de nueve individuos F<sub>2</sub> susceptibles (*Mlo* *Mlo*) derivados del cruzamiento Ingrid *Mlo* x BC<sub>7</sub> 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.

*Secuenciación 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 cíntigos 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 (4<sup>a</sup> 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 cíntigos 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 aparentamiento) 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  $\mu$ 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 (GTGCATCTGCGTGTGCG TA) y 38 (CAGAAACTTGTCTCATCCCTG) 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 (AGGGTCAGGATGCCAC) y 55 (TTGTGGAGGCCGTGTTCC) para la terminación 5' y cebadores 33 (TGCAGC TATATGACCTCCCCCTC) 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 flankeador en la progenie F<sub>2</sub> susceptible o F<sub>3</sub> homocigótico 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 flankeador. La Tabla 3 resume el análisis de la secuencia del ADN de los recombinantes intrangénicos susceptibles de tipo sobrecruzamiento (a partir de progenie F<sub>3</sub> 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*.

5	Alelo	Variedad Madre	Mutágeno	Evento Mutacional en el <i>Mlo</i>	Efecto en el Nivel de Aminoácido	
10	<i>mlo-1</i>	Haisa	Rayos X	$T^{184} \rightarrow A$	$trp^{162} \rightarrow arg$	
	<i>mlo-3</i>	Malteria Heda	Rayos $\gamma$	supresión de 2 nucleótidos (1188 - 1189)	marco de lectura después del $phe^{395}$	
15	<i>mlo-4</i>	Foma	Rayos X	supresión de 11 nucleótidos (478 - 488)	marco de lectura después del $trp^{159}$	
20	<i>mlo-5</i>	Carlsberg II	EMS	$G^3 \rightarrow A$	$met^1 \rightarrow ile^a$	
	<i>mlo-7</i>	Carlsberg II	EMS	$G^{677} \rightarrow A$	$gly^{226} \rightarrow asp$	
	<i>mlo-8</i>	Carlsberg II	EMS	$A^1 \rightarrow G$	$met^1 \rightarrow val^a$	
25	<i>mlo-9</i>	Diamant	EMS	$C^{28} \rightarrow T$	$arg^{10} \rightarrow trp$	
	<i>mlo-10</i>	Foma	Rayos $\gamma$	supresión de 6 nucleótidos (543 - 548)	faltan 2 aminoácidos ( $phe^{182}$ , $thr^{183}$ )	
30	<i>mlo-12</i>	Elgina	NMU	$C^{720} \rightarrow A$	$phe^{240} \rightarrow leu$	
	<i>mlo-13</i>	Plena	EMS	$T^{89} \rightarrow A$	$val^{30} \rightarrow glu$	
35	<i>mlo-16</i>	Alsa	EMS	$G^{1917*} \rightarrow A$	alteración en el borde de empalme 3' del intrón 9	
40	<i>mlo-17</i>	Plena	EMS	$C^{92} \rightarrow T$	$ser^{31} \rightarrow phe$	
	<i>mlo-26</i>	Plena	EMS	$T^{809} \rightarrow A$	$leu^{270} \rightarrow his$	
	<i>mlo-28</i>	Nadja	NaN <sub>3</sub>	$C^{665} \rightarrow T$	$thr^{222} \rightarrow ile$	

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

50 \* Números de nucleótidos según el sitio de inicio translacional de la secuencia genómica de ADNC del *Mlo*.

EMS = sulfonato de etilmetano, NMU = nitrosometilurea, NaN<sub>3</sub> = azida de sodio.

55 <sup>a</sup> 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 F<sub>2</sub>**

	Cruzamiento de prueba	resistentes	susceptibles	frecuencia de progenie F <sub>2</sub> susceptible
	<i>mlo-8 x mlo-1</i>	5.281	3	$5,7 \times 10^{-4}$
10	<i>mlo-5 x mlo-1</i>	915	0	---
	<i>mlo-5 x mlo-1</i>	14.474	9	$6,2 \times 10^{-4}$
15	autofecundaciones	resistentes	susceptibles	
	<i>mlo-1</i>	12.634	0	
20	<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	Genotipo	Parental	Tipo de Recombinación
		Parental en la Orientación Centromérica	en la Orientación al Telomérica	Mlo <sup>1</sup> al Mlo <sup>2</sup>	
<i>mlo-8 x 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 x 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
55	9*	<i>mlo. + mlo-1</i>	<i>mlo-5</i>		CO

<sup>1</sup> deducido a partir de alelos del marcador RFLP WG114 (véase la Figura 1)

<sup>2</sup> 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 F<sub>2</sub> heterocigóticos susceptibles; en todos los otros casos se probaron la progenie F<sub>2</sub> heterocigótica susceptible derivada de los individuos F<sub>1</sub> susceptibles

# ES 2 317 652 T3

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

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

<sup>1</sup> 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

45

HSPs de cadena positiva:

50

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

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

55

Secuencia problema: 242 KYIKRSMEDDFKVVVGISLPLWGVAILTLFLDINGVGTLLWISFIPLVILLCVGTLKLEM 301  
KY+ R++EDDFK VVGIS LW ++ L++NG T WI+FIP +LL VGTLKLE +

Secuencia introducida: 2 KYMMRALEDDDFKQVVVGISWYLWVFXVIFXLLNVNGWHTYFWIAFIPFXLLLAVGTLKLEMV 181

Secuencia problema: 302 IMENALEIQDRASVIKGAPVVEPSNKEFWFHRPDWVLFPI 341

I ++A E+ ++ I+G VV+P + FWF +P VL+ I

Secuencia introducida: 182 IAQLAHEVAEKHVAIEGDLVVKPXXEHFWFSKEQIVLYLI 301

60

65

# 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 KYIKRSMEDDFKVVVGISLPLWGVAILTLFLDINGVGTLLIWISFIPLVILLCVGKLEM 301

KY+ R++EDDFK VVGIS LW ++ L L++NG T WI+FIP +LL VGTKLE +

15 Secuencia introducida: 2 KYMMRALEDDFKQVVGISWYLWXFVVIFLLLNVNGWHTYFWIAFIPFALLLAVGKLEM 181

Secuencia problema: 302 IMEMALEIQDRASVIKGAPVVEP 324

I ++A E+ ++ I+G VV+P

Secuencia introducida: 182 IAQLAREVAEKHVAIEGDLVVKP 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 WAVAVVFAAMVLVSVLMEHGLHKLGHWFQHRH 49

W + FA ++ V +ER + +L H +H

Secuencia introducida: 122 WIAFIPFALLLAVGKLEMVIAQLAHEVAEKH 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 EPSNKFFWFHRPDWVLF 339

E S++ EWF +P VL+

Secuencia introducida: 244 ETSDENHFWFSKPQKVLY 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 SKEDDFHKYIKRSMEDDFKVVVGISLPLWGVAILTLFLDINGVGTLLIWISFIPLVILLCVG 295

S+EDF KYI+RS+E DFK VV.IS +W VA+L L + G+ + +W+ FIPLV++L VG

55 Secuencia introducida: 127 SRFDFRKYIQRSLKDFKTVVVEISPVIVWFVAVLFLTNSYGLRSYLVLPFIPLVVILVG 306

Secuencia problema: 296 TKLEMIMEMALEIQDRASVIKGAPVVEPSNKPFWP 331

TKLE+II ++ L IQ+ V++GAPV++P + FWF

Secuencia introducida: 307 TKLEVIITKLGRLIQEEGDDVVRGAPVQPGDDXFWF 414

60

65

# ES 2 317 652 T3

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

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

5 Secuencia problema: 196 SSTPGIRWVVAVFRQFFRSVTKVVDYLTLRAGFINAHLSONSKDF 240  
S T W+V FFRQFF SVTKVDYL L GFI AH + ++ F  
Secuencia introducida: 1 SKTRVTLWIVCFRQFFGSVTKVVDYLALXHGFIMAHFAPGNESRF 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 Identidades = 43 / 86 (50%), Positivas = 58 / 86 (67%), Marco = +1  
  
Secuencia problema: 196 SSTPGIRWVVAVFRQFFRSVTKVVDYLTLRAGFINAHLSONSKDFHKYIKRSMEDDFKVV 255  
+4TP V FFRQFF SV + DYLT LR GF +AHL+ KF+F +YIK S+EDDFK+V  
25 Secuencia introducida: 124 TTPPFXENVGCFRQFFVSVERTDYLTLRHFXTSAHLAPGRKFNFQRYIICKSLEDDFKLV 303  
Secuencia problema: 256 VGISLPIWGVAILTLELDINGVGTLI 281  
VGI LW ++ L + +GT++  
Secuencia introducida: 304 VGIXPVLWASFVIFLAVQX\*WLTTIV 381

30 Resultado = 119 (55,6 bits), Estimado =  $9,0 \times 10^{-36}$ , Suma P (2) =  $9,0 \times 10^{-36}$   
Identidades = 24 / 57 (42%), Positivas = 32 / 57 (56%), Marco = +1

35 Secuencia problema: 156 MRTWKKMETETTSLEYQFANDPARFRFTHQTSFVKRHLGLSSTPGIRWVVAVFRQFF 212  
+R WKKW E T S +Y F D +R R TH+TSFV+ H +T + V F + F  
Secuencia introducida: 1 IRGWKKWEOXTLSNDYXFIDHSRLRLTHETSFVREHTSFWTTTFFXPNVGCFRQF 171

40 Resultado = 40 (18,7 bits), Estimado =  $1,2 \times 10^{-08}$ , Suma P (2) =  $1,2 \times 10^{-08}$   
Identidades = 8 / 19 (42%), Positivas = 10 / 19 (52%), Marco = +2

45 Secuencia problema: 269 TLFLDINGVGTLIWIWISFIP 287  
+L + NG G L W S P  
Secuencia introducida: 344 SLLFNXNGNGPLFWASVPP 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) =  $1,2 \times 10^{-24}$

# ES 2 317 652 T3

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

5 Secuencia problema: **146 VITIALSRLKMRWKWWETETTSLEYQFANDPARFRTHQTSFVKRHLGLSSTPGIRWVV 205**  
Secuencia introducida: **4 IVTYAFGKIKMRTWKSWEETKTIEYQYSNDPERERFARDTSFGRRLNFWSKTRVTLNI 183**

10 Resultado = 121 (56,6 bits), Estimado =  $1,4^{-14}$ , Suma P (2) =  $1,4^{-14}$

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

15 Secuencia problema: **196 SSTPGIRWVVAFFRQFFRSVTKVVDYLTLRAGPINAHLSQNSKDF 240**  
Secuencia introducida: **157 SKTRVTLWIVCFRQFFGSVTKVVDYLALXHGFIMANFAPGNESRF 291**

20 Resultado = 75 (35,1 bits), Estimado =  $1,2 \times 10^{-24}$ , Suma P (2) =  $1,2 \times 10^{-24}$

Identidades = 14 / 21 (66%), Positivas = 17 / 21 (80%), Marco = +1

25 Secuencia problema: **236 SKFDFHKYIKRSMEDDFKVVV 256**  
Secuencia introducida: **283 SRFDFRKYIQRSLJODFKTVV 345**

30 >EM EST5:OSR16381A D24287 ADNc de arroz, secuencia parcial (R1638\_1A). 5/95

Longitud = 400

35 HSPs de cadena positiva:

Resultado = 147 (68,7 bits), Estimado =  $1,9 \times 10^{-16}$ , Suma P (2) =  $1,9 \times 10^{-16}$

40 Identidades = 26 / 53 (49%), Positivas = 35 / 53 (66%), Marco = +1

45 Secuencia problema: **236 SKFDFHKYIKRSMEDDFKVVVGISLPLNGVAILTLFLDINGVGTLIWIISFIPL 288**  
Secuencia introducida: **202 TRFNFRKYIKRXLEDDFKTVVGISAPXWASALAIMLFNVHGWHNLFWFSTXPL 360**

50 Resultado = 45 (21,0 bits), Estimado =  $1,9 \times 10^{-16}$ , Suma P (2) =  $1,9 \times 10^{-16}$

Identidades = 9 / 15 (55%), Positivas = 11 / 15 (64%), Marco = +2

55 Secuencia problema: **287 PLVILLCVGTKLEMI 301**  
Secuencia introducida: **356 PLXVTLAVGTKLQAI 400**

60

65

# 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 HWFQHRKKALWEALEKMKAEMLVGFISLLLIVTQDPIIAKICISEDAADVWPCKR 100  
H + H+ L +A+EKMK E+ML+GFISLLL T I S+ PC R

15 Secuencia introducida: 3 HXSEKTHRNPLHKAMEKMKKEEMMLIGFISLLAATSRIISGICIDSKYNSNFSPCTR 176

20

## TABLA 5B

Número de Acceso GenBank T22145

25 1 caagtatatg atgcgcgctc tagaggatga tttcaaacaa gttgtggta ttagttggta  
61 tctttggntc tttgtcgta tcttttntc gctaaatgtt aacggatggc acacatattt  
121 ctggatagca tttattccct ttnctttgtc tcttgctgtg ggaacaaagt tggagcatgt  
181 nattgcacag ttagctcatg aagttgcaga gaaacatgtt gccattgaag gagacttagt  
241 ggtgaaaccc ncanatgagc atttctggtt cagcaaacctt caaatgttc tctacttgat  
301 cccattttat cctctttccc agaatgcntt ttnagantgc ntttttnnt tttggnnntt  
361 gggtaanan annggttgc nc

35

Número de Acceso GenBank Número T22146

1 caagtatatg atgcgcgctc tagaggatga tttcaaacaa gttgtggta ttagttggta  
61 tctttggntc tttgtcgta tcttttntc gctaaatgtt aacggatggc acacatattt  
121 ctggatagca tttattccct ttgctttgtc tcttgctgtg ggaacaaagt tggagcatgt  
181 nattgcacag ttagctcatg aagttgcaga gaaacatgtt gccattgaag gagacttagt  
241 ggtgaaacctt cagatgagca ttctggttc agcaaacctt aaantgttc tctactngatc  
301 cnctttatcc cccttccaga atgcctttt nangattcn nttttcctt nttggannntt  
361 ttgggnnnnc aaacgggnntt nggacctccg

45

Número de Acceso GenBank Número N37544

1 agcaagacga gagtcacact atggattgtt tggtttttta gacagttttt tggatctgtc  
61 accaaagtgtt attactttagc actaagnat ggtttcatca tggcgcattt tgctcccggt  
121 aacgaatcaa gattcgattt ccgcaagtat attcagagat cattagagaa agacttcaa  
181 accgttggtg aaatcgtcc ggttatctgg tttgtcgctg tgcttattctt cttgaccaat  
241 tcataatggat tacgtteta cctctggta ccattcatc cactagtcgt aattctaata  
301 gttgaaacaa agcttgaagt cataataaca aaattgggtc taaggatcca agaggaaggt  
361 gatgtggtga gagggcccccc agtggttcag cctgggtatg accncttctg gtttngnaan  
421 cacgnttcaa tntttccnt antcacttng gccttttan gggtaattt caacttcatt  
481 ctttncctgg ggnccggatga ttcaatccaa naatnttccc ctgaagneth caagtttggg  
541 cataggctt ngtgggnntt ttcaaganttt nagtttggct tcccc

60

65

# ES 2 317 652 T3

Número de Acceso GenBank Número T88073

5           1 **tgcatgtta cttatgttt cggaaagatc aagatgagga cgtggaagtc gtgggaggaa**  
61        **gagacaaaaga caatagagta tcagtattcc aacgatctcg agaggttcag gttgcnagg**  
121      **gacacatctt ttgggagaag acatctcaat ttctggagca agacgagagt cacactatgg**  
181      **attgtttgtt tttttagaca gttctttgga tctgtcacca aagttgatta cttagacta**  
241      **agnacatgggtt tcatacatggc gcattttgtc cccgtaaacg aatcaagatt cgatttccgc**  
301      **aagtatattc agagatcatt agnnaagac ttcaaaccg ttgtttgaaa tcagtcgggt**  
361      **tatctgggtt gtcggctgtg ctattccnct tgaccaatc atatggntnc ggtnntncn**  
421      **tggtaccatt attcnctagc ggaatntaaa agttggcnga**

15        Número de Acceso GenBank Número H76041

20           1 **attcgtggat ggaaaaagtg ggagcaagan acattatcta atgactatna gtttnctatt**  
61        **gatcattcaa gacttaggtc cactcatgag acttctttg tnagagaaca tacaagtttc**  
121      **tggacaacaa cnccttctn cttaacgtc ggatgcttct ttaggcagtt ctttgtatct**  
181      **gtngaaagaa ccgactactt gactctgcgc catggattca nctctgccc ttagctcca**  
241      **ggaagaaagt tcaacttcca gagatatac aaangatctc tcgaggatga ttcaagttg**  
301      **gtagttggaa taagnccagt tctttggca tcaattgtaa tttctctgc tgcatactgn**  
361      **taatggctgg ggaccattgt ttggcncntc ggtaccgcct ntactcanaa ncccaggett**  
421      **ttggccaagg ttcaaggaat ttngggacaa tgggtagaa tcgtggcnc atnngg**

30        Número de Acceso GenBank Número D24287

35           1 **tcntntttnn ttttgnntn cntccacccc tnnnnntnctc nancncttn nnnttatctc**  
61        **tnntnttntc nntntcccn ncaccacnn nccacgggn tggactnng ccnnngttcg**  
121      **aggctgccc ctgnctgtc agacctaccc tgncttga cggcachgga cttcancntgc**  
181      **tgctcacttt atctctacgg gactaggttc aattttcgg aatacatcaa aagncaactg**  
241      **gaggacgatt ttaagacagt tggcatttgc tgcacccn tatggcttc tgcgttggcc**  
301      **attatgtctc tcaatgtca tggatggcat aacttgcctc gttctctac aatncccctt**  
361      **gntagtaact ttagcagttt gAACAAAGCT gcaggctata**

40        Número de Acceso GenBank Número D24131

45           1 **cagactaccc gactttgagg cacggattca ttgctgtca tttatctcta gggacttaggt**  
61        **tcaatttcg gaaatacatc aaaaggtcac tggaggacga ttttaagaca gttgttggca**  
121      **ttagtgcacc cttatggct tctgcgttgg ccattatgtc tttaatgtt catggatggc**  
181      **ataacttggt ctggttctct acaatcccc ttgttagtaac tttagcagtt ggaacaaagc**  
241      **tgcaggctat aattgcaatg atggctgttg aaattaaaga gaggcataca gtaattcaag**  
301      **aatggccgtt ggtgaactca gtgtat**

## Referencias

55   1. **Bayles, et al. (1990). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 36, 63-72.**  
2. **Becker, et al. (1995). *Mol. and Gen. Genet.* 249, 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.**  
65   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.

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 **Henrich**, 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).

60 38. **Hartmann**, E., *et al.* (1989). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86: 5786-5790.

39. **Haselhoff**, *et al.* (1988). *Nature* 334, 585-491.

40. **Heath**, M.C. (1980). *Annu. Rev. Phytopathol.*, 18: 211-236.

65 41. **Henrich**, W. (1979). *Arch. Zuchungsvorsch.*, 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.

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

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

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

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

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

15 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 International de la Energía Atómica, Viena) 73-87.

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

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

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

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

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

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

35 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.

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

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

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

45 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.

50 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.

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

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

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

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

65 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.

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.

10 81. **Raff**, M.C., *et al.* (1993). *Science*, 262, 695-700.

82. **Rathore**, *et al.* (1993). *Plant Molecular Biology* 21, 871-884.

15 83. **Rihs**, *et al.* (1991). *EMBO J*. 10, 633-639.

84. **Ryerson**, D.E. y **Heath**, M.C. (1996). *Plant Cell*, 8, 393-402.

15 85. **Salamini**, F. y **Lorenzoni**, C. (1970). *Mol. Gen. Genet.*, 108, 225-232.

20 86. **Sambrook**, J., *et al.* (1989). *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, Nueva York.

87. **Schmidt**, R., *et al.* (1995). *Science*, 270, 480-483.

25 88. **Sherman**, *et al.* (1986). *Cold Spring Harbor*, Nueva York, *Cold Spring Harbor Laboratory Press*.

89. **Shimamoto**, K. (1994). *Current Opinion in Biotechnology* 5, 158-162.

30 90. **Shimamoto**, *et al.* (1989). *Nature* 338, 274-276.

91. **Shirley**, B.W., *et al.* (1992). *Plant Cell*, 4, 333-347.

35 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.

40 96. **Song**, *et al.* (1995). *Science* 270, 1804-1806.

97. **Stakman**, E.C. (1915). *J. Ag. Research*, 4: 193-199.

45 98. **Staskawicz**, *et al.* (1995). *Science* 268, 661-667.

99. **Stewart**, C.N. y **Via**, L.E. (1993). *BioTechniques*, 14: 748-750.

100. **Szostak**, J.W., *et al.* (1983). *Cell*, 33: 25-35.

50 101. **Tanksley**, *et al.* (1995). *Trends in Genetics* 11, 63-68.

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.

# ES 2 317 652 T3

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.

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

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

25 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

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

## Documentos que no son patentes citados en la descripción

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

- 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]
- 10 • WEIGEL *et al. Cell*, 1992, vol. 69, 843-859 [0101]
- NAR, 1984, vol. 12 (22), 8711-87215 [0104]
- 15 • GREEN *et al. Plant Tissue and Cell Culture. Academic Press*, 1987 [0104]
- 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]
- 25 • ZHANG *et al. Plant Cell Rep.*, 1988, vol. 7, 379-384 [0105] [0216]
- ZHANG *et al. Theor Appl Genet*, 1988, vol. 76, 835-840 [0105] [0216]
- 30 • SHIMAMOTO *et al. Nature*, 1989, vol. 338, 274-276 [0105] [0216]
- DATTA *et al. Bio/Technology*, 1990, vol. 8, 736-740 [0105] [0216]
- CHRISTOU *et al. Bio/Technology*, vol. 9, 957-962 [0105]
- 35 • PENG *et al. International Rice Research Institute*, 1991, 563-574 [0105] [0216]
- 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]
- 45 • GORDON-KAMM *et al. Plant Cell*, 1990, vol. 2, 603-618 [0105]
- 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]
- 55 • WEEKS *et al. Plant Physiology*, 1993, vol. 102, 1077-1084 [0105] [0216]
- 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 Cel Genetics of Plants. **VASIL** *et al.* Laboratory Procedures and Their Applications. *Academic Press*, 1984, vol. I,II,III [0108]
- 5 • **WEISSBACH; WEISSBACH**. Methods for Plant Molecular Biology. *Academic Press*, 1989 [0108]
- **SMITH** *et al.* *Nature*, 1988, vol. 334, 724-726 [0112]
- 10 • **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]
- 15 • **BOURQUE**. *Plant Science*, 1995, vol. 105, 125-149 [0112]
- **FLAVELL**. *PNAS USA*, 1994, vol. 91, 3490-3496 [0112]
- 20 • **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]
- 25 • **FUJIMOTO** *et al.* *Bio/Technology*, 1993, vol. 11, 1151-1155 [0119]
- **ZHANG** *et al.* *Plant Cell*, 1991, vol. 3, 1155-1165 [0119] [0216]
- 30 • **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]
- 35 • **HASELOFF; GERLACH**. *Nature*, 1988, vol. 334, 585-591 [0129]
- **FETTER** *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]
- 40 • **JONES** *et al.* *Science*, 1994, vol. 266, 789-793 [0130] [0216]
- **HENTRICH**, W. *Arch. Züchtungsvorsch.*, 1979, vol. 9, 283-291 [0132]
- 45 • **JEPSON** *et al.* *Plant Molecular Biology*, 1994, vol. 26, 1855-1866 [0134]
- **FREIALDENHOVEN** *et al.* *The Plant Cell*, 1996, vol. 8, 5-14 [0136]
- 50 • **TATE; GRISSHAMER**. *TIBTECH*, 1996, vol. 14, 426-430 [0137]
- **J.M. STEWART; J.D. YOUNG**. Solid Phase Peptide Synthesis. *Pierce Chemical Company*, 1984 [0144]
- 55 • **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]
- 60 • **MINOBE**, Y.; **SASAKI**, T. *DDBJ*, 02 November 1993 [0215]
- **BAYLES** *et al.* *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 1990, vol. 36, 63-72 [0216]
- 65 • **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]
- 70 • **BOYD** *et al.* *Plant. J.*, 1995, vol. 7, 959-968 [0216]
- **BOURQUE**, J. E. *Plant Science*, 1995, vol. 105, 125-149 [0216]
- 75 • **BURKE** *et al.* *Science*, 1987, vol. 236, 806-812 [0216]
- **CAO**. *Plant Cell Rep.*, 1992, vol. 11, 585-591 [0216]

- **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]
- 10    • **FEYTER** *et al. Molecular and General Genetics*, 1996, vol. 250, 329-338 [0216]
- **DIETRICH** *et al. Cell*, 1994, vol. 77, 565-577 [0216]
- 15    • **DOKE**, N. *Physiol. Plant Pathol.*, 1983, vol. 23, 345-357 [0216]
- **DOKE**, N.; **OHASHI**, Y. *Physiol. Mol. Plant Path.*, 1988, vol. 32, 163-175 [0216]
- 20    • **DOONER**, H.K.; **KERMICLE**, J.L. *Genetics*, 1986, vol. 113, 135-143 [0216]
- **DUJON**, B. *Trends Genet.*, 1996, vol. 12, 263-270 [0216]
- 25    • **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]
- 30    • **FREELING**, M. *Genetics*, 1978, vol. 89, 211-224 [0216]
- **FREIALDENHOVEN**, A. *et al. Plant Cell*, 1996, vol. 8, 5-14 [0216]
- 35    • **FROHMAN**, N.A. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1988, vol. 85, 8998-9002 [0216]
- **FUGIMOTO** *et al. Bio/Technology*, 1993, vol. 11, 1151-1155 [0216]
- 40    • **GIOVANNONI**, J.J. *et al. Nucl. Acids Res.*, 1991, vol. 19, 6553-6558 [0216]
- **GORDON-KAMM** *et al. Plant Cell*, 1990, vol. 2, 603-618 [0216]
- 45    • **GÖRG**, R. *et al. Plant J.*, 1993, vol. 3, 857-866 [0216]
- **GRANT** *et al. Science*, 1995, vol. 269, 843-846 [0216]
- 50    • **GREENBERG** *et al. The Plant Journal*, 1993, vol. 4, 327-341 [0216]
- **GREENBERG** *et al. Cell*, 1994, vol. 77, 551-563 [0216]
- **HABEKUSS**, A.; **HENTRICH**, W. *Tag. Ber. Akad. Lanwirtsch.-Wiss. DDR*, 1988, vol. 272, 229-237 [0216]
- 55    • **HAMMOND-KOSACK**, K.E.; **JONES**, J.D.G. *The Plant Cell*, 1996 [0216]
- **HARTMANN**, E. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1989, vol. 86, 5786-5790 [0216]
- 50    • **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. Zuchungsvorsch.*, 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]
- 65    • **JONES**, D.T. *et al. Biochemistry*, 1994, vol. 33, 3038-3049 [0216]
- **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]

