



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 341 238**

51 Int. Cl.:
C12N 15/82 (2006.01)
C12N 15/24 (2006.01)
A01H 5/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03764981 .1**
96 Fecha de presentación : **14.07.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1525315**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.04.2005**

54 Título: **Procesos para lograr una resistencia a patógenos en vegetales.**

30 Prioridad: **22.07.2002 DE 102 33 327**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.06.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.06.2010

73 Titular/es: **BASF Plant Science GmbH**
67056 Ludwigshafen, DE

72 Inventor/es: **Kogel, Karl-Heinz;**
Hückelhoven, Ralph y
Trujillo, Marco

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 341 238 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

Procesos para lograr una resistencia a patógenos en vegetales.

- 5 La invención se refiere a la generación o al incremento de una resistencia frente a un patógeno fúngico o a un patógeno similar a un hongo en plantas monocotiledoneas mediante la disminución de la expresión, actividad o función de una oxidasa NADPH.

10 Es meta de trabajos biotecnológicos en vegetales la producción de plantas con propiedades novedosas, ventajosas, por ejemplo para el aumento de la productividad agrícola. Con frecuencia, los mecanismos naturales de defensa de la planta son insuficientes frente a los patógenos. Solas las enfermedades por hongos conducen a pérdidas en las cosechas en una cuantía de muchos millardos de dólares estadounidenses al año. La introducción de genes ajenos de vegetales, animales o fuentes microbianas puede fortalecer las defensas. Son ejemplos la protección frente a ser devorados por insectos mediante la expresión de endotoxinas de *Bacillus thuringiensis* (Vaeck *et al.* (1987) Nature 328:33-37) o la protección frente a la infestación de hongos mediante expresión de una quitinasa de frijol. (Broglie *et al.* (1991) Science 254:1194-1197). Sin embargo, la mayoría de los planteamientos descritos garantizan solo una resistencia frente a un patógeno individual o frente a un espectro estrecho de patógenos.

20 Hay solo unos pocos planteamientos que confieren una resistencia a las plantas una resistencia frente a un espectro amplio de patógenos. La resistencia sistémica adquirida ("systemic acquired resistance"; SAR), que es un mecanismo de defensa en las diversas interacciones entre planta/patógeno, puede suministrarse mediante aplicación de sustancias mensajeras endógenas como el ácido jasmónico (JA) o el ácido salicílico (SA) (Ward *et al.* (1991) Plant Cell 3:1085-1094; Uknes *et al.* (1992) Plant Cell 4 (6): 645-656). También pueden producirse efectos similares por compuestos sintéticos como el ácido 2,6-diclorisonicotínico (INA) o el éster S-metilico del ácido benceno(1,2,3)tiadiazol-7-tiocarboxílico (BTH; Bionr) (Friedrich *et al.* (1996) Plant J 10(1):61-70; Lawton *et al.* (1996) Plant J 10:71-82). La expresión de una proteína altamente regulada "pathogenesis related" (PR) (relacionada con la patogénesis), en el contexto de un SAR, también está en capacidad de producir en parte una resistencia al patógeno.

30 En cebada se ha descrito el locus Mlo como regulador negativo de la defensa ante patógeno. La pérdida del gen Mlo implica una resistencia elevada y no específica por raza frente a las numerosas especies de mildiú (Büschges R *et al.* (1997) Cell 88:695-705; Jorgensen JH (1977) Euphytica 26:55-62; Lyngkjaer MF *et al.* (1995). Probablemente debido a la recesividad, a pesar de un proceso de cultivo intenso, la resistencia ha demostrado ser duradera. No se han descrito resistencias similares a Mlo en otros vegetales, ante todo en variedades de cereales. El gen Mlo y diversos homólogos de otras variedades de cereal se han identificado y clonado (Büschges R *et al.* (1997) Cell 88:695-705; WO 98/04586; Schulze-Lefert P, Vogel J (2000) Trends Plant Sci. 5:343-348). Se han descrito diversos métodos usando estos genes para lograr una resistencia ante el patógeno (WO 98/04586; WO 00/01722; WO 99/47552). Es desventajoso que el mecanismo de defensa proporcionado por Mlo abarque una muerte espontánea de las células en las hojas (Wolter M *et al.* (1993) Mol Gen Genet 239:122-128). También es desventajoso que los genotipos deficientes de Mlo muestren una hipersusceptibilidad frente a patógenos hemibiotróficos, tales como *Magnaporthe grisea* (M. grisea) así como *Cochliobolus sativus* (*Bipolaris sorokiniana*) (Jarosch B *et al.* (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:508-514; Kumar J *et al.* (2001) Phytopathology 91:127-133).

45 A la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS; por ejemplo, superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radicales hidroxilo y H_2O_2) se asigna una función protectora importante en la reacción sobre patógenos vegetales (Wojtaszek P (1997) Biochem J 322: 681-692). Se conocen diversas rutas de cómo una célula es capaz de producir ROS. En los macrófagos de mamíferos debe nombrarse aquí en especial la oxidasa de NADPH la cual es capaz de transferir electrones al oxígeno molecular. Las enzimas homólogas también se han identificado en vegetales (Lamb & Dixon (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:251).

50 Se ha mostrado que las mutaciones en la sub-unidad catalítica de la oxidasa NADPH en *Arabidopsis thaliana* muestran una acumulación reducida de los intermediarios reactivos de oxígeno (ROI, por sus siglas en inglés). Con respecto a la reacción hipersensible (HR) el cuadro no era uniforme: en un mutante doble se encontró una HR reducida al infectarse con la bacteria avirulenta *Pseudomonas syringae* mientras que con el oomicetes virulento *Peronospora parasitica* se detectó una HR elevada. El crecimiento, de las cepas de *P. Syringae*, tanto virulentas como también avirulentas, fue no obstante invariable en comparación con las plantas del tipo silvestre. (Torres MA *et al.* (2002) Proc Natl Acad Sci USA 99: 517-522). Así mismo, la inhibición de la oxidasa NADPH por medio del inhibidor cloruro de difenilenyodonio (DPI) - al emplear concentraciones fisiológicamente relevantes, no tuvo efecto en el desarrollo de hongos patógenos (Hückelhoven R & Kogel KH (1998) Mol Plant Microbe Interact 11:292-300). Se ha descrito un fragmento de cADN de una oxidasa NADPH fagocítica de cebada (pNAox, homólogo de la subunidad grande gp91phox de una oxidasa NADPH fagocítica) bajo el número de cuenta del banco genético Gen-Bank Acc.-No.: AJ251717.

65 La tarea en la que se fundamenta la invención es suministrar nuevos procesos para la defensa frente a patógenos en vegetales, que generen una defensa eficiente de un espectro lo más amplio posible de patógenos en la mayor cantidad de variedades posibles, preferiblemente en las plantas de cultivo usadas en la agricultura. Esta tarea se resuelve mediante el proceso de acuerdo con la invención.

Un primer objeto de la invención comprende un proceso para la generación o incremento de la resistencia frente a al menos un hongo patógeno o un patógeno similar a un hongo en plantas monocotiledóneas, caracterizado porque comprende los siguientes pasos de trabajo

- 5 a) Disminución de la cantidad de proteína, actividad o función de una oxidasa NADPH en una planta o un tejido, órgano, parte o célula de la misma y
- b) Selección de las plantas en las que, a diferencia o en comparación con la planta de partida, ya existe o se incrementa la resistencia frente a al menos un patógeno.

10

De manera sorprendente, la disminución de la expresión de una oxidasa NADPH de cebada (pNAox) en la célula epidérmica mediante un planteamiento de interferencia de ARN específica usando pNAox-dsARN (“Gene-Silencing”) bicatenario muestra una infestación significativamente reducida a consecuencia de una infección Bgh (medida por medio de la formación de haustorio). Este hallazgo es particularmente sorprendente puesto que a la liberación de especies reactivas de oxígeno (“oxidative burst”), que se asocia con oxidasa NADPH, generalmente se atribuye una función protectora.

15

De manera similar al Mlo, la disminución de la expresión de oxidasa NADPH proporciona una amplia resistencia a diversos aislados de *Blumeria graminis* f.sp. hordei. En experimentos de “gene-silencing” transitorio la eficiencia de penetración (formación de haustorios) de Bgh se reduce significativamente en más de 35%, un efecto que, en su intensidad, corresponde al efecto obtenido por medio de Mlo-dsARN (Schweizer P *et al.* (2000) Plant J 24:895-903). En variedades de cebada Pallas del tipo silvestre, aproximadamente 40% de la penetración del hongo da lugar a una formación de haustorios, mientras que la rata de penetración en el caso de una disminución de la expresión de oxidasa de NADPH mediante introducción de un ARN bicatenario de la oxidasa NADPH (pNAox-dsARN) solo alcanza aproximadamente 25%. El hecho de que incluso en variedades de tipo silvestre, sensibles a patógenos, como pallas solo puede observarse una penetración de aproximadamente 40 a 50%, puede atribuirse a la resistencia basal que siempre está presente. Debido a este hallazgo, la oxidasa NADPH debe entenderse como el elemento clave para la penetración exitosa de un patógeno como Bgh en la célula vegetal. Además, el método es superior a todos aquellos métodos donde se genera un fenotipo resistente a patógeno mediante sobre-expresión de una proteína que proporciona resistencia. La desconexión de un gen puede realizarse sin expresión de una proteína (ajena). En el caso ideal solo se desactiva el gen endógeno. Esto tiene ventajas nada despreciables en el caso de aprobación y aceptación por parte del consumidor quien frecuentemente se enfrenta con reservas a los vegetales con proteínas ajenas. En este contexto, es particularmente ventajoso el uso de promotores inducibles para la disminución de la cantidad de oxidasa NADPH, actividad o función, lo cual, en el uso por ejemplo de promotores inducibles por patógeno, hace posible una expresión solo en caso de necesidad (es decir, infestación de patógenos).

25

30

35

El método puede usarse en teoría sobre todos las variedades de vegetales. Preferible sobre aquellos en los que se expresa de manera natural una oxidasa NADHP o un equivalente funcional.

40

“Plantas” en el contexto de la invención significan todos los géneros y especies de los vegetales superiores e inferiores del reino vegetal. En este concepto se incluyen plantas maduras, material de semilla, retoños y plántulas, así como las partes derivables de las mismas, material de reproducción, órganos vegetales, tejidos, protoplastos, callo y otros cultivos, por ejemplo cultivos celulares, así como otros tipos de agrupaciones de células vegetales que dan lugar a unidades funcionales o estructurales. Plantas maduras significan plantas en cualquier etapa de desarrollo más allá de la de plántula. Plántula significa una plántula joven, inmadura en una etapa temprana de desarrollo. “Plantas” comprende todas las plantas monocotiledóneas, anuales y perennes, e incluye por ejemplo, aunque no se limita a aquellas de los géneros Lotus, Onobrychis, Trigonella, Manihot, Hyoscyamus, Solarium, Heterocallis, Nemesis, Panieum, Pennisetum, Lolium, Oryza, Zea, Avena, Hordeum, Secale, Triticum, Sorgo, Picea.

50

El término “planta” comprende preferiblemente plantas de cultivo monocotiledóneas, como por ejemplo variedades de cereal, tales como trigo, cebada, mijo, centeno, triticale, maíz, arroz, sorgo o avena y caña de azúcar y cebolla, ajo, piña, y de las diversas variedades de árboles, arbustos, nueces y vides. Las variedades de árboles comprenden preferiblemente banana, mango.

55

Además están comprendidas las plantas ornamentales, los árboles provechosos y ornamentales, flores, flores cortadas, arbustos o céspedes, como por ejemplo, pero sin limitar, las familias de las rosáceas como rosas, ericaceae como rododendros y azaleas, euphorbiaceae como flor de pascua (poinsetia) y crotón, caryophyllaceae como clavel, solanaceae como petunias, gesneriaceae como violetas africanas, balsaminaceae como impatiens glandulifera, orchidaceae como orquídeas, iridaceae como gladiolos, iris, freesia y crocus, compositae como caléndula, geraniaceae como geranios, liliaceae como drácena, moraceae como ficus, araceae como filodendro y otras más.

60

En el contexto de la invención se prefieren aquellas plantas que se emplean como productos alimenticios para personas o animales, muy particularmente se prefieren géneros y variedades de monocotiledóneas, como las descritas variedades de cereales.

65

Muy particularmente se prefiere emplear el método en plantas monocotiledóneas con importancia agrícola, como trigo, avena, mijo, cebada, centeno, maíz, arroz, trigo sarraceno o alforfón, sorgo, triticale, escanda, semillas de lino o caña de azúcar.

“Resistencia a patógenos” significa la disminución o debilitamiento de síntomas de enfermedad de una planta a causa de una infestación por un patógeno. Los síntomas pueden ser de múltiples tipos, pero comprenden preferiblemente aquellos que conducen directa o indirectamente a un perjuicio en la calidad de la planta, de la cantidad de la cosecha, de la aptitud para el uso como producto alimenticio para personas o para animales o también impiden la siembra, el cultivo, la cosecha o el procesamiento del material cosechado.

“Conferir”, “existir”, “generar” o “aumentar” una resistencia a patógenos significa que los mecanismos de defensa de una especie o variedad determinadas de plantas presentan una resistencia elevada frente a uno o varios patógenos mediante el uso del método según la invención en comparación con el tipo silvestre de la planta (“planta original”), en el cual no se ha aplicado el método de acuerdo con la invención, en condiciones por demás iguales (como, por ejemplo, condiciones de clima o de cultivo, especie de patógeno, etc). En este caso la resistencia elevada se manifiesta preferiblemente en una expresión reducida de los síntomas de la enfermedad; los síntomas de la enfermedad, además de los perjuicios arriba mencionados, también comprenden, por ejemplo, la eficiencia de penetración de un patógeno en la planta o en las células vegetales o la eficiencia de proliferación en o sobre las mismas. En tal caso se reducen los síntomas de enfermedad preferible en al menos 10% o al menos 20%, particularmente preferible en al menos 40% ó 60%, muy particularmente preferible en al menos 70% ó 80%, lo más preferible en al menos 90% ó 95%.

“Selección” significa con respecto a las plantas en las que, a diferencia de o en comparación con las plantas de partida, existe o se incrementa la resistencia contra al menos un patógeno, todos los métodos que son adecuados para el reconocimiento de una resistencia a patógenos, existente o elevada. Estos pueden ser síntomas de la infección con el patógeno (por ejemplo formación de haustoria en el caso de infección con hongos) pero también pueden comprender los síntomas arriba descritos que afectan la calidad del vegetal, la cantidad de la cosecha, la aptitud para el uso como producto alimenticio para personas o animales, etc.

“Patógeno” significa, por ejemplo, aunque de manera no limitante, virus o viroides, bacterias, hongos, plagas animales, como por ejemplo insectos o nematodos. En el marco de la invención particularmente se prefieren hongos como, por ejemplo, el mildiú. Sin embargo, es de suponerse que la disminución de la expresión de una oxidasa NADPH, de su actividad o función, también produce una resistencia frente a otros patógenos. A continuación se nombran patógenos a manera de ejemplo, sin pretender limitar a los mismos:

1. Patógenos fúngicos o patógenos similares a hongos

Patógenos fúngicos (como, por ejemplo, chromista) provienen preferiblemente del grupo que comprende plasmidioforomicetes, oomycetes, ascomycetes, chytridiomycetes, zygomycetes, basidiomycetes y deuteromicetes (fungi imperfecti). A manera de ejemplo, pero sin ser limitantes, en las tablas 1 y 2 pueden nombrarse los patógenos mencionados y las enfermedades relacionadas con ellas.

TABLA 1

Enfermedades fúngicas vegetales

Enfermedad	Patógeno
Roya parda	Puccinia recondita
Roya amarilla	P. striiformis
Mildiú genuino	Erysiphe graminis / Blumeria graminis
Septoriosis	Septoria nodorum
Sequedad de hoja por septoriosis	Septoria tritici

ES 2 341 238 T3

	Enfermedad	Patógeno
	Fusariosis de las espigas	Fusarium spp.
5	Mancha ocular	Pseudocercospora herpotrichoides
	Carbón	Ustilago spp.
	Caries del trigo	Tilletia caries
10	Pie negro	Gaeumannomyces graminis
15	Tizón de la hoja por antracnosis (Anthracnose leaf blight) (podredumbre de tallo) Anthracnose stalk rot	Colletotrichum graminicola (teleomorph: Glomerella graminicola Politis); Glomerella tucumanensis (anamorph: Glomerella falcatum Went)
	Aspergillus ear and kernel rot (podredumbre de espiga y del grano)	Aspergillus flavus
20	Banded leaf and sheath (hoja y vaina rayadas) spot ("matador de raíz")	Rhizoctonia solani Kuhn = Rhizoctonia microsclerotia J. Matz (telomorph:
25	Black bundle disease (enfermedad de haz negro)	Acremonium strictum W. Gams = Cephalosporium acremonium Auct. non Corda
	Black kernel rot (Roya de grano negra)	Lasiodiplodia theobromae = Botryodiplodia theobromae
30	Borde blanco	Marasmiellus sp.
	Brown spot (Mancha parda) (black spot, stalk rot, (mancha negra, roya de tayo))	Physoderma maydis
35	Cephalosporium kernel rot (de grano)	Acremonium strictum = Cephalosporium rot acremonium
	Charcoal rot (podredumbre de carbón)	Macrophomina phaseolina
40	Corticium ear rot (podredumbre de espiga)	Thanatephorus cucumeris = Corticium sasakii
45	Curvularia leaf spot (mancha de hoja)	Curvularia clavata, C. eragrostidis = C. maculans (teleomorph: Cochliobolus eragrostidis), Curvularia inaequalis, C. intermedia (teleomorph: Cochliobolus intermedius), Curvularia lunata (teleomorph: Cochliobolus lunatus), Curvularia pallescens (teleomorph: Cochliobolus pallescens), Curvularia senegalensis, C. tuberculata (teleomorph: Cochliobolus tuberculatus)
50		
55	Didymella leaf spot	Didymella exitalis
	Diplodia ear rot and stalk rot	Diplodia frumenti (teleomorph: Botryosphaeria festucae)
60	Diplodia ear rot, stalk rot, seed rot and seedling blight (podredumbre, podredumbre de semilla y tizón de semillero o plántula)	Diplodia maydis = Stenocarpella maydis
65	Diplodia leaf spot (mancha de hoja) or streak	Stenocarpella macrospora = Diplodia leaf macrospora

ES 2 341 238 T3

TABLA 2

Mildiú falso

Enfermedad	Patógeno
Brown stripe downy mildew	Sclerophthora rayssiae var. zeae
Crazy top downy mildew	Sclerophthora macrospora = Sclerospora macrospora
Green ear downy Mildiú (graminicola downy mildew)	Sclerospora graminicola
Java downy mildew	Peronosclerospora maydis = Sclerospora maydis
Philippine downy mildew	Peronosclerospora philippinensis = Sclerospora philippinensis
Sorgo downy mildew	Peronosclerospora sorghi = Sclerospora sorghi
Spontaneum downy mildew	Peronosclerospora spontanea = Sclerospora spontanea
Sugarcane downy mildew	Peronosclerospora sacchari = Sclerospora sacchari
Dry ear rot (cob, kernel and stalk rot)	Nigrospora oryzae (teleomorph: Khuskia oryzae)
Ear rots, minor	Alternaria alternata = A. tenuis, Aspergillus glaucus, A. niger, Aspergillus spp., Botrytis cinerea (teleomorph: Botryotinia fuckeliana), Cunninghamella sp., Curvularia pallescens, Doratomyces stemonitis = Cephalotrichum stemonitis, Fusarium culmorum, Gonatobotrys simplex, Pithomyces maydis, Rhizopus microsporus Tiegh., R. stolonifer = R. nigricans, Scopulariopsis brumptii
Ergot(horse's tooth)	Claviceps gigantea (anamorph: Sphacelia sp.)
Eyespot	Aureobasidium zeae = Kabatiella zeae
Fusarium ear and stalk rot	Fusarium subglutinans = F. moniliforme var.subglutinans
Fusarium kernel, root and stalk rot, seed rot and seedling blight	Fusarium moniliforme (teleomorph: Gibberella fujikuroi)
Fusarium stalk rot, seedling root rot	Fusarium avenaceum (teleomorph: Gibberella avenacea)
Gibberella ear and stalk rot (podredumbre de	Gibberella zeae

ES 2 341 238 T3

Enfermedad	Patógeno
espiga y tallo)	(anamorph: Fusarium graminearum)
Gray ear rot	Botryosphaeria zeae = Physalospora zeae (anamorph: Macrophoma zeae)
Gray leaf spot (Cercospora leaf spot)	Cercospora sorghi = C. sorghi var. maydis, C. zeae-maydis
Helminthosporium root rot	Exserohilum pedicellatum = Helminthosporium pedicellatum (teleomorph: Setosphaeria pedicellata)
Hormodendrum ear rot (Cladosporium rot)	Cladosporium cladosporioides = Hormodendrum cladosporioides, C. Herbarum (teleomorph: Mycosphaerella tassiana)
Hyalothyridium leaf spot	Hyalothyridium maydis
Late wilt	Cephalosporium maydis
Leaf spots, minor	Alternaria alternata, Ascochyta maydis, A. tritici, A. zeicola, Bipolaris victoriae = Helminthosporium victoriae (teleomorph: Cochliobolus victoriae), C. sativus (anamorph: Bipolaris sorokiniana = H. sorokinianum = H. sativum), Epicoccum nigrum, Exserohilum prolatum = Drechslera prolata (teleomorph: Setosphaeria prolata) Graphium penicillioides, Leptosphaeria maydis, Leptothyrium zeae, Ophiosphaerella herpotricha, (anamorph: Scolecosporella sp.), Paraphaeosphaeria michotii, Phoma sp., Septoria zeae, S. zeicola, S. zeina
Northern corn leaf blight (white blast, crown stalk rot, stripe)	Setosphaeria turcica (anamorph: Exserohilum turcicum = Helminthosporium turcicum)
Northern corn leaf spot Helminthosporium ear rot (race 1)	Cochliobolus carbonum (anamorph: Bipolaris zeicola = Helminthosporium carbonum)
Penicillium ear rot (blue eye, blue mold)	Penicillium spp., P. chrysogenum, P. expansum, P. oxalicum
Phaeocystostroma stalk and root rot	Phaeocystostroma ambiguum, = Phaeocystotrot sporella zeae
Phaeosphaeria leaf spot	Phaeosphaeria maydis = Sphaerulina maydis
Physalospora ear rot (Botryosphaeria ear rot)	Botryosphaeria festucae = Physalospora zeicola (anamorph: Diplodia frumenti)
Purple leaf sheath	Hemiparasitic bacteria and fungi
Pyrenochaeta stalk rot and root rot	Phoma terrestris = Pyrenochaeta terrestris
Pythium root rot	Pythium spp., P. arrhenomanes, P. graminicola
Pythium stalk rot	Pythium aphanidermatum = P. butleri L.

ES 2 341 238 T3

Enfermedad	Patógeno
Red kernel disease (ear mold, leaf and seed rot)	<i>Epicoccum nigrum</i>
Rhizoctonia ear rot (sclerotial rot)	<i>Rhizoctonia zeae</i> (teleomorph: <i>Waitea circinata</i>)
Rhizoctonia root rot and stalk rot	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Rhizoctonia zeae</i>
Root rots, minor	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Cercospora sorghi</i> , <i>Dictochaeta fertilis</i> , <i>Fusarium acuminatum</i> (teleomorph: <i>Gibberella acuminata</i>), <i>F. equiseti</i> (teleomorph: <i>G. intricans</i>), <i>F. oxysporum</i> , <i>F. pallidoroseum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>G. cyanogena</i> , (anamorph: <i>F. sulphureum</i>), <i>Microdochium bolleyi</i> , <i>Mucor</i> sp., <i>Periconia circinata</i> , <i>Phytophthora cactorum</i> , <i>P. drechsleri</i> , <i>P. Nicotianae</i> var. <i>parasitica</i> , <i>Rhizopus arrhizus</i>
Rostratum leaf spot (<i>Helminthosporium</i> leaf disease, ear and stalk rot)	<i>Setosphaeria rostrata</i> , (anamorph: <i>Exserohilum rostratum</i> = <i>He/minthosporium rostratum</i>)
Rust, common corn	<i>Puccinia sorghi</i>
Rust, southern corn	<i>Puccinia polysora</i>
Rust, tropical corn	<i>Physopella pallescens</i> , <i>P. zeae</i> = <i>Angiopsora zeae</i>
Sclerotium ear rot (southern blight)	<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. (teleomorph: <i>Athelia rolfsii</i>)
Seed rot-seedling blight	<i>Bipolaris sorokiniana</i> , <i>B. zeicola</i> = <i>Helminthosporium carbonum</i> , <i>Diplodia maydis</i> , <i>Exserohilum pedicellatum</i> , <i>Exserohilum turcicum</i> = <i>Helminthosporium turcicum</i> , <i>Fusarium avenaceum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>Gibberella zeae</i> (anamorph: <i>F. graminearum</i>), <i>Macrophoma phaseolina</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>R. zeae</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Spicaria</i> sp.
Selenophoma leaf spot	<i>Selenophoma</i> sp.
Sheath rot	<i>Gaeumannomyces graminis</i>
Shuck rot	<i>Myrothecium gramineum</i>
Silage mold	<i>Monascus purpureus</i> , <i>M. ruber</i>
Smut, common	<i>Ustilago zeae</i> = <i>U. maydis</i>
Smut, false	<i>Ustilagoidea virens</i>
Smut, head	<i>Sphacelotheca reiliana</i> = <i>Sporisorium holcisorghi</i>
Southern corn leaf blight and stalk rot	<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (anamorph: <i>Bipolaris maydis</i> = <i>Helminthosporium maydis</i>)
Southern leaf spot	<i>Stenocarpella macrospora</i> = <i>Diplodia macrospora</i>
Stalk rots, minor	<i>Cercospora sorghi</i> , <i>Fusarium episphaeria</i> , <i>F.</i>

Enfermedad	Patógeno
	merismoides, F. Oxysporum Schlechtend, F. poae, F. roseum, F. solani (teleomorph: Nectria haematococca), F. tricinctum, Mariannaea elegans, Mucor sp., Rhopoglyphus zeae, Spicaria sp.
Storage rots	Aspergillus spp., Penicillium spp. and other fungi
Tar spot	Phyllachora maydis
Trichoderma ear rot and root rot	Trichoderma viride = T. lignorum teleomorph: Hypocrea sp.
White ear rot, root and stalk rot	Stenocarpella maydis = Diplodia zeae
Yellow leaf blight	Ascochyta ischaemi, Phyllosticta maydis (teleomorph: Mycosphaerella zeae-maydis)
Zonate leaf spot	Gloeocercospora sorghi

Particularmente se prefieren

- Plasmodiophoromycetes como *plasmodiophora brassicae* (hernia de crucíferas, clubroot of crucifers), spongospora subterránea (powdery scab of potato tubers), *polymyxa graminis* (root disease of cereals and grasses),

- Oomycetes como *bremia lactucae* (falso mildiú en lechuga), peronospora (falso mildiú) en boca de dragón (*P. antirrhini*), cebolla (*P. destructor*), espinaca (*P. effusa*), habas de soja (*P. manchurica*), tabaco ("blue mold" = moho azul; *P. tabacina*) alfalfa y trébol (*P. trifolium*), *pseudoperonospora humuli* (falso mildiú en lúpulo), plasmopara (falso mildiú en uvas) (*P. viticola*) y girasol (*P. halstedii*), *sclerophthora macrospora* (falso mildiú en cereales y gramas), pythium (seed rot (roya de semilla), seedling damping-off (marchitamiento de los semilleros o de las plántulas), and root rot and all types of plants (y roya de raíz en todo tipo de plantas), por ejemplo marchitamiento fúngico en remolacha en beta-remolacha por *P. debaryanum*), *phytophthora infestans* (tizón de hierba y bulbos en patata, podredumbre parda en tomate etc.), Albugo spec. (white rust on cruciferous plants (roya blanca en plantas crucíferas).

- Ascomycetes como *Microdochium nivale* (Marchitamiento bajo nieve en centeno y trigo), *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* (Pudrición de espigas ante todo en trigo), *Fusarium oxysporum* (marchitez por fusarium en tomate), *Blumeria graminis* (mildíu genuino en cebada (f.sp. hordei) y trigo (f.sp. tritici)), *Erysiphe pisi* (mildíu de arveja), *Nectria galligena* (chancro de árbol frutal), *Unicnula necator* (mildíu genuino de la vid), *pseudopeziza tracheiphila* (fuego rojo de la vid), *Claviceps purpurea* (cornezuelo en centeno y gramíneas, por ejemplo), *Gaeumannomyces graminis* (pie negro en trigo, centeno entre otras gramíneas), *magnaporthe grisea* (rice blast disease o enfermedad de quemado de arroz), *Pyrenophora graminea* (enfermedad de rayas en cebada), *pyrenophora teres* (manchas de red en cebada), *pyrenophora tritici-repentis* (enfermedad de manchas en hoja (sequedad de hoja por septorios) en trigo), *venturia inaequalis* (roña del manzano), *sclerotinia sclerotium* (ruptura blanca de tallo, viruela de colza), *Pseudopeziza medicaginis* (mancha en la hoja de alfalfa, trébol blanco y rojo).

- Basidiomycetes como *Typhula incarnata* (tizón de typhula en cebada, centeno, trigo), *Ustilago maydis* (fuego o carbón de vejiga en maíz), *Ustilago nuda* (fuego o carbón volador en cebada), *Ustilago tritici* (fuego o carbón volador en trigo, espelta), *Ustilago avenae* (carbón volador en avena), *Rhizoctonia solani* (matador (podredumbre) de raíz en patata), *Sphacelotheca spp.* (head smut of (carbón de cabeza de) sorgo), *Melampsora lini* (rust of flax (roya de lino), *Puccinia graminis* (roya negra en trigo, cebada, centeno, avena), *Puccinia recóndita* (roya parda en trigo), *Puccinia dispersa* (roya parda en centeno), *Puccinia hordei* (roya parda en cebada), *Puccinia coronata* (roya de corona en avena), *Puccinia striiformis* (roya amarilla en trigo, cebada, centeno así como numerosas gramíneas), *Uromyces appendiculatus* (roya de frijol), *Sclerotium rolfsii* (root and stem rots of many plants (podredumbre en raíz y tallo de muchas plantas).

- Deuteromycetes (*Fungi imperfecti*) como *Septoria nodorum* (septorios) en trigo (*Septoria tritici*), *Pseudocercospora herpotrichoides* (mancha ocular en trigo, cebada, centeno), *Rhynchosporium secalis* (enfermedad de manchas en la hoja de centeno y cebada), *Alternaria solani* (enfermedad de tizón en patata, tomate), *Phoma betae* (marchitamiento fúngico en beta-remolacha), *Cercospora beticola* (cercospora- enfermedad de pie negro en beta-remolacha), *Alternaria brassicae* (manchas negras en colza, col, y otras crucíferas), *Verticillium dahliae* (marchitamiento de colza y pudrición de tallo), *Colletotrichum lindemutianum* (enfermedad de manchas de quemadura en frijol), *Phoma lingam* - enfermedad de marchitamiento (pie negro en col; pudrición de cuello de raíz y tallo en colza), *Botrytis cinerea* (moho gris en vid, fresa, tomate, lúpulo etc.).

ES 2 341 238 T3

Los que más se prefieren son *Phytophthora infestans* (pudrición de hierba y bulbo, podredumbre parda en tomate, etc.), *Microdochium nivale* (anteriormente *Fusarium nivale*; marchitamiento bajo nieve de centeno y trigo), *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* (pudrición de espigas de trigo), *fusarium oxysporum* (marchitamiento por fusarium en tomate), *Blumeria graminis* (mildíu genuino en cebada (f. sp. hordei) y trigo (f. sp. tritici)), *Magnaporthe grisea* (rice blast disease o enfermedad del quemado de arroz), *Sclerotinia sclerotium* (ruptura o pudrición blanca de tallo, viruela de colza), *Septoria nodorum* y *Septoria tritici* (septoriosis en trigo), *Alternaria brassicae* (manchas negras en colza, col y otras crucíferas), *Phoma lingam* (enfermedad de marchitamiento, pie negro en col; pudrición en cuello de raíz o en tallo de colza).

2. Patógenos bacterianos

A manera de ejemplo, aunque de manera no limitante, pueden nombrarse los patógenos indicados en la tabla 3 y las enfermedades asociadas con éstos.

TABLA 3
Enfermedades bacterianas

Enfermedad	Patógeno
Bacterial leaf blight and stalk rot	<i>Pseudomonas avenae</i> subsp. <i>avenae</i>
Bacterial leaf spot	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>holcicola</i>
Bacterial stalk rot	<i>Enterobacter dissolvens</i> = <i>Erwinia dissolvens</i>
Pie negro ("Bacterial stalk and top rot")	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>zeae</i>
Bacterial stripe	<i>Pseudomonas andropogonis</i>
Chocolate spot	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i>
Goss's bacterial wilt and blight (leaf freckles and wilt)	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i> = <i>Corynebacterium michiganense</i> pv. and <i>nebraskense</i>
Holcus spot	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>
Purple leaf sheath	Hemiparasitic bacteria
Seed rot-seedling blight	<i>Bacillus subtilis</i>
Stewart's disease (bacterial wilt)	<i>Pantoea stewartii</i> = <i>Erwinia stewartii</i>
Corn stunt (achaparramiento, maize stunt, Mesa Central or Rio Grande maize stunt)	<i>Spiroplasma kunkelii</i>

Muy particularmente se prefieren las siguientes bacterias patógenas: *Corynebacterium sepedonicum* (pudrición en anillo por bacterias), *Erwinia carotovora* (pie negro en patata), *Erwinia amylovora* (fuego bacteriano en pera, manzana, membrillo), *Streptomyces scabies* (roña de patata), *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (fuego silvestre (negro) en tabaco), *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (enfermedad de manchas grasosas en frijol judía), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ("bacterial speck" (pecas bacterianas) en tomate), *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (enfermedad de manchas en la hoja de algodón) y *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* (pudrición por bacterias en arroz y otras gramíneas).

3. Patógenos virales

"Patógenos virales" incluyen virus vegetales, como por ejemplo virus mosaico del tabaco o de pepino, virus de mancha de anillo, virus de necrosis, virus mosaico de maíz enano, etc.

ES 2 341 238 T3

A manera de ejemplo, aunque no limitante, pueden nombrarse los patógenos indicados en la tabla 4 y las enfermedades asociados a éstos.

TABLA 4

Enfermedades virales

Enfermedad	Patógeno
American wheat striate (wheat striate mosaic)	American wheat striate mosaic virus (AWSMV)
Barley stripe mosaic	Barley stripe mosaic virus (BSMV)
Barley yellow dwarf	Barley yellow dwarf virus (BYDV)
Brome mosaic	Brome mosaic virus (BMV)
Cereal chlorotic mottle	Cereal chlorotic mottle virus (CCMV)
Corn chlorotic vein banding (Brazilian maize mosaic)	Corn chlorotic vein banding virus (CCVBV)
Corn lethal necrosis	Complejo de virus de Maize chlorotic mottle virus (MCMV) y Maize dwarf mosaic virus (MDMV) A o B o Wheat streak mosaic virus (WSMV)
Cucumber mosaic	Cucumber mosaic virus (CMV)
Cynodon chlorotic streak	Cynodon chlorotic streak virus (CCSV)
Johnsongrass mosaic	Johnsongrass mosaic virus (JGMV)
Maize bushy stunt	Mycoplasma-like organism (MLO) associated
Maize chlorotic dwarf	Maize chlorotic dwarf virus (MCDV)
Maize chlorotic mottle	Maize chlorotic mottle virus (MCMV)
Maize dwarf mosaic	Maize dwarf mosaic virus (MDMV) strains A, D, E and F
Maize leaf fleck	Maize leaf fleck virus (MLFV)
Maize line	Maize line virus (MLV)
Maize mosaic (corn leaf stripe, enanismo rayado)	Maize mosaic virus (MMV)
Maize mottle and chlorotic stunt	Maize mottle and chlorotic stunt virus

ES 2 341 238 T3

Enfermedad	Patógeno
Maize pellucid ringspot	Maize pellucid ringspot virus (MPRV)
Maize raya gruesa	Maize raya gruesa virus (MRGV)
maize rayado fino (fine striping disease)	Maize rayado fino virus (MRFV)
Maize red leaf and red stripe	Mollicute
Maize red stripe	Maize red stripe virus (MRSV)
Maize ring mottle	Maize ring mottle virus (MRMV)
Maize rio IV	Maize rio cuarto virus (MRCV)
Maize rough dwarf (nanismo ruvido)	Maize rough dwarf virus (MRDV) (Cereal tillering disease virus)
Maize sterile stunt	Maize sterile stunt virus (strains of barley yellow striate virus)
Maize streak	Maize streak virus (MSV)
Maize stripe (maize chlorotic stripe, maize hoja blanca)	Maize stripe virus
Maize stunting	Maize stunting virus
Maize tassel abortion	Maize tassel abortion virus (MTAV)
Maize vein enation	Maize vein enation virus (MVEV)
Maize wallaby ear	Maize wallaby ear virus (MWEV)
Maize white leaf	Maize white leaf virus
Maize white line mosaic	Maize white line mosaic virus (MWLMV)
Millet red leaf	Millet red leaf virus (MRLV)
Northern cereal mosaic	Northern cereal mosaic virus (NCMV)
Oat pseudorosette (zakuklivanie)	Oat pseudorosette virus
Oat sterile dwarf	Oat sterile dwarf virus (OSDV)
Rice black-streaked dwarf	Rice black-streaked dwarf virus (RBSDV)
Rice stripe	Rice stripe virus (RSV)
Sorghum mosaic	Sorghum mosaic virus (SrMV) (también: sugarcane mosaic virus (SCMV) cepas H, I and M)
Sugarcane Fiji disease	Sugarcane Fiji disease virus (FDV)
Sugarcane mosaic	Sugarcane mosaic virus (SCMV) strains A, B, D, E, SC, BC, Sabi and MB (formerly MDMV-B)
Wheat spot mosaic	Wheat spot mosaic virus (WSMV)

4. Pestes animales

4.1 Insectos patógenos

A manera de ejemplo aunque no limitante pueden nombrarse insectos, como por ejemplo escarabajos, orugas, pulgones o ácaros. Se prefieren insectos de los géneros Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Mallophaga, Homoptera, Hemiptera, Orthoptera, Thysanoptera, Dermaptera, Isoptera, Anoplura, Siphonaptera, Trichoptera, etc. Particularmente se prefieren insectos coleópteros y lepidópteros, como por ejemplo den Maízzünsler (European Corn Borer (ECB)), *Diabrotica barberi* ("northern corn rootworm"), *Diabrotica undecimpunctata* ("southern corn rootworm"), *Diabrotica virgifera* ("Western corn rootworm"), *Agrotis ipsilon* ("black cutworm"), *Crymodes devastator* ("glassy cutworm"), *Feltia ducens* ("dingy cutworm"), *Agrotis gladiaria* ("claybacked cutworm"), *Melanotus* spp., *Aeolus mellillus* ("wireworm"), *Aeolus mancus* ("wheat wireworm"), *Horistonotus uhlerii* ("sand wireworm"), *Sphenophorus maidis* ("maize billbug"), *Sphenophorus zea* ("timothy billbug"), *Sphenophorus parvulus* ("bluegrass billbug"), *Sphenophorus callosus* ("southern corn billbug"), *Phyllographa* spp. ("white grubs"), *Anuraphis maidiradi-*

ES 2 341 238 T3

cis ("corn root aphid"), *Delia platura* ("seedcorn maggot"), *Colaspis brunnea* ("grape colaspis"), *Stenolophus lecontei* ("seedcorn beetle") y *Clivinia impressifrons* ("lender seedcorn beetle").

Además pueden nombrarse: el escarabajo de hoja de cereal (*Oulema melanopus*), la mosca frit (*Oscinella frit*), gusano de alambre (*Agrotis lineatus*) y pulgones (como por ejemplo pulgón de hoja de avena *Rhopalosiphum padi*, gran pulgón de hoja de cereal *Sitobion avenae*).

4.2 Nemátodos

A manera de ejemplo, aunque no limitante, en la tabla 6 se indican los patógenos mencionados y las enfermedades asociadas con los mismos.

TABLA 6

Nemátodos parasitarios

Peste	Nemátodos Patógenos
Awl (nematodo de la lezna)	Dolichodorus spp., D. heterocephalus
Nemátodo del bulbo y del tallo, nematodo de cuello de remolacha ("Bulb and stem"; Europe)	Ditylenchus dipsaci
Burrowing	Radopholus similis
Nemátodo de quistes de avena ("cyst")	Heteroa avenae, H. zae, Punctoa chalcensis
Dagger	Xiphinema spp., X. americanum, X. mediterraneum
False root-knot	Nacobbus dorsalis
Lance, Columbia	Hoplolaimus columbus
Lance	Hoplolaimus spp., H. galeatus
Lesion	Paratylenchus spp., P. brachyurus, P. crenatus, P. hexincisus, P. neglectus, P. penetrans, P. scribneri, P. thornei, P. zae
Needle	Longidorus spp., L. breviannulatus
Ring	Criconemella spp., C. ornata
Nemátodos de los nudos de la raíz ("Root-knot")	Meloidogyne spp., M. chitwoodi, M. incognita, M. javanica
Spiral	Helicotylenchus spp.
Sting	Belonolaimus spp., B. longicaudatus
Stubby-root	Paratrichodorus spp., P. christiei, P. minor, Quinisulcius acutus, Trichodorus spp.
Stunt	Tylenchorhynchus dubius

Muy particularmente se prefieren *Globoea rostochiensis* y *G. pallida* (nematodos de quistes en patata, tomate y otras solanáceas), *Heteroa schachtii* (nematodos de quistes de remolacha en remolacha de azúcar y de forraje, colza, col etc.), *Heteroa avenae* (nematodo de quistes de avena en avena y otras especies de cereal), *Ditylenchus dipsaci* (nematodos de bulbo y tallo, nematodo de cuello de remolacha en centeno, avena, maíz, trébol, tabaco, remolacha), *Anguina tritici* (nematodo, Radeenfermedad an Trigo de trigo (espelta, centeno), *Meloidogyne hapla* (nematodo de los nudos de la raíz en zanahoria, pepinillo, lechuga, tomate, patata, remolacha de azúcar, alfalfa).

Como especies individuales pueden nombrarse, por ejemplo, hongos o virus patógenos preferidos:

1. Cebada

Patógenos fúngicos, bacterianos y virales: *Puccinia graminis f.sp. hordei* (barley stem rust), *Blumeria* (*Erysiphe*) *graminis f.sp. hordei* (Barley Powdery Mildew), barley yellow dwarf virus (BYDV), insectos/nemátodos patógenos:

ES 2 341 238 T3

Ostrinia nubilalis (European corn borer); *Agrotis ipsilon* (black cutworm); *Schizaphis graminum* (greenbug); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Acrosternum hilare* (green stink bug); *Euschistus servus* (brown stink bug); *Deliaplatura* (seedcorn maggot); *Mayetiola destructor* (Hessian fly); *Petrobia latens* (Brown wheat mite).

5

2. Habas de soja

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Phytophthora megasperma* fsp.glycinea, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (Phomopsis sojae), *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *Sclerotium rolfsii*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojae*, *Peronospora manshurica*, *Colletotrichum dematium* (*Colletotrichum truncatum*), *Corynespora cassiicola*, *Septoria glycines*, *Phyllosticta sojicola*, *Alternaria alternata*, *Pseudomonas syringae* p.v. *glycinea*, *Xanthomonas campestris* p.v. *phaseoli*, *Microsphaera diffusa*, *Fusarium semitectum*, *Phialophora gregata*, *Habas de sojan Mosaikvirus*, *Glomerella glycines*, *Tobacco Ring spot virus*, *Tobacco Streak virus*, *Phakopsorapachyrhizi*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium ultimum*, *Pythium debaryanum*, *Tomato spotted wilt virus*, *Heteroia glycines* *Fusarium solani*.

Insectos/nemátodos patógenos: *Pseudoplusia includens* (soybean looper); *Anticarsia gemmatilis* (velvetbean caterpillar); *Plathypena scabra* (green cloverworm); *Ostrinia nubilalis* (European corn borer); *Agrotis ipsilon* (black cutworm); *Spodoptera exigua* (beet armyworm); *Heliothis virescens* (cotton budworm); *Helicoverpa zea* (cotton bollworm); *Epilachna varivestis* (Mexican bean beetle); *Myzus persicae* (green peach aphid); *Empoasca fabae* (potato leaf hopper); *Acrosternum hilare* (green stink bug); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus differentialis* (differential grasshopper); *Hylemya platura* (seedcorn maggot); *Sericothrips variabilis* (soybean thrips); *Thrips tabaci* (onion thrips); *Tetranychus turkestanii* (strawberry spider mite); *Tetranychus urticae* (twospotted spider mite).

25

3. Canola

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Albugo candida*, *Alternaria brassicae*, *Leptosphaeria maculans*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Mycosphaerella brassicicola*, *Pythium ultimum*, *Peronospora parasitica*, *Fusarium roseum*, *Alternaria alternata*.

4. Alfalfa

35

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Clavibacter michiganense* subsp. *insidiosum*, *Pythium ultimum*, *Pythium irregulare*, *Pythium splendens*, *Pythium debaryanum*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora megasperma*, *Peronospora trifoliorum*, *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*, *Cercospora medicaginis*, *Pseudopeziza medicaginis*, *Leptotrichia medicaginis*, *Fusarium*, *Xanthomonas campestris* p.v. *alfalfae*, *Aphanomyces euteiches*, *Stemphylium herbarum*, *Stemphylium alfalfae*.

