



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

(11) (21) **PI 0314080-6 A**



(22) Data de Depósito: 05/09/2003
(43) Data de Publicação: 05/07/2005
(RPI 1800)

(51) Int. Cl.:
C12N 15/82

(54) Título: **MÉTODO PARA ALTERAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E FORMAÇÃO DE ÓRGÃOS DE UMA PLANTA**

(30) Prioridade Unionista: 05/09/2002 EP PCT/EP 02/10265

(71) Depositante(s): Cropdesign N.V. (BE), Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ (BR/RJ)

(72) Inventor(es): Paulo Cavalcanti Gomes Ferreira, Adriana Silva Hemerly

(74) Procurador: Orlando de Souza

(86) Pedido Internacional: PCT EP2003/010087 de 05/09/2003

(87) Publicação Internacional: WO 2004/029257 de 08/04/2004

(57) Resumo: "MÉTODO PARA ALTERAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E FORMAÇÃO DE ÓRGÃOS DE UMA PLANTA". A presente invenção se refere a um método para alteração do desenvolvimento e formação de órgãos de uma planta, em particular aceleração da taxa de desenvolvimento, aumento do tamanho e número de órgãos e promoção de floração precoce, através de expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico de *cdc27a* e/ou atividade e/ou níveis aumentados ou diminuídos, em uma planta, de uma proteína CDC27A. A invenção também se refere a plantas transgênicas tendo desenvolvimento alterado, plantas as quais têm expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico que codifica uma proteína CDC27A.

na forma de DNA ou RNA) e a subsequente introdução desse material genético em uma planta. Tal tecnologia tem a capacidade de conferir safras ou plantas tendo várias características econômicas, agrônômicas ou horticulturais aperfeiçoadas. Uma característica de interesse econômico particular é o rendimento. O rendimento é, normalmente, definido como a produção mensurável de valor econômico de uma safra. Essa pode ser definida em termos de quantidade e/ou qualidade. O rendimento da safra é influenciado pelos estresses típicos aos quais as plantas ou safras estão sujeitas. Tais estresses incluem estresses ambientais (abióticos) (tais como estresses de temperatura causados por temperaturas elevadas ou baixas atípicas; estresses causados por deficiência de nutrientes; estresses causados por falta de água (estiagem)) e estresses bióticos (os quais podem ser impostos por outras plantas (ervas daninhas), pestes animais e agentes patogênicos). O rendimento da safra pode não apenas ser aumentado através de combate de um ou mais dos estresses aos quais a safra ou planta é submetida, mas também ser aumentado através de modificação dos mecanismos inerentes de crescimento e desenvolvimento de uma planta.

Os mecanismos inerentes de crescimento de uma planta residem em uma seqüência altamente ordenada de eventos coletivamente conhecidos como 'ciclo celular'. A progressão através do ciclo celular é fundamental para o crescimento dos organismos e é crucial para a proliferação celular. Os principais componentes do ciclo celular são altamente conservados em levedo, mamíferos e plantas. O ciclo celular é, tipicamente, dividido nas seguintes fases seqüenciais:

G₀ - G₁ - S - G₂ - M. A replicação ou síntese de DNA geralmente ocorre durante a fase S ("S" é para a síntese de DNA) e segregação mitótica dos cromossomas ocorre durante a fase M (o "M" é para mitose), com fases de folga intervenientes, G₁ (durante a qual as células crescem antes de replicação de DNA) e G₂ (um período após a replicação de DNA durante o qual a célula se prepara para divisão). A divisão celular é terminada após citocinese, a última etapa da fase M. Células que saíram do ciclo celular e que se tornaram quiescentes são ditas como estando na fase G₀. Células nessa fase podem ser estimuladas a re-entrar no ciclo celular na fase G₁. O "G" em G₁, G₂ e G₀ significa "folga". O término do processo de ciclo celular permite que cada célula filha durante divisão celular receba uma cópia completa do genoma original.

A divisão celular é controlada por dois eventos principais do ciclo celular, isto é, início de síntese de DNA e início de mitose. Cada transformação a cada um desses eventos chave é controlada por um "checkpoint" representado por complexos de proteína específicos (envolvidos na replicação e divisão de DNA). O trânsito entre as diferentes fases do ciclo celular é acionado pela formação e ativação de quinases de proteína de serina/treonina heterodiméricas diferentes, geralmente referidas como quinases ciclina-dependentes (CDKs). A progressão através do ciclo celular envolve alternância das fases de alta e baixa atividade das quinases ciclina-dependentes. O complexo que promove a anáfase (APC) é uma ligase de ubiquitina com multisubunidades que dispara a destruição proteolítica de ciclinas mitóticas e é um regulador

importante da fase de baixa atividade das quinases ciclina dependentes. Cdc27 foi descrito como um membro do complexo APC, o qual está envolvido na degradação de ciclinas mitóticas durante o ciclo celular para promover a anáfase da mitose.

Os mecanismos inerentes de desenvolvimento de uma planta residem na seqüência de eventos que leva à diferenciação celular, a qual é crucial para a função de um organismo multicelular. As regiões meristemáticas de plantas superiores contêm células com elevada atividade mitótica e essas regiões produzem continuamente novas células. Uma vez desvinculadas do meristema, as células se expandem e se diferenciam totalmente. Essa diferenciação continua quando a atividade mitótica cessa, de modo que o desenvolvimento da planta pode prosseguir.

A capacidade de influenciar a diferenciação e desenvolvimento em uma planta (quer usando a tecnologia de DNA recombinante ou usando meios não recombinantes) e para, desse modo, modificar várias características do desenvolvimento de uma planta, teria muitas aplicações em áreas tais como intensificação da safra, semeadura da planta, produção de plantas ornamentais, aboricultura, horticultura e florestas.

O isolamento e caracterização de um gene *cdc27a* de *Arabidopsis thaliana* foram descritos no pedido de patente internacional WO0102430. No WO0102430 é divulgado o uso de muteínas *cdc27a* ou a sub-regulação de *cdc27* para ocasionar um mau funcionamento do complexo APC e causar endoreduplicação via estimulação da síntese de DNA e/ou bloqueio da mitose. Esse documento descreve o elo entre o

cdc27A e a síntese de DNA e/ou mitose e o uso de genes cdc27a genes, proteínas ou variantes/mutadas inativadas em uma planta, para influenciar processos envolvendo a síntese de DNA e/ou mitose, tal como replicação de DNA, divisão celular e endo-reduplicação.

Descobriu-se agora que o aumento ou diminuição da expressão, em uma planta, de um ácido nucleico de cdc27a e/ou o aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis, em uma planta, de uma proteína CDC27A proporciona plantas tendo desenvolvimento acelerado. Uma vez que a diferenciação e desenvolvimento de uma planta são processos que ocorrem após síntese de DNA e divisão celular, foi surpreendente descobrir que esses processos eram influenciados pelo transgene cdc27a. Mais particularmente, os efeitos do transgene cdc27a eram taxa acelerada de desenvolvimento, aumento do tamanho e/ou número de órgãos e floração precoce, processos os quais são baseados na diferenciação das células e padrões de desenvolvimento ao invés de na síntese de DNA e divisão celular.

Portanto, de acordo com uma primeira modalidade da presente invenção, é proporcionado um método para alterar o desenvolvimento de uma planta ou parte de planta comparado à planta ou parte de planta do tipo silvestre, processo o qual compreende o aumento ou diminuição da expressão, em uma planta, de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou o aumento ou diminuição dos níveis e/ou atividade, em uma planta, de uma proteína CDC27A.

O aumento ou diminuição da expressão de um ácido nucleico de cdc27a e/ou o aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A abrangem

expressão alterada de um gene e/ou atividade e/ou níveis alterados de um produto genético, isto é, um polipeptídeo, em células ou tecidos específicos. A expressão, atividade e/ou níveis alterados são alterados comparado à expressão, atividade e/ou níveis de um gene ou proteína cdc27a em plantas do tipo silvestre correspondentes. A expressão alterada do gene pode resultar de níveis de expressão alterados de um gene cdc27a endógeno gene e/ou pode resultar de níveis de expressão níveis alterados de um gene cdc27a previamente introduzido em uma planta. Similarmente, níveis e/ou atividade alterada de uma proteína CDC27A podem ser devido à expressão alterada de um ácido nucleico/gene cdc27a endógeno e/ou devido à expressão alterada de um ácido nucleico de gene/cdc27a previamente introduzido em uma planta. O aumento ou diminuição da expressão de um gene/ácido nucleico e/ou o aumento ou diminuição atividade e/ou níveis de um produto genético pode ser realizado, por exemplo, através de meios químicos e/ou meios recombinantes.

Vantajosamente, o aumento ou diminuição da expressão de um ácido nucleico de cdc27a e/ou aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A pode ser realizado através de meios químicos, isto é, através de aplicação exógena de um ou mais compostos ou elementos capazes de aumentar ou diminuir a atividade e/ou níveis da proteína CDC27A e/ou capazes de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico de gene/cdc27a. O termo "aplicação exógena", conforme definido aqui, é tomado para significar o contato ou administração de um composto ou elemento adequado às células, tecidos, órgãos da planta ou

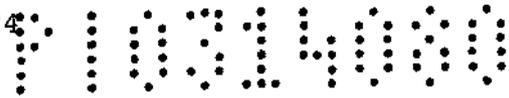
sulfato. Mutagênese também pode ser obtida através de exposição à radiação ionizante, tal como raios X ou raios gama ou luz ultravioleta. Métodos para a introdução de mutações e para a testagem do efeito de mutações (tal como
5 através de monitoramento da expressão do gene e/ou atividade de proteína) são bem conhecidos na técnica.

Portanto, de acordo com um aspecto da presente invenção, é proporcionado um método para alteração do desenvolvimento de uma planta compreendendo aplicação
10 exógena de um ou mais compostos ou elementos capazes de aumentar ou diminuir a expressão de um gene *cdc27a* e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A.

Adicional ou alternativamente e de acordo com uma modalidade preferida da presente invenção, o aumento ou diminuição da expressão de um ácido nucleico de *cdc27a* e/ou aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A pode ser realizado através de meios recombinantes. Tais meios podem compreender uma abordagem
20 direta ou indireta para aumento ou diminuição da expressão de um ácido nucleico e/ou para aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis de uma proteína.

Portanto, é proporcionado pela presente invenção um método para alterar o desenvolvimento de uma planta
25 compreendendo o aumento ou diminuição da expressão do gene *cdc27a* e/ou níveis de proteína CDC27A e/ou atividade de proteína CDC27A, aumento ou diminuição a qual pode ser realizada através de meios recombinantes e/ou através de meios químicos.

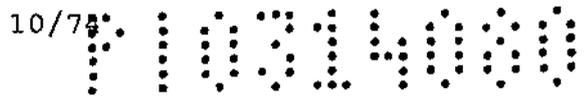
30 O gene *cdc27a* ou a proteína CDC27A em uma planta pode



ser do tipo silvestre, isto é, um ácido nucleico ou polipeptídeo nativo ou endógeno. Alternativamente, ele pode ser um ácido nucleico derivado da mesma ou de outra espécie, gene o qual é introduzido como um transgene, por exemplo, através de transformação. Esse transgene pode ser substancialmente alterado com relação à sua forma nativa quanto à composição e/ou ambiente genômico através de manipulação humana deliberada.

Uma abordagem recombinante indireta pode compreender, por exemplo, introdução, em uma planta, de um ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou níveis da proteína em questão (uma proteína CDC27A) e/ou capaz de aumentar ou diminuir a expressão do gene em questão (um gene cdc27a). Exemplos de tais ácidos nucleicos a serem introduzidos em uma planta são ácidos nucleicos que codificam fatores de transcrição ou ativadores ou inibidores que se ligam ao promotor de um gene cdc27a ou que interagem com uma proteína CDC27A. Métodos para testar esses tipos de interações e métodos para o isolamento de ácidos nucleicos que codificam tais interações incluem seleções com um híbrido em levedo ou com dois híbridos em levedo.

Também abrangido por uma abordagem indireta para o aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A e/ou expressão de um gene cdc27a, está o fornecimento de ou a inibição ou estimulação de seqüências regulatórias que acionam a expressão do gene cdc27a nativo ou do transgene cdc27a. Tais seqüências regulatórias podem ser introduzidas em uma planta. Por exemplo, o ácido nucleico introduzido na planta é um promotor capaz de



acionamento da expressão de um gene *cdc27a* endógeno.

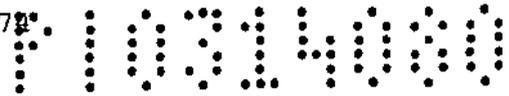
Uma outra abordagem indireta para o aumento ou diminuição da atividade e/ou níveis e/ou expressão de um gene *cdc27a* ou proteína em uma planta abrange níveis aumentados ou diminuídos, em uma planta, de um fator capaz de interagir com a CDC27A. Tais fatores podem incluir ligantes de CDC27A. Portanto, a presente invenção proporciona um método para alteração do desenvolvimento de uma planta, quando comparado a plantas do tipo silvestre correspondentes, compreendendo o aumento ou diminuição da expressão de um gene que codifica uma proteína a qual é um ligante natural de uma CDC27A. Além disso, a presente invenção também proporciona um método para alteração do desenvolvimento de uma planta com relação a plantas do tipo silvestre correspondentes compreendendo o aumento ou diminuição da expressão de um gene que codifica uma proteína a qual é um alvo/substrato natural de uma CDC27A.

Uma abordagem mais direta e preferida para alteração do desenvolvimento de uma planta compreende introdução, em uma planta, de um ácido nucleico de *cdc27a* ou uma parte do mesmo ou seqüências capazes de hibridização ao mesmo, ácido nucleico o qual codifica, de preferência uma proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo da mesma. O ácido nucleico pode ser introduzido em uma planta, por exemplo, através de transformação.

De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, é proporcionado um método para alteração do desenvolvimento de uma planta, a seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um gene *cdc27a* e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade

e/ou níveis de uma proteína CDC27A. Ainda de preferência, tal seqüência de ácido nucleico é um ácido nucleico de cdc27a.

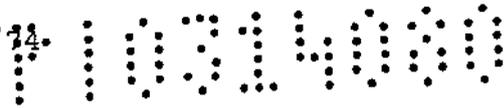
Conforme mencionado acima, o ácido nucleico a ser
5 usado nos métodos da presente invenção pode ser do tipo silvestre (nativo ou endógeno). Alternativamente, o ácido nucleico pode ser derivado de outra espécie, gene o qual é introduzido na planta como um transgene, por exemplo, através de transformação. O ácido nucleico pode, assim, ser
10 derivado (quer direta ou indiretamente (se subsequente mente modificado)) de qualquer fonte, contanto que o ácido nucleico, quando expressão em uma planta, leve à expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico/gene cdc27a ou atividade e/ou níveis aumentados ou diminuídos de uma
15 proteína CDC27A. O ácido nucleico pode ser isolado de uma fonte microbiana, tal como bactérias, levedo ou fungo ou de uma fonte vegetal, alga, inseto ou animal (incluindo seres humanos). Esse ácido nucleico pode ser substancialmente alterado com relação à sua forma nativa quanto à composição
20 e/ou ambiente genômico através de manipulação humana deliberada. A seqüência de ácido nucleico é, de preferência, uma seqüência de ácido nucleico homóloga, isto é, uma seqüência de ácido nucleico obtida de uma planta, quer da mesma ou de uma espécie diferente. O ácido nucleico
25 pode ser isolado de uma espécie dicotiledônea, de preferência da família Brassicaceae, ainda de preferência de *Arabidopsis thaliana*. Mais preferivelmente, o ácido nucleico é conforme representado por SEQ ID NO: 1 ou uma parte da mesma ou um ácido nucleico capaz de hibridização à
30 mesma ou é um ácido nucleico que codifica um aminoácido



representado por SEQ ID NO: 2 ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo da mesma, tal como um homólogo tendo pelo menos 47%, 48%, 49, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 98%, 99% de identidade de seqüência à SEQ ID NO 2.

5 Embora a invenção tenha sido exemplificada com um cdc27a de acordo com a SEQ ID NO: 1 e aminoácidos correspondentes de acordo com a SEQ ID NO: 2, será evidente para aqueles habilitados na técnica que os métodos de acordo com a invenção também podem ser praticados usando-se
10 ácidos nucleicos variantes e aminoácidos variantes, tais como aqueles definidos aqui depois.

Portanto, tomado em um contexto amplo, o termo proteína/ácido nucleico de "cdc27a" também abrange ácidos nucleicos variantes e aminoácidos variantes adequados para
15 a prática dos métodos de acordo com a invenção. De preferência, ácidos nucleicos variantes e aminoácidos variantes adequados para a prática dos mesmos de acordo com a invenção incluem aqueles que caem dentro da definição de um "cdc27a", significando que quando de construção de uma
20 árvore filogenética, tal como aquela representada na Fig. 7, as seqüências variantes de interesse tenderão a se agrupar em torno de proteínas CDC27A/genes. Outras variantes preferidas de cdc27a se agrupam em torno da proteína CDC27A de *Arabidopsis* ao invés de em torno da
25 proteína cdc27b de *Arabidopsis*. No caso de variantes de plantas em particular para as quais nenhuma distinção entre cdc27A ou cdc27B pode ser feita, variantes preferidas podem se agrupar em torno de um grupo distinto de proteínas cdc27, cada uma das quais representa uma proteína cdc27
30 única no genoma da referida planta. Exemplos de tais



proteínas cdc27 são proteínas cdc27 de monocots, tal como representado por SEQ ID NO 6 (arroz), SEQ ID NO 8 (cana-de-açúcar), SEQ ID NO 10 (milho) e SEQ ID NO 12 (trigo). Essas proteínas cdc27 também são úteis para os métodos da presente invenção. Tal árvore filogenética pode ser construída com seqüências de aminoácido ou com seqüências de ácido nucleico. Aqueles habilitados na técnica poderão determinar prontamente se qualquer seqüência de ácido nucleico ou seqüência de proteína em questão cai dentro da definição de uma "cdc27a" usando-se técnicas e softwares conhecidos para se fazer tais árvores filogenéticas, tais como o pacote GCG, EBI ou CLUSTAL ou Align X, usando os parâmetros de default. Quando de construção de tal árvore filogenética, seqüências se agrupando no grupo cdc27a serão consideradas como caindo dentro da definição de uma "cdc27a", conforme usado aqui e, portanto, serão úteis na realização dos métodos da invenção.

Seqüências de ácido nucleico e aminoácidos variantes adequadas úteis na prática do método de acordo com a invenção incluem:

- (i) porções funcionais de um ácido nucleico de gene/cdc27a;
- (ii) seqüências capazes de hibridização a um ácido nucleico/gene cdc27a;
- (iii) variantes com uniões alternativas de um ácido nucleico de gene/cdc27a;
- (iv) variantes alélicas de um ácido nucleico/gene cdc27a;
- (v) homólogos, derivados e fragmentos ativos de uma proteína CDC27A.

O termo ácido nucleico/gene *cdc27a*, conforme definido aqui, também abrange um complemento de SEQ ID NO: 1 e também o RNA, DNA, cDNA ou DNA genômico correspondente. A *cdc27a* pode ser sintetizada no todo ou em parte, pode ser
5 ácido nucleico fita dupla ou ácido nucleico fita simples. Também, esse termo abrange uma variante do gene devido à degenerância do código genético e variantes que são interrompidas por uma ou mais seqüências intervenientes.

Um exemplo de um ácido nucleico/gene de *cdc27a*
10 variante é uma porção funcional de um ácido nucleico de gene/*cdc27a*. Os métodos de acordo com a invenção podem, vantajosamente, ser praticados usando-se porções funcionais de uma *cdc27a*. Uma porção funcional se refere a um pedaço de DNA derivado ou preparado de uma molécula de DNA
15 original (maior), porção de DNA a qual, quando introduzida e expressa em uma planta, proporciona plantas tendo desenvolvimento alterado. A porção pode compreender muitos genes, com ou sem elementos de controle adicionais ou pode conter seqüências espaçadoras. A porção pode ser feita
20 fazendo-se uma ou mais deleções e/ou truncamentos na seqüência de ácido nucleico. Métodos para a introdução de truncamentos e deleções são bem conhecidos na técnica. Porções adequadas para uso nos métodos de acordo com a invenção podem ser prontamente determinadas usando-se
25 técnicas de rotina, tal como através de um ensaio para a atividade de CDC27A e/ou seguindo-se os métodos descritos na seção Exemplos através, simplesmente, de substituição da seqüência usada no Exemplo real pela porção a ser testada quanto à funcionalidade.

30 Métodos para ensaio da atividade de uma proteína



CDC27A podem compreender:

1. Opcionalmente, uma primeira etapa de expressão do gene que codifica a CDC27A,

2. Fabricação de extratos da célula hospedeira (e
5 opcionalmente purificação da proteína CDC27A) e, então,

3. Uso da mesma em ensaios biológicos em comparação com um extrato de células de CDC27A do tipo silvestre (ou proteína purificada).

Tal ensaio biológico pode envolver um teste em
10 resposta a hormônios e açúcar e uma comparação do perfil em RT-PCR da proteína investigada com os perfis da CDC27A.

Outro teste para investigar a funcionalidade de uma proteína 2 (ou um fragmento, um homólogo ou derivado da mesma) é um ensaio de complementação em levedo, em que o
15 gene/proteína sob investigação é introduzida em uma célula de levedo carecendo de seu gene e/ou proteína *cdc27* natural. Subseqüentemente, é verificado se essa célula de levedo é capaz de formar colônias normalmente e se ela é capaz de síntese normal de DNA. Tal ensaio de
20 complementação em levedo foi descrito por Blilou e colaboradores (Genes Dev. 2002 16(19): 2566-75). Em resumo, para investigar se a proteína CDC27A pode atuar com um componente do APC, o cDNA de comprimento total pode ser clonado em um vetor de levedo com um promotor tiamina-

25 repressível e transformado em um gênero *nuc2^{ts}* de *S. pombe*. A expressão da *cdc27A* resgatará, pelo menos parcialmente, o fenotipo *nuc2* na temperatura restritiva e restaurará, reproduzivelmente, o crescimento a uma densidade maior, comparado ao controle de vetor vazio.

30 Outro ensaio para testar a funcionalidade de uma

proteína cdc27 é um experimento de "pull down". A CDC27 é parte de um complexo APC com multiproteínas, através de ligação a proteínas específicas dentro desse complexo. Para confirmar que essa proteína está, na verdade, implicada em sua estrutura, o método de purificação por afinidade aleatória (TAP) pode ser usado. O TAP é uma ferramenta que permite a purificação rápida sob condições nativas de complexos, mesmo quando expressos em seu nível natural. O método TAP requer a fusão da tag RAP, quer N- ou C-terminalmente, à proteína alvo de interesse, por exemplo, CDC27. Através de eluição sucessiva das colunas de afinidade para as tags, purificação altamente específica do complexo pode ser obtida. Após a etapa final de eluição do complexo purificado, a identificação de proteínas que interagem com a proteína alvo fornecida é feita via espectrometria de massa (Puig e colaboradores, (2001) The tandem affinity purification (TAP) method: a general procedure of protein complex purification. *Methods* 24 (3): 218-29; Rigaut e colaboradores (1999), A generic protein purification method for protein complex characterization and proteome exploration. *Nat Biotechnol.* 17 (10): 1030-2).

Um exemplo de um outro ácido nucleico de cdc27a variante é uma seqüência que é capaz de hibridização a uma cdc27a. Vantajosamente, os métodos de acordo com a presente invenção também podem ser praticados usando-se seqüências capazes de hibridização a uma cdc27a, particularmente uma cdc27a conforme representado por qualquer uma de SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 3, seqüências de hibridização as quais são, de preferência, aquelas que caem dentro da definição de uma "cdc27a", significando que quando de construção de uma

árvore filogenética, tal como aquela representada na Fig. 7, a seqüência de hibridização será uma que tende a se agrupar em torno das cdc27a's. Seqüências de hibridização adequadas para uso nos métodos de acordo com a invenção podem ser prontamente determinadas usando-se técnicas de rotina, tal como através de ensaio da atividade de CDC27A e/ou seguindo-se os métodos descritos na seção Exemplos simplesmente substituindo-se a seqüência usada no Exemplo real pela seqüência de hibridização.

O termo "hibridização", conforme definido aqui, é um processo em que seqüências de nucleotídeo complementares substancialmente homólogas se anelam umas às outras. O processo de hibridização pode ocorrer inteiramente em solução, isto é, ambos os ácidos nucleicos complementares estão em solução. Ferramentas em biologia molecular contando com tal processo incluem a reação em cadeia de polimerase (PCR; e todos os métodos baseados na mesma), hibridização subtrativa, extensão aleatória de primer, mapeamento de nuclease S1, extensão de primer, transcrição invertida, síntese de cDNA, visualização diferencial de RNAs e determinação de seqüência de DNA. O processo de hibridização também pode ocorrer com um dos ácidos nucleicos complementares imobilizados a uma matriz, tal como glóbulos magnéticos, glóbulos de Sepharose ou qualquer outra resina. Ferramentas em biologia molecular contando com tal processo incluem isolamento de mRNA poli (A+). O processo de hibridização pode, além disso, ocorrer com um dos ácidos nucleicos complementares imobilizados a um suporte sólido, tal como uma membrana de nitro-celulose ou náilon ou imobilizados, por exemplo, através de

fotolitografia, por exemplo, a um suporte de vidro silicoso (o último conhecido como fileiras ou micro-fileiras de ácido nucleico ou como lascas de ácido nucleico). Ferramentas em biologia molecular contando com tal processo

5 incluem análise em blot gel de DNA e RNA, hibridização de colônia, hibridização em lâmina, hibridização *in situ* e hibridização em micro-fileira. De forma a permitir que a hibridização ocorra, as moléculas de ácido nucleico são, geralmente, química ou termicamente desnaturadas para

10 fundir uma fita dupla em duas fitas simples e/ou remover hairpinas ou outras estruturas secundárias dos ácidos nucleicos fita simples. A estringência de hibridização é influenciada por condições tais como temperatura, concentração de sal e composição do tampão de hibridização.