- **JØRGENSEN**, J. H. Induced mutations for disease resistance in crop plants II. *International Atomic Energy Agency*, 1983, 73-87 [0216]
- 5     • **JØRGENSEN**, J. H. *Euphytica*, 1992, vol. 63, 141-152 [0216]
- **JØRGENSEN**, J. H. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1994, vol. 13, 97-119 [0216]
- 10    • **JØRGENSEN**, J.H.; **MORTENSEN**, K. *Phytopathology*, 1977, vol. 67, 678-685 [0216]
- **KLEIN**, P. *et al. Biochim. Biophys. Acta*, 1985, vol. 815, 468-476 [0216]
- 15    • **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]
- 20    • **KUHN**, R.M.; **LUDWIG**, R.A. *Gene*, 1994, vol. 141, 125-127 [0216]
- **KÜNZEL**, G. *Theor. Appl. Genet.*, 1982, vol. 64, 25-29 [0216]
- 25    • **LAMB**, C.J. *Cell*, 1994, vol. 76, 419-422 [0216]
- **LAWRENCE** *et al. The Plant Cell*, 1995, vol. 7, 1195-1206 [0216]
- 30    • **LEVINE**, A. *et al. Cell*, 1994, vol. 79, 583-593 [0216]
- **LINDE-LAURSEN**, I. *et al. Z. Pflanzenzüchtg.*, 1982, vol. 81, 191-219 [0216]
- 35    • **LUNDQVIST**, U. *et al. Hereditas*, 1991, vol. 115, 227-239 [0216]
- **MARTIN** *et al. Science*, 1993, vol. 262, 1432-1436 [0216]
- 40    • **MCCLINTOCK**, B. *Science*, 1984, vol. 226, 792-801 [0216]
- **MINDRINOS** *et al. Cell*, 1994, vol. 78, 1089-1099 [0216]
- 45    • **MOORE** *et al. Current Biology*, 1995, vol. 5, 737-739 [0216]
- **MOURAD**, G. *et al. Mol. Gen. Genet.*, 1994, vol. 243, 178-184 [0216]
- 50    • **NEGASSA**, M. *Hereditas*, 1985, vol. 102, 113-121 [0216]
- **NIGG** *et al. Cell*, 1991, vol. 66, 15-22 [0216]
- 55    • **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]
- 60    • **RYERSON**, D.E.; **HEATH**, M.C. *Plant Cell*, 1996, vol. 8, 393-402 [0216]
- **SALAMINI**, F.; **LORENZONI**, C. *Mol. Gen. Genet.*, 1970, vol. 108, 225-232 [0216]
- 65    • **SCHMIDT**, R. *et al. Science*, 1995, vol. 270, 480-483 [0216]
- **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]
- 10    • **STASKAWICZ** *et al. Science*, 1995, vol. 268, 661-667 [0216]
- **STEWART**, C.N.; **VIA**, L.E. *BioTechniques*, 1993, vol. 14, 748-750 [0216]
- 15    • **SZOSTAK**, J.W. *et al. Cell*, 1983, vol. 33, 25-35 [0216]
- **TANKSLEY** *et al. Trends in Genetics*, 1995, vol. 11, 63-68 [0216]
- 20    • **THOMAS**, C.M. *et al. Plant J.*, 1995, vol. 8, 785-794 [0216]
- **TSUJI** *et al. Plant Physiology*, 1992, vol. 98, 1304-1309 [0216]
- 25    • **VOS** *et al. Nucleic Acids Research*, 1995, vol. 23, 4407-4414 [0216]
- **WANG** *et al. Plant Journal*, 1995, vol. 7, 525-533 [0216]
- 30    • **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]
- 35    • **WIBERG**, A. *Hereditas*, 1974, vol. 77, 89-148 [0216]
- **WOLTER** *et al. Mol. Gen. Genet.*, 1993, vol. 239, 122-128 [0216]
- **WYLLIE**, A.H. *Current Biology*, 1995, vol. 5, 97-104 [0216]

40

45

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácido representada en la Figura 2.

5 2. Polinucleótido según la Reivindicación 1 en el que la secuencia de codificación es la secuencia de codificación representada en la Figura 2.

10 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 oídio 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.

15 4. Polinucleótido según la Reivindicación 3 que codifica un polipéptido que incluye la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 13.

20 5. Polinucleótido según la Reivindicación 4 en el que la secuencia de codificación es la que se representa en la Figura 10.

25 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.

30 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.

35 10. Polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores vinculado operativamente una secuencia regulatoria para la expresión.

40 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 oídio 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.

45 12. Polinucleótido según la Reivindicación 11 que estimula o mantiene dicha respuesta de defensa de la planta en la expresión homocigótica en la planta.

50 13. Polinucleótido según la Reivindicación 11 en el que la secuencia de aminoácidos incluye una modificación seleccionada a partir del grupo consistente en:

Trp<sup>162</sup> a Arg, marco de lectura después de Phe<sup>395</sup>, marco de lectura después de Trp<sup>159</sup>, Met<sup>1</sup> a Ile<sup>a</sup>, Gly<sup>226</sup> a Asp, Met<sup>1</sup> a Val<sup>a</sup>, Arg<sup>10</sup> a Trp, supresión de Phe<sup>182</sup> y Thr<sup>183</sup>, Val<sup>30</sup> a Glu, Ser<sup>31</sup> a Phe, y Leu<sup>270</sup> a His,

55 en el que <sup>a</sup> 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.

60 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.

65 16. Polinucleótido según cualquiera de las Reivindicaciones 11 a 15 vinculado operativamente a una secuencia regulatoria para la expresión.

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.

55

60

65

ES 2 317 652 T3

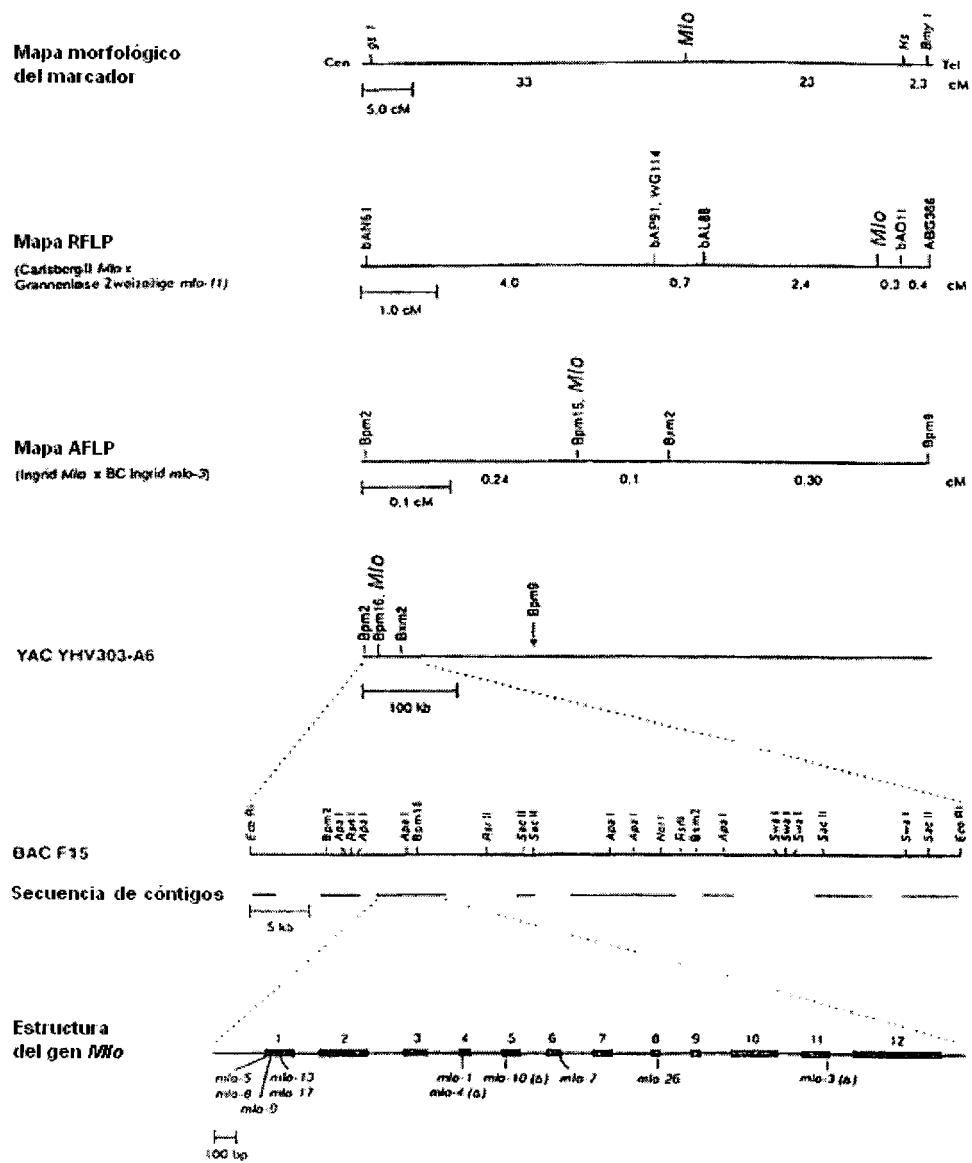


Figura 1

ES 2 317 652 T3

H S D K K G V P A S E L P E T P S H A V  
 ATGTCGACACAAAAAAGGGTGCCTGGGCGGCGGCTGCCAGAGACGCCCTCTGGCGGCGG  
 60  
 A V V P A A H V L V S V E M E H G L L H K  
 GCGCTGGCTTGGCGGCTATGGTCTCGTGCCTCTCATGAGACAGGGCTCCACAAG  
 120  
 E G N F O H R N R K A L H E A L E K M  
 CTGGCCATGGCTTCCAGCCAGGCGGCTGGGAGGGCCCTGGAGGAAGATG  
 180  
 K A E L H L V G F I S L V T O D P  
 AGGGCGGAGCTGATGCTGGGCTTCATATCCCTGCTCTCATGCTCAAGCAGGGACCC  
 240  
 I I A K I C I S E D A A D V H N P C K R  
 ATCATCGGCAAGATATGCTCGAGGGATGCCGGCAGCTCATGTCGGCTGCAAGCC  
 300  
 G T E G R K P S K Y V D T C P E G K V A  
 CGCACCGAGGCGGCCAGCCCGAGCTGGCTGACTGAGCTGGCGAGGGCAGCTGGCG  
 360  
 L M S T G S L H Q I L H V P I F V L A V E  
 CTATGTCAGGGCGAGCTGGCGAGCTGAGCTGAGCTTCATCTGTCGGCTCGGGCTTC  
 420  
 H V T Y S V I T I A L S R L K H R T H K  
 CATGTCACCTACCGCGTCATCACCATAGCTAAGGGCTCTCAAAATGAGAACATGAG  
 480  
 K W E T E T T S I E Y O F A N D P A R F  
 AGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 540  
 R P T H O T S F V K R N R L G L S S T P G  
 CGCTTACACCCAGGAGCTGGCTTCATGAGGCCACCTGGGCTTCAGAGCAGGGCTGGC  
 600  
 I R H V V V A P F R O F F R S V T K V D Y  
 ATCAGATGGGTTGGTGGCCCTTCAGGGAGTCTTCAGGTCTAGTCACCAAGGGAGTGGAGCTA  
 660  
 L T L R A G F I N A H E L S O N S K E D F  
 CTAGCTGGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 720  
 H K Y I K R S M E D D F K V V V G I S L  
 CACAGTGATCTCAGAGGGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 780  
 P L M G V A I L T L F L D I N G V G T I  
 CGCTGTGGGCTGTGGCGATGCTCACCCCTCTTCCTGTCATCAATGGGTTGGCAAGGCTC  
 840  
 I W I S E I P C L V I L L C V G T K L E H  
 ATCAGGATTTCTTCATCCCCTCGTGATGCTCTTGTGTTGGAAACCAAGCTGGAGATG  
 900  
 I I M E M A L E I O D R A S V E R G A P  
 ATCATATGGAGATGGCGCTGGAGAGTCAGGGACGGGGAGGGCTCATCGGGGGCGCC  
 960  
 V V E P S H Y P P H F H R P D H M L F  
 CTGGCTGGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 1020  
 T H L T L G O N A E Q H A R E F V H T V A  
 ATACACCTGAGCTTGTGGAGACCGCTTCAGATGGGCTATTCCTGGAGACTGGAGCTGGC  
 1080  
 T P G L K X C Y T N D O I G L S T M H V V  
 AGGGCGGGTTGAGAAAGCTTACACAGCGACATGGGCTGAGCATCATGAGGGCTGGC  
 1140  
 V G L A S O Q F L C S T M T E P R Y A L V  
 CTGGGGCTTACGCTCTCGCTTCTGAGCTATATGACCTTCGGGGCTTACGGGCTGGC  
 1200  
 T O M G S R M H R S I F D E O T S K A L  
 AGCGAGATGGGAGCAACATGAGAGGGCTCCATTCAGGAGGCCAGAGCTGGCGAGG  
 1260  
 T N H H N T A K E K K K V R O T D M I K  
 ACCAGTGGGAGACGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 1320  
 A Q M I G O A T P S R G S S P M H S R G  
 GCTCGAGATGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 1380  
 S S P V H D L L H K G M G R S D D P Q S A  
 TCTATCACCGGCTGCACTGGCTTCACAGGGCATGGGCGGCTGGAGCTGGAGGAGG  
 1440  
 P T S P R T Q O G E A R D H Y P V V V A H  
 CGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 1500  
 P V H M P N D R R R S A S S A L E  
 CGGTGCAAGAGCTAAATGCTAAGCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 1560  
 A D I P S A D P S F S Q O G +  
 GCGGACATGCGAGTGGAGATTTCTTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG  
 1602

Figura 2

ES 2 317 652 T3

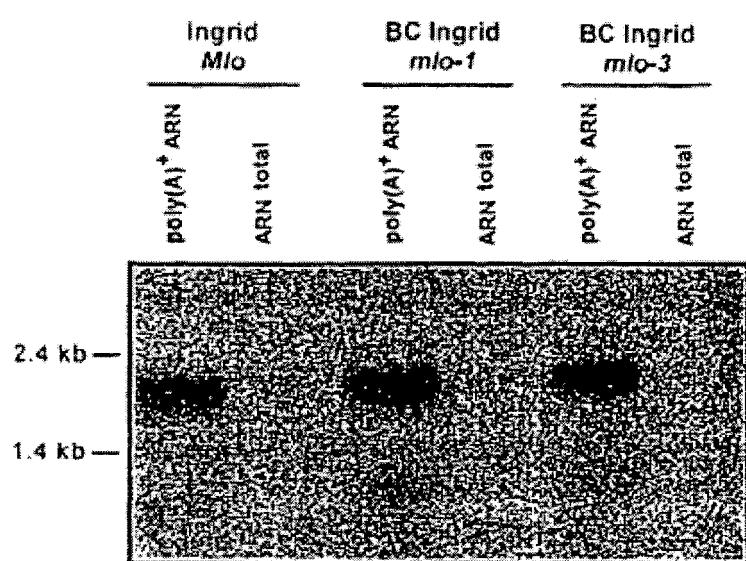


Figura 3

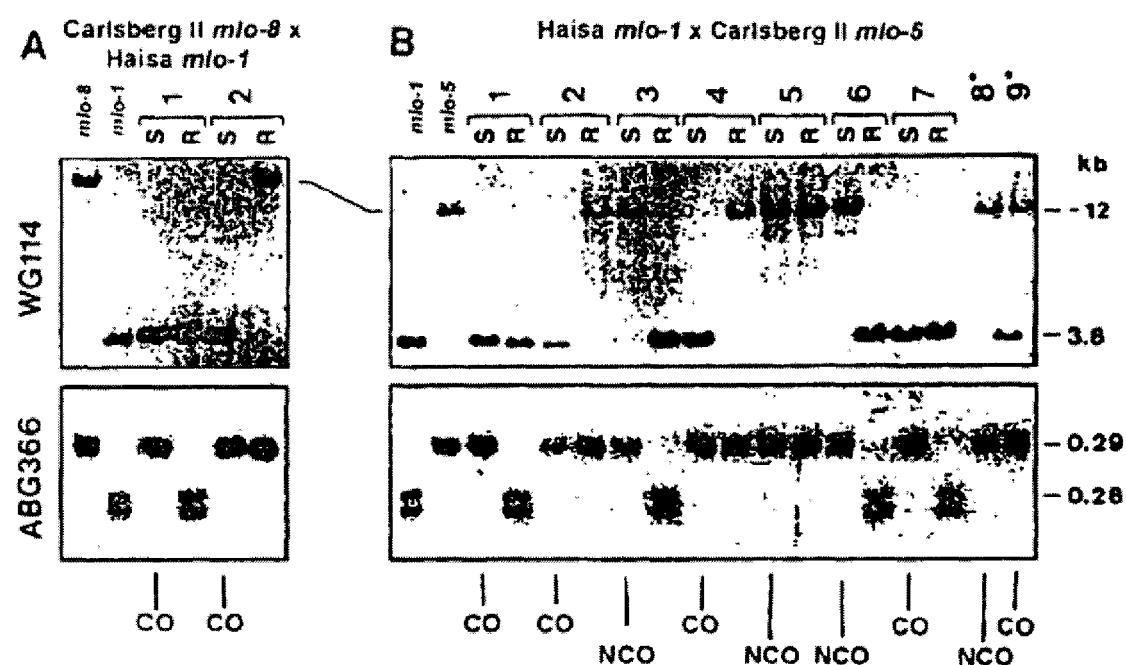


Figura 4

# ES 2 317 652 T3

292 GGGAGCTCATCTCTGTTGGCTTCAATATCCCTGCTCCATCGTCAGGCA 341  
 300 GCANAGCTGATGCTGCTGGGCTTCATNTCCCTGCTTCACCGTGGCACA 129  
 342 GGACCCCATCATCGCCAAAGATATTCATCTCCGAGGATGCCCGACGGCA 391  
 350 GGCGCC...CATCTCCAAANATCTGCATCCCGAAGTCGGCTGCCAACATCT 176  
 392 TGAGGCGCTTGCAGGCGCGACCGAGGGCGG...AAGCTGAGCTGAACTGCT 440  
 397 TGTTGCCGTTGCAAGGCAAGGCCAGATGCCATCGAAGAANAAGCAAGCAGT 226  
 411 TGAGCTACTGCGCGGGGTGAGCAGCAGAGCGCGGAGCCAGCACTTCACGA 490  
 419 GGTCNCCNGTCC...TTGGCCGGGCGC99C99CGGGGACTACTGCTCAATT 275  
 451 TGATGAGAAATCAATACC.....GAACCTTTTCTTGTTTCT 528  
 476 TGATGAGAAATAAACNCCAGCTGCCGCGCAAGCACACNACTGATNCAATT 325  
 529 TCTGATTGTTGCTTGGCTTGGCTTAATTGGTGTGTGTGTGTGTGTGTTGC 578  
 536 ACTNATT.....TAACCTAAATTGATTTCTTGGTTTTCTGC 364  
 579 AGGGCAAGGGGCGCCCTCATGNYCAGGAGGAGCTGGCACCGAGCTGCACGTC 628  
 585 AGGGCAAGGGTGGGCGCTGATGTCGGCAAGAGGCATGCCAACGCTGCACATT 414  
 629 TTCACTTGGGCTCGCGGCTTCAGATGTCACCTACAGCGTCATCACCAT 678  
 645 TTCACTTGGGCTCGCGGCTTCAGATGTCACCTACAGCGTCATCACCAT 664  
 579 AGCTCTAGGCGCTCGCAAGTGGCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 723  
 465 GGGTTTAGGGGGCGCTCAAGTGGCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 514  
 724 CTTTTACCT.....GCAAGTCTGTCAGGGCTAACCTAACCTTTC 765  
 515 GTTTCTCTAGCTCTAGCAANATTGTCAGTCTCAANTGGATTGTTGC 564  
 766 TCAGGCTTGGTAAACCTGTTCCATTAATCTGC.....TCCGGCATAA 807  
 565 ACA.....AGAAACCCAATTATTAAATTGGCACTTAATATATAATAAA 608  
 808 TCTCTCTCTCTG...CAGATGAGAACATGGAGAGAAAATGGAGACAGAG 853  
 609 TTGATCTTCTTGGTTTGTGATGAGAAATGGAGAAAGTGGGAGTCACAG 658  
 854 ACCCCGCCCTGGAAATACCGAGTTGCAAAATGGTCAGGGATCCCCACTCTG 903  
 659 ACCAACTCATGGAGTATCAGTTGCAATCGGTAGT.....AATTAA 701  
 904 CAATCTCC...CTCTCTGAAACCAAAAC...TGATGATCCATTAA 946  
 702 GAATCTCCCTAACTTATTTCAATTGAGAACCTTATGATAATGCTTGAAT 751  
 947 GAOGCAGGGCACGATCAGAGTGGTGAACCTGATGATGTTCACTTTTGTC 996  
 752 GAGGAGGAGCAANTCG...CTGAAATATGATCGA..... 785  
 997 TCTCTTCAGATGCTGCAAGTGGCTTCAAGCAGCAGACGCTGTCGCGG 1046  
 786 TCCATGAGATCTTCACGGATTGAGTTCAAGCAGTCAGACGTCGTTGTC 835

Figura 5

# ES 2 317 652 T3

1047 AAGCGCCAGCTGGG.....CCCTCGAGCACCCCTGGCATCAGATGGGTGGT 1093  
 836 AAGGGCATCTGGATCATTCCAAGCACCCCTGGGCTCAGATGGATCGT 885  
 1094 GAGTTTTTACGTTCTTATCTGCCCTCATCTGTGTGTAAAGTT..... 1137  
 886 GAGTTATCAGTCGAAAT.....ACATGCTGTTTTTATTCGCA 928  
 1138 ..TGGCGTA.....TGGAGTCAGGTGATTT.....ACCTT 1165  
 929 ACTGGCGTAGCTGTCCAAATCAATCCATATTTTGAAAAAAAAATAT 978  
 1166 GCCTGTGATGTTGTTGCCCTGGTCAGGTCCTACTTCAGGCAGTTCTTC 1215  
 979 TCATGCGTGTGTTG.....TTGTTAGGTAGCATTCCTCAGGCAGTTCTT 1023  
 1216 AGGTCAGTCACCAGGTTGGACTACCTGACCTTGAGGGCAAGGCTTCATCAA 1265  
 1024 GGGTCCGTCAACAGGTTGGACTACCTGACCATGGGGCAAGGCTTCATCAA 1073  
 1266 GGTACGTGC.....CTCCCTCTAGCTCCGCCATTGCTGOCGGCGATGTAG 1311  
 1074 TGTATATACATCAACCTGACCAATTCAACATTGATGATGCAAACAG 1122  
 1312 CAGCAGGCTTCT.....CAAGTTATCTCTGACGCTAAAGTTCCCA 1354  
 1123 AAGACCAAGGTTTTTTTCCGAGTTGTGAT.....TGAAGTTAATG..... 1165  
 1355 TGTTTTTCCATCAAAATTATCTGCGCAGGG.....CATTGGTGCCAAACAGC 1403  
 1166 ..GTTTAGCTTC.....TCTCTTTGCAAGGGCGCATTGTCGGCAGATAGC 1211  
 1404 AAGTTGACTTCCACAAATACATCAAGGGTCTTGGAGGACGACTTCAA 1453  
 1212 AAGTTGACTTCCACAAATACATCAAGGGTCTTGGAGGACGACTTCAA 1261  
 1454 GGTCTGGGCGCATCAGGTACGTTCAATTCTCTTCTGACCCAGCCA 1503  
 1262 AGTTGCGTGGCATCAGGTCG.....CCCTCGCTT..... 1294  
 1504 CACCCCATGGATAGATTTAACAAATTGCTGTCAGGTTCCACATGATAAC 1553  
 1295 ..,.....ATTAATTATAGGA.....CTCTTATATTCAACATTTTTTT 1330  
 1554 ATATACTATGA.....ACTGGCTTTGCTCTTGTG.....CCGGATCA 1597  
 1331 ATAAAGAAACATATTTAGCT.....CCAGTTGTTATGTTATGTTGATCT 1377  
 1598 TGACACATTTGGCTGTTTCGCAAGCTCCCGCTTGTGGCTTGCGGATC 1647  
 1378 TGACACATTTGG.....CTGGTTTGGCAGCTCCCTCTGTTGTTGCGGATC 1426  
 1646 CTCACCGCTTGTGACATCAAACTGATGGACCTTCCTCTCGGTTT 1697  
 1427 CTTGTACTCTTCCTCGATATOCACGGTA.....ATGTTGTCCT.....ATTT 1469  
 1698 CTCTATTGCTTGCAGCTAAATAAACACTTGCATTCCTCGTCTCGT 1747  
 1470 CATTCTTTTACTCTCAAAACCTTGTCTGAAATTGGCTTATAATCA 1519  
 1748 CCGCTCATTTCAACCCATTCTTCTACTCATAGGCGTGGCACCGC 1797  
 1520 CCATCGATTTTCTCAACTT.....TTTCCCCGGTGTAGGTCTGGCACACT 1568  
 1798 CATCTGGATTTCTTTCATCCCTCTGTTGGTAAGTGC.....AGATTTCTCC.....AT 1845  
 1569 TATTTGGATCTTTGTTCTCATCGTAAGAGCGAAATTCCCTGT 1616

Figura 5 (continuación)