40

5. Trigo

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Pseudomonas syringae* p.v. *atrofaciens*, *Urocystis agropyri*, *Xanthomonas campestris* p.v. *translucens*, *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum*, *Ustilago tritici*, *Ascochyta tritici*, *Cephalosporium gramineum*, *Collotetrichum graminicola*, *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*, *Puccinia striiformis*, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, *Septoria avenae*, *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia cerealis*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium ultimum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Barley Yellow Dwarf Virus*, *Brome Mosaic Virus*, *Soil Borne Wheat Mosaic Virus*, *Wheat Streak Mosaic Virus*, *Wheat Spindle Streak Virus*, *American Wheat Stripe Virus*, *Claviceps purpurea*, *Tilletia tritici*, *Tilletia laevis*, *Ustilago tritici*, *Tilletia indica*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium graminicola*, *Pythium aphanidermatum*, *High Plains Virus*, *European wheat stripe virus*, *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* (Wheat stem rust), *Blumeria* (*Erysiphe*) *graminis* f.sp. *tritici* (Wheat Powdery Mildew).

55

Insectos/nemátodos patógenos: *Pseudaletia unipunctata* (army worm); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Agrotis orthogonia* (western cutworm); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Oulema melanopus* (cereal leaf beetle); *Hypera punctata* (clover leaf weevil); *Diabrotica undecimpunctata howardi* (southern corn rootworm); *Russian wheat aphid*; *Schizaphis graminum* (greenbug); *Macrosiphum avenae* (English grain aphid); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus differentialis* (differential grasshopper); *Melanoplus sanguinipes* (migratory grasshopper); *Mayetiola destructor* (Hessian fly); *Sitodiplosis mosellana* (wheat midge); *Meromyza americana* (wheat stem maggot); *Hylemya coarctata* (wheat bulb fly); *Frankliniella fusca* (tobacco thrips); *Cephus cinctus* (wheat stem sawfly); *Aceria tulipae* (wheat curl mite).

65

6. Girasol

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Plasmophora halstedii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, Aster Yellows, *Septoria helianthi*, *Phomopsis helianthi*, *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae*, *Botrytis cinerea*, *Phoma macdonaldii*, *Macrophomina phaseolina*, *Erysiphe cichoracearum*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus stolonifer*, *Puccinia helianthi*, *Verticillium dahliae*, *Erwinia carotovorum* p.v. *Carotovora*, *Cephalosporium acremonium*, *Phytophthora cryptogea*, *Albugo tragopogonis*.

Insectos/nemátodos patógenos: *Suleima helianthana* (sunflower bud moth); *Homoeosoma electellum* (sunflower moth); *zygogramma exclamationis* (sunflower beetle); *Bothyrus gibbosus* (carrot beetle); *Neolasioptera murtfeldtiana* (sunflower seed midge).

7. Maíz

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, *Erwinia stewartii*, *Fusarium moniliforme*, *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*), *Stenocarpella maydi* (*Diplodia maydis*), *Pythium irregulare*, *Pythium debaryanum*, *Pythium graminicola*, *Pythium splendens*, *Pythium ultimum*, *Pythium aphanidermatum*, *Aspergillus flavus*, *Bipolaris maydis* 0, T (*Cochliobolus heterostrophus*), *Helminthosporium carbonum* I, II & III (*Cochliobolus carbonum*), *Exserohilum turcicum* I, II & III, *Helminthosporium pedicellatum*, *Physoma maydis*, *Phyllosticta maydis*, *Kabatiella maydis*, *Cercospora sorghi*, *Ustilago maydis*, *Puccinia sorghi*, *Puccinia polysora*, *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium oxalicum*, *Nigrospora oryzae*, *Cladosporium herbarum*, *Curvularia lunata*, *Curvularia inaequalis*, *Curvularia pallescens*, *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense*, *Trichoma viride*, Maize Dwarf Mosaic Virus A & B, Wheat Streak Mosaic Virus, Maize Chlorotic Dwarf Virus, *Claviceps sorghi*, *Pseudomonas avenae*, *Erwinia chrysanthemi* p.v. *Zea*, *Erwinia carotovora*, *Cornstunt Spiroplasma*, *Diplodia macrospora*, *Sclerophthora macrospora*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora philippinensis*, *Peronosclerospora maydis*, *Peronosclerospora sacchari*, *Spacelotheca reiliana*, *Physopella zeae*, *Cephalosporium maydis*, *Cephalosporium acremonium*, Maize Chlorotic Mottle Virus, High Plains Virus, Maize Mosaic Virus, Maize Rayado Fino Virus, Maize Streak Virus (MSV, Maízstrichel-Virus), Maize Stripe Virus, Maize Rough Dwarf Virus.

Insectos/nemátodos patógenos: *Ostrinia nubilalis* (European corn borer); *Agrotis ipsilon* (black cutworm); *Helicoverpa zea* (corn earworm); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Diatraea grandiosella* (southwestern corn borer); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Diatraea saccharalis* (sugarcane borer); *Diabrotica virgifera* (western corn rootworm); *Diabrotica longicornis barberi* (northern corn rootworm); *Diabrotica undecimpunctata howardi* (southern corn rootworm); *Melanotus* spp. (wireworms); *Cyclocephala borealis* (northern masked cavena; white grub); *Cyclocephala immaculata* (southern masked cavena; white grub); *Popillia japonica* (Japanese beetle); *Chaetocnema pulicaria* (corn flea beetle); *Sphenophorus maidis* (maize billbug); *Rhopalosiphum maidis* (corn leaf aphid); *Anuraphis maidiradicis* (corn root aphid); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus sanguinipes* (migratory grasshopper); *Hylemya platura* (seed-corn maggot); *Agromyza parvicornis* (corn blot leafminer); *Anaphothrips obscurus* (grass thrips); *Solenopsis milesta* (thief ant); *Tetranychus urticae* (twospotted spider mite).

8. Sorgo

Patógenos fúngicos, bacterianos o virales: *Exserohilum turcicum*, *Colletotrichum graminicola* (*Glomerella graminicola*), *Cercospora sorghi*, *Gloeocercospora sorghi*, *Ascochyta sorghina*, *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Xanthomonas campestris* p.v. *holcicola*, *Pseudomonas andropogonis*, *Puccinia purpurea*, *Macrophomina phaseolina*, *Perconia circinata*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorghicola*, *Helminthosporium sorghicola*, *Curvularia lunata*, *Phoma insidiosa*, *Pseudomonas avenae* (*Pseudomonas alboprecipitans*), *Ramulispora sorghi*, *Ramulispora sorghicola*, *Phyllachara sacchari*, *Sporisorium reilianum* (*Sphacelotheca reiliana*), *Sphacelotheca cruenta*, *Sporisorium sorghi*, Sugarcane mosaic H, Maize Dwarf Mosaic Virus A & B, *Claviceps sorghi*, *Rhizoctonia solani*, *Acremonium strictum*, *Sclerophthora macrospora*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora philippinensis*, *Sclerospora graminicola*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium graminicola*.

Insectos/nemátodos patógenos: *Chilo partellus* (sorgo borer); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Helicoverpa zea* (corn ear-worm); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Feltia subterranea* (granulate cutworm); *Phyllophaga crinita* (white grub); *Eleodes*, *Conous* y *Aeolus* spp. (wireworm); *Oulema melanopus* (cereal leaf beetle); *Chaetocnema pulicaria* (corn flea beetle); *Sphenophorus maidis* (maize billbug); *Rhopalosiphum maidis* (corn leaf aphid); *Siphaflava* (yellow sugarcane aphid); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Contarinia sorghicola* (sorgomidge); *Tetranychus cinnabarinus* (carmine spider mite); *Tetranychus urticae* (two spotted spider mite).

9. Algodón

Insectos/nemátodos patógenos: *Heliothis virescens* (cotton budworm); *Helicoverpa zea* (cotton bollworm); *Spodoptera exigua* (beet armyworm); *Pectinophora gossypiella* (pink bollworm); *Anthonomus grandis grandis* (boll weevil); *Aphis gossypii* (cotton aphid); *Pseudatomoscelis seriatus* (cotton fleahopper); *Trialeurodes abutilonea* (banded-

ES 2 341 238 T3

winged whitefly) *Lygus lineolaris* (tarnished plant bug); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus differentialis* (differential grasshopper); *Thrips tabaci* (onion thrips); *Frankliniella fusca* (tobacco thrips); *Tetranychus cinnabarinus* (carmine spider mite); *Tetranychus urticae* (twospotted spider mite).

5 10. Arroz

Insectos/nemátodos patógenos: *Diatraea saccharalis* (sugarcane borer); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Helicoverpa zea* (corn earworm); *Colaspis brunnea* (grape colaspis); *Lissorhoptrus oryzophilus* (rice water weevil);
10 *Sitophilus oryzae* (rice weevil); *Nephotettix nigropictus* (rice leafhopper); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Acrosternum hilare* (green stink bug).

15 11. Colza

Insectos/nemátodos patógenos: *Brevicoryne brassicae* (cabbage aphid); *Phyllotreta cruciferae* (Flea beetle); *Mamestra configurata* (Bertha armyworm); *Plutella xylostella* (Diamond-back moth); *Delia ssp.* (Root maggots).

20 “Oxidasa NADPH” en el marco de la invención significa, todas aquellas enzimas que, como propiedad esencial, son capaces de convertir oxígeno molecular (O_2) en superóxido (O_2^-) mediante una transferencia de electrones individuales. Se prefieren las enzimas que se describe mediante la clase EC E.C.1.23.45.3. En tal caso las oxidasas NADPH se componen de uno o más polipéptidos que pueden ser iguales o diferentes.

25 Se prefiere como la oxidasa NADPH una proteína flavocitocrómica y comprende como grupos prostéticos un citocromo b y/o una unidad FAD. La oxidasa NADPH puede componerse de un albl heterodímero, y la subunidad b puede representar la subunidad funcional del flavocitocromo y puede comprender como glicoproteína los componentes de transporte de electrones (un dominio hidrofílico, citosólico, C-terminal, el cual contiene NADPH y FAD, así como 4 a 6 N-terminales, α -hélices de transmembrana, la cual contiene dos grupos hem prostéticos histidina acomplejados). La
30 subunidad a puede comprender una secuencia rica en prolina, C-terminal, la cual está en capacidad de enlazar factores de activación, potenciales citosólicos, de la oxidasa NADPH. Puede efectuarse la activación mediante el enlazamiento de la proteína citosólica phox (por ejemplo p47-phox, p67-phox, p40-phox) y p21rac - una proteína enlazante - GTP.

El experto en la materia conoce numerosas oxidasas NADPH de organismos vegetales (entre otros Torres MA *et al.* (1998) Plant J 14: 365-370). A manera de ejemplo, aunque no limitante, pueden nombrarse las secuencias con el
35 siguiente número de cuenta de banco de genes: AJ251717 (*Hordeum vulgare*), AP003560 (*Oryza sativa* var. japonica), AJ320505 (*Nicotiana tabacum*), AB050660 (*Solanum tuberosum*), AF088276 (*Lycopersicon esculentum*), AB008111 (*Arabidopsis thaliana*; Atrboh F), AF055357 (*Arabidopsis thaliana*; RbohD), AJ309006 (*Nicotiana tabacum*; rboh), AP003271 (*Oryza sativa* cv. japonica), AF055355 (*Arabidopsis thaliana*; RbohC), AF055353 (*Arabidopsis thaliana*; RbohA). En particular se prefieren las oxidasas NADPH que comprenden una secuencia según SEQ ID: 2, 4, 6, 8, 10,
40 12, 14, 16, 18, 20 ó 22.

Las secuencias de otras plantas homólogas a las secuencias de oxidasa NADPH divulgadas en el marco de esta invención pueden encontrarse fácil mediante búsqueda en banco de datos o selección de bancos de genes - usándolas
45 las secuencias de oxidasa NADPH como secuencia de búsqueda o sondas. A manera de ejemplo pueden nombrarse en tal caso secuencias con el siguiente número de cuenta de banco de genes: CAC51517.1, AJ251717, T03973, BAB68079.1, AP003560, T02024, CAC87256.1, AJ320505, BAB70750.1, AB050660, AF088276.1, NP56482.1, NM105079, T00265, AC00776416, NP192862.1, NM117194, AF1477831, AAM28891.1, AF506374, CAC84140.1, AJ309006, T51804, NP199602.1, NM124165, BAB89740.1, AP003271, AAC39477.1, AF055355, NP199919.1, NM124485, AAC39475.1, AF055353, NP196356.1, NM120821, NP194239.1, NM118641, BAB08369.1, AB015475, AAC39478.1, AF055356, AC0691439, NP173357.1, NM101781, NP172383.1, NM100780, AAB70398.1, AC000106, AAC39476.1, AF055354, BAB70751.1, AB050661, BAB63664.1, AP003275, AAD24966.1, AF109150.

De manera particularmente preferible la secuencia de polipéptidos de la oxidasa NADPH contiene al menos un
55 motivo de secuencia seleccionado del grupo de motivos de secuencia que se compone de

i) AL(K/R)GL(K/R)

60 ii) DK(N/D)XDG(R/K) (I/L/V) (T/N)E

iii) LSASAN

iv) IMEELDP

65 v) K(F/L)NMA(I/L)(I/V)LXPVCRN

vi) (E/Q)WHPFSIT

vii) S(A/S)PXDD(Q/Y) (L/I)S(I/V)H(V/I/L)R

viii) DGPYG(S/A)PAGDY

ix) L(I/V)GLGIGATP

x) FYWVTREQGSF

xi) GVIFYCG

De manera muy particularmente preferible la secuencia de péptidos contiene al menos 2 ó 3, muy particularmente preferible al menos 4 ó 5, de la manera más preferida todos los motivos de secuencia se seleccionan del grupo de motivos de secuencia i), ii), iii), iv), v), vi) vii), viii), ix) x) y xi). (Los datos en paréntesis significan aminoácidos posibles como alternativa en esta posición; por ejemplo, (V/I) significa que en esta posición es posible valina o isoleucina).

Pero la oxidasa NADPH también puede significar cada otra unidad de un complejo enzimático de oxidasa NADPH que es esencial para la actividad de la oxidasa NADPH.

“Cantidad de proteína” significa la cantidad de un polipéptido - oxidasa NADPH en un organismo, un tejido, una célula o un compartimento de célula. “Disminución” de la cantidad de proteína significa la disminución cuantitativa de la cantidad de una oxidasa NADPH en un organismo, un tejido, una célula o un compartimento celular, por ejemplo mediante uno de los procesos abajo descritos, en comparación con el tipo silvestre del mismo género y especie en el que no se ha usado este método, en condiciones marco idénticas por lo demás (como por ejemplo condiciones de cultivo, edad de las plantas, etc). La disminución alcanza en tal caso al menos 10%, de manera preferida al menos 10% o al menos 20%, de manera particularmente preferida alrededor de al menos 40% ó 60%, de manera muy particularmente preferida alrededor de al menos 70% ó 80%, de la manera más preferida alrededor de al menos 90% ó 95%.

“Actividad” significa la capacidad de una oxidasa NADPH de convertir oxígeno molecular (O₂) en superóxido (O₂⁻).

“Disminución” de la actividad significa la disminución de actividad total de una proteína de oxidasa NADPH en un organismo, un tejido, una célula o un compartimento celular, por ejemplo mediante uno de los métodos descritos abajo, en comparación con el tipo silvestre del mismo género y especie en el que este método no se ha usado, en condiciones marco iguales por lo demás (como, por ejemplo, condiciones de cultivo, edad de las plantas, etc.). La disminución alcanza en tal caso al menos 10%, de manera preferida al menos 10% o al menos 20%, de manera particularmente preferida alrededor de al menos 40% ó 60%, de manera muy particularmente preferida alrededor de al menos 70% o 80%, de la manera más preferida alrededor de al menos 90% o 95%.

“Función” significa de manera preferida la capacidad de enlace de sustrato de una oxidasa NADPH en un organismo, un tejido, una célula o un compartimento celular. Como sustrato se toman en consideración compuestos de bajo peso molecular como NADPH o FAD, pero también las contrapartes de interacción de proteína de una oxidasa NADPH.

“Disminución” de la función significa, por ejemplo, la disminución cuantitativa de la capacidad de enlace o de la fuerza de enlace de una oxidasa NADPH con al menos un sustrato en un organismo, en un tejido, una célula o un compartimento celular - por ejemplo mediante uno de los métodos descritos abajo - en comparación con el tipo silvestre del mismo género y especie sobre el cual no se ha aplicado este método, en condiciones marco iguales por lo demás (como, por ejemplo, condiciones de cultivo, edad de las plantas, etc.). Por disminución también debe entenderse la modificación de la especificidad del sustrato, tal como puede expresarse mediante el valor kcat/Km. La disminución es en tal caso de al menos 10%, preferible de al menos 10% o de al menos 20%, particularmente preferible de alrededor de al menos 40% ó 60%, de manera muy particularmente preferida de alrededor de al menos 70% ó 80%, de la manera más preferida de alrededor de al menos 90% ó 95%. Las contrapartes de enlace para oxidasa NADPH pueden identificarse de una manera corriente para la persona como, por ejemplo, mediante el sistema híbrido de levadura-2.

Para el experto en la materia son conocidos los métodos para la determinación de la cantidad de proteína, de la actividad de oxidasas NADPH o de la capacidad de enlace con sustrato. Por ejemplo, es posible medir la producción de O₂ o H₂O₂ dependiente de NADPH, o que puede inhibirse por DPI (por ejemplo, mediante tetrazolio azul nitro [NBT] o reducción c citocromo). La cantidad de proteína puede determinarse, por ejemplo, inmunológicamente, usando anticuerpos correspondientes. Se han descrito métodos correspondientes (Yu L *et al.* (1999) Blood 94(7):2497-504; Doke N (1983a) Physiol Plant Pathol 23:345-357; Levine A *et al.* (1994) Cell 79:583-593; Tenhaken R *et al.* (1995) Proc Nat Acad Sci USA 92: 4158-4163; Sagi M & Fluhr R. (2001) Plant Physiol 126(3):1281-90; Hüchelhoven R & Kogel KH (1998) Mol Plant Microbe Interact 11:292-300; así como en las referencias citadas en los artículos previamente mencionados).

ES 2 341 238 T3

“Equivalentes funcionales” de una proteína de oxidasa NADPH significa de manera preferida aquellas secuencias que se derivan de una oxidasa NADPH que comprende una secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22 o que son homólogas a ésta y que exhiben las mismas propiedades esenciales.

5 En tal caso, la eficiencia de la resistencia a patógenos puede desviarse tanto hacia abajo como hacia arriba en comparación con un valor obtenido al reducir una de las oxidasas NADPH que comprenden una secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22. Se prefieren aquellos equivalentes funcionales en los que la eficiencia de la resistencia a patógenos, medida por ejemplo en la eficiencia de penetración de un patógeno (formación de haustoria) no se diferencia en más de 50%, preferible 25%, particularmente preferible 10% de un valor de comparación obtenido disminuyendo una oxidasa NADPH que comprende una secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22. Particularmente se prefieren aquellas secuencias cuya disminución tiene como resultado que la eficiencia de la resistencia a patógeno excede cuantitativamente un valor comparativo obtenido reduciendo una de las oxidasas NADPH que comprende una secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 ó 22 en más de 50%, preferible 100%, especialmente preferible 500%, muy especialmente preferible 1000%.

La comparación se lleva a cabo en condiciones análogas. “Condiciones análogas” significa que todas las condiciones marco tales como, por ejemplo, condiciones de cultivo y crecimiento, condiciones de ensayo (tales como búfer, temperatura, sustratos, concentración de patógeno y similares) entre los experimentos a compararse se mantienen idénticas y que las estimaciones difieren solo por la secuencia de las oxidasas NADPH a compararse, su organismo de origen y, opcionalmente, el patógeno. Al seleccionar el patógeno para la comparación, el patógeno a seleccionarse respectivamente para la comparación es el más similar al otro patógeno correspondiente, tomando en consideración la especificidad de la especie.

25 “Equivalentes funcionales” significa particularmente naturales o artificiales de la oxidasa NADPH que comprenden la secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22 así como polipéptidos homólogos de otros vegetales que presentan además propiedades esencialmente iguales. Se prefieren polipéptidos homólogos de las plantas preferidas arriba descritas. Las secuencias homólogas de otras plantas (por ejemplo *Arabidopsis thaliana*) homólogas a las secuencias de oxidasa NADPH, divulgadas en el marco de esta invención, pueden encontrarse fácilmente mediante búsqueda en bancos de datos o mediante selección (screening) de los bancos de genes, por ejemplo, usando las secuencias de oxidasa NADPH como secuencia de búsqueda o sonda. A manera de ejemplo se han descrito arriba secuencias correspondientes con su Gen-Bank Acc-No.

35 Mutaciones abarcan sustituciones, adiciones, deleciones, inversión o inserciones de uno o varios residuos de aminoácidos. De esta manera en la presente invención también se abarcan aquellos polipéptidos que se obtienen por modificación de un polipéptido que comprende una secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22.

40 Por homología entre dos secuencias de ácido nucleico se entiende la identidad de la secuencia de ácidos nucleicos por toda la longitud de secuencia respectiva, la cual se calcula por comparación con la ayuda del algoritmo de programa GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA; Altschul *et al.* (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389ff) con la instalación de los siguientes parámetros:

45 Gap Weight: 50 Length Weight: 3

Average Match: 10 Average Mismatch: 0.

50 A manera de ejemplo, por una secuencia que tiene una homología de al menos 80% en la base de ácido nucleico con la secuencia SEQ ID NO: 1 se entiende una secuencia que al comparar con la secuencia SEQ ID NO: 1 según el algoritmo de programa de arriba, con la instalación del parámetro de arriba, tiene una homología de al menos 80%.

55 Por homología entre dos polipéptidos se entiende la identidad de la secuencia de aminoácidos respectivamente por toda la longitud de secuencia que se calcula mediante comparación con la ayuda del algoritmo de programa GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA) con la instalación de los siguientes parámetros:

Gap Weight: 8 Length Weight: 2

60 Average Match: 2,912 Average Mismatch: - 2,003

A manera de ejemplo, por una secuencia que tiene una homología de al menos 80% en la base de proteína con la secuencia SEQ ID NO: 2 se entiende una secuencia que tiene una homología de al menos 80% al compararla con la secuencia SEQ ID NO: 2 según el algoritmo de programa de arriba con el establecimiento de los parámetros de arriba.

Equivalentes funcionales, derivados de una oxidasa NADPH que comprende una secuencia de polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22 por sustitución, inserción o deleción, tienen una homología de al

ES 2 341 238 T3

menos 50%, preferible de al menos 70%, preferentemente de al menos 90%, particularmente preferible de al menos 95%, muy particularmente preferible de al menos 98% con un polipéptido que comprende una secuencia de polipéptido según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22 y se distinguen por propiedades esencialmente iguales a las de la primera.

5 Equivalentes funcionales, derivados de una secuencia según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21 que comprenden una secuencia de oxidasa NADPH por sustitución, inserción o delección, tienen una homología de al menos 50%, preferible 70%, preferentemente al menos 90%, particularmente preferible al menos 95%, muy particularmente preferible al menos 98%, con un polipéptido según la invención de acuerdo con la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21 y codifican para polipéptidos con propiedades esencialmente iguales a las de un polipéptido que comprende una secuencia según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 ó 22.

15 La selección o screening de bibliotecas de cADN o genómicas de otros organismos preferible de otras especies vegetales, llamadas huésped, adecuadas para la transformación, usando las secuencias descritas bajo SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21 o partes de la misma como sondas, es un método corriente para el experto en la materia para identificar homólogos en otras especies. En tal caso las sondas derivadas de las secuencias de ácidos nucleicos según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o 21 tienen una longitud de al menos 20 bp, preferible de al menos 50 bp, particularmente preferible de al menos 100 bp, muy particularmente preferible de al menos 200 bp, lo más preferiblemente de al menos 400 bp. Para la selección o screening de las bibliotecas también puede emplearse una hebra de ADN complementaria a las secuencias descritas bajo las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21.

25 Equivalentes funcionales comprenden secuencias de ADN que hibridan en condiciones estándar con las secuencias de aminoácidos de oxidasa de NADPH descritas mediante SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21, la secuencia de ácido nucleico complementaria a la misma o partes de la previamente mencionada y codifican como secuencias completas para proteínas que tiene las propiedades esencialmente iguales que las de un polipéptido que comprende una secuencia según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 o 22.

30 "Condiciones de hibridación estándar" deben entenderse en el sentido amplio y significan condiciones rigurosas como también menos rigurosas. Tales condiciones de hibridación se describen, entre otros en Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T *et al.*, en Molecular Cloning (A Laboratory Manual), 2. Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, páginas 9.31-9.57) o en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6.

35 A manera de ejemplo, las condiciones durante el paso de lavado pueden seleccionarse del rango de condiciones limitadas por aquellas con baja rigurosidad (con aproximadamente 2X SSC a 50°C) y aquellas con rigurosidad alta (con aproximadamente 0.2X SSC a 50°C preferible a 65°C) (20X SSC: citrato de sodio de 0,3M, NaCl de 3M, pH 7.0). Además, la temperatura durante el paso de lavado puede elevarse de condiciones poco rigurosas a temperatura ambiente, aproximadamente 22°C, hasta condiciones más rigurosas a aproximadamente 65°C. Ambos parámetros, concentración de sal y temperatura, pueden variarse simultáneamente, también puede mantenerse constante uno de los dos parámetros y variar solo el otro. Durante la hibridación también pueden emplearse agentes desnaturizantes como, por ejemplo, formamida o SDS. En presencia de formamida al 50% se lleva a cabo la hibridación preferiblemente a 42°C. Algunas condiciones para hibridación y el paso de lavado se indican a continuación a manera de ejemplo:

45 (1) *Condiciones de hibridación pueden seleccionarse, por ejemplo de las siguientes condiciones*

- a) 4X SSC a 65°C (con, opcionalmente, 100 µg/ml de ADN desnaturalizado, fragmentado de esperma de pez)
- b) 6X SSC a 45°C (con, opcionalmente, 100 µg/ml de ADN desnaturalizado, fragmentado de esperma de pez),
- 50 c) 6X SSC, 0,5% SDS, Formamida al 50% a 42°C (con, opcionalmente, 100 µg/ml de ADN desnaturalizado, fragmentado de esperma de pez)
- d) 4XSSC, Formamida al 50% a 42°C (con, opcionalmente, 100 µg/ml de ADN desnaturalizado, fragmentado de esperma de pez)
- 55 e) 2X o 4X SSC a 50°C (condición débilmente rigurosa),
- f) Formamida al 30 a 40%, 2X o 4X SSC a 42°C (condición débilmente rigurosa).

60 (2) *Los pasos de lavado pueden seleccionarse, por ejemplo, de las siguientes condiciones*

- a) NaCl de 0,015 M/citrato de sodio de 0,0015 M/SDS al 0,1% a 50°C.
- 65 b) 0,1X SSC a 65°C.
- c) 0,1X SSC, SDS al 0,5% a 68°C.

ES 2 341 238 T3

d) 0,1X SSC, SDS al 0,5%, formamida al 50% a 42°C.

e) 0,2X SSC, SDS al 0,1% a 42°C.

5 f) 2X SSC a 65°C (condición débilmente rigurosa).

La disminución de la expresión de una proteína de oxidasa NADPH, de la actividad de oxidasa NADPH o de la función de oxidasa NADPH puede realizarse de múltiples formas y maneras.

10

“Disminución” o “disminuir” en conexión con una oxidasa NADPH, una actividad de oxidasa NADPH o función de oxidasa NADPH debe interpretarse de una manera amplia y comprende la prevención o bloqueo, parcial o esencialmente completos, basados en diversos mecanismos biológico-celulares, de la funcionalidad de una oxidasa NADPH en una planta o una parte derivada de ella, un tejido, un órgano, células o semillas. Una disminución en el sentido de la invención también comprende una merma cuantitativa de una oxidasa NADPH hasta una fal esencialmente completa de la oxidasa NADPH (es decir, detectabilidad ausente de actividad de oxidasa NADPH o de función de oxidasa NADPH o detectabilidad inmunológica ausente de la proteína de oxidasa NADPH). En tal caso pueden disminuirse una o más unidades esenciales de la oxidasa NADPH. En tal caso, la expresión de una determinada oxidasa NADPH o la actividad de oxidasa NADPH o la función de oxidasa NADPH en una célula o un organismo se disminuye preferiblemente en más de 50%, particularmente preferible en más de 80%, muy particularmente preferible en más de 90%.

15

20

25

De acuerdo con la invención, se encuentran comprendidas diversas estrategias para la disminución de la expresión de una proteína de oxidasa NADPH, de la actividad de oxidasa NADPH o de la función de oxidasa NADPH. A manera de ejemplo, aunque sin limitarse a éstos, pueden mencionarse:

a) introducir una secuencia de ácido nucleico ARN bicatenario de oxidasa NADPH (NAox-dsARN) o de un casete de expresión o de casetes de expresión que garantizan su expresión;

30

b) introducir una secuencia de ácido nucleico antisentido de oxidasa NADPH o uno casete de expresión que garantiza su expresión. Se encuentran comprendidos aquellos métodos en los que la secuencia de ácido nucleico antisense está dirigida contra un gen de oxidasa NADPH (es decir, secuencias genómicas) o un transcripto de genes de oxidasa NADPH (es decir, secuencias de ARN). También están comprendidas secuencias de ácidos nucleicos α -anómicos.

35

c) introducir una secuencia de ácido nucleico antisentido de oxidasa NADPH combinada con un ribosoma o un casete de expresión que garantiza su expresión.

40

d) Introducir secuencias de ácido nucleico sense de oxidasa NADPH para la inducción de una co-supresión o de un casete de expresión que garantiza su expresión.

e) Introducir factores de enlace de ADN o de proteína frente a genes, ARN o proteínas de oxidasa NADPH o de un casete de expresión que garantiza su expresión.

45

f) introducir secuencias virales de ácido nucleico que provocan la descomposición de ARN de oxidasa NADPH y constructos de expresión o un casete de expresión que garantiza su expresión

g) introducir constructos para inducir una recombinación homóloga en genes endógenos de oxidasa NADPH, por ejemplo para generar mutantes knockout.

50

h) introducir mutaciones en genes endógenos de oxidasa NADPH para la generación de una pérdida de funciones (por ejemplo, generación de stop-codones, desplazamientos en el marco de lectura, etc.)

55

Aquí cada uno de estos métodos individuales puede producir una disminución de la expresión de oxidasa NADPH, actividad de oxidasa NADPH o función de oxidasa NADPH en el sentido de la invención. También es concebible una aplicación combinada. Otros métodos son conocidos para el experto en la materia y pueden comprender el impedimento o la prevención del procesamiento de la proteína de oxidasa NADPH, del transporte de la proteína de oxidasa NADPH o de su mRNA, la inhibición de la adición de ribosomas, la inhibición de empalme (splicing) de ARN, inducción de una enzima que degrada ARN de oxidasa NADPH y/o inhibición de la elongación o terminación traslacional.

60

65

ES 2 341 238 T3

Los métodos individuales preferidos se describen brevemente a continuación:

a) Introducción de una secuencia de aminoácidos de ARN bicatenaria de oxidasa NADPH (NAox-dsARN)

El método de regulación de gen por medio de ARN bicatenario ("double-stranded RNA interference"; dsRNAi) se ha descrito muchas veces para organismos animales y vegetales (por ejemplo, Matzke MA *et al.* (2000) Plant Mol Biol 43: 401-415; Fire A. *et al.* (1998) Nature 391:806-811; WO 99/32619; WO 99/53050; WO 00/68374; WO 00/44914; WO 00/44895; WO 00/49035; WO 00/63364). Se hace referencia expresa a los métodos y procesos descritos en las citas indicadas. Una supresión eficiente de gen también puede mostrarse durante la expresión transitoria o después de la expresión transitoria, por ejemplo como resultado de una transformación biolítica (Schweizer P *et al.* (2000) Plant J 2000 24:895-903). Los métodos de dsRNAi se basan en el fenómeno de que mediante una introducción simultánea de cadena y contra-cadena de un transcripto génico se produce una supresión altamente eficiente de la expresión del gen correspondiente. El fenotipo producido es muy similar al de un mutante knock-out correspondiente (Waterhouse PM *et al.* (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95:13959-64).

El método dsRNAi ha probado ser particularmente eficiente y ventajoso en la disminución de la expresión de oxidasa NADPH. Tal como se describe, entre otros, en WO 99/32619, los planteamientos de dsRNAi son marcadamente superiores a los planteamientos antisense clásicos.

Otro objeto de la invención se refiere por lo tanto a moléculas de ARN bicatenarias (moléculas de dsRNA), las cuales al introducirse en un vegetal (o una célula, tejido, órgano o semillas derivados de la misma) provocan disminución de una oxidasa NADPH.

La molécula bicatenaria de ARN para la disminución de la expresión de una proteína de oxidasa NADPH se caracteriza porque

a) tiene una cadena ARN "sense" que comprende al menos una secuencia de ribonucleótidos que es esencialmente idéntica a al menos una parte de una secuencia de ácidos nucleicos de oxidasa, y

b) una cadena ARN "antisense" que es esencialmente, preferible totalmente, complementaria a la cadena sense de ARN de a).

En otra forma preferida de realización está comprendida la molécula de ARN bicatenaria para la disminución de la expresión de una proteína de oxidasa NADPH

a) una cadena de ARN "sense" que comprende al menos una secuencia de ribonucleótidos que es esencialmente idéntica a al menos una parte del transcripto de ARN "sense" de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una proteína de oxidasa NADPH, y

b) una cadena de ARN "antisense", la cual es esencialmente, preferible totalmente, complementaria a la cadena de ARN sense de a). Con respecto a la molécula de ARN bicatenaria la secuencia de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH significa preferiblemente una secuencia que comprende una secuencia según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21.

Esencialmente, "idéntico" significa que la secuencia de dsRNA también puede tener inserciones, deleciones así como mutaciones de punto individuales en comparación con la secuencia objetivo de oxidasa NADPH o una secuencia objetivo equivalente funcionalmente y no obstante producir una disminución eficiente de la expresión. Preferiblemente, la homología según la definición de arriba es de al menos 75%, preferible de al menos 80%, muy particularmente preferible de al menos 90%, lo más preferible 100% entre la cadena "sense" de un dsRNA inhibitorio y al menos una parte del transcripto de ARN "sense" de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una proteína de oxidasa NADPH o un equivalente funcional de la misma (o entre la cadena "antisense" y la cadena complementaria de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una proteína de oxidasa NADPH o un equivalente funcional de la misma).

La longitud del segmento parcial es al menos de 10 bases, preferible de al menos 25 bases, particularmente preferible de al menos 50 bases, muy particularmente preferible de al menos 100 bases, lo más preferible de al menos 200 bases o de al menos de 300 bases.

De manera alterna un dsARN "esencialmente idéntico" también puede definirse como secuencia de ácidos nucleicos que es capaz de hibridar con una parte de una proteína de almacenamiento de un transcripto génico (por ejemplo, en NaCl de 400 mM, PIPES de 40 mM, pH 6,4, EDTA de 1 mM a 50°C ó 70°C por 12 a 16 h).

"Esencialmente complementario" significa que la cadena de ARN "antisense" también puede tener inserciones, deleciones y mutaciones individuales de punto en comparación con el complemento de la cadena de ARN "sense". La homología es preferiblemente de al menos 80%, preferible de al menos 90%, muy particularmente preferible de al menos 95%, de la manera más preferida de 100% entre la cadena de ARN "anti-sense" y el complemento de la cadena de ARN "sense".

“Parte del transcripto de ARN ”sense“ de una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína de oxidasa NADPH, o un equivalente funcional de la misma, significa fragmentos de un ARN o mRNA transcritos por una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una proteína de oxidasa NADPH o un equivalente funcional de la misma, preferible por un gen de oxidasa NADPH. En tal caso los fragmentos tienen preferiblemente una longitud de secuencia de al menos 20 bases, preferible de al menos 50 bases, particularmente preferible de al menos 100 bases, muy particularmente preferible de al menos 200 bases, de la manera más preferida de al menos 500 bases. También está comprendido el ARN o mRNA transcrito completamente.

También está comprendido el uso de la molécula de dsRNA según la invención en los métodos de acuerdo con la invención para la generación de una resistencia ante patógenos en las plantas.

El dsRNA (ARN bicatenario) puede componerse de una o más cadenas de ribonucleótidos polimerizados. También pueden estar presentes modificaciones tanto del esqueleto de fosfato de azúcar como también del nucleósido. Por ejemplo, los enlaces de fosforo-diéster del ARN natural pueden modificarse de tal manera que comprendan al menos un heteroátomo como nitrógeno o azufre. Las bases pueden modificarse de tal manera que se restrinja la actividad de la adenosindeaminasa, por ejemplo. Tales modificaciones, y otras, se siguen describiendo abajo en el caso del método para estabilizar ARN antisense.

Naturalmente, para lograr el mismo propósito, también pueden introducirse en la célula o el organismo varias moléculas individuales de dsRNA que comprenden respectivamente uno de los segmentos de secuencia de ribonucleótidos.

El dsRNA (ARN bicatenario) puede producirse de manera enzimática o total o parcialmente mediante síntesis química.

La estructura bicatenaria de dsRNA puede formarse a partir de dos cadenas de ARN separadas, complementarias o, preferiblemente, a partir de una cadena de ARN autocomplementaria.

En el caso de una cadena individual autocomplementaria pueden conectarse secuencias “sense” y “antisense” mediante una secuencia que enlaza (“linker”) y formar una estructura de horquilla, por ejemplo. La secuencia que enlaza puede ser un intron que se empalma hacia afuera después de la síntesis del dsRNA.

La secuencia de ácido nucleico que codifica para un dsRNA puede contener otros elementos como, por ejemplo, señales de terminación de transcripción o señales de poliadenilación.

Si las dos cadenas del dsRNA deben introducirse conjuntamente en una célula o una planta, esto puede ocurrir de diferente modo:

- a) Transformación de la célula o planta con un vector que comprende ambos casetes de expresión,
- b) Cotransformación de la célula o planta con dos vectores donde el primero comprende los casetes de expresión con la cadena “sense”, el otro comprende los casetes de expresión con la cadena “antisense”.
- c) Cruzamiento de dos plantas que se han transformado respectivamente con un vector, donde uno comprende los casetes de expresión con la cadena “sense” y el otro comprende los casetes de expresión con la cadena “antisense”.

La formación del ARN dúplex puede iniciarse o bien afuera de la célula o dentro de la misma. Como en WO 99/53050 el dsRNA también puede comprender una estructura de horquilla en la cual la cadena “sense” y “antisense” están enlazadas por un “linker” (por ejemplo un intron). Se prefieren las estructuras autocomplementarias de dsRNA puesto que solo requieren la expresión de un constructo y comprenden las cadenas complementarias siempre en una proporción equimolar.

Los casetes de expresión que codifican para la cadena “antisense” o “sense” de un dsRNA o para una cadena autocomplementaria del dsRNA, se insertan preferiblemente en un vector y se insertan de manera estable (usando por ejemplo marcadores de selección) al genoma de una planta para garantizar una expresión duradera del dsRNA.

El dsRNA puede introducirse usando una cantidad que hace posible al menos una copia por célula. Cantidades superiores (por ejemplo, al menos 5, 10, 100, 500 o 1000 copias por célula) pueden provocar opcionalmente una disminución más eficiente.

Como ya se ha descrito, no se requiere obligatoriamente una identidad de secuencia de 100% entre el dsRNA y un transcripto génico de oxidasa NADPH o el transcripto de gen de un gen funcionalmente equivalente para provocar una disminución eficiente de la expresión de oxidasa NADPH. Por consiguiente existe la ventaja de que el método es tolerante frente a desviaciones de secuencia tal como pueden presentarse a causa de mutaciones genéticas, polimorfismos o divergencias evolucionarias. Es posible, por ejemplo, con el dsRNA que se ha generado a partir de la secuencia de oxidasa NADPH de un organismo, suprimir la expresión de oxidasa NADPH en otro organismo. La alta

homología de secuencia entre las secuencias de oxidasa NADPH de arroz, maíz y cebada permite concluir que esta proteína se conserva a un alto grado dentro de las plantas, de modo que la expresión de un dsRNA derivada de una de las secuencias de oxidasa NADPH que comprenden una secuencia según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o 21 también tiene probablemente un efecto duradero en otras especies vegetales.

Debido a la alta homología entre las proteínas individuales de oxidasa NADPH y sus equivalentes funcionales con un único dsRNA que se haya generado a partir de una secuencia determinada de oxidasa NADPH de un organismo también es posible suprimir la expresión de otras proteínas homólogas de oxidasa NADPH y/o sus equivalentes funcionales del mismo organismo o aunque también la expresión de proteínas de oxidasa NADPH en otras especies relacionadas. Para este propósito el dsRNA comprende preferiblemente regiones de secuencia de transcritos génicos de oxidasa NADPH que corresponden a regiones conservadas. Dichas regiones conservadas pueden derivarse fácilmente de comparaciones de secuencia.

El dsRNA puede sintetizarse ya sea *in vivo* o *in vitro*. Para esto puede introducirse a un casete de expresión una secuencia de ADN que codifica para un dsRNA bajo control de al menos un elemento genético de control (como por ejemplo promotor, potenciador, silenciador, splice (empalme)-donador o aceptador para empalme, señal de poliadenilación). De manera correspondiente abajo se siguen describiendo construcciones ventajosas. No se requiere una poliadenilación ni tampoco deben estar presentes elementos para la iniciación de una translación.

Un dsRNA puede sintetizarse de forma química o enzimática. Para esto pueden usarse polimerasas de ARN celulares o polimerasas de ARN bacteriófagos (como, por ejemplo, polimerasa de ARN T3, T7 o SP6). Se han descrito métodos correspondientes para expresión *in vitro* de ARN (WO 97/32016; US 5,593,874; US 5,698,425, US 5,712,135, US 5,789,214, US 5,804,693). Un dsRNA sintetizado de manera química o enzimática *in vitro* puede purificarse total o parcialmente antes de la introducción en una célula, tejido u organismo desde la mezcla de reacción, por ejemplo mediante extracción, precipitación, electroforesis, cromatografía o combinaciones de estos métodos. El dsRNA puede introducirse inmediatamente en la célula o pueden también aplicarse extracelularmente (por ejemplo en el espacio intersticial).

Sin embargo, la planta se transforma establemente con un constructo de expresión el cual produce la expresión del dsRNA. Abajo se describen más métodos correspondientes.

b) Introducción de una secuencia de ácidos nucleicos antisense de oxidasa NADPH

Muchas veces se han descrito, también para plantas, métodos para la supresión de una proteína determinada mediante la obstaculización de la acumulación de su mRNA por medio de la tecnología "antisense" (Sheehy *et al.* (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85: 8805-8809; US 4,801,340; Mol JN *et al.* (1990) FEBS Lett 268(2):427-430). La molécula de ácido nucleico antisense hibrida o enlaza con el mRNA celular y/o ADN genómico que codifica para la proteína objetivo de oxidasa NADPH a suprimir. De esta manera se suprime la transcripción y/o translación de la proteína objetivo. La hibridación puede surgir de manera convencional por la formación de un dúplex estable o, en el caso de ADN genómico, por enlazamiento de la molécula de ácido nucleico antisense con el dúplex del ADN genómico mediante interacción específica en el gran surco de la hélice de ADN.

Una secuencia de ácidos nucleicos antisense adecuada para la disminución de una proteína de oxidasa NADPH puede derivarse usando la secuencia de ácidos nucleicos que codifica para esta proteína, por ejemplo la secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21, según las reglas de par de bases de Watson y Crick. La secuencia de ácidos nucleicos antisense puede ser complementaria a todo el mRNA transcrito de la dicha proteína, limitarse a la región que codifica o componerse sólo de un oligonucleótido que es complementario a una parte de la secuencia del mRNA que codifica o que no codifica. Así, el oligonucleótido puede ser complementario a la región que comprende el inicio de translación para la dicha proteína. Secuencias de ácidos nucleicos anti-sense pueden tener una longitud de, por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 nucleótidos, pero también pueden ser más largos y comprender al menos 100, 200, 500, 1000, 2000 o 5000 nucleótidos. Secuencias de ácidos nucleicos antisense pueden expresarse de manera recombinante o sintetizarse de manera química o enzimática usando métodos conocidos por el experto en la materia. En el caso de la síntesis química pueden usarse nucleótidos naturales o modificados. Los nucleótidos modificados pueden conferir a la secuencia de ácidos nucleicos antisense una estabilidad bioquímica elevada y conducir a una estabilidad física elevada del dúplex de secuencia de aminoácidos antisense secuencia sense objetivo. Pueden usarse, por ejemplo, derivados de tioato de fósforo y nucleótidos sustituidos de acridina como 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-clorouracilo, 5-yodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroxi)metiluracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometiluracilo, dihidouracilo, β -D-galactosilqueosina, inosina, N6-isopenteniladenina, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, N6-adenina, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, β -D-manosilqueosina, 5'-metoxycarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metiltio-N6-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metilo de ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético, 5-metil-2-tiouracilo, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil)uracilo y 2,6-diaminopurina.

