

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-143302-00000-0000

Fecha: 2011-10-24 17:22:43
Tra. 11 PATENTE/II
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eva: 378 FASENACIONALI
Folios: 91

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO _____
Método para producir una planta de crisantemo que tiene
petalos que contienen antocianina modificada

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE _____
INCORPORATED ADMINISTRATIVE AGENCY NATIONAL AGRICULTURE
AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION Y SUNJORY HOLDINGS LIMITED

DOMICILIO _____
IBARAKI, JAPON, y OSAKA, JAPON, respectivamente

74. APODERADO _____
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C., _____

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-143302-00000-0000

Fecha: 2011-10-24 17:22:43 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 91

cación

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL****SOLICITUD DE:**

1

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I.☐ Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**Nombre: **INCORPORATED
ADMINISTRATIVE AGENCY NATIONAL
AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH
ORGANIZATION y SUNTORY HOLDINGS
LIMITED**Sociedades constituidas existentes bajo las
leyes de Japón, respectivamente.Dirección: 3-1-1 Kannondai,
Tsukuba-shi,
Ibaraki 3058517,
Japón

y

1-40, Dojimahama 2-chome,
Kita-ku, Osaka-shi,
Osaka 530-8203,
Japón

Respectivamente

Domicilio: Ibaraki,
Japón

y

Osaka,
Japón**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**Nombre: **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

E-mail: clientes@cavelier.com

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 35.456.344T.P 23.555

4

**INVENTOR (ES)
(72)****1. Naonobu NODA**c/o National Institute of Floricultural
Science,
Incorporated Administrative Agency
National Agriculture and Food Research
Organization,
2-1, Fujimoto,
Tsukuba-shi,
Ibariki 3058519,
Japón**2. Ryutaro AIDA**c/o National Institute of Floricultural
Science,
Incorporated Administrative Agency
National Agriculture and Food Research
Organization,
2-1, Fujimoto,
Tsukuba-shi,
Ibariki 3058519,
Japón

	3. Sanae SATO c/o National Institute of Floricultural Science, Incorporated Administrative Agency National Agriculture and Food Research Organization, 2-1, Fujimoto, Tsukuba-shi, Ibariki 3058519, Japón	4. Akemi OHMIYA c/o National Institute of Floricultural Science, Incorporated Administrative Agency National Agriculture and Food Research Organization, 2-1, Fujimoto, Tsukuba-shi, Ibariki 3058519, Japón								
5	PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/JP2010/053909</u> Fecha: <u>09 de marzo de 2010</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2010/122850 A1</u> Fecha: <u>28 de octubre de 2010</u>									
6	Título (54) <u>MÉTODO PARA PRODUCIR UNA PLANTA DE CRISANTEMO QUE TIENE PÉTALOS QUE CONTIENEN ANTOCIANINA MODIFICADA</u>									
7	Clasificación Internacional (51) <u>C12N 015/029</u>									
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	<table border="1"><thead><tr><th>(33) País de Origen</th><th>(32) Fecha</th><th>(31) Número de Solicitud</th></tr></thead><tbody><tr><td><u>JP</u></td><td><u>24 de abril de 2009</u></td><td><u>2009-107055</u></td></tr></tbody></table>	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud	<u>JP</u>	<u>24 de abril de 2009</u>	<u>2009-107055</u>		
(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud								
<u>JP</u>	<u>24 de abril de 2009</u>	<u>2009-107055</u>								
9	<table><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0099110</u></td><td>Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0099124</u></td><td>Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0099195</u></td><td>Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0099196</u></td><td>Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u></td></tr></table>		Comprobante de pago No.: <u>11-0099110</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>	Comprobante de pago No.: <u>11-0099124</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>	Comprobante de pago No.: <u>11-0099195</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>	Comprobante de pago No.: <u>11-0099196</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>
Comprobante de pago No.: <u>11-0099110</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>									
Comprobante de pago No.: <u>11-0099124</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>									
Comprobante de pago No.: <u>11-0099195</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>									
Comprobante de pago No.: <u>11-0099196</u>	Fecha: <u>07 de octubre de 2010</u>									

10

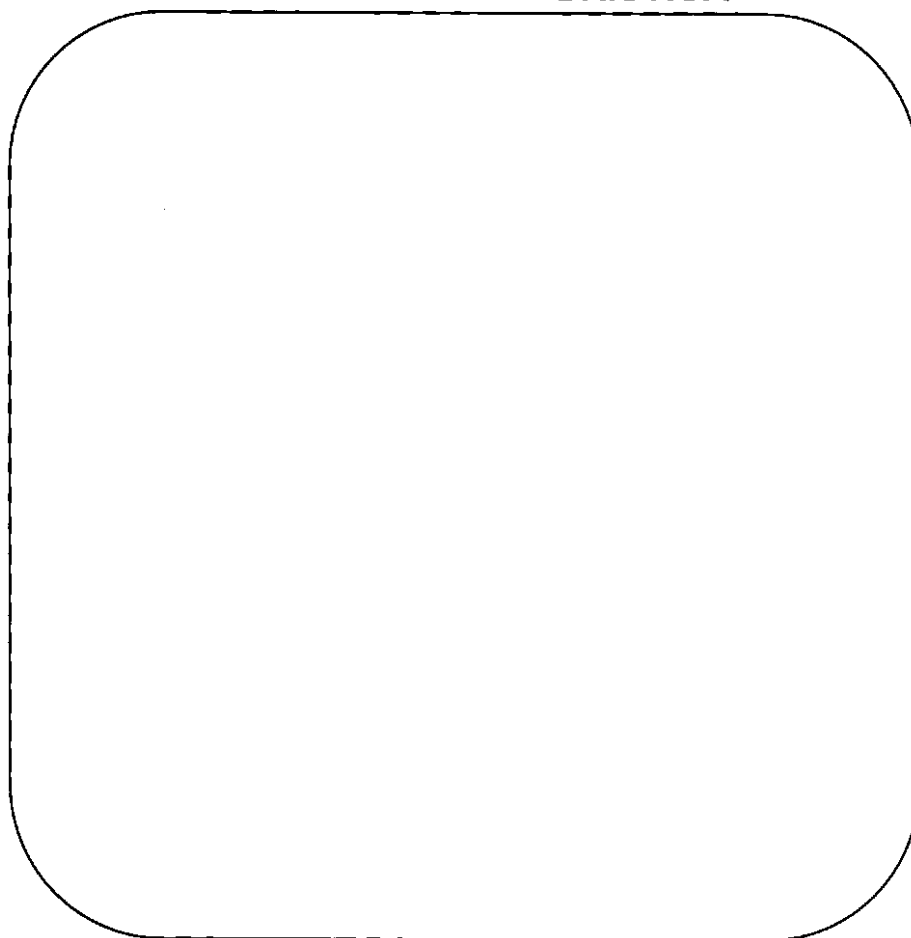
Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 571.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por 9 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$243.000.00.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poder, si fuere el caso de **SUNTORY HOLDINGS LIMITED**.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia de la carátula de la Publicación Internacional WO 2010/122850 A1.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

4

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA :

Luz Clemencia de Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2010/122850 A1

Descripción:

Páginas 29 en español

Reivindicaciones: Número (s) 19

Figuras: Número (s) 7

2. ☒ Forma PCT/ISA/210. Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Listado de Secuencias.

4. ☒ Forma PCT/IB/306. Notificación de la inscripción del cambio de nombre de uno de los solicitantes **NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION** por **INCORPORATED ADMINISTRATIVE AGENCY NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION**

5. ☒ Forma PCT/IB/306. Notificación de la inscripción del cambio de nombre del inventor **Sanae KISHIMOTO** por **Sanae SATO**.

6. ☒ Forma PCT/IB/306. Notificación de la inscripción del cambio de dirección de los inventores **Naonobu NODA, Ryutaro AIDA y Akemi OHMIYA**.

7. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

**Notaría
Sexta**

6

DEL CIRCULO DE BOGOTA, D.C.

COPIA NUMERO 13

DE LA ESCRITURA NUMERO: 4017
FECHA: 09/Agosto/2011

ACTO O CONTRATO:
PODER ESPECIAL
OTORGANTES:
CAVELIER ABOGADOS



CERTIFICADO SC 3980-1
PRESTACION DEL
SERVICIO PUBLICO
NOTARIAL
ISO 9001:2000
NTC-ISO 9001:2000



AMPARO QUINTERO ARTURO

NOTARIA SEXTA

CARRERA 9 No. 69-31 - PBX: 317 01 00 - FAX: 314 56 41
Correo Electrónico: notariasexta@etb.net.co



ESCRITURA PUBLICA NUMERO - - - - 4017 - - - -

No. CUATRO MIL DIECISIETE - - - - -

DE FECHA: NUEVE (9) DE AGOSTO DEL AÑO DOS MIL ONCE
(2011) - - - - -OTORGADA EN LA NOTARIA SEXTA (6ª.) DEL
CÍRCULO NOTARIAL DE BOGOTÁ, D.C. - - - - -

ACTO: PODER - - - - -

PODERDANTE: CAVELIER ABOGADOS Nit. 860.041.367-3

APODERADOS: - - - - -

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ C.C. 35.456.344

NIDIA OSORIO LOPEZ C.C. 39.787.682

OSCAR FERNANDO CORREA BARBOSA C.C. 79.524.634

EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY C.C. 52.006.265

JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL C.C. 16.209.380

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, República de Colombia, ante mí - MABEL
ANDREA RODRIGUEZ DIAZ - Notaria(o) Sexta(o) (6) - Encargada - de este Círculo
Notarial, se otorgó la escritura pública que se consigna en los siguientes
términos: - - - - -

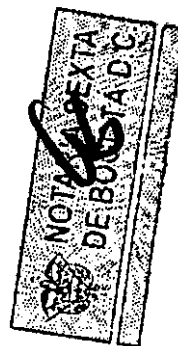
Compareció: con minuta escrita la señora **ADRIANA ZAPATA GIRALDO**, mayor
de edad, vecina de esta ciudad, casada, identificada con la cédula de ciudadanía
No. 51.680.061 de Bogotá, y dijo: - - - - -

ESTIPULACIONES - - - - -

PRIMERA: Que obra en su calidad de Representante Legal de la sociedad
denominada **CAVELIER ABOGADOS** domiciliada en la Carrera 4 No. 72-35,
Bogotá, Colombia. - - - - -

SEGUNDA: Que **SUNTORY HOLDINGS LIMITED**, sociedad constituida y
existente bajo las leyes de Japón, domiciliada en 1-40, Dojimahama 2-chome,
Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-8203, Japón, designó a **CAVELIER ABOGADOS**
como su representante para la Propiedad Industrial en Colombia con facultades
de nombrar apoderados tal como consta en la copia auténtica del documento de
representación que se protocoliza. - - - - -

TERCERA: Que en su carácter de representante legal de **CAVELIER
ABOGADOS**, y en desarrollo de la facultad otorgada por **SUNTORY HOLDINGS
LIMITED**, confiere poder a los abogados **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**, T.P.A. No.