ES 2 317 652 T3

1846 CGAANGCAACAGCAAAACCCATT ..... TGATCGCAAT 1878  
 1619 CCACAGAACAGTTAACATAATTAAATTATGCTTTAATTATCATGAAANT 1668  
 1879 GGAANACOCACACCTAATTAACCTCAAAATGTCAATTGTCGGTGCCTCCT 1928  
 1669 TAATATGATCATATAACTAACTAATGAAACAAACATTCA.. TGTGAATGCCACCG 1716  
 1929 CCTCAACAGCATCCTCTGTGTTGGAAACCAAGCTGGAGATGATCATCAT 1974  
 1717 TTGTCCTCAGATCGTCTTGTAGTTGGGACCAAGCTAGAGATGGTGAATCAT 1766  
 1979 GGAGATGGCCCTGGAGATOCAGGACCGGGGGAGCGTCATCAAGGGGGCCC 2028  
 1767 GGAGATGGCCCAAGAGATAACAGGACAGGGCCTGTGATCCAGGGACAC 1816  
 2029 CGGGGTCAGGGCCAGCAACAAGTTCTCTGGTCCACGGGCCCCACCTGG 2078  
 1817 CTATGGTTGAAACCAAGCACAAGTACTTCTGGTCAACCGCCTGACTGG 1866  
 2079 GCGCTGTTCTTCATACACCTGACACTCTTCCATGTACATGTTAAACC 1916  
 :  
 2108 ..... CCAGAACCGC GTTTCAGATGGCGCATTTTG 2136  
 2017 GACGGACGGATCGATCATCACCAAGAAAGCATTTCAGATGGCGCATTTGG 2066  
 2137 TGTGGACAGTG .. GTACGCCAC ..... CGATGAACCTGTCAGTT 2173  
 2067 TATGGACTATGGTGTGTATGCTACTTGCTTAGTTGGCCATTATCAGTT 2116  
 2174 ..... AACATGGGTGTCA .. AGGCACOGAGTGCCCCGTGATGA .. 2208  
 2117 CTTAAGCAATTAAAGTGTGATGCATGCACTGA .. CTAATGAGACAA 2160  
 2209 ..... ACTGCTCTGACGGAGATTACI7GTGTTGT .. AGGCC 2243  
 2161 AAAATGACACACGGCTTGTGATCGATCTGGTTGGTGTGACAGGCA 2210  
 2244 AGCGCGGGCTTGAAGAAATGCTACCCACGCCAGATCGGGCTGAGCCTCAT 2293  
 2211 ACAGCTGGCTGAGAAATGCTTCCATGAAANTATTGGCTGAGCCTGATCGT 2260  
 2294 GAAGGGGGGCTTGGGGCTAGCTCTCCAGTTCTCTGAGCTATATGACCT 2343  
 2261 GGAAAGTCATTGTGGGGATCTCTCTTCAGGTGCTATGCAAGCTACATCACCT 2310  
 2344 TCCCCCTCTACCGCGCTGACACAGGTAAATAACCGTGCAGGAA 2389  
 2311 TCCCGCTCTACCGCGCTGACACAGGTAAACAGGTCAGCCATTCAAAA 2356

Figura 5 (continuación)

ES 2 317 652 T3

295 GAGCTCATGCTGCTGGCTCTCATATCCGCTCCCATCGTCACGCCAGGA 344  
 1 GAGCTCTGCTGGTGGGCTCTCATATCCGCTCCCATCGTCACGCCAGGA 50  
 345 CCCCATCATGCAAGATAATGCACTTGGGATGCCCGCGAGCTCATGT 394  
 51 TCC...CGTCCTCAGGATCTGCATCTCCAGGAGGCCGGCAGAAATGCG 97  
 395 GGCCTGCAAG.....CGCGGCCACGCCGGGCCGCAAGGCCA 430  
 98 TCCCGTGCAGGCTTACAGCCGCGCGCGTGGCAAGGCCAATGACAA 147  
 431 .....GCAAGTACGGTGAATCTACTGCCCGGA 455  
 148 CACCGGAGGCTTCTCTGCTCCAAAGGCCAGACCGGAAACCCACCGGGGTT 197  
 456 GGTGAGCAGCAGAGGCCGAGCGAG..... 479  
 198 CCTG.GCTGCCCGCGCGGANTGGACGCTGCGCCAAACAGGTGAGCACC 246  
 480 CAGTTCAAGGATGATGAAGAAA.TCAATACCGAATTTCTTGTGTTCT 528  
 247 TACGTCACACAAACACACAAACTAACTAAATGAGCATGGACCTGAAATTC 296  
 529 TCTGATTTGCTCTTGGCTTGGCTTAATGGTGTGTGTGTGTGTGTTG 578  
 297 TTCTCTCTTGGCTTGGCTTGAATTTGGT.....TGTGC 333  
 579 AGGCCAAGCTGGCGCTCATGTCACGGCAGCTTGCACCAAGTGCACGTC 628  
 334 ACGGCAAGGTGGCGCTGATGTCNNCGGAANCATGCACCAACTGCACATA 383  
 629 TTCACTCTGGYCTTGGCTCTTCCATGTCACCTACAGCGTCATCACCAT 678  
 384 TTCACTCTGGTGTCTGGCTCTTCCACGTCCTTGACAGCGTGTGTCACCAT 433  
 679 AGCTCTAAGCGCTCTCAAAGTGAGOCCTTGCTTCTCTCTCTCTCTT 728  
 434 GACCTAAGCGCTCTCAAAGTGAGCATCATACTC..... 467  
 729 ACCGCAOGTGTGTGTCAAGGCGTACCTACCTGTTCATCAGGCTTGAGTA 778  
 468 .....GAGCTGTTGTCAATAATCCCT...GGTTCAATCCAAATTCCA 508  
 779 AAGCTGTTCCATAATCTGCTCCGGCATATACTCTCTCCCTGCAAGATGAG 828  
 509 AAGCTGGCACTGATCTGCTCCGG.....CTTCCCTGCAAGATGAA 547  
 829 AACATGGAAGAAATGGGAGACAGAGACCCACCTGAAATACCTACGTTG 878  
 548 GCAATGGAAGAAATGGGAGTCGGAGACCCGCTCGCTGGAGTATCAGTTG 597  
 879 CAAATGGTCAGGATCCCCCAGCTCTGCAATCTCCCTTCTGAAACCAA 928  
 598 CGAAATGGTCAG.....CTTCACCTTTCTTACTGAAA 629  
 929 CCTGATGATCCATT...AAAGACGCAGGCCACGATCA.....GAGTGAGT 970  
 630 CGGGATG...CATTTACACAAACGCACCCACGATCAATCATCACAGTGT 676  
 971 GAACTGAT.GTATGTTCACTTTTGCTCTTTCAGATC...TGCACGG 1016  
 677 GAGCCGATACTGTTGAAACCCGATTGAAATCTCTCCGCAAGATCCCATCGCCCG 726

Figura 6

ES 2 317 652 T3

1017 ~~TTCCCGTTCACCGACCCAGACGTCGTT~~ CGTGANGCGGCCACCTGGGCCCTC 1065  
 727 ~~TGCGCGTTCACCGACCCAGACGACGTTGGTGA~~ GAGGGCGGCCACCTGGGCCCTC 776  
 1066 ~~CCAGCCACCCGCTTGATATAGATGGTGGT~~ GAGTTTTTAGCTTCTTATCTG 1115  
 777 ~~CCAGCCACCCGCGGCTCAGATGGT~~ ..... 801  
 .  
 1166 ~~GCCTGTGATGTTGTTGCCCTTGTCAAGTGGCTTCCTTCAGGCAGTTCTC~~ 1215  
 802 ..... GGTGGCCTCTTCAGGCAGTTCTC 826  
 1216 ~~AGGTCACTCACCCAGGTGGACTACCTGACCTTGA~~ GAGGGCGGCCACCTGGGCCCTC 1265  
 827 ~~ACGTGGCTACCCAGGTGGACTACCTGACCTTGA~~ GAGGGCGGCCACCTGGGCCCTC 876  
 1266 ~~CGTACGGTACCCCTCCCTCTAGCTCCGCCATTCGCTCCGCGATG~~ TAGGCAGC 1315  
 877 C ..... 877  
 .  
 1366 ~~CAAATTATTCTGCCAGGGCGATTGTCGCAAAACAGC~~ GAGTTGGACTTC 1415  
 878 ..... GGGCATCTCTCGCAAGGGCAACAGGTTGGACTTC 910  
 1416 ~~CACAAAGTACATCAAGAGGGTCCATGAGGAGCGACTTC~~ AAGGTGGTGGCGGG 1465  
 911 ~~CACAAAGTACATCAAGAGGGTCCATGAGGAGCGACTTC~~ AAGGTGGTGGCGGG 960  
 1466 ~~CATCAGGTACGTTCCATTCTCTCTGCAC~~ ..... CACACACAC 1506  
 961 ~~CATCAGGTACGCGCCATTCTCTCTGCAC~~ AATTAAATACATCCACAC 1010  
 1507 ~~CCCATGGGATAGTTTACAAATTGCTGTCAGGTTCCACATGNTAAACNTA~~ 1556  
 1011 ~~CCATANGTAGATAGATAGA~~ ..... TCGATANATANATTA 1045  
 1557 ~~TACTATGAACTTGGTCTTGTCTCTGCTGACACATT~~ 1606  
 1046 ~~TAC.AAGTGGCGGTACGTAAGTACGTCAT~~ ..ATGATCTTGACACATC 1091  
 1607 ~~TGGCCTGTTTTCGCAGCCCTCCCGTGTGGGCGATCCCTCA~~ CCGCTC 1656  
 1092 ~~TGTCCTCTGCCGCAATCTCAAGCTCTGGTCTGGGCGATCCCTCATCTC~~ 1141  
 1657 ~~TTCCCTGACACATCAATGGTATGGACCTTCCTC~~ TCTCCGGTTCTCTATTC 1705  
 1142 ~~TTCCCTGATTCGACGGTACGCCGCTTGTCCATGCCCTGCTGCGCCCTCTC~~ 1191  
 1706 ~~CTTTGCAGCTAAATAAACACTTGCAATTGCTCGTGTATCACCGCTCAT~~ 1755  
 1192 ~~CTCCCGTTCTCTCCATAATTGTG~~ AACTTGTCCCGT ..... AT 1229  
 1756 ~~TTTTCACCCATTTCCTTCTACTCATAGGG~~ TGGCACCGTCATTC 1804  
 1230 ~~ATAACCACACCCACCGTGTCTCTCGCAGGGGATCGGACTCTCTCTGG~~ 1279  
 1805 ~~ATTCCTTCATCCCTCTCTGTAAGTGCAGATTCTCCATCGAAAGCAA~~ 1854  
 1280 ~~ATGTCGGTGGTCTCTCGTGTAAAGTCCA~~ ..... CAAATTGAATAGA 1322  
 1855 ~~CAGCAAAACCCAAATTGATCGCATTGCAACCCACACCTAATATTAACCTA~~ 1904  
 1323 ~~CAACCTGTCCAATTGATGATGATGACGTAACCTCCAAACTTAA~~ ..... TTA 1365

Figura 6 (continuación)

ES 2 317 652 T3

Figura 6 (continuación)

2632 ~~CGGGGCTCATCACCGTGCACCTGCTTCACAAGGGCATGGGGGGTCGGA~~ 2681  
2108 .....~~GTGCACCTQCTCCACAAAGGCGGGCGCGGTCCGA~~ 2142  
2682 ~~CGACCCCGAGGCGCCACCTCGOCAAGGACCCAGCAGGAGGCTAGGG~~ 2731  
2143 ~~CGACCCCGAGGCGTGCAGGGCGTCCCCGAGGGCGAGAAGGAGGGCG~~ 2192  
2732 ~~ACATGTACCCGGTTGTGGTACGGCACCCGGTGCACAGACTAAATCTAAC~~ 2781  
2193 GC.....~~GTGCAGCATCCGGCGCGCAAGGTACCTCCTTGT~~ 2227  
2782 ~~GACAGGAGGAGGCGCGCTCGTCGGTGTGCGCTCGAAGCGACATCCCGAG~~ 2831  
2228 ~~GACGGGTGGAGGTGGCCCTCGTCGGCGCGCTCGACGCTCACATCCCCGG~~ 2277  
2832 ~~TGGAGATTTTCCTTCAGC~~ .....~~CAGGGATGAGAACAGTTCTG~~ 2871  
2278 ~~TGCAGATTTGGCTTCAGCACGCAACGTTGACCGATCAGACAAGTTCCCTT~~ 2327  
2872 TATT 2875  
2328 TTTT 2331

Figura 6 (continuación)

ES 2 317 652 T3

	GGCTGCTCCCCAGCAGAAGAACACACAGCAGGGTACCTCGCT	20
	ACGTTAGCGCTGGCTTCTTTTCTTCCCTCTCTTGCTCGGCCAGCAG	40
	TGGATAGCGGGCACCGCCAGGCGACCTCGCGTTGCCCTGGCTGCACTCGCTGTA	60
	CCCTGGTAGAGCGGCCGCTCTGCTTGCTCGGCCAGGGACCTTCCCGGCTTGACCG	80
hélice I	M S D X K G V P A R K E L P K T P S <b>V P R R R R</b>	100
	ATGTCGAGACAAAGGGATGCCGGCGGGCGACCTGCGGAGACCGCTGCGGCGGCG	120
	<b>A A V V V F A A A M V L V E V I N H E N G L E</b>	140
	CCCTGGCTCTTCGGCCCGCTGGCTGCTGCTGCTGCTGAGACCGGGCTCGCAAG	160
	L G N F T Q H A R A K X K A L V E A L E K M	180
	CTGGCCATGGTTCAGGACACGGGACANAGAAGGCCCTGTEGGAGGCCCTGGAGAGATG	200
hélice II	K A K <b>E I M L Y G F F E L I E I V A T I S T I</b>	220
	AGGGGGAGCTATGCTGGCCCTTCATATCCCTGCTCTCTGTCACCCAGGACCC	240
	<b>E D F K A R K T I C I S E D D A A D Y H V F C X R</b>	260
	ATCATCGCCAAGATACTCGAGGATGCCGCCGACGCTATGTCGGCCCTGCAAGCCC	280
	G T E G R K R P S K Y Y D T C P E G X V A	300
	GGCCGGAGGGCGCGCACGGCCACCAAGTAGCTTGACTACTGCCCGGAGGCCAGGTGGC	320
	L K H S T G S L R B Q L <b>V F F F V L A E V T</b>	340
	CTCATCTCCAGGGCAGCTTGCCACAGCTGCCCGCTTGTGCTCTGCTCGCGGCTTC	360
	<b>E V V E T V S V I T E R S L K H M R T V X</b>	380
	CATOTCACTACAGCGCTGATCACCATAGCGCTAACGCCCTGCAATAGACATGGAA	400
hélice III	K V E T E T Y S L E T S T D F A N O P A R E	420
	AAATGGAGACAGACAGACCTCTCTGGATACCGTTGCCAATGTCCTTGACGGGTT	440
	R F T H Q T S F V X R H L G L S S T P G	460
	CGGTTCAAGCACCAGAGCTGTCGTCGAGGCCACCTGGGGCTCTCCAGCACCCCTGGC	480
	I R V V V A F F R O F F R S V T K V D T	500
	ATCTGATGGCTGGCTGGCTCTCTGACCGATCTTCAGCTTCAGTCAGTCACCAAGCTGGACTAC	520
	L T L R A G F I N H I L S O N A R S G D F	540
	CTGACCTGGGGCAGGCTTCATCACAGGCCATTGGTCGAAACAGCAAGTTCAGCTTC	560
	B K T I K R S M E D D F X <b>V V V B T S P R</b>	580
	CACAGATGATCTAGAGGTCTATGGAGGACGACCTTCAGGTTGTCGGCATACCTC	600
	<b>P Y V G Y A I L T L F L D T I N G V G C</b> <b>T A C T</b>	620
	CCGGCTGTCGGCTTGCGGATCTCTTCACCCCTCTTGTGACATCAATGGGTTGGCAAGCTC	640
hélice IV	<b>I W I S F I R E V I I I L C V E T X L S M</b>	660
	ATCTGGATTCTTCATCCCTCTGGTGTCTCTTCAGGTTGTCGGCATACCTGAGATG	680
	I I H E M H A L E I O D R A S V I K G A P	700
	ATCATCGAGAGATGGCCCTGGAGATTCCTGGAGACCTGAGCTTCAGGGCTTCAGGGGGCCC	720
	V V E P S F T F N M T H A P D V Y L F F	740
	GTGGTCGAGCCACACAACTCTCTGGTGTCTACCCGCCGCTGGCTCTCTTC	760
hélice V	I H L T L F O N A F O M A H F V W T V A	780
	ATACACCTTCAGCTTTCAGKACCGCTTCAGATGTCGCACTTGTGTCACAGTCGCC	800
	T P G L R K C T Y H T O I G L S I M X <b>V S V</b>	820
	ACGGGGGGCTTGAGAATCTACCAACCCACATCGGGCTGACCATCATGAGCTGAGATG	840
	<b>V S I I R A Q F I C S T M Y P L I T A T I S V V</b>	860
	GTGGGGCTACTCTTCAGCTTCCTGAGACTATAGACCTTCCCTCTGAGCTGCTTC	880
hélice VI	<b>I G M S H N X A X R A C A T E I F D E Q T S X A L</b>	900
	ACGAGATGGATCAAACATGAGCTCCATCTGGAGGACACCTCCAAAGGCCCTC	920
	T N V R N T A R E <b>E K K R V R D T D M L M</b>	940
	ACCACTGGCGGACACGGCCAGGAGAAGAAGAAGTCGGAGACACGGCATGCTTCATG	960
	A G M I G D A T P S R G S S P P H P S R G	980
	GTCTGAGATGATGGCTGGAGGCAACACCGAGCGAGGGCTCTCCCGATCCAGGGGGCC	1000
	S S P V H L I L H R G M H E R S D D D P O S A	1020
	TCATCACCGGGCTGACCTGCTTCAGAGGGCTTGCGGCTGGAGCAGCCCCAGAGGGC	1040
	P T S P R T Q Q E A R D H Y P V V V A E	1060
	CCGACCTGGCCAAGGCCAGCAGGGAGCTGGGACATGATACCGGCTTCTGGTGGCGCAC	1080
	P V H R L N P N D R R R S A S S S A L E	1100
	CGGGTGGCTGGAGCTAAATCTAACGACAGCAGGGAGCTGGCTCTCGTCGGCCCTCGAA	1120
	A D I P S R A D T F S T S Q G *	1140
	GGCGACATGCCAGCTGGAGATTTCTTCAGCCAGGGAGTCAGAGCAAGTTCTGCTATTC	1160
	TGTTAGCTCCAACTGATGCCAACATAGGATGTCATGATCTGCTACATGAGATACAT	1180
	TTTCTGCTACAT	1200

Figura 7

# ES 2 317 652 T3

1 GATTTCATT AAGGACAAAC AGGGATGATA GCGTTAACGT AGAGAGGATT  
51 CATATGGATT AATTAACGTG ATCTTAAGTTG AGGTAAACGT CTATCGATTG  
101 CTTTGGACAC CGGCTCTCCC ATCATCTGCC AAGTTGAGCC GGCCTACCTA  
151 ATTTTCTTGG AAAGCACACAC ACAAAACGAAG GAAACCACTA ATCTAGACAC  
201 CACCCCTTGG TTATCAATTG CTACCTAGT CTGGCGTAAA AACTTCATTC  
251 TTTATGGAGA GTGCTAGTAC TAGACTACTT AATATAATAG TAAGGACAA  
301 ACCCAAGGAGG ATGAGAAATGT ACCTCACTTA CGTAGTCAAT TAAGTCGAA  
351 AGGAAATCTT GAAACCTTAC TTTATTTAGG AAGTATTCGG CGAGGTACAG  
401 GAGAGGGAGAG CACGCCAATA ACTCCAGCAC TCCCTCCGAAA CCTTTCTCAC  
451 TCTCTACCTT TTTTCTCCAC ACACATTTAA TGATGTCATAA TGTATGAAAG  
501 TGAGTTGAGC TGTATTTGT TGTGTGTTG GAGTGAAAT TACGTCTATCC  
551 TTTTATAGCA ACATAATGGT CGGTGTAGG TTGCTTAATTA AGTCCGTTAA  
601 CACTCACAAAC CACCATCGTC AACCAATAGG AGATGGCCAC ATGATCGAA  
651 CCTGACAGTT AGGGGTGCCA ACCGTTTTT GTCCGAAACCA AGCAAGAAC  
701 CTCTATCTAG GACCTCTCTT CTATGCTGAA CAAGTCGGCC CATAATGCCG  
751 TGGCACTATGG ATTAAGTCAA TTCAGTCGT TTTGGACTGT CAGTGCGGC  
801 CTTCGAATCC TTGTGTCCCC ATATGATGG TCGAAAGTAC ATTTAATTC  
851 TGGGTGAGTG CTAGAACTAA TATGATAGAT GTCCTCCGGC TCCGGGAAA  
901 GAGGCCACTT GACATACTTG CGGTAGTCGC CCAGGGGTAT TCCCTATCGC  
951 TTTTTCATAA TTTTCTCTT CCAAAATCGG AGCGAAACAA TAAAGAGAG  
1001 AGGUGATGTT CATCGGCATA TATCTATTTT TTGGATAGTG TCTTCCTTA  
1051 AAGTTGATT TTGGGAGAAG CTTCGGGTA AAGCCATGAA ATCAGAGGTC  
1101 CTTCGAACAA ATTTAATTG CCTAAATACA AAGGAGATG AATGGGAGA  
1151 CCATTAAACT TCTTCATAC GAAATCATATT AGTTGGACCG TAACTCATAG  
1201 AAAAAGTTGC AAGTTGGTTG ACCATATCAC CCTCTTATGT TGACCGTAA  
1251 CCTTTTATGGTTT TTAAAGGATT AAGTACCGGC AGATGTCAC TAACTACGG  
1301 TGGCACAAATT TCCGGTAACG TAGGATGGGA TGAGTTGGTC AGAAACGGGT  
1351 CACCACTGCG CCCAACCTOC CGCGATCGAG CCATGGGGCC CGGTATGCAG  
1401 CGCTTTGACA CAGCGGGCGG CGGGGGGGGG GCGGGGGGGG GTTTTAATA  
1451 AAAACGGGCC GCGCCCTGTC AAAGGTGTCG AAGTGTCAAG TGCAATCAGAG  
1501 CTAACTTACG GGTCAACCCAG TGAGCTCACC CGAGAGACCA CGAGGGGATC  
1551 TATUGGATCA TGGCAGGTGG GAGATGGGA TGCGGGGAGT TCCCGGGAGAC  
1601 GCGGACCTGG CGCGTGGCGG TGGTGTGGCG CGTCCTCGTG CTGGCTCTCG  
1651 CGGGCATGGA CGAGGGCTC CAAACCTCA CGCATGTAAG CGGGGGGGCA  
1701 CGGGGTGTGG TCACTCTCTGG AGTTAAATTTC CTGGTTGGTG TTGGTTGTGTT  
1751 CTGGTGACAT CTCAATTAAAC ATGGATGTTG GGTGGATGAA TCCCGCTG  
1801 GTGGGGATAC TGTGTGCAATT CGAGTGTTG CGTAGGGGGC AGAGGAAGGC  
1851 CAGGGCGAC CGCGCTGACG AGTCGAAGG AGGTGACCCG CGCGCTGAC

Figura 8

# ES 2 317 652 T3

1901 TCACCCCTAG CCTCCCATCTC TAATATTTG ACGCCGTTGA CTTTTTTAAA  
 1951 TATGTTTGAC CATTGCTCTT ATTTAAGAAA TTTAAGTAAT TATTAATTCT  
 2001 TTTTCTACCA TTTGATTCTAT TGCTAAATAT ACTTATTATGT ATACATATAG  
 2051 TTTTACATAT TTCACAAAGG TTTCCTAAATA AGACGAATGG TCAAACATGT  
 2101 TTAAAAAAAGT CAACGGCOTC AACATTTAG GAAGAAGAGA ATTTTATATT  
 2151 GCTTGCTCCCC TCTAGCCACT TTGCTGCTC CCTCGTCATT TTTCAAGTA  
 2201 TTTTACCGAA GACTGGTCTT CCAAACTAAA CGTCACAAAT AAGCCATTAA  
 2251 TATGTTCTTT TCGCTTTTA AGGGGGACTA CTGTATTTA ATCATGGAGG  
 2301 AAACATACAG TCGGATGTC GATTACTTAA AAAAAATTTC GGGGGACTAA  
 2351 TTTTTTGGC TGATCATCGG TGAATATTA CGTTATATAT GTGAAAAAAA  
 2401 AATCAGCCAC AAACAAATGAA ATATTTGTCG AAACACATAT TAGACACGTT  
 2451 GAAACGTATC ATTTTACGT ATAAACATC GAATGTTAAC AGATTAAAAAC  
 2501 ATATGTTTTT TTTTAATCTAG AATATAATCA TCGTATATAT TATTGTAAC  
 2551 ATATAATTAC AACGAATACA ACAGTGGAT CGGATTATAT ATATATTAGT  
 2601 AGTTTAAGAG AAAAATCATT TTGAGGATTA CTAGATACAT ACACGTATAG  
 2651 ATGGATGAAG TCGACAGAGA TTAGAGATAA GTAGTTATAT GAATTTGTTG  
 2701 AAACACACIT AAAGACATATG TTCAAAACATA CTGCTTTAT GTATGAAATA  
 2751 TTGAGTTTA ACGGTTAAAC ACACATATTC TTTTAATTAG AATGTAATAA  
 2801 TGTGATATCT TGTGTTAAA TTTAATTACA TCTAATATAA CGGTGTGATT  
 2851 AGATTGTATG TTGGATAACA TGGCCATCGG TTGGCTTTAT TAGGGAATAA  
 2901 GCGAAATGGT ATATTTGCAA ACAGAAAAATA ATTTGTAAT AAACTTTTA  
 2951 TGTATGTATT CTAAACGATC TAGCAGCAA CGCTGAAAAA TAAACTTCGA  
 3001 TGAAAAATCT CAAAATCAAC TCTTAAAATT TAAATTTGG CTTATANGTA  
 3051 TAGTTCTAA CTAGTTAGA AGAAAAAAATA TTTAAACGGG GGAAGAGGAA  
 3101 AAGGAATAAA CTAATAGCTA AATTATTGCA TGCATGTCG GATTGAGGA  
 3151 CGACCGAGTT GTTTTGCTG GATCAGCGGA CGAGAGAGA GCAATCTCT  
 3201 TTAATCTAA ATAACCAGAA AAACCATACG AGTCATCAC AATGGACCGA  
 3251 GTCAGAGTCG TTACATTTT TTCAATTGTT CGCACAGGGAT TCACCATGTT  
 3301 CTTATGGAA ATATTTTTAA CTCTCAAATG GTTATGATTG TGAACCTCTA  
 3351 TTTTTGAGAG AGAATTAACA AGCGAGCGAG CAATCGGCC AAAAAGGGAG  
 3401 AAAGAAAAATT ATTTTTGTTA ATTTTTTTT AAGGTAGGGT GGAGGGACTCA  
 3451 TTACATGATT TTTTTTTATA TTCCCTCGTT GATTATATGC TGTTCAAATG  
 3501 GTTATGATT TTTTAAGA TAAACAAAT ACAATTAGT ATGTGTATAGA  
 3551 TCATTTCAAG AGCATATAAG ATTAAATTAA ACTTCCTGAA ATTACAAAAAC  
 3601 AAACAAAGTTT AACTGTTAAT ATACATTAAGA TTGTTTTTTT TCAACTTAAAG  
 3651 AATTGAATTT TATGTATATA TTGTTAAAT GATATATTA TTTATTTTTT  
 3701 TAAAAAAATA ATTATTTAGA TAACACOCAA ACTAGAAAAAC CACCGCAGAA  
 3751 GTTCTCATAT TTCTGTTCT ATCTGCACCTT GCAGAGCTGA TGCTGCTGGG  
 3801 CTTCATATCC CTGCTCTCA CGTGGCACA GGGCCCCATC TCCAAGATCT

