



(72) BROCARD, INES, FR

(72) CHARLOT, FLORENCE, FR

(72) TEOULE, EVELYNE, FR

(72) GUERCHE, PHILIPPE, FR

(71) INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE-  
INRA, FR

(51) Int.Cl.<sup>7</sup> C12N 15/82, C12N 15/29, C12N 5/10, A01H 5/00

(30) 1997/09/23 (97/11832) FR

(54) **PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE  
D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE**

(54) **PETAL-SPECIFIC PROMOTER AND METHOD FOR  
OBTAINING PLANTS HAVING FLOWERS WITH NO PETALS**

(57) L'invention concerne un promoteur spécifique des pétales ainsi qu'un procédé d'obtention de plantes à fleurs sans pétale.

(57) The invention concerns a petal-specific promoter and a method for obtaining plants having flowers with no petals.

**PCT**ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE  
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>C12N 15/82, 15/29, 5/10, A01H 5/00</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 99/15679</b> (43) Date de publication internationale: 1er avril 1999 (01.04.99)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02043 (22) Date de dépôt international: 23 septembre 1998 (23.09.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/11832 23 septembre 1997 (23.09.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE [FR/FR]; 147, rue de l'Université, F-75007 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BROCARD, Inès [FR/FR]; 49, rue du Colonel de Bauge, F-78150 Le Chesnay (FR). CHARLOT, Florence [FR/FR]; 27, rue du Caire, F-75002 Paris (FR). TEOULE, Evelyne [FR/FR]; 1, rue Daniel Barberousse, F-78210 Saint Cyr l'Ecole (FR). GUERCHE, Philippe [FR/FR]; 7, rue Marceau, F-92170 Vanves (FR). (74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).</p>	<p>(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p><b>Publiée</b> Avec rapport de recherche internationale.</p>	
<p>(54) Title: PETAL-SPECIFIC PROMOTER AND METHOD FOR OBTAINING PLANTS HAVING FLOWERS WITH NO PETALS (54) Titre: PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE (57) Abstract The invention concerns a petal-specific promoter and a method for obtaining plants having flowers with no petals. (57) Abrégé L'invention concerne un promoteur spécifique des pétales ainsi qu'un procédé d'obtention de plantes à fleurs sans pétale.</p>		

**PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE  
D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE**

La présente invention concerne notamment un promoteur spécifique des  
5 pétales et un procédé d'obtention de plantes à fleurs sans pétale.

L'intérêt de l'obtention de plantes dépourvues de pétales est parti de  
l'observation que les pétales sénescents, en tombant sur les feuilles pourraient  
fournir des foyers d'infection privilégiés pour les spores de certains champignons  
pathogènes. Dans le cas du colza, par exemple, le mode d'infection de *Sclerotinia*  
10 *sclerotiorum* suit principalement cette voie. Ce champignon est responsable en  
effet d'importants dommages sur les cultures de colza (Lamarque, 1983) et on ne  
connaît pas de résistance génétique à celui-ci ni chez le colza ni chez les espèces  
apparentées. Ainsi, à l'heure actuelle, seuls les traitements chimiques préventifs  
sont utilisés.

15 La lutte contre *Sclerotinia sclerotiorum* par le biais de plantes dont les  
fleurs n'auraient pas de pétales permettrait de diminuer l'utilisation de fongicide et  
limiterait donc la pollution des sols subséquente.

Il s'agit donc de produire des plantes à fleurs sans pétale et d'éprouver ainsi  
une stratégie de lutte contre le susdit champignon basée sur une résistance  
20 "physique" et non pas sur l'utilisation de gènes de résistance au sens classique.

La présente invention propose donc d'obtenir des plantes dont les fleurs  
seraient dépourvues de pétales. Elle consiste à mettre en œuvre une région  
promotrice contrôlant l'expression spécifiquement dans les pétales d'une séquence  
(orf) codant pour une molécule susceptible de modifier les caractéristiques  
25 naturelles du pétale voire d'en inhiber la formation.

Ainsi, on peut envisager de modifier la structure, la forme, la coloration  
et/ou la structure des pétales de fleurs en plaçant, en aval de la région promotrice  
ci-dessus décrite des gènes impliqués dans la biosynthèse des pigments ou des  
gènes de régulation comme les protéines MYB (Noda et al. 1994). Ce type

d'expérience a déjà été réalisé (Elomma et al., 1996 ; Gutterson, 1995). Toutefois, les promoteurs utilisés sont plutôt de types constitutifs comme le 35S du CaMV alors qu'il serait intéressant de confiner l'expression du transgène à l'organe ciblé. On peut donc, dans le cadre de la présente invention, envisager la création de  
5 plantes ornementales originales.

La présente invention a donc pour objet une séquence nucléotidique dont il a été démontrée que le gène correspondant s'exprime spécifiquement dans le pétale, cette séquence nucléotidique correspond à SEQ ID N° 5.

Par conséquent, la présente invention a pour objet une séquence  
10 nucléotidique qui correspond à tout ou partie :

- a) de la séquence selon SEQ ID N° 5, ou
- b) d'une séquence s'hybridant à la séquence selon a), ou
- c) d'une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec a) ou b).

Dans le cadre de la présente invention, la partie la plus intéressante de  
15 cette séquence nucléotidique est la région promotrice définie comme étant la séquence précédant (côté 5') le codon du début de traduction (ATG). *Strito sensu* cette région promotrice s'étend du nucléotide 1 au nucléotide 3265 (c'est-à-dire au dernier nucléotide précédant immédiatement le codon ATG) mais, compte tenu des sites de restriction, cette région s'étend préférentiellement du nucléotide 1 au  
20 nucléotide 3233 (correspondant au site *AvaI*) et plus préférentiellement encore du nucléotide 2911 au nucléotide 3233 de SEQ ID N° 5.

Cette région promotrice précède donc à l'état naturel, un orf qui est exprimé spécifiquement dans les pétales et dans le cas où cet orf est remplacé (par manipulation génétique) par un autre orf dont le produit est une molécule  
25 cytotoxique, cette dernière est susceptible de ne détruire que lesdits pétales. Le remplacement peut également être réalisé par une partie de gène susceptible, lors de son expression spécifique dans le pétale, d'en modifier les caractéristiques d'origine.

La présente invention a donc également pour objet des vecteurs d'expression cellulaire comprenant une région promotrice telle que ci-dessus décrite placée en amont d'une séquence d'ADN codant pour un produit capable de modifier la structure, la forme, la coloration et/ou la texture des pétales de fleurs, ainsi qu'un procédé d'obtention de plantes ornementales comprenant l'insertion dans lesdites plantes d'un de ces vecteurs. L'invention comprend également le cas où ladite séquence d'ADN code pour un produit cytotoxique.

Avantageusement, le produit cytotoxique en question est une ribonucléase. En effet, lorsque cette RNase s'exprimera spécifiquement dans les pétales, elle en détruira tous les ARN, ce à quoi le pétale ne pourra pas survivre. Préférentiellement, la RNase est la barnase, dont l'orf correspondant a été isolé de *Bacillus amyloliquefasciens* (Hartley RW, 1988).

Il s'agit donc d'introduire un vecteur conforme à l'invention dans une souche bactérienne susceptible de réaliser la transformation de cellules de plantes telles qu'*Agrobacterium tumefaciens*. Ceci peut notamment être réalisée par la méthode d'infiltration de plantes d'*Arabidopsis thaliana* décrite par Bechtold et al.; 1993. Cette technique consiste à introduire la bactérie dans les cellules des hampes florales par infiltration sous vide. Les plantes sont ensuite repiquées en serre et leurs graines récoltées. Environ une graine sur mille donne naissance à des plantes dont toutes les cellules portent le transgène. La transformation d'autres plantes et notamment du colza peut être réalisée par l'intermédiaire d'*Agrobacterium tumefaciens* et/ou d'*Agrobacterium rhizogenes* à l'aide de diverses techniques, maintenant classiques (transformation de disques foliaires, d'hypocotyles de hampes florales...) associant une phase de co-culture de la bactérie avec les tissus végétaux, suivie de la sélection et de la régénération des cellules transformées en plantes entières. D'autres techniques de transformation ne font pas intervenir cette bactérie et permettent de transférer directement le gène cloné dans des cellules ou des tissus (électroporation, canon à particules...) et de sélectionner et d'obtenir des plantes transformées (technique revue par Siemens et Schieder).

La présente invention a également pour objet des cellules de plantes transformées avec un vecteur conforme à l'invention ainsi que des plantes comprenant lesdites cellules. L'invention a également pour objet des plantes dont les fleurs n'ont pas de pétales.

5 Comme indiqué précédemment, la présente invention permet donc l'obtention de plantes dont les fleurs n'ont pas de pétales ; le procédé conforme à l'invention comprenant l'insertion dans les plantes d'un vecteur tel que ci-dessus décrit et comprenant une séquence d'ADN codant pour un produit cytotoxique.