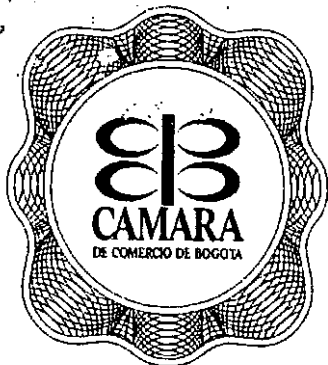
23.555, identificada con cédula de ciudadanía número **35.456.344** de Usaquén, **NIDIA OSORIO LOPEZ**, T.P.A. No.73.366, identificada con cédula de ciudadanía número **39.787.682** de Bogotá, **OSCAR FERNANDO CORREA BARBOSA**, T.P.A. No. 71.027 identificado con cédula de ciudadanía número **79.524.634** de Bogotá, **EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY**, T.P.A. 65.794 identificada con cédula de ciudadanía número **52.006.265** de Bogotá y **JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL**, T.P.A. No. 40.119, identificado con cédula de ciudadanía número **16.209.380** de Cartago (Valle), mayores de edad, vecinos de Bogotá, para que representen a la sociedad a cuyo nombre actúa, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, incluyendo las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: -----

a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, trazado de circuitos integrados, secretos industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales, denominaciones de origen e indicaciones de procedencia, su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos -----

b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones, cancelación administrativa o judicial, nulidad, medidas cautelares, acción por infracción, concesión de licencias, la protección de secretos industriales y de nombres de dominio junto con su administración y pago; acciones populares, de tutela y de cumplimiento; y en general los procesos civiles, penales, administrativos o contencioso administrativos, de conciliación, arbitramento, tutela relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. -----

CUARTO: Que los apoderados designados están facultados en todos los asuntos arriba determinados para sustituir este mandato, transigir, conciliar, arbitrar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y ratificar los actos de agentes oficiosos. -----

QUINTO: Que protocoliza con la presente escritura, un certificado expedido por la Cámara de Comercio de Bogotá, que acredita la constitución y personería de la sociedad **CAVELIER ABOGADOS**, igualmente protocoliza copia autenticada del



01



* 1 0 7 0 0 6 3 9 2 *

8

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

15 DE JULIO DE 2011 HORA 09:02:14

R032051265

PAGINA: 1 de 3

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O INSCRIPCION DE DOCUMENTOS

CERTIFICA:

NOMBRE : CAVELIER ABOGADOS
N.I.T. : 860041367-3
DOMICILIO : BOGOTA D.C.

CERTIFICA:

NO: 00820237

CERTIFICA:

CONSTITUCION : QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0006233 DE NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C. DEL 10 DE SEPTIEMBRE DE 1974 , INSCRITA EL 26 DE SEPTIEMBRE DE 1974 BAJO EL NUMERO 00021234 DEL LIBRO IX, SE CONSTITUYO LA SOCIEDAD CIVIL DENOMINADA: CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER.

CERTIFICA :

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0001000 DE NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C. DEL 10 DE MARZO DE 1983 , INSCRITA EL 5 DE ABRIL DE 1983 BAJO EL NUMERO 00130769 DEL LIBRO IX, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE : CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER. POR EL DE : CAVELIER ABOGADOS

CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NUMERO 1.000 OTORGADA EN LA NOTARIA 6A. DE BOGOTA EL 10 DE MARZO DE 1983, INSCRITA EN ESTA CAMARA DE COMERCIO EL 5 DE ABRIL DE 1983 BAJO EL NUMERO 130769 DEL LIBRO IX, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE: CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER, POR EL DE: CAVELIER ABOGADOS, E INTRODUJO OTRAS REFORMAS.

CERTIFICA:

CERTIFICA

QUE POR E.P.NO. 2.034 DE LA NOTARIA 6 DE SANTAFE DE BOGOTA DEL 18 DE ABRIL DE 1.995, INSCRITA EL 27 DE ABRIL DE 1.995 BAJO EL NO. 5.937 DEL LIBRO XIII, LA SOCIEDAD TRASLADO SU DOMICILIO DE LA CIUDAD DE SANTAFE DE BOGOTA D.C. AL MUNICIPIO DE TABIO (CUNDINAMARCA)

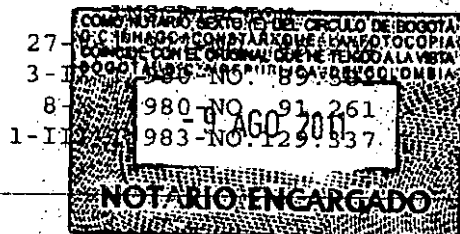
CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 7710 DE LA NOTARIA SEXTA DE BOGOTA DEL 10 DE OCTUBRE DE 1984, INSCRITA EL 15 DE NOVIEMBRE DE 1984 BAJO EL NO. 1559 DEL LIBRO XIII, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NATURALEZA JURIDICA DE SOCIEDAD COMERCIAL A SOCIEDAD CIVIL.

CERTIFICA:

REFORMAS:

ESCRITURAS NO.	FECHA	NOTARIA
842	10-V-1.977	18. BTA.
3.430	1-VII-1.980	6A. BTA.
4.844	10-IX-1.980	6A. BTA.
432	10-II-1.983	6A. BTA.



7.710	10-X-1.984	6A. BTA.	15-XI-1.984-NO.	1.559
7.305	21-X-1.985	6A. BTA.	18-XI-1.985-NO.	1.906
2.567	29-IV-1.987	6A. BTA.	7-V- 1.987-NO.	2.386
4.278	3-VII-1.987	6A. BTA.	23-VII-1987 NO.	215.652
2.657	25- IV-1.988	6A. BTA.	19- V -1988-NO.	2,740
9.033	21-XII-1.990	6A. BTA.	10- I - 1991-NO.	3.786
25	3- I -1.991	6A. BTA.	10- I - 1991-NO.	3.787
1.608	8-III-1.991	6A. BTA.	14-III- 1991-NO.	3.841
2.155	2-IV- 1.991	6A. BTA.	8-IV - 1991-NO.	3.862
797	7-II -1.991	6A. BTA.	7- V -1991-NO.	3.882
1.739	14-III-1.991	6A. BTA.	7- V -1991-NO.	3.881
5.886	21-VIII-1.991	6A. BTA.	27-VIII-1991 NO.	4.019
8.596	4-XII -1.991	6A. BTA.	16-III -1992 NO.	4.430
1.494	10-III -1.992	6A. BTA.	19-III -1992 NO.	4.436
4.205	8 -VII -1.992	6A. BTA.	15-VII -1992 NO.	4.554
8.829	16-XII -1.992	6A. BTA.	24-XII -1992 NO.	4.819
12	5-I -1.993	6 STAFE BTA	13-I -1993 NO.	4.850
4.877	29-VI -1.993	6 STAFE BTA	7-VII -1993 NO.	5.065
5.216	12-VII -1.993	6 STAFE BTA	16-VII -1993 NO.	5.077
ACTA NO.71	2-IX- 1.993	JUNTA DE SOCIOS	29-IX- 1993 NO.	5.174
2.034	18-IV- 1.995	6 STAFE BTA	27- IV -1995 NO.	5.937
2.227	25-IV-1.995	6 STAFE BTA	18-VIII-1.995 NO.	6.092
7.594	12-XII-1.995	6 STAFE BTA	19- XII-1.995 NO.	6.294
676	11- II-1.997	6 STAFE BTA	14- II -1.997 NO.	6.873

CERTIFICA:

REFORMAS:

E.P. NO.	FECHA	NOTARIA	CIUDAD	FECHA	NO. INSC.
0004506	1997/07/28	0006	BOGOTA D.C.	1997/09/02	00007115
0002103	1998/04/08	0006	BOGOTA D.C.	1998/04/21	00007426
0005326	1998/08/06	0006	BOGOTA D.C.	1998/08/13	00007544
0005538	1998/08/14	0006	BOGOTA D.C.	1998/08/27	00007564
0007760	1998/11/10	0006	BOGOTA D.C.	1998/11/12	00007644
0006709	1997/11/04	0006	BOGOTA D.C.	2000/12/04	00008481
0003034	2003/05/30	0006	BOGOTA D.C.	2003/06/04	00882729
0003786	2004/07/16	0006	BOGOTA D.C.	2004/07/28	00009703
0001432	2005/03/18	0006	BOGOTA D.C.	2005/04/07	00009917
0004818	2005/08/22	0006	BOGOTA D.C.	2005/08/26	00010008
0005506	2007/07/17	0006	BOGOTA D.C.	2007/07/24	00010841
5453	2009/10/19	0006	BOGOTA D.C.	2009/10/21	00012243
1336	2010/03/16	0006	BOGOTA D.C.	2010/03/24	00012506
915	2011/02/28	0006	BOGOTA D.C.	2011/03/03	00013022

CERTIFICA:

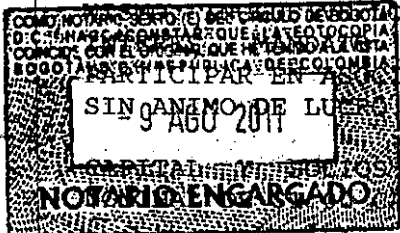
VIGENCIA: QUE LA SOCIEDAD NO SE HALLA DISUELTA. DURACION HASTA EL 10 DE SEPTIEMBRE DE 2024 .