En otra forma preferida de realización la expresión de una proteína de oxidasa NADPH puede inhibirse por secuencias de nucleótidos que son complementarias a la región regulatoria de un gen de oxidasa NADPH (por ejemplo a un

promotor y/o potenciador de oxidasa NADPH) y forman estructuras triplehelicoidales con la hélice doble de ADN de allí, de modo que se disminuye la transcripción del gen de oxidasa NADPH. Se han descrito métodos correspondientes (Helene C (1991) *Anticancer Drug Res* 6(6):569-84; Helene C *et al.* (1992) *Ann NY Acad Sci* 660: 27-36; Maher LJ (1992) *Bioassays* 14(12):807-815).

En otra forma de realización la molécula de ácido nucleico antisense puede ser un ácido nucleico α -anomérico. Moléculas de ácido nucleico α -anoméricas de este tipo forman híbridos bicatenarios específicos con ARN complementario en los que, a diferencia de los ácidos β -nucleicos convencionales, ambas cadenas corren paralelas la una hacia la otra. (Gautier C *et al.* (1987) *Nucleic Acids Res* 15:6625-6641). Además, la molécula de ácido nucleico antisense también puede contener 2'-O-metilribonucleótidos (Inoue *et al.* (1987) *Nucleic Acids Res* 15:6131-6148) o análogos de ARN-ADN quiméricos (Inoue *et al.* (1987) *FEBS Lett* 215:327-330).

c) *Introducción de una secuencia de ácidos nucleicos antisense de oxidasa NADPH combinada con una ribozima*

Ventajosamente la estrategia antisense arriba descrita puede acoplarse con un método de ribozima. Moléculas de ARN catalíticas o ribozimas pueden adecuarse a cada ARN objetivo y disociar el esqueleto de fosfodiéster en posiciones específicas por lo cual se desactiva funcionalmente el ARN objetivo (Tanner NK (1999) *FEMS Microbiol Rev* 23 (3):257-275). Por esto, el ribozima mismo no se modifica, sino que está en capacidad de disociar de manera análoga moléculas de ARN objetivo por lo cual obtiene las propiedades de una enzima. La incorporación de secuencias de ribozima en ARNs "antisense" confiere precisamente a estos ARNs "anti-sense" esta propiedad similar a la enzimática, disociadora de ARN e incrementa así su eficiencia en la desactivación del ARN objetivo. La producción y el uso de moléculas de ARN "anti-sense" ribozima correspondiente se describe, por ejemplo en Haseloff *et al.* (1988) *Nature* 334:585-591.

De esta manera, las ribozimas (por ejemplo "Hammerhead"-Ribozyme; Haselhoff y Gerlach (1988) *Nature* 334: 585-591) pueden usarse para disociar catalíticamente mARN de una enzima a suprimirse, por ejemplo oxidasa NADPH e impedir la translación. La tecnología de ribozima puede aumentar la eficiencia de una estrategia antisense. Se han descrito métodos para la expresión de ribozimas para la disminución de determinadas proteínas en EP 0 291 533, EP 0 321 201, EP 0 360 257. En células vegetales también se describe una expresión de ribozima (Steinecke P *et al.* (1992) *EMBO J* 11(4):1525-1530; de Feyter R *et al.* (1996) *Mol Gen Genet.* 250(3):329-338). Secuencias objetivo y ribozimas adecuadas pueden determinarse, por ejemplo, tal como se describe en "Steinecke P, Ribozymes, Methods in Cell Biology 50, Galbraith *et al.* eds, Academic Press, Inc. (1995), páginas 449-460", mediante cálculos estructurales secundarios de ribozimas y ARN objetivo, así como mediante su interacción. (Bailey CC *et al.* (1992) *Plant Mol Biol.* 18(2):353-361; Lloyd AM and Davis RW *et al.* (1994) *Mol Gen Genet.* 242(6):653-657). Por ejemplo, pueden construirse derivados de la tetrahimena L-19 IVS RNA que presentan regiones complementarias al mARN de la proteína de oxidasa NADPH a suprimirse (véase también US 4,987,071 y US 5,116,742). De manera alterna tales ribozimas también pueden identificarse de una biblioteca de diversos ribozimas usando un proceso de selección (Bartel D y Szostak JW (1993) *Science* 261:1411-1418).

d) *Introducción de una secuencia de ácidos nucleicos sense de oxidasa NADPH para inducir una co-supresión*

La expresión de una secuencia de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH en orientación sense puede conducir a una co-supresión de los homólogos correspondientes, de gen endógeno. La expresión de ARN sense con homología a un gen endógeno puede disminuir o apagar la expresión del mismo de manera similar a como se ha descrito para planteamientos antisense (Jorgensen *et al.* (1996) *Plant Mol Biol* 31(5):957-973; Goring *et al.* (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:1770-1774; Smith *et al.* (1990) *Mol Gen Genet* 224:447-481; Napoli *et al.* (1990) *Plant Cell* 2:279-289; Van der Krol *et al.* (1990) *Plant Cell* 2:291-99). Aquí el constructo introducido puede representar total o solo parcialmente el gen homólogo a disminuirse. No se requiere la posibilidad para la translación. La aplicación de esta tecnología en plantas se describe, por ejemplo, en Napoli *et al.* (1990) *The Plant Cell* 2: 279-289 y en US 5,034,323.

Se prefiere realizar la co-supresión usando una secuencia que es esencialmente idéntica a al menos una parte de la secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una proteína de oxidasa NADPH o un equivalente funcional de la misma, por ejemplo la secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o 21.

e) *Introducción de factores que enlazan ADN p proteína frente a genes, ARN o proteínas de oxidasa NADPH*

Una disminución de una expresión génica de oxidasa NADPH también es posible con factores específicos que enlazan ADN, por ejemplo con factores del tipo de los factores de transcripción de dedo de cinc. Estos factores se alojan en la secuencia genómica del gen endógeno objetivo, preferible en las regiones regulatorias y provocan una represión del gen endógeno. El uso de un método así hace posible la disminución de la expresión de un gen endógeno de oxidasa NADPH sin que deba manipularse su secuencia mediante ingeniería genética. Se han descrito métodos correspondientes para la producción de factores correspondientes (Dreier B *et al.* (2001) *J Biol Chem* 276(31): 29466-78; Dreier B *et al.* (2000) *J Mol Biol* 303(4):489-502; Beerli RR *et al.* (2000) *Proc Natl Acad Sci USA* 97 (4): 1495-1500; Beerli RR *et al.* (2000) *J Biol Chem* 275(42):32617-32627; Segal DJ and Barbas CF 3rd. (2000) *Curr Opin*

Chem Biol 4(1):34-39; Kang JS and Kim JS (2000) J Biol Chem 275(12):8742-8748; Beerli RR *et al.* (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95(25):14628-14633; Kim JS *et al.* (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(8):3616-3620; Klug A (1999) J Mol Biol 293(2):215-218; Tsai SY *et al.* (1998) Adv Drug Deliv Rev 30(1-3):23-31; Mapp AK *et al.* (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97(8):3930-3935; Sharrocks AD *et al.* (1997) Int J Biochem Cell Biol 29(12):1371-1387; Zhang L *et al.* (2000) J Biol Chem 275(43):33850-33860.

La selección de estos factores puede efectuarse usando cualquier pedazo de un gen de oxidasa NADPH. Este segmento se encuentra localizado preferiblemente en la región del promotor. Pero para una supresión de gen también debe localizarse en la región del exón o intrón que codifican. Los segmentos correspondientes pueden obtenerse por parte del experto en la materia por medio de consulta en bancos de datos o a partir de un cADN (ADN complementario) de oxidasa NADPH cuyo gen no esté presente en el banco de datos, mediante inspección completa de una biblioteca genómica para encontrar clones genómicos correspondientes. Los métodos necesarios para este propósito son corrientes para la persona experta en la materia.

También pueden introducirse a la célula factores que inhiben la proteína misma objetivo de oxidasa NADPH. Los factores que enlazan proteína pueden ser, por ejemplo, aptameros (Famulok M y Mayer G (1999) Curr Top Microbiol Immunol 243:123-36) o anticuerpos o fragmentos de anticuerpos o anticuerpos de cadena única. La obtención de estos factores se describe y se conoce por parte del experto en la materia. Por ejemplo, se ha empleado un anticuerpo scFv citoplasmático para modular la actividad del fitocroma A de la proteína en plantas de tabaco genéticamente modificadas (Owen M *et al.* (1992) Biotechnology (N Y) 10(7):790-794; Franken E *et al.* (1997) Curr Opin Biotechnol 8(4): 411-416; Whitelam (1996) Trend Plant Sci 1:286-272).

La expresión genética también puede suprimirse mediante compuestos sintéticos, de bajo peso molecular, cortados a la medida, por ejemplo del tipo poliamida (Dervan PB y Bürlí RW (1999) Current Opinion in Chemical Biology 3:688-693; Gottesfeld JM *et al.* (2000) Gene Expr 9(1-2):77-91). Estos oligómeros se componen de las unidades estructurales 3-(dimetilamino)propilamina, N-metil-3-hidroxipirrol, N-metilimidazol y N-metilpirroles y pueden adecuarse a cada pedazo de ADN bicatenario de tal manera que enlacen al gran surco de manera específica para la secuencia y bloquean la expresión de las secuencias génicas de allí. Se han descrito métodos correspondientes (véase, entre otros, Bremer RE *et al.* (2001) Bioorg Med Chem. 9(8):2093-103; Ansari AZ *et al.* (2001) Chem Biol. 8(6):583-92; Gottesfeld JM *et al.* (2001) J Mol Biol. 309(3):615-29; Wurtz NR *et al.* (2001) Org Lett 3(8):1201-3; Wang CC *et al.* (2001) Bioorg Med Chem 9(3):653-7; Urbach AR y Dervan PB (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98(8):4343-8; Chiang SY *et al.* (2000) J Biol Chem. 275(32):24246-54).

f) *Introducción de secuencias de ácidos nucleicos virales, y de constructos de expresión, que provocan descomposición de ARN de oxidasa NADPH*

La expresión de oxidasa NADPH también puede realizarse efectivamente mediante inducción de la descomposición específica de ARN de oxidasa NADPH por medio de la planta con ayuda de un sistema de expresión viral (Amplikon) (Angell, SM *et al.* (1999) Plant J. 20 (3):357-362). Estos sistemas, denominados también "VIGS" (viral induced gene silencing), producen en la planta secuencias de ácidos nucleicos con homología hacia los transcritos a suprimir por medio de vectores virales. La transcripción se elimina entonces, probablemente mediada por mecanismos de defensa contra virus. Se han descrito técnicas y métodos correspondientes (Ratcliff F *et al.* (2001) Plant J 25 (2):237-45; Fagard M y Vaucheret H (2000) Plant Mol Biol 43(2-3):285-93; Anandalakshmi R *et al.* (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95 (22):13079-84; Ruiz MT (1998) Plant Cell 10(6): 937-46).

g) *Introducción de constructos para la inducción de una recombinación homóloga en genes endógenos de oxidasa NADPH, por ejemplo para la generación de mutantes de knockout*

Para la producción de un organismo recombinante de manera homóloga, con actividad disminuida de oxidasa NADPH se usa, por ejemplo, un constructo de ácido nucleico que contiene al menos una parte de un gen endógeno de oxidasa NADPH, que se modifica mediante una delección, adición o sustitución de al menos un nucleótido de tal modo que se reduce la funcionalidad o se anula completamente. La modificación también puede referirse a elementos regulatorios del gen (por ejemplo, al promotor) de modo que la secuencia que codifica permanezca inmodificada aunque no tiene lugar una expresión (transcripción y/o translación) y se disminuye.

En el caso de la recombinación homóloga convencional, la región modificada está flanqueada en sus extremos 5' y 3' por otras secuencias de ácidos nucleicos que deben tener una longitud suficiente para hacer posible la recombinación. La longitud se encuentra regularmente en una región de varios cientos de bases hasta varias kilobases (Thomas KR y Capecchi MR (1987) Cell 51:503; Strepp *et al.* (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95(8):4368-4373). Para la recombinación homóloga se transforma el organismo huésped, por ejemplo una planta, con el constructo de recombinación usando los métodos descritos abajo y se seleccionan clones recombinados exitosamente usando, por ejemplo, una resistencia a antibióticos o herbicidas.

La recombinación homóloga es un evento relativamente raro en eucarióticas superiores, ante todo en plantas. Predominan las integraciones casuales al genoma huésped. Una posibilidad de eliminar secuencias integradas casualmente y de esta manera enriquecer clones de célula con una recombinación homóloga correcta consiste en el uso de un sistema

de recombinación específico de secuencia como se describe en US 6,110,736, a través del cual pueden suprimirse secuencias integradas de manera no específica, lo cual facilita la selección de eventos que se han integrado exitosamente mediante recombinación homóloga. Puede usarse un gran número de sistemas de recombinación específicos de secuencias, a manera de ejemplo se mencionan el sistema Cre/lox de los bacteriofagos P1, el sistema FLP/FRT de las levaduras, la recombinasa Gin del fago Mu, la recombinasa Pin de *E. coli* y el sistema R/RS del plásmido pSR1. Se prefieren bacteriofagos P1 Cre/lox y el sistema FLP/FRT de levadura. El sistema de recombinasa FLP/FRT y cre/lox ya ha sido aplicado en sistemas vegetales (Odell *et al.* (1990) Mol Gen Genet 223: 369-378)

h) *Introducción de mutaciones en genes endógenos de oxidasa NADPH para la generación de una pérdida de función (por ejemplo, generación de stop-codón, desplazamientos en el marco de lectura, etc.)*

Otros métodos adecuados para la disminución de la actividad de oxidasa NADPH son: la introducción de mutaciones nonsense en genes endógenos de oxidasa NADPH, por ejemplo mediante introducción de oligonucleótidos ARN/ADN en la planta (Zhu *et al.* (2000) Nat Biotechnol 18(5):555-558) así como la generación de mutantes knockout con ayuda de, por ejemplo, T-ADN-mutagénesis (Koncz *et al.* (1992) Plant Mol Biol 20(5):963-976), ENU-(N-etil-N-nitrosourea)-mutagénesis o recombinación homóloga (Hohn B y Puchta (1999) H Proc Natl Acad Sci USA 96:8321-8323.). También pueden generarse mutaciones puntuales mediante híbridos ADN-ARN que también son conocidos como “chimeraplasty” (Cole-Strauss *et al.* (1999) Nucl Acids Res 27(5):1323-1330; Kmiec (1999) Gene therapy American Scientist 87(3): 240-247).

Los métodos de dsRNAi (interferencia de ARN bicatenario), de la cosupresión por medio de ARN sense y del “VIGS” (“virus induced gene silencing”) también se denominan como “post-transcriptional gene silencing” (PTGS). Los métodos PTGS, como también la disminución de la función de oxidasa NADPH o actividad con variantes dominantes - negativas de oxidasa NADPH son particularmente ventajosos porque los requisitos para la homología entre el gen endógeno a suprimirse y la secuencia de ácidos nucleicos expresadas transgénicamente sense o dsRNA (o entre el gen endógeno y su variante dominante - negativa) son inferiores que, por ejemplo, en el caso de un planteamiento antisense clásico. Criterios de homología correspondientes se nombran en la descripción del método de dsRNAi y pueden aplicarse generalmente para métodos PTGS o planteamientos dominante - negativos. Debido a la alta homología entre las proteínas de oxidasa NADPH de maíz, arroz y cebada puede hacerse conclusiones sobre un alto grado de conservación de esta proteína en vegetales. De esta manera previsiblemente también puede suprimirse efectivamente la expresión de proteínas homólogas de oxidasa NADPH en otras especies usando las secuencias de oxidasa NADPH de ácidos nucleicos de cebada, maíz o arroz sin que sea obligatorio el aislamiento y la elucidación estructural de los homólogos de oxidasa NADPH. Esto aligera considerablemente el gasto de trabajo. Usando también variantes negativas dominantes de una proteína de oxidasa NADPH de arroz, maíz o cebada puede disminuirse o suprimirse efectivamente de manera análoga y previsible la función/actividad de su homólogo en otras especies vegetales.

Todas las sustancias y compuestos que provocan directa o indirectamente una disminución de la cantidad de proteína, cantidad de ARN, actividad de gen o actividad de proteína de una proteína de oxidasa NADPH, se compilan en consecuencia bajo la denominación de compuestos “anti-oxidasa NADPH”. El término compuesto “anti-oxidasa NADPH” incluye explícitamente las secuencias de ácidos nucleicos, péptidos, proteínas u otros factores que se emplean en los métodos arriba descritos.

En el marco de la presente invención, “introducción” comprende todos los métodos que son adecuados para introducir un compuesto “anti-oxidasa NADPH”, de manera directa o indirecta, en una planta o una célula, compartimiento, tejido, órgano o semillas de la misma, o generarlo allí. Métodos directos e indirectos se encuentran comprendidos. La introducción puede conducir a una presencia pasajera (transitoria) de un compuesto “anti-oxidasa NADPH” (por ejemplo, de un dsRNA) o también a una duradera (estable).

Según la diversa naturaleza de los planteamientos arriba descritos, el compuesto “anti-oxidasa NADPH” puede ejercer su función de manera directa (por ejemplo, mediante inserción en un gen endógeno de oxidasa NADPH). Pero la función también puede ejercerse de manera indirecta después de transcripción en un ARN (por ejemplo en el caso de planteamientos antisense) o después de transcripción y translación en una proteína (por ejemplo, factores de enlace). Según la invención están comprendidos compuestos “anti-oxidasa NADPH” que actúan tanto directa como indirectamente.

Introducir comprende, por ejemplo, métodos como transfección, transducción o transformación.

De esta manera, compuestos “anti-oxidasa NADPH” también comprenden, por ejemplo, constructos de expresión recombinantes los cuales provocan una expresión (es decir, transcripción y opcionalmente translación) de un dsRNA de oxidasa NADPH o de un ARN “antisense” oxidasa NADPH, por ejemplo, preferiblemente en una planta o una parte, un tejido, órgano o semillas de la misma.

En dichos constructos de expresión se encuentra una molécula de ácido nucleico cuya expresión (transcripción y opcionalmente translación) genera un compuesto de “anti-oxidasa NADPH”, preferible en vínculo funcional con al menos un elemento genético de control (por ejemplo, un promotor) que garantiza una expresión en un organismo, preferible en vegetales. Si el constructo de expresión debe introducirse de manera directa en el vegetal y el compuesto “anti-oxidasa NADPH” (por ejemplo, el dsARN oxidasa NADPH) debe generarse allí en las plantas, entonces se

prefieren elementos genéticos de control específicos para la planta (por ejemplo, promotores). Aunque el compuesto “anti-oxidasas NADPH” también puede generarse en otros organismos o *in vitro* y luego introducirse en la planta (como se describe en los ejemplos 6 y 7). En este se prefieren todos los elementos genéticos de control procarióticos o eucarióticos (por ejemplo, promotores) que permiten la expresión en el organismo seleccionado respectivamente para la producción.

Por un vínculo funcional se entiende, por ejemplo, la disposición secuencial de un promotor con la secuencia de ácido nucleico a expresar (por ejemplo, de un compuesto “anti-NAox”) y opcionalmente de otros elementos regulatorios como, por ejemplo, un terminador de tal manera que cada uno de los elementos regulatorios puede cumplir su función en la expresión transgénica de la secuencia de ácidos nucleicos, según la disposición de la secuencia de ácidos nucleicos hacia ARN sense o antisense. Para este propósito no es indispensable un vínculo directo en el sentido químico. Secuencias genéticas de control, como por ejemplo secuencias de potenciador, también pueden ejercer su función desde posiciones más alejadas o incluso desde otras moléculas de ADN sobre la secuencia objetivo. Se prefieren disposiciones en las que la secuencia de ácidos nucleicos a expresarse de manera transgénica se posiciona detrás de la secuencia que funge como promotor de modo que ambas secuencias se enlazan una con otra de manera covalente. En tal caso se prefiere una distancia entre la secuencia promotora y la secuencia de ácidos nucleicos a expresarse transgénicamente de menos de 200 pares de bases, particularmente preferible de menos de 100 pares de bases, muy particularmente preferible de menos de 50 pares de bases.

La producción de un vínculo funcional como también la elaboración de casete de expresión pueden realizarse por medio de técnicas de recombinación y clonación, tal como se describen, por ejemplo, en Maniatis T, Fritsch EF y Sambrook J (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY), en Silhavy TJ, Berman ML y Enquist LW (1984) *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY), en Ausubel FM *et al.* (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience y por Gelvin *et al.* (1990) en: *Plant Molecular Biology Manual*. Pero entre ambas secuencias también pueden posicionarse otras secuencias que tienen, por ejemplo, la función de un linker (enlazante) con determinados sitios de corte de enzima de restricción o de un péptido de señal. La inserción de secuencias también puede conducir hacia la expresión de proteínas de fusión. Preferiblemente, el casete de expresión que se compone de un vínculo de promotor y la secuencia de ácidos nucleicos a expresarse pueden encontrarse presentes de manera integrada en un vector e insertarse por transformación, por ejemplo, a un genoma vegetal.

Por un casete de expresión también deben entenderse aquellas construcciones en las que un promotor se sitúa detrás de un gen endógeno de oxidasa NADPH, por ejemplo mediante una recombinación homóloga, y se provoca la disminución de una proteína de oxidasa NADPH, de acuerdo con la invención, mediante expresión de un ARN de oxidasa NADPH. De manera análoga también puede situarse un compuesto “anti-oxidasas NADPH” (por ejemplo una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para un dsRNA de oxidasa NADPH o un ARN de oxidasa NADPH) detrás de un promotor endógeno de tal modo que ocurra el mismo efecto. Ambos planteamientos conducen a un casete de expresión en el sentido de la invención.

El término promotores específicos de vegetales significa básicamente cada promotor que puede controlar la expresión de genes, en particular genes ajenos, en plantas o partes, células, tejidos, cultivos de plantas. En tal caso, la expresión puede ser, por ejemplo, constitutiva, inducible o dependiente de desarrollo.

Se prefieren:

a) *Promotores constitutivos*

Se prefieren vectores que hacen posible una expresión constitutiva en plantas. (Benfey *et al.* (1989) EMBO J 8:2195-2202). Promotor “constitutivo” significa aquellos promotores que garantizan una expresión en numerosos tejidos, preferible en todos, por un intervalo de tiempo grande del desarrollo de las plantas, preferible en todos los momentos del tiempo del desarrollo de las plantas. Preferiblemente se usa de manera particular un promotor vegetal o un promotor que procede de un virus vegetal. En especial se prefiere el promotor del transcripto 35S del virus mosaico de coliflor CaMV (Franck *et al.* (1980) Cell 21:285-294; Odell *et al.* (1985) Nature 313:810-812; Shewmaker *et al.* (1985) Virology 140:281-288; Gardner *et al.* (1986) Plant Mol Biol 6:221-228) o el 19S CaMV Promotor (US 5,352,605; WO 84/02913; Benfey *et al.* (1989) EMBO J 8:2195-2202). Otro promotor constitutivo adecuado es el promotor de “Rubisco small subunit (SSU)” (US 4,962,028), el promotor B de leguminosas (GenBank Acc.-Nr. X03677), el promotor de la nopalinsintasa de agrobacteria, el promotor doble TR, el promotor OCS (octopina sintasa), promotor de agrobacteria, el promotor ubiquitina (Holtorf S *et al.* (1995) Plant Mol Biol 29:637-649), el Ubiquitin 1 Promotor (Christensen *et al.* (1992) Plant Mol Biol 18:675-689; Bruce *et al.* (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:9692-9696), el promotor Smas, el promotor cinnamilalcoholdehidrogenasa (US 5,683,439), los promotores de subunidades de ATPasa o el promotor una proteína rica en prolina a partir de trigo (WO 91/13991), así como otros promotores de genes cuya expresión constitutiva en plantas es conocida por el experto en la materia. Como promotor constitutivo se prefiere especialmente el promotor del gen de nitrilasa-1 (nit1) a partir de A. thaliana (GenBank Acc.-No.: Y07648.2, Nukleotide 2456-4340, Hillebrand *et al.* (1996) Gene 170:197-200).

b) *Promotores específicos de tejidos*

También se prefieren promotores con especificidades para las anteras, ovarios, flores, hojas, tallos, raíces y semillas.

- 5 Promotores específicos de semillas comprenden, por ejemplo, el promotor de la faseolina (US 5,504,200; Bustos MM *et al.* (1989) Plant Cell 1(9):839-53), de la albúmina 2S (Joseffson LG *et al.* (1987) J Biol Chem 262:12196-12201), de la legumina (Shirsat A *et al.* (1989) Mol Gen Genet 215(2): 326-331), de la USP (unknown seed protein; Bäumlein H *et al.* (1991) Mol Gen Genet 225(3):459-67), de la napina (US 5,608,152; Stalberg K *et al.* (1996) L Planta 199:515-519), de la proteína de enlace de sacarosa (WO 00/26388), de la legumina B4 (LeB4; Bäumlein H *et al.* (1991) Mol Gen Genet 225: 121-128; Bäumlein *et al.* (1992) Plant Journal 2(2):233-9; Fiedler U *et al.* (1995) Biotechnology (NY) 13(10):1090f), de la oleosina de Arabidopsis (WO 98/45461) y de la Bce4 de Brassica (WO 91/13980). Otros promotores específicos de semillas adecuados sin los de los genes que codifican para la “High Molecular Weight Glutenin” (HMWG), gliadina, enzima de ramificación, ADP glucosa pirofosfatasa (AGPasa) o la sintasa de almidón. También se prefieren promotores que permiten una expresión específica de semilla en monocotiledóneas como maíz, cebada, trigo, centeno, arroz, etc. Pueden usarse ventajosamente el promotor del gen lpt2 o lpt1 (WO 95/15389, WO 95/23230) o los promotores descritos en WO 99/16890 (promotores del gen de hordeína, del gen de glutelina, del gen oryzina, de gen prolamina, del gen gliadina, del gen glutelina, del gen zeina, del gen casirina o del gen secalina).

- 20 Promotores específicos de bulbos, de raíces de almacenamiento o de raíces comprenden, por ejemplo, el promotor patatina clase I (B33) y el promotor de cathepsin D inhibidor de patata.

- 25 Promotores específicos de hojas comprenden, por ejemplo, el promotor de la FBPasa citosólica de patata (WO 97/05900), el promotor SSU (small subunit) de rubisco (ribulosa-1,5-bisfosfat-carbox-ilasa) o el promotor STLSI de patata (Stockhaus *et al.* (1989) EMBO J 8:2445-2451). Muy particularmente se prefieren promotores específicos de epidermis, como por ejemplo el promotor del gen OXLP (“oxalat-oxidase like protein”; Wei *et al.* (1998) Plant Mol. Biol. 36:101-112).

- 30 Promotores específicos de flores comprenden, por ejemplo, el promotor fito sintasa (WO 92/16635) o el promotor del gen P-rr (WO 98/22593).

- 30 Promotores específicos de anteras comprenden, por ejemplo, el promotor 5126 (US 5,689,049, US 5,689,051), el promotor glob-1 y el promotor g-zein.

35 c) *Promotores inducibles químicamente*

- Los casetes de expresión también pueden contener un promotor inducible químicamente (artículo de resumen: Gatz *et al.* (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:89-108), por medio del cual la expresión del gen exógeno en la planta puede controlarse hasta un determinado punto en el tiempo. A manera de ejemplo pueden nombrarse el promotor PRP1 (Ward *et al.* (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), un promotor inducible por ácido salicílico (WO 95/19443), un promotor inducible por bencenosulfonamida (EP 0 388 186), un promotor inducible por tetraciclina (Gatz *et al.* (1992) Plant J 2:397-404), un promotor inducible por ácido abscísico (EP 0 335 528) o un promotor inducible por etanol o ciclohexanona (WO 93/21334).

45 d) *Promotores inducibles por stress o patógeno*

- También se prefieren promotores que se inducen mediante estrés biótico o abiótico, como por ejemplo el promotor inducible por patógeno del gen PRP1 (promotor *gst1*) por ejemplo de patata (WO 96/28561; Ward *et al.* (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), el promotor inducible por calor *hsp70* o *hsp80* de tomate (US 5,187,267), el promotor inducible de alfa-amilasa de la patata (WO 96/12814) o el promotor PPKK inducible por luz. Otros promotores inducibles por patógeno comprenden el promotor *Fis1* de lino (WO 96/34949), el promotor *Vst1* (Schubert *et al.* (1997) Plant Mol Biol 34:417-426) así como el promotor EAS4 sesquiterpeno-ciclasa de tabaco (US 6,100,451).

- 55 Promotores inducibles por patógenos también comprenden los promotores de genes que se inducen como consecuencia de una infestación de patógenos, como por ejemplo promotores de los genes de proteínas PR, proteínas SAR, b-1,3-glucanasa, quitinasa, etc. (por ejemplo Redolfi *et al.* (1983) Neth J Plant Pathol 89:245-254; Uknes, *et al.* (1992) Plant Cell 4: 645-656; Van Loon (1985) Plant Mol Biol 4:111-116; Marineau *et al.* (1987) Plant Mol Biol 9:335-342; Matton *et al.* (1987) Molecular Plant-Microbe Interactions 2:325-342; Somssich *et al.* (1986) Proc Natl Acad Sci USA 83:2427-2430; Somssich *et al.* (1988) Mol Gen Genetics 2:93-98; Chen *et al.* (1996) Plant J 10:955-966; Zhang and Sing (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:2507-2511; Warner, *et al.* (1993) Plant J 3:191-201; Siebertz *et al.* (1989) Plant Cell 1:961-968 (1989).

- 65 Están comprendidos promotores inducibles por lesión como el del gen *pinII* (EP-A 0 375 091; Ryan (1990) Ann Rev Phitopath 28:425-449; Duan *et al.* (1996) Nat Biotech 14:494-498), del gen *wun1* y *wun2* (US 5,428,148), del gen *win1* y *win2* (Stanford *et al.* (1989) Mol Gen Genet 215:200-208), del gen *sistemina* (McGurl *et al.* (1992) Science 225:1570-1573), del gen *WIP1* (Rohmeier *et al.* (1993) Plant Mol Biol 22:783-792; Eckelkamp *et al.* (1993) FEBS Letters 323:73-76), del gen *MPI* (Corderok *et al.* (1994) Plant J 6(2):141-150) y similares.

Una fuente de otros promotores inducibles por patógeno representa la familia de genes PR. Una serie de elementos en estos promotores han demostrado ser ventajosos. Así, la región -364 a -288 en el promotor de PR-2d facilita la especificidad de salicilato (Buchel *et al.* (1996) Plant Mol Biol 30, 493-504). La secuencia 5'-TCATCTTCTT-3' ocurre repetidamente en el promotor de la b-1,3-glucanasa de cebada y en más de otros 30 genes inducidos por estrés. En tabaco, esta región enlaza una proteína nuclear cuya abundancia se eleva mediante salicilato. Los promotores PR-1 de tabaco y arabidopsis (EP-A 0 332 104, WO 98/03536) también son adecuados como promotores inducibles por patógenos. Puesto que se inducen de manera particularmente específica por patógeno, se prefieren los promotores aPR5 "acidic PR-5" de cebada (Schweizer *et al.* (1997) Plant Physiol 114:79-88) y trigo (Rebmann *et al.* (1991) Plant Mol Biol 16:329-331). Las proteínas aPR5 se acumulan en cerca de 4 a 6 horas después de la infestación de patógenos y muestran una muy baja expresión de fondo (WO 99/66057). Un planteamiento para lograr una elevada especificidad inducida por patógeno es la generación de promotores sintéticos a partir de combinaciones de elementos conocidos de respuesta a patógenos (Rushton *et al.* (2002) Plant Cell 14, 749-762; WO 00/01830; WO 99/66057). Otros promotores inducibles por patógenos a de diferentes especies son conocidos para el experto en la materia (EP-A 1 165 794; EP-A 1 062 356; EP-A 1 041 148; EP-A 1 032 684;

e) Promotores dependientes de desarrollo

Otros promotores adecuados son, por ejemplo, promotores específicos de maduración de frutos, como por ejemplo el promotor específico de maduración de fruto de tomate (WO 94/21794, EP 409 625). Promotores dependientes de desarrollo incluyen parcialmente promotores específicos de tejido ya que la formación de tejidos individuales se efectúa por naturaleza en dependencia del desarrollo.

Particularmente se prefieren promotores constitutivos, así como específicos de hojas y/o tallos, inducibles por patógeno y específicos de epidermis y los que más se prefieren son promotores inducibles por patógeno y específicos de epidermis.

También pueden conectarse funcionalmente otros promotores con la secuencia de ácidos nucleicos a expresarse, los cuales hacen posible una expresión en otros tejidos vegetales o en otros organismos, como por ejemplo bacterias *E. coli*. Como promotores de vegetales teóricamente se consideran todos los promotores arriba descritos.

Además de un promotor, las secuencias de ácidos nucleicos contenidas en los casetes de expresión o vectores según la invención pueden estar conectadas funcionalmente con otras secuencias genéticas de control. El término de las secuencias genéticas de control debe entenderse de manera amplia y significa todas aquellas secuencias que tienen una influencia sobre la producción o la función del casete de expresión según la invención. Las secuencias genéticas de control modifican, por ejemplo, la transcripción y traducción en organismos procarióticos o eucarióticos. Los casetes de expresión según la invención comprenden preferiblemente el promotor con especificidad para epidermis embrional y/o las flores 5'-hacia arriba de la secuencia de ácidos nucleicos respectiva a expresarse transgénicamente y una secuencia de terminador 3'-hacia abajo como secuencia genética adicional de control, así como opcionalmente otros elementos regulatorios y enlazados respectivamente de manera funcional con la secuencia transgénica de ácidos nucleicos a expresarse transgénicamente.

Secuencias genéticas de control también comprenden otros promotores, elementos de promotores o promotores mínimos que pueden modificar las propiedades que controlan la expresión. De esa manera, adicionalmente puede efectuarse la expresión específica de tejido de manera dependiente de factores determinados de estrés, mediante secuencias genéticas de control. Se describen elementos correspondientes, por ejemplo, para estrés por agua, ácido abscísico. (Lam E y Chua NH, J Biol Chem 1991; 266(26): 17131 -17135) y estrés por calor (Schoffl F *et al.*, Molecular & General Genetics 217(2-3):246-53, 1989).

Teóricamente pueden usarse todos los promotores naturales con sus secuencias de regulación como las mencionadas arriba para el método según la invención. Además, también pueden usarse de manera ventajosa promotores sintéticos.

Secuencias genéticas de control también comprenden además regiones 5'-no trasladadas, intrones o 3'-región no codificante de genes como, por ejemplos el actin-1 intrón, o los adh1-S intrones 1, 2 y 6 (en general: The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, New York (1994)). Se ha mostrado que pueden desempeñar una función significativa en la regulación de la expresión génica. Así, se ha mostrado que las secuencias 5'-no trasladadas pueden reforzar la expresión transitoria de genes heterólogos. Ejemplos de reforzadores de traducción que pueden mencionarse la 5'-secuencia líder del virus mosaico de tabaco (Gallie *et al.* (1987) Nucl Acids Res 15: 8693-8711) y similares. Pueden además promover la especificidad del tejido (Rouster J *et al.* (1998) Plant J 15:435-440).

El casete de expresión puede contener de manera ventajosa una o más de las así llamadas "secuencias potenciadoras" vinculadas de manera funcional con el promotor, las cuales hacen posible una expresión transgénica elevada de la secuencia de ácidos nucleicos. En el 3'-extremo de las secuencias de ácidos nucleicos a expresarse transgénicamente también pueden insertarse secuencias ventajosas adicionales, como otros elementos regulatorios o terminadores. Las secuencias de ácidos nucleicos a expresarse transgénicamente pueden contenerse en una o en varias copias en el constructo génico.

Señales de poliadenilación adecuadas como secuencias de control son señales vegetales de poliadenilación, preferiblemente aquellas que corresponden esencialmente a las señales de poliadenilación T-ADN de *Agrobacterium tumefaciens*, en particular del gen 3 del T-ADN (octopina sintasa) del plásmido de Ti pTiACHS (Gielen *et al.* (1984) EMBO J 3:835 y siguientes) o equivalentes funcionales del mismo. Ejemplos de secuencia terminadoras particularmente adecuadas son el terminador OCS (octopina-sintasa) y el terminador NOS (nopalina-sintasa).

Como secuencias de control también deben entenderse aquellas que hacen posible una recombinación homóloga o inserción en el genoma de un organismo huésped o permiten la remoción del genoma. En el caso de la recombinación homóloga el promotor natural de un gen determinado puede, por ejemplo, intercambiarse contra un promotor con especificidad para la epidermis embrional y/o las flores. Métodos como la tecnología cre/lox permiten una remoción específica de tejido, inducible bajo circunstancias, del casete de expresión del genoma del organismo huésped (Sauer B (1998) Methods. 14(4):381-92). Aquí se adicionan al gen objetivo ciertas secuencias flanqueantes (secuencias lox) que más tarde hacen posible una remoción por medio de la recombinasa cre.

Un casete de expresión y los vectores derivados del mismo pueden comprender más elementos funcionales. El término elemento funcional debe entenderse en el sentido amplio y se refiere a todos aquellos elementos que tienen un efecto en la producción, multiplicación o función de los casetes de expresión, vectores u organismos transgénicos de acuerdo con la invención. A manera de ejemplo, pero sin limitarse a éstos, pueden mencionarse los siguientes:

a) Marcadores de selección que confieren una resistencia frente a un inhibidor de metabolismo como 2-desoxi-glucosa-6-fosfato (WO 98/45456), antibióticos o biocidas, preferible herbicidas, como por ejemplo canamicina, G 418, bleomicina, higromicina, o fosfotricina, etc.. Se prefieren particularmente aquellos marcadores de selección que confieren una resistencia frente a herbicidas. A manera de ejemplo pueden nombrarse: secuencias de ADN que codifican para fosfotricinacetiltransferasas (PAT) y desactivan inhibidores de glutamino sintasa (gen bar y pat), genes de 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfatotransferasa (genes de EPSP sintasa), que confieren una resistencia frente a Glyphosate® (N-(fosfonometil)glicina), el gen gox que codifica para la enzima que degrada Glyphosate® (glifosato oxidoreductasa), el gen deh (que codifica para una dehalogenasa que desactiva dalapon), acetolactatosintasas que desactiva sulfonilurea e imidazolinonas así como genes bxn que codifican para nitrilasas que degradan bromoxinil, el gen aasa que confiere una resistencia frente al antibiótico spectinomomicina, el gen estreptomycinofosfotransferasa (SPT) que da una resistencia frente a estreptomomicina, el gen neomicinofosfotransferasa (NPTII) que confiere una resistencia frente a canamicina o geneticidina, el gen higromycinofosfotransferasa (HPT) que facilita una resistencia frente a higromicina, el gen acetolactatosintasa (ALS) que confiere una resistencia frente a herbicidas de sulfonilureas (por ejemplo variantes ALS mutadas con, por ejemplo, la mutación S4 y/o Hra).

b) Genes reporteros que codifican fácilmente para proteínas cuantificables y garantizan una evaluación de la eficacia de transformación, el sitio de expresión o el tiempo de expresión por color propio o actividad enzimática. Muy particularmente se prefieren en tal caso proteínas reporteros (Schenborn E, Groskreutz D. Mol Biotechnol. 1999; 13 (1):29-44) como la "green fluorescence protein" (GFP) (Sheen *et al.* (1995) Plant Journal 8(5):777-784; Haseloff *et al.* (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(6):2122-2127; Reichel *et al.* (1996) Proc Natl Acad Sci USA 93(12):5888-5893; Tian *et al.* (1997) Plant Cell Rep 16:267-271; WO 97/41228; Chui WL *et al.* (1996) Curr Biol 6:325-330; Leffel SM *et al.* (1997) Biotechniques. 23(5):912-8), la cloramfenicoltransferasa, una luciferasa (Ow *et al.* (1986) Science 234:856-859; Millar *et al.* (1992) Plant Mol Biol Rep 10:324-414), el gen aequorina (Prasher *et al.* (1985) Biochem Biophys Res Commun 126(3):1259-1268), la β -galactosidasa, gen R-locus (codifican una proteína que regula la producción de pigmentos de antocianina (coloración roja) en tejidos vegetales y de esta manera hace posible un análisis directo de la actividad de promotor sin adición de adyuvantes adicionales o de sustratos cromogénicos; Dellaporta *et al.*, en: Chromosome Structure and Function: Impact of New Concepts, 18th Stadler Genetics Symposium, 11:263-282, 1988), muy particularmente se prefiere la β -glucuronidasa (Jefferson *et al.*, EMBO J. 1987, 6, 3901-3907).

c) Orígenes de replicación que garantizan una multiplicación del casete de expresión o vectores según la invención, por ejemplo *E. coli*. A manera de ejemplo se nombran ORI (origin of DNA replication), el pBR322 ori o el P15A ori (Sambrook *et al.*: Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989).

d) Elementos que son necesarios para la transformación vegetal facilitado por agrobacteria, tales como, por ejemplo, la limitación derecha o izquierda del T-ADN o la región vir.

La introducción de un casete de expresión según la invención en un organismo o células, tejidos, órganos, partes o semillas del mismo (preferible en vegetales o células vegetales, tejidos, órganos, partes o semillas), puede efectuarse ventajosamente usando vectores que contienen los casetes de expresión. El casete de expresión puede introducirse al vector (por ejemplo un vector de plásmido) mediante un sitio de corte de restricción adecuado. El plásmido formado se introduce primero en *E. coli*. *E. coli* correctamente se transforman, se cultivan y el plásmido recombinante se obtiene mediante métodos corrientes para el experto en la materia. Para este propósito pueden servir el análisis de restricción y la secuenciación para verificar el paso de clonación.

Los vectores pueden ser plásmidos, cósmidos, fagos, virus o también agrobacterias. En una forma de realización ventajosa se introdujo el casete de expresión por medio de vectores plásmidos. Se prefieren aquellos vectores que hacen posible una integración estable del casete de expresión en el genoma huésped.

- 5 La producción de un organismo transformado (o de una célula transformada o un de un tejido transformado) requiere que se introduzcan a la célula huésped correspondientes el ADN, ARN o proteína en cuestión.

Para este procedimiento que se llama transformación (o transducción o transfección) se encuentran disponibles muchos métodos (Keown *et al.* (1990) *Methods in Enzymology* 185:527-537). De esta manera el ADN o el ARN
10 pueden introducirse directamente, por ejemplo, mediante microinyección o mediante bombardeo con micropartículas recubiertas de ADN. La célula también puede permeabilizarse químicamente, por ejemplo con polietilenglicol, de tal modo que el ADN pueda llegar a la célula por difusión. El ADN también puede introducirse por fusión de protoplastos con otras unidades que contienen ADN como miniceldas, células, lisosomas o liposomas. La electroporación es otro método adecuado para introducir ADN en el que las células se permeabilizan de manera reversible por un impulso
15 eléctrico. Se describen métodos correspondientes (por ejemplo en Bilanz *et al.* (1991) *Gene* 100:247-250; Scheid *et al.* (1991) *Mol Gen Genet* 228:104-112; Guerche *et al.* (1987) *Plant Science* 52:111-116; Neuhaus *et al.* (1987) *Theor Appl Genet* 75:30-36; Klein *et al.* (1987) *Nature* 327:70-73 ; Howell *et al.* (1980) *Science* 208:1265; Horsch *et al.* (1985) *Science* 227:1229-1231; DeBlock *et al.* (1989) *Plant Physiology* 91:694-701; *Methods for Plant Molecular Biology* (Weissbach and Weissbach, eds.) Academic Press Inc. (1988); and *Methods in Plant Molecular Biology*
20 (Schuler and Zielinski, eds.) Academic Press Inc. (1989)).

En vegetales se utilizan los métodos descritos arriba para transformar y regenerar plantas a partir de tejidos vegetales o células vegetales para la transformación transitoria o estable. Son métodos adecuados, ante todo, la transformación de protoplastos mediante absorción de ADN inducida por polietilenglicol, el método biolístico con el cañón
25 de gen, el así llamado método de “bombardeo de partículas”, la electroporación, la incubación de embriones secos en solución con contenido de ADN y la microinyección.

Además de estas técnicas de transformación “directas”, también puede efectuarse una transformación mediante infección bacteriana por medio de *Agrobacterium tumefaciens* o *Agrobacterium rhizogenes*. La transformación facilitada por *Agrobacterium* es la más adecuada para células de plantas dicotiledóneas. Los métodos se describen, por
30 ejemplo, en Horsch RB *et al.* (1985) *Science* 225: 1229 y siguientes).

Si se usan agrobacterias, debe integrarse el casete de expresión en plásmidos especiales, ya sea en un vector intermedio (en inglés: shuttle or intermediate vector) o un vector binario. Si para la transformación debe usarse un
35 plásmido Ti o Ri, al menos el límite derecho, aunque con más frecuencia el límite derecho e izquierdo del plásmido Ti o Ri de T-ADN, se enlaza como región flanqueante con el casete de expresión a introducir.