10 Dans le cadre de la présente invention, on peut également envisager d'obtenir des plantes hybrides par croisement de deux lignées dont on chercherait à associer les qualités agronomiques. Cependant, afin que la pollinisation entomophile s'opère de façon optimum, il est nécessaire que les parents de l'hybride en question portent des pétales. Un tel croisement n'est donc possible qu'au moyen d'un système d'activation du gène toxique à double composante. Le  
15 principe d'un tel système consiste à disposer de deux lignées portant chacune un constituant n'ayant pas d'activité cytotoxique. L'activité toxique spécifique est alors restaurée dans les hybrides de ces deux lignées par combinaison des deux constituants.

Un exemple possible d'un tel système consiste à inactiver le produit  
20 d'expression que l'on veut contrôler par insertion d'au moins un codon stop au début de la séquence codante correspondante puis d'ajouter en *trans* dans le système, un ARNt dit "suppresseur" qui va reconnaître le ou les codon(s) stop et apporter l'acide aminé qu'il porte au lieu de terminer la traduction. La protéine pourra alors être traduite intégralement et son activité restaurée. Un tel système a  
25 déjà été expérimenté concernant la séquence codante du gène GUS dans laquelle a été insérée le codon stop ambre, l'ARNt suppresseur utilisé étant porteur de la leucine. De plus, la fonctionnalité d'un tel système de transactivation utilisant un ARNt<sup>Leu</sup> suppresseur a été vérifié *in planta* dans *Arabidopsis thaliana* et *Nicotiana tabacum*. Ce modèle a été ensuite appliqué au cas de la barnase. Des

gènes mutés (c'est-à-dire dans lesquels ont été insérés un codon stop) codant pour la barnase et dépendant de l'expression du gène de ARNt<sup>L<sup>eu</sup></sup> ont été obtenus et testés en expression transitoire dans des protoplastes de tabac (Choisne Nathalie, 1997).

5 La présente invention concerne donc également un procédé d'obtention de plantes hybrides dont les fleurs n'ont pas de pétale et comprenant les étapes de :

- a) transformation de plantes d'une lignée A avec un vecteur conforme à l'invention et comprenant une séquence d'ADN codant pour séquence cytotoxique modifiée par l'insertion d'au moins un codon stop,
- 10 b) croisement des plantes de lignée A ainsi obtenues avec des plantes de lignée B exprimant le gène d'un ARNt suppresseur,
- c) sélection des plantes hybrides avec des fleurs sans pétales.

Dans le cadre de la présente invention, les plantes de lignée A sont transformées par une construction similaire à pIB352 telle que représentée dans la  
15 figure 7.

Avantageusement, les plantes conformes à l'invention appartiennent à la famille des Brassicacées, préférentiellement, il s'agit du colza.

La figure 1 illustre l'analyse par hybridation de type Northern d'ARN polyA+ (2 µg) et des ARN totaux (10 µg) de colza. La membrane est hybridée  
20 avec l'ADNc 9.2 entier marqué au <sup>32</sup>P. La révélation est faite après 24 heures d'exposition à - 80°C avec un écran. Les ARNm identifiés ont une taille approximative de 800 pb. Plantule 1 : plantule d'une semaine ; Plantule 2 : plantule de deux semaines

La figure 2 illustre la comparaison des séquences protéiques d'*Arabidopsis*  
25 *thaliana* (en haut) et du colza (en bas) déduites respectivement de ADNc X74360 (SEQ ID N° 1) et 9.2 (SEQ ID N° 2). La protéine d'*Arabidopsis thaliana* présente une longueur de 140 aa alors que la protéine de colza présente une longueur de 147 aa. L'homologie entre les deux étant de 74,6 %. Les étoiles repèrent les acides aminés communs aux deux séquences et les points figurant

dans l'ADNc d'*Arabidopsis thaliana* n'ont été indiqués que pour permettre de placer l'une en face de l'autre les séquences communes aux deux plantes, la séquence d'*Arabidopsis thaliana* devant se lire en continu, c'est-à-dire en faisant abstraction desdits points.

5 La figure 3 représente l'alignement des séquences nucléotidiques des ADNc 9.2 du colza (en bas) et X74360 d'*Arabidopsis thaliana* (en haut), les deux séquences présentant une homologie totale de 83 %.

La figure 4 représente les cartes de restriction partielles des clones génomiques (A : *Ava*I, B : *Bam*HI, EI : *Eco*R1, EV : *Eco*RV, H : *Hind*III, Hc :  
10 *Hinc*II, P : *Pst*I, S : *Sac*I, S1 : *Sal*I, Xb : *Xba*I, Xh : *Xho*I).

La figure 5 représente la séquence 5'→3' du clone génomique 4.1.1 (SEQ ID N° 5). La séquence palindromique a été soulignée deux fois, la séquence codante a été soulignée une fois. Les sites de restriction suivants ont été repérés :  
15 *Bam*HI (en position 1) : GGATCC ; *Sal*I (en position 2911) : GTCGAC et *Ava*I (en position 3229) :CCCGAG.

La figure 6 représente les constructions réalisées avec les promoteurs des clones génomiques 4.1.1 et 8.1.1.

région promotrice distale du clone génomique 4.1.1  
séquence palindromique  
20 région promotrice proximale du clone génomique 4.1.1  
région promotrice de 322 pb du clone génomique 4.1.1  
région promotrice de 322 pb du clone génomique 8.1.1  
terminateur du gène de la nopaline synthase  
séquence codante du gène rapporteur gus  
25 séquence codante du gène 4.1.1  
région 3' du gène 4.1.1 non traduite

La figure 7 illustre les constructions réalisées avec le promoteur de 322 pb du clone génomique 4.1.1.

promoteur de 322 pb du clone génomique 4.1.1  
séquence codante du gène rapporteur gus  
séquence codante du gène de la barnase sauvage  
séquence codante du gène de la barnase mutée  
5 terminateur du gène de la nopaline synthase  
terminateur 19S du CaMV

L'invention ne se limite pas à seule description ci-dessus, elle sera mieux  
comprise à la lumière des exemples ci-après qui ne sont cependant donnés qu'à  
10 titre illustratif.

**EXEMPLE 1 : Mise en évidence d'un promoteur spécifique des  
pétales**

La première étape a consisté en l'obtention de clones d'ADN  
15 complémentaires (ADNc) exprimés spécifiquement dans le pétale. Pour cela, les  
ADNc ont été synthétisés à partir d'ARN messagers (ARNm) de pétale de colza.  
Parallèlement, des ADNc ont été synthétisés à partir d'ARNm de feuilles, de  
boutons floraux dont les pétales ont été enlevés et d'étamines.

Les ADNc provenant desdits organes ou tissus ont été soustraits aux  
20 ADNc dérivés des ARNm exprimés dans le pétale de colza. Les molécules  
résultant de cette soustraction ont été utilisées lors d'une expérience d'hybridation  
différentielle d'une banque d'ADNc de pétale selon une technique similaire à celle  
présentée par Atanassov et al. 1996.

Plusieurs clones d'ADN de colza ont été isolés à l'issue de cette expérience.  
25 Leur profil d'expression a été étudié par la technique d'hybridation moléculaire de  
type Northern. En l'absence de clone strictement spécifiques du pétale (au seuil de  
détection de la technique) le candidat le plus pertinent a été retenu pour la suite  
des études ; il s'agit du clone 9.2. Ce clone est fortement exprimé dans le pétale au

stade jeune (bouton de 3 mm environ) et très faiblement dans les étamines (figure 1).

Les recherches d'homologie de séquences dans les banques de données montrent une forte similitude entre la protéine déduite de la phase ouverte de lecture (orf) du clone 9.2 et la séquence codante d'un gène d'*Arabidopsis thaliana* (X74360) codant pour une protéine putative de la paroi dont l'expression est régulée par les gibbérellines (Phillips et Huttly, 1994) (figure 2). Le degré d'homologie présenté par les séquences d'ADNc respectives correspondantes est supérieur à 80 % dans les 500 premières bases puis disparaît totalement sur les 10 220 restantes (figure 3).

Le clone d'ADNc 9.2 de colza a servi de sonde pour cribler une banque génomique de colza. Sept clones génomiques ont été isolés. Sur la base des cartes de restriction et des séquences, ces sept clones se répartissent en deux groupes suggérant l'existence chez le colza d'une famille d'au moins deux gènes nommés dans la suite du texte 4.1.1 et 8.1.1 (figure 4). L'ADNc 9.2 est dérivé du gène correspondant du clone génomique 4.1.1.

Une étude préliminaire par amplification PCR a été réalisée sur le clone 9.4.1 appartenant au groupe du 4.1.1. En effet, la structure du clone génomique a permis d'amplifier une région amont de 3233 pb en utilisant des techniques d'amplification de grands fragments d'ADN et de séquençage progressif par PCR.

Cette région de 3233 pb s'étend du nucléotide 1 au nucléotide 3233 de la séquence représentée sur la figure 5 et elle se termine au niveau du site *AvaI* au niveau duquel la coupure a été effectuée ainsi que le clonage pour l'obtention de "bouts francs".

Puis les régions amonts susceptibles de contenir les séquences régulatrices ont été sous-clonées dans des vecteurs de clonage à partir des deux clones génomiques (4.1.1 et 8.1.1). On dispose donc actuellement, pour le clone 4.1.1, de plus de 4 kb de séquence correspondant majoritairement à l'orf et aux régions amonts (figure 5).