CERTIFICA:

OBJETO SOCIAL: LA SOCIEDAD TENDRA POR OBJETO : EL EJERCICIO DE LA ACTIVIDAD PROFESIONAL DE ABOGADOS. EN DESARROLLO DE ESTE OBJETO LA SOCIEDAD PODRA ADQUIRIR, CONTRAER OBLIGACIONES Y CELEBRAR TODA CLASE DE CONTRATOS DIRECTAMENTE RELACIONADOS Y SUBORDINADOS AL OBJETO SOCIAL, COMO SON: CONTRATOS DE ARRENDAMIENTO, HIPOTECA, MUTUO CON O SIN GARANTIA, Y CONTRATOS CIVIL Y COMERCIAL, Y SOCIEDAD, ASI COMO CONTRATOS DE PARTICIPACION EN ASOCIACIONES CIENTIFICAS, GREMIALES O PROFESIONALES

CERTIFICA:

CAPITAL: \$10,000.00 DIVIDIDO EN 10,000.00 CUOTAS CON VALOR DE UNA, DISTRIBUIDO ASI :





01



* 1 0 7 0 0 6 3 9 3 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

15 DE JULIO DE 2011

HORA 09:02:14

R032051265

PAGINA: 2 de 3

- SOCIO CAPITALISTA (S)

GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
NO. CUOTAS: 1,200.00	VALOR: \$1,200.00
ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568
NO. CUOTAS: 8,800.00	VALOR: \$8,800.00

- SOCIO INDUSTRIAL (S)

ZAPATA GIRALDO ADRIANA	C.C. 000000051680061
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA	C.C. 000000035456344
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
SARMIENTO CHARRY EDNA DARMELY	C.C. 000000052006265
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
TOBON FRANCO NATALIA	C.C. 000000051725514
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
OSORIO LOPEZ NIDIA	C.C. 000000039787682
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
CHAVARRO JORGE	C.C. 000000016209380
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
CORREA BARBOSA OSCAR FERNANDO	C.C. 000000079524634
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
TOTALES	
NO. CUOTAS: 10,000.00	VALOR: \$10,000.00

CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURAS PUBLICAS NO. 001431 Y 001432 DEL 18 DE MARZO DE 2005 DE LA NOTARIA 06 DE BOGOTA D.C., INSCRITA EL 07 DE ABRIL DE 2005 BAJO EL NO. 0009918 Y 0009917, RESPECTIVAMENTE DEL LIBRO XIII, DE LAS MIL DOSCIENTAS (1200) PARTES DE INTERES SOCIAL RADICADAS EN CABEZA DE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER, SEISCIENTAS (600) PARTES ESTAN GRAVADAS O AFECTADAS EN PROPIEDAD FIDUCIARIA A FAVOR DE LAS SIGUIENTES PERSONAS : GERMAN CAVELIER FRANCO, ERNESTO CAVELIER FRANCO, JORGE CAVELIER FRANCO, INES CAVELIER FRANCO, GUILLERMO CAVELIER FRANCO, ELENA CAVELIER FRANCO, ALEJANDRO CAVELIER FRANCO, BEATRIZ CAVELIER FRANCO, Y LUCIA CAVELIER FRANCO.

CERTIFICA:

REPRESENTACION LEGAL: EL REPRESENTANTE LEGAL ES EL DIRECTOR. EL SOCIO FUNDADOR GERMAN CAVELIER GAVIRIA TENDRA EL CARACTER DE PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO, PARTICIPARA POR DERECHO PROPIO EN EL CONSEJO SUPERIOR Y EN EL CONSEJO DIRECTIVO Y LLEVARA LA REPRESENTACION LEGAL DE LA SOCIEDAD CUANDO LO ESTIME PERTINENTE SIN LIMITACION ALGUNA. IGUAL PARTICIPACION Y ATRIBUCIONES TENDRA SU SUPLENTE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER CUANDO OCUPE EL CARGO, EN CASO DE FALTA O RENUNCIA DE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER GAVIRIA. LOS SOCIOS COLECTIVOS ESTAN DELEGADOS PARA REPRESENTAR LA REPRESENTACION DE LA SOCIEDAD EN CUALQUIER MOMENTO, SIN PERJUICIO DE LAS DELEGACIONES CONFERIDAS A LOS ORGANOS CREADOS-BOGOTA PRESENTES.

NOTARIO ENCARGADO

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C.



ESTATUTOS

CERTIFICA:

** NOMBRAMIENTOS **

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0004818 DE NOTARIA 6 DE BOGOTA D.C. DEL 22 DE AGOSTO DE 2005, INSCRITA EL 26 DE AGOSTO DE 2005 BAJO EL NUMERO 00010008 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO CAVELIER GAVIRIA GERMAN	C.C. 000000002877924

QUE POR ACTA NO. 26 DE ASAMBLEA GENERAL DEL 13 DE MAYO DE 2010, INSCRITA EL 24 DE MAYO DE 2010 BAJO EL NUMERO 00012618 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
DIRECTORA ZAPATA GIRALDO ADRIANA	C.C. 000000051680061
REPRESENTANTE LEGAL ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568
REPRESENTANTE LEGAL GALLON GIRALDO CARLOS	C.C. 000000019066425
REPRESENTANTE LEGAL GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
SOCIO COLECTIVO GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
SOCIO COLECTIVO ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0004818 DE NOTARIA 6 DE BOGOTA D.C. DEL 22 DE AGOSTO DE 2005, INSCRITA EL 26 DE AGOSTO DE 2005 BAJO EL NUMERO 00010008 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
SUPLENTE DEL PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100

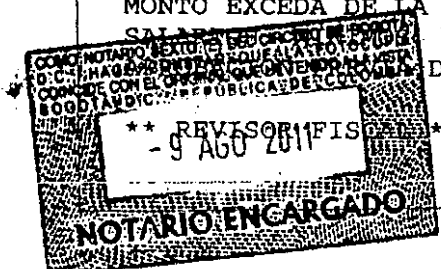
CERTIFICA:

QUE EL NOMBRAMIENTO DE GALLÓN GIRALDO CARLOS INSCRITO BAJO EL REGISTRO 00012618 DEL LIBRO XIII, SE DA EN SU CONDICIÓN DE REPRESENTANTE LEGAL DE LA ASOCIACIÓN CAVELIER DEL DERECHO.

CERTIFICA:

FACULTADES DEL REPRESENTANTE LEGAL: APARTE DE LAS FACULTADES Y DEBERES QUE DE TIEMPO EN TIEMPO SE LE ASIGNEN POR EL CONSEJO SUPERIOR, EL DIRECTOR TENDRA LAS SIGUIENTES FUNCIONES : A) LA DE REPRESENTAR LEGALMENTE A LA SOCIEDAD ANTE LAS AUTORIDADES DE CUALQUIER ORDEN O NATURALEZA Y ANTE OTRAS PERSONAS NATURALES O JURIDICAS, CON FACULTADES PARA NOVAR, TRANSIGIR, COMPROMETER Y DESISTIR Y PARA COMPARECER EN JUICIOS INCLUSIVE EN AQUELLOS EN DONDE SE DISPUTE LA PROPIEDAD DE BIENES INMUEBLES; B) CUMPLIR Y HACER CUMPLIR LOS ESTATUTOS Y REGLAMENTOS DE LA SOCIEDAD; Y C) CREAR O SUPRIMIR TODOS LOS EMPLEOS QUE SEAN NECESARIOS DE ACUERDO CON EL CONSEJO SUPERIOR PARA EL BUEN FUNCIONAMIENTO DE LA SOCIEDAD, ASIGNARLES FUNCIONES, FIJAR SUS SALARIOS Y NOMBRAR LAS PERSONAS QUE DEBAN DESEMPEÑARLOS, ASI COMO RETIRARLOS Y REEMPLAZARLOS CUANDO HAYA LUGAR. CUANDO CUALQUIERA DE LOS ACTOS INDICADOS EN LA CLAUSULA ANTERIOR SE REFIERA A OPERACIONES CUYO MONTO EXCEDA DE LA SUMA EQUIVALENTE A CIENTO OCHENTA (180) SALARIOS MENSUALES, SU CELEBRACION REQUERIRA LA APROBACION DEL CONSEJO SUPERIOR.