15 Condições de elevada estringência para hibridização incluem alta temperatura e/ou baixa concentração de sal (sais incluem NaCl e citrato de Na₃) e/ou a inclusão de formamida no tampão de hibridização e/ou diminuição da concentração de compostos tais como SDS (detergente) no tampão de

20 hibridização e/ou exclusão de compostos, tais como sulfato de dextrana ou polietileno glicol (promoção de desenvolvimento molecular) do tampão de hibridização. Condições convencionais de hibridização são descritas, por exemplo, em Sambrook (2001) *Molecular Cloning: a laboratory*

25 *manual*, 3ª Edição, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, New York, mas aqueles habilitados na técnica apreciarão que numerosas condições diferentes de hibridização podem ser projetadas em função da homologia e/ou comprimento da seqüência de ácido nucleico conhecida

30 ou esperada. Condições de hibridização suficientemente

baixas são particularmente preferidas (pelo menos no primeiro caso) para isolar ácidos nucleicos heterólogos às seqüências de DNA da invenção definidas supra. Um exemplo de condições de baixa estringência é 4-6x SSC / 0,1-0,5% peso/v de SDS a 37-45°C durante 2-3 horas. Dependendo da fonte e concentração do ácido nucleico envolvido na hibridização, condições alternativas de estringência podem ser empregadas, tais como condições de media estringência. Exemplos de condições de média estringência incluem 1-4x SSC / 0,25% peso/v de SDS a \geq 45°C durante 2-3 horas. Um exemplo de condições de elevada estringência inclui 0,1-1x SSC / 0,1% peso/v de SDS a 60°C durante 1-3 horas. Aqueles habilitados na técnica terão ciência dos vários parâmetros os quais podem ser alterados durante hibridização e lavagem e os quais manterão ou alterarão as condições de estringência. As condições de estringência podem começar baixas e aumentar progressivamente até que seja proporcionado um ácido nucleico de cdc27a de hibridização, conforme definido aqui acima. Elementos que contribuem para a heterologia incluem alelismo, degeneração do código genético e diferenças no uso de códon preferido.

Outro exemplo de um cdc27a variante é uma variante com união alternativa de cdc27a. Os métodos de acordo com a presente invenção também podem ser praticados usando-se uma variante com união alternativa com um ácido nucleico/gene cdc27a. O termo "variante com união alternativa", conforme usado aqui, abrange variantes de um ácido nucleico nas quais íntrons e/ou éxons selecionados tenham sido excisados, substituídos ou adicionados. Tais variantes com união podem ser encontradas na natureza ou podem ser feitas

usando-se métodos bem conhecidos na técnica. Uma variante com união útil nos métodos de acordo com a invenção é, de preferência, uma "cdc27a", significando que quando de construção de uma árvore filogenética, tal como aquela representada na Fig. 7, a variante com união de interesse 5 será uma a qual tende a se agrupar em torno das cdc27a's ao invés de em torno de quaisquer outros grupos de CDK. De preferência, a variante com união é uma variante com união da seqüência representada por qualquer uma de SEQ ID NO: 1 10 ou SEQ ID NO: 3. Variantes com união adequadas para uso nos métodos de acordo com a invenção podem ser prontamente determinadas usando-se técnicas de rotina, tal como através de ensaio da atividade de CDC27A e/ou seguindo-se os métodos descritos na seção Exemplos através, simplesmente, 15 de substituição da seqüência usada no Exemplo real pela variante com união.

Outro exemplo de uma cdc27a variante é uma variante alélica. Vantajosamente, os métodos de acordo com a presente invenção também podem ser praticados usando-se 20 variantes alélicas de um ácido nucleico de cdc27a, de preferência uma variante alélica de uma seqüência representada por qualquer uma de SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 3. Variantes alélicas existem na natureza e abrangido dentro dos métodos da presente invenção está o uso desses 25 alelos naturais isolados nos métodos de acordo com a invenção. Variantes alélicas abrangem Polimorfismos de um Único Nucleotídeo (SNPs), bem como Polimorfismos com Pequenas Inserções/Deleções (INDELS). O tamanho dos INDELS, usualmente, é de menos de 100 bp. SNPs e INDELS formam o 30 maior conjunto de variantes de seqüência em gêneros

polimórficos que ocorrem naturalmente da maioria dos organismos. As variantes alélicas úteis nos métodos de acordo com a invenção são, de preferência, "cdc27a", significando que quando de construção de uma árvore filogenética, tal como aquela representada na Fig. 7, a variante alélica de interesse tenderá a se agrupar em torno das cdc27a's. Variantes alélicas adequadas para uso nos métodos de acordo com a invenção podem ser prontamente determinadas usando-se técnicas de rotina, tal como através de ensaio para atividade de CDC27A e/ou seguindo-se os métodos descritos na seção Exemplos através, simplesmente, de substituição da seqüência usada no Exemplo real pela variante alélica.

Conseqüentemente, a presente invenção proporciona um método para alteração do desenvolvimento de uma planta, em que a seqüência de ácido nucleico da cdc27a é uma variante com união de um ácido nucleico da seqüência da cdc27a ou em que a referida proteína CDC27A é codificada por uma variante com união ou em que a seqüência de ácido nucleico da cdc27 é uma variante alélica de um ácido nucleico da seqüência da cdc27a ou em que a referida proteína CDC27A é codificada por uma variante alélica.

Exemplos de aminoácidos variantes de CDC27A incluem homólogos, derivados e fragmentos ativos de uma proteína CDC27A. Vantajosamente, os métodos de acordo com a presente invenção também podem ser praticados usando-se homólogos, derivados ou fragmento ativos de uma CDC27A, de preferência usando-se homólogos, derivados ou fragmentos ativos de uma CDC27A conforme representado por qualquer uma de SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 4.

"Homólogos" de uma proteína CDC27A abrange peptídeos, oligopeptídeos, polipeptídeos, proteínas e enzimas tendo substituições, deleções e/ou inserções de aminoácido com relação a uma proteína inalterada em questão e tendo
5 atividade biológica e funcional similares à proteína inalterada a partir da qual eles são derivados. Para produzir tais homólogos, aminoácidos da proteína podem ser substituídos por outros aminoácidos tendo propriedades similares (tais como hidrofobicidade, hidrofilicidade,
10 antigenicidade, propensão para formar ou quebrar estruturas em α -hélice ou estruturas em β -folha). Tabelas de substituição conservativa são bem conhecidas na técnica (veja, por exemplo, Creighton (1984) Proteins. W.H. Freeman and Company).

15 Os homólogos úteis nos métodos de acordo com a invenção têm uma identidade percentual à SEQ ID NO: 2 ou 4 igual a um valor oscilando entre 47% e 99,99%.

Os homólogos úteis no método de acordo com a invenção I têm pelo menos 47%, 48%, 49% ou 50% de identidade de
20 seqüência ou similaridade (identidade funcional) à proteína inalterada, alternativamente pelo menos 60% de identidade de seqüência ou similaridade a uma proteína inalterada, alternativamente pelo menos 70% de identidade de seqüência ou similaridade a uma proteína inalterada. Tipicamente, os
25 homólogos têm pelo menos 80% de identidade de seqüência ou similaridade a uma proteína inalterada, de preferência pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 98% de identidade de seqüência ou similaridade, ainda mais preferivelmente pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94% de identidade de seqüência ou
30 similaridade a uma proteína inalterada, mais



preferivelmente pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de seqüência ou similaridade a uma proteína inalterada.

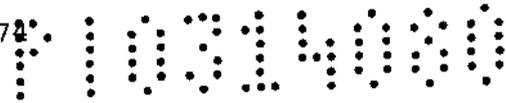
A identidade percentual pode ser calculada através de uso de um programa de alinhamento bem conhecido na técnica. por exemplo, a identidade percentual pode ser calculada usando-se o programa GAP ou needle (pacote EMBOSS) ou stretcher (pacote EMBOSS) ou o programa X, como um módulo do pacote de software vector NTI suíte 5.5, usando-se os parâmetros padrões (por exemplo penalidade por GAP de 5, penalidade por abertura de GAP de 15, penalidade por extensão de GAP de 6,6).

Os homólogos úteis na invenção são, de preferência, "cdc27a", significando que quando de construção de uma árvore filogenética, tal como aquela representada na Fig. 7 o homólogo de interesse tenderá a se agrupar em torno da CDC27A. Um homólogo de CDC27A preferido tem mais identidade de seqüência à proteína CDC27A de *Arabidopsis thaliana* (SEQ ID NO 1) do que a outra proteína de *Arabidopsis thaliana* (por exemplo, a proteína CDC27B de *Arabidopsis thaliana*, número de acesso ao Genbank CAD31951). A identidade de seqüência entre a AtCDC27A e a AtCDC27B é de 46,8% quando calculado com o programa alignX, conforme mencionado acima. Portanto, homólogos preferidos úteis nos métodos da presente invenção são homólogos tendo mais de 47% de identidade de seqüência à AtCDC27A. Homólogos adequados para uso nos métodos de acordo com a invenção podem ser prontamente determinados usando-se técnicas de rotina, tal como através de ensaio para a atividade de CDC27A e/ou seguindo-se os métodos descritos na seção Exemplos através,



simplesmente, de substituição da seqüência usada no Exemplo real pela seqüência homóloga.

Métodos para a busca e identificação de homólogos de CDC27A ou seqüências de DNA que codificam um homólogo de CDC27A estarão bem dentro da capacidade daqueles habilitados na técnica. Tais métodos envolvem seleção em bancos de dados de seqüências das seqüências conforme proporcionado pela presente invenção em SEQ ID NO: 1 e 2, de preferência um formato legível em computador dos ácidos nucleicos da presente invenção. Essa informação de seqüência está disponível, por exemplo, em bancos de dados públicos, que incluem, mas não estão limitados, ao Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/web/Genbank>), o European Molecular Biology Laboratory Sequence of Nucleic Acid Database (EMBL) (<http://w.ebi.ac.uk/ebi-docs/embl-db.html>) ou versões dos mesmos ou o banco de dados MIPS (<http://mips.gsf.de/>). Diferentes algoritmos e softwares de busca para alinhamento e comparação de seqüências são bem conhecidos na técnica. Tais softwares incluem GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA e TFASTA. O GAP usa o algoritmo de Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48: 443-453, 1970) para encontrar o alinhamento de duas seqüências complementares que maximiza o número de emparelhamentos e minimiza o número de gaps. O algoritmo BLAST calcula a identidade percentual de seqüência e realizada uma análise estatística da similaridade entre as duas seqüências. O pacote de programas referido como programas BLAST tem 5 implementações diferentes: três projetadas para queries de seqüência de nucleotídeo (BLASTN, BLASTX e TBLASTX) e duas projetadas para queries de seqüência de proteína (BLASTP e



TBLASTN) (Coulson, Trends in Biotechnology: 76-80, 1994; Birren e colaboradores, Genome Analysis, 1: 543, 1997). O software para realização de análise pelo BLAST está publicamente disponível através do National Centre for
5 Biotechnology Information.

Homólogos de SEQ ID NO 2 podem ser encontrados em muitos organismos procariotas e eucariotas. Os homólogos mais próximos são encontrados no reino vegetal. Por exemplo, ácidos nucleicos parciais de cdc27a foram isolados
10 de arroz (SEQ ID NO 5) que codifica um homólogo de cdc27a de arroz (SEQ ID NO 6), de cana-de-açúcar (SEQ ID NO 7 e 8), de milho (SEQ ID NO 9 e 10), de sorgo (SEQ ID NO 11 e 12) e de trigo (SEQ ID NO 13 e 14). À medida que mais genomas vão sendo seqüenciados, espera-se que muitos mais
15 homólogos de CDC27A sejam identificáveis.

Essas análises mencionadas acima para comparação de seqüências são, de preferência, feitas em uma seqüência de comprimento total ou, alternativamente, podem ser baseadas em uma comparação de determinadas regiões, tais como
20 domínios conservados. A identificação de tais domínios também estará dentro da capacidade daqueles habilitados na técnica e envolve, por exemplo, um formato legível em computador dos ácidos nucleicos da presente invenção, o uso de programas de software de alinhamento e o uso de
25 informação publicamente disponível sobre domínios de proteína, motivos conservados e caixas. Essa informação de domínios de proteína está disponível no banco de dados PRODOM

([http://www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/dbbrowser/jj/prodomsrchjj](http://www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/dbbrowser/jj/prodomsrchjj.html)
30 [.html](http://www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/dbbrowser/jj/prodomsrchjj.html)), PIR (<http://pir.georgetown.edu/>) ou pFAM



(<http://pfam.wustl.edu/>). Programas de análise de seqüência projetados para busca de motivos podem ser usados para a identificação de fragmentos, regiões e domínios conservados, conforme mencionado acima. Programas de computador preferidos incluiriam, mas não estão limitados, a MEME, SIGNALSCAN e GENESCAN. Um algoritmo MEME (Versão 2.2) pode ser encontrado na versão 10.0 do pacote GCG; ou no site da Internet <http://www.sdsc.edu/MEME/meme>. A informação no SIGNALSCAN versão 4.0 está disponível no site da Internet <http://biosci.cbs.umn.edu/software/sigscan.html>. O GENESCAN pode ser encontrado no site da Internet <http://gnomic.stanford.edu/GENESCANW.html>.

Homólogos de cdc27A mais particularmente preferidos têm os domínios conservados conforme descrito no W00102430, texto o qual é incorporado aqui por referência. Mais particularmente, eles compreendem repetições de domínio TRP (número de acesso ao banco de dados Interpro domínio de repetição IPR001440) e/ou o assim denominado domínio semelhante a cdc27/NUC (número de acesso ao banco de dados Prodom PD555428) ou um domínio o qual se alinha a esses domínios quando explorado com o software acima mencionado para identificação de domínios.

Duas formas especiais de homologia, ortólogos e parólogos, são conceitos evolucionários usados para descrever relações ancestrais de genes. O termo "parólogo" se refere a duplicações de gene dentro do genoma de uma espécie. O termo "ortólogo" se refere a genes homólogos em organismos diferentes devido à relação ancestral. O termo "homólogos", conforme usado aqui, também abrange parólogos



e ortólogos e são proteínas úteis nos métodos de acordo com a invenção.

Outra variante de 2 CDC27A útil nos métodos da presente invenção é um derivado de CDC27A. O termo "derivados" se refere a peptídeos, oligopeptídeos, polipeptídeos, proteínas e enzimas os quais podem compreender substituições, deleções ou adições de resíduos de aminoácido que ocorrem naturalmente e não naturalmente comparado à seqüência de aminoácidos de uma forma que ocorre naturalmente da proteína, por exemplo, conforme apresentado em SEQ ID NO: 2. "Derivados" de uma proteína CDC27A abrangem peptídeos, oligopeptídeos, polipeptídeos, proteínas e enzimas as quais podem compreender resíduos de aminoácidos que ocorrem naturalmente ou não naturalmente alterados, glicosilados e acilados comparado à seqüência de aminoácidos de uma forma que ocorre naturalmente do polipeptídeo. Um derivado também pode compreender um ou mais substituintes de não aminoácido comparado à seqüência de aminoácidos a partir da qual ele é derivado, por exemplo, uma molécula repórter ou outro ligante, covalente ou não covalentemente ligado à seqüência de aminoácido tal como, por exemplo, uma molécula reportar a qual é ligada para facilitar sua detecção e resíduos de aminoácido que ocorrem não naturalmente com relação à seqüência de aminoácidos de uma proteína que ocorre naturalmente.

"Variantes com substituição" de uma proteína são aquelas nas quais pelo menos um resíduo na seqüência de aminoácido foi removido e um resíduo diferente inserido em seu lugar. Substituições de aminoácido são, tipicamente, de resíduos únicos, mas podem ser agrupadas dependendo das



restrições funcionais colocadas sobre o polipeptídeo; inserções usualmente serão da ordem de cerca de 1 a 10 resíduos de aminoácidos e deleções oscilarão de cerca de 1 a 20 resíduos de aminoácido. De preferência, as substituições de aminoácido compreendem substituições conservativas de aminoácidos.

"Variantes insercionais" de uma proteína são aquelas nas quais um ou mais resíduos de aminoácidos são introduzidos em um local predeterminado em uma proteína.

10 Inserções podem compreender fusões amino-terminais e/ou carbóxi-terminais, bem como inserções intra-seqüência de aminoácidos únicos ou múltiplos. Geralmente, inserções dentro da seqüência de aminoácidos serão menores do que fusões amino- ou carbóxi-terminais, da ordem de cerca de 1 a 10 resíduos. Exemplos de proteínas de fusão carbóxi-terminais ou peptídeos incluem o domínio de ligação ou domínio de ativação de um ativador transcricional, conforme usado no sistema com dois híbridos em levedo, proteínas do envoltório de fagos, (histidina)6-tag, S-transferase-tag de glutathiona, proteína A, proteína de ligação a maltose, dihidrofolato reductase, epítipo Tag-100, epítipo c-myc, FLAG®-epítipo, lacZ, CMP (peptídeo de ligação à calmodulina), epítipo HA, epítipo de proteína C e epítipo VSV.

25 "Variantes com deleção" de uma proteína são caracterizadas pela remoção de um ou mais aminoácidos da proteína. Variantes de aminoácido de uma proteína podem ser feitas prontamente usando-se métodos de síntese de peptídeo bem conhecidos na técnica, tal como síntese de peptídeo em fase sólida e semelhantes ou através de manipulações

30



recombinantes de DNA. Métodos para a manipulação de seqüências de DNA para produzir variantes com substituição, inserção ou deleção de uma proteína são bem conhecidos na técnica. Por exemplo, técnicas para fazer mutações com substituição em locais predeterminados no DNA são bem
5 conhecidas por aqueles habilitados na técnica e incluem mutagênese M13, T7-Gen em mutagênese *in vitro* (USB, Cleveland, OH), mutagênese Sítio Dirigida QuickChange (Stratagene, San Diego, CA), mutagênese sítio dirigida PCR-
10 mediada ou outros protocolos de mutagênese sítio-dirigida.

Outra variante de CDC27A útil nos métodos da presente invenção é um fragmento ativo de CDC27A. "Fragmentos ativos" de uma proteína CDC27A abrangem resíduos de aminoácidos contíguos de uma proteína CDC27A, resíduos os
15 quais retêm a atividade biológica e/ou funcional similar à proteína que ocorre naturalmente. Por exemplo, fragmentos úteis compreendem pelo menos 10 resíduos de aminoácidos contíguos de uma proteína CDC27A. Outros fragmentos preferidos são fragmentos da proteína CDC27A começando nos
20 segundo ou terceiro ou outros resíduos internos de metionina. Esses fragmentos se originam de tradução de proteína, começando em códons ATG internos.

De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, expressão intensificada ou aumentada de um ácido
25 nucleico de *cdc27a* em uma planta ou parte de planta é pretendida. Métodos para obtenção de expressão aumentada de genes ou produtos genéticos são bem documentados na técnica e incluem, por exemplo, superexpressão acionada por um promotor (forte), o uso de intensificadores de transcrição
30 ou intensificadores de tradução. O termo superexpressão,

conforme usado aqui, significa qualquer forma de expressão que é adicional ao nível de expressão do tipo silvestre original. De preferência, o ácido nucleico a ser introduzido na planta e/ou ácido nucleico que tem de ser superexpresso em planta está na direção senso com relação ao promotor ao qual ele está operavelmente ligado.

Conseqüentemente, uma modalidade preferida da presente invenção proporciona um método para alterar o desenvolvimento em uma planta compreendendo introdução, em uma planta, de uma seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um gene *cdc27a* e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou nível de uma proteína CDC27A na orientação senso com relação a um elemento de controle à qual ela esteja operavelmente ligada.

Alternativa e/ou adicionalmente, a expressão aumentada de um gene que codifica a CDC27A ou atividade e/ou níveis aumentados de uma proteína CDC27A em uma célula de planta são obtidos através de mutagênese. Por exemplo, essas mutações podem ser responsáveis pelo controle alterado do gene *cdc27a*, resultando em maior expressão do gene com relação a um gene do tipo silvestre. Mutações também podem causar alterações conformacionais em uma proteína, resultando em maior atividade e/ou níveis da proteína CDC27A.

Uma vez que a taxa acelerada de desenvolvimento foi demonstrada via plantas superexpressando o gene *cdc27a*, é considerado pela presente invenção um método para retardo do desenvolvimento compreendendo sub-regulação de expressão de um gene *cdc27a* ou sub-regulação dos níveis e/ou

atividade de uma proteína CDC27A. Também, métodos abrangendo a sub-regulação de CDC27A podem ser usados para diminuir o número ou tamanho de órgãos ou para retardar a floração. Portanto, de acordo com um outro aspecto da invenção, expressão diminuída de um ácido nucleico de cdc27a ou atividade e/ou nível diminuído de uma CDC27A é pretendido.

Exemplos de diminuição ou sub-regulação de expressão são bem documentados na técnica e incluem, por exemplo, sub-regulação de expressão através de técnicas anti-senso, técnicas de RNAi, RNAs de pouca interferência (siRNAs), microRNA (miRNA), etc. Portanto, de acordo com um aspecto particular da invenção, é proporcionado um método para alteração do desenvolvimento de uma planta, incluindo tecnologias que são baseadas, por exemplo, na síntese de transcritos anti-senso, complementares ao mRNA de um gene cdc27a.

Outro método para a sub-regulação da expressão de um gene ou silenciamento de um gene compreende o uso de ribozimas, por exemplo, conforme descrito no WO9400012 (Atkins e colaboradores), WO9503404 (Lenee e colaboradores), WO0000619 (Nikolau e colaboradores), WO9713865 (Ulvskov e colaboradores) e WO9738116 (Scott e colaboradores).

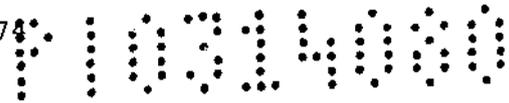
O silenciamento de gene também pode ser obtido através de inserção de mutagênese (por exemplo, inserção de T-DNA ou inserção de transposon) ou através de estratégias de silenciamento de gene, conforme descrito, dentre outros, nos documentos WO9836083 (Baulcombe e Angell), WO9853083 (Grierson e colaboradores), WO9915682 (Baulcombe e

colaboradores) ou W09953050 (Waterhouse e colaboradores).

A expressão de um gene endógeno pode também ser reduzida se o gene endógeno contém uma mutação. Tal gene mutante pode ser isolado e introduzido na mesma ou em uma espécie de planta diferente de forma a se obter plantas tendo desenvolvimento alterado. Também, mutantes negativos dominantes de um ácido nucleico de *cdc27a* podem ser introduzidos na célula para diminuir o nível e/ou atividade da proteína CDC27A endógena.

Outros métodos para diminuir a expressão de um ácido nucleico de *cdc27a* e/ou atividade e/ou nível de uma proteína CDC27A em uma célula abrangem, por exemplo, os mecanismos de silenciamento de gene transcricional, tal como a metilação do promotor *cdc27a*.

Outro mecanismo para sub-regular os níveis e/ou atividade de uma proteína CDC27A em uma planta abrange o mecanismo de co-supressão. O aumento ou diminuição de expressão do gene (quer através de uma abordagem direta ou indireta) abrange níveis alterados de transcrito desse gene. Níveis alterados de transcrito podem ser suficientes para induzir a determinados efeitos fenotípicos, por exemplo, via o mecanismo de co-supressão. Aqui, o efeito global da expressão de um transgene é aquele de menos atividade na célula da proteína codificada por um gene nativo tendo homologia ao transgene introduzido. A Co-supressão é realizada através da adição de seqüências de codificação ou partes das mesmas em uma orientação senso na célula. Portanto, de acordo com um aspecto da presente invenção, o desenvolvimento de uma planta pode ser alterado através de introdução, em uma planta, de uma cópia



adicional (no todo ou em parte) de um gene *cdc27a* já presente em uma planta hospedeira. O gene adicional pode silenciar o gene endógeno, dando origem a um fenômeno conhecido como co-supressão.

5 Estruturas genéticas objetivadas na expressão silenciosa de gene podem compreender a seqüência de nucleotídeos do *cdc27a* ou pelo menos uma parte da mesma em uma orientação senso e/ou anti-senso com relação a uma seqüência promotora. De preferência, as porções compreendem

10 pelo menos 21 ácidos nucleicos contíguos de uma seqüência a ser sub-regulada. Também, cópias senso ou anti-senso de pelo menos parte do gene endógeno na forma de repetições diretas ou invertidas podem ser utilizadas nos métodos de acordo com a invenção. O desenvolvimento de uma planta

15 também pode ser alterado através de introdução, em uma planta, de pelo menos parte de uma versão anti-senso da seqüência de nucleotídeo representada, por exemplo, por SEQ ID NO: 1. Será evidente que parte do ácido nucleico (uma porção) também poderia obter o resultado desejado. Genes

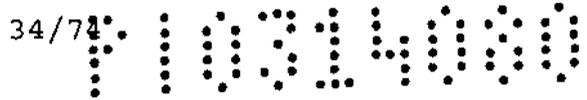
20 homólogos anti-senso são preferidos, genes homólogos sendo genes de planta, de preferência genes de planta da mesma espécie de planta na qual a estrutura silenciosa é introduzida.

A expressão de um gene *cdc27a* pode ser investigada

25 através de análise por Northern ou Southern blot de extratos de células. Os níveis de proteína CDC27A na célula podem ser investigados via análise por Western blot dos extratos de células.

A atividade de uma proteína CDC27A pode ser

30 investigada fazendo-se extratos de uma célula (e



opcionalmente purificando-se a proteína CDC27A) e usá-los em ensaios biológicos para comparação com um extrato de células de CDC27A do tipo silvestre (ou proteína purificada). Tal ensaio biológico pode envolver um teste em
5 resposta a hormônios e açúcar e uma comparação do perfil de RT-PCR da proteína investigada com os perfis da CDC27A.