Figura 8 (continuación)

# ES 2 317 652 T3

3851 GCATCCCCAA GTGGGGTGCC AACATCTTGT TCCCGTGCMA CGCAGGCCAA  
3901 GATGCGATCG AAGAAAGAAG CAGGAAGCTGG TCCCGCGTCC TTGGCGCGCG  
3951 CGGGCGGGCGG GGACTACTGC TCGAAATTGC ATGTGAGAAT AACACCGAGT  
4001 GCGGGCAAGC ACGACCTCGA TCGAAATAACT AATTTAACTA TAATGATTT  
4051 TTCTTGGGTT TTCTGCAGGG CAAAGTGGCG CTGATGTOGG CAAAGAGCAT  
4101 GCACCGCTG CACATTTCA TCTTGGTGCT CGCCGTCGTC CATTTACCT  
4151 ACTGCGATCAT CACCATGGT TTAGGGCGCT TCAGAAGTGAG TTTGGTGTTC  
4201 TGTCCCTCAT GCACATGTTT TCTCTAGTTC TAGCAAGATT GTCAGTCCTT  
4251 CAATGGATT GTTTCGACAA GAAACCCAAAT TTATTAATTT GCGCTAAAT  
4301 ATATAATAAT TGATCTTCT TGTTTITAGA TGAAGAAATG GAGAGAGTGG  
4351 GAGTCACAGA CGAACCTATT CGAGTATCAAG TTGGCAATCG GTAGTGAATT  
4401 AAGAACTCTCC CTAACTTATTG CATTTCAGAA CCTTTATGAT AATGCTTCA  
4451 AAGAGGAGGA GCGAAATCGC TGAAAATAT GATCGATCCA TGCAGATCCT  
4501 TCACCGATTCA GGTTCACCGA TCAGACGGCG TTGGTGAAGC GCGATCTGG  
4551 ATCATTCTCA AGCACCCCTG GGTCAGATG GATGTTGAGT TATCATCTC  
4601 CGAAATACATG CTGTTTTTTT ATTCTTGCAA CTGGCTAAAC TGTTCCTAATT  
4651 CAATCCATAT TTTTTGAAAAA AAAAAATATT CATGGCGTGT TTGGTTGTTAG  
4701 GTAGCATTCT TCAGGCACTT CTTGGGGTCC CGACCAAGG TGGACTACCT  
4751 GACCATGGG CAAAGCTTCA TCAATGATA TACTAATCAA ACCTGACCAA  
4801 TTCAACATTG ATGATGAAA CAGAGACCG GTTTTTTTTT TCGAGTGTGC  
4851 ATTGAGTAAT GGTPTTAGCT TCTTCTCTT TCGAGGGCGCA TTTGTCGGAG  
4901 AATAGCAACT CGCACTTCCA CAAATACATC AAGAGGCTTTG TGGAGGACCA  
4951 CTTCAAAACTT GTCTTGGCGA TCAGGTCCGT CCTGGCTTTA TTAATTATAG  
5001 GACTCTTATA TTCAACATTG TTTTTATAAA GAAACATATT TAGTCCTCAG  
5051 TTGTGTATGT CTATGTOGAT CTTGACACAT TTGGCTGGTT TTGGAGGCTC  
5101 CCTCTGTGGT TCGTGGAAAT CCTTGACTC TTCTCGATA TCCACGGTAA  
5151 TCCCTGTCTT ATTCACTTCT TTTTTTACT CTCAAAACCT TGTCTGAAAT  
5201 TGGCTTTATA ATCACCATCG ATTTTTTTCC AACCTTTTCC CGCGGTGTAG  
5251 GTCTTGGCAC ACTTATTGG ATCTCTTTG TTCTCTCTAT CGTAAGAGCG  
5301 AATTTTCCT GTCCAAAGAA ACAGTTAACAA TAAATTAATT TCCCTTAATT  
5351 TATCATGAAA ATTAAATATGA TCAATATACT AATGAACAAA CATTCACTG  
5401 AATGCCACCG TTGTCTCAGA TCCCTTTGTT ACTTGGGAGCC AAGCTAGAGA  
5451 TGGTGATCAT GGAGATGGCC CAAAGAGATAC AGGACAGGGC CACTGTGATC  
5501 CAGGGAGGAC CTATGGTGA ACCAAGCAAC AAGTACTTCT GTTCAACCG  
5551 CCCTGACTGG GTCTTGGTCT TCAATACACCT GACACTCTTC CATGTACATG  
5601 TTTAAACCT AACCTTTGCT GCTCAACTAC AATAGTACTT TTATCTTCA  
5651 CAATTAACAC CTAAATTAACT AACATAGCAT CCATCCATTG GTGGCTACTG  
5701 ATGGATGGGA CGACGGATCG ATCATCACCA GAAACGATTT CAGATGGCG  
5751 ATTTGGTATG GACTATGGTG TGTATGCTAC TTGCTTAGTT GTTGCCTTA

Figura 8 (continuación)

# ES 2 317 652 T3

5801 TCAGTTCTTA AGCAATTAA GTGTGATGCA TGCACGTGACT AATGAGACAA  
5851 AAAATGACAC AGCTTGTCTA TCGATCTGGT TGTGTTGTGT GTGACAGGCA  
5901 ACACCTGGTC TGAAGAAATG CTTCCATGAA AATATTTGGC TGAGCAGTGT  
5951 GGUACTCATT GTGGGGATCT CTCTTCAGGT GCTATOCAGC TACATCACCT  
6001 TCCCGCTCTA CGCGCTCGTC ACACAGGTGA ACAGCCATT CACAAATTCT  
6051 ATTAGCCGTT TCTTAATTGA TGACACTGTT AATTTTTAGA CACACGTTTT  
6101 GACCATTTGT CTATTAAAAA ATATTTATGT AATTATCATT TGAGTTGTTT  
6151 TATCACTAAA AGTACTTTTT AATAAATTAA TATTTTGAT TTGTACATT  
6201 CTTTTAATAA GATAATGGTC AAACATGTGT CCAAAAGTTA ACAGCATCAT  
6251 CTATTAAGAA AAGGAGGGGT TTTTTTTTTT TGGAAATTTTG CAAAATTTCT  
6301 TCAAAATCAG TCCAAAACCT TTTTTTTTTT CGAAATTCA GTTTCACTAAC  
6351 CAGTCCCCAT AAAATGTCTT TCTTTTATTT CCACAAAGATT GAACCCATGA  
6401 GATGCCCTT GTGPTGCTAT GTGTTTGGCC CATCACTTGC AGATGGGATC  
6451 GACATGAAG AAGACAAATT TCCACGGAGCA AACGATGAAG GCGCTGATCA  
6501 ACTGGAGGAA GAAGGCCATG GAGAAGAAGA AGGTCCGGGA CCCCCACGCG  
6551 TTCCCTGGGC AGATGAGCGT CGACTTCGG ACGCCGGCGT CGAGCCGGTC  
6601 CGCGTGGCCC GTGCCACCTGC TCGAGGTCAAC AGGGCGGGTC GGAGGCCCGC  
6651 CGAGCCCCAT CACGCTGGCC TCAACCACCG CACCGGAGGG GACATGTACC  
6701 CGGTGCCCCC GGGCGCTGCG TCTGCCAGC TGCTAGACCA CGCGCGGGAC  
6751 AGGAGGTGGA TGGCATCCTC GTCGGCCGAC ATCGCCGATT CTGATTTTTC  
6801 CTTCAAGCCGA CAACGGATGAC GGGGGCGATC GGTTCCTGTA TTGATGCTGT  
6851 ACCAAACATA GGACTTTAAAT ATATATATAA TTGTTACGGT AARATCTAAT  
6901 TATIGTGGC GCACPTTATAT TAGTCTTATA GCGCGACTGG TTGCGTATTA  
6951 GACAAGGTGA TGCATGCTGT TTACTTATAA AGGATATCAG CGCAGCTAAA  
7001 AAAACTTACT CCCTACTTAA TAGTGACCT CGTTGATTTT TAACATTATT  
7051 CGTMTTATTT AAAAATTTA TCGAAATGTT TAAACATAA ATCATGCTTA  
7101 AAGTACTTTT AGTGATAAAA CAACTTACAA CAAATAAAAT TATAGTTACC  
7151 TAATTTTTTT TAATTAATCG AATCC

**Figura 8 (continuación)**

# ES 2 317 652 T3

1 TTATACCATG TGAGAAAGGC TGGAGGCATA TGCTCTTACG AGGGACGGCGT  
51 GCATGTTTAT ATAGGAGGCA TAAGCCGAAG AGATATACAT GAGGAGAGGT  
101 TTAAGATCAG TCTATCTTAT TTACAGTTTA AACACAAGGA GATAGAAAGA  
151 GATCCTAACCA ACCACATGTT ATACAACTCA CGTATAATAC AAGAGTTATT  
201 TCGCTCTAACCA CCCTCCCTC TGATATGATA AGTCGCCGGG AGAGAGAGAG  
251 AGTGTGTGCG TGGCCTCGCT GCACCTGCACG CACATGTTTA CTTCTCCGAC  
301 TGAAACACACG GTGAAACCGG CGGGGGTGTG GCACCTCCCT GACTTTCTC  
351 GCGCGGGTCC CGTCGGACAA ATTAAACCGT CTGTACCTGC CGGGCGTCGA  
401 CGCGATCGTG ATGTGGCGCC GCTTTGTCTG CAGCGAGCTG CGTGGCCCGAT  
451 GCGAACAAAAT CGCGGTCAC ATACATGCAT ACCCGGATA CGCCGACGCT  
501 CAACAGTAAG TAGGCTGTGG TGCAGCACCA CGGGCTCGCC GCGATTACATG  
551 CCATGCATGG GCGACCCGCC CGCGAAACCG CGCGCTGCT GCCTGCCACC  
601 CGCGCGCGT TGACGAAGAC TTGCGCCCGC CATCCATAAA AGCATGCATG  
651 GCTTGCTCTC ACCCGTCCGG CCACACACAC CACACTTCAC TTGCGCCATT  
701 GCACCAACGA GAGCGTAGCG TAACGTGTGT TTGAAGTCCT ACCATTAATT  
751 TTGCTGGATC GATGGCTUGG CGCGCGGGAG GTGGGGAGCT GTGGGACACG  
801 CGGACGTTGGG CGGTGGCGGT AGTCTGGGCC GTCATGATAC TCGTCTCCGT  
851 CGCCATGGAG CACCGCTCC ACAAGCTCGG CCACGTAACG GCTCTCGGTT  
901 CACTAGTGCT TAATGTTTT TGATGTTTTC GGGCGTGTGTT GGTAGCCCTGC  
951 ATGGGAGAGTG TATGAGCCCA AAAGTTCCCT CGCGACCCCA CTTTCTCGCTG  
1001 TTTGGTAGGG TGTATGGGT GAGGAGAGCA TGCATCAACT GATGAAAAAA  
1051 CGGCCTCAGC ATAGCTGAGC CCAGCACCCCC CGCAGAGGCG AGCTGAAGGCG  
1101 AGTTATGCTG AGCCCATGCA CCTCGCCCGT CGCGCGCGT CGCCCGCGT  
1151 CTCCCCCCCCCT GCACCTCTTC CTCCCTCCCTC TTGCGACCAA ACACAGTCCTC  
1201 ATCCAAACAT GTAAACAAACAC ATGCATGACCC ACCAAACAAAC TGAAGATGAA  
1251 TGTATTCATC ATGCTATAC TTACCATGCA TCAACAGGGA ACAACTATGC  
1301 TAGGGTGAGA ACAGCTGCCA AACACACCG TGACCTACT CATGCTGTGC  
1351 CGGGCGCTGGC GTACGTGTGC AGTGGTTCA CGAGTGGCGC AAGAAGGCCCC  
1401 TGGGGGAGGC GCTGGAGAG ATGAAGGGGG AGCTCATGCT GGTGGGCTTC  
1451 ATATCCCTGC TCCCATCGT CACCGAGGAT CGCGCTCCCA GGATCTGCAT  
1501 CTCCAAGGGG CGCCGGGAGA AGATGCTCCC GTGCAAGGCT TACGACGGCG  
1551 CGGGCGGTGG CAAAGGCAAG GACAATCACC CGAGGCTCTC CTGGCTCCAA  
1601 CGCGAGAGGG AGACCCACCG CGGGTTCCTG GCTGGCCCGG CGGGAGTGGGA  
1651 CGTCTGGGCC AACACAGGTGA GCACCTAGCG TGGCCACAAA CCACAAACTA  
1701 GCTAATGAGC ATGGACCTGA ATTCTCTCTC TTCTTGGCTT GGCTTGACTA  
1751 AATTGGTTGT CGAGGGCAAG GTGGCGCTGA TGTCAAGGGG AAGCATGCAC  
1801 CAACTGCACA TATTCACTTT CGTGTCTCGCC GTCTTCCACG TCTTGTACAG  
1851 CGTGTGTCACC ATGACCCCTAA CGCGCTCTCAA AGTGTGACATC ATACTCGAGC

Figura 9

1901 TGTTTGTCAA TAATCCTTGG TTTCCAATCC AATTCRAAG CTGGCACTGA  
 1951 TCCTGCTCCG GCTTCCFGCA GATGAAGCMA TGGAAAGAAGT GGGAGTCGGA  
 2001 GACCCCTCG CTGGAGTATC AGTTGGCAA TGGTCAGCTT CAACCTTTCT  
 2051 TACTGAAACC GGATGCAATT ACACACAAAG CACCGACGAT CAATCATCAC  
 2101 AGTGTGAGCC GATACGTTGA ACCGATTGAA TCCTCGCAGA TCCATCGCGG  
 2151 TGCCGGTTCA CGCACCCAGAC GACGTTGGTG AGGCGGCACC TGGGCTCTC  
 2201 CAGCACCCCC GGCAGTCAGAT GGGTGGTGGC CTTCCTTCAGG CAGTTCCTCA  
 2251 CGTCGGTGAC CAAAGTGGAC TACCTGACCT TGCGGCAGGG CTTCATCAAC  
 2301 GCGCATCTCT CGCAGGGCAA CAGGTTGAC TTCCACAAAGT ACATCAAGAG  
 2351 GTCTTGGAG GACGACTTCA AAGTGTGCTG CGCGCATCAGG TACGGCGCAT  
 2401 TCCTTCTCT GCACAAATTAA ATACATCCAC CACCACATAG GTAGATAGAT  
 2451 AGATCGATAG ATAGATTATA CAAGTGCAGG TACGTACGTA CGTCTCATAT  
 2501 GATCTTGACA CATCTGTCTT CTTCGGCAG TCTCAAGCTC TGGTTCGTGC  
 2551 CGGTCTCAT CCTCTTCCTT GATTTGACG GTAGCCGCTT TGTCCATGCC  
 2601 CTGCTGCCC TCTCTCCGC TTCTCTCCAT AATTGTGAA CTTGTCCCCGT  
 2651 ATATAACCAAC ACCACCGTCG TCTTCGCA GGGATGGCA CTCTTCTCTG  
 2701 GATGTCCTG GTTCTCTCG TGGTAAGTCC ACAATTGAA TAGACAAACCT  
 2751 GTCCAATTTGAT GATGTAACAGT ACCTCCAAAC TTAATTAAACA TGTCAATTGC  
 2801 TGATGTCCTG CGTGTAAACAT TAGATCTCT TGTGGTTGG GACCAAGCTG  
 2851 GAGAAGTGA TCATGGAGAT GGGCCAGGAG ATCCATGACC GGGAGAGGCT  
 2901 CGTCRAGGGT GCTCCCGCCG TCGAGOOCAG CAACAAGTAC TTCTGGTICA  
 2951 ACCGGCTGCA CTGGGTCTC TTCTCATGC ACCTCACACT CTTCAGAAC  
 3001 GCGTTTCAGA TGGCTCATTT CGTGTGGACA GTGGTACGTA CAAGTACTTG  
 3051 TCACTTCACT TAGGCTAACT CCAACAAACG ACCCCAAATT AATGGTCCGT  
 3101 CGCGTCTGTT TGGGTATGT TGGGGTAAA CGGACACAAA ACTCAATCCA  
 3151 ACGCGCGGTG GCAAACGAAC GTTTTCCGT ACGTTTTCTG CGCGTTTCTG  
 3201 CCCATCCCAG CCCAAATTG TGTACGTTGT TGCATCGCAG GCCACGCCCG  
 3251 GCTTGAAGAA ATGCTACAC GAGAAAATGG CAATGAGCAT CGCCAAGGTC  
 3301 GTGCTGGGG TAGCCGCCA GATCTTGTC AGCTACATCA CCTTCCCGCT  
 3351 CTACCGCCTC GTCACGCAGA TGGGCTACA CATGAAGAGA AGCATCTCG  
 3401 ACGAGCAGAC GGCCAAAGGCG CTGACCAACT GGCGAAAGAT GGCCAAAGGAG  
 3451 AAGAAGAAGG CCCGAGACGC GGCCATGCTG ATGGCGCAGA TGGCGGGCG  
 3501 CGCGACGCCG AGCGTCGGCT CGTCGCCGGT GCACCTGCTC CACAAGGCCG  
 3551 GGGGGCGGTG CGACGACCCC CAGAGCGTGC CGGCCTCCCC GAGGGCGGAG  
 3601 AAGGAAGGCG GCGCGTGC GCAATCCGGCG CGCAAGGTAC CTCCCTGTGA  
 3651 CGGGTGGAGG TCGGCTCGT CGCGGGCGT CGACGCTCAC ATCCCCGGTG  
 3701 CAGATTITGG CTTCAGCAGG CAACGTTGAC CGATCAGACA AGTTCTTTT  
 3751 TTTTTGGTGA AATAGAAGGCG TATCATTTCAGA TGTGATAGACA CTAGAAATTAA  
 3801 CAGGAATGGC TGTGCTACTA CTATGTACAC AAGGGCACAG CAAAGGATCA

Figura 9 (continuación)

3851 TTGATCTTGT TACAAGAGCA GTAGAAAGGG ATTGGCTCTCC ATTGATCTTG  
3901 TTAAGTTGTA TGTCAACAAAT TGTTCGCAGAA AAAAGTGTAT GTCATCCCA  
3951 CCANAGAGCTG AGTTTGTGAT GATTCGTGCA ATAAGAATTG CAAGTTTCAC  
4001 CGAGTCAAAAA ATGAAAGCTTC TAAAGTACCCG CCANOCMAGG GACTCTTTCA  
4051 TGTCAACAAAGAAGCTGTAA ATGGCAATAA TTCTTGATAAC ATCGGAAGGG  
4101 AGCTC

**Figura 9 (continuación)**

# ES 2 317 652 T3

1 ATGGCAGGTG GGAGATCGG: ATCCCGGGAG: TTGGCGGAGA CGCCCGACGTG  
51 GGCGGTGGGC GTCCTCTCGG CGCTCTCTGT CCTGCTCTCC GCGCCCATGG  
101 AGCHACGGCT CCACACACTC ACCCTAAAAA CCACCGGAGA AGTTCTGATA  
151 TTTCCTTGTCG TATCTCCACT TGCAGAGCTG ATGCTGCTGG CCTTCATATC  
201 CCTGCTCTC ACCGTTGGAC AGGGGGCGAT CTCCANGATC TGCATCCCGA  
251 AGTCGGCTGC CACATCTTG TTGCGGTGCA AGCCAGGCCA AGATGCCATC  
301 GAAAGAAGG CAGCAGTGG TGCCTCGTC TTGGCCGGCG CGGGGGGGGG  
351 GGACTACTGC TCGAAATTGG ATGGCAAGGT GGCGCTGATG TCGGCAAGA  
401 GCATCCACCA CCTCCACATT TCCATCTTCG TGCCTGCCGT GTTCCATGTT  
451 ACCTACTCCA TCATCACCAT CGCTTTAGGG CGCCCTAAAAA TGAAACATG  
501 GAAAGAAGTGG GACTCACAGA CCACCTATT GGAGTATCAG TTGCGCAATG  
551 ATCCCTTCAAG ATTCAAGGTTC AGCGATCAGA CGTCCTTCGT GAAACGGCAT  
601 CTOGGATCAT TCTCANGAC CCTCGGGCTC AGATGGATCG TAGCATTCTT  
651 CAGGCAATT TTGGGCTGG TCACTGGTGG GGACTACCTG ACCATGGCGC  
701 AAGGCTTCAT CAATGGCGAT TTGTCGAGA ATAGCAAGTT CGACTTCAC  
751 AAATACATCA AGAGGTCTTT CGAGGACGAC TTCAAAAGTTG TCGTTCGGAT  
801 CAGGCTCTCT CTGTCGTTTCG TCGGAACTCT TGTACTCTTC CTGGATATCC  
851 ACGGTCTTGG CACACTTATT TGGATCTCTT TTGTTCTCTT CTCATCTTC  
901 TTGTTAGTTG CGACCAAGGT AGAGATGGTG ATCATGGAGA TGGCCCGAGA  
951 GATAACGGAC AGGGCCACTG TGAACGGGG ACCACCTATG GTTGAAACCAA  
1001 GCAACACATA CTTCCTGGTTC AACCGCCCTG ACTGGGTCTT CTTCCTTCATA  
1051 CACCTGACAC TCTTCATAA CGCAATTCAAG ATGGCGATT TCGTATGGAC  
1101 TATGGCAACA CCTGGTCTGA AGAAATGGCTT CCTGAAATT ATTTCCTGAA  
1151 GCAACGGTGG AGTCATTGGG GGGATCTCTC TTCAAGGTGGT ATGCAAGCTAC  
1201 ATCACCTTCC CGCTCTACGG CCTCTCTACA CAGATGGGT CGAACATGAA  
1251 GAAAGCAATT TTGGAGGGAGC AACAGATGAA CGGGCTGGATG AACCTGGAGA  
1301 AGAAGGGAT GGGAGAAGG AACGGTGGGGG AGGGGGGGCC CTTCCTGGGG  
1351 CAGATGGGG TCGACCTTGGC GGGGGGGGG TGGAGGGGGT CGGGCTGGCC  
1401 CCTGCACTTG CTGCAAGGTCA CAGGGGGGGT CGGGGGGGG CGGAGGGCAA  
1451 TCAACGTTGGC CTCACCAACCG GCGACGGAGG AGGACATGTA CGGGGTGGGG  
1501 GCGGCGGGCTG CGCTCTGGCGA GCTGCTAGAC GACGGGGGGG ACAGGGAGGT  
1551 GATGGCAATC TCGTCGGGGG AGATGGGGGA TTCTGATTTT TCGCTTCAAGGG  
1601 CACAAACGGTGA A

Figura 10

# ES 2 317 652 T3

1 ATGCGCTGGGC CGGGGGGAGG TCGGGACGTC TCGGACACGC CGACGCTGGC  
51 GGTGGCGGTA GTCGCGCCCG TCATGATACT CGTCCTCGTC GCCATGGAGC  
101 AGCGCGCTCCA CAAAGCTGGGC CACTCGTTCC ACAGCTGGCG CAGAGAGGCC  
151 CTGGGGGAGG CGCTGGAGAA GATGAAGGCC GAGCTCATGC TGGTGGGCTT  
201 CATATCCCTG CTCCCTCATCG TCACCGAGGA TCCCGCTCC AGGATCTGCA  
251 TCTCCAAAGA GGCGGGCGAG AAGATGCTCC CGTGCAGGCC TTACGAGGCG  
301 GCCGGGGGTG GCAAGGCAGA GGACAAATAC CGGAGGGCTTC TCTGGCTCCA  
351 AGGGGAGAGC GAGACCCACC GGCGGTTCT GGCTGCCCCG GCGGAGCTG  
401 ACGTCTGGGC CAAACAGGCC AAGGTGGCGC TGATGTCAGC GCGAACGATG  
451 CACCAACTGC ACATATTCAT CTTCGTCCTC GGCGTCTTCC ACGTCCTGTA  
501 CAGCGCTGGTC ACCATGACCC TAAGCGCTCT CAAATGAGG CANTGGAAAGA  
551 ACTGGGGAGTC GGAGACCGCC TCGCTGGACT ATCAGTTGCG CANTGATCCA  
601 TCGCGGTGCC CGTCACCGCA CGAGAGGAGG TGGGTGAGGC GGCACCTGGG  
651 CCTCTCCAGC ACCCCCCGGCG TCAGATEGGT GGTCGGCTTC TTCAGGGACT  
701 TCTTCACGTC GGTGACCAAG GTGGAATACCC TGACCTTGGC GCAGGGCTTC  
751 ATCAACGGCC ATCTCTCGCA CGGCAACAGG TTGCACTTCC ACAGATACAT  
801 CAAAGGGTCG TGGAGGAGC AGCTCAAGT CGTCGTCCGC ATCAGTCCTA  
851 AGCTCTGGT CGTGGGGCTC CTCACTCTCT TCTTGTGATT CGACGGGATC  
901 CGCACTCTTC TCTGGATGTC CGTGGTCTCT CTCGTGTATCC TCTTGTGGT  
951 TGGGACCAAG CTGGAGATGG TGATCAGGAA GATGGCCCG GAGATCCATG  
1001 ACCGGGAGAG CGTCGTCAAG GTGGTCTCCG CGTCGAGGC CAGCAACANG  
1051 TACTTCCTGGT TCAACCGGCC TGACTGGCTC CTCTTCTCTA TGACCTCTAC  
1101 ACTCTTCAG AAGCGGTTTC AGATGGCTCA TTTCTGTGG ACAGTOGCA  
1151 CGCGCGGTTT CGAGAAATGC TACCAAGGAA AAATGCCAAT GAGCAGCGCC  
1201 AAGGTCCTTC TGGGGGTAGC CGCCCAAGATC TGGGGCAGCT ACATCACCTT  
1251 CGCGCTCTAC CGCGCTGGTC CGAGAGATGG CTCAACACATC AAGAGAGAGA  
1301 TCTTCACGCA CGAGACGCC AAGGGGCTGA CCACCTGGG AAAGATGGCC  
1351 AAGGAGAAGA AGAAGGGCCG AGAGGGGCC ATGCTGTGG CGCGAGATGGG  
1401 CGGGGGGGCG AGGGGGAGCG TCGGCTGTC CGCGGTCCAC CTGGCTCCAGA  
1451 AGGGCGGGGC CGCGTCCGAC GACCCCCAGA CGTGTGGCGC GTCCCCGAGG  
1501 CGCGAGAGAG AAGGGGGGCC CGTCAGGAT CGCGCGGCCA AGGTACCTCC  
1551 TTGTGAGGGC TGGAGGTCCC CCTCTCTGCC CGCGCTCGAC GTCACATCC  
1601 CGCGCTGAGA TTTTCGCTTC AGGACGGCAAC GTTCA