CERTIFICA:





01

* 1 0 7 0 0 6 3 9 4 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

15 DE JULIO DE 2011

HORA 09:02:14

R032051265

PAGINA: 3 de 3

* * * * *

QUE POR ACTA NO. 0000071 DEL 2 DE SEPTIEMBRE DE 1993, INSCRITA EL 29 DE SEPTIEMBRE DE 1993 BAJO EL NUMERO 00005175 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

REVISOR NOMBRE
FISCAL

IDENTIFICACION

RINCON FANDIÑO MIGUEL ALFONSO

C.C. 000000002877024

QUE POR ACTA NO. 33 DE CONCEJO DEL 25 DE MARZO DE 2011, INSCRITA EL 10 DE MAYO DE 2011 BAJO EL NUMERO 00013098 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE

IDENTIFICACION

REVISOR FISCAL SUPLENTE
PAEZ SANABRIA ALVARO

C.C. 000000019323543

CERTIFICA:

CERTIFICA:
DE CONFORMIDAD CON LO ESTABLECIDO POR LA LEY 962 DE 2005, LOS ACTOS DE REGISTRO AQUI CERTIFICADOS QUEDAN EN FIRME CINCO (5) DIAS HABILES DESPUES DE LA FECHA DE INSCRIPCION, SIEMPRE QUE NO SEAN OBJETO DE RECURSOS EN LA VIA GUBERNATIVA.

EL PRESENTE CERTIFICADO NO CONSTITUYE PERMISO DE
FUNCIONAMIENTO EN NINGUN CASO

SEÑOR EMPRESARIO, SI SU EMPRESA TIENE ACTIVOS INFERIORES A 30.000 SMLMV Y UNA PLANTA DE PERSONAL DE MENOS DE 200 TRABAJADORES, USTED TIENE DERECHO A RECIBIR UN DESCUENTO EN EL PAGO DE LOS PARAFISCALES DE 75% EN EL PRIMER AÑO DE CONSTITUCION DE SU EMPRESA, DE 50% EN EL SEGUNDO AÑO Y DE 25% EN EL TERCER AÑO. LEY 590 DE 2000 Y DECRETO 525 DE 2009.

RECUERDE INGRESAR A www.supersociedades.gov.co PARA VERIFICAR SI SU EMPRESA ESTA OBLIGADA A REMITIR ESTADOS FINANCIEROS. EVITE SANCIONES.

EL SECRETARIO DE LA CAMARA DE COMERCIO,

[illegible]

COMO NOTARDO CONTO 5 DE CECILIO DE BOGOT
D.C. HAGU CONSTAR QUE LA FOTOCOPI
COMO DE CONE ORDONANCA E TEND ALA V
BOGOTAD C. REPUBLICA DE COLOMBIA

0. 400. 004

NOTARIO ENCARGADO

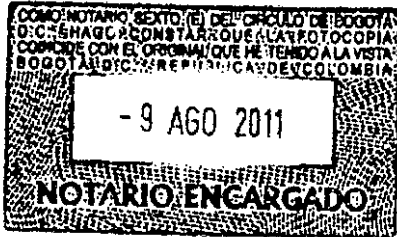
NOTARIA SEXTA
DE BOGOTÁ D.C.



VALOR : \$ 3,700

DE CONFORMIDAD CON EL DECRETO 2150 DE 1995 Y LA AUTORIZACION IMPARTIDA POR LA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO, MEDIANTE EL OFICIO DEL 18 DE NOVIEMBRE DE 1996, LA FIRMA MECANICA QUE APARECE A CONTINUACION TIENE PLENA VALIDEZ PARA TODOS LOS EFECTOS LEGALES

Ignacio Esteban R



CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

REPRESENTACION

REPRESENTATION

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

SUNTORY HOLDINGS LIMITED

domiciliado (s) 1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku,
en/of Osaka-shi, Osaka 530-8203, Japan

Por el presente nombramos a CAVELIER ABOGADOS, sociedad colectiva constituida de conformidad con las leyes de la República de Colombia, mediante Escritura Pública No. 6233 del 10 de septiembre de 1974, otorgada en la Notaría Sexta del Círculo de Bogotá, domiciliada en Bogotá D.C., con matrícula mercantil No. 00820237 y NIT 860041367-3, domiciliada en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, como nuestra representante en todos los asuntos de Propiedad Industrial, con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

CAVELIER ABOGADOS también podrá representarnos, con las mismas facultades arriba indicadas, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, autoridades administrativas o jurisdiccionales, tribunales de arbitramento, en asuntos de naturaleza civil, comercial, penal, constitucional, competencia, competencia desleal, administrativa, contencioso administrativa, protección del consumidor, variedades vegetales, nombres de dominio, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, acciones de tutela, la protección de secretos industriales, derecho regulatorio y en general para que nos represente en cualesquiera acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan.

La representante podrá, en nuestro nombre, designar apoderados para actuar ante autoridades administrativas y judiciales, por vía extrajudicial y también procesalmente en nuestro nombre, como demandantes, como demandados, como litisconsortes, como agentes oficiosos, como terceros, por llamamiento en garantía o como intervinientes ad excludendum. Dentro de esta autorización, la representante podrá facultar a los apoderados que ella designe para transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y sustituir el poder que se le otorgue. Así

Do hereby appoint CAVELIER ABOGADOS, a general partnership organized under the laws of the Republic of Colombia by means of Public Deed No. 6233 of September 10, 1974, granted at Notary Sixth of the Bogota Circuit, domiciled in Bogota D.C., with Mercantile Registration No. 00820237 and Taxpayer Identification Number 860041367-3, domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogota, Colombia, as our representative for all Industrial Property matters with faculty to receive notifications and appoint attorneys in and out of Court.

CAVELIER ABOGADOS may also represent us, with the same faculties stated above, before any entities or persons, with or without jurisdiction, administrative or jurisdictional authorities, courts of arbitration, in civil, commercial, criminal, constitutional, competition, unfair competition, administrative, administrative contentious, consumer protection, plant varieties, domain names, opposition or observation matters, administrative and Court cancellation, nullity, precautionary measures, licensing, action for writ mandamus, protection of trade secrets, regulatory law and in general for that we represent actions and suits instituted against us in Colombia.

- 9 AGO 2011

NOTARIO ENGARGADO

The representative may, in our name, designate attorneys to act before administrative and judicial authorities, through out-of-court channels, and also procedurally in our name as plaintiff, defendant, joint litigant, representative without power of attorney, third party, when summoned to appear, as intervenor ad excludendum. Under this authorization, the representative may empower, appoint and thereby to compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign and substitute the power of attorney granted thereto. Likewise, the

mismo, la representante tendrá la facultad para revocar el poder así otorgado en el momento que considere pertinente. La representante en todo caso podrá ratificar los actos de agentes oficiosos.

representative shall have the faculty of revoking the power of attorney thus granted at any time it may deem convenient. The representative may in any case ratify the acts of representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 3rd day of June, 2011

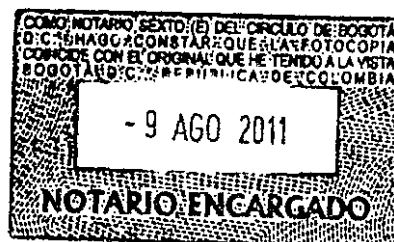
En/in Osaka, Japan.

Por/by Kazushi Takemoto, Executive General Manager

Firma/Signature

K. Takemoto

Kazushi Takemoto, Executive General Manager



Nota:

PARA SOCIEDADES

El documento de Representación deberá ser firmado por el representante legal de la compañía. Deberá ser presentado ante Notario Público para que certifique que la persona que firma es quien dice ser. La firma del señor Notario deberá ser legalizada*.

Adicionalmente deberá anexarse copia legalizada* del documento que pruebe la existencia y representación legal de la sociedad.

*La legalización podrá ser por Apostilla si el país del otorgante hace parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961 o ante el Cónsul de Colombia en caso contrario. Una sola legalización que incluya ambos documentos sería suficiente.

PARA PERSONAS NATURALES

El documento de Representación deberá ser firmado por el otorgante. El Notario Público deberá certificar que la persona que firma es quien dice ser.

Posteriormente el documento de Representación deberá ser legalizado por Apostilla si el país del otorgante hace parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961 o ante el Cónsul de Colombia en caso contrario.

Note:

FOR CORPORATIONS

The Representation document should be signed by the Legal Representative of the company. It should be produced before a Notary Public, who should certify that the person signing the same is in fact who he/she purports to be. The Notary's signature should then be legalized*.

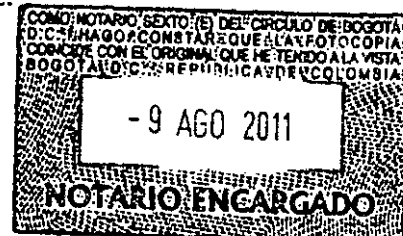
In addition a legalized copy* of the document proving the existence and legal representation of the company should also be attached.

*Legalization may be made by Apostille if the issuing country is a member of the The Hague Convention of October 5, 1961, or before the Colombian Consulate if otherwise. A single legalization that would include both documents would be sufficient.

FOR INDIVIDUALS

The Representation should be signed by the grantor. The Notary Public should certify that the person signing is who he/she purports to be.

Subsequently, the Representation document should be legalized by Apostille if the issuing country is a member of the The Hague Convention of October 5, 1961 or before the Colombian Consulate if otherwise.

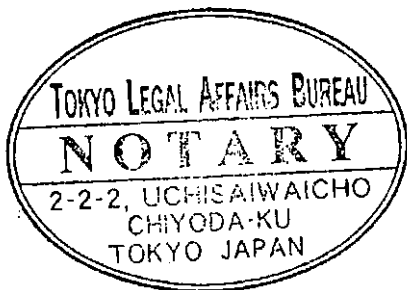


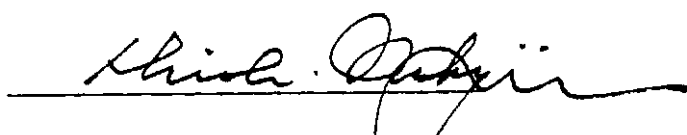
Registration NO. 1294 , 2011.