Outro teste para investigar a funcionalidade de uma proteína 2 (ou um fragmento, um homólogo ou derivado da mesma) é um ensaio de complementação em levedo, em que o
10 gene/proteína sob investigação é introduzida em uma célula de levedo carecendo de seu gene e/ou proteína *cdc27* natural. Subseqüentemente, é verificado se essa célula de levedo é capaz de formar colônias normalmente e se ela é capaz de síntese normal de DNA. Tal ensaio de
15 complementação em levedo foi descrito por Blilou e colaboradores (Genes Dev. 2002 16(19): 2566-75). Em resumo, para investigar se a proteína CDC27A pode atuar com um componente do APC, o cDNA de comprimento total pode ser clonado em um vetor de levedo com um promotor tiamina-
20 repressível e transformado em um gênero *nuc2^{ts}* de *S. pombe*. A expressão da *cdc27A* resgatará, pelo menos parcialmente, o fenotipo *nuc2* na temperatura restritiva e restaurará, reproduzivelmente, o crescimento a uma densidade maior, comparado ao controle de vetor vazio.

25 Outro ensaio para testar a funcionalidade de uma proteína *cdc27* é um experimento de "pull down". A CDC27 é parte de um complexo APC com multiproteínas, através de ligação a proteínas específicas dentro desse complexo. Para confirmar que essa proteína está, na verdade, implicada em
30 sua estrutura, o método de purificação por afinidade

aleatória (TAP) pode ser usado. O TAP é uma ferramenta que permite a purificação rápida sob condições nativas dos complexos, mesmo quando expressos em seu nível natural. O método TAP requer fusão da tag TAP, quer N- ou C-terminalmente, à proteína alvo de interesse, por exemplo, CDC27. Através de eluição sucessiva de colunas de afinidade para as tags, purificação altamente específica do complexo pode ser obtida. Após a etapa final de eluição do complexo purificado, a identificação de proteínas que interagem com a proteína alvo fornecida é feita via espectrometria de massa. (Puig e colaboradores, (2001) The tandem affinity purification (TAP) method: a general procedure of protein complex purification. *Methods* 24(3): 218-29; Rigaut e colaboradores (1999), A generic protein purification method for protein complex characterization and proteome exploration. *Nat Biotechnol.* 17(10):1030-2).

De acordo com uma segunda modalidade da presente invenção, estruturas genéticas e vetores para facilitar a introdução e/ou expressão das seqüências de nucleotídeo úteis nos métodos de acordo com a invenção são proporcionadas. Portanto, de acordo com a segunda modalidade, a presente invenção proporciona uma estrutura genética compreendendo:

(i) uma seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico de cdc27a e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou nível de uma proteína CDC27A;

(ii) uma ou mais seqüências de controle capazes de regular a expressão da seqüência de ácido nucleico de (i); e opcionalmente

(iii) uma seqüência de término de transcrição.

De acordo com os métodos da presente invenção, tal vetor é introduzido em uma planta ou parte de planta.

Estruturas úteis nos métodos de acordo com a presente invenção podem ser construídas usando-se tecnologia de DNA recombinante bem conhecidas por aqueles habilitados na técnica. As estruturas genéticas podem ser inseridas em vetores, os quais podem estar comercialmente disponíveis, adequados para a transformação em plantas e adequados para a expressão do gene de interesse nas células transformadas.

A estrutura genética pode ser um vetor de expressão em que a referida seqüência de ácido nucleico é operavelmente ligada a uma ou mais seqüências de controle que permitem a expressão em células hospedeiras procariotas e/ou eucariotas.

O ácido nucleico de acordo com (i) é, vantajosamente, qualquer um dos ácidos nucleicos antes mencionados, de preferência um ácido nucleico de cdc27a, mais preferivelmente um ácido nucleico de cdc27a de acordo com SEQ ID NO: 1 ou 3. A seqüência da estrutura de (ii) é, de preferência, um promotor constitutivo, por exemplo, um promotor CaMV35S ou GOS2.

Os métodos de acordo com a presente invenção também podem ser praticados através de introdução, em uma planta, de pelo menos uma parte de um cromossoma (natural ou artificial) (tal como um Bacterial Artificial Chromosome (BAC)), cromossoma o qual contém pelo menos um gene/ácido nucleico de cdc27a, opcionalmente junto com um ou mais elementos da família do gene relacionado. Portanto, de acordo com um outro aspecto da presente invenção, é

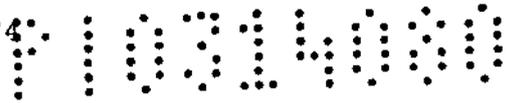
proporcionado um método para alteração do desenvolvimento de uma planta através de introdução, em uma planta, de pelo menos uma parte de um cromossoma compreendendo pelo menos um gene/ácido nucleico de *cdc27a*, gene/ácido nucleico de *cdc27a* o qual é, de preferência, um representado por qualquer uma de SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 3.

De acordo com uma modalidade preferida da invenção, a estrutura genética é um vetor de expressão projetado para superexpressar a seqüência de ácido nucleico. A seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico de *cdc27a* e/ou atividade e/ou nível de uma proteína CDC27A em si pode ser um ácido nucleico de *cdc27a* ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo do mesmo, tal como qualquer uma das seqüências de ácido nucleico descritas aqui antes. Uma seqüência de ácido nucleico preferida pe a seqüência representada por SEQ ID NO: 1 ou 3 ou uma porção da mesma ou seqüências capazes de hibridização à mesma ou uma seqüência de ácido nucleico que codifica uma seqüência representada por SEQ ID NO: 2 ou 4 ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo da mesma. De preferência, esse ácido nucleico é clonado na orientação senso com relação à seqüência de controle.

As plantas são transformadas com um vetor compreendendo a seqüência de interesse (isto é, a seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão do ácido nucleico de *cdc27a*), seqüência a qual é operavelmente ligada a uma ou mais seqüências de controle (pelo menos um promotor). Os termos "elemento regulatório", "seqüência de controle" e "promotor" são todos usados aqui permutavelmente e devem ser tomados em um contexto amplo

para se referir a uma seqüência de ácido nucleico regulatória capaz de efetuar a expressão das seqüências às quais eles estão ligados (isto é, operavelmente ligados). Abrangidas pelos termos antes mencionados estão seqüências regulatórias de transcrição derivadas de um gene genômico eucariota clássico (incluindo a caixa TATA a qual é requerida para início preciso de transcrição, com ou sem uma seqüência de caixa CCAAT) e elementos regulatórios adicionais (isto é, seqüências de ativação a montante, intensificadores e silenciadores) os quais alteram a expressão do gene em resposta a estímulos de desenvolvimento e/ou externos ou de uma maneira tecido-específica. Também incluída dentro do termo esta uma seqüência regulatória de transcrição de um gene procariota típico, caso no qual ela pode incluir uma seqüência de caixa -35 e/ou seqüências regulatórias de transcrição de caixa -10. O termo "elemento regulatório" também abrange uma molécula de fusão sintética ou derivado o qual confere, ativa ou intensifica a expressão de uma molécula de ácido nucleico em uma célula, tecido ou órgão. O termo "operavelmente ligado", conforme usado aqui, se refere a uma ligação funcional entre a seqüência promotora e o gene de interesse, de modo que a seqüência promotora é capaz de iniciar a transcrição do gene de interesse.

Vantajosamente, qualquer tipo de promotor pode ser usado para acionar a expressão da seqüência de ácido nucleico, dependendo do objetivo desejado. Por exemplo, um promotor meristema-específico, tal como o promotor rnr (ribonucleotídeo reductase), o promotor cdc2a e o promotor cyc07. Também promotores semente-específicos, tais como



p2S2, pPROLAMIN, pOLEOSIN, poderiam ser selecionados. Um promotor aleurona-específico pode ser selecionado. Um promotor inflorescência-específico, tal como pLEAFY, pode também ser utilizado. Para produzir plantas macho estéreis, 5 seria necessário um promotor antero-específico. Poderia também ser escolhido um promotor pétala-específico. Se o objetivo desejado seria alterar o desenvolvimento em órgãos em particular, então, a escolha do promotor dependerá do órgão a ser alterado. Por exemplo, o uso de um promotor 10 raiz-específico levaria a uma alteração fenotípica da raiz. Isso seria particularmente importante onde é a raiz em si que é o produto final importante; tais safras incluem beterraba de açúcar, nabo, cenoura e batata. Um promotor fruta-específico pode ser usado para modificar, por 15 exemplo, a resistência da casca externa da fruta ou aumentar o tamanho da fruta. Um promotor tecido verde-específico pode ser usado para influenciar o pf fenotípico da folha. Um promotor parede celular específico pode ser usado para aumentar a rigidez da parede celular, desse 20 modo, aumentando a resistência a agentes patogênicos. Um promotor antero-específico pode ser usado para produzir plantas macho estéreis. Um promotor vascular-específico pode ser usado para aumentar o transporte das folhas para as sementes. Um promotor nódulo-específico pode ser usado 25 para aumentar as capacidades de fixação de nitrogênio de uma planta, desse modo, aumentando os níveis de nutrientes em uma planta. Um promotor estresse-induzível pode também ser usado para acionar a expressão de um ácido nucleico durante condições de estresse. Um promotor estresse- 30 induzível tal como o promotor induzido por estresse pela

água WSI18, o promotor induzido por estresse por estiagem Trg-31, o promotor ABA-relacionado rab21 ou qualquer outro promotor o qual é induzido sob condições de estresse em particular, tal como estresse por temperatura (frio, congelamento, calor) ou estresse osmótico ou estresse por tempestades ou estresse oxidativo ou estresse biótico, pode ser usado para acionar a expressão de um gene cdc27a.

De preferência, a seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um gene cdc27a é operavelmente ligada a um promotor constitutivo. O termo "constitutivo", conforme definido aqui, se refere a um promotor que é expresso predominantemente em pelo menos um tecido ou órgão e predominantemente em qualquer estágio de vida da planta. De preferência, o promotor é expresso predominantemente na maioria dos tecidos ou órgãos da planta, mais preferivelmente através da planta toda. De preferência, o promotor constitutivo é um promotor CaMV35s ou promotor GOS2 ou um promotor com um padrão de expressão similar. Resistência similar e/ou padrão de expressão similar podem ser analisados, por exemplo, através de acoplamento de promotores a um gene repórter e verificação da função do gene repórter em tecidos da planta. Um gene repórter adequado é beta-glucoronidase e a coloração por GUS colorimétrico para visualizar a atividade do gene repórter em um tecido de planta é bem conhecida por aqueles habilitados na técnica.

Exemplos de outros promotores constitutivos são apresentados na Tabela 1, promotores os quais ou derivados dos mesmos são úteis na realização dos métodos da presente invenção.

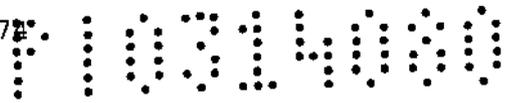
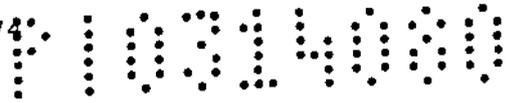


TABELA 1

PROMOTORES CONSTITUTIVOS EXEMPLIFICATIVOS PARA USO NA
REALIZAÇÃO DA INVENÇÃO

FONTE GENETICA	PADRÃO DE EXPRESSÃO	REFERÊNCIA
Actina	constitutivo	McElroy e colaboradores, <i>Plant Cell</i> , 2: 163-171, 1990
CAMV 35S	constitutivo	Odell e colaboradores, <i>Nature</i> , 313: 810-812, 1985
CaMV 19S	constitutivo	Nilsson e colaboradores, <i>Physiol. Plant.</i> 100:456-462, 1997
GOS2	constitutivo	de Pater e colaboradores, <i>Plant J Nov</i> ; 2(6): 837-44, 1992
ubiquitina	constitutivo	Christensen e colaboradores, <i>Plant Mol. Biol.</i> 18: 675-689, 1992
arroz ciclofilina de arroz	constitutivo	Buchholz e colaboradores, <i>Plant Mol Biol.</i> 25(5): 837-43, 1994
H3 histona de milho	constitutivo	Lepetit e colaboradores, <i>Mol. Gen. Genet.</i> 231: 276-285, 1992
actina 2	constitutivo	An e colaboradores, <i>Plant J.</i> 10(1); 107-121, 1996

Opcionalmente, uma ou mais seqüências terminadoras
5 podem também ser usadas na estrutura introduzida em uma
planta. O termo "terminador" abrange uma seqüência de
controle a qual é uma seqüência de DNA no final de uma
unidade transcricional a qual sinaliza processamento 3' e
poliadenilação de um transcrito primário e término de



transcrição. Elementos regulatórios adicionais podem
incluir intensificadores de transcrição, bem como de
tradução. Aqueles habilitados na técnica estarão cientes de
seqüências terminadoras e intensificadoras as quais podem
5 ser adequados para uso na realização da invenção tais
seqüências são conhecidas ou podem ser prontamente obtidas
por aqueles habilitados na técnica.

As estruturas genéticas da invenção podem ainda
incluir uma origem de seqüência de replicação a qual é
10 requerida para manutenção e/ou replicação em um tipo de
célula específico. Um exemplo é quando é requerido que uma
estrutura genética seja mantida em uma célula bacteriana
como um elemento genético episossomal (por exemplo, molécula
de plasmídeo ou cosmídeo). Origens de replicação preferidas
15 incluem, mas não estão limitadas, a fl-ori e colE1.

A estrutura genética pode, opcionalmente, compreender
um gene marcador selecionável. Conforme usado aqui, o termo
"gene marcador selecionável" inclui qualquer gene o qual
confere um fenotipo a uma célula na qual ele é expresso
20 para facilitar a identificação e/ou seleção de células as
quais são transfectadas ou transformadas com uma estrutura
de ácido nucleico da invenção. Marcadores adequados podem
ser selecionados de marcadores que conferem resistência a
antibiótico ou herbicida, que introduzem uma nova
25 característica metabólica ou que permitem seleção visual.
Exemplos de genes marcadores selecionáveis incluem genes
que conferem resistência a antibióticos (tal como o nptII
que codifica a fosfotransferase de neomicina, capaz de
fosforilação de neomicina e canamicina ou hpt que codifica
30 a fosfotransferase de higromicina, capaz de fosforilação de



higromicina), a herbicidas (por exemplo, bar, o qual proporciona resistência ao Basta; aroA ou gox que proporcionam resistência contra glifosato) ou genes que proporcionam uma característica metabólica (tal como manA, que permite que as plantas usem manose como a única fonte de carbono). Genes marcadores visuais resultam na formação de cor (por exemplo, beta-glucoronidase, GUS), luminescência (tal como luciferase) ou fluorescência (Proteína Verde Fluorescente, GFP e derivados da mesma).

Outros exemplos de genes marcadores selecionáveis adequados incluem o gene da resistência à ampicilina (Ampr), à tetraciclina (Tcr), gene da resistência à canamicina bacteriana (Kanr), o gene da resistência à fosfotricina e o gene de acetiltransferase de cloranfenicol (CAT), dentre outros.

Em uma modalidade preferida, a estrutura genética, conforme mencionado acima, compreende um ácido nucleico de cdc27a na orientação senso acoplado a um promotor que é, de preferência, um promotor constitutivo, tal como, por exemplo, o promotor GOS2. Portanto, de acordo com outro aspecto da presente invenção, é proporcionado um ácido nucleico isolado compreendendo um cassete de expressão compreendendo pelo menos uma parte de uma seqüência de ácido nucleico representada em SEQ ID NO: 1 ou 3 ou a fita complementar da mesma; operavelmente ligado a pelo menos uma parte de um promotor constitutivo.

De acordo com uma terceira modalidade da presente invenção, é proporcionado um método para a produção de uma planta tendo desenvolvimento alterado compreendendo o aumento ou diminuição, em uma planta, da expressão e/ou

atividade e/ou níveis de ácido nucleico de cdc27a ou proteína CDC27A.

De acordo com uma modalidade em particular, a presente invenção proporciona um método para a produção de planta transgênicas tendo características de crescimento alteradas, método o qual compreende:

(i) introdução, em uma planta ou parte de planta, de um ácido nucleico ou uma porção do mesmo ou seqüências capazes de hibridização ao mesmo, ácido nucleico o qual é capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um gene qualquer e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou níveis de uma CDC27A, de preferência em que o referido ácido nucleico codifica uma proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo da mesma;

(ii) cultura da célula de planta sob condições que promovem a regeneração e crescimento de uma planta madura.

O ácido nucleico de (i) pode ser, vantajosamente, qualquer um dos ácidos nucleicos antes mencionados, de preferência um ácido nucleico de cdc27a, mais preferivelmente um ácido nucleico de cdc27a de acordo com a SEQ ID NO: 1 ou 3. O ácido nucleico é, de preferência, operavelmente ligado a um promotor constitutivo, tal como um promotor CaMV35S ou GOS2.

A proteína em si e/ou o ácido nucleico em si pode ser introduzido diretamente em uma célula de planta ou na planta em si (incluindo introdução em um tecido, órgão ou qualquer outra parte da planta). De acordo com uma característica preferida da presente invenção, o ácido nucleico é, de preferência, introduzido em uma planta através de transformação.

O termo "transformação", conforme referido aqui, abrange a transferência de um polinucleotídeo exógeno para uma célula hospedeira, a despeito do método usado para a transferência. O tecido da planta capaz de subsequente propagação clonal, quer através de organogênese ou de embriogênese, pode ser transformado com uma estrutura genética da presente invenção e uma planta inteira regenerada a partir do mesmo. O tecido escolhido em particular variará, dependendo dos sistemas de propagação clonal disponíveis para e melhor adequados a espécie que está sendo transformada em particular. Alvos teciduais exemplificativos incluem discos de folhas, pólen, embriões, cotilédones, hipocótilo, megametófitos, tecido do caule, tecido meristemático existente (por exemplo, meristema apical, brotos axilares e meristemas de raiz) e tecido meristemático induzido (por exemplo, meristema de cotilédone e meristema de hipocótilo). O polinucleotídeo pode ser transitória ou estavelmente introduzido em uma célula hospedeira e pode ser mantido não integrado, por exemplo, como um plasmídeo. Alternativamente e de preferência, o transgene pode ser estavelmente integrado no genoma do hospedeiro. A célula de planta transformada resultante pode ser usada, então, para regenerar uma planta transformada de uma maneira conhecida por aqueles habilitados na técnica.

A transformação de uma espécie de planta é agora uma técnica de rotina comum. Vantajosamente, qualquer um dos vários métodos de transformação pode ser usado para introduzir o gene de interesse em uma célula ancestral adequada. Métodos de transformação incluem o uso de

lipossomas, eletroporação, produtos químicos que aumentam a
captação de DNA livre, injeção do DNA diretamente na
planta, bombardeamento com pistola de partículas,
transformação usando vírus ou pólen e microinjeção. Métodos
5 podem ser selecionados a partir do método de
cálcio/polietileno glicol para protoplastas (Krens, F.A. e
colaboradores, 1982, Nature 296, 72-74; Negrutiu I. e
colaboradores, Junho de 1987, Plant Mol. Biol. 8, 363-373);
eletroporação de protoplastas (Shillito R.D. e
10 colaboradores, 1985 Bio/Technol 3, 1099-1102); microinjeção
no material da plantas (Crossway A. e colaboradores, 1986,
Mol. Gen Genet 202, 179-185); bombardeamento de partículas
DNA ou RNA-revestidas (Klein T.M. e colaboradores, 1987,
Nature 327, 70), infecção com vírus (não integrativo) e
15 semelhantes.

Plantas transgênicas de arroz expressando um gene
cdc27a são, de preferência, produzidas via transformação
Agrobacterium-mediada usando-se qualquer um dos métodos
conhecidos para a transformação de arroz, conforme descrito
20 em qualquer um dos seguintes: Pedido de patente européia EP
1198985 A1, Aldemita e Hodges (Planta, 199, 612-617, 1996);
Chan e colaboradores (Plant Mol. Biol. 22 (3) 491-506,
1993), Hiei e colaboradores (Plant J. 6 (2) 271-282, 1994),
divulgações as quais são incorporadas aqui por referência
25 conforme se totalmente apresentado. No caso de
transformação de milho, o método preferido é conforme
descrito em Ishida e colaboradores (Nat. Biotechnol. 1996
Jun; 14(6): 745-50) ou Frame e colaboradores (Planta
Physiol. Maio de 2002; 129(1): 13-22), divulgações as quais
30 são incorporadas aqui por referência conforme se totalmente

apresentado.

Geralmente, após transformação, as células ou agrupamentos de células de planta são selecionados com relação à presença de um ou mais marcadores os quais são codificados por genes expressáveis em plantas co-
5 transferidos com o gene de interesse, após o que o material transformado é regenerado em uma planta inteira.

Após transferência de DNA e regeneração, plantas putativamente transformadas podem ser avaliadas, por exemplo, usando-se análise de Southern, com relação à
10 presença do gene de interesse, número de cópias e/ou organização genômica. Alternativa ou adicionalmente, níveis de expressão do DNA recentemente introduzido podem ser monitorados usando-se análise de Northern e/ou Western,
15 ambos os métodos sendo bem conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

As plantas transformadas geradas podem ser propagadas através de uma variedade de meios, tal como através de propagação clonal ou técnicas clássicas de semeadura. Por exemplo, uma planta transformada de primeira geração (T1)
20 pode ser cultivada para proporcionar transformantes homocigotos de segunda geração (ou T2) e as plantas T2 ainda propagadas através de técnicas clássicas de semeadura.

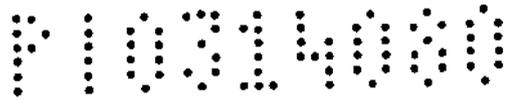
Os organismos transformados gerados podem tomar uma variedade de formas. Por exemplo, eles podem ser quimeras de células transformadas e células não transformadas; transformantes clonais (por exemplo, todas as células transformadas para conter o cassete de expressão); enxertos
30 de tecidos transformados e não transformados (por exemplo,

em plantas, um estoque de raiz transformado enxertado em um broto não transformado).

A presente invenção também abrange plantas obteníveis por meio dos métodos de acordo com a presente invenção. A presente invenção, portanto, proporciona plantas obteníveis por meio do método de acordo com a presente invenção, plantas as quais têm desenvolvimento alterado, quando comparado à plantas do tipo silvestre e plantas as quais têm atividade e/ou níveis aumentados ou diminuídos de proteína CDC27A e/ou expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico de cdc27a.

A presente invenção se estende, claramente, a qualquer célula de planta ou planta produzida por meio de qualquer um dos métodos descritos aqui e a todas as partes de planta e propágulos da mesma. A presente invenção se estende ainda para abranger a prole de uma célula, tecido, órgão ou planta inteira primária transformada ou transfectada, o único requisito sendo que a prole exiba as mesmas características genotípicas e/ou fenotípicas que aquelas produzida na original por meio dos métodos de acordo com a invenção. A invenção, conseqüentemente, também inclui células hospedeiras contendo uma molécula de ácido nucleico isolada que codifica uma proteína 2. Células hospedeiras preferidas de acordo com a invenção são células de planta. A invenção também se estende a partes colhíveis de uma planta tais como, mas não limitado, a sementes, folhas, frutos, flores, culturas de caules, caule, rizomas, raízes, tubérculos e bulbos.

De preferência, as referidas plantas são transformadas com um gene que codifica a CDC27A sob o controle de um



promotor constitutivo e mais preferivelmente as plantas da presente invenção trazem um cassete de expressão compreendendo pelo menos uma parte de cdc27A e pelo menos uma parte de um promotor constitutivo, conforme mencionado

5 aqui acima. As células hospedeiras, plantas ou partes de planta da presente invenção podem ser identificadas pela presença de maior expressão de um gene cdc27a e/ou um nível e/ou atividade maior de uma proteína CDC27A. Ainda, as plantas em particularmente da presente invenção são

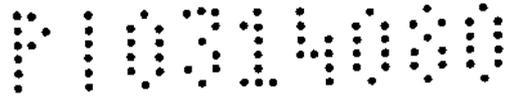
10 reconhecíveis pela presença de um transgene de cdc27a ou parte do mesmo geneticamente acoplada a um promotor constitutivo, de preferência a um promotor CaMV35S ou a um promotor GOS2 ou qualquer promotor conforme descrito aqui acima ou pelo menos uma parte do mesmo.