**EXEMPLE 2 : Vérification de la spécificité de la région promotrice**

Différentes constructions comprenant le gène rapporteur GUS placé sous le contrôle de certaines de ces séquences ont été réalisées afin d'étudier l'expression de ces gènes chimériques (c'est-à-dire constitués de la séquence codante d'un gène connu précédé de la région promotrice conforme à l'invention) dans des plantes transformées d'*Arabidopsis thaliana* et de colza.

Ces constructions se regroupent en deux catégories en fonction de l'orf placée sous le contrôle des séquences régulatrices :

- le gène rapporteur GUS pour étudier les profils d'expression et vérifier la spécificité conférée par le promoteur,
- le gène de barnase sauvage ou inactivé pour empêcher la formation du pétale par expression dans cet organe de ce gène toxique (les figures 6 et 7 détaillent la composition de chaque construction).

Les profils d'expression du gène rapporteur GUS chez les transformants d'*Arabidopsis* obtenus dans le cas du pIB100 montrent une certaine variabilité sur l'ensemble des plantes (voir tableau 1 ci-après qui énumère les parties des plantes transformées chez lesquelles on a observé une coloration bleue). Cependant, chez près de la moitié des plantes présentant une coloration bleue (13/30), le gène rapporteur ne s'exprime que dans les pétales (au seuil de détection de la technique). On retrouve chez certaines plantes une faible expression dans les étamines, peu surprenante du fait des résultats des hybridations de type Northern, mais aussi parfois une expression dans d'autres organes floraux ce qui pourrait suggérer l'influence d'effets de position du transgène dus à sa petite taille. Toutefois l'existence d'une proportion significative de plantes présentant le profil attendu laisse à penser que le fragment proximal de 322 pb est capable de conférer une expression spécifique du pétale. La stabilité de cette expression a été testée sur les descendants en autofécondation de ces plantes. Pour la plupart, on retrouve bien la spécificité "pétale" (données non montrées).

Des séquences promotrices plus longues ont également été mises en œuvre par le biais des constructions pIB102 et pIB105 et les plantes transformées d'*Arabidopsis thaliana* ont été observées (le tableau 2 énumère les parties des plantes transformées par pIB102 et présentant une coloration bleue, le tableau 3  
5 énumère les parties des plantes transformées par pIB105 et présentant une coloration bleue). On ne retrouve pas la spécificité pétale dans la proportion précédemment observée car dans presque tous les cas, le gène rapporteur est effectivement exprimé dans le pétale mais également dans d'autres organes de la fleur.

10 De même, des plantes transformées de colza ont été obtenues avec une construction comportant comme séquence régulatrice le fragment amont du gène 4.1.1 de 3233 pb cloné après amplification par PCR. Sur les neuf plantes de colza qui ont déjà pu être observées, le gène rapporteur s'exprime dans le pétale mais aussi dans d'autres organes de la fleur (données non montrées), comme on  
15 l'observe chez *Arabidopsis* avec ces grandes régions promotrices.

Ces résultats suggèrent que ces fragments sont trop longs alors que l'on pense que le précédent (322 pb) pourrait être un peu court et donc amplifier les effets de position éventuels. Ce dernier cependant donne lieu aux résultats les plus prometteurs.

20 Les promoteurs pIB351 et pIB352 (figure 7) analogues au pIB100 mais comportant respectivement la séquence codante du gène de la barnase sauvage et cette même séquence inactivée par insertion d'un codon stop (dénommée alors barnase mutée) au lieu de la séquence codante du gène rapporteur ont été introduites dans *Arabidopsis thaliana* (résultats non encore disponibles).



TABLEAU 2

SEPALES	PETALES (Nombre)	ETAMINES	PISTILS	FEUILLES	SILIQUE	AUTRES	PLANTES TRANSFORMEES (Nombre)
-	2 sur qq fleurs	-	-	-	-		1
-	4	-	sous papille	-	-		6
-	4	filet	sous papille	-	-		7
bouton	4	-	sous papille	-	-		1
bouton	4	sac pollinique;filet	sous papille	-	-		2
+	+	+	sauf papille	-	-		1
bouton	4	entier bouton	sauf papille âgée	pointe haut	-	Pédoncule floral	1
							<b>19 plantes</b>

TABLEAU 3

SEPALE	PETALE (Nombre)	ETAMINE	PISTIL	FEUILLE	SILIQUE	AUTRES	PLANTES TRANSFORMEES (Nombre)
-	1 fleur	-	-	-	-		1
-	-	-	sous papille	-	-		1
-	4	sac pollinique, filet	sous papille	-	-		6
-	4	entier	sauf papille	bordure	-	Pédoncule floral	1
bouton	-	-	-	-	-		1
bouton	4	entier	sauf papille	-	-		1
bouton	4	entier	sauf papille	petites	-		3
bouton	4	sac pollinique, filet	sous papille	-	-	Pédoncule floral	19
bouton	4	filet	sous papille	pointes	-		3
<b>36 plantes</b>							

REFERENCES

- 5 Atanassov I et al. (1996) Plant Science 118, 185-194
- Bechtold N. et al (1993) Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences 316, 1194-1199
- 10 Choisine Nathalie (1997). Etude de l'expression *in vivo* d'une gène d'ARNt leu de *Phaseolus vulgaris* et l'utilisation de ce gène dans un système de suppression. Thèse de doctorat de l'université de Paris XI (N° d'ordre 4691).
- Elomaa P. et al. (1996). Molecular Breeding 2 : 41-50.
- 15 Gutterson N. (1995). HortScience, Vol. 30(5), August 1995.
- Hartley RW, 1988. Barnase and barstar : expression of its cloned inhibitor permits expression of a cloned ribonuclease. J. Mol. Biol, 202, 913-915.
- 20 Lamarque C. (1983) Proc. 6<sup>th</sup> int. Rapeseed Cong. 1983, Paris, France, pp 903-907
- Noda K-I, et al. (1994). Nature. Vol 369. 23 June 1994.
- 25 Phillips A.L. and Huttly A.K. (1994). Plant Mol Biol. 24 : 603-615
- Siemens and Schieder 1996. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 2, 66-75

## LISTE DE SEQUENCES

## (1) INFORMATIONS GENERALES:

## (i) DEPOSANT:

- (A) NOM: INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE  
(INRA)
- (B) RUE: 147 RUE DE L'UNIVERSITE
- (C) VILLE: PARIS
- (E) PAYS: FRANCE
- (F) CODE POSTAL: 75007

(ii) TITRE DE L' INVENTION: PROMOTEUR SPECIFIQUE DES PETALES ET PROCEDE  
D'OBTENTION DE PLANTES A FLEURS SANS PETALE

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 5

## (iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:

- (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
- (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
- (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
- (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

## (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 140 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

## (ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: protéine A.thaliana

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

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

Leu Pro Pro Lys Cys Lys Lys Pro Phe Tyr Pro Tyr Asn Pro Val Thr  
 65 70 75 80  
 Gly Ala Pro Leu Thr Gly Gly Gly Ile Pro Ser Tyr Asn Gly Gly Gln  
 85 90 95  
 Gly Ala Gly Pro His Thr Gln Leu Pro Gly Gly Asp Asp Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Pro Asn Pro Gly Phe Glu Glu Pro Thr Pro Thr Ile Gly Ala Gly Thr  
 115 120 125  
 Gly Ser Asn Gly Gln Val Pro Pro Val Pro Leu Pro  
 130 135 140

## (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 147 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

## (ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: protéine colza

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

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

WO 99/15679

PCT/FR98/02043

3

Gly Gly Asp Asp Thr Leu Val Pro Asn Pro Gly Phe Glu Thr Pro Thr  
 115 120 125

Pro Ala Thr Gly Ala Gly Ala Gly Asn Asn Gly Gln Val Pro Pro Val  
 130 135 140

Pro Leu Pro  
 145

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 641 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

- (ix) CARACTERISTIQUE:  
 (A) NOM/CLE: clone 9.2

(x) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

AGCAGTCACT GTCATGATTC TTAGCCTACT GCTTGGACCT GCAGAGCAAG TTAGCGGACT 60

GCGTCATATT CCCAAGTCCC ATAAGACCAC TGATGTCAAA CACCCTGAGT TTCTTGTCAC 120

CATTGAGCCA AAACCAACTA TTCTCATCCC CGGTGTTGGA AGGTTCTTGC TTCCTCCCAA 180

ATGTAAAGAAA CCATTCTACC CATACAATCC AGTCACTGGA GCTCCCCTTA CTGGCGGGTC 240

TATCGGTGGT CAAATCCCAT CATTGTTGG TGGACAAGGA GGCGGAGCTC GCACCCAGCT 300

CCCTGGTGGC GATGATACCC TTGTCCCAA CCCC GGATTT GAAACTCCAA CCCCTGCCAC 360

TGGAGCTGGC GCTGGAAACA ACGGCCAAGT TCCTCCGGTG CCACTACCCT GATTTCTTTT 420

TCAATATCTG TCAACAAATA AGCATTCTT TAATGCAAAA GTGTCTATTT GAGTCTTACC 480

TTCTGGTTTA CTAGCCGTCA CCTTAAGAGT CATATGTTG TCATCTCTCT CTTTCTTTT 540

GGAAGAGAGA ATCTTGTGTC TTATGCCGTC AGAAGAAATT TAAAGCATT GTTACATGC 600

CATTACATTC AACTATCAAA ATGCTTTATG ATAAAAAAA A 641

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 711 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