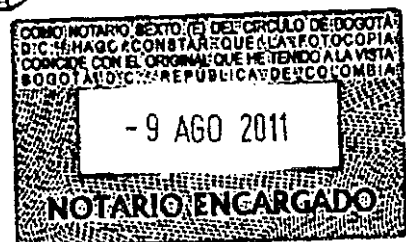
NOTARIAL CERTIFICATE

This is to certify that the signature at the foot of foregoing document is genuine and authentic signature of Mr. Kazushi TAKEMOTO, Executive General Manager of SUNTORY HOLDINGS LIMITED, a corporation existing and organized under the laws of Japan, who has produced sufficient proof of his power to execute the said instrument on behalf of the above-mentioned corporation.

Dated this 6th day of July, 2011,

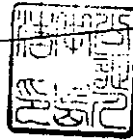



HIROSHI NAKAJIMA
NOTARY



1312

囑託人サントリーホールディングス株式会社知的財産部長竹本一志の代理人
城野喬は、本公証人に対し、囑託人が別添文書に署名したことを自認している旨陳述
した。



よって、これを認証する。

平成 23 年 7 月 6 日、本公証人役場において
東京都千代田区内幸町 2 丁目 2 番 2 号
東京法務局所属

公 証 人
Notary

中 島 浩



HIROSHI NAKAJIMA

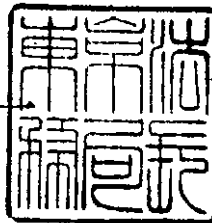
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、
真実のものであることを証明する。

平成 23 年 7 月 6 日

東京法務局長

相澤 恵



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN

This public document

2. has been signed by HIROSHI NAKAJIMA

3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau

4. bears the seal/stamp of HIROSHI NAKAJIMA, NOTARY

Certified

5. at Tokyo

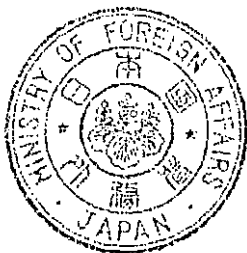
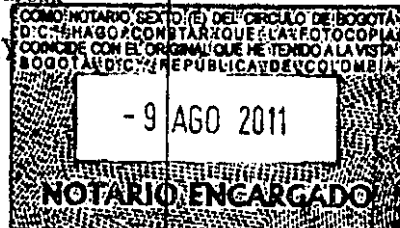
7. by the Ministry of Foreign Affairs

8. 11-Nº 002587

9. Seal/stamp:

10. Signature

JUL - 6 2011



K. Oyabe

Kazutoyo OYABE

For the Minister for Foreign Affairs



Aparece Documento de Representación de SUNTORY HOLDINGS LIMITED, con domicilio en 1-4, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-8203, Japón; dado y firmado el día 3 de junio, 2011 en Osaka Japón, por Kazushi Takemoto, Gerente General (aparece firma).
Aparece documento de nota para Sociedades

Registro No. 1294, 2011.

CERTIFICADO NOTARIAL

La presente es para certificar que la firma al pie en el anterior documento es la firma genuina y autentica del Sr. Kazushi TAKEMOTO, Gerente General de SUNTORY HOLDINGS LIMITED, una sociedad vigente y organizada de conformidad con las leyes de Japón, quien ha producido suficiente prueba de su facultad para legalizar el dicho instrumento en nombre de la sociedad anteriormente mencionada.

Fechado el día 6 de Julio 2011

(Aparece sello:

OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO,
NOTARIO
2-2-2, UCHISAIWAICHO
CHIYODA-KU,
TOKIO, JAPÓN)

(Aparece firma)

HIROSHI NAKAJIMA
NOTARIO

APOSTILLA

(Convención de La Haya de Octubre 5 de 1961)

1. País: JAPÓN

Este documento público

2. ha sido firmado por HIROSHI NAKAJIMA

3. actuando en calidad de Notario de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio

4. Lleva el sello/timbre de HIROSHI NAKAJIMA, NOTARIO
Certifica

5. en Tokio

6. Julio 6, 2011

7. por el Ministro de Relaciones Exteriores

8. 11- No. 002587

9. Sello/timbre:

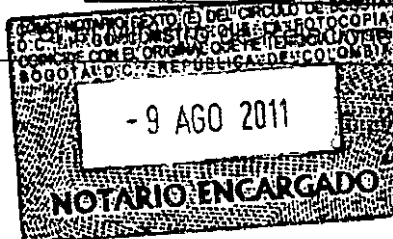
10. Firma

(Aparece sello:

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES,
JAPÓN)

(Aparece firma)

Kazutoyo OYABE



Exteriores

Traductor e Interpretes Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991



2473



documento de representación otorgado el día **03 de Junio de 2011** por **SUNTORY HOLDINGS LIMITED**, documento que está debidamente legalizado por Apostilla -----
 Presente la señora **ADRIANA ZAPATA GIRALDO** domiciliada en Bogotá, identificada como aparece al pie de su firma y manifestó que está conforme con el contenido de esta escritura pública. -----

----- **HASTA AQUI LAS DECLARACIONES DEL INTERESADO** -----

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. Leído, el presente instrumento público por el otorgante, dio su asentimiento y en prueba de ello lo firma junto con la suscrita Notaria quien en esta forma lo autoriza. -----

DERECHOS NOTARIALES: \$ 44,000 - - - -----

IVA: \$ 34,688 - - - -----

RECAUDO SUPERINTENDENCIA: \$3.700.00 -----

RECAUDO FONDO NACIONAL DE NOTARIADO: \$3.700.00 -----

RESOLUCIÓN 11621 DE DICIEMBRE 22 DE 2010 MODIFICADA MEDIANTE

RESOLUCIÓN 11903 DE DICIEMBRE 30 DE 2010 -----

PAPEL NOTARIAL: El presente instrumento público se extendió y firmó en las hojas de papel notarial números: 7-700135-632963, 7-700135-632970- - - - -

EN BLANCO... EN BLANCO

Adriana Zapata Giraldo
ADRIANA ZAPATA GIRALDO



C.C. S/640001

TEL. 3473611

Representante Legal de CAVELIER ABOGADOS





MABEL ANDREA RODRIGUEZ DIAZ
NOTARIA(O) SEXTA(O) (6) (E) DE BOGOTÁ, D.C.

Elaboró:	Angelica.PE.Cavelier
Identificó:	
Revisó:	JE
Cerró:	HE

RIA SEXTA
OGOTA D.C.

ES FIEL Y DECIMA TERCERA COPIA (FOTOCOPIA), TOMADA DE LA ESCRITURA PUBLICA NUMERO 4017 DE FECHA 09 DE AGOSTO DE 2011.

COPIA QUE EXPIDO CON DESTINO AL INTERESADO EN 09 HOJAS RUBRICADAS EN SUS MARGENES, LA CUAL CARECE DE NOTAS DE REVOCATORIA, MODIFICACION O SUSTITUCION, POR TANTO SE PRESUME VIGENTE EL PODER EN ELLA CONTENIDO.

BOGOTA, D.C. 10 DE OCTUBRE DE 2011

RESOLUCION 01 DE 2008

POR LA NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C.



AMPARO QUINTERO ARTURO.
NOTARIA SEXTA (6ta). DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.

17 #6

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010年10月28日(28.10.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/122850 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/29 (2006.01) A01H 5/00 (2006.01)
A01H 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/053909
- (22) 国際出願日: 2010年3月9日(09.03.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2009-107055 2009年4月24日(24.04.2009) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構(National Agriculture and Food Research Organization) [JP/JP]; 〒3058517 茨城県つくば市観音台3-1-1 Ibaraki (JP). サントリーホールディングス株式会社(Suntory Holdings Limited) [JP/JP]; 〒5308203 大阪府大阪市北区堂島浜二丁目1番40号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 野田 尚信(NODA, Naonobu) [JP/JP]; 〒3058519 茨城県つくば市藤本2-1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所内 Ibaraki (JP). 間竜太郎(AIDA, Ryutarō) [JP/JP]; 〒3058519 茨城県つくば市藤本2-1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所内 Ibaraki (JP). 岸本 早苗(KISHIMOTO, Sanae) [JP/JP]; 〒3058519 茨城県つくば市藤本2-1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所内 Ibaraki (JP). 大宮 あけみ(OHMIYA, Ake-mi) [JP/JP]; 〒3058519 茨城県つくば市藤本2-1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所内 Ibaraki (JP). 田中 良和(TANAKA, Yoshikazu) [JP/JP]; 〒6188503 大阪府三島郡島本町若山台1-1-1 サントリー研究センター内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 青木 篤, 外(AOKI, Atsushi et al.); 〒1058423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル青和特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
一 国際調査報告(条約第21条(3))
一 明細書の別個の部分として表した配列リスト(規則5.2(a))

(54) Title: METHOD FOR PRODUCTION OF CHRYSANTHEMUM PLANT HAVING PETALS CONTAINING MODIFIED ANTHOCYANIN

(54) 発明の名称: 修飾されたアントシアニンを花卉に含有するキク植物を生産する方法

(57) Abstract: Disclosed are: a method for controlling a flavonoid synthesis system in a chrysanthemum or non-chrysanthemum plant by means of a genetic engineering technology using a transcription regulation region that is useful for altering the colors of flowers; a method for modifying anthocyanin; a method for producing a chrysanthemum or non-chrysanthemum plant having petals containing a modified anthocyanin; and a chrysanthemum or non-chrysanthemum plant having the regulation region introduced therein, a progeny or a vegetative proliferation product of the plant, or a part or a tissue of the plant, the progeny or the vegetable proliferation product. In the methods, an expression vector or cassette carrying a nucleic acid comprising a transcription regulation region for a perilla anthocyanin 3-acyltransferase gene (e.g., a nucleic acid comprising the nucleotide sequence depicted in SEQ ID NO:1) or a transcription regulation region for a pansy F3'5'H gene (e.g., a nucleic acid comprising the nucleotide sequence depicted in SEQ ID NO:15) is used.