Figura 11

# ES 2 317 652 T3

1       GTTGGTACAT AAAAGACTCT TCCTTTGTCT GTTTTTGTT CCCAGATTCA  
 51      TCTTTACTTA TTGACTAATT TCTCTCTGGT GTGAGAAGTA AAATGGGTCA  
 101     CGGAGGAGAA GGGATGTGCG TTGAATTACAC TCGGACGTGG GTCGTCGCCG  
 151     GAGTTTGAC GGTCACTCGC GCGATTTCAC TGGGGGTGGA GCGTTTGCTT  
 201     CACTATTTCG GTACTGTTCT TAAGAAGAAG AAGCAAAAC CCCTTACGA  
 251     AGCCCTCAA AAGGTTAAAG AAGAGCTGAT GTTGGTAGGG TTTATATCGC  
 301     TGTTACTGAC GGTATTCCAA GGGCTCATTT CCAAATTCTG TGTGAAAGAA  
 351     AATGTGCTTA TGCATATGCT TCCATGTTCT CTCGATTCAA GACGAGAACG  
 401     TGGGGCAAGT AACACAAAAA ACGTTACAGC AAAAGAACAT TTTCAGACTT  
 451     TTTTACCTAT TGTTGGAACC ACTAGGGCCTC TACTGCTGA ACATGCTGCT  
 501     GTGCAAGTTG GTTACTGTAG CGAAAAGGTT AAAGTACCAT TGCTTTCGCT  
 551     TGAGGCATTG CACCATCTAC ATATTTCTAT CTCGTCCTC GCCATATCCC  
 601     ATGTGACATT CTGTGTCCTT ACCGTGATTT TTGGAAGCAC AAGGATTAC  
 651     CAATGGAAGA AATGGGAGGA TTGATCGCA GATGAGAAGT TTGACCCCCGA  
 701     AACAGCTCTC AGGAAAGAA GGGTCACTCA TGTACACAAAC CATGCTTTA  
 751     TTAAAGAGCA TTTCTTGGT ATTGGCAAAG ATTCACTCAT CCTGGATGG  
 801     ACGCAATCCT TTCTCAAGCA ATTCTATGAT TCTGTGACGA AATCAGATTA  
 851     CGTGACTTTA CGTCTTGGTT TCATTATGAC ACATGTAAAG GGAAACCCCA  
 901     AGCTTAATT CCACAAAGTAT ATGATGCCCG CTCTAGAGGA TGATTTCAAA  
 951     CAAGTTGTTG GTATTAGTTG GTATCTTGG ATCTTTGTCG TCATCTTTT  
 1001    GCTGCTAAAT GTTAACGGAT GGCACACATA TTTCTGGATA GCATTTATT  
 1051    CCTTTGCTTT GCTCTTGGCT GTGGGAACAA AGTGGAGCA TGTGATTGCA  
 1101    CAGTTAGCTC ATGAAAGTTGC AGAGAAACAT GTAGCCATTG AAGGAGACTT  
 1151    AGTGGTGAAA CCCTCAGATG AGCATTTCTG GTTCACACAA CCTCAAATT  
 1201    TTCTCTACTT GATCCATTTC ATCCTCTTCC AGAATGTTTG TGAGATTGCG  
 1251    TTTTTCTTTT GGATTTGGGT TACATACGGC TTGACTCGT GCATTATGGG  
 1301    ACAGGTGAGA TACATTGTT CAAGATTGGT TATCGGGGTC TTCAATTCAAG  
 1351    TGCTTGCAG TTACAGTACA CTGCCCTCTT ACGCCATCGT CTCACAGATG  
 1401    GGAAGTACCT TCAAGAAAGC TATATTGAG GAGAATGTGC AGGTTGGTCT  
 1451    TGTGTTGTTG GCACAGAAAG TGAAACAAAA GAGAGACCTA AAAGCTGCAG  
 1501    CTAGTAATGG AGACGAAGGA AGCTCTCAGG CTGGCTCTGG TCCTGATTCT  
 1551    GGTTCTGGTT CTGCTCTGTC TGCTGGTCCT GGTGCAGGTT TTGCAGGAAT  
 1601    TCAGCTCAGC AGAGTAACAA GAAACAAACG AGGGGACACAA AACAAATGAGA  
 1651    TTACACCTGA TCATAACAAC TGAGCAGAGA TATTATCTTT TCCMTTACA  
 1701    GGATCATCAT CAGATTGGTAG CTTCAGGGTC CGGTTTTGTG GTTTATACAT  
 1751    AAGTTATAGT GACTTGATTT TTGTTGTTG TTACAAAGTT ACCATCTTGTG  
 1801    GATTAGAATT GGGAAATTGA ATCTGTTGT ATATTGTATT ATTTGGAAACA  
 1851    TTGTGGATGC CCATGGATAT GTTCTGTTTC

Figura 12

ES 2 317 652 T3

1 MAGGRSGSRE LPETPTWAVA VVCAVLVLVS AAMEHGLHNL SHKTTAEVLI  
51 FLVLSALAEI MLLGFISLLL TVAQAPISKI CIPKSAANIL LPCXAGQDAI  
101 EEEAASGRRS LAGAGGGDYC SKPDGKVALM SAKSMHQLHI FIFVLAVPHV  
151 TYCIITMGLG RLEMKKKKW ESQINSLEYQ FAIDPSRFRF THQTSFVKRM  
201 LGSFSSTPGL RWIVAFFRQF FGSVTKVVDYL TMROGPINAH LSQNSKFDFH  
251 KYIKRSLEDD FKVVVGISLP LMFGVILVLF LDINGLGTLL WISFVPLIIV  
301 LLVGTKLEMV IMEMAOEIQD RATVIQGAPM VEPNSNKFYFWF NRPDWVLFFI  
351 HLTLPQNAFO MAHFVWTMAT PGLKKCPHEN IWLSIVEVIV GISLQVLCSY  
401 ITFPLYALVT QMGSNMKXTI FEEQTMKALM NWRKXUAMEKK KVRDADAFLA  
451 QMSVDFATPA SSRSASPVHL LQVTGRVGRP PSPITVASPP APEEDMYPVP  
501 AAAASRQLLD DPPDERRWMA\$ SSADIADSD\$ SFSAQR\*

Figura 13

1 MAGPAGGREL SDTPTWAVAV VCAVMILVSV JMEHALHKLG HWFHKWRIKKA  
51 LGEALEKXKKA EMLMLVGFISL LLIVTQDPVS RICISKEAGE KMLPCKFYDG  
101 AGGGKKGKDNH RRLILWLOGES ETHRRFLAAP AGVDVCAKQG KVALMSAGSM  
151 HQLHIFIFVLP AVFHVLYSVV TMTL5RLXMK QWKKWESETA SLEYOFANDP  
201 SRCRFTHQTT LVRRHGLSS TPGVRWVVAF FROFFTSVTK VDYLTLRQGF  
251 INAHLSQGQR FDFHKKYIKRS LEDDFKVVVR ISLKLWVFVAV LILFLDFDGI  
301 GTLLWMSVVP LVILLWVGTK LEMVIMEMAQ EIHDRESVVK GAPAVEPSNK  
351 YFWFNRPDWV LFLMHLTLFQ NAFQMAHFVN TVATPGLKKC YHEXMAMSIA  
401 KVVLGVAAQI LCSYITFFPLY ALVTQMGSHM KRSIFDEQTA KALTINWRKMA  
451 KEKKKARDAA MLMAQMGGGA TPSVGSSPVH LLHKAGARSQ DPQSVPASPR  
501 AEKEGGGVQH PARKVPPCDG WRSASSPAID AHIPGADPGF STOR\*

Figura 14

1 MCHQGEGMSL EPTPTWVWAG VCTVIVAIISL AVERLLHNYFG TVLKKKKKOP  
51 LYEALQKVKXE ELMLLCFLSL LLTVFQGLIS KFCVKENVLM HMLPCSLDSR  
101 REAGASEHKN VTAKEHFQTPP LPTVCTPTRLA EEEAAVQVG YCSEKGRVPL  
151 LSLEALHHRH IFIFVLAISH VTFCVIATWIF GSTRTHQWKK WEDSIADEKF  
201 DPETALRUDL VTHVHHHAFI KEHFLGIGKD SVILQNTQSF LXQFYDSVTK  
251 SDYVTLRLGF IMTHCKGNPK LNFHICMMRA LEDDOPKQVVG ISWYLWIPVV  
301 IFLLLNNUNCW HTYFWZAFIP FALLLAUGTK LEHVTIAQIAH EVAEHHVATR  
351 GDLVVKPSDE HFWPSKPQIV LYLIKEYLQ NAPETIAPEFW IWVTYGFDSC  
401 IMGQVRYTIVP RLVIGVFIQV LCSYSTLPIX AIVSQMGSSP KXAIILEDNVQ  
451 VGLVVGNAQKV KQKRDIAAAA SNGDEGSSQA GPGPDSCGSGS APANGPGUQF  
501 AGIQLSRVTR NNAGDTNNEI TPQHNN\*

Figura 15

# ES 2 317 652 T3

Româo-HI	RAGPAG - GH	ELSDPTPWA	AVVCAVNUVLY	EVANEHALHX	LGHWPHHWK	KAGGEALEKH
Mlo	NEDKKGVPAR	SEPETPPWA	AVVCAVNUVLY	SVNEHOLHX	LOHWFQHKK	KALWEALEKH
Ombrão-Hin	WAGGEGSR	SEPETPPWA	AVVCAVNUVLY	SARHEOLHX	LOHWFQHKK	EULIFIEUSA
Atende-HI	WORHGDOR	SEZPTPWA	AVVCAVNUVLY	SLAMEROLHX	LOZVLEKKO	KPEVEAOKV
Consenso	W - E - A	EL - - TPTWA	AVVCAVNUVLY	S - AHEH - LH -	LGW - - - -	W - EAL - K -
Româo-HI	KAEHLVGF1	SLLELNTGDP	WISCHICISKE	KEPYDAGG	ENGKDNHHRRL	
Mlo	KAEEHLVGF1	SLLELNTGDP	WISCHICISKE	AGBKHLPCL	ERGTGEGRKPS	
Ombrão-Hin	KAEEHLVGF2	SLLELNTGDP	WISCHICISKE	AGBKHLPCL	ERGTGEGRKPS	
Atende-HI	KEEHLVGF1	SLLELNTGDP	WISCHICISKE	AGBKHLPCL	ERGTGEGRKPS	
Consenso	KEEHLVGF1	SLLELNTGDP	WISCHICISKE	AGBKHLPCL	ERGTGEGRKPS	
Româo-HI	LYLQGEGSHT	RKPLAIPAGV	DV - CAK - OGK	VALNSAGSH	VPHVLYSYVIT	
Mlo	LYLQGEGSHT	RKPLAIPAGV	DV - CAK - OGK	VALNSTGELH	QLNHIFPVL	
Ombrão-Hin	LYLQGEGSHT	RKPLAIPAGV	DV - CAK - OGK	VALNSTGELH	QLNHIFPVL	
Atende-HI	QYPLPIVOT	RKPLAIPAGV	DV - CAK - OGK	VALNSTGELH	QLNHIFPVL	
Consenso	QYPLPIVOT	RKPLAIPAGV	DV - CAK - OGK	VALNSTGELH	QLNHIFPVL	
Româo-HI	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Mlo	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Ombrão-Hin	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Atende-HI	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Consenso	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Româo-HI	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Mlo	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Ombrão-Hin	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Atende-HI	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Consenso	WTELSRKKQ	WKKWSESETAS	LEYCFAKDP	RCRFT - -	ESTPQV - RWV	
Româo-HI	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Mlo	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Ombrão-Hin	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Atende-HI	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Consenso	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Româo-HI	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Mlo	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Ombrão-Hin	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Atende-HI	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Consenso	WAPPFOPETS	VTKVDYLTBR	QFENAHLSQ	QNFEDPHX	YVBLISLKLW	
Româo-HI	WAVVLELDF	WVFLVLLWV	VVFLVLLWV	WAEIDDRAS	YVBLISLKLW	
Mlo	WAVVLELDF	WVFLVLLWV	VVFLVLLWV	WAEIDDRAS	YVBLISLKLW	
Ombrão-Hin	WAVVLELDF	WVFLVLLWV	VVFLVLLWV	WAEIDDRAS	YVBLISLKLW	
Atende-HI	WAVVLELDF	WVFLVLLWV	VVFLVLLWV	WAEIDDRAS	YVBLISLKLW	
Consenso	WAVVLELDF	WVFLVLLWV	VVFLVLLWV	WAEIDDRAS	YVBLISLKLW	
Româo-HI	SKKYYFWSHP	DWVFLSHP	GTKELEHVIN	FVNTVATPCL	KKGYHHEKHAM	
Mlo	SKKYYFWSHP	DWVFLSHP	GTKELEHVIN	FVNTVATPCL	KKGYHHEKHAM	
Ombrão-Hin	SKKYYFWSHP	DWVFLSHP	GTKELEHVIN	FVNTVATPCL	KKGYHHEKHAM	
Atende-HI	SKKYYFWSHP	DWVFLSHP	GTKELEHVIN	FVNTVATPCL	KKGYHHEKHAM	
Consenso	SKKYYFWSHP	DWVFLSHP	GTKELEHVIN	FVNTVATPCL	KKGYHHEKHAM	

Figura 16

Homlo-Hi	A - D - L C S Y - T F	P Y A L V T O N G	S H M R S I F D E	O T A K A L T H M R	K M A K E K K A R	D A M U L M O N G
Mlo	M D - G D A T P S R G S	P Y A L V T O N G	S H M R S I F D E	O T S K A L T H M R	I N T A R E K K V R	D T D M L M A O M S
Omlo-Hi	L O V I C S Y - T F	P Y A L V T O N G	S H M R S I F D E	O T M K A L M N V R	K K A M E K K V R	D A D A Y L A O M S
Atmlo-Hi	L O V I C S Y - T S	P Y A L V T O N G	S H M R S I F D E	O T M K A L M N V R	K K A M E K K V R	D A D A Y L A O M S
Conensus	- D - L C S Y - T F	P Y A L V T O N G	S S P K K A I P E	N V Q V G L V G N A	O K V Q Q R D L K	A A S N G D E C S
			S - K X - - E F - E	Q T - X A L - E M E	- - A K E K K - E	D A - - - - - R Q M -
Homlo-Hi	C U A T - T - - - -	P S U G G S S P V	H E L H X A G A R S	D D E Q S V P A S P	R A E K E G - - -	G G V Q H P A R K
Mlo	M D - G D A T P S R G S	P M E S R G S S P V	H E L H X A G A R S	D D P Q S A P T S P	R T Q Q E A R D M Y	P U V V A H P V H R
Omlo-Hi	L O V I C S Y - T F	P A S S S A S P V	H E L Q - - - -	G R P S P I V U A	S P P A R E D H Y	P U V A A R A S E Q
Atmlo-Hi	L O V I C S Y - T S	P Y A L V T O N G	G G S A P A A G P -	G I O L S R V R N	N A G O T N E I T	E D H N N - - - -
Conensus	- D - L C S Y - T F	P Y A L V T O N G	- - S - - S P V	H L U - - - -	- - P - S - - - -	E - - - - - - - -
Homlo-Hi	V - - P P C D G W R	S A S E B A L D R H	I P G A D D P G E S T	Q R *		
Mlo	M D - G D A T P S R G S	S A S S S A L E R D	I P S A D E S P S Q	G *		
Omlo-Hi	L O V I C S Y - T F	M A S S - - - R D	I A D S D F S P S A	Q R *		
Atmlo-Hi	L O V I C S Y - T S	- - - - - - - -	- - - - - - - -	- - - - - - - -		
Conensus	- D - L C S Y - T F	P - D - - -	A S S - - - R -	I - - - D F - F S -	- - -	

Figura 16 (continuación)

**LISTA DE SECUENCIAS**

**(1) INFORMACIÓN GENERAL:**

5 (i) SOLICITANTE:

(A) NOMBRE: John Innes Centre Innovations Limited  
(B) CALLE: Norwich Research Park, Colney Lane  
10 (C) CIUDAD: Norwich  
(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  
40 (E) PAÍS: Reino Unido  
(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 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  
 95 95 95 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 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 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 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  
 420 425 430 435  
 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

50

55

60

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

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

65

(A) LONGITUD: 1602 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucléico

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

# ES 2 317 652 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

5 (iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

10 (vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

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

15	ATGTCGGACA AAAAACGGGT GCGGGGGCGG GAGCTGCCGG AGACGCCGTC GTGGGGGGTG GGGGGGGTGT TGGCGCCCAT GGTGGTGGTG TGGGCTCTCA TGGAAACACGG CCTCCACAAAG CTGGGGCATT GGGTCAGCA CGGGACAAG AAGGCCCCTGT GGGAGGGCGT GGAGAAGATG AAGGGGGAGC TCATGCTGGT GGGCTTCATA TCCUTGCCTC TCATGCTCAC GGAGGACCCC	60 120 180 240
20	ATCATGGCCA AGATATGCAAT CTGGGAGGT GCGGGGGAGG TCATGTTGCC CTGGAAAGGCC GGCAACGAGG GCGGCGAGCC CAGGAAGTAC CTGGACTACT GCGCGAGGG CAAGGTGGCG CTCATGTCGA CGGGCAGCTT GCACCAAGCTG CACGTGTTCA TCTTGGTGCT CGGGGTCTTC CATGTCACCT ACAGGCTCAT CACCATAGCT CTAAGCCGTC TCAAATGAG AACATGGAG	300 360 420 480
25	AAATGGGAGA CAGAGACCAAC CTGCTTGGAA TACCACTTTCG CAAATGATCC TGCACGGTTC GGGTTCAAGC ACCAGACGTC GTTGTGAAG COCCACCTCG GCCTCTCCAG CACCCCTGGC ATCAGATGG TGTGGGCTT CTTCAGGAG TTCCTCACTG CAGTCACCAA GGTGGACTAC CTGACCTTGA CGGGAGGCTT CTCACACGGG CATTGGTGGC AAAACAGCRAA GTTGAGACTTC	540 600 660 720
30	CACAGTACA TCAAGAGGTC GATGGAGGAC GACTTCAGG TCGTGTGGG CTCAGGCTTC CGGCTGGGG GTTGTGGAT CTCACCTTC TCTCTTGACA TCAATGGGTT TGGCAAGCTC ATCTGGATTT CTTCATCCC TCTGTGATC CTCTTGTTG TTGGAAACAA GGTGGAGATG ATCATCATGG AGATGGCCCT GGAGATCCAG GACGGGGGGA GGGCATCAA GGGGGGGCCC	780 840 900 960
35	GTGGTCGAGC CGAGGACAA GTTCTTGGG TCTCACGCC CGGACTGCTT CTCTTCTTC ATACACCTGA CTTCATCCC GAACCGTTT CAGATGGGGC ATTTCATGTC GACAGTGGCC ACGCCCGCT TGAAGAAATG CTACACACG CAGATGGGGC TGAGCATCAT GAAAGGTGGT GTGGGGCTAG CTCTTCAGTT CTCTTGAGC TATATGACCT TCCCTCTCTA CGCGCTCGTC	1020 1080 1140 1200
40	ACACAGATCG CTCACACAT GAAGGGCTC ATCTGGACG AGCAACACCTC CAGGGGGCTC ACCAACTGCG CGAACACCGC CAGGGAGAG AAGGAGTCC GAGACACGGG CAGCTGATG GTCAGATGA TGGGGACCC AACACCGAGC CGGGGCTCT CGCGATGSC GACCCGGGGC TCATCAACCG TGGACCTGCT TCACAAAGGGC ATGGGGGGT CGGAGGACCC CGAGGACGGG	1260 1320 1380 1440
45	CCCACCTGGC CAAGGACCA CGAGGAGGT AGCGACATGT ACCGGGTTGT GGTGGCCAC CGGTTGACA GACTAAATCC TAAGACAGG AGGAGGTCG CCTCTGCTTC GGGCTCGAA GGCGACATCC CGAGTGGAGA TTTTCTTC AGCCAGGGAT GA	1500 1560 1602

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

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 2098 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucléico

60 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

65 (iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

# ES 2 317 652 T3

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

5

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

	GGCGAGCTCA TGCTGGTGGG CTCATATGCC CTGCTCTCA TCGTCACGCA GGACCCCATC	60
	ATCGGCAAGA TATCGATTCG CGAGGATGGG GCGGAGCTCA TGCTGGCTTG CAAGGCGGG	120
10	ACCGGAGGGC GCGAGCCAG CAGTACGTT GACTACTGCC CGAGGTGAG CAGCAGAGCC	180
	CGGACCGCA GCTTCACGAT GATGAAGAAA TCAATACCGA ATCTTTCTT GTTTTCTTCT	240
	GATTGGTCGC TTGGCTTGCC TTAATTGCTG TGCTGGTGTG TGTGGTCAAG CGAAGGTTGG	300
15	GCTCATGTCG ACAGGGCAGCT TCCACCAAGCT GCACTCTTC ATCTTGTGC TGCGGTGTT	360
	CCATGTCACC TACAGGCTCA TCAACCATAGC TCTAAGCCG CTCAAAAGCA GGCTTTGCTT	420
	CTTTCCTTC TTCTTTTACG GCACGCTCTGT CTGTCAGGG TACCTACCTG TCTACAGGC	480
20	TTGAGTAAA CTGTTCCATA ATCTGCTCCG GCTAAATCTT CTGCTCTTC AGATGAGAAC	540
	ATGGAGAAA TGGAGACAG AGACCACTC CTGGAAATAC CAGTGGCAA ATGGTGAGGA	600
	TCGCCACTC TCAATATCTC CCTTCTTGA AACCAGAACCT GATGATCCAT TAAAGAGGC	660
	AGGCACGATC AGATGAGTG AACTGATGTA TGTCATTTT TTGTGTCTT TCAAGATCTG	720
	CAAGGTTCCG GTTCACCCAC CAGACGTTGT TGTTGAAGCG CCAACCTGGGC CTGTCAGCA	780
25	CCCTGGCAT CAGATGGTG GTGAGGTTTT TAGCTCTTA TCTGCCCCCTC ATCTTGTGT	840
	AATGTTGGC GTATGGACTC AGGTGATTTC CCTTCCTGT GATGTTGTT CCTTTCAG	900
	GTGGCTCTCT TCAACGACTT CTTCACGCTCA CTGACCAAGG TGGACTACCT GACCTTGAGG	960
	CGAGGCTTCA TCAACUTACG TCCCTCCCT TCTAGCTGG CGATCTGCG CGCGATGTAG	1020
30	CAGCAAACT TCTCAAGTTA TCTTCCTGAC GCTAAAGTTC CGATTTTTT TCTCAAAATT	1080
	ATTCCTGGCA GGCACATTTC TCCAAAACA GCAAGTTGA CTTCACACAG TACATCAAGA	1140
	GGTGGATGGA GGACGACTTC AAGGTCGTG TGGCATCTAG CTACGTTCCA TTCTTCTCTC	1200
	TGACCCACAC CACACCCAT CGATAGATTT TAAACATTCG TCTACGGTC CACATGATAA	1260
35	CAATATACTA TGAACCTGGT CTTCCTCTCT TCTCTTCTCA CGATCATGAC ACATTTGGCC	1320
	TGTTTGGCA GCTTCGGGT GTGGGGTGGG GGGATCTCA CCTCTTCTCT CGACATCAAT	1380
	GGTATGGACC TTCTCCCTCT CGGTTTCTCT ATGGCTTTCG ACCTAAATAA AACACTTCA	1440
40	ATTCGCTCTG TGATCACCGC TCTTTTTCA ACCATTCTT TTTCCTACTCA TAGGGGTTGG	1500
	CACGGTCATC TGGATTCTT TCACTCTCT CGTGGTAAGT CGACATTTCT CCATCGAAAG	1560
	CAACAGCAA CCCAAATTGA TCGCAATGGA AACCCACAC TAAATATTCAC TCAAATGTC	1620
	AACTGTCGGT CGCTCTCTCT CAACAGATTC TCTTGTTGTT TGAACCTAG CGGAGATGA	1680
45	TCTCTATGGA GATGGGGCTG GAGATCCAG ACCGGGGCG CGTCATCAG GGGGGCCCCG	1740
	TGTTGGAGGC CGACACAAAG TTCTTCCTG TCTACGGCG CGACTCTGTC CTCTTCTCTA	1800
	TACACCTGAC GTTGTCTCA AACGGCTTCG AGATGGCGCA TTTGTGTGG ACAGTGTAC	1860
50	GGCACCGATC AACTTCTCA TTAACATGGG TGCTAGGCA CGGAGTGGG CTGATGAACT	1920
	GCTCTGACCG AGATTTACTT GTGGTGAGG CGACCGGGG CTTCAGAGAA TGCTACCAAC	1980
	CGCACATGG CGTGGGCTAC ATGAAGCTGG TGTGGGGCT CGCTCTCCAG TTCTCTCTCA	2040
	GGTATATGAC CTTCGGGGTCG TACGGGCTCG TCAACGAGT AATAAAACG TCGAGAA	2098