WO 99/15679

PCT/FR98/02043

4

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:  
(A) NOM/CLE: X74360

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

GCTTTCTCCT CTACAACAAA ATAAAATAAA ATTAATGGCT TCTTCACTTA TCACCTCCGC	60
AGTCATTGTC GTGGTTTTAA GCCTAGTGCT TGGATCTGTA GAGCAAGTGA GTGGACTACG	120
TCACGTTCCC AAGTCCCCTA AGATCACTGA TGTCAAACAC CCTGACTTTC TTGTAACCAT	180
TGAGCCCAAA CCAACTATTC TCATTCCCGG TGTGGAAGG TTCTTGCTTC CTCCCAAATG	240
CAAGAAGCCG TTCTACCCTT ACAATCCTGT CACCGGAGCT CCACTTACTG GTGGGGGAAT	300
CCCATCATAT AATGGTGGAC AAGGGGCCGG ACCTCACACC CAACTCCCTG GTGGCGATGA	360
TACGCTTGTC CCAAACCCCG GATTTGAAGA GCCAACCCCG ACCATTGGAG CTGGCACAGG	420
AAGCAACGGC CAAGTCCAC CAGTGCCACT ACCCTGAGTA TTATTAATCT GTCAACAAAT	480
AAGCATATCT TAGATGCAAA CATGTCTGTT TTGGTGTCTT GAGTCTTGGT TAGATAAGTA	540
ACCCGCTACT TTACTAGCCG TTTCGTTTGC CATCTCTTTT TCTCTCTGTG TCTCTCTCTA	600
TTTGCTACAA AAAGAGAGAA TCTTGTTTCA TGTTTTTCAG TTTGTCTTTA GATGAATTCA	660
TTTTACATA CCATTATATT AAAATAAAGG AAATGTTCCG CAGTAAAAA A	711

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 4516 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(ix) CARACTERISTIQUE:  
(A) NOM/CLE: clone génomique 4.1.1

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

GGATCCGTTG TTAGGATTTT AGGGCTTTGT GAGTTCAGAA AATCTCTAAA GCTTCATTTT	60
TATCAATCAA GCTTTTTTTT TTAAATTAA ACATTCTAAA GTCTCTAAAG TCATTATAAG	120

TTTATFTCTC CTCTTTTGTG TTGGTTTTTC TAAAACCAAT AATGCGTGAT TTTTGCAATT	180
TTTTTTTTTC ACTAAAATG TTTTATTTTC TTTTACTTT GTAACATAAT CACTTATTTA	240
AGTTTATAAC AATTCGTTG AAATTTAAAA TTGACAAATT AATCATTGAA TTTTTTCTT	300
GTTCAFTTAA GATCCGTATT GTACTACTTT TATAATCATC TATATTTAAA TTTTAAATAG	360
TATCATAATT TTATTTTTTA ATAAAATATT TAAATATTAT CCAAACCTAT AATTTAATA	420
CCAATCTGTT TTAATAAAC GTAAACGAAT CAGCCAAATT CCTATGGCCA TAATTCTGAA	480
TCCAAGCTTA AACAAAAGTA CTTATCAATC GGACCCTAAG AGTCCTCGTA ATTAGGGTTC	540
TTTAAGATTT TTACCATTTG AGCAGTTGAA TCAATGATCG TTTTCATGCG AGTAAACTTA	600
TTTGTAATAT TTAGTGGGGG CAGCTGCCTC CTCCCTGAAC ACCGTAGATC TCCCCCTGT	660
TTCTATCTCT TACTGTGGAT GTAAGATCTA TTATTTTCTT GGGTTTTGTG TTTGTGAATG	720
CGTCTTATAT AGTGAGCATT AGCTTAGAGT TTCCCATTTT ATTGAATATT TTCATTCTTA	780
TTCATGTGGG TATCACAAAG GCATGGCCGA CTACCACTAT GTTATTCCTA TTCCTCCAGA	840
TATTGCACAG CAGAAGAAGA GGAAATGGAT GGAGGTGAAG TCGCTTGCAG GTGATTCTTT	900
TCCGTTTATT TTGGTATTTT CATTATATTG CAAATCTTAA TATTTTGTAG CGAAAAGAAT	960
ATTTTGTAGC ATAGTTTAAA ATTTTAAATA CGTATTCTTG CTTTAAAGCTG TGTTTTGATG	1020
TAAAGTAAAA CATATGTACC AAAAGAACAA GACAATGTTC AAGTCTATAC GGAACCCATA	1080
CGGGACCCTT GTCCTTGTC AGTTGACATT GTTCAGGCCA AGAACTACAC CAACAATTTT	1140
AAATCAACCT ATTGAAATTA GAAAAGAAAT CCGCTAATGC AAATAAAAAG AAGTGACTCG	1200
CATATAGTTG CCAACTAATT GTTGATGTTA ATTAATAAGA TTAAGTGTTA AATTTATGAT	1260
AAAAAAGTGT TTAGGGATTG GATCTGGTGA TAAAAAGAT TATGTAGATG TTTTGCAGA	1320
AAAAGTGCTA AATAACATTT GTTTATTTTG TCATTATGTG TAGAATACAA AGAAGAAATG	1380
AACTAAGACT TTATAGTATA AATTATTGTG GTTGATTAAT TTTAGATCTT TTCCTGAAGA	1440
ATGATTGCTG AATAATAAAA TGTTCAATTTG CTTAATGAGT ATGTCTACTC TTTAGTTATT	1500
TCTGACCCGA AACCAACAAA CACTAATGAT TGATTAACT AACCAATCAA CTTAACTTGT	1560
AAAACGAGTT GGCTTAGAAC ATGATTATTG AGAGGTCTT AGGGTGGAGT TCTTAGCGGA	1620
ATATAAGAAC CTGTGTCTTA ATTTTAAATT AAAAAAGCTA AGAACTGGCT CTTAAATAAG	1680
AGTTTAAAGAG CCGGTTCTTA GTTTTTTTAG TTAAAAGTTA AGAGTCAGGT TTTTATATTC	1740

CGTTAAGAAC TTCACCTTAA GGACCTTCTA ATAATCATGC TCTTACGTTA TCTGACCAAA	1800
AATACGAACA GAAAAAATAA AACTCACTT ACCTCATCAT ATGAGATATG ACAAATGCAC	1860
TACTATTTAA GAAAAACAT TAAAAAAAC ATTAATGGTG TGGGAGGGTC ATTAATGGAG	1920
GTCACACAAA AGAAAGGCCA GAGAAGGCAA ATTGAAGGTG ACTGTATACA AAAGTAGGTC	1980
TTTCAGTTTT GCNCAGAGGA AGCTCATGAC ATTCACCAA GCAGCACGAA TGAAGTTCAT	2040
CAAGTTTTTA ATTAGGCTTC GCTTCTTGTG ATTCCTCGAA AATTTATATC ATTCATACG	2100
TTCGTTCTTG TTTTCATGTG ACTTTCCTCT TCTCCTACCG TGAGTCTCAT CAATTCGTA	2160
GATCGCTANG TTAACGATCC ACGTATCATA NATACACTTC TTTCTATAGC CGTACGTATA	2220
CCACACATTA CNTCATCCCA CTTCNTAACT TATATAATTT TACTACTCAG ATCACNAGAG	2280
TACGTATATC AGGAAGTCAT TTCTTCTCCT TGTCTTATTC CTCTCTTTCT TTGTCCGGCT	2340
CTTATCTTCG CTAGTAGGAA TTTTCCGACG CACCCTTATC CAAGTATGTA TGCTATTCTC	2400
TCTCACTCTC CTTAATTTTA CACACCTCTT TCACTATCTT CAATGTCTTT TAACTTGTTT	2460
CAATTATGTT CGTGTGGGTG GGCAGGTCAT AATCATCATC ATGTCGGAAT GATGGGTAGG	2520
ACAATGAAGC GTCAGAGGAG GCCGGACACG GTGCAGGTGG CAGGGTCTAG GCTGCCGGAC	2580
TGCTCACACG CGTGTGGCTC ATGCTCTCCA TGCCGTCTTG TGATGGTTAG CTTCGTGTGT	2640
GCATCGCTAG AGGAGGCTGA GACTTGTCCT ATGGCTTATA AGTGCATGTG CAAGAACAAA	2700
TCCTACCCAG TCCCATGATG AATTAGCCTC TCTCACACTT AACTCTATGC ATTCAGACGT	2760
TTTGTCTTCT TCCTTTTGCT TCTTCGGATA AATTACCCTG TGTATGTATA AAATGCATCT	2820
TTTCCTTTTT TTAATTCTTT TGTCTTTTTG ATATCTTAAA CACAGTTTTA CGAAACAAGA	2880
ATAAGATTAG TTGAGCCACT CAAAAGCGTG GTCGACTAAA TTGAAACAGA AAGCCACACA	2940
ACTCATTGGG CTCTTGTTTA TGGCCCATGA CACCGCATTT CAGACTGCAA CAACCAAAGT	3000
TGTAGAAAGA ATAATATTTA AAGGGCACGT ACATACGTTG TTGGCTTCCA CCAAACCTTG	3060
GAGGCTCTCT AATAATTAGC AACTCCATT CTATGCATTT GTTACACACC TTCTATTTTC	3120
AACCATTTCA TCTCACCTTT TTTAAATGTT TCCACAGTTA GCTCAGTAAA TCACTATAT	3180
ACAGACATAC ACCTTCCCTC CACAAGATCA AACAACCACA CTACCTTCCC CGAGTTTTCT	3240
CACTACAATT TAAAGAAAA AACAAATGGC TTCGTCCCTG CTAACACTCG CAGCAGCAGC	3300
AGTCACTGTC ATGATTCTTA GCCTACTGCT TGGACCTGCA GAGCAAGTTA GCGGACTGCG	3360