Se prefieren vectores binarios. Los vectores binarios pueden replicarse tanto en *E. coli* como también en agrobacteria. Contienen regularmente un gen marcador de selección para la selección de organismos vegetales transformados (véase arriba) y un enlazante o polienlazante (linker o polilinker) flanqueado por la secuencia límite derecha e izquierda de T-ADN. Pueden transformarse directamente en agrobacteria (Holsters *et al.* (1978) *Mol Gen Genet* 163:181-
40 187). Además de la región T-ADN pueden estar comprendidos elementos como un gen marcador de selección para la elección de agrobacterias o *E. coli* transformados (por ejemplo nptIII). La agrobacteria que funge en este caso como organismo huésped ya debería contener un plásmido con la región vir. Esta es indispensable para la transferencia del
45 T-ADN a la célula vegetal. Una agrobacteria transformada así puede usarse para la transformación de células vegetales. El uso de T-ADN para la transformación de células vegetales se ha estudiado intensamente y descrito (EP 120 516; Hoekema, In: *The Binary Plant Vector System*, Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblaserdam, Chapter V; An *et al.* (1985) *EMBO J* 4:277-287). Se conocen diversos vectores binarios y pueden obtenerse parcialmente en el comercio como, por ejemplo, pBI101.2 o pBIN19 (Clontech Laboratories, Inc. USA).

50 Se han descrito otros promotores adecuados para la expresión en plantas (Rogers *et al.* (1987) *Meth in Enzymol* 153:253-277; Schardl *et al.* (1987) *Gene* 61:1-11; Berger *et al.* (1989) *Proc Natl Acad Sci USA* 86:8402-8406).

55 Técnicas directas de transformación son adecuadas para cada organismo y tipo de célula.

En el caso de inyección o electroporación de ADN o ARN en células vegetales no se han establecido requisitos particulares para el plásmido usado. Pueden usarse plásmidos simples tales como aquellos de la serie pUC. Si se van a regenerar plantas completas de las células transformadas, es ventajoso que un gen marcador seleccionable adicional
60 se ubique en el plásmido.

Células transformadas establemente, es decir aquellas que contienen el ADN introducido integrado a la célula huésped, puede seleccionarse a partir de células no transformadas cuando un marcador seleccionable es parte del ADN introducido. Ejemplos de genes que pueden actuar como marcadores son todos aquellos que son capaces de conferir resistencia frente a biocida (por ejemplo, un antibiótico, herbicida o un inhibidor de metabolismo tal como
65 2-desoxiglucosa-6-fosfato WO 98/45456) (véase arriba). Células transformadas que expresan un gen marcador así, están en la capacidad de sobrevivir en la presencia de concentraciones de un antibiótico o herbicida correspondientes que matan un tipo silvestre no transformada. Se han mencionado ejemplos arriba y comprenden preferiblemente el gen bar, el cual confiere resistencia frente al herbicida fosfinotricina (Rathore KS *et al.* (1993) *Plant Mol Biol* 21

(5):871-884), el gen nptII que confiere resistencia frente a canamicina, el gen hpt que confiere resistencia frente a higromicina, o el gen EPSP que confiere resistencia frente al herbicida glifosato. El marcador de selección permite la selección de células transformadas de no transformadas (McCormick *et al.* (1986) Plant Cell Reports 5:81-84). Las plantas obtenidas pueden ser reproducidas y cruzadas de la manera usual. Dos o más generaciones deben cultivarse para asegurar que la integración genómica es estable y hereditaria.

Los métodos arriba mencionados se describen, por ejemplo, en Jenes B *et al.* (1993) Techniques for Gene Transfer, en: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, editado por SD Kung y R Wu, Academic Press, pág. 128-143 así como en Potrykus (1991) Annu Rev Plant Physiol Plant Molec Biol 42:205-225). Preferiblemente, el constructo a expresar se clona en un vector que es adecuado para transformar *Agrobacterium tumefaciens*, por ejemplo pBin19 (Bevan *et al.* (1984) Nucl Acids Res 12:8711 siguientes.

Tan pronto como una célula vegetal transformada se ha generado, puede obtenerse una planta completa usando métodos conocidos por el experto en la materia. Por ejemplo, se usan cultivos de callo como material de partida. A partir de éstas aún no diferenciadas masas celulares puede inducirse la formación de vástagos y raíces de una manera conocida. Las plántulas obtenidas pueden transplantarse y cultivarse.

Para el experto en la materia también son conocidos métodos para regenerar partes de la planta y las plantas enteras a partir de células vegetales. Para este propósito se describen, por ejemplo, métodos por Fennell *et al.* (1992) Plant Cell Rep. 11: 567-570; Stoege *et al* (1995) Plant Cell Rep. 14:273-278; Jahne *et al.* (1994) Theor Appl Genet 89:525-533.

El método de acuerdo con la invención puede combinarse ventajosamente con otros métodos que generan una resistencia ante patógenos (por ejemplo, contra insectos, hongos, bacterias, nematodos), resistencia al estrés u otros mejoramiento de las propiedades de la planta. Ejemplos son, entre otros, mencionados por Dunwell JM, Transgenic approaches to crop improvement, J Exp Bot. 2000;51 Spec No; páginas 487-96.

“Transgénico” significa, por ejemplo, respecto de una secuencia de ácidos nucleicos, de una casete de expresión o un vector que contiene dicha secuencia de ácidos nucleicos o de un organismo transformado con dicha secuencia de ácidos nucleicos, casete de expresión o vector, todas aquellas construcciones que se han generado mediante métodos de ingeniería genética en los que, o bien

- a) la secuencia de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH, o
- b) una secuencia genética de control enlazada funcionalmente con la secuencia de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH, por ejemplo un promotor, o
- c) (a) y (b)

no se encuentran en su ambiente genético natural o han sido modificados mediante métodos de ingeniería genética, y la modificación puede ser, a manera de ejemplo, sustitución, adición, delección, inversión o inserción de uno o más residuos de nucleótidos. Ambiente genético natural significa el locus cromosomático natural en el organismo de procedencia o la presencia en una biblioteca genómica. En el caso de una biblioteca genómica se retiene, al menos parcialmente, el ambiente genético natural de la secuencia de ácidos nucleicos. El ambiente flanquea la secuencia de ácidos nucleicos al menos en un sitio y tiene una longitud de secuencia de al menos 50 bp, preferible de al menos 500 bp, particularmente preferible de al menos 1000 bp, muy particularmente preferible de al menos 5000 bp. Un casete de expresión que acontece de manera natural, por ejemplo la combinación, que acontece naturalmente, del promotor de oxidasa NADPH con el gen respectivo de oxidasa NADPH se vuelve un casete de expresión transgénico cuando éste se modifica mediante métodos no naturales, sintéticos (“artificiales”), como por ejemplo una mutagenización. Se han descrito métodos correspondientes (US 5,565,350; WO 00/15815; véase también arriba).

Otro objeto de la invención se refiere a organismos transgénicos, transformados con al menos una de las secuencias de ácidos nucleicos, un casete de expresión de acuerdo con la invención o un vector según la invención, así como, en el caso de organismos vegetales, células, cultivos celulares, tejidos, partes, como por ejemplo, derivados de tales organismos. Organismo debe entenderse de manera amplia y significa organismos procarióticos o eucarióticos, preferible bacterias, levaduras, hongos y organismos vegetales.

Se prefieren

- a) hongos tales como aspergillus, eremothecium, trichoma, ashbya, neurospora, fusarium, beauveria u otros hongos descritos en Indian Chem Eng. Section B. Vol 37, No 1,2 (1995) en la página 15, tabla 6. Particularmente se prefiere el Hemiascomicet Ashbya gossipii filamentoso o *Eremothecium ashbyii*.
- b) Levaduras como candida, saccharomices, hansenula o pichia, particularmente se prefieren *saccharomices cerevisiae* o *Pichia pastoris* (ATCC Accession No. 201178),

- c) Plantas según la definición arriba mencionada para “plantas” se llaman organismos procarióticos tales como bacterias gram-positivos o gram-negativos, como acetobacter, gluconobacter, corinebacteria, brevibacteria, bacillus, clostridium, cianobacter, escherichia (ante todo *escherichia coli*), serratia, staphylococcus, aerobacter, alcaligenes, penicillium o klebsiella.

5

Organismos transgénicos preferidos como organismos huéspedes o de partida son ante todo plantas según la definición arriba mencionada. En el marco de la invención se incluyen todos los géneros y especies de vegetales superiores e inferiores del reino vegetal. Se incluyen además las plantas maduras, semillas, retoños y plántulas, así como partes derivadas de éstos, material de reproducción y cultivos, por ejemplo cultivos celulares. Plantas maduras significan plantas en cualquier etapa de desarrollo más allá de su etapa de plántula. Plántula significa una planta joven, inmadura en una etapa temprana de desarrollo. En particular, vegetales preferidos como organismos huéspedes son vegetales en los que puede publicarse el método según la invención para lograr una resistencia a patógenos según los criterios mencionados arriba. Muy particularmente se prefieren plantas monocotiledóneas tales como trigo, avena, mijo, cebada, centeno, maíz, arroz, alforfón, sorgo, triticale, espelta, semillas de lino, caña de azúcar,

La producción de organismos transgénicos puede realizarse con los métodos arriba descritos para la transformación o transfección de organismos.

Así mismo, se divulga el uso de organismos transgénicos según la invención y de las células, cultivos celulares, partes, derivados de ellos, como por ejemplo en el caso de organismos vegetales transgénicos raíces, hojas, etc, y material transgénico como semillas o frutas, para la producción de productos alimenticios para personas y animales, productos farmacéuticos o productos químicos finos.

Además, se divulga un método para la producción recombinante de productos farmacéuticos o de productos químicos finos en organismos huésped, donde un organismo huésped se transforma con uno de los casetes de expresión arriba descritos y este casete de expresión contiene uno o varios genes estructurales, los cuales codifican para los productos químicos finos deseado o catalizan la biosíntesis de los productos químicos finos deseados, el organismo huésped transformado se cultiva y se aísla el producto químico fino deseado del medio de cultivo. Este método es ampliamente aplicable para productos químicos finos, como enzimas, vitaminas, aminoácidos, azúcares, ácidos grasos, saborizantes, aromatizantes y colorantes naturales y sintéticos. Particularmente se prefiere la producción de tocoferoles y tocotrienoles así como carotinoides. El cultivo de los organismos huéspedes transformados así como el aislamiento desde los organismos huéspedes o del medio de cultivo se efectúan mediante métodos conocidos para el experto en la materia. La producción de productos farmacéuticos, como por ejemplo anticuerpos o vacunas se describe en Hood EE, Jilka JM (1999) Curr Opin Biotechnol 10(4):382-6; Ma JK, Vine ND (1999) Curr Top Microbiol Immunol 236:275-92.

Secuencias

1. SEQ ID NO: 1 Secuencia de ácidos nucleicos codificando que codifica para una Oxidasa NADPH de Cebada (*Hordeum vulgare*).

2. SEQ ID NO: 2 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de cebada (*Hordeum vulgare*).

3. SEQ ID NO: 3 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de arroz (*Oryza sativa* var. japónica)

4. SEQ ID NO: 4 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de arroz (*Oryza sativa* var. japónica)

5. SEQ ID NO: 5 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de *Nicotiana tabacum*

6. SEQ ID NO: 6 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de *Nicotiana tabacum*

7. SEQ ID NO: 7 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de patata (*Solanum tuberosum*)

8. SEQ ID NO: 8 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de patata (*Solanum tuberosum*)

9. SEQ ID NO: 9 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

10. SEQ ID NO: 10 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

11. SEQ ID NO: 11 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de *Arabidopsis thaliana* (RbohF)

12. SEQ ID NO: 12 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de oxidasa NADPH *Arabidopsis thaliana* (RbohF)

13. SEQ ID NO: 13 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de *Arabidopsis thaliana* (RbohD)

14. SEQ ID NO: 14 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de oxidasa NADPH *Arabidopsis thaliana* (RbohD)

15. SEQ ID NO: 15 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de *Nicotiana tabacum* (rboh)

16. SEQ ID NO: 16 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de *Nicotiana tabacum* (rboh)

17. SEQ ID NO: 17 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de arroz (*Oryza sativa* var. japonica)

18. SEQ ID NO: 18 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de arroz (*Oryza sativa* var. japonica)

19. SEQ ID NO: 19 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de *Arabidopsis thaliana* (RbohC)

20. SEQ ID NO: 20 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de oxidasa NADPH *Arabidopsis thaliana* (RbohC)

21. SEQ ID NO: 21 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH de *Arabidopsis thaliana* (RbohA)

22. SEQ ID NO: 22 Secuencia de aminoácidos que codifica para una oxidasa NADPH de oxidasa NADPH *Arabidopsis thaliana* (RbohA)

23. SEQ ID NO: 23 Cebador de oligonucleótidos 5' NAOX 5'-GARCAAGGCTCTTTTGATTG-3'

24. SEQ ID NO: 24 Cebador de oligonucleótidos 3' Naox 5'-GAAATGCTCCTTATGGAATTC-3'

Figuras

Fig. 1: "RNA Interference" con pNAox-dsRNA disminuye la eficiencia de penetración del mildiú auténtica de cebada BghA6 en cebada.

La eficiencia relativa de penetración (RPE) se determinó en cinco experimentos individuales en el caso de la inoculación con Bgh de cebada cv Pallas. El RPE se calcula como la diferencia de la eficiencia de penetración en células transformadas con pNAox-dsRNA y la eficiencia de penetración en células transformadas por dsRNA de control (aquí: eficiencia de penetración promedio (RPE) 38,74%). La RPE porcentual (%-RPE) se calcula de la RPE menos 1 y multiplicado por 100.

$$RPE = \frac{[PE \text{ en células transformadas de pNAox-dsRNA}]}{[PE \text{ en células transformadas de dsRNA de control}]}$$

$$\%RPE = 100 * (RPE - 1)$$

Las columnas "1" a "5" representan la %-RPE (es decir, la desviación de la eficiencia de penetración del promedio de la eficiencia de penetración del control) en el caso de la evaluación de al menos 100 sitios de interacción para respectivamente un experimento independiente. La columna "m" representa la %-RPE promedio del experimento. La barra de error indica el error estándar.

"Control-dsRNA" representa los experimentos paralelos con un dsRNA de control. "pNAox"-dsRNA representa los experimentos con el dsRNA de la oxidasa NADF de cebada.

La %-RPE en células que habían sido bombardeado con pNAox-dsRNA se disminuyó de manera significativa (significancia p=0,0054) en comparación con células que se habían bombardeado con un dsRNA de control (TR: dsRNA de receptor de tiroides humano).

Ejemplos

Métodos generales

- 5 La síntesis química de oligonucleótidos puede efectuarse, por ejemplo, de manera usual de acuerdo con el método de fosfoamidit (Voet, Voet, 2. Edición, Wiley Press New York, páginas 896-897). Los pasos de clonación realizados en el marco de la presente invención, como por ejemplo escisiones de restricciones, electroforesis con gel de agarosa, purificación de fragmentos de ADN, transferencia de aminoácidos a nitrocelulosa y membranas de nylon, enlazamientos de fragmentos de ADN, transformación de células de *E. coli*, cultivo de bacterias, reproducción de fagos y análisis de
- 10 secuencias de ADN recombinante se realizan como se describe en Sambrook *et al.* (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press; ISBN 0-87969-309-6. La secuenciación de moléculas de ADN recombinantes se efectúa con secuenciador de ADN por fluorescencia de ADN de la empresa MWG-Licor según el método de Sanger (Sanger *et al.* (1977) Proc Natl Acad Sci USA 74: 5463-5467).

15 Ejemplo 1

Vegetales, patógenos e inoculación

- 20 La variedad Pallas fue puesta a disposición por Lisa Munk, Department of Plant Pathology, Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca. Su preparación ha sido escrita (Kølster P *et al.* (1986) Crop Sci 26: 903-907).

- 25 A menos que se describa otra cosa, la semilla que se había pre-germinado por 12 a 36 horas en la oscuridad sobre papel húmedo para filtración, se colocaron de a 5 granos en el borde de un pote cuadrangular (8x8 cm) en suelo Fruhstorfer del tipo P, se cubrió con suelo y se regó regularmente con agua de acueducto. Todas las plantas se cultivaron en cabinas o cámaras de ambiente controlado a 16 a 18°C, a 50 a 60% de humedad relativa del aire y a un ciclo de 16 horas de luz/8 horas de oscuridad con 3000 o 5000 lux (50 o 60 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ densidad de flujo de fotones) 5 a 8 días y se usaron en la etapa de plántula en los ensayos. En experimentos en los que se habían realizado
- 30 aplicaciones en hojas primarias, éstas se habían desarrollado completamente.

- Antes de llevar a cabo los experimentos de transfección transitoria se cultivaron las plantas en cabinets o cámaras climatizadas a temperaturas de día de 24°C, de noche de 20°C, 50 a 60% de humedad relativa del aire y un ciclo de 16 horas de luz/8 horas de oscuridad con 30000 lux.

- 35 Para la inoculación de plantas de cebada se usó mildiú auténtico de cebada *Blumeria graminis* (DC) Speer f.sp. hordei Em. Marchal de la raza A6 (Wiberg A (1974) Hereditas 77: 89-148) (BghA6). Este fue suministrado por el Institut fuer Biometrie, JLU Gießen. El inóculo se propagó en cámaras climatizadas en condiciones idénticas tal como se describe arriba para las plantas transfiriendo las conidias de material vegetal infestado a plantas de cebada de 7 días
- 40 cultivadas regularmente cv. Golden Promise a una densidad de 100 conidias/mm².

- La inoculación con BghA6 se efectuó usando plántulas de 7 días de edad sacudiendo las conidias de las plantas ya infestadas en una torre de inoculación con cerca de 100 conidias/mm² (en tanto no se indique algo diferente).

45 Ejemplo 2

Clonación de la secuencia pNAox cDNA de cebada

- 50 Los fragmentos de cDNA necesarios para el aislamiento del HvpNAox cDNA, su clonación, secuenciación y preparación de sondas se obtuvieron mediante RT-PCR usando el "One Step RT-PCR Kit" (Life Technologies, Karlsruhe, Alemania o Qiagen, Hilden, Alemania). Para este propósito se usó ARN completo de semilleros en calidad de matrices. El ARN se aisló de Pallas 3, 5 y 7 días después de germinar. Además se aisló ARN de Pallas y de líneas retrocruzadas con mlo5, Mlg o Mla12 1, 2 y 5 días después de inoculación con BghA6 al día 7 después de germinar. Para la RT-
- 55 PCR se emplearon cebadores que se derivaron de regiones conservadas del gp91fox homólogo de arroz y Arabidopsis thaliana (GenBank Acc.-No.: X93301 bzw. AB008111):

5' NAOX: 5'-GARCAAGGCTCTTTTGATTG-3' (SEQ ID NO: 23) y

- 60 3' Naox: 5' GAAATGCTCCTTATGGAATTC 3' (SEQ ID NO: 24)

- Para la reacción (mezcla de 25 μL) se emplearon de a 1000 ng de ARN completo, 0,4 mM dNTPs, de a 0,6 mM de primer de OPN-1 y OPN-2, 10 μL de inhibidor de RNasa y 1 μL de mezcla de enzima en búfer 1x RT (one step RT-PCR kit, Qiagen, Hilden).
- 65

Se usa el siguiente programa de temperatura (PTC-100TM Modell 96V; MJ Research, Inc., Watertown, Massachusetts):

ES 2 341 238 T3

1 ciclo con 30 min a 50°C

1 ciclo con 150 sec a 94°C

5 30 ciclos con 94°C por 45 sec, 55°C por 1 min y 72°C por 2 min

1 ciclo con 72°C por 7 min.

10 El producto PCR se separó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2% p/v. Se obtuvo un producto de RT-PCR de 378 bp (SEQ ID NO: 1), el cual codifica una parte del marco de lectura abierto de la oxidasa NADPH de cebada. El cDNA correspondiente se aisló de un gel de agarosa y se clonó al vector pGEM-T (Promega, Mannheim, Alemania) por medio de una ligadura sobresaliente T. Los cDNAs se secuenciaron a partir del ADN de plásmido usando el “Thermo Sequenase Fluorescent Labeled Primer Cycle Sequencing Kit” (Amersham, Freiburg, Alemania).
15 El constructo se designó con pGEM-T-pNAox.

Ejemplo 3

20 *Síntesis in vitro del pNAox dsRNA*

El plásmido pGEM-T-pNAox que se empleó para la transcripción *in vitro* de ARN comprende el promotor T7 y SP6 en los extremos respectivos de la secuencia de ácidos nucleicos insertada, lo cual hace posible la síntesis de ARN sense o antisense. El plásmido puede linealizarse con enzimas de restricción adecuadas (ApaI para polimerasa de SP6
25 y PstI para polimerasa de T7) para garantizar una transcripción correcta de la secuencia insertada de ácidos nucleicos y evitar una lectura de principio a fin en secuencias vectoriales. Para este propósito se cortaron 10 µg de ADN - plásmido pGEM-T-pNAox respectivamente con ApaI para polimerasa SP6 y PstI para polimerasa T7. Los plásmidos cortados se extraen en 200 µl de agua con volumen igual de fenol/cloroformo/isoamilalcohol, se transfieren a un nuevo recipiente de reacción Eppendorf (libre de RNAsa) y se centrifugan 5 min a 20000 g. 180 µl de la solución de plásmido se
30 mezclan con 420 µl de etanol, se ponen sobre hielo y después se precipitan por centrifugación por 30 min a 20000 g y -4°C. El precipitado se recogió a 10 µl de búfer TE. Las preparaciones respectivas se emplearon directamente en una transcripción *in vitro* con polimerasa T7-ARN o polimerasa SP6-ARN. Se obtuvieron polimerasas de ARN de Roche Molecular Biology, Mannheim, Alemania.

35 Cada mezcla de transcripción comprendió lo siguiente en un volumen de 40 µl:

2 µl de ADN plásmido linearizado (1 µg)

2 µl NTP's (25 mM) (1,25 mM de cada NTP)

40

4 µl 10x búfer de reacción (Roche Molecular Biology),

1 µl RNAsin RNAsin (27 units; Roche Molecular Biology),

45

2 µl RNA polimerasa (40 Units)

29 µl agua DEPC.

50 Después de una incubación de 2 h a 37°C se mezcló una parte de las mezclas de reacción de la transcripción de la cadena “sense” o “anti-sense”, se desnaturizó por 5 min a 95°C y a continuación se hibridaron una con otra mediante enfriamiento por 30 min a una temperatura final de 37°C (“annealing”). De manera alterna, la mezcla de cadena sense y antisense también puede enfriarse por 30 minutos a -20°C. El precipitado de proteína que se formó durante la desnaturalización e hibridación se retiró centrifugando brevemente a 20800 g y se usó directamente el sobrenadante
55 para recubrir partículas de tungsteno (véase abajo). Para el análisis, se separaron respectivamente 1 µl de cada cadena de ARN y del dsRNA en un gel de agarosa no desnaturizante. Se mostró una hibridación exitosa por el desplazamiento de banda hacia peso molecular superior en comparación con las cadenas individuales.

4 µl del dsRNA se precipitaron con etanol (mediante adición de 6 µl de agua, 1 µl de solución de acetato de sodio de 3M y 25 µl de etanol, y centrifugación durante al menos 5 min a 20000 g y 4°C) y se resuspendieron en 500 µl de agua. Se midió el espectro de absorción entre 230 y 300 nm o se determinó la absorción a 280 y 260 nm para determinar la pureza y la concentración del dsRNA. Regularmente se obtuvieron 80 a 100 µg de dsRNA con una proporción de OD₂₆₀/OD₂₈₀ de 1,80 a 1,95. Puede llevarse a cabo de manera opcional una digestión con DNasa I pero esto no influye
65 esencialmente los resultados subsiguientes.

Como dsRNA de control fungió el dsRNA del receptor de tiroides humano (vector de partida pT7betaSal (Norman C *et al.* (1988) Cell 55(6):989-1003) puesto a disposición por el Dr. Baniahmad, Institut para Genetik, Gießen, Alemania; la secuencia del inserto se describe bajo la GenBank Acc.-No.: NM000461). Para la elaboración del ARN sense

se digirió el plásmido con PvuII, para el ARN antisense se digirió con HindIII y el ARN se transcribió luego usando polimerasa ARN T7 o SP6. Los pasos individuales de método para la elaboración del dsRNA de control se llevaron a cabo de manera análoga a aquellos descritos arriba para el pNAox-dsRNA.

5

Ejemplo 4

Transformación transitoria, RNAi y evaluación del desarrollo del hongo

10 Se transformaron segmentos de hoja de cebada cv pallas con un pNAox-dsRNA munto con vector de expresión de GFP. A continuación las hojas se inocularon con Bgh y el resultado se analizó después de 48 h por medio de microscopía de luz y de fluorescencia. La penetración en células que expresan GFP se evaluó mediante detección de haustorias en células vivas y mediante evaluación del desarrollo de hongo en precisamente estas células. En todos los cinco experimentos se llevó a cabo el bombardeo de cebada cv pallas con pNAox-dsRNA hacia un número reducido de células penetradas exitosamente por Bgh en comparación con células que habían sido bombardeadas con un dsRNA ajeno de control (receptor de hormona tiroides humano dsRNA, TR). El efecto que induce resistencia del pNAox-dsRNA condiciona una disminución promedio de la eficiencia de penetración por Bgh en un 35% (Fig. 4).

20 Para la transformación transitoria se empleó un método que ya había sido descrito para la introducción biolítica de dsRNA en células de la epidermis de hojas de cebada (Schweizer P *et al.* (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54; Schweizer P *et al.* (2000) Plant J 2000 24: 895-903). Se recubrieron partículas de tungsteno con un diámetro de 1,1 μm (densidad de partículas 25 mg/ml) con dsRNA (véase la elaboración arriba) junto con ADN-plásmido del vector pGFP (GFP bajo control del promotor CaMV 35S) como marcador de transformación. Para este propósito, para el recubrimiento se usaron por disparo las siguientes cantidades de dsRNA o de plásmido reportero: 1 μg de pGFP y 25 2 μg de dsRNA. ARN bicatenario se sintetizó *in vitro* por medio de la fusión de ARN “sense” y “antisense” (véase arriba).

30 Para preparación de microsoporte se lavaron dos veces 55 mg de partículas de tungsteno (M 17, diámetro 1,1 μm ; Bio-Rad, Munich) con 1 ml de agua destilada autoclavada y una vez con 1 mL de etanol absoluto, se secó y se llevó a 1 ml de glicerina al 50% (cerca de 50 mg/ml de solución estándar). La solución se diluyó con glicerina al 50% a 25 mg/ml, se mezcló bien antes de usar y se suspensión en un baño de ultrasonido. Para el revestimiento de microsoportes por disparo se adicionaron a gotas, mezclando constantemente, 1 μg de plásmido, 2 μg de dsRNA (1 μL), 12,5 μL de suspensión de partículas de tungsteno (25 mg/ml), 12,5 μL de solución de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ de 1 M (pH 10), se dejó en reposo por 10 min a temperatura ambiente, se centrifugó brevemente y se tomaron 20 μL del sobrenadante. Se resuspendió el residuo con las partículas de tungsteno (baño de ultrasonido) y se empleó en los experimentos.

Se usaron segmentos de cerca de 4 cm de largo de hojas primarias de cebada. Los tejidos se pusieron en phitagar al 0,5% (GibcoBRL™ Life Technologies™, Karlsruhe) con 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de benzimidazol en cajas de Petri (diámetro de 6,5 cm) y se cubrieron directamente antes del bombardeo de partículas en los bordes con una plantilla con una apertura rectangular de 2,2 cm x 2,3 cm. Las cajas se pusieron una tras otras en el piso de la cámara de vacío (Schweizer P *et al.* (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54), sobre el cual se había introducido una red de nylon (tamaño de malla 0,2 mm, Millipore, Eschborn) como difusor sobre una placa de huecos (5 cm sobre el suelo, 11 cm por debajo del macrosoporte, véase abajo), para dispersar los terrones de partículas y frenar la corriente de partículas. El macrosoporte aplicado arriba de la cámara (sujetador plástico de filtro estéril, 13 mm, Gelman Sciences, Swinney, UK) se cargó en cada disparo con 5,8 μL de partículas de tungsteno revestidas con ADN (microsoporte, véase abajo). Con una bomba de vacío de membrana (Vacuumbrand, Wertheim) se redujo la presión en 0,9 bar en la cámara y las partículas de tungsteno se dispararon con presión de gas helio de 9 bar sobre la superficie del tejido vegetal. Inmediatamente después se aireó la cámara. Para marcar células transformadas se bombardearon las hojas con el plásmido (pGFP; vector a base de pUC18, casete promotor CaMV 35S/terminador con gen GFP insertado; Schweizer P *et al.* (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54; puesto a disposición por el Dr. P. Schweizer Schweizer P, Institut fuer Pflanzengenetik IPK, Gatersleben, Alemania). Antes de disparar otro plásmido se limpió profundamente el macrosoporte con agua. Después de incubación de cuatro horas después del disparo en cajas de Petri ligeramente abiertas, temperatura ambiente y luz de día, las hojas se inocularon con 100 conidias/mm² de hongo mildiú genuino de cebada (raza A6) y se incubó por otros 40 a 48 h en condiciones iguales.

55

Se bombardearon segmentos de hojas con las partículas revestidas usando una “particle inflow gun”. Por disparo se aplicaron 312 μg de partículas de tungsteno. 4 h después del bombardeo se realizó la inoculación con mildiú de *Blumeria graminis* f.sp. hordei (raza A6) y se evaluó después de otras 40 h respecto de los signos de infección. El resultado se analizó (por ejemplo, la eficiencia de penetración definica como fracción porcentual de células atacadas con una haustoria madura y una hifa secundaria (“secondary elongating hifae”) por medio de microscopía de fluorescencia y de luz. Una inoculación con 100 conidias/mm² da lugar a una frecuencia de ataque de alrededor de 50% de las células transformadas. Para cada experimento individual se evaluó un número mínimo de 100 sitios de interacción. Células transformadas (que expresan GFP) se identificaron excitando con luz azul. Tres categorías diferentes pudieron diferenciarse:

65

1. Células penetradas que comprenden una haustoria fácilmente reconocible. Una célula con más de una haustoria se evaluó como una célula.

2. Células que fueron atacadas por un hongo apresorio pero no comprenden haustoria. Una célula que ha sido atacada varias veces por Bgh pero no contiene haustoria, se evaluó como una célula.

3. Células que no han sido atacadas por Bgh.

5

Células estomáticas y células de guardia se excluyeron de la evaluación. Se analizaron estructuras superficiales de Bgh por medio de microscopía de luz o tinción de fluorescencia del hongo con 0,1% calcoflúor (p/v en agua) por 30 segundos. El desarrollo del hongo puede evaluarse fácilmente por microscopía de fluorescencia según tinción con calcoflúor. En células transformadas pNAox-dsRNA el hongo desarrolla un tubo de germen ("Germ-Tube") primario y apresorial, pero no haustoria. La formación de haustoria es una pre-condición para la formación de una hifa secundaria.

10

La eficiencia relativa de penetración (RPE) se calcula como la diferencia de la eficiencia de penetración en células transformadas (transformación con pNAox-dsRNA o dsRNA de control) y la eficiencia de penetración en células no transformadas (aquí: eficiencia promedio de penetración 38,74%). La RPE porcentual (%-RPE) se calcula a partir de la RPE menos 1 y multiplicada por 100.

15

20

$$RPE = \frac{[PE \text{ en células transformadas de pNAox-dsRNA}]}{[PE \text{ en células transformadas de dsRNA de control}]}$$

25

$$\% \text{-RPE} = 100 * (RPE - 1)$$

El valor de %-RPE (desviación de la eficiencia promedio de penetración del control) sirve para la determinación de la susceptibilidad de células que se transfectaron con pNAox-dsRNA (Fig. 4).

30

En el caso de dsRNA de control, en cinco ensayos independientes, no se observó diferencia alguna entre la transfección con el dsRNA de control y agua respecto de la eficiencia de penetración de Bgh.

35

Para excluir una influencia del dsRNA sobre la tasa de transformación o la tasa de supervivencia de las células atacadas, se comparó el número de células que expresan GFP en experimentos de control y en los experimentos de pNAex-dsRNA. Los de pNAox-dsRNA no tuvieron ningún efecto en el número total o el número de las células atacadas que expresan GFP.

Ejemplo 5

40

Inhibición de la oxidasa NADPH con cloruro de difenilenyodonio

Los resultados se fundamentan mediante otros experimentos con el inhibidor de oxidasa NADPH cloruro de difenilenyodonio (DPI; Tabla 1). En general, los experimentos se llevan a cabo tal como se describen por Hückelhoven y Kogel, 1998.

45

TABLA 1

Efecto de DPI en la defensa contra patógenos en Pallas^a

50

Tipo de interacción	Interacciones (% error estándar)	
	Control ^b	200 µM DPI ^c
Penetración	68.25± 9.9	16.25± 0.5
No penetración	24.25±6.3	67.5 ± 9.5
HP (Reacción hipersensible)	7.5 ±3.7	16.25± 9.3

55

^a Tratamiento DPI efectuado 12 h después de inoculación de patógeno, la evaluación 36 h después de inoculación

60

^b Controles con búfer de fosfato de potasio de 10 mM, pH 7.8, con DMSO Contenido como en el tratamiento de DPI.

^c DPI disuelto en búfer de fosfato de potasio de 10 mM, pH 7.8, partiendo de una solución estándar de DPI de 10 mg/ml en DMSO.

65

REIVINDICACIONES

1. Método para lograr o aumentar la resistencia contra al menos patógeno fúngico o patógeno similar a un hongo en plantas monocotiledóneas de cultivo, **caracterizado** porque están comprendidos los siguientes pasos de trabajo
 - a) Disminución de la cantidad de proteína, actividad o función de una oxidasa NADPH en una planta o un tejido, órgano, parte o célula de la misma y
 - b) selección de las plantas en las que, a diferencia de o en comparación con la planta de partida, existe la resistencia frente a al menos un patógeno o se aumenta, y la oxidasa NADPH se codifica mediante
 - a) Secuencias de polipéptidos que comprenden una secuencia según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 ó 22, o
 - b) Secuencias de polipéptidos de un equivalente funcional de un polipéptido el cual comprende una secuencia según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 ó 22.
2. Método según la reivindicación 1, en el que el equivalente funcional tiene una homología de al menos 50% con uno de los polipéptidos según SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 ó 22.
3. Método según una de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que se garantiza la disminución de la cantidad de proteína, actividad o función de una oxidasa NADPH mediante la aplicación de un método seleccionado del grupo compuesto de
 - a) Introducción de una ribosecuencia bicatenaria de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH o de un(os) casete(s) de expresión que garantiza(n) su expresión,
 - b) Introducción de una secuencia antisense de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH o de un casete de expresión que garantiza su expresión,
 - c) Introducción de una secuencia antisense de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH combinada con una ribozima o de un casete de expresión que garantiza su expresión,
 - d) Introducción de secuencias sense de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH para la inducción de una cosupresión o de un casete de expresión que garantiza su expresión,
 - e) Introducción de factores que enlazan ADN o proteína frente a genes, ARNs o proteínas de oxidasa NADPH o de un casete de expresión que garantiza su expresión,
 - f) Introducción de secuencias virales de ácidos nucleicos y constructos de expresión que producen descomposición de ARN de oxidasa NADPH RNA o de un casete de expresión que garantiza su expresión,
 - g) Introducción de constructos para la inducción de una recombinación en genes endógenos de oxidasa NADPH e
 - h) Introducción de mutaciones en un gen endógeno de oxidasa NADPH.
4. Método según una de las reivindicaciones 1 a 3 que comprende
 - (i) la transformación estable de una célula vegetal con un casete de expresión recombinante que contiene, en una conexión funcional con un promotor activo en vegetales, una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para
 - a) una ribosecuencia bicatenaria de ácidos nucleicos de ARN de oxidasa NADPH o
 - b) una secuencia antisense de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH o
 - c) una secuencia antisense de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH combinada con una ribozima, o
 - d) una secuencia sense de ácidos nucleicos de oxidasa NADPH para la inducción de una cosupresión o
 - e) factores que enlazan ADN o proteína frente a genes, ARNs o proteínas de oxidasa NADPH
 - f) Secuencias virales de ácidos nucleicos que producen descomposición de ARN de oxidasa NADPH

ES 2 341 238 T3

- (ii) Regeneración de la planta a partir de la célula vegetal, y
- (iii) Expresión de dicha secuencia de ácidos nucleicos en una cantidad y por un tiempo suficiente para generar resistencia a patógenos en dicha planta o para aumentarla.

5

5. Método según una de las reivindicaciones 1 a 4, en el cual el patógeno es mildiú.

10 6. Método según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el cual la planta se selecciona del grupo de las plantas monocotiledóneas que se compone de trigo, avena, mijo, cebada, centeno, maíz, arroz, sorgo, triticale, espelta y caña de azúcar.

7. Molécula de ARN bicatenario para la disminución de la expresión de una oxidasa NADPH que comprende

15 a) una cadena de ARN sense que comprende al menos una secuencia de ribonucleótidos que es esencialmente idéntica a al menos una parte del transcrito de ARN sense de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH,

y

20

b) una cadena de ARN antisense que es esencialmente complementaria a la cadena de ARN sense de a),

25 y una de las dos cadenas de ARN se codifica mediante al menos una parte de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una secuencia de oxidasa NADPH según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21 o un equivalente funcional de la misma.

30 8. Molécula de ARN bicatenario según la reivindicación 7, en la que ambas cadenas de ARN del ARN bicatenario están enlazadas una con otra de manera covalente.

9. Casetes transgénicos de expresión que, en conexión funcional con promotor que es funcional en un organismo vegetal, contiene una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una molécula de ARN bicatenario según una de las reivindicaciones 7 ó 8.

35 10. Casete transgénico de expresión que contiene al menos una parte de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para una oxidasa NADPH según SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 ó 21 o un equivalente funcional de la misma, y dicha secuencia de ácidos nucleicos está conectada funcionalmente en orientación antisense con un promotor funcional en organismos vegetales.

40 11. Casete transgénico de expresión según la reivindicación 9 ó 10 en el cual el promotor funcional en las plantas es un promotor inducible por patógeno.

12. Vector transgénico que contiene un casete de expresión según una de las reivindicaciones 9 a 11.

45 13. Organismo transgénico que contiene una molécula de ARN bicatenario según una de las reivindicaciones 7 a 8, un casete de expresión según una de las reivindicaciones 9 a 11 o un vector según la reivindicación 12, seleccionado del grupo que se compone de bacterias, levaduras y plantas monocotiledóneas de cultivo.

50 14. Organismo transgénico según la reivindicación 13 seleccionado del grupo de plantas compuesto de trigo, cebada, mijo, centeno, triticale, maíz, arroz, sorgo, avena y caña de azúcar.

55 15. Tejido, órgano, parte, célula, cultivo celular o material de reproducción derivado de un organismo transgénico según una de las reivindicaciones 13 ó 14 y que contiene un casete de expresión según una de las reivindicaciones 9 a 11 o que contiene una molécula de ARN bicatenario según una de las reivindicaciones 7 a 8.

55

60

65

ES 2 341 238 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> BASF Plant Science GmbH

5 <120> Método para lograr una resistencia a patógenos en plantas

<130> AE20020416

<140>

<141>

10 <160> 24

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 337

15 <212> DNA

<213> *Hordeum vulgare*

<220>

20 <221> CDS

<222> (2)..(337)

<223> coding for Oxidasa NADPH (fragment)

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 341 238 T3

<400> 1

```

5      g ttt aaa gga atc atg aat gag att gct gaa cta gat caa agg aat atc 49
      Phe Lys Gly Ile Met Asn Glu Ile Ala Glu Leu Asp Gln Arg Asn Ile
        1           5           10           15

10     att gag atg cac aac tat ctc aca agt gtt tat gag gaa ggg gat gct 97
      Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala
           20           25           30

15     cgg tca gca ctc atc aca atg ctg caa gct ctc aac cat gcc aag aat 145
      Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn
           35           40           45

20     ggt gtc gat gta gtg tct ggm act cga gtc cgg aca cat ttt gca aga 193
      Gly Val Asp Val Val Ser Xaa Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg
           50           55           60

25     cca aat ttt aag agg gtg ctg tct aag gta gcc gcc aaa cat cct tat 241
      Pro Asn Phe Lys Arg Val Leu Ser Lys Val Ala Ala Lys His Pro Tyr
           65           70           75           80

30     gcc aag ata gga gtg ttc tat tgc gga gct cca gtt ctg gcg cag gaa 289
      Ala Lys Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Val Leu Ala Gln Glu
           85           90           95

35     cta agc aac ctt tgc cat gag ttc aat ggc aaa tgc acg aca aaa ttc 337
      Leu Ser Asn Leu Cys His Glu Phe Asn Gly Lys Cys Thr Thr Lys Phe
           100          105          110

30     g ttt aaa gga atc atg aat gag att gct gaa cta gat caa agg aat atc 49
      Phe Lys Gly Ile Met Asn Glu Ile Ala Glu Leu Asp Gln Arg Asn Ile
        1           5           10           15

35     att gag atg cac aac tat ctc aca agt gtt tat gag gaa ggg gat gct 97
      Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala
           20           25           30

40     cgg tca gca ctc atc aca atg ctg caa gct ctc aac cat gcc aag aat 145
      Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn
           35           40           45

45     ggt gtc gat gta gtg tct ggm act cga gtc cgg aca cat ttt gca aga 193
      Gly Val Asp Val Val Ser Xaa Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg
           50           55           60

50     cca aat ttt aag agg gtg ctg tct aag gta gcc gcc aaa cat cct tat 241
      Pro Asn Phe Lys Arg Val Leu Ser Lys Val Ala Ala Lys His Pro Tyr
           65           70           75           80

55     gcc aag ata gga gtg ttc tat tgc gga gct cca gtt ctg gcg cag gaa 289
      Ala Lys Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Val Leu Ala Gln Glu
           85           90           95

      cta agc aac ctt tgc cat gag ttc aat ggc aaa tgc acg aca aaa ttc 337
      Leu Ser Asn Leu Cys His Glu Phe Asn Gly Lys Cys Thr Thr Lys Phe
           100          105          110

```

<210> 2

60 <211> 112

<212> PRT

<213> *Hordeum vulgare*

65

ES 2 341 238 T3

<400> 2

```

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

```

<210> 3

<211> 2832

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2829)

<223> coding for Oxidasa NADPH

ES 2 341 238 T3

<400> 3

5	atg agg ggc ggc gcc tcc tcg gga ccc cag cga tgg ggc tcg gcg ggg	48
	Met Arg Gly Gly Ala Ser Ser Gly Pro Gln Arg Trp Gly Ser Ala Gly	
	1 5 10 15	
10	acg aca ccg cgg tcg ctg agc acg ggc tcg tcg ccg cgc ggg tcc gac	96
	Thr Thr Pro Arg Ser Leu Ser Thr Gly Ser Ser Pro Arg Gly Ser Asp	
	20 25 30	
15	gac cgg agc tcc gac gac ggg gag gag ctg gtc gag gtc acg ctc gac	144
	Asp Arg Ser Ser Asp Asp Gly Glu Glu Leu Val Glu Val Thr Leu Asp	
	35 40 45	
20	ctg cag gac gac gac acc att gtg ctt cgg agc gtc gag ccc gcg gcg	192
	Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Val Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala Ala	
	50 55 60	
25	gcg gcg gcg gcg ggg gtg ggg ggc ggg gcg ggg gcg gcg tcg gcg cgg	240
	Ala Ala Ala Ala Gly Val Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ser Ala Arg	
	65 70 75 80	
30	ggg gag ctc acg ggt ggc ccg tcg tcg tcg tcg tcg cgg tcg agg tcg	288
	Gly Glu Leu Thr Gly Gly Pro Ser Ser Ser Ser Ser Arg Ser Arg Ser	
	85 90 95	
35	ccg tcg atc cgg agg agc tcg tcg cac cgg ctg ctg cag ttc tcg cag	336
	Pro Ser Ile Arg Arg Ser Ser Ser His Arg Leu Leu Gln Phe Ser Gln	
	100 105 110	
40	gag ctc aag gcg gag gcc atg gcc cgg gcg cgg cag ttc tcg cag gac	384
	Glu Leu Lys Ala Glu Ala Met Ala Arg Ala Arg Gln Phe Ser Gln Asp	
	115 120 125	
45	ctg acc aag cgg ttc ggc cgc agc cac agc cgc agc gaa gcg cag gcg	432
	Leu Thr Lys Arg Phe Gly Arg Ser His Ser Arg Ser Glu Ala Gln Ala	
	130 135 140	
50	ccg tcg ggc ctc gag tcc gcg ctc gcc gcc cgc gcc gcg cgg cgg cag	480
	Pro Ser Gly Leu Glu Ser Ala Leu Ala Ala Arg Ala Ala Arg Arg Gln	
	145 150 155 160	
55	cgc gcg cag ctc gac cgc aca cgc tcc ggc gcc cac aag gcg ctc cgc	528
	Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Arg Ser Gly Ala His Lys Ala Leu Arg	
	165 170 175	