15 O termo "planta", conforme usado aqui, abrange plantas inteiras, ancestrais e proles das plantas e partes de plantas, incluindo sementes, brotos, caules, raízes (incluindo tubérculos) e células, tecidos e órgãos de plantas. O termo "ps. O termo "planta" também abrange,

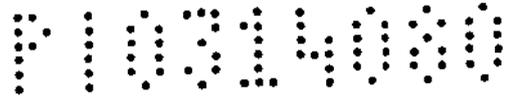
20 portanto, culturas em suspensão, embriões, regiões meristemáticas, tecido de caule, folhas, gametófitos, esporófitos, pólen e microesporos. Plantas que são particularmente úteis nos métodos da invenção incluem todas as plantas as quais pertencem à superfamília *Viridiplantae*

25 em particular plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, incluindo um legume de forragem, planta ornamental, safra de alimentos, árvore ou vegetação de cerrado selecionada da lista compreendendo *Acacia spp.*, *Acer spp.*, *Actinidia spp.*, *Aesculus spp.*, *Agathis australis*, *Albizia amara*,

30 *Alsophila tricolor*, *Andropogon spp.*, *Arachis spp.*, *Areca*



- catechu, *Astelia fragrans*, *Astragalus cicer*, *Baikiaea plurijuga*, *Betula* spp., *Brassica* spp., *Bruguiera gymnorrhiza*, *Burkea africana*, *Butea frondosa*, *Cadaba farinosa*, *Calliandra* spp, *Camellia sinensis*, *Canna indica*,
 5 *Capsicum* spp., *Cassia* spp., *Centroema pubescens*, *Chaenomeles* spp., *Cinnamomum cassia*, *Coffea arabica*, *Colophospermum mopane*, *Coronillia varia*, *Cotoneaster serotina*, *Crataegus* spp., *Cucumis* spp., *Cupressus* spp., *Cyathea dealbata*, *Cydonia oblonga*, *Cryptomeria japonica*,
 10 *Cymbopogon* spp., *Cynthea dealbata*, *Cydonia oblonga*, *Dalbergia monetaria*, *Davallia divaricata*, *Desmodium* spp., *Dicksonia squarosa*, *Diheteropogon amplectens*, *Dioclea* spp, *Dolichos* spp., *Dorycnium rectum*, *Echinochloa pyramidalis*, *Ehrartia* spp., *Eleusine coracana*, *Eragrestis* spp.,
 15 *Erythrina* spp., *Eucalyptus* spp., *Euclea schimperi*, *Eulalia villosa*, *Fagopyrum* spp., *Feijoa sellowiana*, *Fragaria* spp., *Flemingia* spp, *Freycinetia banksii*, *Geranium thunbergii*, *Ginkgo biloba*, *Glycine javanica*, *Gliricidia* spp, *Gossypium hirsutum*, *Grevillea* spp., *Guibourtia coleosperma*, *Hedysarum*
 20 spp., *Hemarthia altissima*, *Heteropogon contortus*, *Hordeum vulgare*, *Hyparrhenia rufa*, *Hypericum erectum*, *Hyperthelia dissoluta*, *Indigo incarnata*, *Iris* spp., *Leptarrhena pyrolifolia*, *Lespediza* spp., *Lettuca* spp., *Leucaena leucocephala*, *Loudetia simplex*, *Lotonus bainesii*, *Lotus*
 25 spp., *Macrotyloma axillare*, *Malus* spp., *Manihot esculenta*, *Medicago sativa*, *Metasequoia glyptostroboides*, *Musa sapientum*, *Nicotianum* spp., *Onobrychis* spp., *Ornithopus* spp., *Oryza* spp., *Peltophorum africanum*, *Pennisetum* spp., *Persea gratissima*, *Petunia* spp., *Phaseolus* spp., *Phoenix*
 30 *canariensis*, *Phormium cookianum*, *Photinia* spp., *Picea*



glauca, *Pinus* spp., *Pisum sativum*, *Podocarpus totara*,
Pogonarthria fleckii, *Pogonarthria squarrosa*, *Populus* spp.,
Prosopis cineraria, *Pseudotsuga menziesii*, *Pterolobium*
stellatum, *Pyrus communis*, *Quercus* spp., *Rhaphiolepis*
5 *umbellata*, *Rhopalostylis sapida*, *Rhus natalensis*, *Ribes*
grossularia, *Ribes* spp., *Robinia pseudoacacia*, *Rosa* spp.,
Rubus spp., *Salix* spp., *Schyzachyrium sanguineum*,
Sciadopitys verticillata, *Sequoia sempervirens*,
Sequoiadendron giganteum, *Sorghum bicolor*, *Spinacia* spp.,
10 *Sporobolus fimbriatus*, *Stiburus alopecuroides*, *Stylosanthos*
humilis, *Tadehagi* spp., *Taxodium distichum*, *Themeda*
triandra, *Trifolium* spp., *Triticum* spp., *Tsuga*
heterophylla, *Vaccinium* spp., *Vicia* spp., *Vitis vinifera*,
Watsonia pyramidata, *Zantedeschia aethiopica*, *Zea mays*,
15 *amaranto*, *alcachofra*, *aspargo*, *brócolis*, *couve de Bruxelas*,
repolho, *canola*, *cenoura*, *couve-flor*, *aipo*, *couves verdes*,
linho, *couve*, *lentilha*, *colza*, *quiabo*, *cebola*, *batata*,
arroz, *soja*, *palha*, *beterraba de açúcar*, *cana-de-açúcar*,
girassol, *tomate*, *abóbora*, *árvores*. Alternativamente, *algas*
20 e outras plantas não *Viridiplantae* podem ser usadas para os
métodos da presente invenção. De preferência, a planta de
acordo com a presente invenção é uma planta de safra
selecionada de arroz, milho, trigo, cevada, soja, girassol,
canola, *cana-de-açúcar*, *alfafa*, *painço*, *leguminosas*
25 (*feijão*, *ervilha*), *linho*, *tremoço*, *colza*, *tabaco*, e
algodão. Ainda de preferência, a planta de acordo com a
presente invenção é uma planta monocotiledônea, de
preferência um cereal.

O termo desenvolvimento, conforme usado aqui,
30 significa o processo para atingir a maturidade e estágio

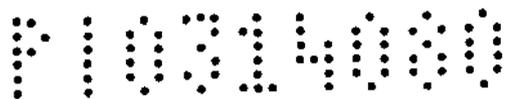
reprodutivo, envolvendo diferenciação das células e formação de órgãos. Uma alteração no desenvolvimento significa uma alteração no tempo para atingir a maturidade, bem como uma alteração nas características de desenvolvimento, as quais são manifestações de desenvolvimento, tais como diferenciação e/ou formação de órgãos.

Vantajosamente, a presente invenção proporciona um método para alterar o desenvolvimento de uma planta, em que o desenvolvimento alterado é, de preferência, selecionado de diferenciação alterada, taxa alterada de desenvolvimento, formação alterada de órgãos, tamanho e/ou número alterado de órgãos e características reprodutivas alteradas, com relação a plantas do tipo silvestre.

Ainda de preferência, a diferenciação alterada é diferenciação acelerada e/ou a taxa alterada de desenvolvimento é taxa acelerada de desenvolvimento e/ou a formação alterada de órgãos é formação acelerada de órgãos e/ou o tamanho e/ou número alterado de órgãos é tamanho e/ou número aumentado de órgãos e/ou a característica reprodutiva alterada é floração precoce e número aumentado de flores e/ou sementes.

As plantas de acordo com a presente invenção mostram diferenciação acelerada. Essa característica é particularmente vantajosa para aceleração da produção de safras.

As plantas de acordo com a presente invenção mostram taxa acelerada de desenvolvimento. Portanto, além da taxa acelerada de diferenciação (o qual é, tipicamente, um fenômeno de células que deixam o meristema), a taxa mais



rápida de desenvolvimento é manifestada em mais de uma parte de uma planta e no decorrer da vida da planta. Os efeitos de uma cdc27a também podem ser mais pronunciados em estágios mais maduros da planta.

5 As plantas de acordo com a presente invenção mostram formação acelerada de órgãos. Mais particularmente, a formação de folhas, flores e sementes, é acelerada. Essas características são particularmente interessantes para aplicação em horticulturas bem com em agricultura, em particular para plantas de safra colhidas com relação à sua biomassa verde (gramas), flores (algodão) ou suas sementes (cereais).

A plantas de acordo com a presente invenção têm tamanho e número aumentado, mais particularmente folhas maiores, folhas mais longas, folhas mais largas, mais folhas, caule mais longo, mais flores, mais vagens de sementes, mais sementes.

Os métodos da presente invenção alteram evidentemente a aparência ou morfologia de uma planta, incluindo qualquer uma ou mais das características estruturais ou combinação de características estruturais da mesma. Portanto, as plantas de acordo com a presente invenção têm arquitetura alterada quando comparado a plantas do tipo silvestre. Outras características estruturais as quais podem ser alteradas pelos métodos da presente invenção incluem formato, tamanho, número, posição, textura, disposição e padrão de qualquer célula, tecido ou órgãos ou grupos de células, tecidos ou órgãos de uma planta, incluindo a raiz, folha, broto, caule ou rebento, pecíolo, tricoma, flor, inflorescência (para plantas monocotiledôneas e

dicotiledôneas), panículos, pétalas, estigma, estilo, estame, pólen, óvulo, sementes, embriões, endosperma, envoltório da semente, aleurona, fibra, câmbio, madeira, seiva da madeira, parênquima, aerênquima, elementos da
5 seiva, floema ou tecido vascular, dentre outros.

As plantas de acordo com a presente invenção têm características reprodutivas alteradas. O termo "característica reprodutiva", conforme usado aqui, abrange as características as quais estão envolvidas no momento de
10 floração, tempo para atingir o estágio de floração e os órgãos reprodutivos (tais como, por exemplo, flores e partes de flores e as sementes). Mais particularmente, as plantas da presente invenção mostram floração precoce com relação a plantas do tipo silvestre. A característica de
15 floração precoce é particularmente favorável para qualquer planta de safra, uma vez que o ciclo de vida (isto é, tempo de ciclo) das plantas é reduzido e a colheita tem de ocorrer logo. Conseqüentemente, a terra agrícola estará logo disponível para outras safras. Também, a terra, a qual
20 normalmente não está disponível para agricultura devido à estação de crescimento muito curta, pode agora se tornar acessível para as plantas da presente invenção.

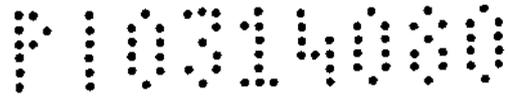
As plantas de acordo com a presente invenção têm mais flores e sementes e, portanto, têm rendimento aumentado.

25 O termo "rendimento aumentado" abrange um aumento na biomassa em uma ou mais partes de uma planta com relação à biomassa de plantas do tipo silvestre correspondentes. O termo também abrange um aumento no rendimento de sementes, o qual inclui um aumento na biomassa das sementes (peso das
30 sementes) e/ou um aumento no número de sementes (cheias)

e/ou no tamanho das sementes e/ou um aumento no volume das sementes, cada um com relação a plantas do tipo silvestre. Um aumento no tamanho e/ou volume das sementes pode também influenciar a composição das sementes. Um aumento no rendimento das sementes poderia ser devido a um aumento no número e/ou tamanho das flores. Um aumento no rendimento poderia também aumentar o índice de colheita, o qual é expressão como uma proporção da biomassa total sobre o rendimento das partes colhíveis, tal como sementes.

10 Conseqüentemente, uma modalidade particular da presente invenção se refere a um método para aumentar o rendimento de sementes e/ou para aumentar o índice de colheita de um cereal. Os métodos da presente invenção são, portanto, particularmente favoráveis a serem aplicados a plantas de safra, de preferência safras de sementes e cereais, devido ao fato de os métodos da presente invenção serem usados para aumentar o rendimento de sementes e o índice de colheita da planta. Portanto, os métodos da presente invenção são particularmente úteis para plantas desenvolvidas para a colheita de sementes, tais como cereais, colza, girassol, leguminosas (por exemplo, soja, ervilha, feijão), linho, tremoços, canola, etc.

25 Adicional ou alternativamente, as plantas de acordo com a invenção têm mais folhas e caules maiores. Portanto, os métodos da presente invenção são adicionalmente e/ou alternativamente favoráveis, particularmente, a safras desenvolvidas com relação ao tecido verde e/ou desenvolvidas com relação à biomassa acima do solo. Os métodos da presente invenção são particularmente úteis para o aumento do tamanho e número de folhas em safras de gramas



e forragens (tais como milho para forragem, trevo, alfafa medicago, etc.). Os métodos da presente invenção também são particularmente úteis para aumento do tamanho de caule de árvores (para a indústria de papel e polpa) e cana-de-açúcar.

A presente invenção também se refere ao uso de um ácido nucleico de cdc27a e ao uso de porções do mesmo ou ácidos nucleicos que se hibridizam ao mesmo na alteração do desenvolvimento, diferenciação e formação de órgãos de plantas. A presente invenção também se refere ao uso de uma proteína CDC27A e ao uso de homólogos, derivados e fragmentos ativos da mesma na alteração do desenvolvimento, diferenciação e formação de órgãos de plantas. A seqüência de ácido nucleico é, de preferência, conforme representado por SEQ ID NO: 1 ou 3 ou uma porção da mesma ou seqüências capazes de hibridização à mesma ou é uma seqüência de aminoácido representada por SEQ ID NO: 2 ou 4 ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo da mesma.

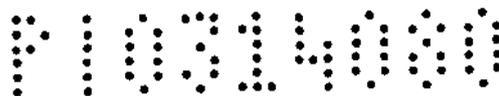
A presente invenção também se refere ao uso de um ácido nucleico de cdc27a e ao uso de porções do mesmo ou ácidos nucleicos que se hibridizam ao mesmo e ao uso da proteína CDC27A em si e de homólogos, derivados e fragmentos ativos da mesma como reguladores do desenvolvimento de uma planta. A seqüência de ácido nucleico aqui antes descrita (e porções da mesma e seqüências capazes de hibridização à mesma) e as seqüências de aminoácido aqui antes descritas (e homólogos, derivados e fragmentos ativos das mesmas) são úteis na alteração do desenvolvimento de uma planta, conforme aqui antes descrito. As seqüências, portanto, encontrarão uso como

regulador de tais processos, tais como reguladores da taxa de desenvolvimento, taxa de formação de órgãos, regulador do número e tamanho de órgãos ou regulador de características reprodutivas, tais como momento de
5 floração, número de flores e sementes.

A presente invenção também proporciona uma composição compreendendo uma proteína representada por qualquer uma das seqüências de aminoácidos antes mencionadas ou homólogos, derivados ou fragmentos ativos das mesmas, para
10 uso como um regulador dos processos e características de desenvolvimento, conforme mencionado aqui acima.

Conseqüentemente, as seqüências de acordo com a presente invenção também podem ser alvos interessantes para compostos agroquímicos, tais como herbicidas ou
15 estimulantes do crescimento. Conseqüentemente, a presente invenção abrange o uso da seqüência de ácido nucleico antes mencionada (ou uma porção da mesma ou seqüências capazes de hibridização à mesma) ou uma seqüência de aminoácido conforme aqui antes descrito (ou homólogos, derivados e
20 fragmentos ativos das mesmas) como alvos para composto agroquímico, tal como um herbicida ou um estimulador do crescimento.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, vantagem também pode ser tomada da seqüência de nucleotídeo
25 capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico de cdc27a em programas de semeadura. A seqüência de ácido nucleico pode estar sobre um cromossoma, ou parte do mesmo, compreendendo pelo menos a seqüência de ácido nucleico de cdc27a e, de preferência, também um ou mais
30 membros da família relacionados. Em um exemplo de tal



programa de sementeira, um marcador de DNA é identificado, o qual pode ser geneticamente ligado a um gene capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico da proteína CDC27A em si ou qualquer outro gene o qual pode, direta ou indiretamente, influenciar a expressão do gene cdc27a e/ou atividade da proteína CDC27A em si. Esse marcador de DNA pode, então, ser usado em programas de sementeira para selecionar plantas tendo desenvolvimento alterado.

10 Ainda, o uso de variantes alélicas conforme descrito aqui acima é particularmente útil para programas convencionais de sementeira, tal como sementeira marcador-assistida, a qual também é abrangida pela presente invenção. Tais programas de sementeira requerem, algumas vezes, a introdução de variações alélicas nas plantas através de tratamento mutagênico de uma planta. Um método mutagênico adequado é mutagênese EMS. A identificação de variantes alélicas, então, pode ocorrer, por exemplo, através de PCR. Rebentos são preferidos para a identificação de variantes alélicas. Isso é seguido por uma etapa de seleção de variantes alélicas superiores da seqüência da CDC27A e as quais dão origem ao desenvolvimento alterado em uma planta. A seleção, de acordo com o método da presente invenção, é, tipicamente, realizada através de monitoramento do desenvolvimento, diferenciação e formação de órgãos de plantas contendo diferentes variantes alélicas da seqüência da CDC27A, por exemplo, diferentes variantes alélicas de SEQ ID NO: 1 ou de um ortólogo de CDC27A nessa planta. O monitoramento do desempenho de crescimento pode ser feito em uma estufa ou

no campo. Outras etapas adicionais incluem cruzamento das plantas, no qual a variante alélica superior foi identificada, com outra planta. Isso poderia ser usado, por exemplo, para fazer uma combinação de características fenotípicas de interesse.

Portanto, mutações no gene *cdc27a* podem ocorrer naturalmente e podem formar a base da seleção de plantas mostrando taxa de desenvolvimento acelerada, tamanho e/ou número aumentado de órgãos e/ou floração precoce.

Conseqüentemente, como outro aspecto da invenção, é proporcionar um método para a seleção de plantas tendo desenvolvimento alterado, método o qual é baseado em variantes alélicas de melhor desempenho da seqüência da *CDC27A* com relação a um alelo do tipo silvestre e o qual dá origem ao desenvolvimento alterado em uma planta.

De acordo com outro aspecto da invenção, é proporcionado também um método para a geração de plantas tendo desenvolvimento alterado, quando comparado a uma planta do tipo silvestre, método o qual compreende as etapas de:

a) desenvolvimento de uma planta com expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico da seqüência do *cdc27a* e/ou tendo níveis e/ou atividade aumentada ou diminuída de uma proteína *CDC27A*, quando comparado a uma planta do tipo silvestre, e

b) cruzamento da referida planta de (a) com uma planta de interesse; e

c) produção de uma prole do cruzamento e, opcionalmente

d) seleção da prole com o referido desenvolvimento

alterado.

Alternativamente, o gene *cdc27a* em si pode ser usado como um marcador (genético) para identificar a presença ou ausência de uma característica desejada ou Local de Característica Quantitativo (QTLs). Nessa aplicação da presente invenção, o gene que codifica a CDC27A é geneticamente ligado à característica desejada e, tipicamente, os fenótipos causados pelo gene que codifica a CDC27A são monitorados de forma a semear e selecionar plantas com a característica desejada. Essa característica desejada ou QTL pode compreender um único gene ou um agrupamento de genes ligados que conferem a característica desejada.

Em biologia molecular, é padrão selecionar, quando de transfecção ou transformação, aqueles indivíduos (ou grupos de indivíduos, tais como colônias de bactérias ou levedos ou placas de fago ou clones de células eucariotas) que são eficazmente transfetados ou transformados com a estrutura genética desejada. Tipicamente, esses procedimentos de seleção são baseados na presença de um marcador selecionável na estrutura genética transfetada, para distinguir os indivíduos positivos facilmente dos indivíduos negativos. Portanto, o gene *cdc27a* também pode ser usado para essas finalidades, uma vez que a introdução desse gene em uma célula hospedeira resulta em desenvolvimento alterado da referida célula hospedeira.

Os métodos de acordo com a presente invenção também podem ser praticados através de co-expressão de um gene *cdc27a* em uma planta com pelo menos um outro gene que coopera com o gene *cdc27a*. A co-expressão pode ser

realizada através de clonagem dos genes sob o controle de um promotor expressível em planta em um vetor expressível em planta e introdução do(s) vetor(es) de expressão em uma célula de planta usando-se transformação de planta
5 Agrobacterium-mediada.

Os métodos de acordo com a presente invenção resultam em plantas tendo desenvolvimento alterado, conforme descrito aqui antes. Essas características de desenvolvimento vantajosas também podem ser combinadas com
10 outras características economicamente vantajosas, tais como outras características de intensificação de rendimento, tolerância a vários estresses, características de aumento ou diminuição de vários traços de arquitetura e/ou características bioquímicas e/ou fisiológicas.
15 Conseqüentemente, os métodos da presente invenção também podem ser usados nos assim denominados procedimentos de "empilhamento de gene".

Também, a presente invenção abrange um produto alimentício derivado de qualquer uma das plantas produzidas
20 pelos métodos da presente invenção. Ainda, a invenção também se refere ao uso de um produto derivado de qualquer uma das plantas de acordo com a presente invenção em rações para animais e em alimentos ou a procedimentos de produção dos mesmos.

25 Em uma modalidade particular da invenção, as plantas com características de desenvolvimento aperfeiçoadas são usadas para produzir enzimas industriais e/ou produtos farmacêuticos. A produção de tais enzimas ou produtos farmacêuticos em plantas é objetivada em um elevado acúmulo
30 dos produtos desejados em um tecido de planta em particular

e fácil de colher, por exemplo, acúmulo nas folhas e/ou nas sementes. As plantas da presente invenção têm caules maiores, folhas maiores, mais folhas, mais flores e/ou mais sementes e, portanto, são capazes de produzir mais enzimas industriais e/ou produtos farmacêuticos nesses tecidos, mais particularmente em sua biomassa verde e/ou em suas sementes. Conseqüentemente, a presente invenção também proporciona um método para a produção de enzimas e/ou produtos farmacêuticos, método o qual compreende o aumento ou diminuição da expressão de um gene cdc27a ou o aumento ou a diminuição de atividade e/ou nível de uma proteína CDC27A. Ainda, a invenção se refere ao uso de plantas de acordo com a invenção para a produção de enzimas industriais e produtos farmacêuticos e a invenção se estende à enzimas industriais e produtos farmacêuticos produzidos de acordo com esses métodos.

Descrição das Figuras

A presente invenção será agora descrita com referência às figuras a seguir, nas quais:

20 **A Figura 1** é uma representação esquemática da estrutura usada para transformação das plantas da presente invenção.

A Figura 2 ilustra que as folhas se desenvolvem mais rápido em plantas transgênicas cdc27a (35S13.3/1) comparado às plantas de controle (SR1). Os números 1 a 6 correspondem às folhas conforme elas se desenvolveram no caule da planta, significando que a folha 1 é a folha desenvolvida na planta jovem e a folha 6 é a folha mais recentemente desenvolvida, isto é, uma folha desenvolvido quando a mesma
30 planta está em um estágio mais maduro.

A Figura 3 ilustra plantas transgênicas transformadas com a estrutura 35S::cdc27a (posições 1 a 4) e uma planta de controle não transgênica (posição 5). As plantas são fotografadas no momento quando as primeiras plantas começam a florescer. Pode ser observado na ilustração que as plantas transgênicas são mais altas.

A Figura 4 é uma ilustração gráfica indicando o comprimento das folhas 6 (A) e 7 (B) de plantas transgênicas cdc27a comparado à linhagem de controle (SR1).

A Figura 5 é uma ilustração gráfica indicando a largura das folhas 6 (A) e 7 (B) de plantas transgênicas cdc27a comparado à linhagem de controle (SR1).

A Figura 6 é a seqüência de ácido nucleico e a seqüência de proteína da proteína CDC27As de *Arabidopsis thaliana* úteis para os métodos da presente invenção.

A Figura 7 é uma árvore filogenética mostrando a reação estrutural e evolucionária entre proteínas de cdc27 do tipo A e proteínas de cdc27 do tipo B de *Arabidopsis thaliana*. A árvore foi construída usando-se o software Align X como parte do pacote de software VNTi suíte 5.5. Como um grupo externo, a seqüência de proteína Atcdc20 foi usada. As seqüências são anotadas por seu número de acesso ao Genbank ou pelo número de publicação internacional do pedido de patente no qual elas são descritas.

Exemplos

A presente invenção será agora descrita com referência aos exemplos a seguir, os quais são à guisa de ilustração apenas.

A menos que de outro modo estabelecido, técnicas de DNA recombinantes são realizadas de acordo com protocolos

padrões descritos em Sambrook (2001) *Molecular Cloning: a laboratory manual*, 3ª Edição, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, New York; ou nos Volumes 1 e 2 de Ausubel e colaboradores (1988), *Current Protocols in Molecular Biology*, Current Protocols. Materiais e métodos padrões para trabalho molecular com plantas são descritos em *Plant Molecular Biology Labfase* (1993) por R.D.D. Croy, publicado pela BIOS Scientific Publications Ltda. (Reino Unido) e Blackwell Scientific Publications (Reino Unido).

10 **Exemplo 1: clonagem do gene cdc27a**

Para expressar constitutivamente o cDNA de cdc27a de *Arabidopsis* em plantas transgênicas, o gene cdc27a de comprimento total foi isolado e clonado como segue. Para introduzir locais de restrição adequados no cDNA de cdc27a, uma reação de PCR foi realizada usando-se oligonucleotídeos contendo os locais de restrição NcoI e BamHI. O fragmento resultante foi restringido com as 2 enzimas (NcoI e BamHI). A rede de leitura aberta da cdc27a foi ligada no vetor PH35S (Hemerly e colaboradores, EMBO J. 14, 3925-3936), o qual foi aberto com as enzimas de restrição NcoI e BamHI. O cassete de expressão resultante continha o promotor CaMV35S, o gene Atcdc27a e o terminador NOS (veja Fig. 1). Subseqüentemente, esse plasmídeo foi digerido com EcoRI, enchido com enzima Klenow e, então, cortado com Sali para liberar o cassete de expressão contendo o promotor 35S, a rede de leitura CDC27 e o terminados NOS. Esse fragmento foi clonado no plasmídeo PGSV4 nos locais Sali e ScaI. O plasmídeo de expressão resultante foi introduzido em *Agrobacterium tumefaciens* C58.

30 **Exemplo 2: Transformação de células de tabaco com a**

estrutura 35S::cdc27a

Plantas de tabaco foram transformadas com o gênero de *Agrobacterium* conforme mencionado no Exemplo 1 compreendendo o vetor de expressão CDC27A. Para introdução do gene cdc27a nas plantas de tabaco, o método com disco de 5 folha foi usado (Horsch e colaboradores, 1985; A simple and general method for transferring genes into plants, Science 227 1229 - 1231). Desses discos de folha transformados, plantas T0 foram regeneradas e deixadas germinar (sementes 10 T1). Essas sementes T1 foram germinadas em meio contendo canamicina para determinar o número de locais do transgene. Plantas com uma relação de 3 para 1 de resistência à canamicina para sementeiras suscetíveis foram escolhidas para produzir sementes de forma a se obter plantas 15 homozigóticas.

Exemplo 3: plantas de tabaco transgênicas cdc27a se desenvolvem mais rápido

Plantas de tabaco do tipo silvestre e plantas de tabaco transgênicas foram simultaneamente desenvolvidas sob 20 as mesmas condições de crescimento. As folhas de plantas transgênicas e não transgênicas foram cortadas, escolhidas por idade (1 é a folha mais velha e 6 é a folha mais recentemente desenvolvida no caule) e fotografadas (veja Fig. 2).