(57) 要約: 本発明により、花の色を変えるために有用な転写調節領域を用いて遺伝子組換え技術によりキク植物又はキク以外の植物においてフラボノイド合成系を制御する方法、アントシアニンを修飾する方法、修飾されたアントシアニンを花卉に含有するキク植物又はキク以外の植物を生産する方法、及び該調節領域が導入されたキク植物又はキク以外の植物、若しくはその子孫若しくはその栄養増殖体又はその部分若しくは組織が提供される。本発に係る方法においては、シソアントシアニン3-アシル基転移酵素遺伝子の転写調節領域、例えば、配列番号1に示す塩基配列を含む核酸、又はパンジー F3'5'H 遺伝子の転写調節領域、例えば、配列番号15に示す塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター又は発現カセットが使用される。

WO 2010/122850 A1

DESCRIPCIÓN

MÉTODO PARA PRODUCIR UNA PLANTA DE CRISANTEMO QUE TIENE
PÉTALOS
QUE CONTIENEN ANTOCIANINA MODIFICADA

CAMPO TÉCNICO

[0001]

La presente invención se refiere a un método para controlar una ruta de biosíntesis de flavonoides en plantas de crisantemo, utilizando el gen de la antocianina 3-aciltransferasa (3AT) derivado de perilla, un método para modificar antocianinas, y una planta de crisantemo transformada con su región reguladora, progenie o producto vegetativamente propagado de la misma, o una parte o tejido de la misma y, particularmente, un pétalo o flor cortada de la misma.

La presente invención se refiere asimismo a una región reguladora de transcripción derivada del gen #40 de la flavonoide 3',5'-hidroxilasa de pensamiento (a designarse también como F3'5'H), y a su uso.

ARTE PREVIO

[0002]

El uso de la tecnología de recombinación genética hace posible impartir nuevos rasgos a las plantas expresando un gen útil en una planta diana. Plantas genéticamente modificadas producidas de esta manera se han cultivado ya de manera generalizada. Puesto que la regulación de la expresión de genes se controla principalmente en el nivel de transcripción, la regulación de la transcripción es la más importante en términos de regular la expresión de genes. En otras palabras, transcribir un gen en un momento apropiado, en un tejido adecuado y con una potencia correspondiente es importante para producir una planta genéticamente modificada, industrialmente útil. En muchos casos, la transcripción se controla por una secuencia de ADN en el extremo 5' de una región traducida. Una región de ADN que determina el sitio de transcripción del gen y regula directamente su frecuencia se denomina un promotor. Un promotor se encuentra localizado varias decenas de pares de bases (bp) desde el extremo 5' de un codón de iniciación, y frecuentemente contiene una caja TATA, y similares.

Un elemento *cis* que une varios factores reguladores de transcripción se encuentra igualmente presente en el extremo 5', y su presencia sirve para controlar el momento oportuno de transcripción, el tejido en el cual tiene lugar la transcripción y la potencia de la transcripción. Los factores reguladores de transcripción se clasifican en muchas familias de acuerdo con su secuencia de aminoácidos. Por ejemplo, ejemplos de familias bien conocidas de factores reguladores de transcripción incluyen los factores reguladores de transcripción Myb y los factores reguladores bHLH (básico hélice-bucle-hélice). En la actualidad, los términos factor regulador de transcripción y promotor se usan frecuentemente con el mismo significado.

[0003]

Las antocianinas, que constituyen los principales componentes del color de una flor, son una clase de metabolitos secundarios, denominados genéricamente flavonoides. El color de las antocianinas depende de su estructura. En otras palabras, el color se vuelve más azul a medida que aumenta el número de grupos hidroxilo del anillo B de las antocianidinas, que es el cromóforo de las antocianinas. Además, se sabe que a medida que aumenta el número de grupos acilo aromáticos (tales como el grupo cumaroilo o el grupo cafeolilo), que modifican la antocianina (es decir, la longitud de onda de absorbencia máxima cambia a una longitud de onda más larga), el color de la antocianina se vuelve más azul, y crece la estabilidad de la antocianina (véase Documento 1 Distinto de Patente).

Considerable investigación se ha conducido acerca de aquellas enzimas y los genes que codifican estas enzimas involucradas en la biosíntesis de antocianinas (véase Documento 1 Distinto de Patente). Por ejemplo, un gen de una enzima que cataliza una reacción, mediante la cual un grupo acilo aromático se transfiere a antocianina, se obtiene de la genciana japonesa, lavanda y petunias (véase Documento de Patente 1 y Documento de Patente 2). Un gen de una enzima involucrada en la síntesis de antocianina que se acumula en las hojas de la perilla (malonilshisonina, 3-O-(6-O-(E)-p-cumaroil-β-D-glucopiranosil)-5-O-(6-O-malonil-β-D-glucopiranosil)-cianidina) (véase Documento 2 Distinto de Patente) se ha referido previamente en hidroxycinnamoil CoA: gen de la antocianina-3-glucósido-aromático acil transferasa (3AT) (o, designado más simplemente como "gen de la antocianina-3-aciltransferasa (3AT) de perilla") (véase Documento de Patente 1). Más aún, se ha obtenido igualmente conocimiento con respecto a la regulación de la transcripción (control) de genes biosintéticos de antocianinas.

Secuencias de elementos *cis* ligados por el factor regulador de transcripción Myb y el factor regulador de transcripción bHLH están presentes en la región reguladora de transcripción localizada en el extremo 5' de los codones de iniciación de estos genes. El factor regulador de transcripción Myb y el factor regulador de transcripción bHLH son conocidos por controlar la síntesis de antocianinas en petunias, maíz y perilla (véase Documento 1 Distinto de Patente).

[0004]

Los promotores (también designados como regiones reguladoras de transcripción) responsables de la transcripción de genes en plantas están conformados por los denominados promotores constitutivos, los cuales funcionan en cualquier tejido y en cualquier momento, tal como en la etapa evolutiva, promotores específicos de órganos/tejidos, los cuales funcionan únicamente en órganos y tejidos específicos, y promotores específicos del momento, los cuales únicamente se expresan en un momento específico de la etapa evolutiva. Los promotores constitutivos se utilizan frecuentemente como promotores para expresar genes útiles en plantas genéticamente modificadas. Ejemplos típicos de promotores constitutivos incluyen el promotor del virus del mosaico del coliflor 35S (abreviado también como promotor CaMV35S) y promotores construidos sobre la base del mismo (véase Documento 3 Distinto de Patente), y promotor Mac1 (véase Documento 4 Distinto de Patente). En plantas, sin embargo, muchos genes se expresan únicamente en tejidos u órganos específicos o se expresan únicamente en momentos específicos. Esto sugiere que la expresión de genes, específica de tejidos/órganos o específica del momento, es necesaria para las plantas. Existen ejemplos de recombinación genética de plantas que utilizan tales regiones reguladoras de transcripción, específicas de tejidos/órganos o específicas del momento. Por ejemplo, existen ejemplos de proteína que se acumula en semillas utilizando la región reguladora de transcripción específica de la semilla.

[0005]

No obstante, aunque las plantas producen flores de varios colores, existen pocas especies capaces de producir flores de todos los colores debido a restricciones genéticas sobre esa especie. Por ejemplo, no existen variedades de rosa o clavel en la naturaleza que sean capaces de producir flores azules o púrpuras. Esto se debe a que las rosas y los claveles carecen del gen F3'5'H, requerido para sintetizar la antocianidina, delfinidina, la cual se sintetiza por

muchas especies que producen flores azules y púrpuras. Mediante transformación con el gen de la flavonoide 3',5'-hidroxilasa de petunia o pensamiento, por ejemplo, que son especies capaces de producir flores azules y púrpuras. En el caso de claveles, la región reguladora de transcripción del gen de la chalcona sintasa, derivado de la cabeza de dragón común o petunia, se utiliza para transcribir el gen F3'5'H, derivado de una especie diferente. Ejemplos de plásmidos que contienen la región reguladora de transcripción del gen de la chalcona sintasa, derivado de la cabeza de dragón común o petunia, incluyen los plásmidos pCGP485 y pCGP653 descritos en el Documento de Patente 3, y ejemplos de plásmidos, que contienen una región reguladora de transcripción constitutiva, incluyen el plásmido PCGP628 (que contiene un promotor Mac1) y el plásmido pSPB130 (que contiene un promotor CaMV35S, al cual se añade el potenciador E12) descrito en el Documento de Patente 4.

[0006]

Sin embargo, es difícil predecir con qué potencia funcionan tales promotores en plantas recombinantes para ser capaces de producir un fenotipo diana. Además, puesto que usar repetidamente el mismo promotor para expresar una pluralidad de genes extraños puede causar silenciamiento de genes, se cree que esto debe evitarse (véase Documento 5 Distinto de Patente).

Por consiguiente, aunque se han utilizado varios promotores para alterar el color de la flor, se necesita todavía un promotor útil correspondiente a la planta hospedera diana y objetivo.