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

55

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

60

(A) LONGITUD: 2177 pares de bases

65

(B) TIPO: ácido nucléico

65

(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*

5

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

	GCAGAGCTGA TGTGAGCTGGG CTTCATATTCG CTCGTTCTCA CGGGGGCACA CGCCGCCATC	60
	TCCAANKTCTG GATCCCCAA GTCGGCTCCG AACATCTTGT TCCCTGCAAA CGACGGCCNA	120
10	GATGCCATCG AAGAANAAAGC AGCAAGTGGT CTCCTGCTCT TGGGGGGGGG CGGGGGGGGG	180
	CACTACTCTG CAAATTTGCA TGTGAGAATA ACNCCAGCTG CGGGCAAGCA CAACTCGAT	240
	NCNATNACTN ATTTAACTAT ATTTGTTTT TCTTGGGTTT TCTGCAAGGC AAGGTTGGCG	300
15	TGATGTCGGC AAAGAGGATG CACCAAGCTG ACATTTTCAT CTCGCTCTC CGCGTGTGCC	360
	ATGTTACCTA CTGGATCATC ACCATGGTT TAGGGGGGT CAAAGTGAGT TGTGCGTTCT	420
	CTCCCTCATG CACATTTTT CTCTAGTCT AGCAANATTG TGAGCTCTC AAATGGATTG	480
	TTTCGACAAAG AAACCCAATT TATTAATTTC CGACTTAAAT ATATAATAAT TGATCTTCT	540
20	TGCTTTAGA TGAAGAAAATG GAAGAAGTGG GACTCTCAGA CGAACATCATT CGAGTATCAG	600
	TCGCCAATCG GTAGTGAATT AAGAATCTC CGAACATTTT CATTCTAGAA CCTTTATGAT	660
	AATGTCCTGA AAGAGGGAGA GCAATCAGC TGAATAATAT GATGATCCA TGCAGATCT	720
	TCACGATTCA GGTTCACCGA TCAGACCTCG TTCTGTCAGC CGCATCTGGG ATCATTCCTA	780
25	AGCACCCCTG CGCTCAGATG GATCTCTATG TATCAATTC CGAACATCTG CTGGTTTTTT	840
	ATTCCTGCAA CTGGGCTAGC TGTTCGAAATT CGATCCATAT TTTTTGAAAAA AAAAAATATT	900
	CATGGGGGTTT TTTTTTTAG GTAGCATCTC TCAAGCAGTTT CTTCGGGTTCC GTCACCAAGG	960
	TGGACTACCT GACCAAGGGG CGAGGCTTC TCAATGTTAA TACTAATCA ACGTGACCAA	1020
30	TTCAACATTTG ATGATGCAA CAGAAGACCA GGTGGTTTTT TCGGGGTTG TGTATTGAAG	1080
	TTAATGGTTT TAGCTTCCTC TCTTTGCGAG CGCCCATTTG TCGCAGAATA CGAACTTCTG	1140
	CTTCACAAA TACATCAGA GTCCTTGGG CGACGACTTC AAGTGTGTCG TGGCATCAG	1200
	CTCCCTCTC GCTTTATTAAT TTAGGACT CTTATATTC ACACTTTTTT TATAAAGAA	1260
35	CATATTTAGT CTCCAGTTGCT GTATGTTAT GTCGATCTTG ACACATTTGG CTGGTTTTGC	1320
	ACCCCTCTC TCTGTTGTTG CGGAACTCTT GTACTCTCC TCGATATCCA CGGTAACTCT	1380
	TGCTCTATTG CATTCTTTTT TTTACTCTCA AAMCTTGTG CTGAATTTGT CTTATAATCA	1440
	CCATCGATTT TTTTCAACT TTTTCCCGGC GTCGAGGCTCT TGGCACACTT ATTTGGATCT	1500
40	CTTTGGTCC TCTCATCGTA AGAGGGAAT TTCCCTGTC CAAAGAAACA CTTAACATAA	1560
	TTAATTATGC TTTAATTATAT CATGAAATT AATATGATCA TATAACTAAT GACAAACAT	1620
	TCATGTAAT CCAACCGTTG TCTCAGATCG TCTTGTGTTG TGGGACCTGG CTAGAGATCG	1680
45	TGATCATOGA GATGGCCCAA GAGATACAGG ACACGGCCAC TGTTGTCAG CGAGCACCTA	1740
	TGTTGTAACG AAGGAACAAG TACTCTGGT TCAACGCGCC TGACTGGGTG TTGTTCTTC	1800
	TACACCTGAC ACTCTTCCTA TGATCTGTT TAAACACGAC CGACGGATCG ATCGATCACC	1860
	AGAACGATT TTCAAGATGGC CGATCTCTAT GGACTATGGT GGTATGCTA CTTCCTTGT	1920
50	TGTGCGCATT ATCAGTTCTT AAGCAAATTA AGTGTGATGC ATGCACTGAC TAATGAGACA	1980
	AAAAATGACA CGCTCTTTC ACGATCTCG TTGTGTTGTTG TGTGACGGC AACCTCTGGT	2040
	CTGAAGAAAT GCTTCCATGA AATATTTGG CTGAGCATCG TGGAAAGTCAT TGTGGGGATC	2100
55	TCTCTTCAGG TGTATGCAAG CTAGATCACC TTCCCGCTCT ACACGGCTGT CACACAGGTG	2160
	AAAGAGGAAT TCACAAA	2177

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

60

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

65

(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

5 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

10 (B) CLON: *Mlo*

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

15	GAGGTCATGC TGGTGGGCTT CATAATCCCTG CTCCTCATCG TCACGCCAGGA CCCCATCATE GCGAAGATAT GCAATCTCCGA GGATGGGGCC GACGTCATGTG GCGCTCTCAA GCGCGGCC GAGGGGGCGA AGGCCAGCAA STACGTTGAC TACTGGCCCG AGGTGACCGAG CAGAGCCCG ACCAGCAGGT TCACGATGAT GAGAAATCA ATACCGAACT TTTTCTGTGTT TTCTTCGTAT TGTCTCTTG GCTTGGCTTA ATTGGTGTGTG TGTGTTGTTGTT TGGCAGGGCA AGGTGGGGCT CAGTCACCG GGCACGTCAGC ACCAGCTCCA CGTCCTCATC TTGCTGCTCG CGGTCTTCCA TGTCACTAC AGCGTCATCA CGTAGCCTT AAGCCGTCAC AAAGTGAGCC TTTGCTTCTT CTTCTCTTC TTAAACCGCA CGCTCTGTCTG TCAGGGCTAC CTACCTGTTA ATCAAGGCTG AGTAAAATG TTCCATAATC TGCTTCCGGCA TAATCTCTC CTCTCTCAGA TGAGAACATG GAAGAAATGG GAGACAGGGA CGACCTCTTT GGAATACCGAG TTGCAAAATG GTCAGGATCC CCCACTCTGC AATCTCCCT TCTTGGAAAC CAAACCTGAT GATCCATTAA AAGACGGAGG CAGGATCAGA GTCAGTCAC TGATGTTATGT TCATTTTTTG TGTCTTICA GATCCTGAC GTTTGGGTT CACGCCACAG AGCTCGTTCG TGAAAGGCCA CCTGGGGCTC TCCAGCACCC CTGGCATCG ATGGGTGTG AGTTTTTATG CTTCCTATGT GCGCTGTGAT GPTTGTGCG TTCCTAGGG GCTTCTCTCA AGCTACGTC CTCCCCCTTAC AGCTTGGCA TTOCTGCCCG CTTGAGGGCA GGCTTCATCA AGCTACGTC CTCCCCCTTAC AGCTTGGCA TTOCTGCCCG 35 GATGTAGCAG CAAATTATT CTGGCCAAAGC CGATTTGTG CAAACAGCA AGTTGGACTT CCACAAGTAC ATCAAGGGT CGATGGAGGA CGACTTCACG GTCGCTGTG SCATCAGGTA CGTTCCATTG CTTCTCTGC ACCACACCAAC ACCCCATGGA TAGATTITAA CAATGGCTG CAGGTTCCAC ATGATAACAA TATACTATGA ACTTGGTCTT TGTCTCTTGT CGTTCACGAG TCATGACACA TTGGGCTGTT TTGGGAGCC TCCCTCTGCG CGGTGTGGGG ATCCCTCACCC TCTTCTTGTG CATCAATGTT ATGGACCTTC TCTCTCTCCG TTTCTCTATT GCTTTGCG TAATAAAAC ACTTGCAATT CGCTCTGTG TCACCGCTCA TTTTCAACC ATTTCTTTT 40 UTACTCTAG GGTTGGCAC GCTCATCTGG ATTTCCTTCA TCCCTCTCTG CGTAACTGCA GATTTCTCA TGAAAGCAA CAGCAAACCC AATTGGATCG CAATGGAAAC CCACACCTAA TATTAACCTCA AATGTCAT TGTGGTGTG TGTCTCTAA CAGATCTCT TGTGTGGGG AACCAAGCTG GAGATGATCA TCATGGAGAT CGCTCTGGAG ATCCAGGAGC CGGGGAGG CATCAAGGGG GCCCCCTGG TGAGGCCAG CAACAGTT TCCTGGTTCAC AGCGCCCGA CTGGCTCTC TCTTCATAC ACCTGACGTT GTCCTAGAC GCGTTTCAGA TGGGCAATT TGTGTGGACA CTGGTACGCC ACCGATGACG TGTCACTTA ACATGGGTGTA CAGGGCACCG AGTGGCGCTG ATGAAGTGT CTGGCGAGA TTACTGTTG TTGTAGGCCA CGCCCGGCTT 55 GAAAGAAATGC TGGCAACGC AGATGGGGCT GAGGATCATG AGGTGGTGTG TGGGCTAGC TCTCCAGTCG CTCTGCACT ATATGACCTT CCCCCCTCTAC CGCTCTCTCA CACAGGTAAT AAAACGCTAA TCATCTGTGTG TGCTGGGCTT TGATGCCAGA TGGGATCAA CATGAAGAG 60 TCCATCTTGTG ACCAGCAGAC GTCCTACGCG CTCTCCAACT GCGGGACAC CGCCAGGAG AAGAAGAAAG TCGGAGACAC GGACATGCTG ATGGCTGAGA TGATGGGAGA CGCAACACCG AGCCGAGGGT CGCTGGGAT CGCGAGGGG GCGTCATCAC CGCTGGACCT GCTTCACAAG 65 GCGATGGGGC CGCTGGAGCA CGCCAGAGC CGGCCACCT CGCAAGGAC CGAGCAGGAG GCTAGGGACA TGTACCCGGT TGTGGGGCG CACCGCTTCA ACAGACTAAA TCTTAACGAC	60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 660 720 780 840 900 960 1020 1080 1140 1200 1260 1320 1380 1440 1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 1920 1980 2040 2100 2160 2220 2280 2340
----	--	---

# ES 2 317 652 T3

AGAGAGGAGGT CCACCTCCTC GTCGGCCCTC GAAGCCGACA TCCCCAGTC AGATTTTCCT	2400
TTCAAGCCAGG GATGAGACAA GTTTCGTAT 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 nucléico  
(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

15 (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:

GAGCTCTTGC TGGTGGGCTT CATACTCTG CTCTCTATG TCACCCAGGA TCCCCCTCTCC	60
30 AGGATCTGCA TCTCCAAAGGAA GGGGGGGGAA AANATGCTCC CGTGCAGGCC TTACACAGGC	120
GGCGGGGGTG GAAAGGCAA TGACAACTAC CGGAGGCTTC TCTGGCTCCA AGGGGANAGC	180
GAAACCCACC GCGGGTCTCT GGTGCCCCCG GCGGAACTGG ACCTCTGCC CAAACAGGTG	240
AGCACCTANC GTGNCACAA ACCACAAACT ANCTAATGAG CATGGACCTG AATTTCTTCT	300
35 CTTCCTGGCT TGGCTGACT AAATTGGTTG TCCACGCGAA GGTGGCGCTG ATGTCNNGGU	360
GAACATGCA CCAACTGCAC ATATTCATCT TCGTGCTGCG CGCTTCTCAC GTCTTCTACA	420
GGCTCTCAC CATGCCCTCA AGCGCTCTCA AACTGACCAT CATACTGGAG CTGGTTGTC	480
40 ATAATCTTGC GTTCCAAATC CAATTCAAA GCTGGCACTG ATCTCTCTCC GGCTTCTCTCC	540
AGA/AGAAGCA ATGGAGAGAG TGGGAGTCGG AGACCGCCCTC GCTKAGTAT CAGTTGGCGA	600
ATGGTCAGCT TCCACTTTTC TTACTGAAAC CGGATGCTT TACAACAAAC GCAAGCAGGA	660

45

50

55

60

65

# ES 2 317 652 T3

	TCAATCATCA CAGTGTGAGC CGATACTTTC AACCCGATTG AAATCCCTCCG CAGATCCCAT CGCCCGTCCC GGTTCACGCCA CCAGACCGACG TTCTGGTGAGG CGGCACCTGG GCGCTCTOCAG GACCCCCCGC GTCACATGGG TTGGTGGCTT CTTCAGGGAGG TTCTTTCACGT CGGTGACCAA GGTGGACTAC CTGACCTTGC GGCAGGGCTT CATCAACCCG CATCTCTCCG AGGGCAACAG GTTGCACTTC CACAACTACA TCAAGAGGTC GTTGGAGGAC GACTTCAGG TCTGTTGCG CATCAAGTAC CGCCCATTCG TTTCCTCTCA CAATTAATA CATECACCA CACATTTGTA GATAGATAGA TCGATANATA NATTATACAA GTGCCGGTAC GTACGTACGT CTCATATGAT CTTGACACAT CTGTCCTCTT GGCGCAATCT CAAGCTCTGG TTCTGTTGGG TCTCTATCTT CTTCCTTGTAT TTGGTACGTT GTCGGTATA TAACCACACG ACGGCTGGTCT TCTGGCAGG GATGGCACT TTTCCTCTGA TGTCCTGGT TCTCTCTGG GTRAGTCAC AATTTGAATA GACAACTGT CCAATTGTA TUTACACTAC CTCCAAACTT AATTAACATG TCAATTGCTG ATGGTCTTGGG TGTAACATTA GATCCCTTGG TGGGTTGGG CCAAGCTGGA GATGGTGGATC ATGGAGATGG CCCAGGAACT CCATGACCGG GAGAGCCTCG TCAAGGGTGC TCCCGCGTC GAGCCCGAGA ACGAGTACTT CTGGTTCAC ACGGCTGACT CGGTCTCTT CCTCATGAC CTTCACACTCT TCCAGAACGC GTTTCAGATG GCTCATTTTG TGTTGGAGT GGTACNTACA AGTACTGTC ACTTCACCTTA NGCTAACTCC AACAAACGAA GACACAAAAC TCAATCCAAAC GGGGGGTGGC AAACGAAACGT TTTCCTGTAC GTTTTGCTCC GCTTTCGGCC CATCCCGGCC CAAATTGCTT CACCTTGTG CATCGCAGGC CACGCGCGGC TTGAAGAAAT GCTTACACCA GAAATTCGCA ATGAGGATCG CCAAGGTGT GTGTTGGGTA GGGGCCCCAGA TCTTGTGCGAG ATACATCAAC TTCCCGCTTT AGGGCGCTGT CACCCAGATG GGTCAACACA TGAAGAGAG CACTTGGAC GAGCAGACGG CCAAGGGGC TCAACCAACG GCGAAAGATG CGCAAGGAGA AGAAGAAQGC CGAGACGGG CGCATGCTGA TGGGGCAGAT GGGGGGGGC CGAACCGCGA GGGTGGCTN GTGGGGGGTG CACCTCTTCC ACAGGGCGGQG GGGGGGGTCC GAGGACCCCG AGAGGCTGCC CGCGTCCCCG AGGGCGAGA AGGAAGGGG GGGGGTGAG GATCCGGCGC GCAAGGTACG TCCCTGGAGC CGGTGGAGGT CGGGCTCTGC GGGGGCGTC GAGGCTCACA TCCCGGGTGC AGATTTGGC TTCAGCACGC AACGTTGACC GATCAGACAA GTTCTTTTT T	720 780 840 900 960 1020 1080 1140 1200 1260 1320 1380 1440 1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 1920 1980 2040 2100 2160 2220 2280 2281
--	--	---

40

(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 nucléico
  - (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc
- (iii) HIPOTÉTICO: No
- (v) FUENTE ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*
- (vii) FUENTE INMEDIATA:
  - (B) CLON: *Mlo*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 7:

65

# ES 2 317 652 T3

	GCTCTCTCCG CCAGCAAAACC AGACACACAG CAGCTTACCT GCGTACGTAG CGTGCGCTTT CTTTTTTTTC CTTCGCGCTC TCTTGCTTGC TCCGGCGCGC CACGTCGATA GCGGGCGACG 5 CCCAGCGACC TCGGGGTTTC GTCGGGCTCA TCTGGGTGTC CGTACCTGTT AGAGGGCGCC GTCGCTTCG TCCGGCGAAGC GAAGGAGGTT CGGGCGCTGC ACCUGATGCG GACAAAAAAAG GGGTGCGCGC CGGGAGGCTG CGCGAGACAC CGCTGTGGCG CGTGGGGCTG CTCTTCGCG 10 CGTACGCTCT CGTGTCCGTC CTCTGGAAAC ACGGCTTCA CAACTCGGC CATTGGGTC AGCACCGGCA CAAGAAGGCC CTGTTGGGAGG CGCTGGGAAAG GATGAAGGGG GAGGTCATGC TGGTGGGCTT CATACTCCTG CTCTCTATCG TCACGCAOGA CGCCATCATC GCGAAGATAT CGATCTCCGA CGATCGCGCC GACGTCATGT CGCCCTGCAA GCGGGCGACG GAGGGGGCGA AGUCCAGCAA GTACGTTGAC TACTGCGGG AGGGCAAGGT CGCGCTCATG TCCACGGGCA 15 GCTTCACCA GCTGCGACGTC TTTCATCTTG TGCTCGGGT CTTCCATGTC ACCTACAGG TCATCACCAT AGCTCTAAGC CGTCCTAAA TGAGAACATG GAAGAAATGG GAGACAGAGA CCACCTCCCTT GGATTAACAG TTCGCGAAATG ATCCCTACG GTCGGGTTTC ACCGACCAAGA CGTGGTCTGT GAAGCGCGAC CTGGGCGCTGT CGAGCGCCCG TGGCATCAGA TGGGTGGTGG 20 CGTTCCTCAG CGACTTCTTC AGGTCAGTC CCAAGCTOGA CTACCTGACC TTGAGGGCG GCTTCATCAA CGCGATTTG CGCCAAACCA GCAAGTTCGA CTTCCACAAAG TACATCAAGA GGTGGATGGA CGACGACTTC AAGGTCCTGG CGCCATCATCG CGTCCCGCTG TGGGTGTGG CGATCCCTCAC CGTCTCTCTT GACATCAATG GGTGGCAC CGTCATCTGG ATTTCCTTTC 25 TCCCTCTCTG GATGCTCTTG TGTTGTTGAA CGAAGCTGGA GATGATCATC ATGGAGATCG CGCTGGAGAT CGAGGACCGG CGGAGCGTCGA TCAAGGGGGC CGCGTGGTC GAGCCCGAGA ACAGGTTCTT CTGGTCCAC CGCCCCGACT CGTCTCTCTT CTTCAACACAC CGACGTTGT 30 TOCAGAAGCC GTTTCAGATG CGCGATTTTG TGTTGACAGT CGCCAGGCC CGTGTGAAGA AAATGCTACCA CACCGAGATC CGGCTGACCA TCTAGAAGGT CGTGTGGGG CGTGTCTTC AGTTCTCTG CAGGTATATG ACCTTCCCCC TGTACCGCGT CGTCACACAGS ATGGGATCAA ACATGAAGAG CGTCATCTTC GACGAUCAGA CGTCACAGG CGTCACCAAC TGGCGAAACA 35 CGGCCAGGA GAAGAAGAA CGTGGAGACA CGCACATCTG GATGGCTCG AGGATCGCG ACGCACACCC GAGCGAGGC CGTGTGGCGA TCCGGACCG CGGCTCATCA CGGTGACCC TGCTTCACCA CGTCATGGG CGTGTGGCGA ACCTTCCCCG CGCGCCACCG TGGCGAAGA CGACCGAGGA CGTCAGGAGAC ATGTCACCGG TTGTTGTTGCG CGACCGCTG CACAGACTAA 40 ATCCCTAACGA CGGGAGGGG CGCGCTCTGT CGTGGGGCTT CGAAGCGCGAC ATCCCCAGTG CAGATTTTC CTTCAACCGAG CGATGAGACA AGTTTCCTGTA TTCAATGTTAG TCCCAATGTA TAGCCACAT AGGATGTGAT GATTCGTACA ATAAGAAATA CGATTTTTTA CTGAGTC 45	60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 660 720 780 840 900 960 1020 1080 1140 1200 1260 1320 1380 1440 1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 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	
10	Met Leu Val Gly Phe Ile Ser 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	
15	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	
20	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
25	Lys Trp Glu Thr Glu 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	
30	Arg Gln Phe Phe Arg Ser Val Thr Lys Val Asp Tyr Ile 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 Asp Phe Lys Val Val Val			
	245	250	255	
35	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	
40	Met Ala Leu Gln 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	
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 Lys			
	420	425	430	
	Val Arg Asp Thr Asp Met Leu Met Ala Gln Met Ile Gly Asp Ala Thr			
	435	440	445	
55	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 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

5

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

10

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: No

15

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

15

(B) CLON: homólogo *Mlo*

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

20	GAATTCATT AAGGACAACA ACGGATGATA GGCTTAAGCT AGAGACGATT CATATCGATT	60
	ATTTAACCTGT ACTTAAGTTG AGGTTAAACT CTATCGATTG CTTTGGACAC CGGCTCTCCC	120
	ATGATCTGCC AAGTTGAGCC GGCTTACCTA ATTTCTTCG AAGACACACA ACAAACGAG	180
	GTAAACCACTA ATCTAGACAC CACGGCTTACG TTATCAATTA CTACTCTACT CTGGCGTAGA	240
25	AACCTTCATTC TTTATGGAGA GTCCTAGTAC TAGAGTACTT AATATAATAG TAACCGACAA	300
	ACCCACGAGC ATGAGAAATGT ACCTCACTTA CGTAAGTCAA TAATCTGAAA AGGAATCTT	360
	GAACACTTAC TTATTAAGA AAGTATTCCC CGAGGTACAG GAGAGGAGAC CACCCGATA	420
	ACTCCAGCAC TCTTCCGAAA CCTTTCAC TCTCTACCT TTTTCCTCAC ACAACTAAAA	480
30	TGATOTCTAA TGTATGAAAG TGAGTTGTAC TCTATTTGTG TGCTGTTTG GAAGTGAAT	540
	TAGCTCATCC TTTTATAGCA ACTTAATGTT CGGTGTAGG TTGTAGTTA ATCGGTAAA	600
	CACTCACAC CACCATCGTC AACCAATAGG AGATCGCCAC ATGATCGAAA GTCAGACATT	660
	AGGGGTGCGA ACCCTGTTTT GTCCGAACCA ACCAAGAACG CTCATCTAG GAGCTCTTCTT	720
35	CTATCTCTGA CAAGTCGGCC CATATGGCGG TCCACATATGG ATTAAGTCAA TTTCAGTGT	780
	TTTGGACTGT CATGTGGGGC CTCACCAATCC TCTCTCTCCG ATATGATTTG TCGAAGGTAC	840
	ATTTAATTCG TGGGTGACTG CTAGAACTAA TATGATAGAT GTCCTCCGGC TCTTGGGAAA	900
	GACCCGACTT GACATACCTG CGGTGTGCG CCGACGATAT TCCCTATCGC TTTCATATAA	960
40	TTTTCCTCTT CTAAAATCGG AGGAAACAA TARAAAGAG AGGGATTT CAACGGAAA	1020
	TATGTATTTT TTTGATAGTG TCTTCGTTA AACCTGATT TTTGCGAAGA CTTCGGCTA	1080