25 A linhagem superior designada SR1 mostra as folhas de uma planta de controle não transgênica e a linhagem inferior designada 35S13.3/1, mostra as folhas de uma planta transgênica transformada com a estrutura 35S::cdc27a. Essa fotografia comparativa das folhas de 30 mesma idade de ambas as plantas ilustra que as folhas

transgênicas são maiores. Portanto, pode ser concluído que as folhas transgênicas se desenvolvem mais rápido. Também pode ser observado que as sementes transgênicas produzem folhas mais cedo do que as plantas de controle do tipo silvestre. Portanto, pode ser concluído que o programa de desenvolvimento em transgênicas progride mais rápido do que aquele de plantas do tipo silvestre. A fotografia da Figura 2 ilustra, adicionalmente, que os efeitos da CDC27A sobre o desenvolvimento da planta se tornam progressivamente mais pronunciados à medida que a planta amadurece. Esses resultados ilustram que as plantas transgênicas têm uma taxa de desenvolvimento acelerada.

Ainda, foi demonstrado que as folhas de plantas transgênicas cdc27a tinham comprimento aumentado de folha. Plantas de tabaco do tipo silvestre e plantas de tabaco transgênicas foram simultaneamente desenvolvidas sob as mesmas condições de crescimento e as folhas 6 e 7 foram colhidas em vários dias após a sementeira (veja Fig. 4). Essa numeração corresponde à numeração de folha da Fig. 2. É observado que para as folhas recentes 6 e 7, as folhas das plantas transgênicas se desenvolvem mais rápido (Fig. 4, A e B, respectivamente). Isso é ilustrado pelo fato de que as folhas transgênicas são mais compridas do que as folhas do tipo silvestre de mesma idade. A folha transgênica 6 já está desenvolvida e tem 400 mm de comprimento 45 dias após sementeira, enquanto que a folha 6 da planta do tipo silvestre ainda está sendo formada. É ilustrado que as folhas 6 e 7 das linhagens de plantas transgênicas (1.1, 1.3, 18.1, 25, 3.2) são mais longas do que a linhagem de controle SR1. As folhas transgênicas eram

mais longas do que as folhas do tipo silvestre de mesma idade, idade a qual é, de preferência, antes do estágio maduro.

Ainda, foi demonstrado que folhas das plantas transgênicas cdc27a tinham largura aumentada da folha. Plantas de tabaco do tipo silvestre e plantas de tabaco transgênicas foram simultaneamente desenvolvidas sob as mesmas condições de crescimento e as folhas 6 e 7 foram colhidas e medidas em vários dias após semeadura (veja Fig. 5). Essa numeração corresponde à numeração das folhas na Figura 2. É ilustrado que a largura de folha das folhas recentemente desenvolvidas 6 e 7 das linhagens de plantas transgênicas (1.1, 1.3, 18.1, 25, 3.2) é maior do que a linhagem de controle SR1.

As folhas transgênicas eram mais largas do que as folhas do tipo silvestre de mesma idade, idade a qual é, de preferência, antes do estágio maduro.

Exemplo 4: plantas transgênicas cdc27a mostram biomassa aumentada

Plantas de tabaco do tipo silvestre e plantas de tabaco transgênicas foram simultaneamente desenvolvidas nas mesmas condições de crescimento e um conjunto representativo de plantas foi fotografado quando as primeiras plantas atingiram o estágio de floração (veja Fig. 3).

Nesse ponto, as plantas transgênicas (números 1 a 4 na Fig. 3) podem ser vistas na ilustração como mais altas e tendo atingido um tamanho que pode ser o dobro ou mais do tamanho das plantas não transgênicas (número 5 na Fig. 3) crescida sob o mesmo período de tempo. Além disso, nesse

período, as plantas transgênicas produziram 18 folhas em média versus 12 a 13 nas plantas do tipo silvestre. Em conclusão, o tamanho aumentado do caule e do número de folhas contribuem para a biomassa aumentada nas plantas transgênicas cdc27a. O fato de que além do tamanho da folha (veja exemplo 3), o tamanho de caule e também o número de folhas serem aumentados sustenta adicionalmente a descoberta de que a superexpressão de CDC27A acelera o desenvolvimento vegetativo global.

10 **Exemplo 5: plantas transgênicas cdc27a mostram floração precoce**

Plantas de tabaco do tipo silvestre e plantas transgênicas foram desenvolvidas simultaneamente nas mesmas condições de crescimento e as plantas foram fotografadas quando as plantas transgênicas começaram a florescer (veja Fig. 3). Foi observado que as plantas transgênicas tinham um período reduzido de tempo para atingir a floração. 4 de 5 linhagens transgênicas floresceram dentro de 127 dias após semeadura, enquanto que as plantas do tipo silvestre levaram quase que 20 dias a mais (veja Tabela 2). As plantas transgênicas formaram uma inflorescência com flores perfeitamente saudáveis, sem nenhuma penalidade sobre os tecidos vegetativos no momento de floração, nem penalidade sobre o número de flores ou número de sementes (veja Tabela 3).

Isso é notável, uma vez que o fenotipo de floração precoce, em muitos casos, está associado à redução na biomassa vegetativa, uma redução no número de inflorescência e flores e uma redução no conjunto de sementes. Por exemplo, mutações no gene el4 resultam em

floração precoce e, nessas plantas, o fenótipo de floração precoce está, tipicamente, associado ao número total reduzido de folhas (Doyle e colaboradores, Nature 2002 419: 74-77). Além disso, em plantas mutantes TFL1 as quais
5 florescem precocemente, o fenotipo de floração precoce está associado a uma penalidade sobre a estrutura da flor (Shannon e Meeks-Wagner, 1991 The plant cell 3, 877-892). Também, o fenotipo de floração precoce de mutantes ebs está associado a uma redução da dormência de sementes, tamanho e
10 fertilidade da planta (Gomez-Mena e colaboradores, 2001, The plant cell 13, 1011-1024).

O fenotipo de floração precoce demonstra que a superexpressão de CDC27A alterou o desenvolvimento da planta.

15 **Exemplo 6: plantas transgênicas cdc27a no momento de floração são mais altas do que plantas WT no momento de floração**

Plantas transgênicas transformadas com CDC27A florescem antes das plantas de controle (veja coluna
20 momento de floração na Tabela 2). Foi ainda observado que no momento em que as plantas transgênicas atingiram o estágio de floração, as plantas eram mais altas do que a planta de controle não transgênica no mesmo estágio de floração (veja coluna altura da planta no momento de
25 floração). Desses dados, conclui-se que as plantas transgênicas mostram desenvolvimento mais rápido (taxa acelerada de), que elas florescem mais cedo e que elas têm um tamanho maior. Esses dados indicam que plantas transgênicas cdc27a têm biomassa aumentada.

30 **Exemplo 7: plantas transgênicas cdc27a têm mais flores do**

que plantas WT

No momento de floração, as flores foram contadas em plantas transgênicas cdc27a e em plantas do tipo silvestre desenvolvidas nas mesmas condições.

- 5 Plantas transgênicas transformadas com 35S::cdc27a têm mais flores (veja Tabela 3). As medições envolveram cinco plantas de cada linhagem transgênica e as medições de plantas de controle envolveram duas plantas SR1. Esses dados ilustram que a introdução de CDC27A em plantas pode
- 10 levar a mais do que uma duplicação da quantidade de flores. O número de vagens de sementes, conseqüentemente, aumenta, enquanto que o tamanho das vagens de sementes não foi reduzido nas plantas transgênicas. Portanto, é pretendido que, através de uso dos métodos da presente
- 15 invenção, também o número de sementes seja aumentado.

Tabela 2:

Linagem	Genotipo	Tempo de floração, média após sementeira (em dias)*	Altura da planta, média no momento de floração time (cm)*	Número de folhas no momento de floração*	Proporção de comprimento / largura da folha
1.1	homozigoto	126,5 ± 11,13	63,8 ± 11,77	19,25 ± 1,98	1,87 ± 0,327 ***
1.3	homozigoto	123,3 ± 16,66	66,3 ± 24,12	17,6 ± 3,75	1,76 ± 0,36 ***
18.8	hemizigoto	124,8 ± 7,17	59,9 ± 16,70	18,2 ± 1,61	1,69 ± 0,28 ***

25 **	homozigoto	138,5 ± 20,30	37,87 ± 19,98	17 ± 3,65	1,95 ± 0,27 ***
32	homozigoto	127,2 ± 7,79	41,1 ± 11,11	16,8 ± 1,28	1,71 ± 0,28 ***
SR1	sem transgene	147,6 ± 16,30	29 ± 4,6	17,8 ± 1,35	1,78 ± 0,13 ***

* intervalo de confiança de 95%

** tres de cinco plantas

*** Média ± SD calculada a partir de 6 folhas de cinco plantas 74 dias após semeadura

5 **Tabela 3:**

Linagem	1.1	1.3	18.1	25	32	SR1
Número de flores	23,25	31,33	21,2	14	18,2	12,5

Exemplo 8: Uso da invenção em milho

A invenção descrita aqui também pode ser usada em milho. Para isso, uma cdc27a, por exemplo, um ortólogo de milho ou outro, é clonada sob o controle de um promotor constitutivo operável em milho, em um vetor de transformação de planta adequado para transformação de milho *Agrobacterium*-mediada. Métodos para uso na transformação de milho foram descritos na literatura (Ishida e colaboradores, *Nat Biotechnol.* Junho de 1996; 14 (6): 745-50; Frame e colaboradores, *Plant Physiol.* Maio de 2002; 129 (1):13-22). Plantas transgênicas feitas por meio desses métodos são desenvolvidas na estufa para a produção de sementes T1. A hereditariedade e o número de cópias do transgene são verificados através de PCR quantitativa em tempo real e análise por Southern blot e os níveis de expressão do transgene são determinados através de PCR

invertida e análise de Northern. Linhagens transgênicas com inserções de cópia única do transgene e com níveis variados de expressão do transgene são selecionadas para a produção de sementes T2. Sementes prole são germinadas e desenvolvidas na estufa em condições bem adaptadas para milho (fotoperíodo de 16:8, temperatura diária de 26-28°C e temperatura noturna de 22-24°C), bem como sob condições água-deficientes, nitrogênio-deficientes e com excesso de NaCl. Segregantes nulos da mesma linhagem original, bem como plantas do tipo silvestre da mesma cultura foram usados como controle. As plantas prole resultantes de cultura ou dos cruzamentos são avaliadas com relação a diferentes parâmetros da biomassa e de desenvolvimento, incluindo tamanho de caule, número de folhas, área total acima do solo, verde das folhas, tempo para maturidade tempo de floração, tempo para florescer, número de brotos, tempo de colheita. As sementes dessas linhagens também foram verificadas com relação a vários parâmetros, tais como tamanho de grão, rendimento de grão por planta e qualidade do grão (teor de amido, teor de proteína e teor de óleo). Linhagens que são mais significativamente aperfeiçoadas versus os controles para qualquer um dos parâmetros mencionados acima são selecionadas para testagem adicional no campo e semeadura assistida por marcador, com o objetivo de transferir as características transgênicas validadas no campo para germplasma comercial. Métodos para a testagem de milho com relação ao crescimento e parâmetros relacionados ao campo são bem estabelecidos na técnica, assim como técnicas para integração em locais específicos (tal como o local contendo o transgene) de um germplasma

para outro. Plantas de milho de acordo com a presente invenção têm desenvolvimento alterado, taxa de desenvolvimento alterada, formação alterada de órgãos, tamanho e número alterados de órgãos e/ou características reprodutivas alteradas, tal como floração precoce e número aumentado de flores e sementes.

Exemplo 9: uso da invenção em arroz

A invenção descrita aqui também pode ser usada em arroz. Para fazer isso, uma cdc27a, por exemplo, um ortólogo de arroz ou outro, é clonada sob o controle de um promotor constitutivo operável em arroz, tal como, por exemplo, o promotor GOS2, em um vetor de transformação de planta adequado para transformação Agrobacterium-mediada de arroz. Tais vetores e métodos para a transformação de arroz foram descritos na literatura. Métodos proporcionando transformantes em local único em uma taxa de mais de 50% são descritos em Aldemita e Hodges, Planta, 199 612-617, 1996; Chan e colaboradores, Planta Mol. Biol. 22 (3) 491-506, 1993, Hiei e colaboradores, Planta J., 6 (2) 271-282, 1994) ou no EP1198985).

Plantas transgênicas geradas através desses métodos de transformação de arroz são avaliadas com relação a vários parâmetros de desenvolvimento. Mais particularmente, as plantas transgênicas são avaliadas e os seguintes parâmetros são monitorados: aumento total acima da biomassa no solo, altura aumentada da planta, número aumentado de rebentos, número aumentado de primeiros panículos, número aumentado de segundos panículos, número total aumentado de sementes, número aumentado de sementes cheias, rendimento total aumentado de sementes por planta, índice aumentado de

colheita, peso por centena de caroço aumentado, Tmid aumentada, T45 ou A90 aumentado, A43 aumentado, tempo de ciclo alterado ou curva de crescimento alterada, tempo de floração alterado.

- 5 Plantas com uma taxa aumentada de desenvolvimento, formação aumentada de órgãos, número e/ou tamanho aumentado de órgãos, tempo de floração reduzido, mais flores e/ou mais sementes são selecionadas com o objetivo de transferência das características transgênicas no
- 10 germplasma comercial.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para alterar o desenvolvimento de uma planta ou parte de planta comparado à planta ou parte de planta do tipo silvestre, o método caracterizado por compreender o aumento ou diminuição da expressão, em uma planta ou parte de planta, de um ácido nucleico da seqüência da cdc27a e/ou o aumento ou diminuição dos níveis e/ou atividade, em uma planta, de uma proteína CDC27A.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato do aumento ou diminuição da expressão de cdc27a, do nível de proteína CDC27A ou da atividade de proteína CDC27A serem realizados através de meios recombinantes e/ou através de meios químicos.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por compreender introdução, em uma planta, de uma seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um gene cdc27a gene e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de a seqüência de ácido nucleico ser um ácido nucleico de cdc27a.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de o referido ácido nucleico ser, de preferência, de uma planta dicotiledônea, ainda de preferência da família *Brassicaceae*, mais preferivelmente a seqüência de ácido nucleico é de *Arabidopsis thaliana*, ainda mais preferivelmente conforme representado por SEQ ID NO: 1 ou 3 ou uma parte da mesma ou seqüências capazes de hibridização às mesmas ou uma seqüência de ácido nucleico

que codifica uma seqüência de aminoácidos representada por
SEQ ID NO: 2 ou 4 ou um homólogo, tal como um homólogo
tendo pelo menos, 47%, 48%, 49%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%,
75%, 80%, 85%, 90%, 95% 98%, 99% de identidade de seqüência
5 à SEQ ID NO 2 ou um derivado ou fragmento ativo da mesma.

6. Método, de acordo com qualquer uma das
reivindicações 3, 4 ou 5, caracterizado pelo fato de a
referida seqüência de ácido nucleico ser uma variante
alélica de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a ou em
10 que a referida proteína CDC27A é codificada por uma
variante alélica.

7. Método, de acordo com qualquer uma das
reivindicações 3, 4 ou 5, caracterizado pelo fato de a
referida seqüência de ácido nucleico ser uma variante com
15 união de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a ou em que
a referida proteína CDC27A é codificada por uma variante
com união.

8. Método, de acordo com qualquer uma das
reivindicações 3, 4, 5, 6 ou 7, caracterizado pelo fato de
20 a referida seqüência de ácido nucleico ser introduzida em
uma direção senso em uma planta.

9. Método, de acordo com qualquer uma das
reivindicações 3, 4, 5, 6, 7 ou 8, caracterizado pelo fato
de a expressão do referido ácido nucleico ser acionada por
25 um promotor constitutivo.

10. Método, de acordo com qualquer uma das
reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9, caracterizado
pelo fato de o referido desenvolvimento alterado ser
selecionado de diferenciação alterada, taxa de
30 desenvolvimento alterada, formação alterada de órgãos,

tamanho e/ou número alterado de órgãos e/ou características reprodutivas alteradas com relação às características do tipo silvestre.

11. Método, de acordo com a reivindicação 10,
5 caracterizado pelo fato de a referida diferenciação alterada ser diferenciação acelerada ou em que a referida taxa de desenvolvimento alterada ser taxa de desenvolvimento acelerada ou em que a referida formação alterada de órgãos é formação acelerada de órgãos.

10 12. Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de o referido tamanho e/ou número alterado de órgãos ser tamanho e/ou número aumentado de órgãos, tal como número aumentado de folhas, número aumentado de flores, número aumentado de sementes, número
15 aumentado de caules, tamanho aumentado da folha ou biomassa total aumentada.

13. Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de a referida característica reprodutiva alterada ser característica de floração
20 alterada, comparado ao tipo silvestre, tal como um período de tempo alterado para atingir a floração, de preferência floração precoce, ou tal como número aumentado de flores, número aumentado de sementes de vagens, número aumentado de sementes.

25 14. Método para a produção de uma planta transgênica tendo desenvolvimento alterado, comparado a uma planta do tipo silvestre da mesma espécie de planta, o método caracterizado por compreender:

a. Introdução, em uma planta, de uma seqüência de
30 ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de

um gene *cdc27a* e/ou capaz de aumentar ou diminuir a atividade e/ou níveis de uma proteína CDC27A; e opcionalmente

5 b. cultivo de célula de planta sob condições que promovem a regeneração e crescimento de uma planta madura.

15 15. Método para geração de plantas tendo desenvolvimento alterado da planta, quando comparado a plantas do tipo silvestre da mesma espécie, o método caracterizado por compreender as etapas de:

10 a. Crescimento de uma planta com expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico da seqüência da *cdc27a* e/ou tendo níveis e/ou atividade aumentada ou diminuída de uma proteína CDC27A, quando comparado a plantas do tipo silvestre, e

15 b. Cruzamento da referida planta de (a) com uma planta de interesse; e

c. Produção de uma prole do cruzamento, e opcionalmente

20 d. Seleção da referida prole com o referido desenvolvimento alterado.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15, caracterizado por compreender a introdução, em uma planta, de uma estrutura compreendendo:

25 (i) uma seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico de *cdc27a* e/ou capaz de aumentar ou diminuir os níveis e/ou atividade de uma proteína CDC27A;

30 (ii) uma ou mais seqüências de controle capazes de regulação da expressão da seqüência de ácido nucleico de

(i) em uma planta; e opcionalmente

(iii) uma seqüência de término de transcrição.

17. Planta obténível pelo método de qualquer uma das reivindicações de 1 a 16, a qual é caracterizada por ter desenvolvimento alterado, quando comparado à plantas do tipo silvestre correspondentes da mesma espécie.

18. Planta tendo desenvolvimento alterado quando comparado à planta do tipo silvestre correspondente, caracterizada por ter pelo menos uma célula com expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou ter pelo menos uma célula com níveis e/ou atividade aumentada ou diminuída de uma proteína CDC27A, quando comparado a uma planta da mesma espécie de planta.

19. Planta, de acordo com a reivindicação 17 ou 18, caracterizada por ser uma planta monocotiledônea, ainda de preferência um cereal e/ou em que a referida planta é selecionada de arroz, milho, trigo, cevada, painço, soja, leguminosas, colza, girassol, canola, alfafa, cana-de-açúcar, tabaco e algodão.

20. Parte de planta caracterizada por ser, de preferência uma parte colhível de uma planta, uma propagação ou prole de uma planta de acordo com as reivindicações 17 a 19.

21. Estrutura genética caracterizada por compreender:

(iv) uma seqüência de ácido nucleico capaz de aumentar ou diminuir a expressão de um ácido nucleico de cdc27a e/ou capaz de aumentar ou diminuir os níveis e/ou atividade de uma proteína CDC27A;

(v) uma ou mais seqüências de controle capazes de regular a expressão da seqüência de ácido nucleico de (i)

em uma planta; e opcionalmente

(vi) uma seqüência de término de transcrição.

22. Estrutura genética, de acordo com a reivindicação 21, caracterizada pelo fato de o referido ácido nucleico ser um ácido nucleico de cdc27a, de preferência de uma planta dicotiledônea, ainda de preferência da família Brassicaceae, mais preferivelmente a seqüência de ácido nucleico é de *Arabidopsis thaliana*, ainda mais preferivelmente conforme representado por SEQ ID NO: 1 ou 3 ou uma parte da mesma ou seqüências capazes de hibridização às mesmas ou uma seqüência de ácido nucleico que codifica uma seqüência de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2 ou 4 ou um homólogo, tal como um homólogo tendo pelo menos 47%, 48%, 49%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 98%, 99% de identidade de seqüência à SEQ ID NO 2 ou um derivado ou fragmento ativo da mesma.

23. Estrutura genética, de acordo com a reivindicação 21 ou 22, caracterizada pelo fato de a referida seqüência de controle ser um promotor constitutivo ou pelo menos uma parte do mesmo.

24. Planta ou parte de planta caracterizada por compreender uma estrutura genética de qualquer uma das reivindicações de 21 a 23, a qual a planta ou parte de planta tem desenvolvimento alterado.

25. Uso de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento ativo da mesma caracterizado pelo fato de ser para alteração do desenvolvimento de uma planta.

26. Uso de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento

ativo da mesma caracterizado pelo fato de ser para alteração da diferenciação de uma planta.

27. Uso de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento
5 ativo da mesma caracterizado pelo fato de ser para aceleração ou retardo do desenvolvimento de uma planta, formação de órgãos e/ ou diferenciação.

28. Uso de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento
10 ativo da mesma caracterizado pelo fato de ser para o aumento ou diminuição do tamanho e/ou número de órgãos.

29. Uso de um ácido nucleico da seqüência do cdc27a e/ou proteína CDC27A ou um homólogo, derivado ou fragmento
15 ativo da mesma caracterizado pelo fato de ser para alteração das características reprodutivas, tais como floração precoce ou floração tardia.

30. Produto alimentício caracterizado pelo fato de ser derivado de uma planta ou parte de planta de qualquer uma das reivindicações de 17 a 20 ou da reivindicação 24.

20 31. Uso de um produto derivado de uma planta ou parte de planta de qualquer uma das reivindicações de 17 a 20 ou da reivindicação 24 caracterizado pelo fato de ser em ração para animais e alimentos.

32. Uso de uma planta ou parte de planta de qualquer
25 uma das reivindicações de 17 a 20 ou da reivindicação 24 caracterizado pelo fato de ser para a produção de enzimas e produtos farmacêuticos.