WO 99/15679

PCT/FR98/02043

7

TCATATTCCC	AAGTCCCATA	AGACCACTGA	TGTCAAACAC	CCTGAGTTTC	TTGTCACCAT	3420
TGAGCCAAA	CCAACTATTC	TCATCCCCGG	TGTTGGAAGG	TTCTTGCTTC	CTCCCAAATG	3480
TAAGAAACCA	TTCTACCCAT	ACAATCCAGT	CACTGGAGCT	CCCCTTACTG	GCGGGTCTAT	3540
CGGTGCTCAA	ATCCCATCAT	TTGGTGGTGG	ACAAGGAGGC	GGAGCTCGCA	CCCAGCTCCC	3600
TGGTGGCGAT	GATACCCTTG	TCCCAAACCC	CGGATTTGAA	ACTCCAACCC	CTGCCACTGG	3660
AGCTGGCGCT	GGAAACAACG	GCCAAGTTC	TCCGGTGCCA	CTACCCTGAT	TTCTTTTTCA	3720
ATATCTGTCA	ACAAATAAGC	ATTTCTTTAA	TGCAAAGTG	TCTATTTGAG	TCTTACCTTC	3780
TGGTTTACTA	GCCGTCACCT	TAAGAGTCAT	ATGTTTGTCA	TCTCTCTCTT	TCTTTTTGGA	3840
AGAGAGAATC	TTGTGTCTTA	TGCCGTCAGA	AGAAATCTAA	AGCATTTGTT	TACATGCCAT	3900
TACATTCAAC	TATCAAATG	CTTTATGATA	CATGTACTCT	ACTCCTCCAT	TTCGCATACT	3960
AAGTAGACTA	GATGAAGACA	AGTACTCAAT	CAAAGCTGAA	TACACTAATC	ACCCATTCAA	4020
ATTATTTCTT	AGAATTTGAA	TGAACCAAAC	TAACAAAAAA	GAACAATTAC	AACCTAATGA	4080
TACGCTGATG	CAAACTACA	AAAGGAGGTC	GAATAAGGTA	AGAGGATGGA	GCAGAGTCGT	4140
ATATATCAGA	GAAAGATAGT	ATAGTAAGAG	AAAAGAGGA	AACACACAAA	TGACAAATGA	4200
TAGTATTACA	TTTTCTCATC	ATTATTCAGA	GTAACAAAG	CAATAAAGTG	AAAGAATTCA	4260
CATAGTGTA	TCTTGGAATT	GAGTATCTAC	GGGAGGAAG	AAACTCGATC	AGCCTCAATC	4320
ATGGACTTTA	TGTNGTACTC	TCCTGCTTTG	TACGACGACC	TAACCATCGG	CCCTGATGCT	4380
ACGTACCTGA	ATCCCTGTTT	AACCAACAAA	CCCATTTAGC	CCTCTCCTTG	TTCCCATCA	4440
AATTTCCNGA	ACTAAAAACA	GANNAGANAN	NAGGCTTACC	ATTTCCATGC	CNAGANGANG	4500
GTATCTCTCC	AAAGCC					4516



9. Procédé d'obtention de plantes dont les fleurs n'ont pas de pétale comprenant l'insertion dans lesdites plantes d'un vecteur selon la revendication 4 ou 5.

5

10. Procédé d'obtention de plantes hybrides dont les fleurs n'ont pas de pétale comprenant les étapes de :

a) transformation de plantes d'une lignée A avec un vecteur selon la revendication 4 ou 5 modifié par insertion d'au moins un codon stop dans la séquence codante de l'ADN,

10

b) croisement des plantes de lignée A obtenues en a) avec des plantes de lignées B exprimant le gène d'un ARNt suppresseur,

c) sélection des plantes hybrides avec des fleurs sans pétale.

15 11. Plantes dont les fleurs n'ont pas de pétale et sont susceptibles d'être obtenues par la mise en œuvre du procédé selon la revendication 9 ou 10.

20 12. Plantes selon la revendication 7 ou obtenues par la mise en œuvre du procédé selon la revendication 9 ou 10, caractérisées en ce qu'elles appartiennent à la famille des Brassicacées et de préférence en ce qu'il s'agit du colza.