ES 2 341 238 T3

	ggc ctc cgc ttc atc agc agc aac aag gcc aac aac gcc tgg atg gag	576
	Gly Leu Arg Phe Ile Ser Ser Asn Lys Ala Asn Asn Ala Trp Met Glu	
	180 185 190	
5	gtg cag gcc aac ttc gac cgc ctc gcc cgc gac ggc tac ctc tcc cgc	624
	Val Gln Ala Asn Phe Asp Arg Leu Ala Arg Asp Gly Tyr Leu Ser Arg	
	195 200 205	
10	tcc gac ttc gcc gaa tgc atc ggg atg acg gaa tgc aag gag ttc gcg	672
	Ser Asp Phe Ala Glu Cys Ile Gly Met Thr Glu Ser Lys Glu Phe Ala	
	210 215 220	
15	ctc gag ctg ttc gac acg ctg agc cgg cga cga cag atg aag gtg gac	720
	Leu Glu Leu Phe Asp Thr Leu Ser Arg Arg Arg Gln Met Lys Val Asp	
	225 230 235 240	
	acg att aac aag gat gaa ctc cgc gag atc tgg cag cag atc acc gat	768
	Thr Ile Asn Lys Asp Glu Leu Arg Glu Ile Trp Gln Gln Ile Thr Asp	
	245 250 255	
20	aac agc ttc gac tcc cgt ctc caa atc ttc ttc gaa atg gtg gat aag	816
	Asn Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Phe Phe Glu Met Val Asp Lys	
	260 265 270	
25	aac gcg gac ggc cgg att acg gag gcg gag gtg aaa gag att att atg	864
	Asn Ala Asp Gly Arg Ile Thr Glu Ala Glu Val Lys Glu Ile Ile Met	
	275 280 285	
30	ttg agc gcg tct gcc aat aaa ctg tgc agg ctt aag gag caa gca gaa	912
	Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala Glu	
	290 295 300	
35	gag tac gcc gct ttg atc atg gag gag ctt gat cct gaa ggg ctc ggc	960
	Glu Tyr Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Gly Leu Gly	
	305 310 315 320	
40	tac att gag cta tgg caa ttg gag aca ctt ctg ttg cag aaa gat acc	1008
	Tyr Ile Glu Leu Trp Gln Leu Glu Thr Leu Leu Gln Lys Asp Thr	
	325 330 335	
45	tat atg aac tat agt cag gcc ctt agt tac aca agc caa gca ctg agc	1056
	Tyr Met Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu Ser	
	340 345 350	
50	cag aat ctt gca ggg cta agg aag aag agt tca atc cgc aaa ata agc	1104
	Gln Asn Leu Ala Gly Leu Arg Lys Lys Ser Ser Ile Arg Lys Ile Ser	
	355 360 365	
55	acc tct tta agc tac tat ttc gag gac aac tgg aaa cgt tta tgg gtg	1152
	Thr Ser Leu Ser Tyr Tyr Phe Glu Asp Asn Trp Lys Arg Leu Trp Val	
	370 375 380	
60	ctt gca ttg tgg att ggg ata atg gct gga ctg ttc acc tgg aaa ttc	1200
	Leu Ala Leu Trp Ile Gly Ile Met Ala Gly Leu Phe Thr Trp Lys Phe	
	385 390 395 400	
65	atg cag tat cgt aac cga tat gtc ttt gat gtg atg ggc tac tgt gtc	1248
	Met Gln Tyr Arg Asn Arg Tyr Val Phe Asp Val Met Gly Tyr Cys Val	
	405 410 415	
70	aca aca gca aaa gga gct gct gaa acc cta aag ctg aat atg gca att	1296
	Thr Thr Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu Lys Leu Asn Met Ala Ile	
	420 425 430	
75	atc ctc ctg cca gta tgc cgt aac acc att act tgg ttg cga agt aca	1344
	Ile Leu Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Ser Thr	
	435 440 445	

ES 2 341 238 T3

	agg gct gca cgg gca cta cct ttt gat gac aac atc aac ttc cac aag	1392
	Arg Ala Ala Arg Ala Leu Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn Phe His Lys	
	450 455 460	
5	act att gca gca gca att gtg gtt ggt ata atc ctc cat gca ggg aac	1440
	Thr Ile Ala Ala Ala Ile Val Val Gly Ile Ile Leu His Ala Gly Asn	
	465 470 475 480	
10	cac ctt gta tgc gat ttt cca cgg tta ata aaa tca tca gat gag aag	1488
	His Leu Val Cys Asp Phe Pro Arg Leu Ile Lys Ser Ser Asp Glu Lys	
	485 490 495	
15	tat gct cct ttg ggc cag tat ttt ggg gaa ata aag cca aca tat ttt	1536
	Tyr Ala Pro Leu Gly Gln Tyr Phe Gly Glu Ile Lys Pro Thr Tyr Phe	
	500 505 510	
20	aca ttg gtc aaa gga gtg gag ggc atc act ggg gta atc atg gtt gta	1584
	Thr Leu Val Lys Gly Val Glu Gly Ile Thr Gly Val Ile Met Val Val	
	515 520 525	
25	tgc atg ata att gct ttt act cta gca acc cgg tgg ttc cgc cgt agc	1632
	Cys Met Ile Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp Phe Arg Arg Ser	
	530 535 540	
30	ttg gtt aag ctt cca agg cca ttt gac aaa ctg act ggc ttc aat gcc	1680
	Leu Val Lys Leu Pro Arg Pro Phe Asp Lys Leu Thr Gly Phe Asn Ala	
	545 550 555 560	
35	ttt tgg tat tct cat cat ctg ttc atc att gtg tat atc gcg ctc att	1728
	Phe Trp Tyr Ser His His Leu Phe Ile Ile Val Tyr Ile Ala Leu Ile	
	565 570 575	
40	gtt cat gga gag tgt cta tac ctt att cat gtc tgg tac aga aga acg	1776
	Val His Gly Glu Cys Leu Tyr Leu Ile His Val Trp Tyr Arg Arg Thr	
	580 585 590	
45	aca tgg atg tat ctt tca gtg cct gtt tgc ttg tat gta ggg gag agg	1824
	Thr Trp Met Tyr Leu Ser Val Pro Val Cys Leu Tyr Val Gly Glu Arg	
	595 600 605	
50	att cta agg ttc ttc agg tct ggc agt tat tct gtc cgg cta ttg aag	1872
	Ile Leu Arg Phe Phe Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Val Arg Leu Leu Lys	
	610 615 620	
55	gtg gcc ata tat cca ggt aat gtt ttg aca ctg caa atg tcc aag cct	1920
	Val Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln Met Ser Lys Pro	
	625 630 635 640	
60	ccc acg ttc cgt tac aag agt gga caa tat atg ttt gtt caa tgt cca	1968
	Pro Thr Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln Cys Pro	
	645 650 655	
65	gca gtg tct ccc ttt gaa tgg cat ccc ttc tca att act tca gca cct	2016
	Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro	
	660 665 670	
70	ggg gat gac tac ctc agc att cat gtt cga caa ctt ggt gat tgg aca	2064
	Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Ile His Val Arg Gln Leu Gly Asp Trp Thr	
	675 680 685	
75	cga gaa ctc aag aga gta ttt gct gca gct tgt gag ccc cca gcg ggt	2112
	Arg Glu Leu Lys Arg Val Phe Ala Ala Ala Cys Glu Pro Pro Ala Gly	
	690 695 700	
80	ggt aaa agc ggc ctt ctt agg gca gat gag aca act aag aaa atc tta	2160
	Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Glu Thr Thr Lys Lys Ile Leu	
	705 710 715 720	

ES 2 341 238 T3

```

ccc aag ctt ctg att gat gga ccg tat ggt tct cct gct cag gat tac 2208
Pro Lys Leu Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ser Pro Ala Gln Asp Tyr
725 730 735

5 agc aag tat gat gtt tta tta ctt gtt gga tta gga att ggt gcg aca 2256
Ser Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr
740 745 750

ccc ttt att agc ata tta aaa gat ctt ctg aat aac atc atc aaa atg 2304
Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Asn Asn Ile Ile Lys Met
755 760 765

10 gag gaa gag gag gat gct tct act gat ctt tat cca cca atg ggt cgg 2352
Glu Glu Glu Glu Asp Ala Ser Thr Asp Leu Tyr Pro Pro Met Gly Arg
770 775 780

15 aat aag cca cat gtt gat ctg ggc aca ctt atg acg att acc tca aga 2400
Asn Lys Pro His Val Asp Leu Gly Thr Leu Met Thr Ile Thr Ser Arg
785 790 795

20 cca aag aag atc ttg aag acc aca aat gct tac ttt tac tgg gtg aca 2448
Pro Lys Lys Ile Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr
805 810 815

25 cgt gag caa ggc tct ttt gat tgg ttc aaa gga gtc atg aat gaa att 2496
Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val Met Asn Glu Ile
820 825 830

gct gac ttg gat caa agg aat atc att gag atg cac aac tac cta aca 2544
Ala Asp Leu Asp Gln Arg Asn Ile Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr
835 840 845

30 agc gtc tat gag gag ggg gat gcc agg tca gca ctc atc acc atg ctc 2592
Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu
850 855 860

35 caa gct ctg aac cat gcc aag aat gga gtt gat att gtc tct ggg aca 2640
Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr
865 870 875

aaa gtc cgg aca cat ttt gca cga cca aat tgg aga aag gtc ctt tct 2688
Lys Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Leu Ser
885 890 895

40 aaa att tcc tcc aag cat cca tat gcc aaa ata ggt gta ttc tac tgt 2736
Lys Ile Ser Ser Lys His Pro Tyr Ala Lys Ile Gly Val Phe Tyr Cys
900 905 910

45 gga gct cca gtc ctg gca caa gaa cta agc aaa ctt tgc cat gaa ttc 2784
Gly Ala Pro Val Leu Ala Gln Glu Leu Ser Lys Leu Cys His Glu Phe
915 920 925

50 aac ggg aaa tgc aca acg aag ttc gaa ttc cat aag gag cat ttc tga 2832
Asn Gly Lys Cys Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu His Phe
930 935 940

```

<210> 4

<211> 943

<212> PRT

<213> *Oryza sativa*

<400> 4

```

Met Arg Gly Gly Ala Ser Ser Gly Pro Gln Arg Trp Gly Ser Ala Gly
1 5 10 15

Thr Thr Pro Arg Ser Leu Ser Thr Gly Ser Ser Pro Arg Gly Ser Asp
20 25 30

```

ES 2 341 238 T3

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

ES 2 341 238 T3

	Thr	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Ile	
				420					425					430			
5	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Ser	Thr	
			435					440					445				
	Arg	Ala	Ala	Arg	Ala	Leu	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	Lys	
		450					455					460					
10	Thr	Ile	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Val	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	Asn	
	465					470						475				480	
	His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Lys	Ser	Ser	Asp	Glu	Lys	
				485						490					495		
15	Tyr	Ala	Pro	Leu	Gly	Gln	Tyr	Phe	Gly	Glu	Ile	Lys	Pro	Thr	Tyr	Phe	
				500					505					510			
	Thr	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly	Val	Ile	Met	Val	Val	
20			515					520					525				
	Cys	Met	Ile	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	Arg	Ser	
		530					535					540					
25	Leu	Val	Lys	Leu	Pro	Arg	Pro	Phe	Asp	Lys	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	
	545					550					555					560	
	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Phe	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile	Ala	Leu	Ile	
				565						570					575		
30	Val	His	Gly	Glu	Cys	Leu	Tyr	Leu	Ile	His	Val	Trp	Tyr	Arg	Arg	Thr	
				580					585					590			
	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ser	Val	Pro	Val	Cys	Leu	Tyr	Val	Gly	Glu	Arg	
			595					600					605				
35	Ile	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Ser	Tyr	Ser	Val	Arg	Leu	Leu	Lys	
		610					615					620					
	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	Lys	Pro	
40	625					630					635					640	
	Pro	Thr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Gln	Cys	Pro	
				645						650					655		
45	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	
				660					665					670			
	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Val	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	
			675					680					685				
50	Arg	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	Phe	Ala	Ala	Ala	Cys	Glu	Pro	Pro	Ala	Gly	
		690				695						700					
	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Thr	Thr	Lys	Lys	Ile	Leu	
	705					710					715					720	
55	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ser	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	
				725						730					735		
	Ser	Lys	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	
				740					745					750			
60	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Asn	Asn	Ile	Ile	Lys	Met	
			755					760					765				
	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Ser	Thr	Asp	Leu	Tyr	Pro	Pro	Met	Gly	Arg	
65			770				775					780					
	Asn	Lys	Pro	His	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Leu	Met	Thr	Ile	Thr	Ser	Arg	
	785				790						795					800	

ES 2 341 238 T3

	Pro	Lys	Lys	Ile	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	
					805					810					815		
5	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Glu	Ile	
				820					825					830			
	Ala	Asp	Leu	Asp	Gln	Arg	Asn	Ile	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	Thr	
			835					840					845				
10	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met	Leu	
		850					855					860					
	Gln	Ala	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	Thr	
15		865				870					875					880	
	Lys	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Arg	Lys	Val	Leu	Ser	
					885					890					895		
20	Lys	Ile	Ser	Ser	Lys	His	Pro	Tyr	Ala	Lys	Ile	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	
				900					905					910			
	Gly	Ala	Pro	Val	Leu	Ala	Gln	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Cys	His	Glu	Phe	
			915					920					925				
25	Asn	Gly	Lys	Cys	Thr	Thr	Lys	Phe	Glu	Phe	His	Lys	Glu	His	Phe		
		930					935					940					

<210> 5

30 <211> 2889

<212> DNA

<213> *Nicotiana tabacum*

<220>

35 <221> CDS

<222> (1)..(2886)

<223> coding for Oxidasa NADPH

40 <400> 5

	atg	agg	ggt	tta	cct	ggg	cat	gaa	cgc	cgg	tgg	aca	tcc	gat	acg	gta	48
	Met	Arg	Gly	Leu	Pro	Gly	His	Glu	Arg	Trp	Thr	Ser	Asp	Thr	Val		
	1				5				10				15				
45	tct	tcc	gac	aag	gat	ttt	agt	ggt	gaa	tta	tcg	ccg	gga	gct	gat	tcc	96
	Ser	Ser	Asp	Lys	Asp	Phe	Ser	Gly	Glu	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Asp	Ser	
				20				25					30				
50	ggc	tat	aat	tcc	ggt	ttt	gct	tcc	gag	gag	ttt	gtt	gaa	gtc	acg	ctt	144
	Gly	Tyr	Asn	Ser	Gly	Phe	Ala	Ser	Glu	Glu	Phe	Val	Glu	Val	Thr	Leu	
			35				40					45					
	gat	ctt	cag	gat	gat	gat	acc	att	att	cta	cgg	agc	gtt	gaa	ccg	gct	192
55	Asp	Leu	Gln	Asp	Asp	Asp	Thr	Ile	Ile	Leu	Arg	Ser	Val	Glu	Pro	Ala	
		50					55				60						
	act	gtg	att	aac	att	gac	gct	cct	gat	ctt	ccc	gcc	gga	gtc	ggt	att	240
	Thr	Val	Ile	Asn	Ile	Asp	Ala	Pro	Asp	Leu	Pro	Ala	Gly	Val	Gly	Ile	
		65				70				75					80		
60	tcc	gga	gtt	tca	att	gaa	act	ccg	acg	tca	gca	tcg	gtg	tcg	gaa	tct	288
	Ser	Gly	Val	Ser	Ile	Glu	Thr	Pro	Thr	Ser	Ala	Ser	Val	Ser	Glu	Ser	
					85				90					95			
	cga	tcg	ccg	acg	atc	cgc	cgg	agt	tca	tct	agt	aaa	ctt	cgt	cag	ttt	336
65	Arg	Ser	Pro	Thr	Ile	Arg	Arg	Ser	Ser	Ser	Ser	Lys	Leu	Arg	Gln	Phe	
				100					105				110				

ES 2 341 238 T3

	tca	cag	gag	ttg	aaa	gct	gag	gcg	gtt	gcg	aaa	gcg	agg	cag	ttt	tca	384
	Ser	Gln	Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Lys	Ala	Arg	Gln	Phe	Ser	
			115					120					125				
5	caa	gag	ctg	aag	gcg	gag	tta	agg	aga	ttc	tca	tgg	agc	cat	ggg	cat	432
	Gln	Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Leu	Arg	Arg	Phe	Ser	Trp	Ser	His	Gly	His	
			130				135					140					
10	gcg	tct	cg	g	ttt	tcg	ccc	tcg	tcg	ttt	ttt	caa	aac	gcc	gtc	gtt	480
	Ala	Ser	Arg	Ala	Phe	Ser	Pro	Ser	Ser	Phe	Phe	Gln	Asn	Ala	Val	Val	
	145					150					155				160		
15	gga	aca	ggt	aac	ggc	gtg	gac	tcg	gct	tta	gcg	gca	cgt	gca	tta	cgt	528
	Gly	Thr	Gly	Asn	Gly	Val	Asp	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Arg	Ala	Leu	Arg	
					165					170					175		
20	cg	caa	cg	g	cag	ctt	gat	cg	act	cgt	tcc	agc	gcc	cat	aga	gct	576
	Arg	Gln	Arg	Ala	Gln	Leu	Asp	Arg	Thr	Arg	Ser	Ser	Ala	His	Arg	Ala	
				180				185						190			
25	ctt	cgt	aga	ctc	aaa	ttc	att	agc	aat	aac	aaa	acc	aat	gga	tgg	aat	624
	Leu	Arg	Arg	Leu	Lys	Phe	Ile	Ser	Asn	Asn	Lys	Thr	Asn	Gly	Trp	Asn	
			195					200					205				
30	gaa	gtt	gaa	aac	aat	ttc	tca	aag	ctc	gct	aaa	gac	ggt	tat	ctt	tac	672
	Glu	Val	Glu	Asn	Asn	Phe	Ser	Lys	Leu	Ala	Lys	Asp	Gly	Tyr	Leu	Tyr	
		210					215					220					
35	cgt	tcc	gat	ttc	gca	caa	tgc	ata	ggt	atg	aag	gat	tcg	aag	gaa	ttt	720
	Arg	Ser	Asp	Phe	Ala	Gln	Cys	Ile	Gly	Met	Lys	Asp	Ser	Lys	Glu	Phe	
	225				230						235				240		
40	gca	ttg	gaa	tta	ttt	gat	gct	ttg	agt	aga	aga	aga	aga	tta	aag	gtt	768
	Ala	Leu	Glu	Leu	Phe	Asp	Ala	Leu	Ser	Arg	Arg	Arg	Arg	Leu	Lys	Val	
				245				250						255			
45	gat	aaa	att	agc	aag	gag	gaa	ttg	tat	gag	tac	tgg	tct	caa	atc	acc	816
	Asp	Lys	Ile	Ser	Lys	Glu	Glu	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Trp	Ser	Gln	Ile	Thr	
			260					265						270			
50	gat	cag	agt	ttc	gat	tct	cg	ctt	cag	atc	tcc	ttc	gac	atg	gtg	gac	864
	Asp	Gln	Ser	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Gln	Ile	Ser	Phe	Asp	Met	Val	Asp	
			275				280						285				
55	aag	aat	gaa	gat	ggt	cga	att	gct	gaa	gag	gaa	gta	aaa	gag	atc	atc	912
	Lys	Asn	Glu	Asp	Gly	Arg	Ile	Ala	Glu	Glu	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ile	
		290					295					300					
60	atg	cta	agt	gca	tct	gca	aac	aag	tta	tca	aga	tta	aaa	gaa	caa	gca	960
	Met	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ser	Arg	Leu	Lys	Glu	Gln	Ala	
	305				310						315				320		
65	gag	gag	tat	gca	gct	tta	atc	atg	gaa	gaa	tta	gat	cct	gaa	aga	ctc	1008
	Glu	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Arg	Leu	
				325					330					335			
70	ggc	tac	att	gag	cta	tgg	cag	ctg	gaa	aca	ctt	ctc	ctc	caa	aag	gac	1056
	Gly	Tyr	Ile	Glu	Leu	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Lys	Asp	
			340					345						350			
75	act	tac	ctc	aac	tac	agt	caa	gca	cta	agt	tac	acg	agc	caa	gcc	ttg	1104
	Thr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Tyr	Thr	Ser	Gln	Ala	Leu	
			355				360						365				
80	agc	caa	aac	ctt	cac	gga	tta	agg	aag	aaa	agc	cca	ata	aaa	aga	atg	1152
	Ser	Gln	Asn	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Lys	Lys	Ser	Pro	Ile	Lys	Arg	Met	
		370					375					380					

ES 2 341 238 T3

	agc	aca	aaa	ctt	gtc	tat	tca	ttg	caa	gaa	aac	tgg	aag	aga	att	tgg	1200
	Ser	Thr	Lys	Leu	Val	Tyr	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp	
	385					390					395				400		
5	ggt	ctc	act	tta	tgg	att	ttg	ata	atg	att	ggg	ctt	ttt	ctt	tgg	aag	1248
	Val	Leu	Thr	Leu	Trp	Ile	Leu	Ile	Met	Ile	Gly	Leu	Phe	Leu	Trp	Lys	
					405					410					415		
10	ttc	tat	cag	tac	aaa	aac	aag	agt	gca	ttc	cgt	gtc	atg	ggg	tat	tgc	1296
	Phe	Tyr	Gln	Tyr	Lys	Asn	Lys	Ser	Ala	Phe	Arg	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	
					420				425					430			
15	ctt	gtc	acg	gct	aag	ggc	gct	gct	gag	act	ctc	aag	ttc	aac	atg	gct	1344
	Leu	Val	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	Ala	
					435				440					445			
20	ctt	ata	tta	ttg	cca	gta	tgc	aga	aac	act	att	aca	tgg	ctc	agg	tcc	1392
	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Ser	
					450				455				460				
25	acc	aag	ttg	agc	cat	ttt	gta	ccc	ttt	gac	gac	aac	atc	aac	ttt	cac	1440
	Thr	Lys	Leu	Ser	His	Phe	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	
						470				475					480		
30	aag	act	gtc	gct	gca	gcc	att	gtc	act	ggg	atc	ata	ctc	cat	gct	ggg	1488
	Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	
					485				490						495		
35	aac	cat	ctt	gta	tgt	gat	ttc	cca	agg	ctt	ata	cat	gca	gat	gat	caa	1536
	Asn	His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	His	Ala	Asp	Asp	Gln	
					500				505					510			
40	gat	tat	caa	agt	ttt	ttg	tgc	aat	gat	ttt	ggc	caa	agt	aag	cct	gga	1584
	Asp	Tyr	Gln	Ser	Phe	Leu	Ser	Asn	Asp	Phe	Gly	Gln	Ser	Lys	Pro	Gly	
					515				520					525			
45	tac	ata	gac	ctt	gtt	aaa	gga	gtt	gag	ggg	gtg	acg	gga	ata	ata	atg	1632
	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Met	
					530				535				540				
50	gta	atc	ctt	atg	gcc	att	gct	ttc	act	ctt	gct	aca	cga	tgg	ttt	aga	1680
	Val	Ile	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	
					545						555				560		
55	cgg	agc	ctc	att	aag	ttg	ccc	aaa	cct	ttt	gat	aga	ctc	act	ggc	ttc	1728
	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe	
					565					570					575		
60	aat	gca	ttc	tgg	tat	tca	cac	cac	ctt	ctt	gtc	att	gtc	tac	atc	cta	1776
	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Leu	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	
					580				585					590			
65	ctg	atc	atc	cat	ggc	acg	ttc	ctc	ttc	ctt	gtg	cat	aaa	tgg	tac	tcc	1824
	Leu	Ile	Ile	His	Gly	Thr	Phe	Leu	Phe	Leu	Val	His	Lys	Trp	Tyr	Ser	
					595				600					605			
70	aag	acg	acg	tgg	atg	tat	cta	gca	gtt	cct	gtg	ctt	ctc	tac	gca	ggg	1872
	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	Gly	
					610				615					620			
75	gaa	aga	act	ctt	aga	ttc	ttc	cgg	tca	ggc	ttg	tac	act	gtc	cgg	ctt	1920
	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Val	Arg	Leu	
					625						635				640		
80	ctg	aaa	gta	gca	ata	tat	cct	gga	aat	gtc	ctc	act	cta	caa	atg	tct	1968
	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	
					645					650					655		

ES 2 341 238 T3

	aag cct cct caa ttt cga tac aaa agt gga caa tat atg ttt gtc cag	2016
	Lys Pro Pro Gln Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln	
	660 665 670	
5	tgt cca gct gtt tct cca ttc gag tgg cat cca ttt tcc att act tca	2064
	Cys Pro Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser	
	675 680 685	
10	gct cct ggg gat gac tac ttg agc att cac atc cgg caa ctt ggt gac	2112
	Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Ile His Ile Arg Gln Leu Gly Asp	
	690 695 700	
15	tgg act caa gaa ctc aag cgg gtc ttt tct gag gct tgc gag cgg cca	2160
	Trp Thr Gln Glu Leu Lys Arg Val Phe Ser Glu Ala Cys Glu Arg Pro	
	705 710 715 720	
	gag gct gga aag agt ggc ctg ctc aga gct gac gaa aac act aag aaa	2208
	Glu Ala Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Glu Asn Thr Lys Lys	
	725 730 735	
20	agt ttg cca aag cta tta ata gat gga cct tac gga gct cca gca caa	2256
	Ser Leu Pro Lys Leu Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln	
	740 745 750	
25	gat tac cga aaa tat gat gtc ttg ctg ctt gtt ggt ctt ggc att gga	2304
	Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly	
	755 760 765	
	gca acg ccg ttc ata agt atc ctg aaa gac ttg ctc gtt aac atc gtg	2352
	Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Val Asn Ile Val	
	770 775 780	
30	aaa atg gag gag caa gca gat tta gcc tca gat ttc agt ggg aac tca	2400
	Lys Met Glu Glu Gln Ala Asp Leu Ala Ser Asp Phe Ser Gly Asn Ser	
	785 790 795 800	
35	gac atg agc gtt gcg aca agt gaa caa cca gct ctc aac aag att tct	2448
	Asp Met Ser Val Ala Thr Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys Ile Ser	
	805 810 815	
40	ctg aaa agg aga aag agc act cta aga acc aca aat gca tat ttt tat	2496
	Leu Lys Arg Arg Lys Ser Thr Leu Arg Thr Thr Asn Ala Tyr Phe Tyr	
	820 825 830	
	tgg gtg acc cgg gag caa gga tca ttt gat tgg ttc aaa ggc gtt atg	2544
	Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val Met	
	835 840 845	
45	aac gaa gtg gct gaa ctt gat caa agg ggg gtc atc gag atg cat aac	2592
	Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met His Asn	
	850 855 860	
50	tac ttg acg agt gtt tat gag gaa ggg gat gct cgt tca gct ctc att	2640
	Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile	
	865 870 875 880	
	acc atg gtc cag gca ctt aac cat gct aag aat ggg gtt gat att gta	2688
	Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val	
	885 890 895	
55	tca ggc acc agg gtg agg aca cat ttt gct agg cca aat tgg aag aaa	2736
	Ser Gly Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Lys Lys	
	900 905 910	
60	gta ttt tcc aag acc tta acc aag cat gca aat gca aga ata ggg gtt	2784
	Val Phe Ser Lys Thr Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly Val	
	915 920 925	

65

ES 2 341 238 T3

```

    ttc tac tgt ggt gca ccc gta tta gca aaa gaa ctc agc aaa ctc tgc 2832
    Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Val Leu Ala Lys Glu Leu Ser Lys Leu Cys
      930                935                940

5    aaa gag tat aat caa aag ggt gca aca aag ttc gag ttt cac aaa gaa 2880
    Lys Glu Tyr Asn Gln Lys Gly Ala Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu
    945                950                955                960

    cat ttt tag 2889
    His Phe

10  <210> 6
    <211> 962
    <212> PRT
15  <213> Nicotiana tabacum

    <400> 6

20    Met Arg Gly Leu Pro Gly His Glu Arg Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val
      1                5                10                15

    Ser Ser Asp Lys Asp Phe Ser Gly Glu Leu Ser Pro Gly Ala Asp Ser
      20                25                30

25    Gly Tyr Asn Ser Gly Phe Ala Ser Glu Glu Phe Val Glu Val Thr Leu
      35                40                45

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

30    Thr Val Ile Asn Ile Asp Ala Pro Asp Leu Pro Ala Gly Val Gly Ile
      65                70                75                80

    Ser Gly Val Ser Ile Glu Thr Pro Thr Ser Ala Ser Val Ser Glu Ser
      85                90                95

35    Arg Ser Pro Thr Ile Arg Arg Ser Ser Ser Ser Lys Leu Arg Gln Phe
      100                105                110

    Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Arg Gln Phe Ser
      115                120                125

40    Gln Glu Leu Lys Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His
      130                135                140

    Ala Ser Arg Ala Phe Ser Pro Ser Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val
      145                150                155                160

45    Gly Thr Gly Asn Gly Val Asp Ser Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg
      165                170                175

    Arg Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Arg Ser Ser Ala His Arg Ala
      180                185                190

50    Leu Arg Arg Leu Lys Phe Ile Ser Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn
      195                200                205

    Glu Val Glu Asn Asn Phe Ser Lys Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr
      210                215                220

55    Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe
      225                230                235                240

    Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val
      245                250                255

60    Asp Lys Ile Ser Lys Glu Glu Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln Ile Thr
      260                265                270

    Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Ser Phe Asp Met Val Asp
      275                280                285

```

ES 2 341 238 T3

	Lys	Asn	Glu	Asp	Gly	Arg	Ile	Ala	Glu	Glu	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ile
	290						295					300				
5	Met	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ser	Arg	Leu	Lys	Glu	Gln	Ala
	305					310					315					320
	Glu	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Arg	Leu
					325					330					335	
10	Gly	Tyr	Ile	Glu	Leu	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Lys	Asp
				340					345					350		
	Thr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Tyr	Thr	Ser	Gln	Ala	Leu
15			355					360					365			
	Ser	Gln	Asn	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Lys	Lys	Ser	Pro	Ile	Lys	Arg	Met
	370						375					380				
20	Ser	Thr	Lys	Leu	Val	Tyr	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp
	385					390					395					400
	Val	Leu	Thr	Leu	Trp	Ile	Leu	Ile	Met	Ile	Gly	Leu	Phe	Leu	Trp	Lys
					405					410					415	
25	Phe	Tyr	Gln	Tyr	Lys	Asn	Lys	Ser	Ala	Phe	Arg	Val	Met	Gly	Tyr	Cys
				420					425					430		
	Leu	Val	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	Ala
				435				440					445			
30	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Ser
	450						455					460				
	Thr	Lys	Leu	Ser	His	Phe	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His
35	465					470					475					480
	Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly
					485					490					495	
	Asn	His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	His	Ala	Asp	Asp	Gln
40				500					505					510		
	Asp	Tyr	Gln	Ser	Phe	Leu	Ser	Asn	Asp	Phe	Gly	Gln	Ser	Lys	Pro	Gly
		515						520					525			
45	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Met
	530						535					540				
	Val	Ile	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg
	545					550					555					560
50	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe
					565					570					575	
	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Leu	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu
				580					585					590		
55	Leu	Ile	Ile	His	Gly	Thr	Phe	Leu	Phe	Leu	Val	His	Lys	Trp	Tyr	Ser
		595						600					605			
	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	Gly
60		610					615					620				
	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Val	Arg	Leu
	625					630					635					640
	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser
65					645					650					655	
	Lys	Pro	Pro	Gln	Phe	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Gln
				660					665					670		

ES 2 341 238 T3

	Cys	Pro	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser
			675					680					685			
5	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Ile	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp
		690					695					700				
	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	Ala	Cys	Glu	Arg	Pro
	705					710					715					720
10	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Asn	Thr	Lys	Lys
					725					730					735	
	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln
				740					745					750		
15	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly
			755					760					765			
	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Val	Asn	Ile	Val
		770					775					780				
20	Lys	Met	Glu	Glu	Gln	Ala	Asp	Leu	Ala	Ser	Asp	Phe	Ser	Gly	Asn	Ser
	785					790					795					800
	Asp	Met	Ser	Val	Ala	Thr	Ser	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Lys	Ile	Ser
25					805					810					815	
	Leu	Lys	Arg	Arg	Lys	Ser	Thr	Leu	Arg	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr
				820					825					830		
30	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met
			835					840					845			
	Asn	Glu	Val	Ala	Glu	Leu	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn
		850					855					860				
35	Tyr	Leu	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile
	865					870					875					880
	Thr	Met	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val
				885						890					895	
40	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Lys	Lys
				900					905					910		
	Val	Phe	Ser	Lys	Thr	Leu	Thr	Lys	His	Ala	Asn	Ala	Arg	Ile	Gly	Val
			915					920					925			
45	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ala	Pro	Val	Leu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Cys
		930					935					940				
	Lys	Glu	Tyr	Asn	Gln	Lys	Gly	Ala	Thr	Lys	Phe	Glu	Phe	His	Lys	Glu
50	945					950					955					960
	His	Phe														

<210> 7
 55 <211> 3733
 <212> DNA
 <213> *Solanum tuberosum*
 <220>
 60 <221> CDS
 <222> (92)..(2980)
 <223> coding for Oxidasa NADPH

65

ES 2 341 238 T3

<400> 7

```

ggcacgagaa taacaaaaac ttttggtcag gcttctgcag aaaactctgt. tttcaacata 60
5  tattttattta ttgtgctttg atttgggaca a atg agg ggt tta cct ggg cat 112
                                   Met Arg Gly Leu Pro Gly His
                                   1 5
gaa cgc cgg tgg acg tcg gat acg gta tct tcc ggc aag gat tta agt 160
10  Glu Arg Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val Ser Ser Gly Lys Asp Leu Ser
                                   10 15 20
ggt gag tca tcg ccg gga act gat tcc ggg aat att tcc ggt ttt gct 208
Gly Glu Ser Ser Pro Gly Thr Asp Ser Gly Asn Ile Ser Gly Phe Ala
                                   25 30 35
tcc gag gag ttt gtt gaa gtt ata ctt gat ctt cag gat gat gat acg 256
15  Ser Glu Glu Phe Val Glu Val Ile Leu Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr
                                   40 45 50 55
att att cta cgg agc gtt gaa ccg gct act gta atc aac att gat gct 304
20  Ile Ile Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala Thr Val Ile Asn Ile Asp Ala
                                   60 65 70
tct gat cct gct acc gga gtc ggt att ggt gga gta tcg att gaa act 352
Ser Asp Pro Ala Thr Gly Val Gly Ile Gly Gly Val Ser Ile Glu Thr
                                   75 80 85
ccg gcg tcg ctg act tcg acg tcg gga act cga tcg ccg acg atg cgt 400
25  Pro Ala Ser Leu Thr Ser Thr Ser Gly Thr Arg Ser Pro Thr Met Arg
                                   90 95 100
cgg agt aca tcg aat aaa tta cgt cag ttt tca cag gag ttg aaa gct 448
30  Arg Ser Thr Ser Asn Lys Leu Arg Gln Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala
                                   105 110 115
gag gct gtc gcg aaa gcg aag cat ttc tcg caa gag ctt aaa gcg gag 496
35  Glu Ala Val Ala Lys Ala Lys His Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu
                                   120 125 130 135
cta agg aga ttc tca tgg agc cat gga cat gcg tct cgc act ttt tcg 544
Leu Arg Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His Ala Ser Arg Thr Phe Ser
                                   140 145 150
ccg gcg tcg ttt ttc caa aac gcc gtc gtc ggt aca ggc aac ggt gta 592
40  Pro Ala Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val Gly Thr Gly Asn Gly Val
                                   155 160 165
gat tcg gct tta gca gct cga gca tta cga cgg cag cgc gct cag ctc 640
45  Asp Ser Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg Arg Gln Arg Ala Gln Leu
                                   170 175 180
gat cgg act cgt tcc agc gct cac aag gct ctt cgt gga ctc aaa ttc 688
Asp Arg Thr Arg Ser Ser Ala His Lys Ala Leu Arg Gly Leu Lys Phe
                                   185 190 195
atc agc aat aac aaa act aac gga tgg aat gaa gtt gaa aac aat ttt 736
50  Ile Ser Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn Glu Val Glu Asn Asn Phe
                                   200 205 210 215
gct aag ctc gct aaa gac ggt tac ctt tat cgc tcc gat ttc gca caa 784
55  Ala Lys Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr Arg Ser Asp Phe Ala Gln
                                   220 225 230
tgc atc ggt atg aag gat tca aag gaa ttt gca ttg gaa ttg ttt gat 832
Cys Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe Ala Leu Glu Leu Phe Asp
                                   235 240 245
gct ttg agt aga aga aga aga ttg aag gtt gat aag att agc aaa gag 880
60  Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val Asp Lys Ile Ser Lys Glu
                                   250 255 260

```

65

ES 2 341 238 T3

		gaa	ttg	tat	gag	tat	tgg	tct	caa	atc	acc	gat	cag	agt	ttc	gat	tct	928
		Glu	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Trp	Ser	Gln	Ile	Thr	Asp	Gln	Ser	Phe	Asp	Ser	
		265						270					275					
5		cgg	ctt	cag	atc	ttc	ttc	gac	atg	gtg	gac	aag	aat	gaa	gat	ggg	cga	976
		Arg	Leu	Gln	Ile	Phe	Phe	Asp	Met	Val	Asp	Lys	Asn	Glu	Asp	Gly	Arg	
		280					285					290					295	
10		att	ggg	gaa	gaa	gaa	gta	aaa	gag	atc	atc	atg	cta	agt	gcc	tct	gca	1024
		Ile	Gly	Glu	Glu	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ile	Met	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	
					300						305					310		
15		aac	aaa	tta	tca	aga	tta	aaa	gaa	caa	gca	gag	gag	tat	gca	gct	ctg	1072
		Asn	Lys	Leu	Ser	Arg	Leu	Lys	Glu	Gln	Ala	Glu	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	
					315					320					325			
20		atc	atg	gaa	gaa	tta	gat	cct	gaa	aga	ctt	ggc	tac	att	gag	cta	tgg	1120
		Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Arg	Leu	Gly	Tyr	Ile	Glu	Leu	Trp	
				330					335					340				
25		cag	ctg	gaa	acg	ctt	ctc	ctc	caa	aag	gac	act	tac	ctc	aac	tac	agt	1168
		Gln	Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Lys	Asp	Thr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Ser	
			345					350					355					
30		caa	gca	cta	agc	tac	aca	agc	caa	gct	ttg	agc	caa	aac	ctg	caa	ggg	1216
		Gln	Ala	Leu	Ser	Tyr	Thr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Gln	Gly	
		360					365					370					375	
35		ttg	agg	aag	aga	agc	cca	ata	aga	aga	atg	agc	aca	aaa	ctt	gtc	tat	1264
		Leu	Arg	Lys	Arg	Ser	Pro	Ile	Arg	Arg	Met	Ser	Thr	Lys	Leu	Val	Tyr	
						380					385					390		
40		tca	ctg	caa	gag	aat	tgg	aag	aga	att	tgg	gtt	ctg	gtc	ttg	tgg	att	1312
		Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp	Val	Leu	Val	Leu	Trp	Ile	
					395				400					405				
45		ttg	ata	atg	att	gga	ctt	ttt	ctt	tgg	aag	ttc	tat	ctg	tac	aaa	cag	1360
		Leu	Ile	Met	Ile	Gly	Leu	Phe	Leu	Trp	Lys	Phe	Tyr	Leu	Tyr	Lys	Gln	
				410				415					420					
50		aaa	agt	gca	ttt	caa	gtt	atg	ggg	tat	tgc	ctt	cta	aca	gct	aag	ggg	1408
		Lys	Ser	Ala	Phe	Gln	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Gly	
			425					430					435					
55		gct	gct	gag	act	cta	aag	ttc	aac	atg	gct	ttg	ata	ttg	ttg	cca	gtt	1456
		Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	
						440		445				450				455		
60		tgc	agg	aac	acc	att	aca	ttc	ctc	agg	tct	act	aaa	ttg	agt	tgt	ttt	1504
		Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Phe	Leu	Arg	Ser	Thr	Lys	Leu	Ser	Cys	Phe	
					460					465						470		
65		gta	ccc	ttt	gat	gac	aac	atc	aac	ttc	cac	aag	act	gtt	gct	gca	gcc	1552
		Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Ala	
					475					480					485			
70		att	gtt	act	ggg	atc	ata	ctc	cat	gcc	ggg	aat	cat	ctt	gta	tgt	gat	1600
		Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	Asn	His	Leu	Val	Cys	Asp	
				490					495					500				
75		ttc	cca	aag	ctt	ata	cat	gca	aat	aat	acg	aat	tat	cag	aaa	tat	ttg	1648
		Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	His	Ala	Asn	Asn	Thr	Asn	Tyr	Gln	Lys	Tyr	Leu	
			505					510					515					
80		gtg	aat	gat	ttt	ggc	cca	agc	cag	cct	cag	tac	ata	gat	ctt	gtt	aaa	1696
		Val	Asn	Asp	Phe	Gly	Pro	Ser	Gln	Pro	Gln	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Lys	
						520		525				530					535	

ES 2 341 238 T3

	gga	gtg	gag	ggt	gtg	aca	gga	ata	ata	atg	gta	atc	ctc	atg	gcc	att	1744
	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Met	Val	Ile	Leu	Met	Ala	Ile	
					540					545					550		
5	gct	ttc	act	ctt	gca	acg	cga	tgg	ttt	agg	cgg	agc	ctc	att	aag	ttt	1792
	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	Phe	
				555					560					565			
10	ccc	aaa	cct	ttt	gat	aga	ctc	act	ggt	ttc	aat	gcg	ttc	tgg	tac	tcg	1840
	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	
			570					575					580				
15	cac	cac	ctt	ctc	atc	att	gtc	tac	atc	gta	ctg	atc	atc	cat	ggc	aca	1888
	His	His	Leu	Leu	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile	Val	Leu	Ile	Ile	His	Gly	Thr	
		585					590					595					
	ttc	ctc	tac	ctt	gtg	cat	aac	tgg	tac	tcc	aaa	acg	aca	tgg	atg	tat	1936
	Phe	Leu	Tyr	Leu	Val	His	Asn	Trp	Tyr	Ser	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	
	600					605					610					615	
20	cta	gca	gtt	cct	gta	ctt	ctc	tac	gca	ggg	gaa	aga	act	ctt	aga	ttc	1984
	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Phe	
					620					625					630		
25	ttc	cga	tca	ggc	tta	tat	aca	gtc	cgg	ctt	cta	aaa	gta	gca	ata	tat	2032
	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Val	Arg	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	
				635					640					645			
30	cct	gga	aat	gtc	ctt	act	ctg	caa	atg	tct	aag	cct	ccg	caa	ttt	cga	2080
	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	Lys	Pro	Pro	Gln	Phe	Arg	
			650					655					660				
	tac	aag	agt	gga	caa	tat	atg	ttt	gtc	cag	tgt	cca	gct	gtt	tct	cca	2128
	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Gln	Cys	Pro	Ala	Val	Ser	Pro	
		665					670					675					
35	ttc	gag	tgg	cat	cca	ttt	tcc	att	act	tca	gct	cct	ggg	gat	gac	tac	2176
	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	
						685					690					695	
40	ttg	agc	att	cat	atc	cga	caa	ctt	ggt	gac	tgg	act	caa	gaa	ctc	aag	2224
	Leu	Ser	Ile	His	Ile	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu	Lys	
					700					705					710		
45	cgg	gtg	ttt	tcc	gag	gct	tgc	gag	cag	cca	gag	gct	gga	aag	agt	ggc	2272
	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	Ala	Cys	Glu	Gln	Pro	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser	Gly	
				715					720					725			
	ctg	ctc	aga	gct	gac	gaa	aac	acc	aaa	aca	agt	ttg	cca	aag	cta	ttg	2320
	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	
				730					735				740				
50	ata	gat	gga	cct	tat	gga	gct	cca	gca	caa	gat	tac	cga	aag	tat	gat	2368
	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Asp	
			745					750					755				
55	gtc	tta	ctg	ctt	gtt	ggt	ctt	ggc	att	gga	gca	act	ccc	ttt	ata	agt	2416
	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	
		760				765					770					775	
	atc	ctg	aaa	gac	ttg	ctc	aaa	aac	atc	gtc	aca	atg	gag	gag	caa	gca	2464
	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Ile	Val	Thr	Met	Glu	Glu	Gln	Ala	
					780					785					790		
60	gat	tta	gtc	tcg	gat	ttt	tca	ggg	aac	tca	gac	atg	agc	gct	gca	aca	2512
	Asp	Leu	Val	Ser	Asp	Phe	Ser	Gly	Asn	Ser	Asp	Met	Ser	Ala	Ala	Thr	
				795					800					805			
65																	

ES 2 341 238 T3

	agt gaa caa cca gct ctc aac aag att tct cca aaa aag aga aag agt	2560
	Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys Ile Ser Pro Lys Lys Arg Lys Ser	
	810 815 820	
5	act cta aaa acc aca aat gca tat ttt tat tgg gtg acc cgg gag caa	2608
	Thr Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln	
	825 830 835	
10	gga tca ttt gat tgg ttc aaa ggt gtt atg aac gaa gtg gct gaa ctt	2656
	Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val Met Asn Glu Val Ala Glu Leu	
	840 845 850 855	
15	gat caa agg ggg gtc atc gag atg cat aac tac tta acg agt gtt tat	2704
	Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr	
	860 865 870	
20	gag gaa ggg gat gca cgt tca gct ctc att acc atg gtc cag gcg ctt	2752
	Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Val Gln Ala Leu	
	875 880 885	
25	aac cat gct aag aat ggg gtt gat att gta tca ggc acc agt gtg agg	2800
	Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Ser Val Arg	
	890 895 900	
30	aca cat ttt gcc aga ccg aat tgg agg aaa gta ttt tcc aag acc tta	2848
	Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Phe Ser Lys Thr Leu	
	905 910 915	
35	acc aag cat gca aat gca aga ata gga gtt ttc tac tgc ggt gca ccc	2896
	Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro	
	920 925 930 935	
40	ata tta gct aaa gaa ctc agc aaa ctc tgc aaa gag ttt aac caa aag	2944
	Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Lys Leu Cys Lys Glu Phe Asn Gln Lys	
	940 945 950	
45	ggc aca acg aag ttc gag ttt cac aaa gaa cat ttt tagaaggccc	2990
	Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu His Phe	
	955 960	
50	tggagtacaa ttaatcttgc atcaacggta cacacatcgg taaaccagta tttaccacat	3050
	ctatcttttg tacctgattt gatgattcta ctgaagacat aacattagta aggaataagt	3110
	cagagacaaa ttgtacataa taggaggaag cacatttaca gagaaaatac ataccaatat	3170
55	gatatgtgta taggttttgt atattcagtc atctgttatc acataccaaa cttcagaact	3230
	ccaaaaggga gactctgctt tgggtctgatg gcttagaata tgggagggaa aaaaagacga	3290
	caattgaatg gtcacgatac acatgaagaa tgagaatatt gggaaacagc taataagaag	3350
60	ttgaccttct tgataaagaa acactatgaa aatggcaagc atgaaaggac agacaatcat	3410
	ggcttgatg gggaaaacaa aatacaattt tgaaagaaga agataatatt agtaggagta	3470
	gtgggggact gatagctttg ttggtggaac ttataatggg gctaaggga tcccttccaaa	3530
65	aaatgtctat gtagtaacta ctttttcttt tgctttgtga gtattttttt gggtatttta	3590
	atatactact tattagataa gaggatagaa aatacgtgta tatgcaattc ttattagtaa	3650
	agtttatctg tagtagttct ttaatctgga gaaagggtact atcaaaggaa atatctcatc	3710
	gaaaaaaaa aaaaaaaaa aaa	3733
60	<210> 8	
	<211> 963	
	<212> PRT	
65	<213> <i>Solanum tuberosum</i>	