33. Enzimas industriais e produtos farmacêuticos caracterizados pelo fato de serem produzidos através de uso
30 de uma planta ou parte de planta da reivindicação 32.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> CropDesign N. V.; e
Universidade Federal do Rio de Janeiro

<120> plantas tendo desenvolvimento alterado e um método
para fabricação da mesma

<130> 57-cdc27-PCT

<150> PCT/EP02/10265

<151> 05/09/2002

<160> 14

<170> PatentIn versão 3.1

<210> 1

<211> 2434

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> misc_feature

<223> cdc27A1

<400> 1

atgatggaga atctactggc gaattgtgtc cagaaaaacc ttaaccattt tatgttcacc	60
aatgctatct tcctttgcca acttcttctc gcccaatttc catctgaggt gaacctgcaa	120
ttgttagcca ggtgttactt gagtaacagt caagcttata gtgcatatta tacccttaa	180
ggttcaaaaa cgcctcagtc tcggtattta ttgcatctc catgctttaa gttggatctt	240
cttgagagagg ctgaagctgc attggtgcc tgtgaagatt atgctgaaga agttcctggt	300
ggtgcagctg ggcattatct tcttggctct atatatagat attctgggag gaagaactgt	360
tcaatacaac agtttaggat ggcattgtca ttgatccat tgtgttggga agcatatgga	420
gaactttgta gtttaggtgc cgetgaagaa gcctcaacag ttttcgggaa tgttgcttcc	480
cagcgtctta aaacttgtgt agaacaagaa ataagcttct cagaaggagc aaccatagac	540
cagattacag attctgataa ggccttaaaa gatacaggtt tatcgcaaac agaacacatt	600



ccaggagaga	accaacaaga	tctgaaaatt	atgcagcagc	ctggagatat	tcaccaaatt	660
actgacaggc	aacttagtac	aaacggatgg	gacttgaaca	caccttctcc	agtgetttta	720
caggtaatgg	atgctccacc	gcctctgctt	cttaagaata	tgcgctgccc	agcagtgga	780
ggatccttga	tgtctgtaca	tggagtgcgt	gtgcgctgaa	gaaacttttt	tagtgaagaa	840
ttgtcagcag	aggctcaaga	agaatctggg	cgccgcccga	gtgctagaat	agcagcaagg	900
aaaaagaatc	ctatgtcgca	gtcatttggg	aaagattccc	attggttaca	tctttcacct	960
tccgagtcaa	actatgcacc	ttctctttcc	tcgatgattg	gaaaatgcag	aatccaaagc	1020
agcaaagaag	cgattcctga	taccgttact	ctaaatgatc	cagcaacgac	gtcaggccag	1080
tctgtaagtg	acactggaag	ctctgttgat	gatgaggaaa	agtcaaatcc	tagtgaatct	1140
tccccggatc	gtttcagcct	tatttctgga	atttcagaag	tgctaggcat	tctgaaaatt	1200
cttggagatg	gccacaggca	tttaccatag	tacaagtgtc	aggaagcttt	gttggcatat	1260
caaaagctat	ctcagaaaca	atacaatata	cactgggttc	tcatgcaggt	tggaaaagca	1320
tattttgagc	tacaagacta	cttcaacgct	gactcttctt	ttactcttgc	tcatcaaaag	1380
tatccttatg	ctttggaagg	aatggatata	tactccactg	ttctttatca	cctgaaagaa	1440
gagatgaggt	tgggctatct	ggctcaggaa	ctgatttcag	ttgatcgctt	gtctccagaa	1500
tcttggtgtg	cagttgggaa	ctgttacagt	ttgcgtaagg	atcatgatac	tgctctcaaa	1560
atgtttcaga	gagctatcca	actgaatgaa	agattcacat	atgcacatac	cctttgtggc	1620
cacgagtttg	ccgcattgga	agaattcgag	gatgcagaga	gatgctaccg	gaaggctctg	1680
ggcatagata	cgagacacta	taatgcatgg	tacggctctg	gaatgaccta	tcttcgtcag	1740
gagaaattcg	agtttgcgca	gcacaaattt	caactggctc	tccaaataaa	tccaagatct	1800
tcagtcatca	tgtgttacta	tggaaattgct	ttgcatgagt	caaagagaaa	cgatgaggcg	1860
ttgatgatga	tggagaaggc	tgtactcact	gatgcaaaga	atccgctccc	caagtactac	1920
aaggctcaca	tattaaccag	cctaggtgat	tatcaciaag	cacagaaagt	tttagaagag	1980
ctcaaagaat	gtgctcctca	agaaagcagt	gtccatgcat	cgcttggcaa	aatatacaat	2040
cagctaaagc	aatacgacaa	agccgtgtta	catttcggca	ttgctttgga	tttaagccct	2100
tctccatctg	atgctgtcaa	gataaaggct	tacatggaga	ggttgatact	accagacgag	2160
ctggtgacgg	aggaaaattt	gtagatttat	tgtgcaggta	atacaccaga	ttatgtttct	2220
catataacc	aaagtcatct	gtaatttttc	tcactcttag	atcagctctg	tggactaacc	2280
ctaaaacaaa	actgattata	taaacttaga	gggtaatatt	acagaaaatt	gtatagagtt	2340
gggtttgaat	tttcatttct	tttccaagtt	ggaacttttg	ttcaaaaaaa	aaaaaaaaaa	2400
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaa			2434

<210> 2

<211> 728

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> cdc27A1

<400> 2

```

Met Met Glu Asn Leu Leu Ala Asn Cys Val Gln Lys Asn Leu Asn His
 1           5           10           15

Phe Met Phe Thr Asn Ala Ile Phe Leu Cys Glu Leu Leu Leu Ala Gln
      20           25           30

Phe Pro Ser Glu Val Asn Leu Gln Leu Leu Ala Arg Cys Tyr Leu Ser
      35           40           45

Asn Ser Gln Ala Tyr Ser Ala Tyr Tyr Ile Leu Lys Gly Ser Lys Thr
 50           55           60

Pro Gln Ser Arg Tyr Leu Phe Ala Phe Ser Cys Phe Lys Leu Asp Leu
65           70           75           80

Leu Gly Glu Ala Glu Ala Ala Leu Leu Pro Cys Glu Asp Tyr Ala Glu
      85           90           95

Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Gly His Tyr Leu Leu Gly Leu Ile Tyr
      100           105           110

Arg Tyr Ser Gly Arg Lys Asn Cys Ser Ile Gln Gln Phe Arg Met Ala
      115           120           125

Leu Ser Phe Asp Pro Leu Cys Trp Glu Ala Tyr Gly Glu Leu Cys Ser
      130           135           140

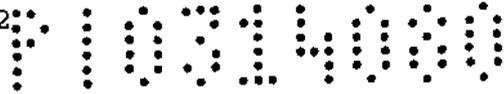
Leu Gly Ala Ala Glu Glu Ala Ser Thr Val Phe Gly Asn Val Ala Ser
145           150           155           160

Gln Arg Leu Gln Lys Thr Cys Val Glu Gln Arg Ile Ser Phe Ser Glu
      165           170           175

Gly Ala Thr Ile Asp Gln Ile Thr Asp Ser Asp Lys Ala Leu Lys Asp
      180           185           190

Thr Gly Leu Ser Gln Thr Glu His Ile Pro Gly Glu Asn Gln Gln Asp
      195           200           205

```



Leu Lys Ile Met Gln Gln Pro Gly Asp Ile Pro Pro Asn Thr Asp Arg
 210 215 220

Gln Leu Ser Thr Asn Gly Trp Asp Leu Asn Thr Pro Ser Pro Val Leu
 225 230 235 240

Leu Gln Val Met Asp Ala Leu Pro Pro Leu Leu Leu Lys Asn Met Arg
 245 250 255

Arg Pro Ala Val Glu Gly Ser Leu Met Ser Val His Gly Val Arg Val
 260 265 270

Arg Arg Arg Asn Phe Phe Ser Glu Glu Leu Ser Ala Glu Ala Gln Glu
 275 280 285

Glu Ser Gly Arg Arg Arg Ser Ala Arg Ile Ala Ala Arg Lys Lys Asn
 290 295 300

Pro Met Ser Gln Ser Phe Gly Lys Asp Ser His Trp Leu His Leu Ser
 305 310 315 320

Pro Ser Glu Ser Asn Tyr Ala Pro Ser Leu Ser Ser Met Ile Gly Lys
 325 330 335

Cys Arg Ile Gln Ser Ser Lys Glu Val Ile Pro Asp Thr Val Thr Leu
 340 345 350

Asn Asp Pro Ala Thr Thr Ser Gly Gln Ser Val Ser Asp Ile Gly Ser
 355 360 365

Ser Val Asp Asp Glu Glu Lys Ser Asn Pro Ser Glu Ser Ser Pro Asp
 370 375 380

Arg Phe Ser Leu Ile Ser Gly Ile Ser Glu Val Leu Ser Leu Leu Lys
 385 390 395 400

Ile Leu Gly Asp Gly His Arg His Leu His Met Tyr Lys Cys Gln Glu
 405 410 415

Ala Leu Leu Ala Tyr Gln Lys Leu Ser Gln Lys Gln Tyr Asn Thr His
 420 425 430

Trp Val Leu Met Gln Val Gly Lys Ala Tyr Phe Glu Leu Gln Asp Tyr
 435 440 445

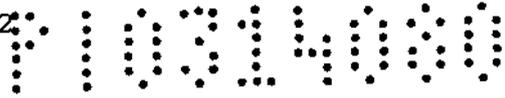
Phe Asn Ala Asp Ser Ser Phe Thr Leu Ala His Gln Lys Tyr Pro Tyr
 450 455 460

Ala Leu Glu Gly Met Asp Thr Tyr Ser Thr Val Leu Tyr His Leu Lys
 465 470 475 480

Glu Glu Met Arg Leu Gly Tyr Leu Ala Gln Glu Leu Ile Ser Val Asp
 485 490 495

Arg Leu Ser Pro Glu Ser Trp Cys Ala Val Gly Asn Cys Tyr Ser Leu
 500 505 510

Arg Lys Asp His Asp Thr Ala Leu Lys Met Phe Gln Arg Ala Ile Gln
 515 520 525



Leu Asn Glu Arg Phe Thr Tyr Ala His Thr Leu Cys Gly His Glu Phe
 530 535 540
 Ala Ala Leu Glu Glu Phe Glu Asp Ala Glu Arg Cys Tyr Arg Lys Ala
 545 550 555 560
 Leu Gly Ile Asp Thr Arg His Tyr Asn Ala Trp Tyr Gly Leu Gly Met
 565 570 575
 Thr Tyr Leu Arg Gln Glu Lys Phe Glu Phe Ala Gln His Gln Phe Gln
 580 585 590
 Leu Ala Leu Gln Ile Asn Pro Arg Ser Ser Val Ile Met Cys Tyr Tyr
 595 600 605
 Gly Ile Ala Leu His Glu Ser Lys Arg Asn Asp Glu Ala Leu Met Met
 610 615 620
 Met Glu Lys Ala Val Leu Thr Asp Ala Lys Asn Pro Leu Pro Lys Tyr
 625 630 635 640
 Tyr Lys Ala His Ile Leu Thr Ser Leu Gly Asp Tyr His Lys Ala Gln
 645 650 655
 Lys Val Leu Glu Glu Leu Lys Glu Cys Ala Pro Gln Glu Ser Ser Val
 660 665 670
 His Ala Ser Leu Gly Lys Ile Tyr Asn Gln Leu Lys Gln Tyr Asp Lys
 675 680 685
 Ala Val Leu His Phe Gly Ile Ala Leu Asp Leu Ser Pro Ser Pro Ser
 690 695 700
 Asp Ala Val Lys Ile Lys Ala Tyr Met Glu Arg Leu Ile Leu Pro Asp
 705 710 715 720
 Glu Leu Val Thr Glu Glu Asn Leu
 725

<210> 3

<211> 2401

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 3

atgatggaga atctactggc gaattgtgtc cagaaaaacc ttaaccattt tatgttcacc 60
 aatgctatct tcttttgcga acttcttctc gcccaatttc catctgaggt gaacctgcaa 120
 ttgtagcca ggtgttactt gagtaacagt caagcttata gtgcatatta tacccttaa 180
 ggttcaaaaa cgcctcagtc tcggtattta tttgcattct catgctttaa gttggatctt 240
 cttggagagg ctgaagctgc attgttgccc tgtgaagatt atgctgaaga agttcctggg 300



ggtgcagctg ggcattatct tcttggctctt atatatagat attctgggag gaagaactgt	360
tcaatacaac agtttaggat ggcattgtca tttgatccat tgtgttggga agcatatgga	420
gaactttgta gtttaggtgc cgctgaagaa gcctcaacag ttttcgggaa tgttgcttcc	480
cagcgtctta aaacttgtgt agaacaaaga ataagcttct cagaaggagc aaccatagac	540
cagattacag attctgataa ggccttaaaa gatacaggtt tatcgcaaac agaacacatt	600
ccaggagaga accaacaaga tctgaaaatt atgcagcagc ctggagatat tccaccaaatt	660
actgacaggc aacttagtac aaacggatgg gacttgaaca caccttctcc agtgctttta	720
caggtaatgg atgctccacc gcctctgctt cttaagaata tgcgtctgcc agcagtggaa	780
ggatctttga tgtctgtaca tggagtgcgt gtgcgtcgaa gaaacttttt tagtgaagaa	840
ttgtcagcag aggctcaaga agaactctggg cgccgccgta gtgctagaat agcagcaagg	900
aaaaagaatc ctatgtcgca gtcatttggga aaagattccc attggttaca tctttcaact	960
tccgagtcaa actatgcacc ttctctttcc tcgatgattg gaaaatgcag aatccaaagc	1020
agcaaagaag caacgcagtc aggccagtct gtaagtgaca ctggaagctc tgttgatgat	1080
gaggaaaagt caaatcctag tgaatcttcc ccggatcggt tcagccttat ttctggaatt	1140
tcagaagtgc taagcattct gaaaattctt ggagatggcc acaggcattt acatatgtac	1200
aagtgtcagg aagctttggt ggcatatcaa aagctatctc agaaacaata caatacacac	1260
tgggttctca tgcaggttgg aaaagcatat tttgagctac aagactactt caacgctgac	1320
tcttccttta ctcttgctca tcaaaagtat ccttatgctt tggaaggaat ggatacatac	1380
tccactgttc tttatcaact gaaagaagag atgaggttgg gctatctggc tcaggaactg	1440
atctcagttg atcgctgtc tccagaatcc tgggtgtcag ttgggaactg ttacagtttg	1500
cgtaaggatc atgatactgc tctcaaaatg tttcagagag ctatccaact gaatgaaaga	1560
ttcacatatg cacataacct ttgtggccac gagtttgccg cattggaaga attcgaggat	1620
gcagagagat gctaccggaa ggctctgggc atagatacga gacactataa tgcattggtac	1680
ggtcttgga tgcactatct tcgtcaggag aaattcgagt ttgcgcagca tcaatttcaa	1740
ctggctctcc aaataaatcc aagatcttca gtcattcatgt gttactatgg aattgctttg	1800
catgagtcaa agagaaacga tgaggcgttg atgatgatgg agaaggctgt actcactgat	1860
gcaaagaatc cgctcccaa gtactacaag gctcacatat taaccagcct aggtgattat	1920
cacaaagcac agaaagtttt agaagagctc aaagaatgtg ctctcaaga aagcagtgtc	1980
catgcatcgc ttggcaaaat atacaatcag ctaaagcaat acgacaaagc cgtgttacat	2040
ttcggcattg ctttgattt aagccttct ccatctgatg ctgtcaagat aaaggcttac	2100
atggagaggt tgatactacc agacgagctg gtgacggagg aaaatttgta gatttattgt	2160

7/22 1031400

gcaggaata caccagatta tgtttctcat ataacccaaa gtcactctgta atttttctca 2220
 tcttttagatc agtcttgtgg actaaccccta aaacaaaact gattatataa acttagaggg 2280
 taatattaca gaaaattgta tagagttggg tttgaatttt catttctttt ccaagttgga 2340
 acttttgttc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
 a 2401

<210> 4

<211> 716

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 4

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

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

9/22 1034000

Gly His Glu Phe Ala Ala Leu Glu Glu Phe Glu Asp Ala Glu Arg Cys
530 535 540

Tyr Arg Lys Ala Leu Gly Ile Asp Thr Arg His Tyr Asn Ala Trp Tyr
545 550 555 560

Gly Leu Gly Met Thr Tyr Leu Arg Gln Glu Lys Phe Glu Phe Ala Gln
565 570 575

His Gln Phe Gln Leu Ala Leu Gln Ile Asn Pro Arg Ser Ser Val Ile
580 585 590

Met Cys Tyr Tyr Gly Ile Ala Leu His Glu Ser Lys Arg Asn Asp Glu
595 600 605

Ala Leu Met Met Met Glu Lys Ala Val Leu Thr Asp Ala Lys Asn Pro
610 615 620

Leu Pro Lys Tyr Tyr Lys Ala His Ile Leu Thr Ser Leu Gly Asp Tyr
625 630 635 640

His Lys Ala Gln Lys Val Leu Glu Glu Leu Lys Glu Cys Ala Pro Gln
645 650 655

Glu Ser Ser Val His Ala Ser Leu Gly Lys Ile Tyr Asn Gln Leu Lys
660 665 670

Gln Tyr Asp Lys Ala Val Leu His Phe Gly Ile Ala Leu Asp Leu Ser
675 680 685

Pro Ser Pro Ser Asp Ala Val Lys Ile Lys Ala Tyr Met Glu Arg Leu
690 695 700

Ile Leu Pro Asp Glu Leu Val Thr Glu Glu Asn Leu
705 710 715

<210> 5

<211> 1892

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> misc_feature

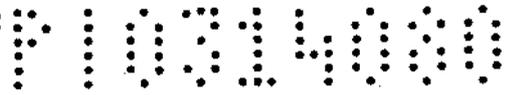
<222> (730)..(734)

<223> n = qualquer nucleotídeo

<400> 5

atggaaaccc taatggtgga ccgcgtccac ggcagcctcc gcctcttcat gcaccgcaac 60

gccgtcttcc tctgagagcg cctctgcgcc cagttccccg ccgagacaaa tgtccagttg 120



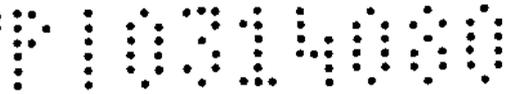
ctagcaactt gctacettca caacaaccag ccatatgctg cataccacat cttgaaagga 180
 aagaagetgc cagagtcccg gtacttgttt gctatgtcat gcttccgaat gaacctctta 240
 cgggaagetg aagaagcctt gtgtcctgtc aatgaaccaa atattgaggt tccaagtggg 300
 gcaacagggc actaccttct tggagtaatt tacaggtaca ctggcagagt ggaagctgca 360
 gctgagcaat ttgtacaagc tctgactctt gatcctcttc tatgggcagc atacgaggaa 420
 ttgtgcatac taggtgttgc tgaagatgca aatgaatggt tcagtgaagc aacagctcta 480
 cgtcttcagc aggaactcac atccacatca aatgtggaaa agtcaaactt tgtaaatgaa 540
 aatcggtttc tatcttccaa tgtgtcagca agttttgggt atagtcttaa gcaaattaa 600
 cagctgcatg ctaacaccac tgcagaagta tctggttatc ctcatgtaa gtcaactgca 660
 ttgcatatgc agaacgggtc accatctaata ttatcacagt ttgacactcc atcgccaact 720
 tcaacgcagn nnnataatgt aacttcaact tegtcttcta caagtatagt tgatggaaga 780
 tatcccgagc aagagaaatc tgaacgagtt ctgtcacagg actccaaatt agctattggg 840
 atcagggagc taatggcact cttgcccaga ctaggggaag ggtataggct ttcttgcttg 900
 ttttaagtgc aggaagcatt ggaagtatat agaaagctcc cagaggcaca atttaatact 960
 ggatgggttc tttgccaggt tgggaagaca tattttgaac tegtcaatta tttagaagcc 1020
 gatcattttt ttgagttagc gcatcgacta tcaccatgca cgttggaggg aatggacatt 1080
 tactccactg ttctttatca tttgaatgag gaaatgcggc taagttacct tegtcaagat 1140
 cttgtttcta ttgatcgact atctcccaa gcatgggtgtg ctgtgggaaa ttgctttgcc 1200
 ttgaggaaag atcatgagac tgccttgaag aattttcaac gtgctgtaca gcttgactca 1260
 agagttgcat acgctcacac gctatgctgt cacgatataa aactataccg atctgcactt 1320
 caggtagatg aaagacacta caatgcctgg tatggccttg gagtgggtga ccttcgccag 1380
 gaaaagtttg agtttgctga gcatcatttc agaagggcat tccagataaa tcttgetct 1440
 tctgttctta tgtgctatct tgggatggcc ttgcatgctt taaagaggaa tgaggaagcc 1500
 ttggaaatga tggagaaggc tatatttget gataagaaga atccactccc caagtatcaa 1560
 aaggctttaa tcttctagg cctacaaaaa taccctgatg ctctggatga gttggaacgg 1620
 ctaaaggaaa ttgcacctca tgaagtagt atgtatgac tgatgggaaa gatttacaag 1680
 caacttaaca ttcttgacia ggetgtatct tgetttggca ttgccctgga tttgaaacct 1740
 cctgctgctg acgttgctat aatacaatct gcaatggaga aagtacacct tccagatgaa 1800
 cttatggatg atgatgatga tgatgatgag atttaagctc actccgaaga acagagggga 1860
 ggaaccaaca ttgattggca tgcctgtget tg 1892

<210> 6
 <211> 611
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (244)..(245)
 <223> Xaa é qualquer aminoácido

<400> 6

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

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



Gln Lys Tyr Pro Asp Ala Leu Asp Glu Leu Glu Arg Leu Lys Glu Ile
 530 535 540

Ala Pro His Glu Ser Ser Met Tyr Ala Leu Met Gly Lys Ile Tyr Lys
 545 550 555 560

Gln Leu Asn Ile Leu Asp Lys Ala Val Phe Cys Phe Gly Ile Ala Leu
 565 570 575

Asp Leu Lys Pro Pro Ala Ala Asp Val Ala Ile Ile Gln Ser Ala Met
 580 585 590

Glu Lys Val His Leu Pro Asp Glu Leu Met Asp Asp Asp Asp Asp
 595 600 605

Asp Glu Ile
 610

<210> 7

<211> 2559

<212> DNA

<213> Saccharum sp.

<220>

<221> misc_feature

<222> (911)..(911)

<223> n é qualquer nucleotídeo

<220>

<221> misc_feature

<222> (1327)..(1327)

<223> n é qualquer nucleotídeo

<220>

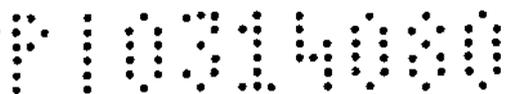
<221> misc_feature

<222> (1792)..(1792)

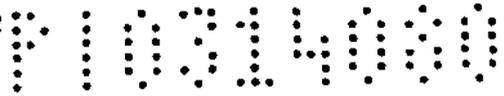
<223> n é qualquer nucleotídeo

<400> 7

ggtcgaccca cgcgtccgac cggacctcc cactgctgog cctgcccctt gcgcttcggc



caccgcacaa	cacttccct	cgctctcgcc	cgcccgccg	cgctcgccg	cgccgcggc	120
gcggggcgga	gatggaaacc	ctaattggtg	accgcgtcca	cagcagcctc	cgctcttca	180
tgcaccgcaa	cgccgtattc	ctctgogagc	gcctctgcgc	gcagttcccc	tccgagacca	240
atgtgcaatt	gtagcgacc	tgtacctcc	acaacaatca	gccatatgct	gcataccaca	300
ttttgaaagg	gaagaagctg	ccggagtccc	ggtacttggt	tgtacatca	tgctttcgaa	360
tgaacctctt	gcgtgaagca	gaagaaactc	tatgtccagt	caatgaacca	aacatggagg	420
ttccaagtgg	agcaacagga	cactacctcc	ttggagtgat	ttacaggtgc	acaggcagaa	480
tttcagctgc	agctgaacaa	tttacacaag	cgttgactct	agatcctctt	ttatgggcgg	540
catatgagga	atttgttata	ttaggtattg	ctgaagatac	tgatgagtgt	tttagtgaat	600
cgactgctct	acgtctccag	caggaacaca	catccacggc	cactctggtg	aagtcgaact	660
tcgccaatga	aaatcgagtt	ctatcatcca	gggtctctgc	aaatcttggg	gatattagtc	720
ctaagcaaat	caaacagctt	catgctaaca	acatagcaga	agtatctggc	tatcctcatg	780
taagaccaac	tgcattgcat	gtgcagaaca	gttcaacctc	taatgtagca	cagtttgaca	840
ccccatcacc	aactgcagca	cagacttota	gtatcatgcc	accaccactc	tttaggaatg	900
tccatgctta	nattcaaatt	caaatacctg	gggtttggag	ggaatggtac	aggttattcg	960
tcagggaaat	tgcgagtaaa	ctcgccaca	ccatcaaaat	ggtgtaacc	accatacgtt	1020
ccgtgcaagt	taggaaagga	aaaccacggg	ctacagaaaa	ttttgatgaa	ggaagtagat	1080
atgaagtcat	tgatgaaatg	tggacagaca	atatatcagg	aacttcatct	tctgtaagta	1140
cagctgatgg	aagatccttt	gagcaagata	aagctgaacg	aattctggtg	caagactcca	1200
aattggcact	tggtattagg	gagatattgg	gacttgctcg	aacactcggg	gaaggttgta	1260
ggctttcttg	cttgtttaag	tgccatgaag	ccttggaagt	ctacagaaga	ctccctgaga	1320
cccattntag	cactggatgg	agcatatgcc	aggttggtaa	ggcatatttc	gaattagttg	1380
attatttgga	agctgatcgt	tactttgaat	tggcacaccg	actgtegect	tgtacgcttg	1440
atggaatgga	catctattct	actgttcttt	atcatctgaa	tgaggaaatg	agactaagct	1500
accttgctca	agagcttatt	tccattgatc	gactatctcc	tcaagcatgg	tgtgcagtgg	1560
gcaattgctt	tgccctgagg	aaagatcatg	agactgcttt	gaagaatttt	caacgttcgg	1620
tacagcttga	ctcaagattt	gcatatgctc	aacctctatg	tggtcatgag	tattctgcat	1680
tggaggatta	tgagaatagt	atcaaattct	accggtgtgc	actgcaggta	gatgaaaggc	1740
actacaatgc	ctggtatggc	cttgggggtg	tgtatcttcg	ccaggaaaag	tntgagtttg	1800
ctgagcatca	tttcagaagg	gcatttcaga	taaatectcg	ctcttctggt	ctcatgtgct	1860
atcttgggat	ggcgttgcat	tctcttaaga	ggaaggagga	ggcattggaa	atgatggaga	1920



aagctatagc agctgataag aagaatccac tgcccaagta tcagaaggcc ttaatccttc 1980
taggtcttca gaagtatcaa gaagctctgg atgagttgga gcggctaaag gagattgcac 2040
ctcatgagag cagtatgtat gcaactgatgg gaaagattta caagcaactc aatatecttg 2100
acaaagctgt tttctgcttt ggcattgcc tggatttgaa acctcctgct gctgatcttg 2160
ctataattaa gtccgcaatg gagaaagtac atctccctga tgaactgatg gaggatgacc 2220
tgtaagtctg ctcaagcaca gtgagaaagg aacatttact tcgggtccat gatgctttgc 2280
ttgtgcttcg tgttctggc ctgcttaggc ttctcaagtg gaactcagat cttggagctg 2340
taccatcaac catccagttt tgtagattta gttgtagcct ataactcagag aacacatgcg 2400
cagaagctgc agtagtttag gactctgtac aagttgagcg ttggcaaaat gacgcctgta 2460
ccattataca gttgtgatat taacaaaaca catccttgtc aaataacgga aataatcaaa 2520
ggatgaggat cctgctgatt caagcagatt gtttgtgoc 2559

<210> 8

<211> 697

<212> PRT

<213> Saccharum sp.