[0007]

En particular, plantas de crisantemo (también designadas simplemente como crisantemos) representan alrededor del 30% de todas las ventas mayoristas de flores en todo el Japón (Resumen de Resultados de la Investigación del Mercado Mayorista de Plantas de Floración 2007, Ministerio de Agricultura, Silvicultura e Industrias Pesqueras), haciendo de estas plantas un producto importante, cuando se comparan con rosas, las cuales representan aproximadamente 9%, y los claves, que representan aproximadamente 7%. Aunque los crisantemos vienen en colores de flores incluyendo blanco, amarillo, anaranjado, rojo, rosado y rojo púrpura, no existen crisantemos que produzcan colores azulados tales como las flores que tienen un color azul o púrpura. Por consiguiente, un objetivo de la propagación de flores azuladas es estimular una nueva demanda. El color de la flor de crisantemo se expresa debido a una

combinación de antocianinas y carotenoides. Las antocianinas son capaces de expresar varios colores debido a diferencias en la estructura de la antocianidina que sirve como la cadena principal básica, y diferencias en la modificación por azúcares y ácidos orgánicos. No obstante, se sabe que existen dos tipos de antocianinas que regulan el color de la flor de crisantemo en las cuales la cianidina en la posición 3 se modifica por glucosa y ácido malónico (cianidina 3-O-(6"-O-monomalonil- β -glucopiranosido y 3-O-(3",6"-O-dimalonil- β -glucopiranosido) (véase Documento 6 Distinto de Patente). Adicionalmente, estas estructuras son comparativamente simples (véase FIG. 1). Esto hace que la gama de colores de flor atribuibles a las antocianinas en crisantemos sea extremadamente estrecha.

[0008]

Como se describió previamente, aunque los crisantemos son la planta de floración más importante en el Japón, puesto que son hexaploides, lo cual resulta en una ploidía elevada y tienen un tamaño de genoma grande, además de tener una baja eficiencia de transformación, puesto que están sujetos a la ocurrencia de silenciamiento (desactivación) de transgenes, no es fácil obtener crisantemos genéticamente modificados capaces de expresión de transgenes estables. En crisantemos transfectados con el gen de la β -glucuronidasa (GUS), acoplado al promotor CaMV35S, la actividad del gen GUS es aproximadamente un décimo el del tabaco transformado con el mismo gen, y se ha informado que esa actividad disminuye en casi todos los individuos después de pasados 12 meses luego de la transformación (véase Documento 7 Distinto de Patente). Aunque se ha referido que se ha obtenido un promotor de un gen que codifica una proteína de unión a clorofila a/b, que funciona favorablemente en crisantemos, con el fin de expresar establemente un gen exógeno en crisantemos, este promotor no es apropiado para expresar genes en pétalos de flor, en los cuales hay presente poca clorofila (véase Documento 8 Distinto de Patente). Adicionalmente, cuando el gen GUS acoplado al promotor del factor 1 de alargamiento del tabaco (EF1 α) se introduce en crisantemos, se ha informado que el gen GUS se expresa en hojas y pétalos incluso después de transcurridos 20 meses o más (véase Documento 9 Distinto de Patente). Más aún, existen también ejemplos de una vida de flor prolongada expresando un gen de receptor de etileno mutante en crisantemos (véase Documento 10 Distinto de Patente), cambiándose la forma de una flor suprimiendo la expresión del gen AGAMOUS del crisantemo (véase Documento 11 Distinto de Patente), e incrementándose la expresión de genes exógenos en crisantemos utilizando una región 5' no traducida de la alcohol deshidrogenasa del tabaco

(también referida como ADH-5'UTR del tabaco) (véase Documento 12 Distinto de Patente).

[0009]

Por otro lado, aunque ha habido ejemplos de alteración exitosa del color de la flor del crisantemo por recombinación genética, incluyendo un informe de haber cambiado flores rosadas en flores blancas suprimiendo el gen de la chalcona sintasa (CHS) mediante co-supresión (véase Documento 13 Distinto de Patente), y un informe de haber cambiado flores blancas en flores amarillas suprimiendo la dioxigenasa de escisión de carotenoide (CCD4a) por ARNi (véase Documento 14 Distinto de Patente), todos estos métodos involucran la alteración del color de la flor suprimiendo la expresión de genes endógenos, y no ha habido ejemplos exitosos de alterar el color de la flor mediante sobre-expresión de genes exógenos, así como tampoco ejemplos de haber realizado un cambio en la estructura de la antocianina o un cambio concomitante en el color de la flor.

[0010]

Aunque se han referido intentos de alterar el color de la flor mediante sobre-expresión de un gen exógeno, que involucran introducir un gen que codifica F3'5'H, la cual es una enzima requerida para la síntesis de delfinidina (véase Documento de Patente 5 y Documento 15 Distinto de Patente 15), la delfinidina producida debido a la acción del gen F3'5'H introducido se acumula en pétalos en rayos, y no hay informes de la producción de crisantemos azulados. En crisantemos, incluso si F3'5'H se expresa con el promotor CaMV35S, no se observa la producción de delfinidina (véase Documento 15 Distinto de Patente). Adicionalmente, la expresión de un gen expresado con el promotor CaMV35S es inapropiado para expresión estable y, por ejemplo, termina disipando el crecimiento concomitante del transformante de crisantemo (véase Documento 7 Distinto de Patente). El promotor Lhca3.St.1 de papa (véase Documento 16 Distinto de Patente), el promotor UEP1 de crisantemo (véase Documento 17 Distinto de Patente) y el promotor EF1 α del tabaco (véase Documento de Patente 6 y Documento 9 Distinto de Patente), por ejemplo, han sido desarrollados para uso como promotores que permiten la expresión eficiente y estable de genes exógenos en los pétalos en rayos de los crisantemos. Sin embargo, no ha habido informes describiendo la alteración del color de la flor de crisantemo mediante sobre-expresión de un gen exógeno utilizando estos promotores. Sobre la base de lo anterior, con el fin de producir crisantemos en los cuales se ha alterado el color de

la flor por recombinación genética, es necesario establecer una tecnología para controlar la expresión de genes de biosíntesis de flavonoides, incluyendo el desarrollo de un promotor apropiado para crisantemos.

Documentos del Arte Previo

Documentos de Patente

[0011]

Documento de Patente 1: WO 96/25500

Documento de Patente 2: WO 01/72984

Documento de Patente 3: WO 94/28140

Documento de Patente 4: WO 05/17147

Documento de Patente 5: Patente de los Estados Unidos No. 5948955

Documento de Patente 6: Publicación de Patente Japonesa Sin Examinar (Kokai) No. 2004-65096

Documentos Distintos de Patente

[0012]

Documento 1 Distinto de Patente: Plant J., 54, 737-749, 2008

Documento 2 Distinto de Patente: Agricultural and Biological Chemistry, 53, 797-800, 1989

Documento 3 Distinto de Patente: Plant Cell Physiology, 37, 49-59, 1996

Documento 4 Distinto de Patente: Plant Molecular Biology, 15, 373-381, 1990

Documento 5 Distinto de Patente: Annals of Botany, 79, 3-12, 1997

Documento 6 Distinto de Patente: Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 81, 728-734, 2006

Documento 7 Distinto de Patente: Plant Biotechnology, 17, 241-245, 2000

Documento 8 Distinto de Patente: Breeding Science, 54, 51-58, 2004

Documento 9 Distinto de Patente: Japan Agricultural Research Quarterly, 39, 269-274, 2005

Documento 10 Distinto de Patente: Postharvest Biology and Technology, 37, 101-110, 2005

Documento 11 Distinto de Patente: Plant Biotechnology, 25, 55-59, 2008

Documento 12 Distinto de Patente: Plant Biotechnology, 25, 69-75, 2008

Documento 13 Distinto de Patente: Bio/Technology, 12, 268, 1994

Documento 14 Distinto de Patente: Plant Physiology, 142, 1193, 2006

Documento 15 Distinto de Patente: J. Plant Biol., 50, 626, 2007

Documento 16 Distinto de Patente: Mol. Breed., 8, 335, 2001

Documento 17 Distinto de Patente: Transgenic Res., 11, 437, 2002

SUMARIO DE LA INVENCION

Problemas a Solucionarse por la Invención

[0013]

Un objeto a solucionar por la presente invención es proveer un método para controlar la biosíntesis de flavonoides en plantas de crisantemo utilizando una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa (3AT) derivado de perilla, el cual es un promotor útil para alterar el color de las flores de plantas de crisantemo, un método para modificar antocianinas, un método para producir una planta de crisantemo que contiene antocianinas modificadas en los pétalos de la misma, y un planta de crisantemo transformada con la región reguladora de transcripción, progenie o producto de proliferación vegetativa de la misma, o una parte o tejido de la misma y, particularmente, un pétalo o flor cortada de la misma.

La presente invención se refiere asimismo a un producto procesado que utiliza la flor cortada ya mencionada (producto procesado de flor cortada). En este caso, un producto procesado de flor cortada incluye, pero no se limita a, una flor prensada, una flor preservada, una flor seca o producto incrustado en resina, obtenido usando la flor cortada.

Un objeto de la presente invención es proveer un promotor útil para alterar el color de las flores de plantas de crisantemo y plantas distintas de crisantemo.

Medios de Solucionar los Problemas

[0014]

Como resultado de conducir estudios y experimentos extensivos para solucionar los problemas ya mencionados, los inventores de la presente invención descubrieron que una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa (3AT), derivado de perilla, cambia la estructura de antocianina en pétalos de flores de crisantemo y, como resultado de ello, es un promotor útil para

alterar el color de las flores de plantas de crisantemo, y confirmaron su utilidad mediante experimentación, llevando así al perfeccionamiento de la presente invención.