FEUILLE MODIFIEE

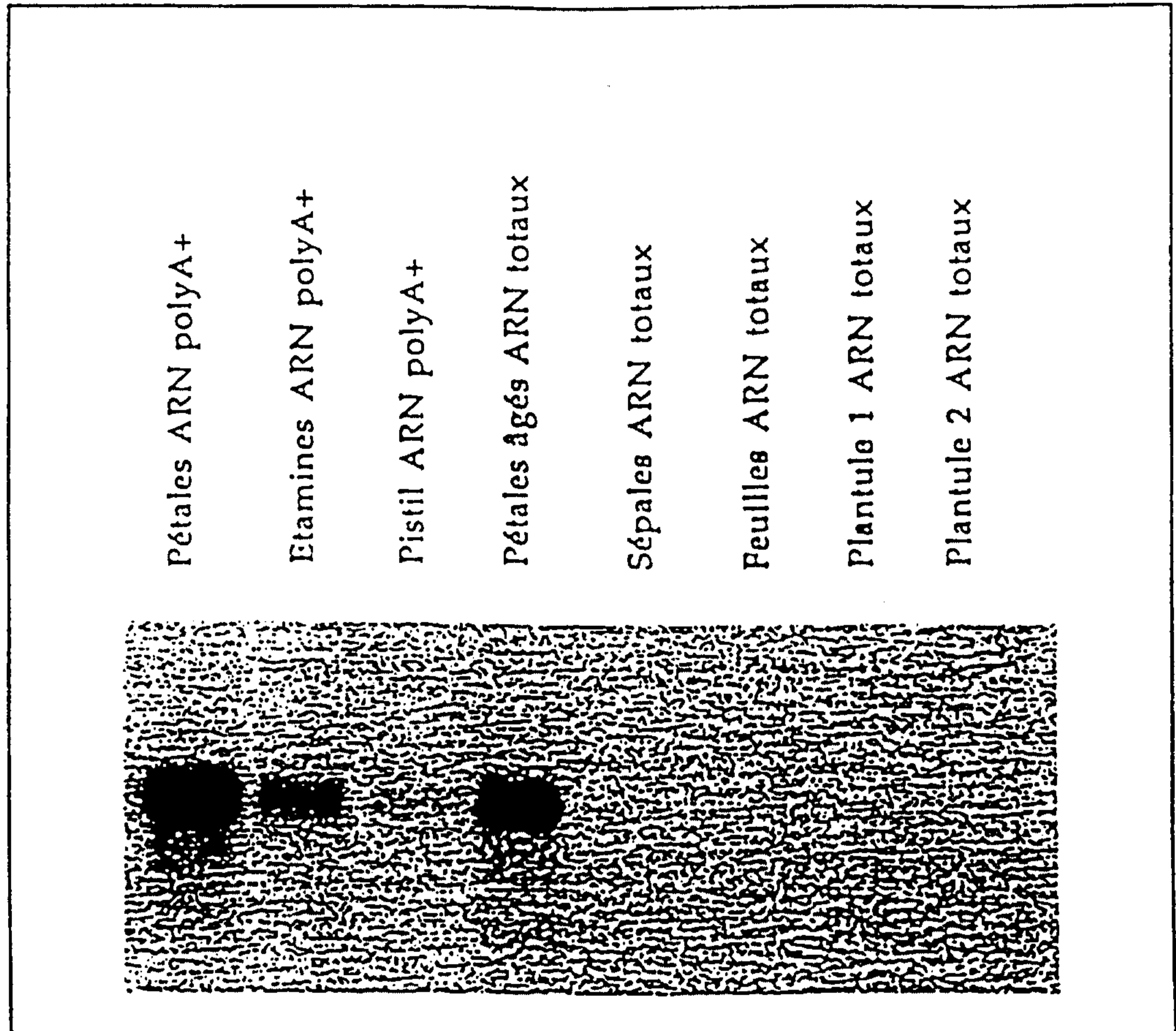


FIGURE 1



3/11

FIGURE 3

AthX74	GCTTTCTCCT	CTACAACAAA	ATAAAATAAA	ATTAATGGCT	TCTTCACTTA
9.2	-----	-----	-----	-----	-----
	51				100
AthX74	TCACCTCCGC	AGTCATTGTC	GTGGTTTTAA	GCCTAGTGCT	TGGATCTGTA
9.2	-----AGC	AGTCACTGTC	ATGATTCTTA	GCCTACTGCT	TGGACCTGCA
	101				150
AthX74	GAGCAAGTGA	GTGGACTACG	TCACGTTCCC	AAGTCCCCTA	AGATCACTGA
9.2	GAGCAAGTTA	GCGGACTGCG	TCATATTCCC	AAGTCCCATA	AGACCACTGA
	151				200
AthX74	TGTCAAACAC	CCTGACTTTC	TTGTAACCAT	TGAGCCCAA	CCAACCTATTC
9.2	TGTCAAACAC	CCTGAGTTTC	TTGTCACCAT	TGAGCCCAA	CCAACCTATTC
	201				250
AthX74	TCATTCCCGG	TGTTGGAAGG	TTCTTGCTTC	CTCCCAAATG	CAAGAAGCCG
9.2	TCATCCCGG	TGTTGGAAGG	TTCTTGCTTC	CTCCCAAATG	TAAGAAACCA
	251				300
AthX74	TTCTACCCTT	ACAATCCTGT	CACCGGAGCT	CCACTTACT	.....
9.2	TTCTACCCAT	ACAATCCAGT	CACTGGAGCT	CCCCTTACTG	GCGGGTCTAT
	301				350
AthX74	.GGTGGGGGA	ATCCCATCAT	ATAATGGTGG	ACAAGGGGCC	GGACCTCACA
9.2	CGGTGGTCAA	ATCCCATCAT	TTGGTGGTGG	ACAAGGAGGC	GGAGCTCGCA
	351				400
AthX74	CCCAACTCCC	TGGTGGCGAT	GATACGCTTG	TCCCAAACCC	CGGATTTGAA
9.2	CCCAGCTCCC	TGGTGGCGAT	GATACCCTTG	TCCCAAACCC	CGGATTTGAA
	401				450
AthX74	GAGCCAACCC	CGACCATTGG	AGCTGGCACA	GGAAGCAACG	GCCAAGTTCC
9.2	ACTCCAACCC	CTGCCACTGG	AGCTGGCGCT	GGAAACAACG	GCCAAGTTCC
	451				500
AthX74	ACCAGTGCCA	CTACCCTGAG	TATTATT...	.AATCTGTCA	ACAAATAAGC
9.2	TCCGGTGCCA	CTACCCTGAT	TTCTTTTTCA	ATATCTGTCA	ACAAATAAGC
	501				550
AthX74	ATATCTTAGA	TGCAAACATG	TCTGTTTTGG	TGTCTTGAGT	CTTGGTTAGA
9.2	ATTTCTTTAA	TGCAAAAGTG	TCTATTT..G	AGTCTTACCT	TCTGGTTTAC
	551				600
AthX74	TAAGTAACCC	GCTACTTTAC	TAGCCGTTTC	GTTTGCCATC	TCTTTTTTCTC
9.2	TAGCCGTCAC	CTTAAGAGTC	ATATGTTTGT	CATCTCTCTC	TTTCTTTTTG
	601				650
AthX74	TCTGTGTCTC	TCTCTATTTG	CTACAAAAG	AGAGAATCTT	GTTTCATGTT
9.2	GAAGAGAGAA	TCTTGTGTCT	TATGCCGTCA	GAAGAAATTT	AAAGCATTTG
	651				700
AthX74	TTTCAGTTTG	TCTTTAGATG	AATTCATTTT	CACATACCAT	TATATTAATA
9.2	TTT..ACATG	CCATTACATT	CAACTATCAA	AATGCTTTAT	GATAAAAAA
	701		727		
AthX74	TAAAGGAAAT	GTTCCGCAGT	AAAAAAA		
9.2	AA-----	-----	-----		