45

50

55

60

65

# ES 2 317 652 T3

	AACCCATGAA ATCAGAGPTC CTTUTAACAA ATTTAATTTC CCTAAATACA AAAAAGATCG	1140
	AAZGGAGATA GCATTAACCT TGCTCCATAC GAATCAATT AGTTGACCG TAACTCTAG	1200
	AAAAAGTTCG AACATGCGTAC ACCTATCAAC CCTCTTATGT TGACCCGTTAA CCTGTTAING	1260
5	ATTTAAGGATT AAGTACCGCG AGATCCTCAC TACTCACGAA TCCACAAATT TCCGGTAACG	1320
	TAGGATGGAA TGAGTTGGTC AGAAACCGGT CACCACTCG CCCAACCTGC CGCGATCGAG	1380
	CCATTGGCG CGCATGCACG CCCTTACA CAGCGCGCCU CGCGCGCGCG CGCGCGCGCG	1440
10	GTPTTTAATA AAACCGGCC CGCCCGTTC AAMGGTCA AACTTTCAGG TCCATCAGAG	1500
	CTAACCTAGC GGTACCCAG TCAGCTCAC CGAGAGCGA CCAGGGATC TATGGATCA	1560
	TGGCAGGTTGG GAGATGGGA TGCGGGGAGT TCCCGAGAC CGCGACGTTGG CGCGTGGCG	1620
	TGCGCTCGC CGCGCTGTG CTGCGCTCG CGCCCATGGG GCACGGCTC CACAACTCA	1680
15	GCATGTACG CGCGCGCGCA CGCGGTGTC TCATCTCTCG AGTTAATTTC GTGTTGTTG	1740
	TTGTTGTTGTT CTGCGACAT CTCATTAAC ATCCGATGT CGTGTGATGA TGCGCTGCG	1800
	GTGGCGATAC TCCGGTACATT GCAGTGGTC CGTGGCGGC AGAGAAAGGC CATGGCGAC	1860
	GCCTCTGACA AGATCAAAAC AGGTCACCC CAGCCCTGAG TCACCCCTAG CCTCCATCTC	1920
20	TAATATTTG ACGCCGTTGA CTPTTTAAAT TATGTTGAC CATTGTTTT ATTAAAAAAA	1980
	TTTAAGTAAT TATTAATTCT TTPTTTACCA TTPTGATTCAT TGCTTAATAT ACTATTATGT	2040
	ATACATATAG TTPTACATAT TTGACTTAAAG TTPTTTAAATA AGAGGATGG TCAACATGT	2100
	TTAAAAAAAGT CAACCGGCCP AAACATTTAG GAAGAAGAGA ATATTTATTT CTGCGCTCCC	2160
25	CTTACGACT TTGCTCGTC CGCGCTTATT TTTCGAGTA TTPTTACGAA GTGTTGTTCT	2220
	CCAAATCAA CGTCACAAAT AAACCATTTA TAACTTCTT TGCGTTTTTA AGGGGGACTA	2280
	CTTGTATTZA ATCATGGGG AAACATCCAG TGCGATGTC GATTACTTTA AAAAAAATTC	2340
	GGGGGACTAA TTPTTTGGGC TGATCATGG CGAAATATTA CGGTATATAT GTGGAAGAAA	2400
30	AAATCAGCCAC AAACATGAA ATATTTGTC AAACCATAT TAGACAGTT GAAACGTATC	2460
	ATGGTTACGT ATAAAAACATC GAATGTTAAC AGATTAACAC ATATGTTTT TTPTTAATCAG	2520
	AAATATAATCA TCCGATATAT TATGTTAAAG ATATAATTAC AACGAATACA ACAGTGGAT	2580
	CGGATTATAT ATATATTAGT AGTTTAAAGG AAAAATCATT TTGAGGATTA CTGAGTACAT	2640
35	ACACGTTATAG ATGGATGAGG TGAGGAGAGA TTAGAGKAA GTGTTTATAT GTTTTGTG	2700
	AAACACACTT AAGCTATATG TCAAAACATA CTGCTTATAT GTATGAAATA TTGAGTTTTA	2760
	ACCGTTTAAAC ACACATATTTC TTPTTAAATTG AATGTTAAATG TGTTGATATCT TTPTTGTAAA	2820
	TTTAATTACAA TCTTAATATAA CGCGTGTGATT AGATTGTTG TGCGTAAAC TGCCCATCGG	2880
40	TTGGCTTATT TACGGAAATAA CGCAAATGGT ATATTTGCA AGAAAAAATA ATTGTAAAT	2940
	AAAACTTTTA TGATGTTATT CTTRACGATC TAGCAGCAA CGCTGAAAAA TAAACTTCGA	3000
	TGAAAMATCT CAAATCAA TCTTAATATT TAAATTGTTG CTTATGAGA TATGTTCTAA	3060
	CTAGTTTACA AGAAAAAAATA TTAAAGGGG CGAACAGGAA AACGGATAAA CTAAAGCTTA	3120
45	AAATTATGCA TGCAATGACG GATTTGAGG CGACCGAGTT GTTGTGTCG GATCAACCGA	3180
	CGGAGACAGA CGAACCTCTCT TTATCTATAA ATAACAGACG AAACCATACG AGTTCACTAC	3240
	AAATGGCGGA GTCAAGAGTC TTACATTTTT TTGATGTTG CGCACAGGGAT TCACCATGTT	3300
	CTTATGGGAA ATATTTTTAA CTCTCAATTC GTTATGATTT TGAACTCTCA TTPTTGTGAG	3360
	AGAATTAACA AGCGGAGGAG CAATCAGGGC AAAAAGGAGG AAAGAAAATT ATTGTGTTGA	3420
	ATTTTTTTAT AGGCTGAGGT CGGGGAGTC TTACATGTTG TTPTTGTATA TTGCGCTGTT	3480
	GATTATATGC TTGCGTAAAGT GTTAAAGCA TAAACACAT AAAAAATTGT	3540
50	ATGTTGATAGA TGATTTCAAG AGCATATATAA ATTAATATTA ACTTGTGTTAA ATTCACAAAC	3600
	AAACAAGTTT AACTTTTAAT ATACATTTAA TTGTTTTTT TGACCTTGG AGTTGAAATT	3660
	TTGTTGATATA TTGTTGAAATT GATATATTTA TTATTTTTT TAAATTTATA ATTATTTAGA	3720
	TAACACGCAA ACTAGAAAAC CAACCGAGAA GTTGTGATAT TTGTTGTTGT ATCTGCTACTT	3780
	CGAGAGCTGA TGCGCTGCGG TTTCATATTC TTGCGTGTCA CGCGGGCACA CGCGCGCG	3840
55	TCCAAGATGT CGATCCCCAA CGCGCTCGGC AACATCTTGT TGCGCTGCA CGCGCGCG	3900
	GATGGATCG AGAAAGAAG CGCGAAGTGG TGCGCGTGGC TTGCGCGCGG CGCGCGCGG	3960

# ES 2 317 652 T3

	GGACTACTGC TCGAAATTCTG ATGTGAGAAT AACACCAAGCT GGGGGCAGC ACAACCTCGA	4020
	TGCAATRACT AATTAACATC TAAATGATT TTCTTGGTT TTCTGCGGG CAAGGTGGCG	4080
	CTGATGTGGG CAAAGAGCAT GCACCACTG CACATTTCA TCTTCTGTCT CGCGCTGTT	4140
5	CATGTTACCT ACTGCATCAT CACCATGGGT TTAGGGCGC TCAAAGTGAG TTGGTGGTTC	4200
	TGTCCCTCAT GCACATGTT TCTCTAGTTC TAGCAAGATT GTGAGTCCTT CAATGGATT	4260
	CTTTCGACAA GAACCGAAAT TTATTAATTT GCGACTAAAT ATATAATAAT TGATCTTCT	4320
10	TTGGTTTAAAG TGAAGAAATG GAAGAGTGG GAGTCACAGA CCAACTCATT CGAGTATCAG	4380
	TTCGCAATCG GTAGTGAATT AAGAATCTCC CTAACATATT CTTTCAGAA CCTTTATGAT	4440
	AATGCTTGA AAGAGGAGGA CCAATCAGG TGAAAGATAT GATGATCCA TCGAGATCC	4500
15	TCACGATCA CGTTCACGCA TCAAGACCTG TTGGTGAACG GCGACTGCG ATCAATTCTA	4560
	ACACACCCCTG CGCTCAGATG CTTGGTGAAGT TATCAATCTC CGAAEACATG CTTGTTTTT	4620
	ATTCTTGCAA CTGGCGTAGC TGTTCGAATT CTAACCATAT TTTTGAARR AAAAATATT	4680
	CATGCCGTG TTGTTTUTAG GTAGCATCTC TCAAGCAATT CTTGGGCTCC GTCACCAAGG	4740
	TOGACTACCT GACCATGGG CAAAGCTCTA TCAATGATA TACTAATATA AGCTGACCAA	4800
20	TTCAACATGG ATGATCCAAA CAGACACAG CTTTTTTTTT TCGAGTGTGC ATTGGTAAAT	4860
	GGTTTTAAGT TGTCTCTTT TCGAGGGCGA TTTGGTGGCG AATACCAAGT TCGACTTCA	4920
	CAAAATACATC AAGAGGCTTT TGGAGGACAA CTTCACACCT GTGGTGGCGA TCAAGTGGT	4980
25	CCTCGCTTTA TTAAATTAG GACTCTTATA TTCAACATTT TTTTTATAAA GAAACATATT	5040
	TAGTCTCCAG TGTCTATGAT CTATGCGAT CTTGGCTGTT TTGGACCGTC	5100
	CCTCTGTGGT TCGTGGAAAT CTTGGTACTC TTCTCTGATA TCCACGGTAA TCCCTGCTC	5160
	ATTCATTTT TTTTTTACT CTCAACACCT TGTCTGAAT TGTCTTATAA ATCAACCATCG	5220
30	ATTTTTTTTC AACTTTTTCG CGGGGTTAG CTCTTGGGAC ACTTTATTTGG ATCTCTTTTG	5280
	TTCTCTCTG CTCACAGAGGG AATTTTCCCT CTCACAAACAA ACAGTTAACAA TAAATTAATTA	5340
	TCCTTTAATT TATCATGAAA ATTAATATGA TCAATATACT ATGAAACAAA CTCACATGTG	5400
	AATCCACCG TTGTCAGA TCGTCTTUTT AGTGGTGGAC AGAGTAGAGA TCGAGTATCAT	5460
35	GGAGATGGCC CAAAGBACAC AGGACAGGGC CACTGTGTC CAGGGAGCAC CTATGGTTGA	5520
	ACCAACCAAC AGTACTTCTC GGTTCACCG CCTGACTCG CTCTGTTCTC TCAACACCT	5580
	GACACTCTTC CTCACATG TTAAACACCT AAACCTGGCT CTCACACTAC AAATAGTACT	5640
	TTATCTTCA CAATTAACAC CTAATTAACCT AACATACAT CCTACCATTT GTGGCTACTG	5700
40	ATCGATGGG CGACCGATCG ATCATCACCA GAACACATT CAGATGCCG ATTTCTATG	5760
	CACTATGGT TGTATGCTAC TGTCTGTTT CTCACATTA TCACTCTTA ACCAAATTAA	5820
	GTGTTGATGCA TCACTGCTG ATATGAGACAA AAATGACAC AGCTTGTCTA TCGATCTGT	5880
	TGTTTTGTGT GTGACAGGCA ACACCTGGTC TGAGGAATG TTTCCTGAA AAATATGGC	5940
45	TGAGCATGTT GGAAATCTATT GTGGGGATCT CTCTTCAGCT GCTATGCGC TACATCACCT	6000
	TCCCGCTCTA CGCGCTGTC ACACAGGCTGA ACAACGACCT CACAATTCT ATTCGGCGTT	6060
	TCTTAATTGA TGACACTGTT AATTTTGTAG CACACCTTTT GACCATTTG TTTTTAAAAA	6120
	ATATTTATGAT AATTTATCATT TGAGTGTGTT TATCACTAA AGTACTTTT AATTTATTTA	6180
50	TATTTTGCTAT TGTACACATT CTTTTAAATAA CTAATGCTC AAACATGCTG CAAAAGTTA	6240
	ACACATCAT CTATTAAGAA AAGGGGGCT TTTTTTTTTT TCGAATTTCG CAAAATTTGT	6300
	TCAAATACAG TCCAAACACCT TTTTTTTTTT CGAAATTCTA GTTCTACAC CAGTGGCGAT	6360
55	AAATGCTCTT TTCTTATTTT CGACAGATT GAACCATCGA GATGCCCTT GTGGTGGTAT	6420
	GTGTTTTCG CTCACATTCG AGTGGGATCT CTCACATCGA AGACAAATTCT TCGAGGCGCA	6480
	AACGATGAAAG CGGGGGATGAG AGTGGGGGAA GAACCGATCG CAGAAGGAGA AGGGGGGGAA	6540
	CGGGGGGGGG TTGGGGGGGG AGATGGGGGT CGACCTGGCG AGGGGGGGGT CGAGGGGGTC	6600
60	CGGGGGGGGG CGTCACCTGC TCGAGGTACAC AGGGGGGGGG CGACGGGGGG CGAGGGGGAT	6660
	CACGGTGGCG TCAACCGCG CACGGGGGG CACATGTTAC CGTGGGGGGCG CGGGGGGGCG	6720
	TCTGGGGCGC TCGTGTGACGA CGGGGGGGAC AGGAGGTTGA TCGGATGCTC GTGGGGGGAC	6780

# ES 2 317 652 T3

	ATGCCCGATT CTGATTTTC CTTCAGGCA CAACGGTGCAC CGGGGGGATC GGTTTCGTGA	6840
	TTGATGCTGT ACCAAACATA GGAGTTAAT ATATATATAA TTGTTACGGT AAAATCTAAT	6900
5	TATTTGCGC GCACCTTATAT TACTCTTATA CGCGCACTGG TTCGTGATTA GACAAAGGTGA	6960
	TGCATGCTGT TTAGTTATAA AGGATATCAG CGCAGCTAAA AAAACCTTACT CGCTACTTAA	7020
	TAGATGACCT CGTTGATTT TAACATTATT CGCTTATTT AAAAAATTTA TGCAAATGTT	7080
10	TAAAACATAA ATCATGCTTA AAGTACTTTT ACTGATAAAA CGACCTACAA CAAATAAAT	7140
	TATAGTTACC TAATTTTTT 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:

	TTATACCAAG TGACAAAGGC TGGAAAGCTA TCTCTTACG AGGGACGGCT GCATGTTTAT	60
	ATAGGAGGCA TAAGCCCAAG AGATATAACAT CGGGAGAGGT TAAGATCAG TCTATCTTAT	120
35	TTACAGTTTA AACACAAGGA GATAGAAAGA GATGCTAACG TACACATGTT ATACAAGTC	180
	CTPATATAC AAGAGTTATT TCGCTAAACA CCTCCCCCTG TGATATGATA AGTGGGGGGG	240
40	AGAGRGAGAG AGTGTGTGGC TGGCTCGCT GCACGCAAG CACATGTTTA CTTCTCCGAC	300
	TGAAACCCACG CTGAAACCGG CGGGGTGTC GCACTCCCT GACTTTCCAC CGGGGGGTC	360

45

50

55

60

65

# ES 2 317 652 T3

	GGTCCGGACA ATTAACCGT CTGACCTGC CGGGCGTGA CCCGATCGTG ATGTTGGGCC	420
	GCTTGTCTG CAGGGAGCTG CGTGGCGAT CGCAACAAA CTGGGTCACT ATACATGGAT	480
	ACCCCGATA CGCCGACGCT CACCACTAAG TAGGCTGTTG TCCCGCACCA CGGGCTGCC	540
5	CCATTCATG CCATCAGGG CGCACCGCC CGCGAAACCG CGGGCTGCTG CGTGGCAAC	600
	CGGGCGCTG TGACCAAGAC TGGGGCGGC "CATCATAAA" AGCGTCATG "GTTGGCTC"	660
	ACCGGCTGG CGCACACAC CACACTTCAC TGGCGATTC CGACACCGA GAGGGTAGCG	720
10	TAACGTTGTT TTGAGTCTT ACCATTAATT TGGCTGGATC GATGGCTGGG CGGGCGGAG	780
	GTCGGGAGCT GTCGACACGG CGACGCTGG CGTGGCTGT AGTCGCGCCG CTATGATAC	840
	TGGCTCGT CGCCATGGAC CACCGCGCCG ACAAGCTGG CGGGCTGGT CCTCTGGTT	900
15	CACTAGTGT TAATGTTTT TGATGTTTC CGGCCTGTTT GGAGGCTTAC ATGGAGAGTG	960
	TATGAGCCCA AAAGTGGCTT CGCGACCGCA CTTTGGCTG TTTGGTAGG TGATGGGCT	1020
	GAAGAGAGCA TGATCAACT GATGAAAGAA AGGGCTGAG ATAGGCTAGC CGACACGCC	1080
	CGCAGGGCG AGCTGAGCG AGCTATGCTG AGCCACATCA CGTGGCGCC CGGGCGCT	1140
	CGGGCGCTG CGCCCGCCCT CGACCTCTTC CGCCCTCCCT TTGCTACCAA ACACAGTGT	1200
20	ATCCAAACAT GTAAACACAC ATGATGAGC ACCAACACAC TGAGATGAA TGATTCATC	1260
	ATGTTTATAC TTATCAAGCA TGACACAGCA ACACATACCG TAGGGTGAGA AGAGCTGCA	1320
	AACACACCCG TGCACTACT CATGGCTGCG CGGGCTGCG CGTGGGGTGC AGTGGTGGCA	1380
	CAACTGGCCG AAGGAGGCC TGGGGCGGC CGTGGAGAG ATGAAAGGGG AGCTCATGCT	1440
25	GGTGGGCTTC ATATCTCTG TCTCTACGCT CACGGAGCT CGGGCTCCG CGATCTGGCT	1500
	CTCCAAAGGAG CGGGCGAGA AGATGCTCCG GTGCAAGGCT TACGACGGG CGGGGGTGG	1560
	CAAAGGCAAG GACAATCACC CGAAGCTGT CTGGCTCCAA CGGGAGACG AGACCCACCG	1620
	CGGGTCTG CGTGGGGCG CGGGAGTGGA CGTGGCGCCG AAACAGGGA CGACCTAGCG	1680
30	TCGGCAAA CGCAACATA GCTAATGAGC ATGGACCTGA ATTTCCTTC TCTTGGCTT	1740
	GGCTTGACTA ATTGGTGTG CTGAGGCGAG GTGGGGCTGA TGTCAGCGG AGACATGAC	1800
	CAACCTACAA TATTCATGTT CGTGGCTGG CGTGGCCACG TCTTGTACG CGTGGTCAAC	1860
	ATGACGCTAA CGCGCTCTAA AGTGAGCAGC ATACCTGAGC TGTTTGTCAA TAACTCTGG	1920
35	TTTCGAATCC AAATGCAAAAG CGGGCTCTGA TCTGCTGG CGTGGCTGCA GATGAGGAA	1980
	TGAAAGAGCT CGGAGCTGA CGACCGCTCG CGGGAGTATC AGTGGCGAA TGTCAGCTT	2040
	CAACTTTCTG TACTGAAACC GGATGCTATT ACACAAACG CGGGAGGAT CAATCATCAC	2100
	ACTGTGAGCC GATACGTTGA ACCGGTGGAA TCTTGGAGA TCCATGGGG CGGGGGTCA	2160
40	CGGACCAAGAC GACGGTGGTG AGGGGGGAGC CGGGCTCTC CGACACGCC CGGGCTGAG	2220
	CGCTGGCTGC CTTCCTCTGG CAGTCTTCA CGTGGCTGAC CGACGGGGAC TACCTGACCT	2280
	TGGGGCAGGG CTTCATCTAC CGCGATCTCT CGCAAGGGCA CGGGTTGAGC TTCCACAGT	2340
	ACATCAAGAG CGTGGTGGAG CGGGCTCTGA AAATGCTGTT CGCGATGAGG TACCGCCAT	2400
45	TCCTTCTCT CGACAAATTA ATACAGCCAC CACCACTAG GTAGATGAGT AGAGGGATAG	2460
	ATAGATTATA CAAGTGCGGG TACGTAAGCTA CGTCCTATAT GATCTTGACA CATCTGTCT	2520
	CTGGGGCG AGTCAAGGCTC TGTTGGTGG CGGGCTCTAT CGCTTCTCTT GATTTGGACG	2580
	GTAGGCGCTT TGTCCATGCC CTGGCTGCC CGGGCTCTCTC TCTCTCTCAT AATTTGTAA	2640
50	CTGGGGCTT ATATAACAC ACCACCGCTG CTCTCTGCA CGATGGCGA CTCTCTCTG	2700
	GATGTGGTG CTTCCTCTGG TGGTAAGTGC AGATTTGAA TAGACAACCT GTCAATGTT	2760
	GATGTACACT ACCTGAAAC TTAATTAACA TGTCATTTG TGATGCTCTG CGTGTAAACAT	2820
	TAGATCTCT TGTGGGGTGC CGACCAAGCTG GAGATGGNGA TCAAGGAGAT CGGGGGAG	2880
55	ATUCATGAC CGGAGGAGCT CGCGAGGCT CGTGGGGCG CGGGGGGG CGACAGTAC	2940
	TCTGGTCTCA ACCGGCTCTGA CGGGCTCTCG TTCTCTACG ACCTCACACT CTGGAGAAC	3000
	CGGTTTCTGA CGGGCTCTGA CGGGCTCTCG CGGGCTCTAT CGACGAGCT TGACTTCAGT	3060
60	TGGGGTAA CGGACACAA AGTGAACTCA CGGGGGGTA GCAAAAGGAAC GTTGGCTGCT	3120
	TGGGGTAA CGGACACAA AGTGAACTCA CGGGGGGTA GCAAAAGGAAC GTTGGCTGCT	3180
	ACGTTTCTGT CGCTTCTGC CGGATGAGG CGCAATTGG TGACGTTGT TGCACTGGAG	3240

# ES 2 317 652 T3

	GCCACGCCCG GCTTGAAGAA ATGCTTACAC CAGAAAATGG CAATGAGCAT CGCCAAAGGTC 3300
	GTGCTGGGGG TAGCCGCCCA GATCTTGTGC AGCTACATCA CCTTCGGCGCT CTACGGCGTC 3360
5	GTCAACCGAGA TGGGCTCACA CATGAAGAGA AGCATCTTCG ACCAGCAGAC CGCCAAAGGG 3420
	CTGACCAACT GGCGAAGAT GUCCAAAGGAG AAGAAGAAGG CCCGAGACCC CGCCATGCTG 3480
	ATGGCGAGA TGGGGGGGGCG CGCGACGCCG AGCGTCGGCT CGTGGCGCGT GCACCTGCTC 3540
10	CACAGGGCG CGCCCGCGCT CGACGACCC CGAGCCGTC CGGGGTCUCC GAGGGCCGNG 3600
	AAGGAAGGGG CGGGCGTCA GCATCGGGG CGCAAGGTAC CTGGTGTGA CGGGTGGAGG 3660
	TGGGCTCGT CGCGCGCGCT CGACCGTCAC ATCCCCGGTG CAGATTTTGG CTTCAGCCACG 3720
	CAACGTTGAC CGATCAGACA AGTTCCTTTT TTGTTGGTG ATAGAAGCG TATCATTTCA 3780
15	TTGATAGACA GTAGAAATTAA CAGGAATGGC TGTCTACTA CTATGTACAC AAGGGCACAG 3840
	CAAGGGATCA TTGATCTTGT TACAAGAGCA GTAGAAAGGG ATGGCTCTCC ATGGATCTTG 3900
	TTAAGTGTGA TGTCACAAAT TGTGAGAA AAGAGTGTAT GTCATCCAA CCAAGAGCTG 3960
	ACTTTGTGAT GATGGTCA ATAAGAATTG CAGTTTCAC CGAGTCAAA ATGANGCTTC 4020
20	TAAGTACGCA CCAACCAAGG GACTCTTCA TCTCAACAAA AGAACTGTAA ATGGCAATAA 4080
	TTCTGATAAC ATCGGAAGGG AGCTC 4105

25 (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
- 30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc
- (iii) HIPOTÉTICO: Si
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Oryza sativa*
- 40 (vii) FUENTE INMEDIATA:
  - (B) CLON: homólogo *Mlo*
- 45 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DE LA SECUENCIA: 11:

50

55

60

65

ES 2 317 652 T3

	ATGGCAAGTG GGAGATCGG ATCCGGGGAG TTGCGGGAGA CGCGACGTG GCGGTGGCC	60
	GTCTGCTGGG CGCTCTCTGT GCTGCTCTCC CGCGCGATGG AGCAAGGGCT CGACRACCTC	120
	AGCCATAAAA CGACCGAGA AGTTCTCATC TTTCCTTCTCC TATCTGACT CGACAGCTG	180
5	ATGCTGCTGG GCTTCATATC CGCTGCTCTC ACCTGGGCAC AGGCAGCCAT CTCCAGATC	240
	TGCACTCCCAG AGTCGGCTGC CGAACATCTTG TTGGCGTCA AGGCAGGGCA AGATGGCCTC	300
	GAAGAAGAGG CGGCACTGG TGGCGCTCC TTGGCGCTGG CGGGGGGGGG GGACTACTGC	360
10	TOGAAATTG ATGGCAAGGT GGCGCTGATG TGGCAAAAGA CGATGCACCA GTGGCACATT	420
	TTCATCTTGC TTCTGGCGT GTTCACTGTT ACCTACTGCA TCATCACCAT CGTTTTAGGG	480
	CGGCTAAA TGAAGAAATG GAAGAAGTGG GAGTCACAGA CGAACCTATT GGAGTATCAG	540
	TTGGCAATG ATCCCTCAAGT ATTCAGGTTG AGGCATAGA CGTGGTGGT GAAGGGGGAT	600
15	CTGGGATCAT TCTCAAGCAG CGCTGGGCTC AGATGGATGG TAGCATTCTT CGGGAGCTC	660
	TTGGGCTGG CGACCAAGGT GGACTACCTG ACCATGGCGC AGGGCTTCAT CGATGCCAT	720
	TTGTOGAGA ATAGCAAGTT CGACTTCCAC AAATACATCA AGAGGCTTTT GGAGGACGAC	780
	TTCAAAGTGG TGGTGGCAT CGGGCTCCCT CTGTCCTTGG CGGAACTCTT TGTACTCTTC	840
20	CTGGATATCC ACGGCTCTTG CACACTTATT TGGATCTTCTT TTGTCCTCTT CATCATCGTC	900
	TTGTTAGTTG GGACCAAGCT AGAGATGGTG ATCATGGAGA TGGCCCAAGA GATACAGGAC	960
	AGGGCCACTG TGATCCAGGG AGCACCTATG GTTGAACCAA GCAACAAGTA CTCTGGTTTC	1020
25	ACCGCCCTG ACTGGGTCTT GTTCTTCATA CACCTGACAC TCTTCATAA CGCAATTCAG	1080
	ATGGCGCATT CGTGTATGAC TATGGCAACA CCTGGCTGTA AGAAATGCTT CGATGAAAT	1140
	ATTTGGCTGA CGATCGTGGG AGTCATTGTCG GGAGATCTC TTCAGGTGCT ATGCGAGTCAC	1200
	ATCACCTTCC CGCTGTACCC CGTCGTACAA CAGATGGGGAT CGAACATGAA GAAGACAATT	1260
30	TTGGAGGGNC AAACGATGAA CGGGCTGATG AACTGGAGGA AGAAGGGCAT GGAGAAGAAG	1320
	AAGGTCGGG AGCGCGACAC GTTCCCTGGG CGATCGACGG TGCACTTCCG GACGCCCGCG	1380
	TCGAGCCGAT CGCGCTGCGC CGTGCACCTG CTGCAAGTCG CAGGGCGGT CGGACCCCCG	1440
	CGGAGCCCAA TCAAGGTGGC CTCAACCAACGG GCACCGGAGG AGCACATGTA CGGGGTGGCG	1500
35	CGGGGGGGCTG CGTCTGGCA CGCTCTAGAC GACCCGGGGG ACAGGAGGTG GATGGCATCC	1560
	TCTGAGGGGGG ACATGGCGGA TTGTGATTTT TCTTCAGCG CACAAAGGTG A	1611