ES 2 341 238 T3

<400> 8

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

ES 2 341 238 T3

	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Gln	Gly	Leu	Arg	Lys	Arg	Ser	Pro	Ile	Arg	Arg
	370						375					380				
5	Met	Ser	Thr	Lys	Leu	Val	Tyr	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile
	385					390					395					400
	Trp	Val	Leu	Val	Leu	Trp	Ile	Leu	Ile	Met	Ile	Gly	Leu	Phe	Leu	Trp
					405					410					415	
10	Lys	Phe	Tyr	Leu	Tyr	Lys	Gln	Lys	Ser	Ala	Phe	Gln	Val	Met	Gly	Tyr
				420					425					430		
	Cys	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met
			435					440					445			
15	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Phe	Leu	Arg
	450						455					460				
	Ser	Thr	Lys	Leu	Ser	Cys	Phe	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe
20	465					470					475					480
	His	Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala
				485						490					495	
	Gly	Asn	His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	His	Ala	Asn	Asn
25				500					505					510		
	Thr	Asn	Tyr	Gln	Lys	Tyr	Leu	Val	Asn	Asp	Phe	Gly	Pro	Ser	Gln	Pro
			515					520					525			
30	Gln	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Ile
	530						535					540				
	Met	Val	Ile	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe
	545					550					555					560
35	Arg	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	Phe	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly
				565						570					575	
	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Leu	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile
				580					585					590		
40	Val	Leu	Ile	Ile	His	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Leu	Val	His	Asn	Trp	Tyr
			595					600					605			
	Ser	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala
45			610				615					620				
	Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Val	Arg
	625					630					635					640
	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met
50				645						650					655	
	Ser	Lys	Pro	Pro	Gln	Phe	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val
			660						665					670		
55	Gln	Cys	Pro	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr
			675					680					685			
	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Ile	Arg	Gln	Leu	Gly
		690					695					700				
60	Asp	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	Ala	Cys	Glu	Gln
	705					710					715					720
	Pro	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Asn	Thr	Lys
				725						730				735		
65	Thr	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala
				740					745					750		

ES 2 341 238 T3

	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile
		755					760					765				
5	Gly	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Ile
	770					775					780					
	Val	Thr	Met	Glu	Glu	Gln	Ala	Asp	Leu	Val	Ser	Asp	Phe	Ser	Gly	Asn
	785				790					795						800
10	Ser	Asp	Met	Ser	Ala	Ala	Thr	Ser	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Lys	Ile
				805					810					815		
	Ser	Pro	Lys	Lys	Arg	Lys	Ser	Thr	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe
			820					825					830			
15	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val
	835					840					845					
	Met	Asn	Glu	Val	Ala	Glu	Leu	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His
	850					855					860					
20	Asn	Tyr	Leu	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu
	865				870					875						880
	Ile	Thr	Met	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile
25				885				890					895			
	Val	Ser	Gly	Thr	Ser	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Arg
			900				905					910				
30	Lys	Val	Phe	Ser	Lys	Thr	Leu	Thr	Lys	His	Ala	Asn	Ala	Arg	Ile	Gly
	915					920						925				
	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ala	Pro	Ile	Leu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu
	930				935						940					
35	Cys	Lys	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Thr	Lys	Phe	Glu	Phe	His	Lys
	945				950					955						960
	Glu	His	Phe													

40 <210> 9
 <211> 3316
 <212> DNA
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 45 <220>
 <221> CDS
 <222> (146)..(3112)
 50 <223> coding for Oxidasa NADPH
 <400> 9

	cgccactcgt	gccgaattcg	gcacgaggct	ctgaaaaact	tttcatacaa	agccaatcta	60
55	tttctctctc	tttcttttgg	tcaggcttct	acagaaaact	ctgttttcaa	cgtatatatta	120
	tttattgtca	tttgatttgg	gacag	atg	agg	ggt	172
			Met	Arg	Gly	Leu	1
							5
60	cgg	tgg	acg	tcg	gat	acg	gtg
	Arg	Trp	Thr	Ser	Asp	Thr	Val
	10			15			20
							25
	tca	tcg	ccg	gga	act	gat	tcc
65	Ser	Ser	Pro	Gly	Thr	Asp	Ser
			30			35	
							40

ES 2 341 238 T3

	gag ttt gtt gaa gtt ata ctt gat ctt cag gat gat gat acg att att	316
	Glu Phe Val Glu Val Ile Leu Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Ile	
	45 50 55	
5	tta cgg agc gtt gaa ccg gct act gta atc aac att gat ggt tct gat	364
	Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala Thr Val Ile Asn Ile Asp Gly Ser Asp	
	60 65 70	
10	cct gct tcc gga gtc ggt att ggt gga gca tcg att gaa act ccg gcg	412
	Pro Ala Ser Gly Val Gly Ile Gly Gly Ala Ser Ile Glu Thr Pro Ala	
	75 80 85	
15	tcg gtg acg tcg acg tcg gaa act cga tcg ccg atg atg cgt ccg agt	460
	Ser Val Thr Ser Thr Ser Glu Thr Arg Ser Pro Met Met Arg Arg Ser	
	90 95 100 105	
	aca tct aat aag ttt cgt cag ttt tca cag gag ttg aaa gct gag gct	508
	Thr Ser Asn Lys Phe Arg Gln Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala	
	110 115 120	
20	gtt gcg aaa gcg aag cat ttc tcg caa gag ctt aaa gcg gag cta agg	556
	Val Ala Lys Ala Lys His Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Leu Arg	
	125 130 135	
25	aga ttc tca tgg agc cat gga cat gcg tct cgt gct ttt tcg ccg gcg	604
	Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His Ala Ser Arg Ala Phe Ser Pro Ala	
	140 145 150	
30	tcg ttt ttc caa aac gct gtc gtc gga aca ggc aac ggt gta gac tcg	652
	Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val Gly Thr Gly Asn Gly Val Asp Ser	
	155 160 165	
	gct tta gcg gct cga gca tta cgt ccg cag cgt gct cag ctc gac ccg	700
	Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg Arg Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg	
	170 175 180 185	
35	act cgt tcc agc gca cac aag gct ctt cgt gga ctc aaa ttc atc agc	748
	Thr Arg Ser Ser Ala His Lys Ala Leu Arg Gly Leu Lys Phe Ile Ser	
	190 195 200	
40	aat aac aaa act aac gga tgg aat gaa gtt gaa aac aat ttc gct aag	796
	Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn Glu Val Glu Asn Asn Phe Ala Lys	
	205 210 215	
	ctc gct aaa gac ggt tac ctt tat cgt tcc gat ttc gca caa tgc atc	844
	Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys Ile	
	220 225 230	
45	ggt cag tac tca cgc cgg cga tca cta cag ttt aat tat aga tta att	892
	Gly Gln Tyr Ser Arg Arg Arg Ser Leu Gln Phe Asn Tyr Arg Leu Ile	
	235 240 245	
50	aca tta att ttg att aat tat ttg gtt aaa ggt atg aag gat tca aag	940
	Thr Leu Ile Leu Ile Asn Tyr Leu Val Lys Gly Met Lys Asp Ser Lys	
	250 255 260 265	
55	gaa ttt gcg ttg gaa ttg ttt gat gct tta agt aga aga aga ttg	988
	Glu Phe Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu	
	270 275 280	
	aag gtt gat aag att agc caa gag gaa ttg tat gag tat tgg tct caa	1036
	Lys Val Asp Lys Ile Ser Gln Glu Glu Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln	
	285 290 295	
60	atc acc gat cag agt ttc gat tct ccg ctt cag atc ttc ttc gac atg	1084
	Ile Thr Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Phe Phe Asp Met	
	300 305 310	

65

ES 2 341 238 T3

	gtg gac aag aat gaa gat ggt cga att ggt gaa gaa gaa gta aaa gag	1132
	Val Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Ile Gly Glu Glu Glu Val Lys Glu	
	315 320 325	
5	atc atc atg cta agt gcc tct gca aac aaa tta tca aga tta aaa gaa	1180
	Ile Ile Met Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu	
	330 335 340 345	
10	caa gca gag gag tat gca gct ctg atc atg gaa gaa tta gat cct gaa	1228
	Gln Ala Glu Glu Tyr Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu	
	350 355 360	
15	aga ctt ggc tac att gag cta tgg cag ctg gaa aca ctt ctc ctc caa	1276
	Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Leu Trp Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln	
	365 370 375	
20	aag gac act tac ctc aac tac agt caa gca cta agc tac aca agc caa	1324
	Lys Asp Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln	
	380 385 390	
25	gct ttg agc caa aat ctg caa ggg ttg agg aag aga agc cca ata aga	1372
	Ala Leu Ser Gln Asn Leu Gln Gly Leu Arg Lys Arg Ser Pro Ile Arg	
	395 400 405	
30	aga atg agc aca aaa ctt gtc tat tca ctg caa gag aat tgg aag aga	1420
	Arg Met Ser Thr Lys Leu Val Tyr Ser Leu Gln Glu Asn Trp Lys Arg	
	410 415 420 425	
35	att tgg gtt ctg gtc ttg tgg att ttg ata atg att gga ctt ttt ctt	1468
	Ile Trp Val Leu Val Leu Trp Ile Leu Ile Met Ile Gly Leu Phe Leu	
	430 435 440	
40	tgg aag ttc tat cag tac aaa cag aaa agt gca ttt caa gtc atg ggt	1516
	Trp Lys Phe Tyr Gln Tyr Lys Gln Lys Ser Ala Phe Gln Val Met Gly	
	445 450 455	
45	tat tgc ctt cta aca gct aag ggt gct gct gag act ctc aag ttc aac	1564
	Tyr Cys Leu Leu Thr Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn	
	460 465 470	
50	atg gct tta ata ttg ttg cca gta tgc agg aac acc att aca ttc ctc	1612
	Met Ala Leu Ile Leu Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Phe Leu	
	475 480 485	
55	agg tct act aaa ttg agc tgt ttt gta ccc ttt gat gac aac ata aac	1660
	Arg Ser Thr Lys Leu Ser Cys Phe Val Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn	
	490 495 500 505	
60	ttt cac aag act gtt gct gca gcc att gtc act ggt atc ata ctc cat	1708
	Phe His Lys Thr Val Ala Ala Ala Ile Val Thr Gly Ile Ile Leu His	
	510 515 520	
65	gcc ggt aat cac ctt gta tgt gat ttc cca aag ctt ata cat gca aat	1756
	Ala Gly Asn His Leu Val Cys Asp Phe Pro Lys Leu Ile His Ala Asn	
	525 530 535	
70	agt acg aat tat cag aaa tat ttg gtg aat gat ttt ggc cca agc cag	1804
	Ser Thr Asn Tyr Gln Lys Tyr Leu Val Asn Asp Phe Gly Pro Ser Gln	
	540 545 550	
75	cct cag tac ata gat ctt gtt aaa gga gtg gag ggt gtg act gga ata	1852
	Pro Gln Tyr Ile Asp Leu Val Lys Gly Val Glu Gly Val Thr Gly Ile	
	555 560 565	
80	gtt atg gta atc ctc atg gcc att gct ttc act ctt gca acg cga tgg	1900
	Val Met Val Ile Leu Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp	
	570 575 580 585	

ES 2 341 238 T3

	ttt agg cgg agc ctc att aag tta ccc aaa cct ttt gat aga ctc act	1948
	Phe Arg Arg Ser Leu Ile Lys Leu Pro Lys Pro Phe Asp Arg Leu Thr	
	590 595 600	
5	ggg ttc aat gcg ttc tgg tac tcg cac cac ctt ctc atc att gtc tac	1996
	Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His His Leu Leu Ile Ile Val Tyr	
	605 610 615	
10	atc gta ctg atc atc cat ggc aca ttc ctc tac ctt gtg cat aac tgg	2044
	Ile Val Leu Ile Ile His Gly Thr Phe Leu Tyr Leu Val His Asn Trp	
	620 625 630	
15	tac tcc aaa acg aca tgg atg tat ata gca gtt cct gta ctt ctt tac	2092
	Tyr Ser Lys Thr Thr Trp Met Tyr Ile Ala Val Pro Val Leu Leu Tyr	
	635 640 645	
20	gca ggg gaa aga act ctt aga ttc ttc cga tca ggc tta tac agt gtc	2140
	Ala Gly Glu Arg Thr Leu Arg Phe Phe Arg Ser Gly Leu Tyr Ser Val	
	650 655 660 665	
25	cgg ctt cta aaa gta gca ata tat cct gga aat gtc ctt act ctg caa	2188
	Arg Leu Leu Lys Val Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln	
	670 675 680	
30	atg tct aag cct ccg caa ttt cga tac aag agt gga cag tat atg ttt	2236
	Met Ser Lys Pro Pro Gln Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe	
	685 690 695	
35	gtc cag tgt cca gct gtt tct cca ttc gag tgg cat cca ttt tcc att	2284
	Val Gln Cys Pro Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile	
	700 705 710	
40	act tca gct cct ggg gat gac tac ttg agc att cat atc cga caa ctt	2332
	Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Ile His Ile Arg Gln Leu	
	715 720 725	
45	ggg gac tgg act caa gaa ctc aag cga gtg ttt tcc gag gct tgc gag	2380
	Gly Asp Trp Thr Gln Glu Leu Lys Arg Val Phe Ser Glu Ala Cys Glu	
	730 735 740 745	
50	cag cca gag gct gga aag agt ggc ctg ctc aga gct gac gaa aac acc	2428
	Gln Pro Glu Ala Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Glu Asn Thr	
	750 755 760	
55	aaa aca agt ttg cca aag cta tta ata gat gga cct tat gga gct cca	2476
	Lys Thr Ser Leu Pro Lys Leu Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro	
	765 770 775	
60	gca caa gat tac cgg aag tat gat gtc tta ctg ctt gtt ggt ctt ggc	2524
	Ala Gln Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly	
	780 785 790	
65	att gga gca act ccc ttt ata agt atc ctg aaa gac ttg ctc aaa aac	2572
	Ile Gly Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Lys Asn	
	795 800 805	
70	atc gtc gca atg gag gag caa gca gat tta gtc tcg gat ttc agt gga	2620
	Ile Val Ala Met Glu Glu Gln Ala Asp Leu Val Ser Asp Phe Ser Gly	
	810 815 820 825	
75	aac tcg gac atg agt gct gca aca agt gaa caa cca gct ctc aac aag	2668
	Asn Ser Asp Met Ser Ala Ala Thr Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys	
	830 835 840	
80	att tct cca aaa aag aga aag agt act cta aaa acc aca aat gca tat	2716
	Ile Ser Pro Lys Lys Arg Lys Ser Thr Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr	
	845 850 855	

ES 2 341 238 T3

	ttt tat tgg gtg acc cgg gag caa gga tca ttt gat tgg ttc aaa ggt	2764
	Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly	
	860 865 870	
5	gtt atg aat gaa gtg gct gaa ctt gat caa agg ggt gtc atc gag atg	2812
	Val Met Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met	
	875 880 885	
10	cat aac tac ttg acg agt gtt tat gag gaa ggg gat gca cgt tca gct	2860
	His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala	
	890 895 900 905	
15	ctc att acc atg gtc cag gca ctt aac cat gct aag aat ggg gtt gat	2908
	Leu Ile Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp	
	910 915 920	
20	att gta tca ggc acc agt gtg agg aca cat ttc gcc agg ccg aat tgg	2956
	Ile Val Ser Gly Thr Ser Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp	
	925 930 935	
25	agg aaa gta ttt tcc aag acc tta acc aag cat gca aat gca aga ata	3004
	Arg Lys Val Phe Ser Lys Thr Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile	
	940 945 950	
30	gga gtt ttc tac tgt ggt gca ccc ata tta gct aaa gaa ctc agc caa	3052
	Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Gln	
	955 960 965	
35	ctc tgc aaa gag ttt aac caa aag ggc aca aca aag ttc gag ttt cac	3100
	Leu Cys Lys Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His	
	970 975 980 985	
40	aaa gaa cat ttt tagaagggcc tggagtatga ttaatcttgc atcaacggta	3152
	Lys Glu His Phe	
45	cacacatcta tcttcggtac cttatttgat tattctactg aagagataac attagtaagg	3212
	aataagtcag agataaattg tacataatag ggaagaagac tattttcaaga gaaaatacat	3272
	accaataaga tgtgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaactcgt gccg	3316
	<210> 10	
	<211> 989	
	<212> PRT	
	<213> <i>Lycopersicon esculentum</i>	
	<400> 10	
50	Met Arg Gly Leu Pro Gly His Glu Arg Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val	
	1 5 10 15	
55	Ser Ser Gly Lys Asp Leu Ser Gly Glu Ser Ser Pro Gly Thr Asp Ser	
	20 25 30	
60	Gly Asn Ile Ser Gly Phe Ala Ser Glu Glu Phe Val Glu Val Ile Leu	
	35 40 45	
65	Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Ile Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala	
	50 55 60	
70	Thr Val Ile Asn Ile Asp Gly Ser Asp Pro Ala Ser Gly Val Gly Ile	
	65 70 75 80	
75	Gly Gly Ala Ser Ile Glu Thr Pro Ala Ser Val Thr Ser Thr Ser Glu	
	85 90 95	
80	Thr Arg Ser Pro Met Met Arg Arg Ser Thr Ser Asn Lys Phe Arg Gln	
	100 105 110	
85	Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Lys His Phe	
	115 120 125	

ES 2 341 238 T3

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

ES 2 341 238 T3

	Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	Asn	His	Leu	Val	Cys
			515					520					525			
5	Asp	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	His	Ala	Asn	Ser	Thr	Asn	Tyr	Gln	Lys	Tyr
		530					535					540				
	Leu	Val	Asn	Asp	Phe	Gly	Pro	Ser	Gln	Pro	Gln	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val
	545					550					555					560
10	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Val	Met	Val	Ile	Leu	Met	Ala
					565					570					575	
	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys
				580					585					590		
15	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr
			595					600					605			
	Ser	His	His	Leu	Leu	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile	Val	Leu	Ile	Ile	His	Gly
20		610					615					620				
	Thr	Phe	Leu	Tyr	Leu	Val	His	Asn	Trp	Tyr	Ser	Lys	Thr	Thr	Trp	Met
	625					630					635					640
	Tyr	Ile	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg
25					645					650					655	
	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Val	Arg	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Ile
				660					665					670		
30	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	Lys	Pro	Pro	Gln	Phe
			675					680					685			
	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Gln	Cys	Pro	Ala	Val	Ser
		690					695					700				
35	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp
	705					710					715					720
	Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Ile	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu
					725					730					735	
40	Lys	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	Ala	Cys	Glu	Gln	Pro	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser
				740					745					750		
	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu
45			755					760					765			
	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr
		770					775					780				
50	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile
	785					790					795					800
	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Ile	Val	Ala	Met	Glu	Glu	Gln
				805						810				815		
55	Ala	Asp	Leu	Val	Ser	Asp	Phe	Ser	Gly	Asn	Ser	Asp	Met	Ser	Ala	Ala
				820					825					830		
	Thr	Ser	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Lys	Ile	Ser	Pro	Lys	Lys	Arg	Lys
			835					840					845			
60	Ser	Thr	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu
		850					855					860				
	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Glu	Val	Ala	Glu
	865					870					875					880
65	Leu	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	Thr	Ser	Val
					885					890					895	

ES 2 341 238 T3

Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Val Gln Ala
 900 905 910
 5 Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Ser Val
 915 920 925
 Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Phe Ser Lys Thr
 930 935 940
 10 Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala
 945 950 955 960
 Pro Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Gln Leu Cys Lys Glu Phe Asn Gln
 965 970 975
 15 Lys Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu His Phe
 980 985

<210> 11
 20 <211> 3080
 <212> DNA
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <220>
 <221> CDS
 <222> (15)..(2846)
 <223> coding for Oxidasa NADPH
 30
 <400> 11

ccgacttttg atct atg aaa ccg ttc tca aag aac gat cgg cga cgg tgg 50
 35 Met Lys Pro Phe Ser Lys Asn Asp Arg Arg Arg Trp
 1 5 10
 tca ttt gat tca gtt tcc gcc gga aaa acc gcc gtc gga agt gca tca 98
 Ser Phe Asp Ser Val Ser Ala Gly Lys Thr Ala Val Gly Ser Ala Ser
 15 20 25
 40 act tca ccg gga act gaa tac tcc att aac ggt gat caa gag ttc gtt 146
 Thr Ser Pro Gly Thr Glu Tyr Ser Ile Asn Gly Asp Gln Glu Phe Val
 30 35 40
 gaa gtc aca atc gat ctt caa gac gat gac aca atc gtt ctt cgt agc 194
 45 Glu Val Thr Ile Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Val Leu Arg Ser
 45 50 55 60
 gtc gag cca gca acc gcc att aat gtc atc gga gat atc tcc gac gac 242
 Val Glu Pro Ala Thr Ala Ile Asn Val Ile Gly Asp Ile Ser Asp Asp
 65 70 75
 50 aac acc gga ata atg act ccg gtt tcc att tcc aga tct ccg acg atg 290
 Asn Thr Gly Ile Met Thr Pro Val Ser Ile Ser Arg Ser Pro Thr Met
 80 85 90
 aaa cga act tca tct aat ccg ttc cga caa ttc tca caa gag ctt aaa 338
 55 Lys Arg Thr Ser Ser Asn Arg Phe Arg Gln Phe Ser Gln Glu Leu Lys
 95 100 105
 gcc gaa gct gtg gcg aaa gcg aaa cag tta tct cag gag ttg aaa cga 386
 Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Lys Gln Leu Ser Gln Glu Leu Lys Arg
 110 115 120
 60 ttc tca tgg tct cgt tct ttc tca ggt aac tta acc act act agt acc 434
 Phe Ser Trp Ser Arg Ser Phe Ser Gly Asn Leu Thr Thr Thr Ser Thr
 125 130 135 140
 gcc gct aat caa agc ggc ggt gct ggt ggt ggt ttg gtg aac tcc gct 482
 65 Ala Ala Asn Gln Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Leu Val Asn Ser Ala
 145 150 155

ES 2 341 238 T3

	tta gaa gcg cga gcg ttg cga aag caa cgt gct cag tta gat cgg act	530
	Leu Glu Ala Arg Ala Leu Arg Lys Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr	
	160 165 170	
5	cgg tct agt gct caa aga gct ctt cgt ggt ttg aga ttc att agc aat	578
	Arg Ser Ser Ala Gln Arg Ala Leu Arg Gly Leu Arg Phe Ile Ser Asn	
	175 180 185	
10	aag caa aag aac gtt gat ggt tgg aac gat gtt caa tca aat ttc gaa	626
	Lys Gln Lys Asn Val Asp Gly Trp Asn Asp Val Gln Ser Asn Phe Glu	
	190 195 200	
15	aaa ttc gaa aaa aat ggt tac atc tat cgc tcc gat ttc gct caa tgc	674
	Lys Phe Glu Lys Asn Gly Tyr Ile Tyr Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys	
	205 210 215 220	
	ata gga atg aaa gat tcg aaa gaa ttt gca ttg gaa ctg ttc gat gca	722
	Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala	
	225 230 235	
20	ttg agt aga aga aga tta aaa gta gag aaa atc aat cac gat gag	770
	Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val Glu Lys Ile Asn His Asp Glu	
	240 245 250	
25	ctt tat gag tat tgg tca caa atc aac gac gag agt ttt gat tct cgt	818
	Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln Ile Asn Asp Glu Ser Phe Asp Ser Arg	
	255 260 265	
30	ctc cag atc ttc ttc gac ata gtg gac aag aat gaa gat ggg aga att	866
	Leu Gln Ile Phe Phe Asp Ile Val Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Ile	
	270 275 280	
	aca gaa gag gaa gta aaa gag ata ata atg ttg agt gca tct gca aat	914
	Thr Glu Glu Glu Val Lys Glu Ile Ile Met Leu Ser Ala Ser Ala Asn	
	285 290 295 300	
35	aag cta tca aga tta aag gaa caa gca gag gaa tat gca gct ttg att	962
	Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala Glu Glu Tyr Ala Ala Leu Ile	
	305 310 315	
40	atg gaa gag tta gat cct gaa aga ctt ggc tac ata gag cta tgg caa	1010
	Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Leu Trp Gln	
	320 325 330	
45	cta gag act ttg ctt cta caa aaa gac aca tac ctc aat tac agt caa	1058
	Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Lys Asp Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln	
	335 340 345	
	gca ttg agc tat acg agc caa gca ttg agc caa aac ctt caa ggg tta	1106
	Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu Ser Gln Asn Leu Gln Gly Leu	
	350 355 360	
50	agg gga aag agt cga ata cat aga atg agt tcg gat ttc gtc tac att	1154
	Arg Gly Lys Ser Arg Ile His Arg Met Ser Ser Asp Phe Val Tyr Ile	
	365 370 375 380	
55	atg caa gag aat tgg aaa agg ata tgg gtt tta tcc tta tgg atc atg	1202
	Met Gln Glu Asn Trp Lys Arg Ile Trp Val Leu Ser Leu Trp Ile Met	
	385 390 395	
60	atc atg atc gga tta ttc ttg tgg aaa ttc ttc caa tac aag caa aaa	1250
	Ile Met Ile Gly Leu Phe Leu Trp Lys Phe Phe Gln Tyr Lys Gln Lys	
	400 405 410	
	gat gca ttt cat gtg atg gga tat tgt tta ctc aca gcc aaa gga gca	1298
	Asp Ala Phe His Val Met Gly Tyr Cys Leu Leu Thr Ala Lys Gly Ala	
	415 420 425	

ES 2 341 238 T3

		gct Ala	gaa Glu	aca Thr	ctt Leu	aaa Lys	ttc Phe	aac Asn	atg Met	gct Ala	cta Leu	ata Ile	ctt Leu	ttc Phe	cca Pro	ggt Val	tgc Cys	1346
		430						435					440					
5		aga Arg	aac Asn	acc Thr	att Ile	act Thr	tgg Trp	ctt Leu	aga Arg	tcc Ser	aca Thr	aga Arg	ctc Leu	tct Ser	tac Tyr	ttc Phe	gtt Val	1394
		445					450					455					460	
10		cct Pro	ttt Phe	gat Asp	gat Asp	aat Asn	atc Ile	aac Asn	ttc Phe	cac His	aag Lys	aca Thr	att Ile	gct Ala	gga Gly	gcc Ala	att Ile	1442
						465					470					475		
		gta Val	gta Val	gct Ala	gtg Val	atc Ile	ctt Leu	cat His	att Ile	gga Gly	gac Asp	cat His	ctt Leu	gct Ala	tgt Cys	gat Asp	ttc Phe	1490
15					480					485					490			
		cct Pro	aga Arg	att Ile	gtt Val	aga Arg	gcc Ala	acc Thr	gaa Glu	tac Tyr	gat Asp	tac Tyr	aat Asn	cgg Arg	tat Tyr	ctg Leu	ttt Phe	1538
					495				500					505				
20		cat His	tac Tyr	ttt Phe	caa Gln	aca Thr	aaa Lys	cag Gln	cca Pro	aca Thr	tac Tyr	ttc Phe	gac Asp	ctc Leu	gtt Val	aag Lys	gga Gly	1586
								515					520					
25		cct Pro	gaa Glu	gga Gly	atc Ile	act Thr	ggg Gly	att Ile	tta Leu	atg Met	gtc Val	att Ile	ttg Leu	atg Met	att Ile	att Ile	tca Ser	1634
							530					535					540	
		ttc Phe	aca Thr	tta Leu	gca Ala	aca Thr	aga Arg	tgg Trp	ttt Phe	agg Arg	cgt Arg	aac Asn	cta Leu	gtc Val	aag Lys	ctt Leu	cct Pro	1682
30						545					550					555		
		aag Lys	cca Pro	ttt Phe	gat Asp	cga Arg	cta Leu	acc Thr	ggg Gly	ttt Phe	aac Asn	gcc Ala	ttt Phe	tgg Trp	tat Tyr	tcg Ser	cat His	1730
					560					565					570			
35		cat His	ttg Leu	ttc Phe	gtc Val	att Ile	gtt Val	tat Tyr	atc Ile	ttg Leu	ctt Leu	att Ile	ctt Leu	cat His	ggg Gly	atc Ile	ttc Phe	1778
					575				580					585				
40		ctc Leu	tat Tyr	ttc Phe	gcc Ala	aag Lys	cct Pro	tgg Trp	tat Tyr	gtt Val	cgt Arg	acg Thr	aca Thr	tgg Trp	atg Met	tat Tyr	ctt Leu	1826
			590					595					600					
		gca Ala	gta Val	cca Pro	gtt Val	tta Leu	ctc Leu	tat Tyr	ggg Gly	gga Gly	gaa Glu	aga Arg	aca Thr	ctt Leu	agg Arg	tac Tyr	ttc Phe	1874
45						605		610				615					620	
		cgt Arg	tct Ser	ggg Gly	tct Ser	tat Tyr	tcg Ser	gtt Val	cga Arg	ctg Leu	ctt Leu	aag Lys	gtt Val	gct Ala	ata Ile	tat Tyr	cct Pro	1922
						625					630					635		
50		ggg Gly	aat Asn	gtt Val	cta Leu	acg Thr	cta Leu	caa Gln	atg Met	tcg Ser	aaa Lys	cca Pro	act Thr	caa Gln	ttt Phe	cgt Arg	tac Tyr	1970
					640					645					650			
		aaa Lys	agc Ser	gga Gly	caa Gln	tac Tyr	atg Met	ttt Phe	gtc Val	caa Gln	tgt Cys	cct Pro	gcg Ala	gtt Val	tcg Ser	cca Pro	ttc Phe	2018
55				655					660					665				
		gag Glu	tgg Trp	cat His	cca Pro	ttc Phe	tca Ser	att Ile	act Thr	tcc Ser	gca Ala	cct Pro	gaa Glu	gat Asp	gat Asp	tat Tyr	atc Ile	2066
			670					675					680					
60		agc Ser	att Ile	cac His	att Ile	aga Arg	caa Gln	ctt Leu	ggg Gly	gat Asp	tgg Trp	act Thr	caa Gln	gaa Glu	ctc Leu	aaa Lys	aga Arg	2114
							690					695					700	

ES 2 341 238 T3

	gta ttc tct gaa gtt tgt gag cca ccg gtt ggc ggt aaa agc gga ctt	2162
	Val Phe Ser Glu Val Cys Glu Pro Pro Val Gly Gly Lys Ser Gly Leu	
	705 710 715	
5	ctc aga gcc gac gaa aca aca aag aaa agt ttg cca aag cta ttg ata	2210
	Leu Arg Ala Asp Glu Thr Thr Lys Lys Ser Leu Pro Lys Leu Leu Ile	
	720 725 730	
10	gat gga ccg tac ggt gca cca gca caa gat tat agg aaa tat gat gtt	2258
	Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val	
	735 740 745	
	ctc tta tta gtt ggt ctt ggc att ggt gca act cca ttt atc agt atc	2306
	Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile	
	750 755 760	
15	ttg aaa gat ttg ctt aac aac att gtt aaa atg gaa gag cat gcg gat	2354
	Leu Lys Asp Leu Leu Asn Asn Ile Val Lys Met Glu Glu His Ala Asp	
	765 770 775 780	
20	tcg atc tcg gat ttc agt aga tca tca gaa tac agc aca gga agc aac	2402
	Ser Ile Ser Asp Phe Ser Arg Ser Ser Glu Tyr Ser Thr Gly Ser Asn	
	785 790 795	
25	ggt gac acg cca aga cga aag aga ata cta aaa acc aca aat gct tat	2450
	Gly Asp Thr Pro Arg Arg Lys Arg Ile Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr	
	800 805 810	
	ttc tac tgg gtc aca aga gaa caa ggc tct ttt gat tgg ttc aaa ggt	2498
	Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly	
	815 820 825	
30	gtc atg aac gaa gtt gca gaa ctt gac caa cgg ggt gtg ata gag atg	2546
	Val Met Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met	
	830 835 840	
35	cat aac tat tta aca agt gtg tat gaa gaa ggt gat gct cgt tct gct	2594
	His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala	
	845 850 855 860	
	ctc att aca atg gtt caa gct ctt aat cat gcc aaa aat ggt gtc gac	2642
	Leu Ile Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp	
	865 870 875	
40	att gtc tct ggc act agg gtc aga aca cac ttt gca aga cct aat tgg	2690
	Ile Val Ser Gly Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp	
	880 885 890	
45	aag aag gtt ctc aca aag cta agt tcc aag cat tgc aat gca aga aca	2738
	Lys Lys Val Leu Thr Lys Leu Ser Ser Lys His Cys Asn Ala Arg Thr	
	895 900 905	
50	gga gtg ttt tat tgc gga gta ccg gtt tta ggg aag gag ctt agc aaa	2786
	Gly Val Phe Tyr Cys Gly Val Pro Val Leu Gly Lys Glu Leu Ser Lys	
	910 915 920	
	cta tgc aac aca ttc aat caa aaa ggt tca acc aag ttt gaa ttt cac	2834
	Leu Cys Asn Thr Phe Asn Gln Lys Gly Ser Thr Lys Phe Glu Phe His	
	925 930 935 940	
55	aag gag cat ttc taaaagacaa gaaggaagaa gccaaaagcc ctctagattc	2886
	Lys Glu His Phe	
	tttaatatct caaatattagc cacttatagt ataaaggcaa tctcttccact atttaattca	2946
	aagtgattaa acgttaacac actgtcaaaa gtgagtgtgt taacgttttag ctccacacgt	3006
60	tctagggttt tatacaccca ggcatacgtg taaatatatag agacagaaga aattcaaggg	3066
	ggtttgatag aagc	3080

<210> 12

<211> 944

<212> PRT

ES 2 341 238 T3

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 12

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

ES 2 341 238 T3

	Leu	Leu	Gln	Lys	Asp	Thr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Tyr	
				340					345					350			
5	Thr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Gln	Gly	Leu	Arg	Gly	Lys	Ser	
			355					360					365				
	Arg	Ile	His	Arg	Met	Ser	Ser	Asp	Phe	Val	Tyr	Ile	Met	Gln	Glu	Asn	
		370					375					380					
10	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp	Val	Leu	Ser	Leu	Trp	Ile	Met	Ile	Met	Ile	Gly	
	385					390					395					400	
	Leu	Phe	Leu	Trp	Lys	Phe	Phe	Gln	Tyr	Lys	Gln	Lys	Asp	Ala	Phe	His	
				405						410					415		
15	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	
				420					425					430			
	Lys	Phe	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Phe	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	
20			435					440					445				
	Thr	Trp	Leu	Arg	Ser	Thr	Arg	Leu	Ser	Tyr	Phe	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	
		450					455					460					
25	Asn	Ile	Asn	Phe	His	Lys	Thr	Ile	Ala	Gly	Ala	Ile	Val	Val	Ala	Val	
		465				470					475					480	
	Ile	Leu	His	Ile	Gly	Asp	His	Leu	Ala	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Ile	Val	
				485						490					495		
30	Arg	Ala	Thr	Glu	Tyr	Asp	Tyr	Asn	Arg	Tyr	Leu	Phe	His	Tyr	Phe	Gln	
				500				505						510			
	Thr	Lys	Gln	Pro	Thr	Tyr	Phe	Asp	Leu	Val	Lys	Gly	Pro	Glu	Gly	Ile	
			515					520					525				
35	Thr	Gly	Ile	Leu	Met	Val	Ile	Leu	Met	Ile	Ile	Ser	Phe	Thr	Leu	Ala	
		530					535					540					
	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Leu	Val	Lys	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	
40		545				550					555					560	
	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Phe	Val	
				565					570						575		
45	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Gly	Ile	Phe	Leu	Tyr	Phe	Ala	
				580				585						590			
	Lys	Pro	Trp	Tyr	Val	Arg	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Val	
			595					600					605				
50	Leu	Leu	Tyr	Gly	Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Tyr	Phe	Arg	Ser	Gly	Ser	
		610					615					620					
	Tyr	Ser	Val	Arg	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	
		625				630					635					640	
55	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	Lys	Pro	Thr	Gln	Phe	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	
				645						650					655		
	Tyr	Met	Phe	Val	Gln	Cys	Pro	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	
			660						665					670			
60	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Glu	Asp	Asp	Tyr	Ile	Ser	Ile	His	Ile	
			675					680					685				
	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	
		690					695					700					
65	Val	Cys	Glu	Pro	Pro	Val	Gly	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	
					710						715					720	

ES 2 341 238 T3

	Glu	Thr	Thr	Lys	Lys	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr
					725					730					735	
5	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val
				740					745					750		
	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu
			755					760					765			
10	Leu	Asn	Asn	Ile	Val	Lys	Met	Glu	Glu	His	Ala	Asp	Ser	Ile	Ser	Asp
		770					775					780				
	Phe	Ser	Arg	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Thr	Gly	Ser	Asn	Gly	Asp	Thr	Pro
	785					790					795					800
15	Arg	Arg	Lys	Arg	Ile	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val
					805					810					815	
	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Glu
				820					825					830		
20	Val	Ala	Glu	Leu	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu
			835					840					845			
	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met
25			850				855					860				
	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly
	865					870					875					880
	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Lys	Lys	Val	Leu
30					885					890					895	
	Thr	Lys	Leu	Ser	Ser	Lys	His	Cys	Asn	Ala	Arg	Thr	Gly	Val	Phe	Tyr
				900					905					910		
	Cys	Gly	Val	Pro	Val	Leu	Gly	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Cys	Asn	Thr
35			915					920					925			
	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Ser	Thr	Lys	Phe	Glu	Phe	His	Lys	Glu	His	Phe
							935					940				

40 <210> 13
 <211> 3035
 <212> DNA
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <220>
 <221> CDS
 <222> (132)..(2894)
 50 <223> coding for Oxidasa NADPH
 <400> 13

55	tcaa	acac	ctt	tttg	agag	cgc	gttat	ttttt	ctct	atca	aac	taata	cagta	acct	tac	ggg	60
	tg	ttt	att	tat	agat	ctc	tgt	ggt	tttt	c	ttgg	cca	act	ctag	tga	gat	120
	tct	cga	att	c	atg	aaa	atg	aga	cga	ggc	aat	tca	agt	aac	gac	cat	170
				Met	Lys	Met	Arg	Arg	Gly	Asn	Ser	Ser	Asn	Asp	His	Glu	
				1					5					10			
60	ctt	ggg	att	cta	cga	gga	gct	aac	tcg	gac	acc	aac	tcg	gac	acg	gag	218
	Leu	Gly	Ile	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Ser	Asp	Thr	Asn	Ser	Asp	Thr	Glu	
			15					20					25				
	agc	atc	gct	agc	gac	cgt	ggt	gcc	ttt	agc	ggt	ccg	ctt	ggc	cgg	cct	266
65	Ser	Ile	Ala	Ser	Asp	Arg	Gly	Ala	Phe	Ser	Gly	Pro	Leu	Gly	Arg	Pro	
			30			35					40				45		

ES 2 341 238 T3

	aaa	cgt	gcg	tcc	aag	aaa	aac	gca	aga	ttc	gcc	gac	gat	ctt	ccc	aag	314
	Lys	Arg	Ala	Ser	Lys	Lys	Asn	Ala	Arg	Phe	Ala	Asp	Asp	Leu	Pro	Lys	
				50					55						60		
5	aga	agc	aat	agt	gtt	gct	ggc	ggc	cgt	ggg	gat	gac	gat	gag	tac	gtg	362
	Arg	Ser	Asn	Ser	Val	Ala	Gly	Gly	Arg	Gly	Asp	Asp	Asp	Glu	Tyr	Val	
				65					70					75			
10	gag	atc	acg	cta	gac	atc	agg	gac	gac	tcg	gtg	gcc	gtc	cat	agt	gtc	410
	Glu	Ile	Thr	Leu	Asp	Ile	Arg	Asp	Asp	Ser	Val	Ala	Val	His	Ser	Val	
				80					85					90			
15	caa	caa	gca	gct	gga	ggg	gga	ggc	cac	ctg	gag	gac	ccg	gag	cta	gcc	458
	Gln	Gln	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	His	Leu	Glu	Asp	Pro	Glu	Leu	Ala	
			95				100					105					
	ctt	ctt	acg	aag	aag	act	ctc	gag	agc	agc	ctc	aac	aac	acc	acc	tcc	506
	Leu	Leu	Thr	Lys	Lys	Thr	Leu	Glu	Ser	Ser	Leu	Asn	Asn	Thr	Thr	Ser	
	110					115					120					125	
20	tta	tct	ttc	ttc	cga	agc	acc	tcc	tca	cgc	atc	aag	aac	gcc	tcc	cgc	554
	Leu	Ser	Phe	Phe	Arg	Ser	Thr	Ser	Ser	Arg	Ile	Lys	Asn	Ala	Ser	Arg	
					130					135					140		
25	gag	ctc	cgc	cgc	gtg	ttc	tct	aga	cgt	ccc	tcc	ccg	gcc	gtg	cgg	cgg	602
	Glu	Leu	Arg	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	Arg	Pro	Ser	Pro	Ala	Val	Arg	Arg	
				145					150					155			
30	ttt	gac	cgc	acg	agc	tcc	gcg	gcc	atc	cac	gca	ctc	aaa	ggg	ctc	aag	650
	Phe	Asp	Arg	Thr	Ser	Ser	Ala	Ala	Ile	His	Ala	Leu	Lys	Gly	Leu	Lys	
			160					165					170				
	ttc	att	gcc	acc	aag	acg	gcc	gca	tgg	ccg	gcc	gtc	gac	caa	cgt	ttc	698
	Phe	Ile	Ala	Thr	Lys	Thr	Ala	Ala	Trp	Pro	Ala	Val	Asp	Gln	Arg	Phe	
			175				180					185					
35	gat	aaa	ctc	tcc	gct	gat	tcc	aac	ggc	ctc	tta	ctc	tct	gcc	aag	ttt	746
	Asp	Lys	Leu	Ser	Ala	Asp	Ser	Asn	Gly	Leu	Leu	Leu	Ser	Ala	Lys	Phe	
					195						200				205		
40	tgg	gaa	tgc	tta	gga	atg	aat	aag	gaa	tct	aaa	gac	ttc	gct	gac	cag	794
	Trp	Glu	Cys	Leu	Gly	Met	Asn	Lys	Glu	Ser	Lys	Asp	Phe	Ala	Asp	Gln	
				210						215					220		
45	ctc	ttt	aga	gca	tta	gct	cgc	cgg	aat	aac	gtc	tcc	ggc	gat	gca	atc	842
	Leu	Phe	Arg	Ala	Leu	Ala	Arg	Arg	Asn	Asn	Val	Ser	Gly	Asp	Ala	Ile	
				225					230					235			
	aca	aag	gaa	cag	ctt	agg	ata	ttc	tgg	gaa	cag	atc	tca	gac	gaa	agc	890
	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Ile	Phe	Trp	Glu	Gln	Ile	Ser	Asp	Glu	Ser	
				240				245					250				
50	ttt	gat	gcc	aaa	ctc	caa	gtc	ttt	ttt	gac	atg	gtg	gac	aaa	gat	gaa	938
	Phe	Asp	Ala	Lys	Leu	Gln	Val	Phe	Phe	Asp	Met	Val	Asp	Lys	Asp	Glu	
			255				260					265					
55	gat	ggg	cga	gta	aca	gaa	gaa	gag	gtg	gct	gag	att	att	agt	ctt	agt	986
	Asp	Gly	Arg	Val	Thr	Glu	Glu	Glu	Val	Ala	Glu	Ile	Ile	Ser	Leu	Ser	
					275						280				285		
60	gct	tct	gca	aac	aag	ctc	tca	aat	att	caa	aag	caa	gcc	aaa	gaa	tat	1034
	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ser	Asn	Ile	Gln	Lys	Gln	Ala	Lys	Glu	Tyr	
				290						295					300		
	gcg	gca	ctg	ata	atg	gaa	gag	ttg	gac	cca	gac	aat	gct	ggg	ttt	att	1082
	Ala	Ala	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Asp	Asn	Ala	Gly	Phe	Ile	
				305					310					315			