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (260)..(260)

<223> Xaa é qualquer aminoácido

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (399)..(399)

<223> Xaa é qualquer aminoácido

<220>

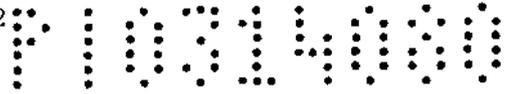
<221> MISC_FEATURE

<222> (554)..(554)

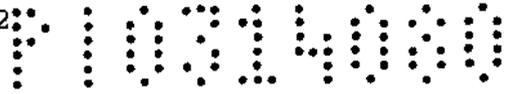
<223> Xaa é qualquer aminoácido

<400> 8

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



Asp Glu Met Trp Thr Asp Asn Ile Ser Gly Thr Ser Ser Ser Val Ser
 325 330 335
 Thr Ala Asp Gly Arg Ser Phe Glu Gln Asp Lys Ala Glu Arg Ile Leu
 340 345 350
 Leu Gln Asp Ser Lys Leu Ala Leu Gly Ile Arg Glu Ile Leu Gly Leu
 355 360 365
 Val Arg Thr Leu Gly Glu Gly Cys Arg Leu Ser Cys Leu Phe Lys Cys
 370 375 380
 His Glu Ala Leu Glu Val Tyr Arg Arg Leu Pro Glu Thr His Xaa Ser
 385 390 395 400
 Thr Gly Trp Ser Ile Cys Gln Val Gly Lys Ala Tyr Phe Glu Leu Val
 405 410 415
 Asp Tyr Leu Glu Ala Asp Arg Tyr Phe Glu Leu Ala His Arg Leu Ser
 420 425 430
 Pro Cys Thr Leu Asp Gly Met Asp Ile Tyr Ser Thr Val Leu Tyr His
 435 440 445
 Leu Asn Glu Glu Met Arg Leu Ser Tyr Leu Ala Gln Glu Leu Ile Ser
 450 455 460
 Ile Asp Arg Leu Ser Pro Gln Ala Trp Cys Ala Val Gly Asn Cys Phe
 465 470 475 480
 Ala Leu Arg Lys Asp His Glu Thr Ala Leu Lys Asn Phe Gln Arg Ser
 485 490 495
 Val Gln Leu Asp Ser Arg Phe Ala Tyr Ala His Thr Leu Cys Gly His
 500 505 510
 Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Asp Tyr Glu Asn Ser Ile Lys Phe Tyr Arg
 515 520 525
 Cys Ala Leu Gln Val Asp Glu Arg His Tyr Asn Ala Trp Tyr Gly Leu
 530 535 540
 Gly Val Val Tyr Leu Arg Gln Glu Lys Xaa Glu Phe Ala Glu His His
 545 550 555 560
 Phe Arg Arg Ala Phe Gln Ile Asn Pro Arg Ser Ser Val Leu Met Cys
 565 570 575
 Tyr Leu Gly Met Ala Leu His Ser Leu Lys Arg Lys Glu Glu Ala Leu
 580 585 590
 Glu Met Met Glu Lys Ala Ile Ala Ala Asp Lys Lys Asn Pro Leu Pro
 595 600 605
 Lys Tyr Gln Lys Ala Leu Ile Leu Leu Gly Leu Gln Lys Tyr Gln Glu
 610 615 620
 Ala Leu Asp Glu Leu Glu Arg Leu Lys Glu Ile Ala Pro His Glu Ser
 625 630 635 640
 Ser Met Tyr Ala Leu Met Gly Lys Ile Tyr Lys Gln Leu Asn Ile Leu



645

650

655

Asp Lys Ala Val Phe Cys Phe Gly Ile Ala Leu Asp Leu Lys Pro Pro
 660 665 670

Ala Ala Asp Leu Ala Ile Ile Lys Ser Ala Met Glu Lys Val His Leu
 675 680 685

Pro Asp Glu Leu Met Glu Asp Asp Leu
 690 695

<210> 9

<211> 586

<212> DNA

<213> Zea mays

<400> 9

acagcttgac tcaagatttg catatgctca cactctatgt ggtcatgagt attctgcact 60
 ggaggattat gagaatagta tcaaattcta cagatgtgca ctgcaggtag atgaaaggca 120
 ctacaatgct tggatggcc ttgggggtgt gtatcttcgc caggaaaagt ttgagtttgc 180
 tgagcatcat ttcagaaggg catttcagat aaatcctcgc tcttctgttc tcatgtgcta 240
 tcttgggatg gccttgcaat ctcttaagag gaatgaagag gcactggaaa tgatggagaa 300
 agctatagca gctgataaga agaatccact gcccaagtat cagaagtcct taattcttct 360
 aggactaatg aagtatgaag aagctctgga tgagttggag cggctaaagg agattgcacc 420
 tcatgagagt agtatgtatg cactgatggg aaagatttac aagcaactca atattcttga 480
 caaagctggt ttctgcttcg gcattgcctt ggatttgaaa ccacctgctg ctgatcttgc 540
 tataattaag tccgcaatgg agaaagtacc tcggccgcga ccacgc 586

<210> 10

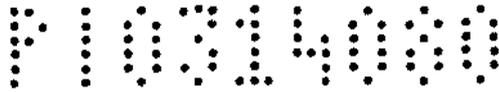
<211> 192

<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 10

Gln Leu Asp Ser Arg Phe Ala Tyr Ala His Thr Leu Cys Gly His Glu
 1 5 10 15



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

<210> 11

<211> 344

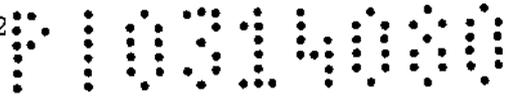
<212> DNA

<213> Sorghum bicolor

<400> 11

ctccacaaca atcagccata tgctgcatac cacattttga aagggaagaa gatgccggag 60
 tcccgggtact tgtttgctac atcatgtttt cgaatgaacc tcttgctgga agcagaagaa 120
 actctatgtc cagtcaatga accaaacatg gaggttccaa gtggagcaac aggacactac 180
 ctcttgggag tgatttacag gtgcacaggc agaatttcag ctgcagctga acaatttaca 240
 caagcgttga ctctagatcc tcttttatgg gcggcatatg aggaattgtg tatatttaggt 300
 attgctgaag ataccgatga gtgttttagt gaatcgactg ctct 344

<210> 12



<211> 114

<212> PRT

<213> Sorghum bicolor

<400> 12

```

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

```

<210> 13

<211> 715

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<220>

<221> misc_feature

<222> (26)..(26)

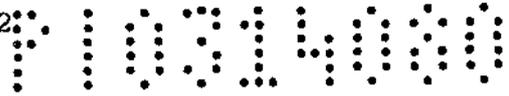
<223> n é qualquer nucleotídeo

<400> 13

```

accacgcgt ccgcacgaat attctngcat tggaggatta cgagaacagt gttaaattct      60
accgatgtgc acttcaggta gatgaaaggc actacaatgc ctggtatggg cttggagtag      120
tttaccttcg ccaggaaaag tttgagtttg ctgagcatca ttttagaagg gcatttcaga      180

```



taaatccccg ctcttctggt cttatgtgct atcttgggat ggcottacat gctctaaaga 240
 gagatgagga tgcattggag atgatggaga aagccatatt ttctgataag aagaatccac 300
 ttccctaagta tcagaaggct ttaattctgg taggccttca aaaatatcag gaggetctgg 360
 atgagttgga acggctaagg gagattgcac ctcatgagag tagtatgtat gcacttatgg 420
 gcaagatata caagcaactc aatattctcg acaaggctgt attttgcttt ggcggtgccc 480
 ttgatttgaa acctcccget gccgacctg ctataatcaa gtctgcaatg gagaaagtac 540
 acctccaga tgaactgatg gaggatgatg acctgtaagt tcactttaa gcaaaaactg 600
 agaaatggac atttattcag atctatgagt ttctgcttgt gcttccgagt catggcctga 660
 atgtgctttc ggagaggaac tcagaggttg aaggaagcaa gcacatcatg cggaa 715

<210> 14

<211> 181

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 14

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

P10314000

Leu Ala Ile Ile Lys Ser Ala Met Glu Lys Val His Leu Pro Asp Glu
165 170 175

Leu Met Glu Asp Asp
180

P 10314000

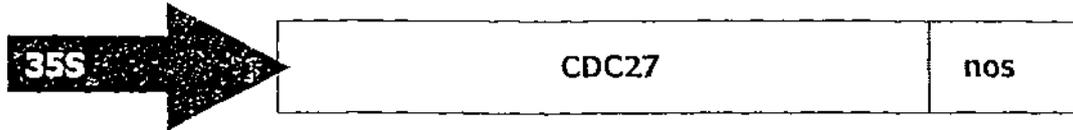


FIGURA: 1

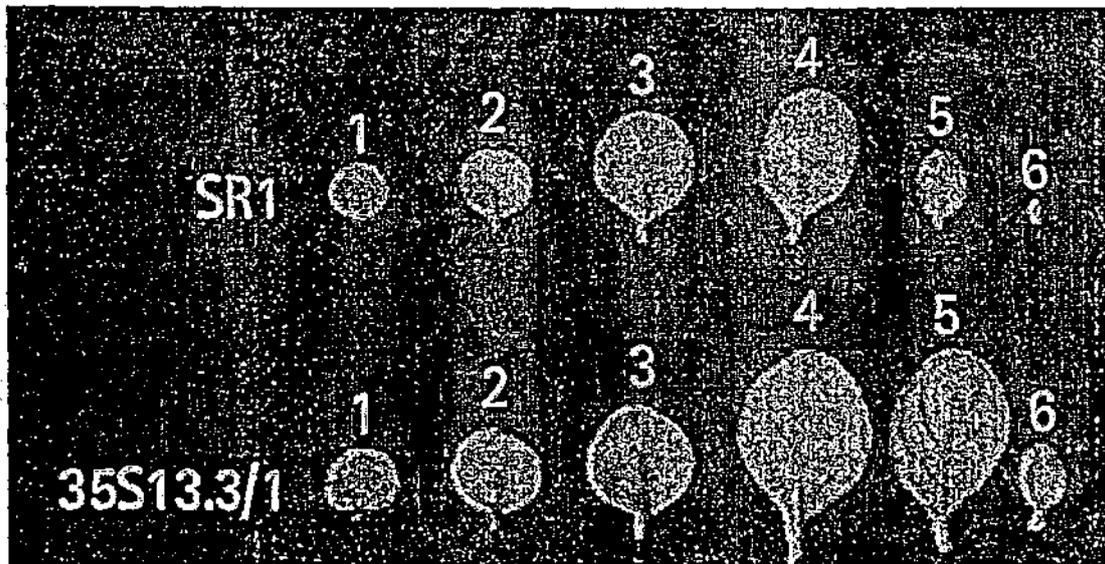
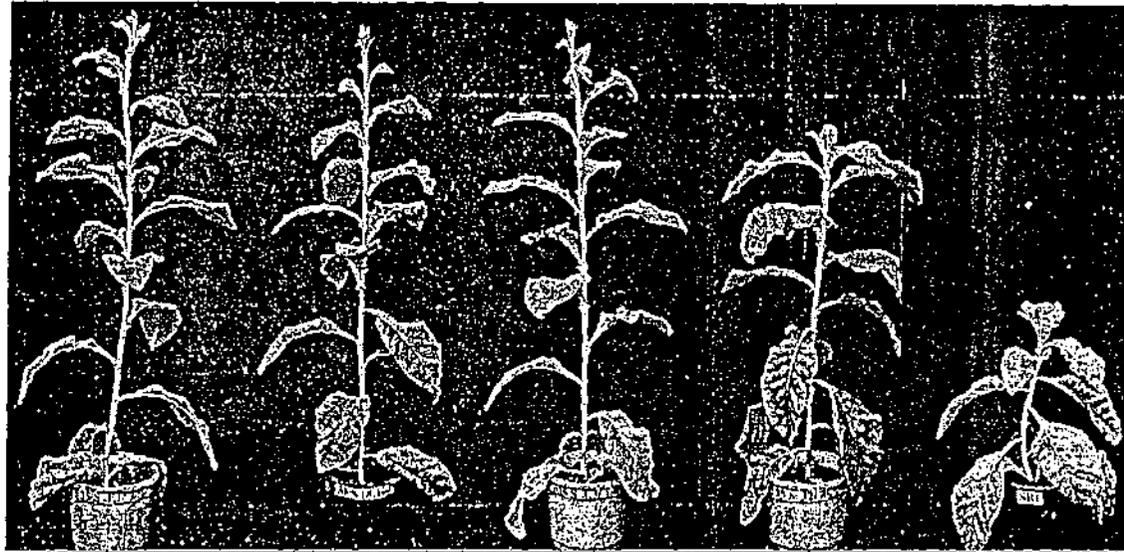


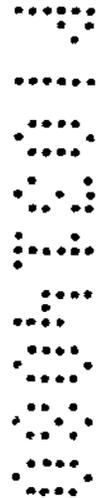
FIGURA: 2

FIGURA: 3

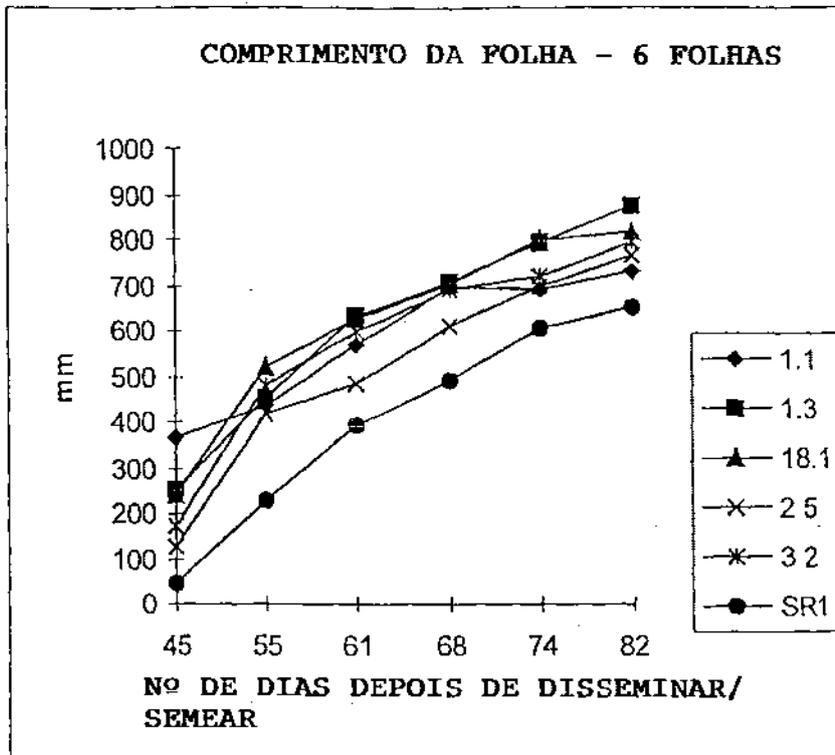


ID DE PLANTA
TRANSGÊNICA (TG)
Nº DE FOLHAS

1	2	3	4	5
TG	TG	TG	TG	CONTROLE
19	18	18	17	12/13



A



B

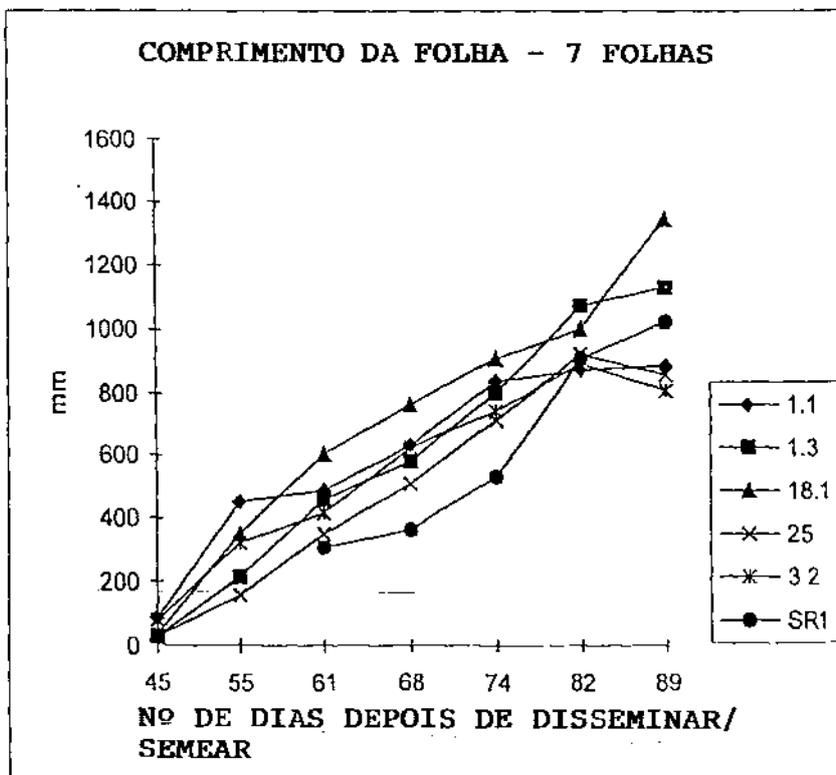


FIGURA: 4

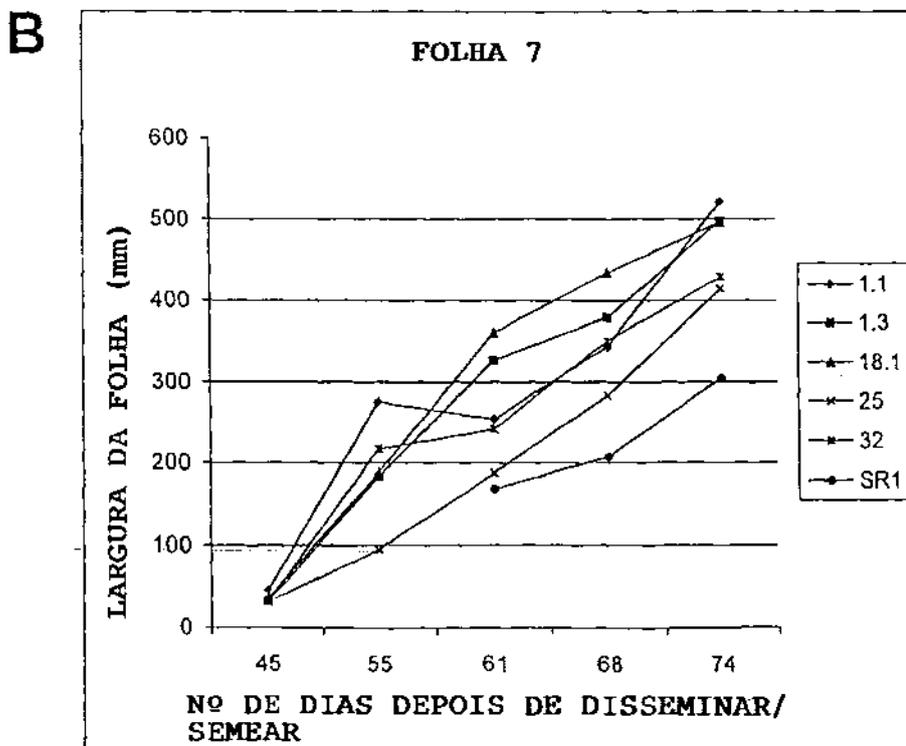
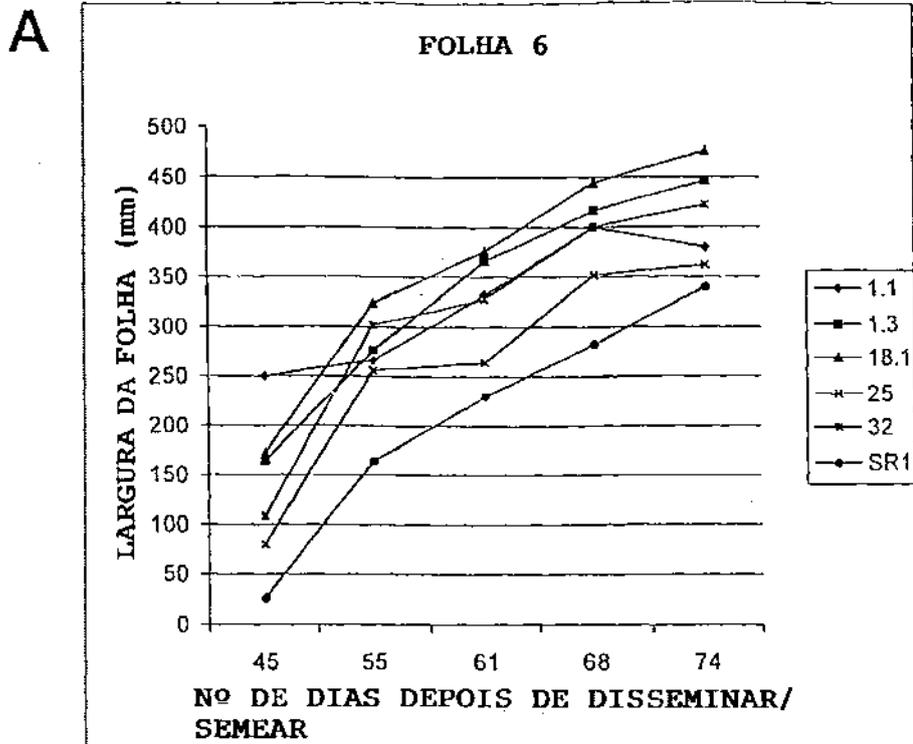
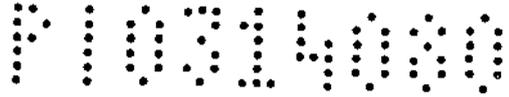


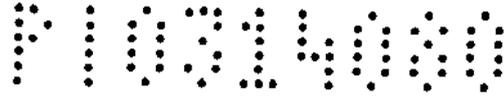
FIGURA:5



SEQ ID NO 1 cDNA *Arabidopsis thaliana* cdc27A1

ATGATGGAGAATCTACTGGCGAATTGTGTCCAGAAAAACCTTAACCATTTTATGTTACACAA
 TGCTATCTTCCTTTGCGAACTTCTTCTCGCCCAATTCCATCTGAGGTGAACCTGCAATTGT
 TAGCCAGGTGTTACTTGAGTAACAGTCAAGCTTATAGTGCATATTATATCCTTAAAGGTTCA
 AAAACGCCTCAGTCTCGGTATTTATTTGCATTCTCATGCTTTAAGTTGGATCTTCTTGAGGA
 GGCTGAAGCTGCATTGTTGCCCTGTGAAGATTATGCTGAAGAAGTTCCTGGTGGTGCAGCTG
 GGCATTATCTTCTTGGTCTTATATATAGATATTCTGGGAGGAAGAAGTGTTCATAACAACAG
 TTTAGGATGGCATTGTCATTGATCCATTGTGTTGGGAAGCATATGGAGAAGTTCCTGATGTT
 AGGTGCCGCTGAAGAAGCCTCAACAGTTTTTCGGGAATGTTGCTTCCCAGCGTCTTAAACTT
 GTGTAGAACAAGAATAAGCTTCTCAGAAGGAGCAACCATAGACCAGATTACAGATTCTGAT
 AAGGCCTTAAAGATACAGGTTTATCGCAAACAGAACACATTCCAGGAGAGAACCAACAAGA
 TCTGAAAATTATGCAGCAGCCTGGAGATATTCCACCAATACTGACAGGCAACTTAGTACAA
 ACGGATGGGACTTGAACACACCTTCTCCAGTGCCTTTACAGGTAATGGATGCTCCACCGCCT
 CTGCTTCTTAAGAATATGCGTCGTCCAGCAGTGAAGGATCTTTGATGTCTGTACATGGAGT
 GCGTGTGCGTCGAAGAACTTTTTTAGTGAAGAATTGTCAGCAGAGGCTCAAGAAGAATCTG
 GCGCCGCCGTAGTGTAGAATAGCAGCAAGGAAAAAGAATCCTATGTCGCAGTCATTGGA
 AAAGATTCCCATTGGTTACATCTTTCACCTCCGAGTCAAACATGCACCTTCTCTTCCCTC
 GATGATTGGAAAATGCAGAATCCAAAGCAGCAAAGAAGCGATTCCCTGATACCGTTACTCTAA
 ATGATCCAGCAACGACGTCAGGCCAGTCTGTAAGTGACACTGGAAGCTCTGTTGATGATGAG
 GAAAAGTCAAATCCTAGTGAATCTTCCCCGGATCGTTTTCAGCCTTATTTCTGGAATTCAGA
 AGTGCTAGGCATTCTGAAAATTCTTGGAGATGGCCACAGGCATTTACATATGTACAAGTGT
 AGGAAGCTTTGTTGGCATATCAAAAAGCTATCTCAGAAAACAATACAATACACACTGGGTTCTC
 ATGCAGGTTGGAAAAGCATATTTTGAGCTACAAGACTACTTCAACGCTGACTCTTCCTTTAC
 TCTTGCTCATCAAAAGTATCCTTATGCTTTGGAAGGAATGGATACATACTCCACTGTTCTTT
 ATCACCTGAAAGAAGAGATGAGGTTGGGCTATCTGGCTCAGGAACTGATTTTCAGTTGATCGC
 CTGCTCCAGAATCCTGGTGTGCAGTTGGGAAGTGTACACTTTGCGTAAGGATCATGATAC
 TGCTCTCAAAATGTTTCAGAGAGCTATCCAAGTGAATGAAAGATTCACATATGCACATACC
 TTTGTGGCCACGAGTTTGCCGCATTGGAAGAATTCGAGGATGCAGAGAGATGCTACCGGAAG
 GCTCTGGGCATAGATACGAGACACTATAATGCATGGTACGGTCTTGGAAATGACCTATCTTCG
 TCAGGAGAAATTCGAGTTTGCCGAGCATCAATTTCAACTGGCTCTCCAATAAATCCAAGAT
 CTTCAAGTCATCATGTGTTACTATGGAATTGCTTTGCATGAGTCAAAGAGAAACGATGAGGCG
 TTGATGATGATGGAGAAGGCTGTACTCACTGATGCAAAGAATCCGCTCCCCAAGTACTACAA
 GGCTCACATATTAACCAGCCTAGGTGATTATCACAAAGCACAGAAAGTTTTAGAAAGAGCTCA
 AAGAATGTGCTCCTCAAGAAAGCAGTGTCCATGCATCGCTTGGCAAATATACAATCAGCTA
 AAGCAATACGACAAAGCCGTGTTACATTTCCGGCATTGCTTTGGATTTAAGCCCTTCTCCATC
 TGATGCTGTCAAGATAAAGGCTTACATGGAGAGGTTGATACTACCAGACGAGCTGGTGACGG
 AGGAAAATTTGTAGATTTATTGTGCAGGTAATACACCAGATTATGTTTCTCATATAACCCAA
 AGTCATCTGTAATTTTTCTCATCTTTAGATCAGTCTTGTGGACTAACCCATAAACAAAACCTG
 ATTATATAAACTTAGAGGGTAATATTACAGAAAATTGTATAGAGTTGGGTTGAATTTTCAT
 TTCTTTTCCAAGTTGGAAGTTTGTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAA

FIGURA: 6



SEQ ID NO 2 DE PROTEÍNA ARABIDOPSIS THALIANA CDC27A1

MMENLLANCVQKNLNHFMTNAIFLCELLLAQFPSEVNLQLLARCYLSNSQAYSAYYILKGS
 KTPQSRYLFAFSCFKLDLLGEAEALLPCEDYAEVPGGAAGHYLLGLIYRSGRKNCSIQQ
 FRMALSFDPLCWEAYGELCSLGAEEASTVFGNVAQRLQKTCVEQRISFSEGATIDQITDS
 DKALKDTGLSQTEHIPGENQQDLKIMQQPGDIPNTDRQLSTNGWDLNTPSPVLLQVMDALP
 PLLLNMRRAVEGSLMSVHGVRVRRRNFFSEELSAEAQEESGRRRSARIAARKKNPMSQSF
 GKDSHWLHLSPSESNYAPSLSSMIGKCRIQSSKEVIPDVTVLNDPATTSGQSVSDIGSSVDD
 EEKSNPSESSPDRFSLISGISEVLSLLKILGDGHRHLHMYKCQEALLAYQKLSQKQYNTHWV
 LMQVGKAYFELQDYFNADSSFTLAHQKYPYALEGMDTYSTVLYHLKEEMRLGYLAQELISVD
 RLSPEWCVAVGNCSLRKDHTALKMFQRAIQLNERTYAHTLCGHEFAALEEFEDAERCYR
 KALGIDTRHYNAWYGLGMTYLRQEKFEFAQHQLALQINPRSSVIMCYGYALHESKRNDE
 ALMMEKAVLTDAKNPLPKYYKAHILTSLGDYHKAQKVLEELKECAPQESSVHASLGKIYNQ
 LKQYDKAVLHFGIALDLSPPSPDAVKIKAYMERLILPDELVTEENL

SEQ ID NO 3: cDNA DE CDC27A2 DE ARABIDOPSIS THALIANA

atgatggagaatctactggcgaattgtgtccagaaaaaccttaaccattttatgttcacc
 tgctatcttcttgcgaacttcttctcgcccaatttccatctgaggtgaacctgcaattgt
 tagccaggtgttacttgagtaacagtcacgcttatagtgcatattatcttaaggttca
 aaaacgcctcagtcctcggtatatttgcattctcatgctttaagttggatctcttggaga
 ggctgaagctgcatgttgcctgtgaagattatgctgaagaagttcctgggtggcagctg
 ggattatcttcttggctttatataatagatatctgggaggaagaactgttcaatacaacag
 tttaggatggcattgtcatttgatccattgtgttgggaagcatatggagaactttgtagtt
 aggtgccgctgaagaagcctcaacagtttctcggaatgttgcttcccagcgtcttaaaact
 gtgtagaacaagaataagcttctcagaaggagcaaccatagaccagattacagattctgat
 aaggccttaaaagatacaggtttatcgcaaacagaacacattccaggagagaaccaacaaga
 tctgaaaattatgcagcagcctggagatattccaccaaatactgacaggcaacttagtaca
 acggatgggacttgaacacaccttctccagtgcttttacaggtaatggatgctccaccgct
 ctgcttcttaagaatagcgtcgtccagcagtggaaggatcttgatgtctgtacatggagt
 gcgtgtgcgtcgaagaaacttttttagtgaagaattgtcagcagaggctcaagaagaatctg
 ggcgcccgttagtgctagaatagcagcaaggaaaaagaatcctatgtcgcagtcatttgg
 aaagattcccattggttacatcttccacttccgagtcaaaactatgcacctctcttctc
 gatgattggaaaatgcagaatccaaagcagcaagaagcaacgacgtcaggccagctctgta
 gtgacactggaagctctggtgatgatgaggaaaagtcaaatcctagtgaatcttccccgat
 cgttcagccttatttctggaatttcagaagtgctaagcattctgaaaattcttggagatgg
 ccacaggcatttacatatgtacaagtgctcaggaagctttgttggcatatcaaaagctatctc
 agaaacaatacaatacacactgggttctcatgcaggttggaaaagcatattttgagctaca
 gactacttcaacgctgactcttcttactcttctcatcaaaagtatccttatgcttggga
 agaatggatacactcactgttctttatcacctgaaagaagagatgaggttgggctatc
 tggctcaggaactgattcagttgatcgctgtctccagaatcctgggtgtgagttgggaac
 tgttacagtttgcgtaaggatcatgatactgctctcaaaatgtttcagagagctatccaact
 gaatgaaagattcacatatgcacataccctttgtggccacgagtttggccgattggaagaat
 tcgaggatgcagagagatgctaccggaaggctctgggcatagatacgagacactataatgca
 tggtaacggtcttggaaatgacctatcttctcaggaagaattcgagtttgcgcagcatcaatt
 tcaactggctctcaaaataaatccaagatcttcagtcacatgtgttactatggaattgctt
 tgcattgagtcgaagagaaacgatgaggcgttgatgatgatggagaaggctgtactcactgat
 gcaagaatccgctcccccaagtaactacaaggctcacatattaaccagcctaggtgattatca
 caaagcacagaaagttttagaagagctcaagaatgtgctcctcaagaagcagtgctccatg

FIGURA:6 (CONTINUAÇÃO)

FIGURA 6

catcgcttggcaaaatatacaatcagctaaagcaatcgacaaaagccgctgttacatctcggc
 attgctttggatttaagcccttctccatctgatgctgtcaagataaaggcttacatggagag
 gttgatactaccagacgagctggtgacggaggaaaattttagatattattgtgcaggttaata
 caccagattatgtttctcatataacccaaagtcacatctgtaatttttctcatcttagatcag
 tcttgtggactaacctaaaacaaaactgattatataaaacttagagggtaatattacagaaa
 attgtatagagttgggtttgaattttcatttctttccaagttggaacttttgttcaaaaaa
 aa

SEQ ID NO 4: PROTEÍNA DE ARABIDOPSIS THALIANA

MMENLLANCVQKNLNHFMFTNAIFLCELLLAQFPSEVNLQLLARCYSNSOAYSAYYILKGS
 KTPQRSRYLFAFSCFKDLLGEAEAAALLPCEDYAEVPGGAAGHYLLGLIYRYSGRKNCSIQQ
 FRMALSFDPLCWEAYGELCSLGAABEASTVFGNVASQRLKTCVEQRI SFSEGATIDQITDSD
 KALKDGTLSQTEHIPGENQQDLKIMQPGDIPNTDRQLSTNGWDLNTPSPVLLQVMDAPP
 LLLKNMRRPAVEGSLMSVHGVRVRRRNFSEELSAEAQEEGRRRRSARIAARKKNPMSQSF
 KDSHWLHLSPESESNYAPSLSSMIGKCRIOSSKEATTSGQSVSDTGSSVDDEEKSNPSESPD
 RFLSISGISEVLSILKILGDGHRHLHMYKQEQALLAYQKLSQKQYNTHWVLMQVKGAYFELQ
 DYFNADSSFTLAHQKYPYALEGMDTYSTVLYHLKEEMRLGYLAQELISVDRLSPESWCAVGN
 CYSLRKDHDOTALKMFQRAIQLNERTYAHTLCGHEFAALEEFEDAERCYRKALGIDTRHYNA
 WYGLGMTYLRQEKFEFAHQHFQALALQINPRSSVIMCYGIALHESKRNDALMMMEKAVLTD
 AKNPLPKYYKAHILTSLGDYHKAQKVLEELKECAPQESSVHASLGKIYNQLKQYDKAVLHFG
 IALDLSPPSPDAVKIKAYMERLILPDELVTEENL

SEQ IDNO 5: cDNA PARCIAL DE CDC27 DE ORYZA SATIVA

atggaaacctaatgggtggaccgctccacggcagcctccgctcttcatgcaccgcaaccg
 cgtcttctctgagcagcctctgcccagttccccgcccagacaaaatgtccagttgctag
 caacttgcaccttcacaacaaccagccatagctgcataccacatcttgaaggaaagaag
 ctgccagagctccggctacttgtttgctatgtcatgcttccgaatgaacctcttacgggaagc
 tgaagaagccttgtgtcctgtcaatgaaccaaataattgaggttccaagtggtgcaacagggc
 actaccttcttggagtaatttacaggtacactggcagagtggaagctgcagctgagcaattt
 gtacaagctctgactcttgatcctctctatgggcagcatacaggaattgtgcatactagg
 tgttgcctgaagatgcaaatgaatgttccagtgaaagcaacagctctacgtcttcagcaggaac
 tcacatccacatcaaatgtggaaaagtcaaactttgttaatgaaaatcggtttctatcttcc
 aatgtgtcagcaagttttgggtgatagctctaagcaaataaacagctgcatgctaaccaccac
 tgcagaagtatctggttatcctcatgtaaagctcaactgcattgcatagcagaacgggtgcac
 catctaatttatcacagtttgacaactccatcgccaacttcaacgcagnnnataatgtaact
 tcaacttcgtcttctacaagtatagttgatggaagataatcccagcaagagaaatctgaacg
 agttctgtcacaggactccaaattagctattgggtatcagggagctaatggcactcttgcgga
 cactaggggaaggggtataggcttcttctgttgaagtgtcaggaagcatttgaagtatat
 agaaagctcccagaggcacaatttaataactggatgggttctttgccaggttgggaagacata
 ttttgaactcgtcaattattagaagccgatcatttttttgagttagcgcacgactatcac
 catgcaagttggaggggaatggacatttactccactgttctttatcatttgaatgaggaatg
 cggctaagttaccttgcctcaagatcttgtttctattgatcgactatctccccagcatggtg
 tgcctgtgggaaattgctttgccttgaggaaagatcatgagactgccttgaagaatttcaac
 gtgctgtacagcttgactcaagagttgcatacgetcacacgctatgcggtcacgatataaaa
 ctataccgatctgcacttcaggtagatgaaagacactacaatgcttggatggccttggagt
 ggtgtaccttccgaggaagtttgagtttgcctgagcatcatttcagaagggcatttcaga

FIGURA: 6 (CONTINUAÇÃO)

taaatccttgctcttctgttcttatgtgctatcttgggatggccttgcctgctttaaagagg
 aatgaggaagccttggaaatgatggagaaggctataatcttgcctgataagaagaatccactccc
 caagtatcaaaaggctttaatccttctaggcctacaaaaataccctgatgctctggatgagt
 tggaaacggctaaaggaaattgcacctcatgaaagtagtatgtatgcaactgatgggaaagatt
 tacaagcaacttaacattcttgacaaggctgtatcttgccttggcattgcctctggatttgaa
 acctcctgctgctgacgttgcataatacaatctgcaatggagaaagtagacacctccagatg
 aacttatggatgatgatgatgatgatgatgagatttaagctcactccgaagaacagagggga
 ggaaccaacattgattggcatgcctgtgcttg

SEQ IDNO 6: PROTEÍNA PARCIAL CDC27 DE ORYZA SATIVA CDC27

METLMVDRVHGSRLRFMHRNAVFLCERLCAQFPAETNVQLLATCYLHNNQPYAAYHILKGGK
 LPESRYLFAMSCFRMNLREAEALCPVNEPNIEVPSGATGHYLLGVIYRYTGRVEAAAEQF
 VQALTLDPLLWAAEELCILGVAEDANECFSEATALRLOQELTSTSNVEKSNFVNENRFLSS
 NVSASFGDSPKQIKQLHANTTAEVSGYPHVKSTALHMONGAPSNLSQFDTSPSTSTQXXNVT
 STSSSTSIVDGRYPEQEKSERVLSQDSKLAIGIRELMALLRTLGEGRYLSCLFKCQEALEVY
 RKLPEAQFNTGWVLCQVGKTYFELVNYLEADHFFELAHRLSPCTLEGMDIYSTVLYHLNEEM
 RLSYLAQDLVSIIDRLSPQAWCAVGNCFALRKDHETALKNFQRAVQLDSRVAYAHTLCGHDIK
 LYRSALQVDERHYNWYGLGVVYLRQEKFEFAEHHFERRAFQINPCSSVLMCYLGMALHALKR
 NEEALEMMEKAI FADKKNPLPKYQKALILLGLQKYPDALDELERLKEIAPHESMYALMGKI
 YKQLNILDKAVFCFGIALDLKPPAADVAIIQSAMEKVHLPDELMDDDDDDDEI

SEQ ID NO 7: SEQUÊNCIA PARCIAL DE NUCLEOTÍDEOS DE CDC27 DE SACCHARUM SP

ggtcgacccacgcgtccgacccggaccctcccactgctgcgccctgccgctcgcttccggcca
 ccgcacaacacttcccctcgctctcgcccgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcg
 ggcggagatggaaaccctaattggtggaccgcgtccacagcagcctccgcctcttcatgcacc
 gcaacgcgcgtattcctctgcgagcgcctctgcgcgagcttcccctccgagaccaatgtgcaa
 ttggttagcgacctgctacctccacaacaatcagccatatgctgcataccacattttgaaagg
 gaagaagctgccggagtcccggtacttgtttgctacatcatgctttcgaatgaacctcttgc
 gtgaagcagaagaaactctatgtccagtcaatgaaccaaactggaggtccaagtggagca
 acaggacactacctccttggagtgatttacaggtgcacaggcagaatttcagctgcagctga
 acaatttacacaagcgttgactctagatcctcttttatgggcggcatatgaggaattgtgta
 tattaggtattgctgaagatactgatgagtggttttagtgaatcgactgctctacgtctccag
 caggaacacacatccacggccactctggtgaagtcgaacttcgccaatgaaaatcgagttct
 atcatccagggtctctgcaaatcttggggatattagtcctaagcaaatcaaacagcttcatg
 ctaacaacatagcagaagtatctggctatcctcatgtaagaccaactgcattgcatgtgcag
 aacagttcaacctctaattgtagcacagtttgacaccccatcaccaactgcagcacagacttc
 tagtatcatgccaccaccactctttaggaatgtccatgcttanattcaaattcaatacctg
 gggtttggaggggaatggtacaggttattcgtcagggaaattgagagtaaacctgctccacacc
 atcaaaatggtgtaaccaccatacgttccggtgcaagttaggaaaggaaaaccacgggctac
 agaaaatcttggatgaaggaagtagatatgaagtcattgatgaaatgtggacagacaatatat
 caggaacttcatcttctgtaagtagcagctgatggaagatcctttgagcaagataaagctgaa
 cgaattctgttgcaagactccaaattggcacttgggtattagggagatattgggacttgtccg
 aacactcgggtgaaggttgtaggcttcttctgcttggtaagtgcctgaagccttggaggtct
 acagaagactccctgagaccatntagcactggatggagcatatgccagggttggtaaggca
 ttttcgaattagttgattatttggagctgatcgttactttgaattggcacaccgactgtc

FIGURA: 6 (CONTINUAÇÃO)

gccttgtagccttgatggaatggacatctattctactgttctttatcatctgaatgaggaaa
 tgagactaagctaccttgctcaagagcttatttccattgatogactatctcctcaagcatgg
 tgtgcagtgggcaattgctttgccttgaggaaagatcatgagactgctttgagaattttca
 acgttcggtacagcttgactcaagatttgcatatgctcacactctatgaggatgagatt
 ctgcattggaggattatgagaatagatcaaattctaccggtgtgcactgcaggtagatgaa
 aggcactacaatgcctggtatggccttgggggtggtgatcttcgccaggaaaagtntgagtt
 tgctgagcatcattcagaagggcattcagataaatcctcgctcttctgttctcatgtgct
 atcttgggatggcgttgcatctcttaagaggaaggaggaggcattggaaatgatggagaaa
 gctatagcagctgataagaagaatccactgcccaagtatcagaaggccttaatccttctagg
 tcttcagaagatcaagaagctctggatgagttggagcggctaaaggagattgcacctcatg
 agagcagtatgtatgcactgatgggaaagattacaagcaactcaataccttgacaaagct
 gtttctgctttggcattgccttgatttgaacctcctgctgctgatcttgctataattaa
 gtcgcaatggagaaagtacatctcctgatgaactgatggaggatgacctgtaagttcgct
 caagcacagtgagaaaggaacatttacttcgggtccatgatgctttgcttgcttcggtt
 cctggcctgcttaggcttctcaagtggaaactcagatcttgagctgtaccatcaaccatcca
 gttttagatattagttgtagcctataatcagagaacacatgcccagaagctgcagtagttt
 aggactctgtacaagttgagcgttgcaaaatgacgctgtaccattatacagttgtgatat
 taacaaaacacatccttgtcaaataacggaaataatcaaaggatgaggatcctgctgattca
 agcagattgtttgtcgc

**SEQ ID NO 8: SEQUÊNCIA PARCIAL DE PROTEÍNA CDC27 DE
 SACCHARUM SP**

METLMVDRVHSSLRLFMHRNAVFLCERLCAQFPSETNVQLLATCYLHNNQPYAAYHILKGGK
 LPESRYLFATSCFRMNLREAEETLCPVNEPNMEVPSGATGHYLLGVIYRCTGRISAAAEQF
 TQALTLDPPLWAAYEELCILGIAEDTDECFSERALRQEHSTATLVKSNFANENRVLSS
 RVSANLGDISPQKQIKQLHANNIAEVSGYPHVRPTALHVQNSSTSNVAQFDTPSPATAQTSSI
 MPPPLFRNVHAXIQIQIPGVWREWYRLFVREIASKLVHTIKMVLTTIRSVQVRKKGKPRATEN
 FDEGSRYEVIDEMWTDNISGTSVSTADGRSFEQDKAERILLQDSKLALGIREILGLVRTL
 GEGRLSCLFKCHEALEVYRRLPETHXSTGWSICQVGKAYFELVDYLEADRYFELAHRLSPC
 TLDGMDIYSTVLYHLNEMRLSYLAQELISIDRLSPQAWCAVGNCFALRKDHETALKNFORS
 VQLDSRFAYAHTLCGHEYSALDYENSIKFYRCALQVDERHYNAWYGLGVVYLRQEKXEF
 HHFRRAFQINPRSSVLMCYLGMALHSLKRKEEALEMMEKAIADKKNPLPKYQKALILLGLQ
 KYQEALDELERLKEIAPHESMYALMGKIYKQLNILDKAVFCFGIALDLKPPAADLAIKSA
 MEKVHLPDELMEDDL*

SEQ ID NO 9: NUCLEOTÍDEOS DA EST DE ZEA MAYS

ACAGCTTGACTCAAGATTTGCATATGCTCACACTCTATGTGGTCATGAGTATTCTGCACTGG
 AGGATTATGAGAATAGTATCAAATTCTACAGATGTGCACTGCAGGTAGATGAAAGGCACTAC
 AATGCTTGGTATGGCCTTGGGGTGGTGTATCTTCGCCAGGAAAAGTTGAGTTTCTGAGCA
 TCATTCAGAAGGGCATTTCAGATAAATCCTCGCTCTTCTGTTCTCATGTGCTATCTTGGGA
 TGGCCTTGCAATTCTCTTAAGAGGAATGAAGAGGCACTGGAAATGATGGAGAAAGCTATAGCA
 GCTGATAAGAAGAATCCACTGCCCAAGTATCAGAAGTCCTTAATTCTTCTAGGACTAATGAA
 GTATGAAGAAGCTCTGGATGAGTTGGAGCGGCTAAAGGAGATTGCACCTCATGAGAGTAGTA
 TGTATGCACTGATGGGAAAGATTTACAAGCAACTCAATATTCTTGACAAAGCTGTTTTCTGC
 TTCGGCATTGCCCTGGATTTGAAACCACCTGCTGCTGATCTTGCTATAATTAAGTCCGCAAT
 GGAGAAAGTACCTCGGCCGACCACGC

FIGURA: 6 (CONTINUAÇÃO)

SEQ ID NO 10: PROTEÍNA DE TRADUÇÃO DE EST DE ZEA MAYS

QLDSRFAYAHTLCGHEYSALEDYENSIKFYRCALQVDERHYNWYGLGVVYLRQEKFEFAEH
 HFRRAFQINPRSSVLMCYLGMALHSLKRNEEALEMMEKAIADKKNPLPKYQKSLILLGLMK
 YEEALDELERLKEIAPHESMYALMGKIYKQLNILDKAVFCFGIALDLKPPAADLAIKSAM
 EKVPRP

SEQ ID NO 11: NUCLEOTÍDEOS DE EST BF657465 DE SORGHUM BICOLOR

CTCCACAACAATCAGCCATATGCTGCATACCACATTTTGAAAGGGAAGAAGATGCCGGAGTC
 CCGGTACTTGTGGCTACATCATGTTTTCGAATGAACCTCTTGCCTGAAGCAGAAGAACTC
 TATGTCCAGTCAATGAACCAACATGGAGGTTCCAAGTGGAGCAACAGGACACTACCTCCTT
 GGAGTGATTTACAGGTGCACAGGCAGAATTTAGCTGCAGCTGAACAATTTACACAAGCGTT
 GACTCTAGATCCTCTTTTATGGGCGGCATATGAGGAATTGTGTATATTAGGTATTGCTGAAG
 ATACCGATGAGTGTTTTAGTGAATCGACTGCTCT

SEQ ID NO 12: TRADUÇÃO DE PROTEÍNA DE EST BF657465 DE SORGHUM BICOLOR

LHNNQPYAAYHILKGGKMPESRYLFATSCFRMNLREAEETLCPVNEPNMEVPSGATGHYLL
 GVIYRCTGRISAAAEQFTQALTLDP LLWAAYEELCILGIAEDTDECFSESTA

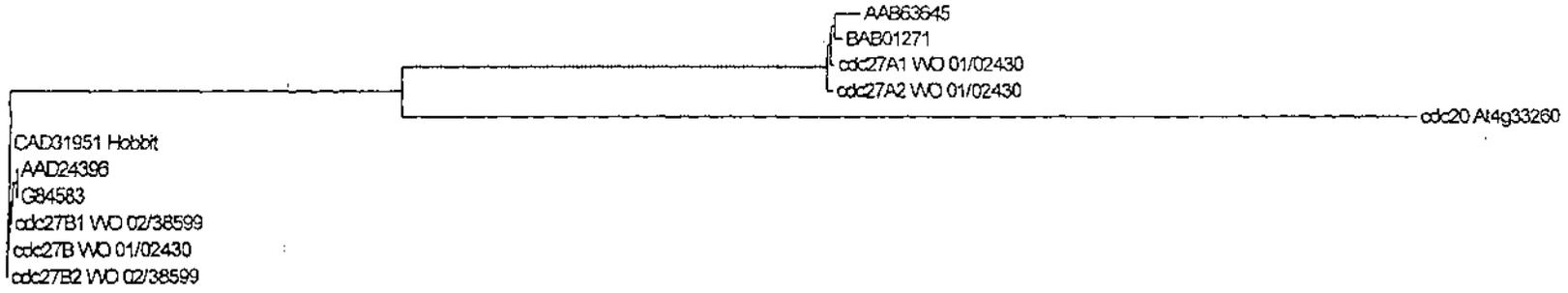
SEQ ID NO 13: NUCLEOTÍDEOS DE EST CD904062 DE TRITICUM AESTIVUM

ACCCACGCGTCCGCACGAATATTCTNGCATTGGAGGATTACGAGAACAGTGTTAAATTCTAC
 CGATGTGCACTTCAGGTAGATGAAAGGCACTACAATGCCTGGTATGGGCTTGGAGTAGTTTA
 CCTTCGCCAGGAAAAGTTGAGTTGCTGAGCATCATTTTAGAAGGGCATTTCAGATAAATC
 CCCGCTCTTCTGTTCTTATGTGCTATCTTGGGATGGCCTTACATGCTCTAAAGAGAGATGAG
 GATGCATTGGAGATGATGGAGAAAGCCATATTTCTGATAAGAAGAATCCACTTCCTAAGTA
 TCAGAAGGCTTTAATTCTGGTAGGCCTTCAAAAATATCAGGAGGCTCTGGATGAGTTGGAAC
 GGCTAAGGGAGATTGCACCTCATGAGAGTAGTATGTATGCACCTTATGGGCAAGATATACAAG
 CAACTCAATATTCTCGACAAGGCTGTATTTTGGCTTTGGCGTTGCCCTTGATTTGAAACCTCC
 CGCTGCCGACCTTGCTATAATCAAGTCTGCAATGGAGAAAGTACACCTTCCAGATGAAGTGA
 TGGAGGATGATGACCTGTAAGTTCACTTTAAAGCACAACTGAGAAAATGGACATTTATTTCAG
 ATCTATGAGTTTCTGCTTGTGCTTCCGAGTCATGGCCTGAATGTGCTTTCCGAGAGGAACCTC
 AGAGGTTGAAGGAAGCAAGCACATCATGCGGAA

SEQ ID NO 14: PROTEÍNA DE TRADUÇÃO DE EST CD904062 DE TRITICUM AESTIVUM

ALEDYENSVKFYRCALQVDERHYNWYGLGVVYLRQEKFEFAEHHFRRAFQINPRSSVLMCY
 LGMALHALKRDEDALEMMEKAI FSDKKNPLPKYQKALILVGLQKYQEALDELERLREIAPHE
 SSMYALMGKIYKQI.NILDKAVFCGVALDLKPPAADLAIKSAMEKVHLPDELMEDD

FIGURA: 7



**MÉTODO PARA ALTERAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E FORMAÇÃO DE
ÓRGÃOS DE UMA PLANTA**

A presente invenção se refere a um método para alteração do desenvolvimento e formação de órgãos de uma
5 planta, em particular aceleração da taxa de desenvolvimento, aumento do tamanho e número de órgãos e promoção de floração precoce, através de expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico de cdc27a e/ou atividade e/ou níveis aumentados ou diminuídos, em uma
10 planta, de uma proteína CDC27A. A invenção também se refere a plantas transgênicas tendo desenvolvimento alterado, plantas as quais têm expressão aumentada ou diminuída de um ácido nucleico que codifica uma proteína CDC27A.