Alignement nucléotidique des ADNc X74360 et 9.2

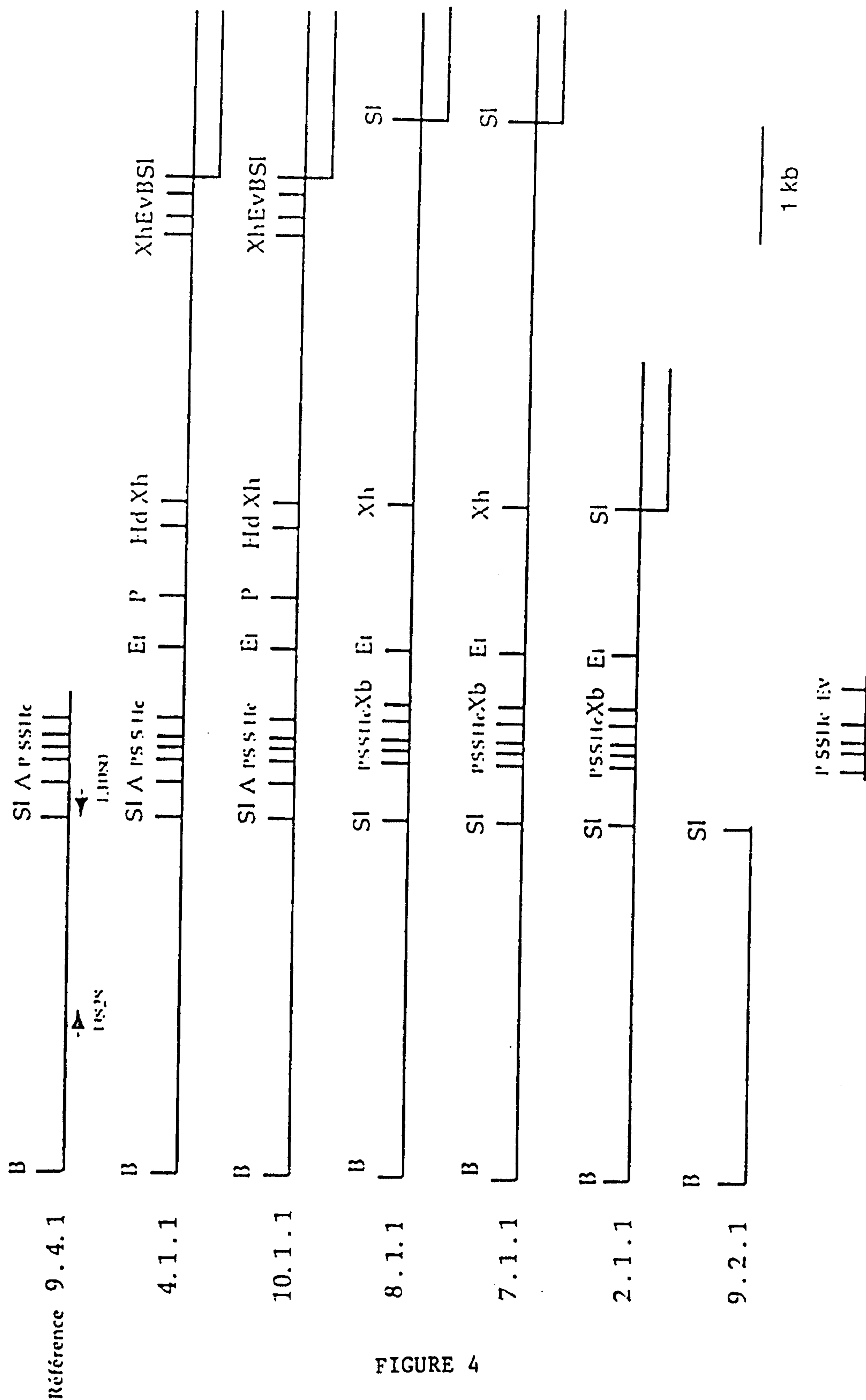


FIGURE 4

5/11

## FIGURE 5

1 GGATCCGTTG TTAGGATTTT AGGGCTTTGT GAGTTCAGAA AATCTCTAAA  
 51 GCTTCATTTT TATCAATCAA GCTTTTTTTT TTTAAATTAA ACATTCTAAA  
 101 GTCTCTAAAG TCATTATAAG TTTATTTCTC CTCTTTTGTG TTGGTTTTTC  
 151 TAAAACCAAT AATGCGTGAT TTTTGCAATT TTTTTTTTTC ACTAAAAATG  
 201 TTTTATTTTC TTTTACTTTT GTAACATAAT CACTTATTTA AGTTTATAAC  
 251 AATTCGTTG AAATTTAAAA TTGACAAATT AATCATTGAA TTTTTTTCTT  
 301 GTTCATTTAA GATCCGTATT GTACTACTTT TATAATCATC TATATTTAAA  
 351 TTTTAAATAG TATCATAAAT TTATTTTTTA ATAAAATATT TAAATATTAT  
 401 CCAAACCTAT AATTTAATA CCAATCTGTT TTAATAAAC GTAAACGAAT  
 451 CAGCCAAATT CCTATGGCCA TAATTCTGAA TCCAAGCTTA AACAAAAGTA  
 501 CTTATCAATC GGACCCTAAG AGTCCTCGTA ATTAGGGTTC TTTAAGATTT  
 551 TTACCATTTG AGCAGTTGAA TCAATGATCG TTTTCATGCG AGTAAACTTA  
 601 TTTGTAATAT TTAGTGGGGG CAGCTGCCTC CTCCTGAAC ACCGTAGATC  
 651 TCCCCCCTGT TTCTATCTCT TACTGTGGAT GTAAGATCTA TTATTTTCTT  
 701 GGGTTTTGTG TTTGTGAATG CGTCTTATAT AGTGAGCATT AGCTTAGAGT  
 751 TTCCCATTTT ATTGAATATT TTCATTCTTA TTCATGTGGG TATCACAAG  
 801 GCATGGCCGA CTACCACTAT GTTATTCCTA TTCCTCCAGA TATTGCACAG  
 851 CAGAAGAAGA GGAAATGGAT GGAGGTGAAG TCGCTTGCAG GTGATTCTTT  
 901 TCCGTTTCATT TTGGTATTTT CATTATATTG CAAATCTTAA TATTTTGTAG  
 951 CGAAAAGAAT ATTTTGTAGC ATAGTTTAAA ATTTTAAATA CGTATTCTTG  
 1001 CTTTAAGCTG TGTTTTGATG TAAAGTAAAA CATATGTACC AAAAGAACAA  
 1051 GACAATGTTT AAGTCTATAC GGAACCCATA CGGGACCCTT GTCCTTGTC  
 1101 AGTTGACATT GTTCAGGCCA AGAACTACAC CAACAATTTT AAATCAACCT  
 1151 ATTGAAATTA GAAAAGAAAT CCGCTAATGC AAATAAAAAG AAGTGACTCG  
 1201 CATATAGTTG CCAACTAATT GTTGATGTTA ATTAATAAGA TTAAGTGTTA  
 1251 AATTTATGAT AAAAAAGTGT TTAGGGATTG GATCTGGTGA TAAAAAGAT  
 1301 TATGTAGATG TTTTGCAGA AAAAGTGCTA AATAACATTT GTTTATTTTG  
 1351 TCATTATGTG TAGAATACAA AGAAGAAATG AACTAAGACT TTATAGTATA  
 1401 AATTATTGTG GTTGATTAAT TTAGATCTT TTCCTGAAGA ATGATTGCTG

6/11

## FIGURE 5 (suite)

1451 AATAATAAAA TGTTCATTTG CTTAATGAGT ATGTCTACTC TTTAGTTATT  
 1501 TCTGACCCGA AACCAACAAA CACTAATGAT TGATTAAACT AACCAATCAA  
 1551 CTTAACTTGT AAAACGAGTT GGCTTAGAAC ATGATTATTG AGAGGTTCTT  
 1601 AGGGTGGAGT TCTTAGCGGA ATATAAGAAC CTGTGTCTTA ATTTTAAATT  
 1651 AAAAAAGCTA AGAACTGGCT CTTAAATAAG AGTTTAAGAG CCGGTTCTTA  
 1701 GTTTTTTTAG TTAAAAGTTA AGAGTCAGGT TTTTATATTC CGTTAAGAAC  
 1751 TTACCTTAA GGACCTTCTA ATAATCATGC TCTTACGTTA TCTGACCAA  
 1801 AATACGAACA GAAAAAATAA AAACCTCACTT ACCTCATCAT ATGAGATATG  
 1851 ACAAAATGCAC TACTATTTAA GAAAAAACAT TAAAAAAAC ATTAATGGTG  
 1901 TGGGAGGGTC ATTAATGGAG GTCACACAAA AGAAAGGCCA GAGAAGGCAA  
 1951 ATTGAAGGTG ACTGTATACA AAAGTAGGTC TTTCAGTTTT GCNCAGAGGA  
 2001 AGCTCATGAC ATTCACCAA GCAGCAGAA TGAAGTTCAT CAAGTTTTTA  
 2051 ATTAGGCTTC GCTTCTTGTG ATTCCTCGAA AATTTATATC ATTCATACG  
 2101 TTCGTTCTTG TTTTCATGTG ACTTTCCTCT TCTCCTACCG TGAGTCTCAT  
 2151 CAATTTTCGTA GATCGCTANG TTAACGATCC ACGTATCATA NATACACTTC  
 2201 TTTCTATAGC CGTACGTATA CCACACATTA CNTCATCCCA CTTCNTAACT  
 2251 TATAAATTT TACTACTCAG ATCACNAGAG TACGTATATC AGGAAGTCAT  
 2301 TTCTTCTCCT TGTCCTATTC CTCTCTTTCT TTGTCCGGCT CTTATCTTCG  
 2351 CTAGTAGGAA TTTTCCGACG CACCCTTATC CAAGTATGTA TGCTATTCTC  
 2401 TCTCACTCTC CTTAATTTTA CACACCTCTT TCACTATCTT CAATGTCTTT  
 2451 TAACTTGTTT CAATTATGTT CGTGTGGGTG GGCAGGTCAT AATCATCATC  
 2501 ATGTCGGAAT GATGGGTAGG ACAATGAAGC GTCAGAGGAG GCCGGACACG  
 2551 GTGCAGGTGG CAGGGTCTAG GCTGCCGGAC TGCTCACACG CGTGTGGCTC  
 2601 ATGCTCTCCA TGCCGTCTTG TGATGGTTAG CTTTCGTGTG GCATCGCTAG  
 2651 AGGAGGCTGA GACTTGTCCC ATGGCTTATA AGTGCATGTG CAAGAACAAA  
 2701 TCCTACCCAG TCCCATGATG AATTAGCCTC TCTCACACTT AACTCTATGC  
 2751 ATTCAGACGT TTTGTTTCTT TCCTTTTGCT TCTTCGGATA AATTACCCTG  
 2801 TGTATGTATA AAATGCATCT TTTCTTTTTT TTAATTCTTT TGTCTTTTTG  
 2851 ATATCTTAAA CACAGTTTTA CGAAACAAGA ATAAGATTAG TTGAGCCACT

7/11

FIGURE 5 (suite)