65

ES 2 341 238 T3

	atg atc gaa aac ttg gaa atg ttg cta tta caa gca ccg aac cag tcg	1130
	Met Ile Glu Asn Leu Glu Met Leu Leu Leu Gln Ala Pro Asn Gln Ser	
	320 325 330	
5	gtg cgg atg gga gac agc agg ata ctt agt cag atg tta agt cag aag	1178
	Val Arg Met Gly Asp Ser Arg Ile Leu Ser Gln Met Leu Ser Gln Lys	
	335 340 345	
10	ctt aga ccg gca aaa gag agc aac cct tta ttg aga tgg tcg gag aaa	1226
	Leu Arg Pro Ala Lys Glu Ser Asn Pro Leu Leu Arg Trp Ser Glu Lys	
	350 355 360 365	
	atc aaa tat ttc ata ctt gat aat tgg cag aga tta tgg atc atg atg	1274
	Ile Lys Tyr Phe Ile Leu Asp Asn Trp Gln Arg Leu Trp Ile Met Met	
	370 375 380	
15	tta tgg ctt ggc atc tgt ggt ggc ctc ttt act tat aaa ttc att cag	1322
	Leu Trp Leu Gly Ile Cys Gly Gly Leu Phe Thr Tyr Lys Phe Ile Gln	
	385 390 395	
20	tac aag aac aaa gct gcc tat ggt gtg atg ggt tat tgt gtt tgt gtc	1370
	Tyr Lys Asn Lys Ala Ala Tyr Gly Val Met Gly Tyr Cys Val Cys Val	
	400 405 410	
25	gcc aaa gga ggc gcc gag act ctc aaa ttc aac atg gct ctc ata ttg	1418
	Ala Lys Gly Gly Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn Met Ala Leu Ile Leu	
	415 420 425	
	ttg cct gtt tgt cga aac acc atc act tgg ctt agg aac aag acc aag	1466
	Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Asn Lys Thr Lys	
	430 435 440 445	
30	ctt ggt act gtc gtt cct ttt gat gat agt ctt aac ttc cac aag gtt	1514
	Leu Gly Thr Val Pro Phe Asp Asp Ser Leu Asn Phe His Lys Val	
	450 455 460	
35	att gca agc ggg ata gtc gtc ggt gtt ttg ctc cat gcg ggt gcc cat	1562
	Ile Ala Ser Gly Ile Val Val Gly Val Leu Leu His Ala Gly Ala His	
	465 470 475	
40	tta acg tgt gat ttt cca cgt tta att gcc gcg gat gag gac acc tat	1610
	Leu Thr Cys Asp Phe Pro Arg Leu Ile Ala Ala Asp Glu Asp Thr Tyr	
	480 485 490	
	gag ccg atg gaa aaa tac ttt ggg gat caa ccg act agc tac tgg tgg	1658
	Glu Pro Met Glu Lys Tyr Phe Gly Asp Gln Pro Thr Ser Tyr Trp Trp	
	495 500 505	
45	ttt gtg aaa gga gtg gaa gga tgg act ggc att gtg atg gtt gtg cta	1706
	Phe Val Lys Gly Val Glu Gly Trp Thr Gly Ile Val Met Val Val Leu	
	510 515 520 525	
50	atg gct ata gcc ttt aca ctc gct acg cct tgg ttc cga cgt aac aag	1754
	Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Pro Trp Phe Arg Arg Asn Lys	
	530 535 540	
55	ctt aac tta cct aac ttc ctc aag aag ctt acc ggt ttc aac gcc ttt	1802
	Leu Asn Leu Pro Asn Phe Leu Lys Lys Leu Thr Gly Phe Asn Ala Phe	
	545 550 555	
	tgg tac acc cac cat ttg ttc atc att gtt tat gct ctt ctc att gtc	1850
	Trp Tyr Thr His His Leu Phe Ile Ile Val Tyr Ala Leu Leu Ile Val	
	560 565 570	
60	cat ggt atc aag ctc tac ctc aca aag att tgg tat cag aag acg aca	1898
	His Gly Ile Lys Leu Tyr Leu Thr Lys Ile Trp Tyr Gln Lys Thr Thr	
	575 580 585	

65

ES 2 341 238 T3

	tgg	atg	tat	ctt	gct	gta	ccc	atc	ctt	cta	tat	gca	tct	gag	agg	ctg	1946
	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Ile	Leu	Leu	Tyr	Ala	Ser	Glu	Arg	Leu	
	590					595					600					605	
5	ctc	cgt	gct	ttc	aga	tca	agc	atc	aaa	ccg	gtt	aag	atg	atc	aag	gtg	1994
	Leu	Arg	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	Pro	Val	Lys	Met	Ile	Lys	Val	
				610						615						620	
10	gct	gtt	tac	ccc	ggg	aac	gtg	ttg	tct	cta	cac	atg	acg	aag	cca	caa	2042
	Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ser	Leu	His	Met	Thr	Lys	Pro	Gln	
				625						630						635	
15	gga	ttc	aaa	tac	aaa	agt	gga	cag	ttc	atg	ttg	gtg	aac	tgc	cga	gcc	2090
	Gly	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Phe	Met	Leu	Val	Asn	Cys	Arg	Ala	
			640					645						650			
	gta	tct	cca	ttc	gaa	tgg	cat	cct	ttc	tca	atc	aca	tca	gct	ccc	gga	2138
	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	
			655				660						665				
20	gac	gat	tac	ctg	agc	gta	cat	atc	cgc	act	ctc	ggt	gac	tgg	aca	cgt	2186
	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg	
						675						680				685	
25	aag	ctc	agg	acc	gtt	ttc	tcc	gag	gtt	tgc	aaa	cct	cct	acc	gcc	ggt	2234
	Lys	Leu	Arg	Thr	Val	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Pro	Thr	Ala	Gly	
					690					695						700	
30	aaa	agc	ggt	ctt	ctc	cga	gca	gac	gga	gga	gat	gga	aac	ctc	ccg	ttc	2282
	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Gly	Gly	Asp	Gly	Asn	Leu	Pro	Phe	
				705						710						715	
	ccg	aag	gtc	ctt	atc	gac	ggt	cca	tac	ggt	gct	ccc	gca	caa	gac	tac	2330
	Pro	Lys	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	
								725								730	
35	aag	aaa	tac	gac	gtg	gta	ctc	ctc	gta	ggt	ctc	ggc	att	gga	gcc	acg	2378
	Lys	Lys	Tyr	Asp	Val	Val	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	
							740						745				
40	cct	atg	atc	agt	atc	ctt	aag	gac	atc	atc	aac	aac	atg	aaa	ggt	cct	2426
	Pro	Met	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Ile	Ile	Asn	Asn	Met	Lys	Gly	Pro	
						755						760				765	
45	gac	cgc	gac	agc	gac	att	gag	aac	aac	aac	agt	aac	aac	aac	agt	aaa	2474
	Asp	Arg	Asp	Ser	Asp	Ile	Glu	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Asn	Asn	Ser	Lys	
					770					775						780	
	ggg	ttt	aag	aca	agg	aaa	gct	tat	ttc	tac	tgg	gtg	act	agg	gaa	caa	2522
	Gly	Phe	Lys	Thr	Arg	Lys	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	
				785						790						795	
50	gga	tca	ttc	gag	tgg	ttc	aag	gga	ata	atg	gac	gag	att	tcg	gag	tta	2570
	Gly	Ser	Phe	Glu	Trp	Phe	Lys	Gly	Ile	Met	Asp	Glu	Ile	Ser	Glu	Leu	
				800				805						810			
55	gac	gag	gaa	gga	atc	atc	gag	ctt	cac	aac	tat	tgc	acg	agt	gtg	tac	2618
	Asp	Glu	Glu	Gly	Ile	Ile	Glu	Leu	His	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	
				815				820					825				
60	gag	gaa	ggt	gat	gca	aga	gtg	gct	ctc	att	gcc	atg	ctt	cag	tcg	ttg	2666
	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Val	Ala	Leu	Ile	Ala	Met	Leu	Gln	Ser	Leu	
						835						840				845	
	caa	cac	gct	aag	aac	ggt	gtg	gat	gtt	gtg	tcg	ggt	aca	cgt	gtc	aag	2714
	Gln	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Val	Val	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Lys	
					850						855					860	
65																	

ES 2 341 238 T3

```

tcc cac ttc gct aaa cct aac tgg aga caa gtc tac aag aag atc gct 2762
Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg Gln Val Tyr Lys Lys Ile Ala
      865              870              875

5  gtt caa cat ccc ggc aaa aga ata gga gtc ttc tac tgt gga atg cca 2810
Val Gln His Pro Gly Lys Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Met Pro
      880              885              890

gga atg ata aag gaa tta aaa aat cta gct ttg gat ttt tct cga aag 2858
Gly Met Ile Lys Glu Leu Lys Asn Leu Ala Leu Asp Phe Ser Arg Lys
10  895              900              905

aca act acc aag ttt gac ttc cac aaa gag aac ttc tagattaatt 2904
Thr Thr Thr Lys Phe Asp Phe His Lys Glu Asn Phe
910              915              920

15  atatacggttg tagaaaaata aaacaagaaa caactataca aataaatatt tatttttaaatt 2964
tctttttcatt ttatgtaaaa ttatctgagt tatctttttt tgttaaaaaa aaaaaaaaaa 3024
aaaaaaaaaaaa a 3035

20  <210> 14
    <211> 921
    <212> PRT
    <213> Arabidopsis thaliana

25  <400> 14

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

```

ES 2 341 238 T3

	Ala	Leu	Ala	Arg	Arg	Asn	Asn	Val	Ser	Gly	Asp	Ala	Ile	Thr	Lys	Glu
	225					230					235					240
5	Gln	Leu	Arg	Ile	Phe	Trp	Glu	Gln	Ile	Ser	Asp	Glu	Ser	Phe	Asp	Ala
					245					250					255	
	Lys	Leu	Gln	Val	Phe	Phe	Asp	Met	Val	Asp	Lys	Asp	Glu	Asp	Gly	Arg
				260					265					270		
10	Val	Thr	Glu	Glu	Glu	Val	Ala	Glu	Ile	Ile	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala
			275					280					285			
	Asn	Lys	Leu	Ser	Asn	Ile	Gln	Lys	Gln	Ala	Lys	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu
		290					295					300				
15	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Asp	Asn	Ala	Gly	Phe	Ile	Met	Ile	Glu
	305					310					315					320
	Asn	Leu	Glu	Met	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asn	Gln	Ser	Val	Arg	Met
				325						330					335	
20	Gly	Asp	Ser	Arg	Ile	Leu	Ser	Gln	Met	Leu	Ser	Gln	Lys	Leu	Arg	Pro
				340					345					350		
	Ala	Lys	Glu	Ser	Asn	Pro	Leu	Leu	Arg	Trp	Ser	Glu	Lys	Ile	Lys	Tyr
25			355					360					365			
	Phe	Ile	Leu	Asp	Asn	Trp	Gln	Arg	Leu	Trp	Ile	Met	Met	Leu	Trp	Leu
		370					375					380				
	Gly	Ile	Cys	Gly	Gly	Leu	Phe	Thr	Tyr	Lys	Phe	Ile	Gln	Tyr	Lys	Asn
30		385				390					395					400
	Lys	Ala	Ala	Tyr	Gly	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	Val	Cys	Val	Ala	Lys	Gly
				405					410						415	
35	Gly	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val
				420					425					430		
	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Lys	Thr	Lys	Leu	Gly	Thr
			435					440					445			
40	Val	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Ser	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ser
		450					455					460				
	Gly	Ile	Val	Val	Gly	Val	Leu	Leu	His	Ala	Gly	Ala	His	Leu	Thr	Cys
45		465				470					475					480
	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Asp	Glu	Asp	Thr	Tyr	Glu	Pro	Met
				485						490					495	
	Glu	Lys	Tyr	Phe	Gly	Asp	Gln	Pro	Thr	Ser	Tyr	Trp	Trp	Phe	Val	Lys
50				500					505					510		
	Gly	Val	Glu	Gly	Trp	Thr	Gly	Ile	Val	Met	Val	Val	Leu	Met	Ala	Ile
		515						520					525			
	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Lys	Leu	Asn	Leu
55		530					535					540				
	Pro	Asn	Phe	Leu	Lys	Lys	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Thr
		545				550					555					560
60	His	His	Leu	Phe	Ile	Ile	Val	Tyr	Ala	Leu	Leu	Ile	Val	His	Gly	Ile
				565						570					575	
	Lys	Leu	Tyr	Leu	Thr	Lys	Ile	Trp	Tyr	Gln	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr
				580					585					590		
65	Leu	Ala	Val	Pro	Ile	Leu	Leu	Tyr	Ala	Ser	Glu	Arg	Leu	Leu	Arg	Ala
			595					600					605			

ES 2 341 238 T3

	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	Pro	Val	Lys	Met	Ile	Lys	Val	Ala	Val	Tyr
	610						615					620				
5	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ser	Leu	His	Met	Thr	Lys	Pro	Gln	Gly	Phe	Lys
	625					630					635					640
	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Phe	Met	Leu	Val	Asn	Cys	Arg	Ala	Val	Ser	Pro
					645					650					655	
10	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr
				660					665					670		
	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg	Lys	Leu	Arg
			675					680					685			
15	Thr	Val	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Pro	Thr	Ala	Gly	Lys	Ser	Gly
		690					695					700				
	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Gly	Gly	Asp	Gly	Asn	Leu	Pro	Phe	Pro	Lys	Val
	705					710					715					720
20	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Lys	Lys	Tyr
					725					730					735	
	Asp	Val	Val	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Met	Ile
25				740					745					750		
	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Ile	Ile	Asn	Asn	Met	Lys	Gly	Pro	Asp	Arg	Asp
			755					760					765			
30	Ser	Asp	Ile	Glu	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Asn	Asn	Ser	Lys	Gly	Phe	Lys
	770					775						780				
	Thr	Arg	Lys	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe
	785					790					795					800
35	Glu	Trp	Phe	Lys	Gly	Ile	Met	Asp	Glu	Ile	Ser	Glu	Leu	Asp	Glu	Glu
					805					810				815		
	Gly	Ile	Ile	Glu	Leu	His	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly
				820					825					830		
40	Asp	Ala	Arg	Val	Ala	Leu	Ile	Ala	Met	Leu	Gln	Ser	Leu	Gln	His	Ala
			835					840					845			
	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Val	Val	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Lys	Ser	His	Phe
		850					855					860				
45	Ala	Lys	Pro	Asn	Trp	Arg	Gln	Val	Tyr	Lys	Lys	Ile	Ala	Val	Gln	His
	865					870					875					880
	Pro	Gly	Lys	Arg	Ile	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Met	Pro	Gly	Met	Ile
					885					890					895	
50	Lys	Glu	Leu	Lys	Asn	Leu	Ala	Leu	Asp	Phe	Ser	Arg	Lys	Thr	Thr	Thr
				900					905					910		
55	Lys	Phe	Asp	Phe	His	Lys	Glu	Asn	Phe							
			915					920								

<210> 15

<211> 3338

60 <212> DNA

<213> *Nicotiana tabacum*

<220>

<221> CDS

65 <222> (313)..(3129)

<223> coding for Oxidasa NADPH

ES 2 341 238 T3

<400> 15

```

ggcaccgagaa aatccccaat cttttatttg tttattaaaa ttagtacgcc aagaaagaaa 60
gaaagaaaga cagaaagact cggctcttctt tcttctcttg gtctgaaact ccaaaataga 120
5 ataccaatta ttaatctttt gtcattctttt tccttctcgc gttcatatat actggaatat 180
acatcttttt ttcaacctat cttctttcat tttcaagaat tcggggttcca taaatagtag 240
gttcactact tttatttcaa cctccttaaa gtttattcat tcatattttt tctcaaagaa 300
10 aaaactatag aa atg caa aat tcg gaa aat cat cat ccg cac cac cag cac 351
Met Gln Asn Ser Glu Asn His His Pro His His Gln His
1 5 10
cac cat tcg gac aca gag ata att gga aat gat aga gcg tcg tac agt 399
15 His His Ser Asp Thr Glu Ile Ile Gly Asn Asp Arg Ala Ser Tyr Ser
15 20 25
ggt ccg tta agc gga ccg tta aac aaa cga ggc ggc aaa aag agt gcg 447
Gly Pro Leu Ser Gly Pro Leu Asn Lys Arg Gly Gly Lys Lys Ser Ala
30 35 40 45
aga ttt aac att cct gaa tct acc gac atc gga acc agt gtc gga acc 495
Arg Phe Asn Ile Pro Glu Ser Thr Asp Ile Gly Thr Ser Val Gly Thr
50 55 60
ggc ggc aag tcc aat gat gat gcg tac gtt gaa atc act ctc gat gtc 543
Gly Gly Lys Ser Asn Asp Asp Ala Tyr Val Glu Ile Thr Leu Asp Val
65 70 75
cgc gaa gat tcc gtc gct gtc cac agt gtc aaa act gcc ggc ggt gat 591
Arg Glu Asp Ser Val Ala Val His Ser Val Lys Thr Ala Gly Gly Asp
80 85 90
gac gtg gaa gat ccc gag ctg gct tta ttg gct aaa ggc tta gag aag 639
Asp Val Glu Asp Pro Glu Leu Ala Leu Leu Ala Lys Gly Leu Glu Lys
95 100 105
aag tcc act tta gga tct tca ctt gtt cga aat gct tcg tct aga att 687
Lys Ser Thr Leu Gly Ser Ser Leu Val Arg Asn Ala Ser Ser Arg Ile
110 115 120 125
cgg caa gtg tca caa gag ctc agg cgt ttg gct tcc tta aat aaa cgc 735
Arg Gln Val Ser Gln Glu Leu Arg Arg Leu Ala Ser Leu Asn Lys Arg
130 135 140
cca att cct act gga agg ttc gac agg aat aaa tca gct gct gct cat 783
Pro Ile Pro Thr Gly Arg Phe Asp Arg Asn Lys Ser Ala Ala Ala His
145 150 155
gct ctt aaa ggt ctc aag ttt att agt aag acc gac ggc ggc gct ggt 831
Ala Leu Lys Gly Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly
160 165 170
tgg gcc gcc gtc gag aag cgg ttc gat gag att act gct tct act act 879
Trp Ala Ala Val Glu Lys Arg Phe Asp Glu Ile Thr Ala Ser Thr Thr
175 180 185
ggt ttg ctt cct cgt gcc aaa ttt gga gaa tgt ata ggt atg aat aag 927
Gly Leu Leu Pro Arg Ala Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Asn Lys
190 195 200 205
gag tct aag gaa ttt gct gtt gag cta tat gat gcg cta gct cgg agg 975
Glu Ser Lys Glu Phe Ala Val Glu Leu Tyr Asp Ala Leu Ala Arg Arg
210 215 220
aga aac att aca act gat tcc att aac aaa gca cag ctc aaa gag ttc 1023
Arg Asn Ile Thr Thr Asp Ser Ile Asn Lys Ala Gln Leu Lys Glu Phe
225 230 235

```

65

ES 2 341 238 T3

	tgg gac caa gtg gct gac caa agt ttt gat tct cgc ctt caa aca ttt	1071
	Trp Asp Gln Val Ala Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Thr Phe	
	240 245 250	
5	ttt gac atg gtt gat aaa gat gct gat ggt aga att aca gaa gaa gaa	1119
	Phe Asp Met Val Asp Lys Asp Ala Asp Gly Arg Ile Thr Glu Glu Glu	
	255 260 265	
10	gtc aga gag att ata ggc ctt agc gcg tcg gcc aac agg ctg tca aca	1167
	Val Arg Glu Ile Ile Gly Leu Ser Ala Ser Ala Asn Arg Leu Ser Thr	
	270 275 280 285	
	atc cag aaa caa gct gat gaa tac gca gca atg atc atg gaa gag ttg	1215
	Ile Gln Lys Gln Ala Asp Glu Tyr Ala Ala Met Ile Met Glu Glu Leu	
	290 295 300	
15	gat cct aac aac ctc gga tac att atg att gag aac ttg gaa atg ctt	1263
	Asp Pro Asn Asn Leu Gly Tyr Ile Met Ile Glu Asn Leu Met Leu	
	305 310 315	
20	tta ctg caa gca cca aat caa tca gtg caa aga gga ggc gaa agt cgg	1311
	Leu Leu Gln Ala Pro Asn Gln Ser Val Gln Arg Gly Gly Glu Ser Arg	
	320 325 330	
	aac ttg agt caa atg cta agt caa aaa cta aag cat aca caa gag aga	1359
	Asn Leu Ser Gln Met Leu Ser Gln Lys Leu Lys His Thr Gln Glu Arg	
	335 340 345	
25	aat cca ata gta aga tgg tac aag agt ttc atg tac ttt ttg ctg gat	1407
	Asn Pro Ile Val Arg Trp Tyr Lys Ser Phe Met Tyr Phe Leu Leu Asp	
	350 355 360 365	
30	aat tgg caa aga gtt tgg gta ttg tta ctg tgg att gga att atg gct	1455
	Asn Trp Gln Arg Val Trp Val Leu Leu Leu Trp Ile Gly Ile Met Ala	
	370 375 380	
	ggt cta ttt aca tgg aaa tat ata cag tat aaa gaa aaa gct gca tat	1503
	Gly Leu Phe Thr Trp Lys Tyr Ile Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Tyr	
	385 390 395	
35	aaa gtc atg ggt ccc tgt gtg tgt ttt gcc aaa ggt gct gct gaa aca	1551
	Lys Val Met Gly Pro Cys Val Cys Phe Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr	
	400 405 410	
40	ctc aag ctc aac atg gca att att tta ttt ccg gtt tgc aga aac acg	1599
	Leu Lys Leu Asn Met Ala Ile Ile Leu Phe Pro Val Cys Arg Asn Thr	
	415 420 425	
45	atc aca tgg ctt cga aat aag acc aga tta ggt gct gct gtt cct ttt	1647
	Ile Thr Trp Leu Arg Asn Lys Thr Arg Leu Gly Ala Ala Val Pro Phe	
	430 435 440 445	
	gat gat aac ctt aat ttt cac aaa gtg ata gca gtg gca att gct ctt	1695
	Asp Asp Asn Leu Asn Phe His Lys Val Ile Ala Val Ala Ile Ala Leu	
	450 455 460	
50	ggg gtt gga ata cac gga cta tct cac ttg aca tgt gat ttt cct cgg	1743
	Gly Val Gly Ile His Gly Leu Ser His Leu Thr Cys Asp Phe Pro Arg	
	465 470 475	
55	ctt tta aat gct agt gaa gaa gaa tat gaa cca atg aag tac tat ttt	1791
	Leu Leu Asn Ala Ser Glu Glu Glu Tyr Glu Pro Met Lys Tyr Tyr Phe	
	480 485 490	
60	gga gat cag cca gaa agc tat tgg tgg ttt ata aaa gga gta gaa ggg	1839
	Gly Asp Gln Pro Glu Ser Tyr Trp Trp Phe Ile Lys Gly Val Glu Gly	
	495 500 505	
65		

ES 2 341 238 T3

	gta act gga att ata atg gtg gtt tta atg gca ata gca ttt act cta	1887
	Val Thr Gly Ile Ile Met Val Val Leu Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu	
	510 515 520 525	
5	gca acc cca tgg ttt aga agg aat aga gtt agt ttg cca aaa cca ttt	1935
	Ala Thr Pro Trp Phe Arg Arg Asn Arg Val Ser Leu Pro Lys Pro Phe	
	530 535 540	
10	cac aaa ctc act gga tnt aat gcc ttt tgg tac tct cac cat ctc ttt	1983
	His Lys Leu Thr Gly Xaa Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His His Leu Phe	
	545 550 555	
	gtt atc gtc tac act ctg ttc att gtg cat ggt gaa aag cta tac att	2031
	Val Ile Val Tyr Thr Leu Phe Ile Val His Gly Glu Lys Leu Tyr Ile	
	560 565 570	
15	acc aaa gat tgg tac aag aga acc gac atg gat gta ctt tta act atc	2079
	Thr Lys Asp Trp Tyr Lys Arg Thr Asp Met Asp Val Leu Leu Thr Ile	
	575 580 585	
20	cca atc ata ctc tat gct agt gaa agg ttg att agg gca ttc agg tca	2127
	Pro Ile Ile Leu Tyr Ala Ser Glu Arg Leu Ile Arg Ala Phe Arg Ser	
	590 595 600 605	
	agc att aaa gct gtt aag att ttg aag gtg gca gta tat cca gga aat	2175
	Ser Ile Lys Ala Val Lys Ile Leu Lys Val Ala Val Tyr Pro Gly Asn	
	610 615 620	
25	gtg ttg gca ctt cac atg tca aaa cca cag ggc tac aaa tac aaa agt	2223
	Val Leu Ala Leu His Met Ser Lys Pro Gln Gly Tyr Lys Tyr Lys Ser	
	625 630 635	
30	ggg caa tac atg ttt gtc aac tgt gct gca gtt tct cca ttt gag tgg	2271
	Gly Gln Tyr Met Phe Val Asn Cys Ala Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp	
	640 645 650	
	cat cca ttt tca att act tcg gcc cca gga gat gac tat ctc agt gtc	2319
	His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Val	
	655 660 665	
35	cat att cga act ctt ggt gat tgg acc agg caa ctt aaa act gtt ttc	2367
	His Ile Arg Thr Leu Gly Asp Trp Thr Arg Gln Leu Lys Thr Val Phe	
	670 675 680 685	
40	tcc gag gtt tgc cag cca cca cct aat gga aaa agt gga ctc ctc aga	2415
	Ser Glu Val Cys Gln Pro Pro Pro Asn Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg	
	690 695 700	
	gct gac tac ttg caa gga gag aat aat cct aat ttc cca agg gtg tta	2463
	Ala Asp Tyr Leu Gln Gly Glu Asn Asn Pro Asn Phe Pro Arg Val Leu	
	705 710 715	
45	ata gat gga cca tat gga gca cca gca caa gac tac aag aaa tat gag	2511
	Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr Lys Lys Tyr Glu	
	720 725 730	
50	gtg gtt ttg ttg gta ggt ctt gga att gga gct aca cca atg atc agt	2559
	Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr Pro Met Ile Ser	
	735 740 745	
55	att gtt aaa gac att gtc aac aac atg aag gca atg gac gaa gaa gaa	2607
	Ile Val Lys Asp Ile Val Asn Asn Met Lys Ala Met Asp Glu Glu Glu	
	750 755 760 765	
	aat tcc ttg gaa gat gga cac aat aat aat atg gca cca aat tct agc	2655
	Asn Ser Leu Glu Asp Gly His Asn Asn Asn Met Ala Pro Asn Ser Ser	
	770 775 780	
60		
65		

ES 2 341 238 T3

```

ccc aat att gca aaa aat aag ggt aat aaa tca ggt tca gca agt gga 2703
Pro Asn Ile Ala Lys Asn Lys Gly Asn Lys Ser Gly Ser Ala Ser Gly
      785      790      795

5   gga aat aat ttc aat aca agg aga gca tat ttc tat tgg gtt act aga 2751
    Gly Asn Asn Phe Asn Thr Arg Arg Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg
      800      805      810

10  gaa caa ggt tca ttt gat tgg ttc aaa ggt ata atg aat gaa gct gct 2799
    Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Ile Met Asn Glu Ala Ala
      815      820      825

    gaa atg gac cat aag gga gta att gaa atg cat aat tat tgt act agt 2847
    Glu Met Asp His Lys Gly Val Ile Glu Met His Asn Tyr Cys Thr Ser
    830      835      840      845

15  gtt tat gaa gaa ggt gat gct cgt tct gct ctt att act atg ctt cag 2895
    Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln
      850      855      860

20  tct ctt cac cat gcc aaa aat ggt gtt gac att gtc tct ggc acc aga 2943
    Ser Leu His His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Arg
      865      870      875

    gtt aag tca cat ttt gct aaa cct aat tgg cgt aat gtc tac aaa cgc 2991
    Val Lys Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg Asn Val Tyr Lys Arg
      880      885      890

25  att gct ctc aac cac cct gag gct aaa gtt ggg gtc ttc tat tgt ggg 3039
    Ile Ala Leu Asn His Pro Glu Ala Lys Val Gly Val Phe Tyr Cys Gly
      895      900      905

30  gca cca gca ctg acc aaa gaa cta aga caa cac gcc ttg gat ttt tca 3087
    Ala Pro Ala Leu Thr Lys Glu Leu Arg Gln His Ala Leu Asp Phe Ser
    910      915      920      925

    cac aag aca tct acc aag ttt gat ttc cat aaa gaa aat ttt 3129
    His Lys Thr Ser Thr Lys Phe Asp Phe His Lys Glu Asn Phe
      930      935

    tgagcaaaga atagaccatt aagcagagca ttaaaatttc atcaaaacag ctaaggacac 3189
    aggttggtttt atagaagtct accaactctc cctatttgtgt acagataatg ttgcacttca 3249
    agttgatata tagttgtggt tgtgatgcta gtatatattaca aaataataag attatttttta 3309
    tttgtagtaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3338

```

<210> 16
 <211> 939
 <212> PRT
 <213> *Nicotiana tabacum*

```

50  <400> 16

    Met Gln Asn Ser Glu Asn His His Pro His His Gln His His His Ser
    1      5      10      15

55  Asp Thr Glu Ile Ile Gly Asn Asp Arg Ala Ser Tyr Ser Gly Pro Leu
    20      25      30

    Ser Gly Pro Leu Asn Lys Arg Gly Gly Lys Lys Ser Ala Arg Phe Asn
    35      40      45

60  Ile Pro Glu Ser Thr Asp Ile Gly Thr Ser Val Gly Thr Gly Gly Lys
    50      55      60

    Ser Asn Asp Asp Ala Tyr Val Glu Ile Thr Leu Asp Val Arg Glu Asp
    65      70      75      80

```

65

ES 2 341 238 T3

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

ES 2 341 238 T3

	Ile	His	Gly	Leu	Ser	His	Leu	Thr	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Leu	Asn	
	465					470					475					480	
5	Ala	Ser	Glu	Glu	Glu	Tyr	Glu	Pro	Met	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Gly	Asp	Gln	
					485					490					495		
	Pro	Glu	Ser	Tyr	Trp	Trp	Phe	Ile	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	
				500					505					510			
10	Ile	Ile	Met	Val	Val	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	
			515					520					525				
	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Arg	Val	Ser	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	His	Lys	Leu	
		530					535					540					
15	Thr	Gly	Xaa	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	
	545				550						555					560	
	Tyr	Thr	Leu	Phe	Ile	Val	His	Gly	Glu	Lys	Leu	Tyr	Ile	Thr	Lys	Asp	
				565						570					575		
20	Trp	Tyr	Lys	Arg	Thr	Asp	Met	Asp	Val	Leu	Leu	Thr	Ile	Pro	Ile	Ile	
				580					585					590			
	Leu	Tyr	Ala	Ser	Glu	Arg	Leu	Ile	Arg	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	
25			595					600					605				
	Ala	Val	Lys	Ile	Leu	Lys	Val	Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ala	
		610					615					620					
30	Leu	His	Met	Ser	Lys	Pro	Gln	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	
	625				630						635					640	
	Met	Phe	Val	Asn	Cys	Ala	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	
				645						650					655		
35	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	
				660					665						670		
	Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Phe	Ser	Glu	Val	
			675					680					685				
40	Cys	Gln	Pro	Pro	Pro	Asn	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Tyr	
		690					695					700					
	Leu	Gln	Gly	Glu	Asn	Asn	Pro	Asn	Phe	Pro	Arg	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	
45	705				710						715					720	
	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Glu	Val	Val	Leu	
				725						730					735		
	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Met	Ile	Ser	Ile	Val	Lys	
50				740					745					750			
	Asp	Ile	Val	Asn	Asn	Met	Lys	Ala	Met	Asp	Glu	Glu	Glu	Asn	Ser	Leu	
			755					760					765				
55	Glu	Asp	Gly	His	Asn	Asn	Asn	Met	Ala	Pro	Asn	Ser	Ser	Pro	Asn	Ile	
		770					775					780					
	Ala	Lys	Asn	Lys	Gly	Asn	Lys	Ser	Gly	Ser	Ala	Ser	Gly	Gly	Asn	Asn	
	785				790						795					800	
60	Phe	Asn	Thr	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	
				805						810					815		
	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Ile	Met	Asn	Glu	Ala	Ala	Glu	Met	Asp	
				820					825					830			
65	His	Lys	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	
			835				840						845				

ES 2 341 238 T3

	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met	Leu	Gln	Ser	Leu	His
	850						855					860				
5	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Lys	Ser
	865					870					875					880
	His	Phe	Ala	Lys	Pro	Asn	Trp	Arg	Asn	Val	Tyr	Lys	Arg	Ile	Ala	Leu
					885					890					895	
10	Asn	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Val	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ala	Pro	Ala
				900					905					910		
	Leu	Thr	Lys	Glu	Leu	Arg	Gln	His	Ala	Leu	Asp	Phe	Ser	His	Lys	Thr
			915				920						925			
15	Ser	Thr	Lys	Phe	Asp	Phe	His	Lys	Glu	Asn	Phe					
	930						935									

<210> 17

20 <211> 2532

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

25 <221> CDS

<222> (1)..(2529)

<223> coding for Oxidasa NADPH

30 <400> 17

	atg	gcg	tcg	ccg	tac	gac	cac	cag	tcg	ccg	cat	gcg	cag	cac	ccg	tcg	48
	Met	Ala	Ser	Pro	Tyr	Asp	His	Gln	Ser	Pro	His	Ala	Gln	His	Pro	Ser	
35	1				5					10					15		
	ggg	ttg	ccg	agg	ccg	ccg	ggg	gcg	ggg	gcg	ggt	gcg	gcg	gcg	ggc	ggg	96
	Gly	Leu	Pro	Arg	Pro	Pro	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	
				20					25					30			
40	ttc	gcg	cgg	ggg	ctg	atg	aag	cag	ccg	tcg	cgg	ctg	gcg	tcc	ggg	gtg	144
	Phe	Ala	Arg	Gly	Leu	Met	Lys	Gln	Pro	Ser	Arg	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	
				35				40					45				
	agg	cag	ttc	gcg	tcg	agg	gtg	tcg	atg	aag	gtg	ccg	gag	ggg	gtg	ggg	192
	Arg	Gln	Phe	Ala	Ser	Arg	Val	Ser	Met	Lys	Val	Pro	Glu	Gly	Val	Gly	
45	50						55					60					
	ggg	atg	cgg	ccc	ggt	ggc	ggg	agg	atg	acg	cgg	atg	cag	tcc	agc	gcg	240
	Gly	Met	Arg	Pro	Gly	Gly	Arg	Met	Thr	Arg	Met	Gln	Ser	Ser	Ala		
	65				70					75					80		
50	cag	gtg	ggg	ctc	cgg	ggg	ctc	cgc	ttc	ctc	gac	aag	acg	tcc	ggc	ggg	288
	Gln	Val	Gly	Leu	Arg	Gly	Leu	Arg	Phe	Leu	Asp	Lys	Thr	Ser	Gly	Gly	
				85						90					95		
	aag	gag	ggg	tgg	aag	tcc	gtc	gag	cgc	cgc	ttc	gac	gag	atg	aac	cgc	336
	Lys	Glu	Gly	Trp	Lys	Ser	Val	Glu	Arg	Arg	Phe	Asp	Glu	Met	Asn	Arg	
55				100					105					110			
	aac	ggc	cgc	ctc	ccc	aag	gag	agc	ttc	ggc	aag	tgc	atc	ggc	atg	ggg	384
	Asn	Gly	Arg	Leu	Pro	Lys	Glu	Ser	Phe	Gly	Lys	Cys	Ile	Gly	Met	Gly	
				115				120					125				
60	gac	tcc	aag	gag	ttc	gcc	ggc	gag	ctg	ttc	gtg	gcg	ctg	gcg	cgg	cgg	432
	Asp	Ser	Lys	Glu	Phe	Ala	Gly	Glu	Leu	Phe	Val	Ala	Leu	Ala	Arg	Arg	
				130			135					140					
	agg	aac	ctg	gag	ccg	gag	gac	ggc	atc	acc	aag	gag	cag	ctc	aag	gag	480
	Arg	Asn	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Gly	Ile	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Glu	
65	145					150					155					160	

ES 2 341 238 T3

	ttc	tgg	gag	gag	atg	acc	gac	cag	aac	ttc	gac	tcg	cgg	ctt	cgc	att	528
	Phe	Trp	Glu	Glu	Met	Thr	Asp	Gln	Asn	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Arg	Ile	
					165					170					175		
5	ttc	ttt	gac	atg	tgc	gac	aag	aat	ggc	gat	ggg	atg	ctc	acg	gaa	gat	576
	Phe	Phe	Asp	Met	Cys	Asp	Lys	Asn	Gly	Asp	Gly	Met	Leu	Thr	Glu	Asp	
				180					185					190			
	gag	gtc	aag	gag	gtt	att	ata	ctg	agt	gcg	tcg	gcg	aac	aag	ctg	gcg	624
10	Glu	Val	Lys	Glu	Val	Ile	Ile	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ala	
			195					200					205				
	aag	ctg	aag	gga	cac	gcg	gcg	acg	tac	gcg	tcg	ctg	atc	atg	gag	gag	672
15	Lys	Leu	Lys	Gly	His	Ala	Ala	Thr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	
		210					215					220					
	ctg	gac	ccg	gac	gac	cgc	ggg	tac	atc	gag	atc	tgg	cag	ctg	gag	acg	720
	Leu	Asp	Pro	Asp	Asp	Arg	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ile	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr	
	225					230					235					240	
20	ctg	ctg	cgc	ggc	atg	gtg	agc	gcg	cag	gcg	gcg	ccg	gag	aag	atg	aag	768
	Leu	Leu	Arg	Gly	Met	Val	Ser	Ala	Gln	Ala	Ala	Pro	Glu	Lys	Met	Lys	
					245					250					255		
	cgg	acg	acg	tcg	agc	ctc	gcg	agg	acg	atg	atc	ccg	tcg	cgg	tac	cgg	816
25	Arg	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Ala	Arg	Thr	Met	Ile	Pro	Ser	Arg	Tyr	Arg	
				260					265					270			
	agc	ccg	ctg	aag	cgg	cac	gtg	tcc	agg	acg	gtg	gac	ttc	gtg	cac	gag	864
30	Ser	Pro	Leu	Lys	Arg	His	Val	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Phe	Val	His	Glu	
			275					280					285				
	aac	tgg	aag	cgg	atc	tgg	ctc	gtc	gcg	ctg	tgg	ctc	gcc	gtc	aac	gtc	912
	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp	Leu	Val	Ala	Leu	Trp	Leu	Ala	Val	Asn	Val	
		290					295					300					
35	ggc	ctc	ttc	gcc	tac	aag	ttc	gag	cag	tac	gag	cgg	cgc	gcc	gcg	ttc	960
	Gly	Leu	Phe	Ala	Tyr	Lys	Phe	Glu	Gln	Tyr	Glu	Arg	Arg	Ala	Ala	Phe	
	305					310					315					320	
	cag	gtg	atg	ggc	cac	tgc	gtg	tgc	gtg	gcc	aag	ggc	gcc	gcc	gag	gtg	1008
40	Gln	Val	Met	Gly	His	Cys	Val	Cys	Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Val	
					325					330					335		
	ctc	aag	ctc	aac	atg	gcg	ctc	atc	ctc	ctc	ccc	gtg	tgc	cgg	aac	acg	1056
45	Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	
				340					345					350			
	ctc	acc	acg	ctc	agg	tcc	acg	gcg	ctc	agc	cac	gtc	atc	ccc	ttc	gac	1104
	Leu	Thr	Thr	Leu	Arg	Ser	Thr	Ala	Leu	Ser	His	Val	Ile	Pro	Phe	Asp	
				355				360					365				
	gac	aac	atc	aac	ttc	cac	aag	gtg	atc	gcg	gcg	acc	atc	gcc	gcc	gcc	1152
50	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ala	Thr	Ile	Ala	Ala	Ala	
		370					375					380					
	acc	gcc	gtc	cac	acg	ctg	gcg	cac	gtc	acc	tgc	gac	ttc	ccg	agg	ctg	1200
55	Thr	Ala	Val	His	Thr	Leu	Ala	His	Val	Thr	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	
	385					390					395					400	
	atc	aac	tgc	ccc	agc	gac	aag	ttc	atg	gcg	acg	ctg	ggg	ccg	aac	ttc	1248
	Ile	Asn	Cys	Pro	Ser	Asp	Lys	Phe	Met	Ala	Thr	Leu	Gly	Pro	Asn	Phe	
					405					410					415		
60	ggg	tac	agg	cag	ccg	acg	tac	gcc	gac	ctg	ctg	gag	agc	gcc	ccc	ggc	1296
	Gly	Tyr	Arg	Gln	Pro	Thr	Tyr	Ala	Asp	Leu	Leu	Glu	Ser	Ala	Pro	Gly	
				420					425					430			

65

ES 2 341 238 T3

	gtc	acc	ggc	atc	ctc	atg	atc	atc	atc	atg	tcc	ttc	tcc	ttc	acg	ctg	1344
	Val	Thr	Gly	Ile	Leu	Met	Ile	Ile	Ile	Met	Ser	Phe	Ser	Phe	Thr	Leu	
			435						440				445				
5	gcc	acg	cac	tcc	ttc	cgc	cgg	agc	gtc	gtc	aag	ctg	ccg	tgc	ccg	ctg	1392
	Ala	Thr	His	Ser	Phe	Arg	Arg	Ser	Val	Val	Lys	Leu	Pro	Ser	Pro	Leu	
			450				455					460					
10	cac	cac	ctc	gcc	ggc	ttc	aac	gcc	ttc	tgg	tac	gcg	cac	cac	ctc	ctg	1440
	His	His	Leu	Ala	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ala	His	His	Leu	Leu	
			465			470					475					480	
15	gtg	ctc	gcc	tac	gtc	ctc	ctc	gtc	gtg	cac	tcc	tac	ttc	ata	ttc	ctc	1488
	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Leu	Leu	Val	Val	His	Ser	Tyr	Phe	Ile	Phe	Leu	
					485					490					495		
	acc	agg	gag	tgg	tac	aag	aaa	acg	aca	tgg	atg	tac	ctg	ata	gtc	cca	1536
	Thr	Arg	Glu	Trp	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ile	Val	Pro	
				500					505					510			
20	gtg	ctc	ttc	tat	gca	tgc	gag	aga	acg	atc	aga	aaa	gtt	cga	gag	aac	1584
	Val	Leu	Phe	Tyr	Ala	Cys	Glu	Arg	Thr	Ile	Arg	Lys	Val	Arg	Glu	Asn	
			515					520					525				
25	aac	tac	cgc	gtg	agc	atc	gtc	aag	gca	gcg	att	tac	cca	gga	aat	gtg	1632
	Asn	Tyr	Arg	Val	Ser	Ile	Val	Lys	Ala	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	
			530				535					540					
30	ctc	tct	ctt	cac	atg	aag	aag	ccg	ccg	ggg	ttc	aag	tac	aag	agc	ggg	1680
	Leu	Ser	Leu	His	Met	Lys	Lys	Pro	Pro	Gly	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	
						550					555					560	
35	atg	tac	ctg	ttt	gtg	aag	tgc	cct	gat	gtc	tct	cct	ttc	gaa	tgg	cat	1728
	Met	Tyr	Leu	Phe	Val	Lys	Cys	Pro	Asp	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	
					565					570					575		
40	ccc	ttc	tcc	atc	act	tct	gca	cct	gga	gat	gac	tac	ctg	agt	gtg	cat	1776
	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	
					580				585				590				
45	atc	cgt	aca	cta	ggg	gac	tgg	acg	act	gaa	ctc	aga	aac	ctg	ttt	ggg	1824
	Ile	Arg	Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Thr	Glu	Leu	Arg	Asn	Leu	Phe	Gly	
			595				600						605				
50	aag	gct	tgc	gag	gca	cag	gtt	act	tct	aag	aag	gct	acc	ctt	tca	aga	1872
	Lys	Ala	Cys	Glu	Ala	Gln	Val	Thr	Ser	Lys	Lys	Ala	Thr	Leu	Ser	Arg	
			610				615					620					
55	ctt	gaa	act	aca	gtt	gtg	gcg	gac	gct	cag	aca	gag	gat	act	agg	ttt	1920
	Leu	Glu	Thr	Thr	Val	Val	Ala	Asp	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Thr	Arg	Phe	
						630				635						640	
60	cct	aag	gtc	ctt	att	gat	ggg	ccc	tat	ggg	gca	ccg	gcg	caa	aac	tac	1968
	Pro	Lys	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Tyr	
					645				650						655		
65	aag	aag	tat	gac	att	ctt	ttg	ctt	att	ggg	ctt	gga	att	ggg	gct	act	2016
	Lys	Lys	Tyr	Asp	Ile	Leu	Leu	Leu	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	
				660					665					670			
70	cct	ttc	atc	agc	att	ctg	aag	gat	ctg	ttg	aac	aac	att	aaa	tcc	aac	2064
	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Asn	Asn	Ile	Lys	Ser	Asn	
				675				680					685				
75	gaa	gag	gtg	gaa	agc	ata	cat	ggg	tct	gag	ata	ggc	agc	ttc	aag	aac	2112
	Glu	Glu	Val	Glu	Ser	Ile	His	Gly	Ser	Glu	Ile	Gly	Ser	Phe	Lys	Asn	
			690				695					700					