40 (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 nucléico

(C) DISPOSICIÓN EN H

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN<sub>C</sub>

(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 CGGGGGAGG TCGGGGAGCTG TCGGACAGGC CGACGTGGGC GGTGGCGGTA	60
	GTCCTGGGGG TCAATGATACT CCTCTCGTCG CCCATGGAGC ACGCGCTCCA CAAGCTGGC	120
5	CACTGGTTC ACAGTGGGCTT CAAGAAGGCC CTGGGGGAGG CGCTGGAGAA GTGGAAGGGC	180
	GAGCTCATCG TGGTGGGCTT CATATCCCTG CTGGCTCATCG TCAAGCAGGA TCCCGCTCC	240
	AGGATCTCCA TCTCCAAGGA GGGGGGGAG AGATGCTCC CGTGCAGGC TTACGGACGGC	300
10	GGGGGGGGTG GCAAGGCCA GGACATTCAC CGGAGGGCTTC TCTGGCTCCA AGGGGAGGCC	360
	CAGACCCACC CGCGGTTCTT GCGTGGGGCG CGCGGAGCTG ACGTGTGCGC CAAACAGGGC	420
	AAGGTGGGCG TGATGTCAGC GGGAAAGCATG CACCAACTTC ACATATTTCAT CTTCGCTTC	480
	CGCGCTTTC ACGTTTGTGA CACGGTCTC ACCATGACCC TAAGGGTCT CAAATGAG	540
15	CAATGGAAGA AGTGGGAGTC GGAGACCGCC TCGCTGGAGT ATCACTTCAC GTGATGCCA	600
	TOGGGGTCCC GGTTCACGCC CGAGACGAGG TTGGGTGAGGC GGCACCTGGG CGCTCTCCAC	660
	ACCCCCGGG TGAGATGGGT GGTGGGCTTC TTCAGGGAGT TCTTCACGTC GGTGACCAAG	720
	GTGGACTACC TGACCTTGCG GCAAGGGCTT ATCAACGGCC ATCTCTGCA CGCAACAGG	780
20	TTGGACTTCC ACAAGTACAT CAAGAGGTG TTOGAGGAGC ACTTCAGAT GTGCTGGG	840
	ATCAGTCTCA AGCTCTGGTT CTGGGGCTTC CTCACTCTCTT TCTTGTATTT CGACGGGATC	900
	GGCACTTTC TCTGGATGTC CGTGGTTCTT CTGGTGTACCC TCTTGTGGGT TGGGACCAAG	960
	CTGGAGATGG TGATCATOGA GATGGCCCAAG GAGATCCATG ACCGGGAGAG CGTGTGCAAG	1020
25	GGTGTCTCCC CGGTGGAGCC CAGCAACAGG TACTTCTGGT TCAACCGCC TGACTGGTC	1080
	CTTCTCTCA TGCACCTCAC ACCTCTCCAG AACGGGTTTC AGATGGCTCA TTTCGTGTGG	1140
	ACAGTGGCCA CGCCCCGTTT GAAAGAAATGC TACCAAGGAGA AAATGGCAAT GAGCATGCC	1200
	AAAGTGTGTC TGGGGGTAGC CGCCCGAGTC TTGTGCACT ACATCACTTT CGCGCTCTAC	1260
30	GGGCTCTCA CGCAGATGGG CTCACACATG AAGAGAAGCA TCTTGGAGGA CGAGACGCC	1320
	AAAGGGCTGA CGCAGATGGG ARAAGATGCC AAGGAGAAGA AGAAGGGCCG AGACGGGGCC	1380
	ATGCTGATGCG CGCAGATGGG CGGGGGGGGG AGCGGGAGGCG TGGGCTCTTC CGGGGTGCA	1440
	CTGCTCTCA AGGGGGGGGC CGGGTCCGAC GACGGGAGG CGTGTGCGGC GTCCCCGAGG	1500
35	GGGGAGAAGG AAAGGGGGGG CGTGCAGGAT CGGGGGGAGA AGGTACCTCC TTGTGACGGG	1560
	TGGGGTGG CTCCTCTCCC CGCGCTCCGAC CTCACTATTC CGGGTGTAGA TTTCGGGTT	1620
	ACCAACCAAC GTTGA	1635

40

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

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

45

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

50

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

55

(iii) HIPOTÉTICO: No

55

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

60

(vii) FUENTE INMEDIATA:

60

- (B) CLON: homólogo *Mlo*

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

65

# ES 2 317 652 T3

	GTTGGTACAT AAAAGACTCT TCCCTTGCT GTTTTTTCTT CCCAGATTC TCTTTACTTA	60
	TTGACTAAAT TCTCTCTGTT GTGAGAGATA AATTCGGTCA CGAGAGAGAA CGGATGTCGC	120
5	TGGATTCAC TCCGACCTGG GTCUTCGCCG GAGTTTGAC CGTCATCGC CGGATTCAC	180
	TGGCGGTGGA GCGTTTCTT CACTATTCG GTACTGTTCT TAAAGAAGAG AACGAAAAAC	240
10	CCCTTTACGA AGCCCTTCAA AAGGTTAAG AGAGCTGAT GTTGTAGGG TTTATATCGC	300
	TGTTACTGAC GGTATTCCAA GGCTCAATT CCAAATTCTG TGTCGAAGAA AATGTCCTTA	360
15	TCATATGCT TCCATGTTCT CTGGATTCAA GACGAGAAGC TGGCCAACT GACATATAAA	420
	ACGTTRCAGC AAAAGAACAT TTTCAGACTT TTTTACCTAT TGTGGAACC ACTAGGGTC	480
	TACTTGTGTA ACATGCTCTT GTCAGAGTTG GTTACTGTAG CGAAAGGGT AAAGTACCAT	540
20	TGTTTGCCT TGAGGCCATTG CACCATOTAC ATATTTTCAT CTTUGTCCTC GCGATATCCC	600
	ATGGACACTT CTGTCGTTT ACCTGATTT TTGGAAGGAC AAGGATTCAAC CAATGGAGA	660
	AATGGAGGA TTGCGATGCGA GATGAGAAGT TTGACCCCGA AACAGCTCTC AGAAAAGAA	720
	GGTCACTCA TGACACAAAC CATGCTTTA TAAAGAGGA TTTCTTGGT ATTGGCAAAG	780
25	ATTCAGTCAT CCTGGGATG ACCTGAACTT TTGTCAGAA ATTCTATGAT TGTGTGACGA	840
	AATCAGATTA CGTGACTTCA CGTCTTGTTT TCATTTGAC ACATGTCAG GGAAACCCCA	900
	AGCTTATTT CCACAACAT ATGATGGCGG CTCTAGAGGA TGAATTCAAA CAAGTTGTTG	960
30	GTATTAGTTG GTATCTTTCG ATCTTGTGCG TCACTTTTTT CCTGCTAAAT GTTAACCGAT	1020
	GGCACACATA TTTCCTGATA GCATTTATTC CCTTNGCTT CCTTCTTGT GTGGACAA	1080
	AGTTGGAGCA TGTGATTGCA CGTTAGCTC ATGAAGTTGC AGACAAACAT GTAGCCATTG	1140
	AAAGGAGACTT AGTGGTGAAA CCCTCAGATC ACCATTCTG GTTCAGCAAA CCTCAAATTG	1200
35	TTCTCTACTT GATTCATTTT ATCCTCTTC AGAACTCTT TGAGATTGCG TTTTCTTPTT	1260
	GGATTTGGT TACATACGGC TTGACTCGT GTTATATGGG ACACGTGAGA TACATGGTC	1320
	CAAGATTGGT TATCGGGTC TTCAATCAAG TGCTTTGAG TTACAGTACA CTGGCTCTT	1380
	ACGCCATGCT CTCACACATC GAAAGTAGCT TCAAGAAAGC TATATTGAG GAGAATGIGC	1440
40	AGCTTGCTCT TGTGGTGG OCACAGAAAG TGAAACAAA GAGAGNCCTA AAAGCTGAG	1500
	CTAGTAATGG AGACCAAGGA AGCTCTCAGG CTGGTCTGG TCCGTGATCT CGTTCTGTT	1560
	CTGGCTCTGC TCTGTGCTCT CGTGCAGGTT TTGCAAGGAT TCAGCTCAAC AGACTAAACAA	1620
	GAAGACCC AGGGACACAA AACAAATGAGA TTACACCTGA TCATAACAC TGAGCAGAGA	1680
45	TATTATCTTT TCCATTTAGA CGATCATCAT CGAATTTAG CTCACAGGTC CGGTTTGCG	1740
	GTTCATACAT AAGTTATAGT GACTGATTT TTTTGTTTG TTACAAAGTT ACCATCTTGT	1800
	GATTTAGAATT GGGAAATTGA ATCTGTTGT ATATTTGATT ATTTGAAACA TTGTGGATGC	1860
	CCATGGATAT GTTCTGTT	1920

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

50      (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 536 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

55      (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

60      (iii) HIPOTÉTICO: Si

65      (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: 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 Val Leu Val Ser Ala Ala	
	20 25 30	
5	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	
10	Cys Ile Pro Lys Ser Ala Ala Asn Ile Leu Pro Cys Lys Ala Gly	
	85 90 95	
	Gln Asp Ala Ile Glu Glu Ala Ala Ser Gly Arg Arg Ser Leu Ala	
	100 105 110	
	Gly Ala Gly Gly Asp Tyr Cys Ser Lys Phe Asp Gly Lys Val Ala	
	115 120 125	
15	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 Thr Met Gly Leu Gly	
	145 150 155 160	
20	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	
25	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	
30	Leu Glu Asp Asp Phe Lys 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	
35	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	
40	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	
45	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	
50	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 Phe	
	435 440 445	
	Leu Ala Gln Met Ser Val Asp Phe Ala Thr Pro Ala Ser Ser Arg Ser	
	450 455 460	
55	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	
60	Tyr Pro Val Pro 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:

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 544 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Sí

15 (vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: homólogo *Mlo*

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

25

30

35

40

45

50

55

60

65

# ES 2 317 652 T3

	Met Ala Gly Pro Ala Gly Gly Arg Glu 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	
5	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	
10	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	
15	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	
20	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	
25	Glu Tyr Gln Phe Ala Asn Asp Pro Ser Arg Cys Arg Phe Thr His Gln	
	195 200 205 210	
	Thr Thr Leu Val Arg Arg His Leu Gly Leu Ser Ser Thr Pro Gly Val	
	210 215 220	
30	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	
35	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	
40	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	
45	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	
50	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	
55	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 Ala Arg Asp Ala Ala Met Leu Met Ala	
	450 455 460	
60	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

5  
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 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

10

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

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

### (iii) HIPOTÉTICO: Si

### 25 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

### 30 (vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

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

35 Met Gly His Gly Gly Glu Gly Met Ser Leu Glu Phe Thr Pro Thr Trp  
3 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  
40 Lys Pro Leu Tyr Glu Ala Leu Gln Lys Val Lys Cys Cys Leu Met Leu  
50 55 60

45

50

55

60

65

# ES 2 317 652 T3

5	Leu Gly Phe Ile Ser Leu Leu Ieu 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
10	Arg Leu Leu Ala Glu His Ala Ala Val Gln Val Gly Tyr Cys Ser Glu 130 135 140
	Lys Cys 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
15	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 Asn His Phe Ile Lys Glu His Phe 210 215 220
20	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
30	Leu Asn Val Asn Gly Trp His Thr Tyr Phe Trp Ile Ala Phe Ile Pro 305 310 315 320
	Phe Ala 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
40	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
50	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
60	(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

5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Si

(vi) FUENTE ORIGINAL:

10 (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: homólogo *Mlo*

15 (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															15
Ala	Val	Ala	Val	Val	Cys	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Val	Ser	Val	Ala	Met
	20														30
Glu	His	Ala	Leu	His	Lys	Leu	Gly	Nis	Trp	Phe	His	Lys	Trp	Arg	Lys
	35														45
Lys	Ala	Leu	Gly	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Met	Lys	Ala	Glu	Leu	Met	Leu
	50														60
Val	Gly	Phe	Ile	Ser	Leu	Leu	Ile	Val	Thr	Gln	Asp	Pro	Val	Ser	
	65														80
Arg	Ile	Cys	Ile	Ser	Lys	Glu	Ala	Gly	Glu	Lys	Met	Leu	Pro	Cys	Lys
	85														95
Pro	Tyr	Amp	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Lys	Asp	Asn	His	Arg	Arg		
	100														110
Leu	Leu	Trp	Leu	Gln	Gly	Glu	Ser	Glu	Thr	His	Arg	Arg	Phe	Leu	Ala
	115														125
Ala	Pro	Ala	Gly	Val	Amp	Val	Cys	Ala	Lys	Gln	Gly	Lys	Val	Ala	Leu
	130														140
Met	Ser	Ala	Gly	Ser	Met	His	Gln	Leu	His	Ile	Phe	Ile	Phe	Val	Leu
	145														160

40

45

50

55

60

65

# ES 2 317 652 T3

	Ala Val Phe His Val Leu Tyr Ser Val Val Thr Met Thr Leu Ser Arg 165 170 175
5	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
10	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
15	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
20	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
25	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
30	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
35	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 Ala Arg Asp Ala Ala Met Leu Met Ala 450 455 460
40	Gln Met 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 Val Gln His Pro Ala 500 505 510
45	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

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

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

55 (A) LONGITUD: 536 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: Si

65 (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
15	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 Ala Ala Ser Gly Arg Arg Ser Leu Ala 100 105 110
20	Gly Ala 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 Gln 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
35	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 Gly Ile Ser Leu Pro Leu Trp 260 265 270
40	
45	
50	
55	
60	
65	

# ES 2 317 652 T3

	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	
5	290 295 300	
	Thr Lys Leu Glu Met Val Ile Met Glu Met Ala Gln Gln Ile Gln Asp	
	305 310 315 320	
	Arg Ala Thr Val Ile Gln Gln Ala Pro Met Val Glu Pro Ser Asp Tyr	
10	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 Phe His Glu Asn Ile Trp Leu Ser	
	370 375 380	
15	Ile Val Gln 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 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	
25	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	
30	Tyr Pro Val Pro Ala Ala Ala Ser Arg Gln Leu Leu Asp Asp Pro	
	500 505 510	
	Pro Asp Arg Arg Trp Met Ala 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:

60

# ES 2 317 652 T3

	Met Gly His Gly Gly Glu Glu 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
5	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 Ile
	50 55 60
10	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 His Lys Asn Val Thr
	100 105 110
15	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
20	Lys Gly Lys Val Pro Leu Leu Ser Leu Gln 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
25	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
30	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
35	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
40	Leu Asn Val Asn Gly Trp His Thr Tyr Phe Trp Ile Ala Phe Ile Pro
	305 310 315 320
	Phe Ala 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 Gln Gly Asp
	340 345 350
45	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 Gln
	370 375 380
50	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
55	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
60	Asp Leu Lys 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
65	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:

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

### 10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

### 15 (vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

### 20 (vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

### 25 (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											10				15
Ile	Ser	Leu	Pro	Leu	Trp	Gly	Val	Ala	Ile	Leu	Thr	Leu	Phe	Leu	Amp
									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				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

### 50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

### 55 (iii) HIPOTÉTICO: No

### (vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

### 60 (vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: T22145

### 65 (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											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 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  
25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(iii) HIPOTÉTICO: No  
(vi) FUENTE ORIGINAL:  
20 (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*  
30 (vii) FUENTE INMEDIATA:  
(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  
40 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

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

50 (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:  
(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	5 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	10 Ala His Glu Val Ala Glu Lys His Val Ala Ile Gln Gly Asp Leu Val 65 70 75 80	Val Lys Pro
--	---	---	---	---	-------------

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

15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 32 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
20 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(iii) HIPOTÉTICO. N.

30 (vi) FUENTE ORIGINAL:  
(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:  
(B) CLON: *Mlo*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: NÚ

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:

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 32 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

50

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(iii) HIPOTÉTICO: No  
(vi) FUENTE ORIGINAL:  
                  (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*  
60 (vii) FUENTE INMEDIATA:  
                  (B) CLON: T22146

(xi) DESCRIPCION DE LA SECUENCIA: NUMERO DE IDENTIFICACION DE LA SECUENCIA: 25:

65 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 Gln Val Ala Glu Lys His  
 20 25 30

# ES 2 317 652 T3

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

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 17 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(iii) HIPOTÉTICO: No  
15 (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: 26:

25 

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

  
Phe

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

30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 17 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(iii) HIPOTÉTICO: No  
40 (vi) FUENTE ORIGINAL:  
(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

45 (vii) FUENTE INMEDIATA:  
(B) CLON: T22146

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

50 

Glu	Thr	Ser	Asp	Glu	Nis	Phe	Trp	Phe	Ser	Lys	Pro	Gln	Xaa	Val	Leu
1				5				10					15		

  
Tyr

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

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 96 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(iii) HIPOTÉTICO: No  
65 (vi) FUENTE ORIGINAL:

# ES 2 317 652 T3

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

5

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

Sec	Lys	Phe	Asp	Phe	His	Lys	Tyr	Ile	Lys	Arg	Ser	Met	Glu	Asp	Asp	
1									10						15	
10																
	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	
15																
	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:

20 (A) LONGITUD: 96 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

25 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

30 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

35 (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						80

40 

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:

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 45 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

50 (C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

55 (iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

60 (vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

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

65

ES 2 317 652 T3

Ser	Arg	Phe	Asp	Phe	Arg	Lys	Tyr	Ile	Gln	Arg	Ser	Leu	Glu	Lys	Asp
1				5				10				15			
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 Gln Pro Gly Asp Asp Asp Lys Phe Trp Phe															
				85				90				95			

15 (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: Nō

(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 Phe Asp Phe  
 35 40 45

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

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

(ii) TIPO DE MOLECULA: péptido

55 Ser Lys Thr Arg Val Thr Leu Trp Ile Val Cys Phe Phe Arg Gin 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: Nō

(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:

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  
 10 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  
 15 Gly Val Gly Thr Leu Ile  
 85

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

(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 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

20 (B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

30 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: H76041

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

50 (B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

60 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

65 (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

5 (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

10 15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

20 (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: H76041

25 (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

30

(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

35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

40 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

50 (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 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:

65 (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

5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

10 (A) ORGANISMO: *Arabidopsis thaliana*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: T88073

15 (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								10						15	
Trp	Glu	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				

25 (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

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

35 (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

(vii) FUENTE INMEDIATA:

(B) CLON: *Mlo*

40 (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	Lys	Ser	Lys	Phe	Asp	Phe			
	35				40			45							

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

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 45 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) DISPOSICIÓN EN HEBRAS: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:



# ES 2 317 652 T3

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

15 (iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Hordeum vulgare*

20 (vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: *Mlo*

25 (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									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														

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

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICO: No

(vi) FUENTE ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Oryza sativa*

45 (vii) FUENTE INMEDIATA:

- (B) CLON: D24287

50 (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	Nis	Gly	Trp	Nis	Asn	Leu	Phe	Trp	Phe
	35							40					45		
Ser	Thr	Xaa	Pro	Leu											
	50														

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

65 (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:

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

20 (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

40 (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

45 (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*

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

# ES 2 317 652 T3

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55

His	Trp	Phe	Gln	His	Arg	His	Lys	Ala	Leu	Trp	Glu	Ala	Leu	Glu	
1						5				10			15		
Lys	Met	Lys	Ala	Glu	Ieu	Met	Leu	Val	Gly	Phe	Ile	Ser	Ieu	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:

35  
40  
45  
50  
55

His	Xaa	Ser	Glu	Lys	Thr	His	Arg	Aaa	Pro	Leu	His	Lys	Ala	Met	Glu
1						5				10			15		
Lys	Met	Lys	Glu	Glu	Met	Met	Leu	Leu	Gly	Phe	Ile	Ser	Ieu	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	Aaa	Ser	Aaa	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 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: T22145

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

# ES 2 317 652 T3

	CAAGTATATG ATGCCGCCTC TAGAGGATGA TTTCAAACAA GTTGTGGTA TTAGTGGTA	60
	TCTTTGGNTC TTGTCGTCG TCTTTTTGCT GCTAAATGTT AACGGATGCC ACACATATTT	120
	CTGGATAGCA TTATTCCTC TTGCTTGGCT TCTGGCTGTG GGAACAAAGT TGGACCATGT	180
5	NATGACACAG TTAOCTCATG AAGTTOCAGA GAAACATGTA GGCATTGAAG GAGACTTAGT	240
	GTTGAAACCC NGANATGMNC ATTTCTGTTT CAGGAAACCT CAAATTGTTTCT TCTACTTGAT	300
	CCATTTTAT CCTCTTTCCTC AGATOCNTT TTAGANTGC NTTTTTTNTT TTTGGNNNTT	360
10	GGGTAAANAN ANNGGTTTCG 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 nucléico
- (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 ATGCCGCCTC TAGAGGATGA TTTCAAACAA GTTGTGGTA TTAGTGGTA	60
	TCTTTGGNTC TTGTCGTCG TCTTTTTGCT GCTAAATGTT AACGGATGCC ACACATATTT	120
	CTGGATAGCA TTATTCCTC TTGCTTGGCT TCTGGCTGTG GGAACAAAGT TGGACCATGT	180
	NATGACACAG TTAOCTCATG AAGTTOCAGA GAAACATGTA GGCATTGAAG GAGACTTAGT	240
	GTTGAAACCC CAGATGAGCA TTTCGTTTACG AACAAACCTC AAATGTTCT CTACTNGATC	300
35	CCCTTTATCC CCTTCCAGA ATGCCCTTTT NANGATCNC NTTTTTCCCTT NTTGGANNNT	360
	TTGGGNNNNC AAACGGGNTT NGGACCTCG	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 nucléico
- (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:

	ACAAAGACCA GAGTCACACT ATCGATTGTT TGTGTTTTTA GACAUATGCTT TGGATCTGTC	60
	ACCAAAGATG ATTACTTACG ACTAAGNCAT GGTGTCATCA TGGCCCATTT TGGCTCCCCGGT	120

# ES 2 317 652 T3

	AACGAATCAA GATTCGATTT CGCGAAGTAT ATTCAAGAGAT CATTAGAGAA AGACTTCAAA	180
	ACCGTTGTTG AAATCACTCC GGTATCTGG TTTCGCGCTG TGTATTCCT CTTGACCAAT	240
5	TCAATATGGAT TACGGTTCTTA CCTCTGGTTA CCATTCATTC CACTAGCTGT ATTCTATAA	300
	GTGGAAACAA AGCTTGAACT CATAATAACA AAATGGGTC TAAGGATCCA AGAGGAAGGT	360
	GATGTTGTTGAG GAGGGCCCCC AGTGGTCAG CCTGGTGATG ACCNCTCTTG GTTGTGAAAN	420
10	CACGTTCTAA TTTCCTTCTT ANTCACTTGTG GGTGTTTGTAN GGGTGAATTG CAACTTCATN	480
	CTTGTCTGG CGCGCGATGA TTCAATCCAA AAATTTTCCC CTGAAGNCTN CAAGTTGGG	540
	CATAGGCTTT NGGTGGGTTT TTCAAGATTTT NAGTTTGGCT TCCC	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 nucléico
- 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:

	TCACTTGTAA CCTATGCTTT CGGAAAGATC AAGATGAGGA CTTGGAAAGTC GTCGGAAAGAA	60
	CACACAAACA CAATACACTA TCACTTGTAAAC AAGATGAGGA AAGGTTGAGG GTTTGTGAGG	120
35	GACACATCTT TTGGGAGAG AGATCTCAAT TTCTGGAGCA AGACGGAGGT CACACTATGG	180
	ATGTTTGTGTT TTTTTAGACA GTTCTTGGAA TCTGTCAACCA AAGGTGTTAACTT CTTAACACTA	240
	AGNCATGGGT TCTCTATGGC GCTTTTGGCT CCCGGTAACG AATCAAGAATG CGATTTCCGC	300
40	AAAGTATATTTC AGAGATCATT AGNGNAGAGAC TTCAAAACCG TTGTTTGAAA TCAAGTCCCGT	360
	TATCTGGTTT GTCGGCTGTG CTATTCCTCT TGACCAATTG ATATGGTNTNC GGTNTTNCNC	420
45	TGGTACCAATT ATTCTCTAGC GGAATTTAAA AGTTGGCNGA	480

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

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 476 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucléico
- 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:

5	ATTCCTGGAT CGAAAGAGTG GGAGCAAGAN ACATTATCTA ATGACTATNA CTTTNTCTATT	60
	GATCATTCAA GAGCTTAGGCT CACTCATGAG ACTTCCTTTG TTAGAGAAACA TACAAAGTTTC	120
	TGGACAAACAA CTCCTTTCTC CTPTAACGTC GGATGTTCT TTAGGGAGTT CTTTGATCT	180
	CTNGAAAGAA CGGACTACTT GACTCTGCCG CAGGATTCA NCCTGCCCCA TTTAAGCTCCA	240
10	CGAAGAAAGT TCAACTTCCA GAGATATATC AAANGATCTC TCGAGGATGA TTTCAGTTTC	300
	GTAGTTGGAA TAAGNCCAGT TCTTTCGGCA TCATTTGAA TCTTCCTTGC TGTTCAATGN	360
	TAATGGCTGG GGACCAATTGT TTTGGGCTTC CGTACCGCCT NTACTCANAAG NCCTCAGGTT	420
	TTGGCCAAAGG TTCAAGGAAAT TTNGGGACAA TCGGGTAGAA TCGTCCCGNC ATNNNGC	476

15

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

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: No

30 (vi) FUENTE ORIGINAL:

30	(A) ORGANISMO: <i>Oryza sativa</i>
----	------------------------------------

(vii) FUENTE INMEDIATA:

35	(B) CLON: D24287
----	------------------

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

40	TCTNTWTTNN TTTTGGNNNN CNTCCACCCC TNNNNNTNCTC NANCNNTPN NNNNTTATCTC	60
	TNTTNTTNTC NCNTNTCCCN NCACCAACNN NCAGCGGCGC TCGACTTNC CGNNNTTTC	120
	AGCTGTGCGA CTGNGCTCTG AGACCTACCT TCGCATTTGA CGGACACGAA CTTCANTTC	180
	TGCTCACTTT ATCTCTACGG GACTAGGTC AATTTTCCGA AATACATCAA AAGGNCACNG	240
45	GAGGACGATT TTAAAGACAGT TGTGGGCTT AGTGCACCCN TATGGGCTTC TNGGTTGGCC	300
	ATTAATGCTCT TCAATGTTCA TGGATGGCAT AACCTGTCCT CGTTCCTAC AATWCCCTT	360
	GTTAGTAACT TTACGAGTTG GAAACAAAGCT CGAGGCTATA	400

50

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

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICO: No

65 (vi) FUENTE ORIGINAL:

65	(A) ORGANISMO: <i>Oryza sativa</i>
----	------------------------------------

(vii) FUENTE INMEDIATA:

# ES 2 317 652 T3

(B) CLON: D24131

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

5	CAGCTTACCT GACTTGTGAGG CACGGATTCA TTTCTGCTCA TTTATGCTCA CGGACTAGGT	60
	TCAATTTCG GAAATACATC AAAAGTCAC TGGAGGACGA TTTTAAGACA GTTGTGGCA	120
	TTACTGCACC CTTATGCGCT TCTGCGTTGG CCATATGCT CTTAATGTT CATGGATGGC	180
10	ATAAATTGTT CTGGTTCTCT ACAATCCCCC TKGAGTAAC TTTAGCAGTT CGAACAAAGC	240
	TGCAGGCTAT AATTCGAATG ATGGCTGTG AAATTAAGA GAGGCATACA GAAATTCAAG	300
	GAATCCCGT GGTGAACCTCA GTGAT	325

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65