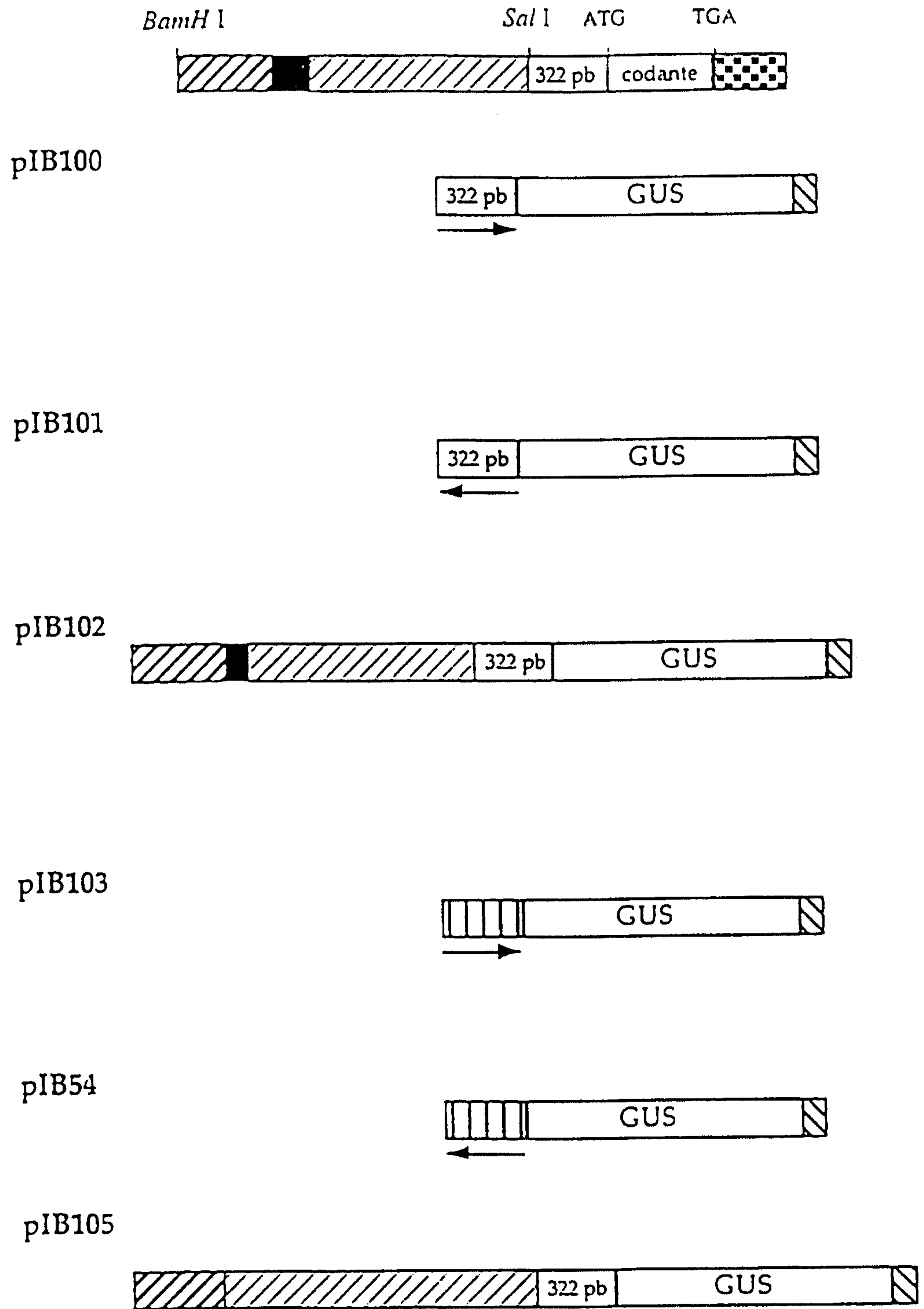
2901 CAAAAGCGTG GTCGACTAAA TTGAAACAGA AAGCCACACA ACTCATTGGG  
 2951 CTCTTGTTTA TGGCCCATGA CACCGCATT T CAGACTGCAA CAACCAAAGT  
 3001 TGTAGAAAGA ATAATATTTA AAGGGCACGT ACATACGTTG TTGGCTTCCA  
 3051 CCAAACCTTG GAGGCTCTCT AATAATTAGC ACACTCCATT CTATGCATTT  
 3101 GTTACACACC TTCTATTTTC AACCATTTC A TCTCACCTTT TTTAAATGTT  
 3151 TCCACAGTTA GCTCAGTAAA TTCACTATAT ACAGACATAC ACCTTCCCTC  
 3201 CACAAGATCA AACAACCACA CTACCTTCC CGAGTTTTTCT CACTACAATT  
 3251 TAAAAGAAA AACAATGGC TTCGTCCCTG CTAACACTCG CAGCAGCAGC  
 3301 AGTCACTGTC ATGATTCTTA GCCTACTGCT TGGACCTGCA GAGCAAGTTA  
 3351 GCGGACTGCG TCATATTCCC AAGTCCATA AGACCACTGA TGTCAAACAC  
 3401 CCTGAGTTTC TTGTCACCAT TGAGCCAAA CCAACTATTC TCATCCCCGG  
 3451 TGTTGGAAGG TTCTTGCTTC CTCCAAATG TAAGAAACCA TTCTACCCAT  
 3501 ACAATCCAGT CACTGGAGCT CCCCTTACTG GCGGGTCTAT CGGTGGTCAA  
 3551 ATCCCATCAT TTGGTGGTGG ACAAGGAGGC GGAGCTCGCA CCCAGCTCCC  
 3601 TGGTGGCGAT GATACCCTTG TCCCAAACCC CGGATTTGAA ACTCCAACCC  
 3651 CTGCCACTGG AGCTGGCGCT GGAAACAACG GCCAAGTTCC TCCGGTGCCA  
 3701 CTACCCTGAT TTCTTTTCA ATATCTGTCA ACAAATAAGC ATTTCTTTAA  
 3751 TGCAAAGTG TCTATTTGAG TCTTACCTTC TGGTTTACTA GCCGTCACCT  
 3801 TAAGAGTCAT ATGTTTGTC A TCTCTCTCTT TCTTTTGGGA AGAGAGAATC  
 3851 TTGTGTCTTA TGCCGTCAGA AGAAATCTAA AGCATTGTGTT TACATGCCAT  
 3901 TACATTCAAC TATCAAATG CTTTATGATA CATGTA CTCT ACTCCTCCAT  
 3951 TTCGCATACT AAGTAGACTA GATGAAGACA AGTACTCAAT CAAAGCTGAA  
 4001 TACACTAATC ACCCATTCAA ATTATTTCTT AGAATTTGAA TGAACCAAAC  
 4051 TAACAAAAA GAACAATTAC AACCTAATGA TACGCTGATG CAAACTACA  
 4101 AAAGGAGGTC GAATAAGGTA AGAGGATGGA GCAGAGTCGT ATATATCAGA  
 4151 GAAAGATAGT ATAGTAAGAG AAAAAGAGGA AACACACAAA TGACAAATGA  
 4201 TAGTATTACA TTTTCTCATC ATTATTCAGA GTAAACAAAG CAATAAAGTG  
 4251 AAAGAATTCA CATAGTGTA TCTTGGAATT GAGTATCTAC GGGGAGGAAG  
 4301 AAACCTGATC AGCCTCAATC ATGGACTTTA TGTNGTACTC TCCTGCTTTG  
 4351 TACGACGACC TAACCATCGG CCCTGATGCT ACGTACCTGA ATCCCTGTTT

4401 AACCAACAAA CCCATTTAGC CCTCTCCTTG TTTCCCATCA AATTTCCNGA  
4451 ACTAAAAACA GANNAGANAN NAGGCTTACC ATTTCCATGC CNAGANGANG  
4501 GTATCTCTCC AAAGCC

FIGURE 5 (suite)

FIGURE 6

clone génomique 4.1.1



pIB56



pIB57



pIB58

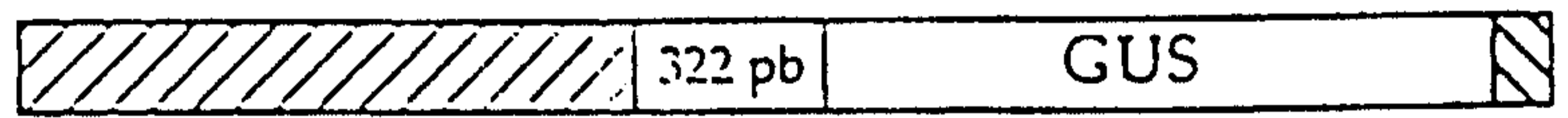


FIGURE 6 (suite)

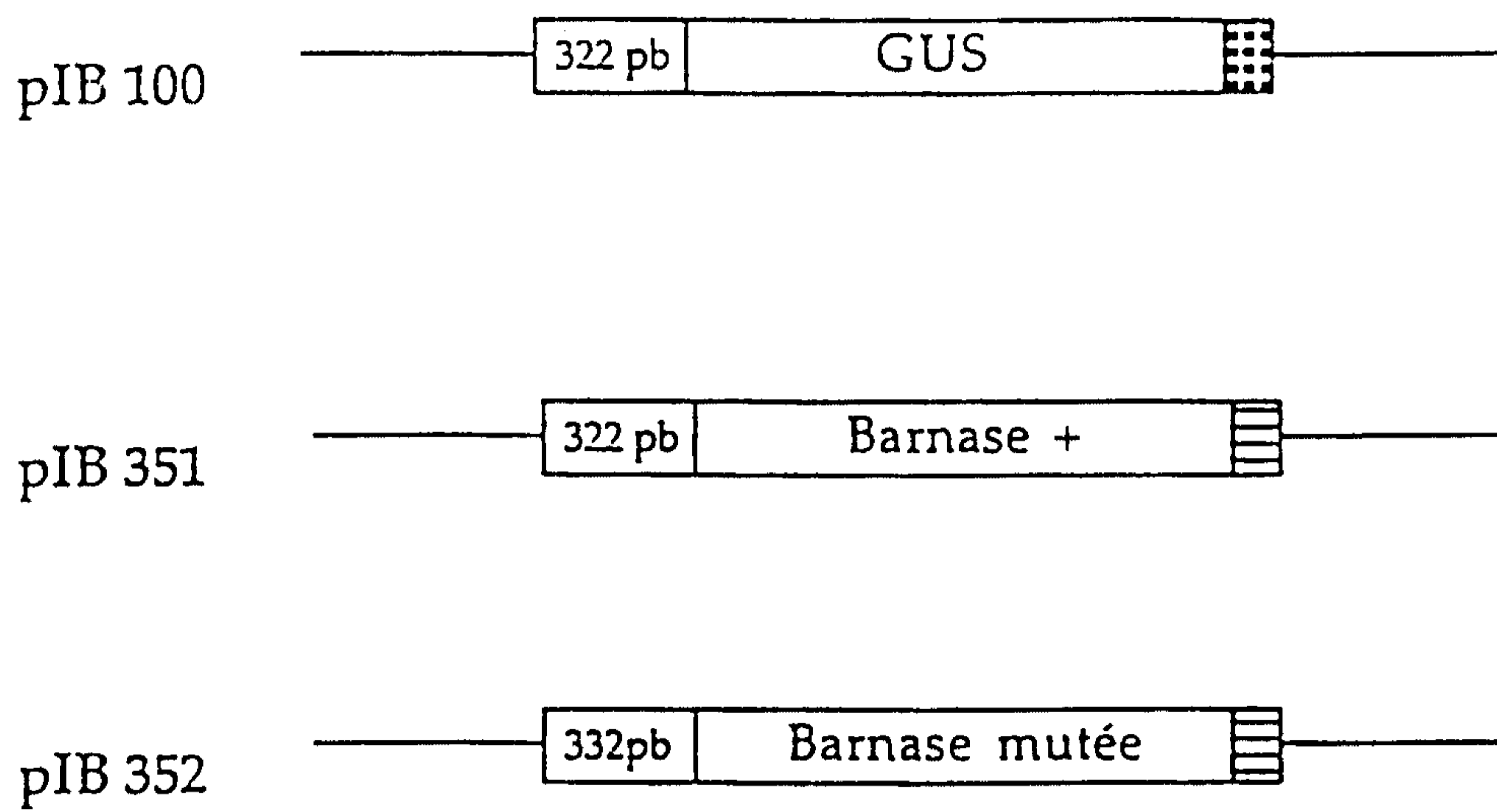


FIGURE 7