ES 2 341 238 T3

```

    aat ggg cca gga aga gct tac ttc tac tgg gtg acc aga gag caa ggg 2160
    Asn Gly Pro Gly Arg Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly
    705          710          715          720

5    tcc ttc gag tgg ttt aaa gga gtc atg aac gat gtc gct gaa agt gat 2208
    Ser Phe Glu Trp Phe Lys Gly Val Met Asn Asp Val Ala Glu Ser Asp
          725          730          735

    cac aat aat att ata gag atg cac aat tac ctg acc agc gtg tat gaa 2256
    His Asn Asn Ile Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu
          740          745          750

    gaa ggc gac gca agg tca gct ttg att gcc atg gtt cag tca ctt caa 2304
    Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Ala Met Val Gln Ser Leu Gln
          755          760          765

15   cat gcc aaa aat ggt gtg gat atc gtc tcc ggc agc agg att cgc aca 2352
    His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Ser Arg Ile Arg Thr
          770          775          780

    cat ttt gcg agg cct aac tgg aga aag gtg ttc tct gac ttg gcg aat 2400
    His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Phe Ser Asp Leu Ala Asn
    785          790          795          800

    gcc cac aaa aac tca cgc ata ggt gtt ttc tat tgt gga tcc cct aca 2448
    Ala His Lys Asn Ser Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ser Pro Thr
          805          810          815

25   ctc acg aaa caa ctc aag gat ctt tca aaa gaa ttc agc cag aca acc 2496
    Leu Thr Lys Gln Leu Lys Asp Leu Ser Lys Glu Phe Ser Gln Thr Thr
          820          825          830

    aca act aga ttc cac ttc cac aag gaa aac ttt taa 2532
    Thr Thr Arg Phe His Phe His Lys Glu Asn Phe
          835          840

```

<210> 18

<211> 843

<212> PRT

<213> *Oryza sativa*

<400> 18

```

    Met Ala Ser Pro Tyr Asp His Gln Ser Pro His Ala Gln His Pro Ser
    1          5          10          15

45   Gly Leu Pro Arg Pro Pro Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly
          20          25          30

    Phe Ala Arg Gly Leu Met Lys Gln Pro Ser Arg Leu Ala Ser Gly Val
          35          40          45

50   Arg Gln Phe Ala Ser Arg Val Ser Met Lys Val Pro Glu Gly Val Gly
    50          55          60

    Gly Met Arg Pro Gly Gly Gly Arg Met Thr Arg Met Gln Ser Ser Ala
    65          70          75          80

55   Gln Val Gly Leu Arg Gly Leu Arg Phe Leu Asp Lys Thr Ser Gly Gly
          85          90          95

    Lys Glu Gly Trp Lys Ser Val Glu Arg Arg Phe Asp Glu Met Asn Arg
    100          105          110

60   Asn Gly Arg Leu Pro Lys Glu Ser Phe Gly Lys Cys Ile Gly Met Gly
    115          120          125

    Asp Ser Lys Glu Phe Ala Gly Glu Leu Phe Val Ala Leu Ala Arg Arg
    130          135          140

```

ES 2 341 238 T3

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

ES 2 341 238 T3

	Asn	Tyr	Arg	Val	Ser	Ile	Val	Lys	Ala	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val
	530						535					540				
5	Leu	Ser	Leu	His	Met	Lys	Lys	Pro	Pro	Gly	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly
	545					550					555					560
	Met	Tyr	Leu	Phe	Val	Lys	Cys	Pro	Asp	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His
					565					570					575	
10	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His
				580					585					590		
	Ile	Arg	Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Thr	Glu	Leu	Arg	Asn	Leu	Phe	Gly
			595					600					605			
15	Lys	Ala	Cys	Glu	Ala	Gln	Val	Thr	Ser	Lys	Lys	Ala	Thr	Leu	Ser	Arg
	610						615					620				
	Leu	Glu	Thr	Thr	Val	Val	Ala	Asp	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Thr	Arg	Phe
	625					630					635					640
20	Pro	Lys	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Tyr
					645					650					655	
	Lys	Lys	Tyr	Asp	Ile	Leu	Leu	Leu	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr
25				660					665					670		
	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Asn	Asn	Ile	Lys	Ser	Asn
			675					680					685			
30	Glu	Glu	Val	Glu	Ser	Ile	His	Gly	Ser	Glu	Ile	Gly	Ser	Phe	Lys	Asn
	690						695					700				
	Asn	Gly	Pro	Gly	Arg	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly
	705					710					715					720
35	Ser	Phe	Glu	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Asp	Val	Ala	Glu	Ser	Asp
					725					730					735	
	His	Asn	Asn	Ile	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu
				740					745					750		
40	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Ala	Met	Val	Gln	Ser	Leu	Gln
			755					760					765			
	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	Ser	Arg	Ile	Arg	Thr
	770						775					780				
45	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Arg	Lys	Val	Phe	Ser	Asp	Leu	Ala	Asn
	785					790					795					800
	Ala	His	Lys	Asn	Ser	Arg	Ile	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ser	Pro	Thr
50					805					810					815	
	Leu	Thr	Lys	Gln	Leu	Lys	Asp	Leu	Ser	Lys	Glu	Phe	Ser	Gln	Thr	Thr
				820				825						830		
55	Thr	Thr	Arg	Phe	His	Phe	His	Lys	Glu	Asn	Phe					
			835					840								

<210> 19

<211> 2604

60 <212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> CDS

65 <222> (1)..(2601)

<223> coding for Oxidasa NADPH

ES 2 341 238 T3

<400> 19

5	atg tct aga gtg agt ttt gaa gtg tca gga ggc tat cac tct gat gca	48
	Met Ser Arg Val Ser Phe Glu Val Ser Gly Gly Tyr His Ser Asp Ala	
	1 5 10 15	
	gaa gcc gga aac agc gga cca atg agc ggt ggt caa tta cca ccg atc	96
	Glu Ala Gly Asn Ser Gly Pro Met Ser Gly Gly Gln Leu Pro Pro Ile	
	20 25 30	
10	tat aaa aaa ccg ggg aac tcc aga ttc act gct gag aac agt cag aga	144
	Tyr Lys Lys Pro Gly Asn Ser Arg Phe Thr Ala Glu Asn Ser Gln Arg	
	35 40 45	
15	aca cgt acg gca cca tac gtg gac ctc acg gta gat gta caa gac gat	192
	Thr Arg Thr Ala Pro Tyr Val Asp Leu Thr Val Asp Val Gln Asp Asp	
	50 55 60	
20	aca gtc tct gta cat agc ttg aaa atg gaa ggt gga tct agc gtt gaa	240
	Thr Val Ser Val His Ser Leu Lys Met Glu Gly Gly Ser Ser Val Glu	
	65 70 75 80	
	gag agt ccg gag ctt act ttg ctg aaa cga aac cgt ctt gag aag aaa	288
	Glu Ser Pro Glu Leu Thr Leu Lys Arg Asn Arg Leu Glu Lys Lys	
	85 90 95	
25	aca acg gtg gtg aaa cgt ttg gcg tct gtt tct cac gag ctt aag cgt	336
	Thr Thr Val Val Lys Arg Leu Ala Ser Val Ser His Glu Leu Lys Arg	
	100 105 110	
30	ttg aca tct gtt tct ggt ggt att ggt gga aga aag ccg cct cga ccg	384
	Leu Thr Ser Val Ser Gly Gly Ile Gly Gly Arg Lys Pro Pro Arg Pro	
	115 120 125	
35	gct aag tta gac cgg act aaa tcc gcc gcg agt caa gcg ttg aag gga	432
	Ala Lys Leu Asp Arg Thr Lys Ser Ala Ala Ser Gln Ala Leu Lys Gly	
	130 135 140	
	ctt aag ttc att agt aaa acc gac ggt ggc gcc ggt tgg tct gcc gtg	480
	Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly Trp Ser Ala Val	
	145 150 155 160	
40	gag aag cgg ttt aat cag att acc gcg act acc ggt gga cta ctt ctt	528
	Glu Lys Arg Phe Asn Gln Ile Thr Ala Thr Thr Gly Gly Leu Leu Leu	
	165 170 175	
45	cgg aca aag ttc ggt gaa tgc ata gga atg act tca aag gat ttt gct	576
	Arg Thr Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Thr Ser Lys Asp Phe Ala	
	180 185 190	
50	ttg gaa ctg ttt gat gca ttg gct aga aga agg aat ata aca ggg gaa	624
	Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ala Arg Arg Arg Asn Ile Thr Gly Glu	
	195 200 205	
	gtg att gat gga gat caa cta aag gag ttt tgg gaa caa att aat gat	672
	Val Ile Asp Gly Asp Gln Leu Lys Glu Phe Trp Glu Gln Ile Asn Asp	
	210 215 220	
55	caa agt ttt gat tct cgg ctt aag aca ttc ttt gac atg gtg gat aaa	720
	Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Lys Thr Phe Phe Asp Met Val Asp Lys	
	225 230 235 240	
60	gat gct gat ggt aga ctt aca gaa gac gaa gtt aga gag ttg gag agt	768
	Asp Ala Asp Gly Arg Leu Thr Glu Asp Glu Val Arg Glu Leu Glu Ser	
	245 250 255	
65	ctt gag act ctg ctt ttg caa gcg gca aca cag tct gtg ata aca agt	816
	Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Ala Ala Thr Gln Ser Val Ile Thr Ser	
	260 265 270	

ES 2 341 238 T3

	act	ggg	gag	aga	aag	aat	ctg	agt	cat	atg	atg	agt	cag	agg	ctt	aag	864
	Thr	Gly	Glu	Arg	Lys	Asn	Leu	Ser	His	Met	Met	Ser	Gln	Arg	Leu	Lys	
			275					280					285				
5	cct	acg	ttt	aac	cgc	aac	ccg	ttg	aag	cga	tgg	tac	cgt	ggg	ctt	aga	912
	Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	Asn	Pro	Leu	Lys	Arg	Trp	Tyr	Arg	Gly	Leu	Arg	
			290				295					300					
10	ttc	ttc	ttg	tta	gac	aac	tgg	caa	aga	tgt	tgg	gtt	ata	gtg	cta	tgg	960
	Phe	Phe	Leu	Leu	Asp	Asn	Trp	Gln	Arg	Cys	Trp	Val	Ile	Val	Leu	Trp	
			305			310					315					320	
15	ttc	ata	gtt	atg	gct	ata	ctc	ttc	acc	tac	aaa	tat	atc	caa	tac	agg	1008
	Phe	Ile	Val	Met	Ala	Ile	Leu	Phe	Thr	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Gln	Tyr	Arg	
					325					330					335		
20	cgt	agc	cct	gtg	tat	cca	gtg	atg	ggg	gat	tgt	gtg	tgc	atg	gct	aaa	1056
	Arg	Ser	Pro	Val	Tyr	Pro	Val	Met	Gly	Asp	Cys	Val	Cys	Met	Ala	Lys	
				340					345					350			
25	ggg	gct	gca	gaa	aca	gtg	aag	ctg	aac	atg	gct	ttg	att	ctc	tta	cct	1104
	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Val	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	
			355					360					365				
30	gtt	tgt	aga	aac	acc	atc	aca	tgg	ctt	aga	aat	aag	acc	agg	ttg	ggg	1152
	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Lys	Thr	Arg	Leu	Gly	
			370				375					380					
35	cgt	gtt	gtc	cca	ttt	gat	gac	aat	ctc	aac	ttc	cac	aag	gtt	ata	gcg	1200
	Arg	Val	Val	Pro	Phe	Asp	Asn	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala		
						390					395				400		
40	gtg	ggg	att	ata	gtt	gga	gta	acg	atg	cac	gcc	ggg	gca	cat	tta	gcg	1248
	Val	Gly	Ile	Ile	Val	Gly	Val	Thr	Met	His	Ala	Gly	Ala	His	Leu	Ala	
					405					410					415		
45	tgt	gat	ttc	ccg	cgg	tta	cta	cat	gca	act	cca	gag	gca	tat	agg	cct	1296
	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Leu	His	Ala	Thr	Pro	Glu	Ala	Tyr	Arg	Pro	
				420					425					430			
50	tta	aga	cag	ttt	ttt	ggg	gat	gag	caa	cca	aag	agc	tac	tgg	cat	ttt	1344
	Leu	Arg	Gln	Phe	Phe	Gly	Asp	Glu	Gln	Pro	Lys	Ser	Tyr	Trp	His	Phe	
			435				440						445				
55	gta	aac	tcg	gta	gaa	ggg	ata	acc	gga	ctt	gtg	atg	gtt	ttg	tta	atg	1392
	Val	Asn	Ser	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Val	Met	Val	Leu	Leu	Met	
			450				455					460					
60	gcg	att	gca	ttc	aca	cta	gcc	acg	cct	tgg	ttc	aga	aga	ggg	aag	cta	1440
	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	Trp	Phe	Arg	Arg	Gly	Lys	Leu	
						470					475					480	
65	aac	tat	ctt	cca	gga	cca	tta	aag	aaa	cta	gct	agc	ttc	aat	gcc	ttc	1488
	Asn	Tyr	Leu	Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Leu	Ala	Ser	Phe	Asn	Ala	Phe	
					485					490					495		
70	tgg	tac	act	cat	cat	ttg	ttt	gtc	ata	gtc	tac	att	ctt	ctt	gtt	gct	1536
	Trp	Tyr	Thr	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	Leu	Val	Ala	
				500					505					510			
75	cat	gga	tac	tac	ttg	tat	ctc	acc	aga	gac	tgg	cac	aat	aaa	acg	act	1584
	His	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Trp	His	Asn	Lys	Thr	Thr	
				515				520					525				
80	tgg	atg	tat	ttg	gtg	gta	cca	gtg	gtt	cta	tac	gcg	tgt	gaa	agg	ttg	1632
	Trp	Met	Tyr	Leu	Val	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Ala	Cys	Glu	Arg	Leu	
							535					540					

ES 2 341 238 T3

	ata	aga	gca	ttc	agg	tcg	agc	atc	aag	gcg	gtg	act	att	agg	aaa	gta	1680
	Ile	Arg	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	Ala	Val	Thr	Ile	Arg	Lys	Val	
	545					550					555					560	
5	gca	gtt	tat	cca	gga	aac	gtg	ctg	gca	att	cac	ttg	tca	agg	cct	caa	1728
	Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ala	Ile	His	Leu	Ser	Arg	Pro	Gln	
					565					570						575	
10	aac	ttc	aaa	tac	aag	agt	ggg	caa	tac	atg	ttt	gtt	aac	tgt	gct	gct	1776
	Asn	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Asn	Cys	Ala	Ala	
				580					585							590	
15	gtt	tct	cca	ttt	gaa	tgg	cat	cca	ttt	tca	atc	aca	tct	gca	cca	caa	1824
	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gln	
			595					600					605				
	gat	gat	tac	cta	agt	gtt	cac	att	aga	gtt	ctt	ggg	gat	tgg	aca	cga	1872
	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Val	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg	
	610						615					620					
20	gct	ctc	aaa	gga	gtc	ttc	tct	gag	gtg	tgt	aag	cca	cca	ccg	gca	gga	1920
	Ala	Leu	Lys	Gly	Val	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Pro	Pro	Ala	Gly	
	625					630					635					640	
25	gtt	agt	ggg	ctg	ctt	aga	gcc	gac	atg	ttg	cat	ggg	gca	aat	aat	ccc	1968
	Val	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Met	Leu	His	Gly	Ala	Asn	Asn	Pro	
				645						650						655	
30	gac	ttc	ccg	aaa	gtc	ttg	att	gat	ggg	cca	tat	ggg	gca	cca	gca	caa	2016
	Asp	Phe	Pro	Lys	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	
				660					665							670	
	gac	tac	aag	aag	tac	gag	gtg	gtt	cta	cta	gtt	ggg	ctc	ggg	att	gga	2064
	Asp	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Glu	Val	Val	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	
			675				680						685				
35	gcc	aca	cca	atg	atc	agt	atc	gtc	aaa	gac	att	gtt	aat	aac	atc	aag	2112
	Ala	Thr	Pro	Met	Ile	Ser	Ile	Val	Lys	Asp	Ile	Val	Asn	Asn	Ile	Lys	
	690						695					700					
40	gcc	aag	gaa	caa	gcc	caa	cta	aac	cga	atg	gag	aat	gga	aca	agc	gaa	2160
	Ala	Lys	Glu	Gln	Ala	Gln	Leu	Asn	Arg	Met	Glu	Asn	Gly	Thr	Ser	Glu	
	705					710					715					720	
45	cca	caa	cga	agt	aag	aaa	gag	agt	ttc	agg	acc	cgt	aga	gct	tac	ttc	2208
	Pro	Gln	Arg	Ser	Lys	Lys	Glu	Ser	Phe	Arg	Thr	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	
				725						730						735	
	tat	tgg	gtt	acg	cgt	gag	caa	ggc	tct	ttc	gat	tgg	ttc	aag	aac	ata	2256
	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Asn	Ile	
				740					745							750	
50	atg	aac	gaa	gtc	gcg	gaa	cga	gat	gcc	aac	cgc	gtc	atc	gaa	atg	cat	2304
	Met	Asn	Glu	Val	Ala	Glu	Arg	Asp	Ala	Asn	Arg	Val	Ile	Glu	Met	His	
			755					760					765				
55	aac	tat	tgt	aca	agt	gtc	tat	gaa	gaa	ggg	gac	gct	cgt	tcc	gca	ctt	2352
	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	
		770					775					780					
	ata	cat	atg	ctt	caa	tca	cta	aac	cat	gca	aag	aac	ggc	gtc	gac	att	2400
	Ile	His	Met	Leu	Gln	Ser	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	
	785					790					795					800	
60	gtc	tct	gga	aca	aga	gtt	atg	tcc	cat	ttc	gct	aaa	cct	aat	tgg	aga	2448
	Val	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Met	Ser	His	Phe	Ala	Lys	Pro	Asn	Trp	Arg	
					805					810						815	

65

ES 2 341 238 T3

```

    aat gtt tac aag cgt ata gct atg gat cat cct aac acc aaa gtt gga 2496
    Asn Val Tyr Lys Arg Ile Ala Met Asp His Pro Asn Thr Lys Val Gly
        820                825                830
5    gtg ttt tac tgt gga gca cca gca ttg aca aag gag cta agg cat cta 2544
    Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ala Leu Thr Lys Glu Leu Arg His Leu
        835                840                845
    gct tta gat ttc acc cac aaa aca agc acc aga ttc tcc ttc cac aaa 2592
10   Ala Leu Asp Phe Thr His Lys Thr Ser Thr Arg Phe Ser Phe His Lys
        850                855                860
    gag aat ttc taa 2604
    Glu Asn Phe
15   865

<210> 20
<211> 867
<212> PRT
20   <213> Arabidopsis thaliana

<400> 20
25   Met Ser Arg Val Ser Phe Glu Val Ser Gly Gly Tyr His Ser Asp Ala
        1          5          10          15
    Glu Ala Gly Asn Ser Gly Pro Met Ser Gly Gly Gln Leu Pro Pro Ile
        20          25          30
30   Tyr Lys Lys Pro Gly Asn Ser Arg Phe Thr Ala Glu Asn Ser Gln Arg
        35          40          45
    Thr Arg Thr Ala Pro Tyr Val Asp Leu Thr Val Asp Val Gln Asp Asp
        50          55          60
35   Thr Val Ser Val His Ser Leu Lys Met Glu Gly Gly Ser Ser Val Glu
        65          70          75          80
    Glu Ser Pro Glu Leu Thr Leu Leu Lys Arg Asn Arg Leu Glu Lys Lys
        85          90          95
40   Thr Thr Val Val Lys Arg Leu Ala Ser Val Ser His Glu Leu Lys Arg
        100         105         110
    Leu Thr Ser Val Ser Gly Gly Ile Gly Gly Arg Lys Pro Pro Arg Pro
        115         120         125
45   Ala Lys Leu Asp Arg Thr Lys Ser Ala Ala Ser Gln Ala Leu Lys Gly
        130         135         140
    Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly Trp Ser Ala Val
50   145         150         155         160
    Glu Lys Arg Phe Asn Gln Ile Thr Ala Thr Thr Gly Gly Leu Leu Leu
        165         170         175
55   Arg Thr Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Thr Ser Lys Asp Phe Ala
        180         185         190
    Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ala Arg Arg Arg Asn Ile Thr Gly Glu
        195         200         205
60   Val Ile Asp Gly Asp Gln Leu Lys Glu Phe Trp Glu Gln Ile Asn Asp
        210         215         220
    Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Lys Thr Phe Phe Asp Met Val Asp Lys
        225         230         235         240
65   Asp Ala Asp Gly Arg Leu Thr Glu Asp Glu Val Arg Glu Leu Glu Ser
        245         250         255

```

ES 2 341 238 T3

	Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Ala	Thr	Gln	Ser	Val	Ile	Thr	Ser
				260					265					270		
5	Thr	Gly	Glu	Arg	Lys	Asn	Leu	Ser	His	Met	Met	Ser	Gln	Arg	Leu	Lys
			275					280					285			
	Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	Asn	Pro	Leu	Lys	Arg	Trp	Tyr	Arg	Gly	Leu	Arg
		290					295					300				
10	Phe	Phe	Leu	Leu	Asp	Asn	Trp	Gln	Arg	Cys	Trp	Val	Ile	Val	Leu	Trp
	305					310					315					320
	Phe	Ile	Val	Met	Ala	Ile	Leu	Phe	Thr	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Gln	Tyr	Arg
					325					330					335	
15	Arg	Ser	Pro	Val	Tyr	Pro	Val	Met	Gly	Asp	Cys	Val	Cys	Met	Ala	Lys
				340					345					350		
	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Val	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro
20			355					360					365			
	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Lys	Thr	Arg	Leu	Gly
		370					375					380				
25	Arg	Val	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala
	385					390					395					400
	Val	Gly	Ile	Ile	Val	Gly	Val	Thr	Met	His	Ala	Gly	Ala	His	Leu	Ala
					405					410					415	
30	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Leu	His	Ala	Thr	Pro	Glu	Ala	Tyr	Arg	Pro
				420					425					430		
	Leu	Arg	Gln	Phe	Phe	Gly	Asp	Glu	Gln	Pro	Lys	Ser	Tyr	Trp	His	Phe
			435					440					445			
35	Val	Asn	Ser	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Val	Met	Val	Leu	Leu	Met
		450					455					460				
	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	Trp	Phe	Arg	Arg	Gly	Lys	Leu
40	465					470					475					480
	Asn	Tyr	Leu	Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Leu	Ala	Ser	Phe	Asn	Ala	Phe
				485						490					495	
45	Trp	Tyr	Thr	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	Leu	Val	Ala
				500					505					510		
	His	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Trp	His	Asn	Lys	Thr	Thr
		515						520					525			
50	Trp	Met	Tyr	Leu	Val	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Ala	Cys	Glu	Arg	Leu
		530					535					540				
	Ile	Arg	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	Ala	Val	Thr	Ile	Arg	Lys	Val
	545					550					555					560
55	Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ala	Ile	His	Leu	Ser	Arg	Pro	Gln
				565						570					575	
	Asn	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Asn	Cys	Ala	Ala
				580					585					590		
60	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gln
			595					600					605			
	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Val	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg
65		610					615					620				
	Ala	Leu	Lys	Gly	Val	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Pro	Pro	Ala	Gly
	625					630					635					640

ES 2 341 238 T3

Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Met Leu His Gly Ala Asn Asn Pro
 645 650 655
 5 Asp Phe Pro Lys Val Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln
 660 665 670
 Asp Tyr Lys Lys Tyr Glu Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly
 675 680 685
 10 Ala Thr Pro Met Ile Ser Ile Val Lys Asp Ile Val Asn Asn Ile Lys
 690 695 700
 Ala Lys Glu Gln Ala Gln Leu Asn Arg Met Glu Asn Gly Thr Ser Glu
 705 710 715 720
 15 Pro Gln Arg Ser Lys Lys Glu Ser Phe Arg Thr Arg Arg Ala Tyr Phe
 725 730 735
 Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Asn Ile
 740 745 750
 20 Met Asn Glu Val Ala Glu Arg Asp Ala Asn Arg Val Ile Glu Met His
 755 760 765
 Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu
 770 775 780
 25 Ile His Met Leu Gln Ser Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile
 785 790 795 800
 Val Ser Gly Thr Arg Val Met Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg
 805 810 815
 30 Asn Val Tyr Lys Arg Ile Ala Met Asp His Pro Asn Thr Lys Val Gly
 820 825 830
 Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ala Leu Thr Lys Glu Leu Arg His Leu
 835 840 845
 35 Ala Leu Asp Phe Thr His Lys Thr Ser Thr Arg Phe Ser Phe His Lys
 850 855 860
 40 Glu Asn Phe
 865

<210> 21
 <211> 2709
 45 <212> DNA
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <220>
 50 <221> CDS
 <222> (1)..(2706)
 <223> coding for Oxidasa NADPH
 55 <400> 21

atg atg aat cga agt gaa atg caa aag tta ggt ttc gaa cac gtg aga 48
 Met Met Asn Arg Ser Glu Met Gln Lys Leu Gly Phe Glu His Val Arg
 1 5 10 15
 60 tac tac aca gag tgg ccg tac aac aga gga gag tcc tgg gcg aac gtg 96
 Tyr Tyr Thr Glu Ser Pro Tyr Asn Arg Gly Glu Ser Ser Ala Asn Val
 20 25 30
 gcg acg aca agc aac tat tac ggt gaa gat gaa cca tac gtg gag atc 144
 Ala Thr Thr Ser Asn Tyr Tyr Gly Glu Asp Glu Pro Tyr Val Glu Ile
 35 40 45

ES 2 341 238 T3

	acg cta gat atc cac gac gat tcc gtc tcc gtg tac ggc ttg aag tca	192
	Thr Leu Asp Ile His Asp Asp Ser Val Ser Val Tyr Gly Leu Lys Ser	
	50 55 60	
5	ccg aac cat cga ggg gcc ggg tct aat tat gag gat caa tcg ctt ctc	240
	Pro Asn His Arg Gly Ala Gly Ser Asn Tyr Glu Asp Gln Ser Leu Leu	
	65 70 75 80	
10	aga caa ggt cgt tca ggg agg agt aac tcg gta ttg aaa cgc ttg gct	288
	Arg Gln Gly Arg Ser Gly Arg Ser Asn Ser Val Leu Lys Arg Leu Ala	
	85 90 95	
15	tct tct gtt tcc acc gga ata aca cga gtt gct tct tct gtt tct tcg	336
	Ser Ser Val Ser Thr Gly Ile Thr Arg Val Ala Ser Ser Val Ser Ser	
	100 105 110	
	tct tcc gcg aga aaa cca ccg cgg ccg cag ctg gct aag ctg cgc cgt	384
	Ser Ser Ala Arg Lys Pro Pro Arg Pro Gln Leu Ala Lys Leu Arg Arg	
	115 120 125	
20	tcg aaa tct aga gca gag cta gct ctc aaa ggt ctt aaa ttc atc acc	432
	Ser Lys Ser Arg Ala Glu Leu Ala Leu Lys Gly Leu Lys Phe Ile Thr	
	130 135 140	
25	aag act gat ggt gtc act ggt tgg cct gaa gtt gag aaa cgg ttt tat	480
	Lys Thr Asp Gly Val Thr Gly Trp Pro Glu Val Glu Lys Arg Phe Tyr	
	145 150 155 160	
30	gtg atg aca atg act aat aac gga tta tta cac cga tcc aga ttc ggt	528
	Val Met Thr Met Thr Asn Asn Gly Leu Leu His Arg Ser Arg Phe Gly	
	165 170 175	
	gaa tgt ata ggg atg aaa tcg acg gag ttt gcg ttg gca ttg ttc gat	576
	Glu Cys Ile Gly Met Lys Ser Thr Glu Phe Ala Leu Ala Leu Phe Asp	
	180 185 190	
35	gct tta gcg agg agg gaa aac gta agc gga gat tca ata aac atg aat	624
	Ala Leu Ala Arg Arg Glu Asn Val Ser Gly Asp Ser Ile Asn Met Asn	
	195 200 205	
40	gag ctt aaa gag ttc tgg aag cag atc act gat caa gat ttt gat tca	672
	Glu Leu Lys Glu Phe Trp Lys Gln Ile Thr Asp Gln Asp Phe Asp Ser	
	210 215 220	
45	agg cta cga act ttc ttc gcc atg gtc gat aag gat tcg gat ggg cgg	720
	Arg Leu Arg Thr Phe Phe Ala Met Val Asp Lys Asp Ser Asp Gly Arg	
	225 230 235 240	
	ttg aat gaa gcc gaa gta aga gag att ata act tta agt gct tct gca	768
	Leu Asn Glu Ala Glu Val Arg Glu Ile Ile Thr Leu Ser Ala Ser Ala	
	245 250 255	
50	aac gag ttg gat aac att cgg aga caa gct gat gaa tat gct gct ttg	816
	Asn Glu Leu Asp Asn Ile Arg Arg Gln Ala Asp Glu Tyr Ala Ala Leu	
	260 265 270	
55	att atg gaa gaa ctc gat cct tat cat tat gga tac atc atg ata gag	864
	Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Tyr His Tyr Gly Tyr Ile Met Ile Glu	
	275 280 285	
60	aat ctc gag ata ctt cta ttg caa gcg ccg atg cag gat gtg aga gat	912
	Asn Leu Glu Ile Leu Leu Leu Gln Ala Pro Met Gln Asp Val Arg Asp	
	290 295 300	
65	gga gag agt aag aag cta agc aag atg cta agt cag aat ctc atg gtt	960
	Gly Glu Ser Lys Lys Leu Ser Lys Met Leu Ser Gln Asn Leu Met Val	
	305 310 315 320	

ES 2 341 238 T3

	ccg	cag	agt	agg	aat	ctc	ggg	gca	cgt	ttt	tgc	aga	ggg	atg	aag	tat	1008
	Pro	Gln	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Ala	Arg	Phe	Cys	Arg	Gly	Met	Lys	Tyr	
					325					330					335		
5	ttt	ttg	ttt	gat	aat	tgg	aag	aga	gtg	tgg	gtg	atg	gct	cta	tgg	ata	1056
	Phe	Leu	Phe	Asp	Asn	Trp	Lys	Arg	Val	Trp	Val	Met	Ala	Leu	Trp	Ile	
				340					345					350			
10	ggt	gct	atg	gcg	ggt	ttg	ttc	acg	tgg	aag	ttt	atg	gag	tat	cga	aaa	1104
	Gly	Ala	Met	Ala	Gly	Leu	Phe	Thr	Trp	Lys	Phe	Met	Glu	Tyr	Arg	Lys	
			355					360					365				
15	aga	tcc	gct	tac	gaa	gtc	atg	gga	gtt	tgt	gtt	tgt	ata	gct	aaa	gga	1152
	Arg	Ser	Ala	Tyr	Glu	Val	Met	Gly	Val	Cys	Val	Cys	Ile	Ala	Lys	Gly	
		370					375					380					
20	gct	gca	gag	acg	ctt	aaa	cta	aac	atg	gct	atg	att	ttg	tta	cca	gtt	1200
	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Met	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	
	385					390					395				400		
25	tgt	agg	aac	acc	atc	act	tgg	ctg	cgg	acc	aaa	acc	aag	tta	agt	gct	1248
	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Thr	Lys	Thr	Lys	Leu	Ser	Ala	
				405					410						415		
30	att	gtt	cct	ttc	gat	gac	agc	ctc	aat	ttt	cac	aag	gtc	ata	gct	ata	1296
	Ile	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Ser	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ile	
				420				425						430			
35	gga	att	tca	gtt	gga	gtt	gga	atc	cat	gct	aca	tct	cac	tta	gca	tgt	1344
	Gly	Ile	Ser	Val	Gly	Val	Gly	Ile	His	Ala	Thr	Ser	His	Leu	Ala	Cys	
			435				440						445				
40	gat	ttc	ccc	cga	ctg	ata	gct	gca	gac	gaa	gat	cag	tat	gag	cca	atg	1392
	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Asp	Glu	Asp	Gln	Tyr	Glu	Pro	Met	
	450					455						460					
45	gag	aag	tat	ttt	ggg	cca	cag	aca	aag	aga	tat	ttg	gac	ttt	gtt	caa	1440
	Glu	Lys	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gln	Thr	Lys	Arg	Tyr	Leu	Asp	Phe	Val	Gln	
	465				470					475					480		
50	tcg	gta	gaa	gga	gtt	acc	ggg	att	gga	atg	gtt	gta	cta	atg	acc	ata	1488
	Ser	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Gly	Met	Val	Val	Leu	Met	Thr	Ile	
				485						490					495		
55	gcc	ttt	aca	ttg	gct	aca	aca	tgg	ttc	aga	cgt	aat	aag	ctc	aac	ctt	1536
	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Thr	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Lys	Leu	Asn	Leu	
			500					505						510			
60	cct	gga	cca	ctg	aag	aaa	ata	aca	ggc	ttc	aat	gcc	ttc	tgg	tac	tct	1584
	Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Ile	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	
			515					520					525				
65	cac	cac	tta	ttt	gtt	atc	gtc	tac	tcg	ctt	ctt	gtc	gtt	cat	gga	ttc	1632
	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Val	His	Gly	Phe	
			530				535					540					
70	tac	gta	tac	ctc	atc	atc	gag	cca	tgg	tac	aag	aaa	acg	aca	tgg	atg	1680
	Tyr	Val	Tyr	Leu	Ile	Ile	Glu	Pro	Trp	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	
	545					550					555				560		
75	tat	ttg	atg	gta	ccg	gtg	gtt	ctt	tac	ttg	tgt	gaa	agg	ctg	att	cgt	1728
	Tyr	Leu	Met	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Leu	Cys	Glu	Arg	Leu	Ile	Arg	
				565						570					575		
80	gca	ttc	agg	tca	agc	gtc	gag	gct	gtt	tca	gtg	cta	aag	gtt	gct	gtg	1776
	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Val	Glu	Ala	Val	Ser	Val	Leu	Lys	Val	Ala	Val	
				580					585					590			

ES 2 341 238 T3

	tta	cca	ggg	aat	gtc	ttg	tcg	ctt	cac	ttg	tca	aga	cca	agc	aac	ttc	1824
	Leu	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ser	Leu	His	Leu	Ser	Arg	Pro	Ser	Asn	Phe	
			595					600					605				
5	aga	tac	aag	agt	gga	caa	tac	atg	tat	ctc	aac	tgt	tct	gca	gtt	tct	1872
	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Tyr	Leu	Asn	Cys	Ser	Ala	Val	Ser	
		610					615				620						
10	aca	tta	gaa	tgg	cat	cca	ttc	tca	att	acc	tca	gct	cca	gga	gat	gac	1920
	Thr	Leu	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	
		625				630					635					640	
15	tac	ctc	agt	gtc	cac	atc	agg	gtt	tta	gga	gac	tgg	act	aag	caa	tta	1968
	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Val	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Lys	Gln	Leu	
				645						650					655		
	aga	tca	tta	ttc	tct	gag	gtg	tgc	aag	cca	cgc	cct	cct	gat	gaa	cac	2016
	Arg	Ser	Leu	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Arg	Pro	Pro	Asp	Glu	His	
			660					665						670			
20	aga	ctg	aac	aga	gcc	gac	tcg	aag	cac	tgg	gat	tac	atc	cct	gac	ttt	2064
	Arg	Leu	Asn	Arg	Ala	Asp	Ser	Lys	His	Trp	Asp	Tyr	Ile	Pro	Asp	Phe	
			675					680					685				
25	cca	aga	atc	cta	att	gat	ggg	cca	tat	gga	gca	cca	gca	caa	gac	tac	2112
	Pro	Arg	Ile	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	
			690				695					700					
30	aag	aag	ttt	gaa	gtt	gtt	ctg	cta	gtg	ggg	cta	gga	atc	ggg	gcc	act	2160
	Lys	Lys	Phe	Glu	Val	Val	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	
		705			710						715					720	
	ccg	atg	atc	agc	ata	gtg	agt	gac	ata	atc	aat	aac	ttg	aaa	ggc	gtg	2208
	Pro	Met	Ile	Ser	Ile	Val	Ser	Asp	Ile	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Gly	Val	
				725				730							735		
35	gaa	gaa	ggc	agt	aac	cga	aga	cag	tca	ccg	atc	cat	aat	atg	gtc	aca	2256
	Glu	Glu	Gly	Ser	Asn	Arg	Arg	Gln	Ser	Pro	Ile	His	Asn	Met	Val	Thr	
			740					745					750				
40	cct	cct	gtt	tct	cca	tca	aga	aaa	agt	gag	acg	ttc	aga	acc	aag	aga	2304
	Pro	Pro	Val	Ser	Pro	Ser	Arg	Lys	Ser	Glu	Thr	Phe	Arg	Thr	Lys	Arg	
			755					760					765				
45	gct	tac	ttc	tac	tgg	gtc	aca	aga	gag	cag	ggg	tcg	ttt	gac	tgg	ttc	2352
	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	
		770				775						780					
	aag	aac	gtg	atg	gac	gaa	gtg	act	gaa	aca	gac	cgc	aaa	aac	gta	att	2400
	Lys	Asn	Val	Met	Asp	Glu	Val	Thr	Glu	Thr	Asp	Arg	Lys	Asn	Val	Ile	
		785			790						795					800	
50	gag	ctg	cat	aat	tac	tgc	acc	agc	gtt	tac	gag	gaa	ggg	gac	gcg	agg	2448
	Glu	Leu	His	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	
				805						810					815		
55	tct	gca	ctt	atc	acg	atg	ctc	cag	tct	cta	aac	cat	gct	aag	cat	gga	2496
	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met	Leu	Gln	Ser	Leu	Asn	His	Ala	Lys	His	Gly	
			820					825						830			
	gtg	gac	gtt	gtg	tca	gga	aca	cgt	gtc	atg	tcc	cat	ttc	gct	agg	cca	2544
	Val	Asp	Val	Val	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Met	Ser	His	Phe	Ala	Arg	Pro	
			835					840					845				
60	aac	tgg	aga	agc	gtt	ttc	aaa	agg	atc	gct	gtg	aat	cat	cct	aag	act	2592
	Asn	Trp	Arg	Ser	Val	Phe	Lys	Arg	Ile	Ala	Val	Asn	His	Pro	Lys	Thr	
		850					855					860					

65

ES 2 341 238 T3

```

    aga gtc gga gtg ttt tat tgt gga gca gct ggg tta gtg aaa gag tta 2640
    Arg Val Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Ala Gly Leu Val Lys Glu Leu
    865                870                875                880

5    cga cac tta tca ctg gat ttc tct cat aag acc tcc acc aag ttc atc 2688
    Arg His Leu Ser Leu Asp Phe Ser His Lys Thr Ser Thr Lys Phe Ile
    885                890                895

    ttc cat aaa gag aat ttc taa 2709
    Phe His Lys Glu Asn Phe
    900

10  <210> 22
    <211> 902
    <212> PRT
15  <213> Arabidopsis thaliana

    <400> 22

20    Met Met Asn Arg Ser Glu Met Gln Lys Leu Gly Phe Glu His Val Arg
    1                5                10                15

    Tyr Tyr Thr Glu Ser Pro Tyr Asn Arg Gly Glu Ser Ser Ala Asn Val
    20                25                30

25    Ala Thr Thr Ser Asn Tyr Tyr Gly Glu Asp Glu Pro Tyr Val Glu Ile
    35                40                45

    Thr Leu Asp Ile His Asp Asp Ser Val Ser Val Tyr Gly Leu Lys Ser
    50                55                60

30    Pro Asn His Arg Gly Ala Gly Ser Asn Tyr Glu Asp Gln Ser Leu Leu
    65                70                75                80

    Arg Gln Gly Arg Ser Gly Arg Ser Asn Ser Val Leu Lys Arg Leu Ala
    85                90                95

35    Ser Ser Val Ser Thr Gly Ile Thr Arg Val Ala Ser Ser Val Ser Ser
    100                105                110

    Ser Ser Ala Arg Lys Pro Pro Arg Pro Gln Leu Ala Lys Leu Arg Arg
    115                120                125

40    Ser Lys Ser Arg Ala Glu Leu Ala Leu Lys Gly Leu Lys Phe Ile Thr
    130                135                140

    Lys Thr Asp Gly Val Thr Gly Trp Pro Glu Val Glu Lys Arg Phe Tyr
    145                150                155                160

    Val Met Thr Met Thr Asn Asn Gly Leu Leu His Arg Ser Arg Phe Gly
    165                170                175

50    Glu Cys Ile Gly Met Lys Ser Thr Glu Phe Ala Leu Ala Leu Phe Asp
    180                185                190

    Ala Leu Ala Arg Arg Glu Asn Val Ser Gly Asp Ser Ile Asn Met Asn
    195                200                205

55    Glu Leu Lys Glu Phe Trp Lys Gln Ile Thr Asp Gln Asp Phe Asp Ser
    210                215                220

    Arg Leu Arg Thr Phe Phe Ala Met Val Asp Lys Asp Ser Asp Gly Arg
    225                230                235                240

60    Leu Asn Glu Ala Glu Val Arg Glu Ile Ile Thr Leu Ser Ala Ser Ala
    245                250                255

    Asn Glu Leu Asp Asn Ile Arg Arg Gln Ala Asp Glu Tyr Ala Ala Leu
    260                265                270

```

ES 2 341 238 T3

	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Tyr	His	Tyr	Gly	Tyr	Ile	Met	Ile	Glu
			275					280					285			
5	Asn	Leu	Glu	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Met	Gln	Asp	Val	Arg	Asp
		290					295					300				
	Gly	Glu	Ser	Lys	Lys	Leu	Ser	Lys	Met	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Met	Val
	305					310					315					320
10	Pro	Gln	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Ala	Arg	Phe	Cys	Arg	Gly	Met	Lys	Tyr
				325						330					335	
	Phe	Leu	Phe	Asp	Asn	Trp	Lys	Arg	Val	Trp	Val	Met	Ala	Leu	Trp	Ile
				340					345					350		
15	Gly	Ala	Met	Ala	Gly	Leu	Phe	Thr	Trp	Lys	Phe	Met	Glu	Tyr	Arg	Lys
			355					360					365			
	Arg	Ser	Ala	Tyr	Glu	Val	Met	Gly	Val	Cys	Val	Cys	Ile	Ala	Lys	Gly
		370					375					380				
20	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Met	Ile	Leu	Leu	Pro	Val
	385					390					395					400
	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Thr	Lys	Thr	Lys	Leu	Ser	Ala
25				405						410					415	
	Ile	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Ser	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ile
				420					425					430		
30	Gly	Ile	Ser	Val	Gly	Val	Gly	Ile	His	Ala	Thr	Ser	His	Leu	Ala	Cys
			435				440						445			
	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Asp	Glu	Asp	Gln	Tyr	Glu	Pro	Met
		450					455					460				
35	Glu	Lys	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gln	Thr	Lys	Arg	Tyr	Leu	Asp	Phe	Val	Gln
	465				470						475					480
	Ser	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Gly	Met	Val	Val	Leu	Met	Thr	Ile
				485					490					495		
40	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Thr	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Lys	Leu	Asn	Leu
				500					505					510		
	Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Ile	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser
			515					520					525			
45	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Val	His	Gly	Phe
		530					535					540				
	Tyr	Val	Tyr	Leu	Ile	Ile	Glu	Pro	Trp	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Trp	Met
	545				550						555					560
50	Tyr	Leu	Met	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Leu	Cys	Glu	Arg	Leu	Ile	Arg
				565						570					575	
	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Val	Glu	Ala	Val	Ser	Val	Leu	Lys	Val	Ala	Val
55				580					585					590		
	Leu	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ser	Leu	His	Leu	Ser	Arg	Pro	Ser	Asn	Phe
			595					600					605			
60	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Tyr	Leu	Asn	Cys	Ser	Ala	Val	Ser
		610					615					620				
	Thr	Leu	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp
	625					630					635					640
65	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Val	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Lys	Gln	Leu
				645						650					655	

ES 2 341 238 T3

Arg Ser Leu Phe Ser Glu Val Cys Lys Pro Arg Pro Pro Asp Glu His
 660 665 670
 Arg Leu Asn Arg Ala Asp Ser Lys His Trp Asp Tyr Ile Pro Asp Phe
 5 675 680 685
 Pro Arg Ile Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr
 690 695 700
 Lys Lys Phe Glu Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr
 10 705 710 715 720
 Pro Met Ile Ser Ile Val Ser Asp Ile Ile Asn Asn Leu Lys Gly Val
 725 730 735
 Glu Glu Gly Ser Asn Arg Arg Gln Ser Pro Ile His Asn Met Val Thr
 15 740 745 750
 Pro Pro Val Ser Pro Ser Arg Lys Ser Glu Thr Phe Arg Thr Lys Arg
 20 755 760 765
 Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe
 770 775 780
 Lys Asn Val Met Asp Glu Val Thr Glu Thr Asp Arg Lys Asn Val Ile
 25 785 790 795 800
 Glu Leu His Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg
 805 810 815
 Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ser Leu Asn His Ala Lys His Gly
 30 820 825 830
 Val Asp Val Val Ser Gly Thr Arg Val Met Ser His Phe Ala Arg Pro
 835 840 845
 Asn Trp Arg Ser Val Phe Lys Arg Ile Ala Val Asn His Pro Lys Thr
 35 850 855 860
 Arg Val Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Ala Gly Leu Val Lys Glu Leu
 40 865 870 875 880
 Arg His Leu Ser Leu Asp Phe Ser His Lys Thr Ser Thr Lys Phe Ile
 885 890 895
 Phe His Lys Glu Asn Phe
 45 900

<210> 23

<211> 20

50 <212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

55 <223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de oligonucleótido

<400> 23

60 garcaaggct cttttgattg

20

<210> 24

<211> 21

65 <212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 341 238 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de oligonucleótido

<400> 24

5

gaaatgctcc ttatggaatt c

21

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65