Los inventores de la presente invención descubrieron asimismo que una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H, derivado de pensamiento, es útil para alterar el color de las flores de plantas de crisantemo o plantas distintas de crisantemo, llevando así al perfeccionamiento de la presente invención.

En otras palabras, la presente invención es como se describe a continuación.

[0015]

[1] Un método para transcribir un ácido nucleico en una planta de crisantemo mediante tecnología de recombinación genética, utilizando un vector de expresión o casete de expresión que contiene un ácido nucleico seleccionado del grupo conformado por:

(1) un ácido nucleico que incluye la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1;

(2) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, y que contiene una secuencia nucleotídica en la cual la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 se ha modificado por adición, delección y/o sustitución de uno o varios nucleótidos;

(3) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, y capaz de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con un ácido nucleico que consta de una secuencia nucleotídica complementaria a la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1; y,

(4) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, y que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90% con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1.

[0016]

[2] El método descrito en el numeral anterior [1], en donde el método para transcribir el ácido nucleico es un método para controlar la biosíntesis de flavonoides transcribiendo un ácido nucleico involucrado en la biosíntesis de flavonoides.

[3] El método descrito en el numeral anterior [1], en donde el método para transcribir el ácido nucleico es un método para modificar antocianinas transcribiendo un ácido nucleico involucrado en la modificación de antocianinas.

[4] Un método para producir una planta de crisantemo que contiene una antocianina acilada aromática en sus pétalos, expresando la antocianina 3-aciltransferasa de perilla en una planta de crisantemo utilizando un vector de expresión o casete de expresión que contiene un ácido nucleico definido en el numeral anterior [1].

[5] El método descrito en cualquiera de los numerales anteriores [1] a [4], en donde el vector de expresión o casete de expresión contiene la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 2.

[6] Una planta de crisantemo, su progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma, transformada con el ácido nucleico definido en el numeral anterior [1] o producida de acuerdo con el método descrito en cualquiera de los numerales anteriores [1] a [5].

[0017]

[7] La planta de crisantemo, su progenie, o producto propagado vegetativamente, parte o tejido de la misma, descrita en el numeral anterior [6], que contiene una antocianina acilada aromática.

[0018]

[8] La planta de crisantemo, su progenie, o producto propagado vegetativamente, parte o tejido de la misma, descrita en los anteriores numerales [6] o [7], que contiene delfinidina.

[0019]

[9] La planta de crisantemo, su progenie, o producto propagado vegetativamente, parte o tejido de la misma, descrita en cualquiera de los numerales anteriores [6] a [8], la cual es una flor cortada.

[0020]

[10] Un producto procesado de una flor cortada, utilizando la flor cortada descrita en el numeral anterior [9].

[11] Un ácido nucleico seleccionado del grupo conformado por:

(1) un ácido nucleico que incluye la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15;

(2) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, y que contiene una secuencia nucleotídica, en la cual la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15 se ha modificado por adición, deleción y/o sustitución de uno o varios nucleótidos;

(3) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, y capaz de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con un ácido nucleico conformado por una secuencia nucleotídica complementaria a la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15; y,

(4) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, y que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90% con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15.

[0021]

[12] Un método para expresar un ácido nucleico en una planta de crisantemo o una planta distinta de una planta de crisantemo utilizando un vector de expresión o casete de expresión que contiene el ácido nucleico descrito en el numeral anterior [11].

[13] El método descrito en el numeral anterior [12], en donde el método para expresar el ácido nucleico es un método para controlar la biosíntesis de flavonoides expresando un ácido nucleico involucrado en la biosíntesis de flavonoides.

[14] El método descrito en el numeral anterior [12], en donde el método para expresar el ácido nucleico es un método para modificar antocianinas expresando un ácido nucleico involucrado en la modificación de antocianinas.

[15] Una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma, transformada con el ácido nucleico definido en el numeral anterior [11] o producida de acuerdo con el método descrito en cualquiera de los numerales anteriores [12] a [14].

[16] La planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma descrita en el numeral anterior [15], que contiene una antocianina acilada aromática.

[17] La planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma

descrita en los numerales anteriores [15] o [16], que contiene delfinidina.

[18] La planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma descrita en cualquiera de los numerales anteriores [15] a [17], la cual es una flor cortada.

[19] Un producto procesado de una flor cortada, utilizando la flor cortada descrita en el numeral anterior [18].

Efectos de la Invención

[0022]

Se determinó que una región reguladora de transcripción, que se considera que controla la transcripción del gen de una enzima en hojas de perilla, a saber, una región reguladora de transcripción de antocianina 3-aciltransferasa de perilla, era capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción en los pétalos de diferentes especies, crisantemo. Por consiguiente, puede hacerse que la transcripción de un gen exógeno ocurra específicamente en tejidos tales como flores en las cuales se acumulan antocianinas, utilizando la región reguladora de transcripción de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla. Ejemplos de los genes exógenos transcritos incluyen, pero no se limitan a, genes relacionados con el color y la fragancia de la flor.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0023]

[FIG. 1] FIG. 1 es un diagrama esquemático de la ruta de la biosíntesis de flavonoides en crisantemos y la estructura de la cianidina 3-O-(6"-O-monomalonil- β -glucopiranosido y de la cianidina 3-O-(3",6"-O-dimalonil- β -glucopiranosido.

[FIG. 2] FIG. 2 indica ejemplos de la biosíntesis de productos flavonoides de un crisantemo transformado.

[FIG. 3] FIG. 3 es un diagrama esquemático de los vectores binarios pSPB3311 y pSPB3323 utilizados para transfectar el gen 3AT de perilla.

[FIG. 4] FIG. 4 indica un cromatograma HPLC de un crisantemo transformado, en el cual se había alterado la composición de antocianina. El crisantemo transformado es un transformante 1275-17 que contiene 34% de antocianina acilada aromática, y el plásmido utilizado es el plásmido pSPB3311 (véase FIG. 3). 1: Cianidina 3-malonil glucósido, 2: Cianidina 3-dimalonil glucósido,

3: cianidina 3-acil glucósido aromático.

[FIG. 5] FIG. 5 indica un espectro de absorción detectado de los pétalos de la flor de un transformante de crisantemo. Entre los tres espectros de absorción, se observó un máximo de absorción en la proximidad de 326 nm en antocianina modificada con un ácido orgánico, mientras que el máximo de absorción de antocianina (aproximadamente 5 nm desde 518 nm a 522 nm) cambió hacia una longitud de onda más larga con respecto a los espectros de absorción de las formas maloniladas (1,2).

[FIG. 6] FIG. 6 indica un cromatograma HPLC de un crisantemo transformado, en el cual se había alterado la composición de antocianina. El crisantemo transformado es un transformante 1300-4 que contiene 50% de antocianina acilada aromática y 0.8% de delphinidina glucósido, y el plásmido utilizado es el plásmido pSPB3323 (véase FIG. 3). 1: Cianidina 3-malonil glucósido, 2: Cianidina 3-dimalonil glucósido, 3: Cianidina 3 acil glucósido aromático, 4: Delphinidina 3-malonil glucósido.

[FIG. 7] FIG. 7 es un diagrama esquemático del plásmido pSLF635.

INCORPORACIONES DE LA INVENCION

[0024]

La presente invención se refiere a un método para transcribir ácido nucleico en una planta de crisantemo, que incluye transformar una planta de crisantemo con un vector (véase FIG. 3), que contiene un casete de expresión que produce la expresión de un gen de la enzima de la biosíntesis de flavonoides tal como 3AT o F3'5'H, utilizando la región 5' de un gen (Pf3ATpro), que codifica la hidroxycinnamoil CoA de perilla: antocianina 3-glucósido aciltransferasa (Pf3AT) (también designada en la presente descripción como "región reguladora de la transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla"), un método para controlar la biosíntesis de flavonoides transcribiendo un ácido nucleico involucrado en la biosíntesis de flavonoides, un método para modificar antocianinas transcribiendo un gene involucrado en la modificación de antocianinas, y una planta de crisantemo producida de acuerdo con el método anterior, en la cual se ha alterado la composición de antocianina de los pétalos de las flores de la misma, y/o una planta de crisantemo en la cual se ha alterado el color de las flores, progenie o productos propagados vegetativamente de la misma, o una parte o tejido de la misma y, particularmente, un pétalo o flor cortada de la misma.

La presente invención se refiere a un método para transcribir un ácido nucleico en una planta de crisantemo y una planta distinta de un crisantemo, incluyendo transformar una planta de crisantemo y una planta distinta de crisantemo con un vector (véase FIGS. 3 and 7), que contiene un casete de expresión que produce la expresión de un gen de la enzima de la biosíntesis de flavonoides, tal como F3'5'H, utilizando la región 5' del gen F3'5'H de pensamiento (también designada en la presente descripción como "región reguladora de la transcripción del gen F3'5'H de pensamiento"), un método para controlar la biosíntesis de flavonoides transcribiendo un ácido nucleico involucrado en la biosíntesis de flavonoides, un método para modificar antocianinas transcribiendo un gen involucrado en la modificación de antocianinas, y una planta producida de acuerdo con el método anterior, en la cual se ha alterado la composición de antocianina de los pétalos de las flores de la misma, y/o una planta de crisantemo o planta distinta de crisantemo, en la cual se ha alterado el color de las flores, progenie o producto de proliferación vegetativa de la misma, o una parte o tejido de la misma y, particularmente, un pétalo o flor cortada de la misma.

La presente invención se refiere asimismo a un producto procesado, que utiliza la flor cortada ya mencionada (producto procesado de una flor cortada). En este caso, un producto procesado de una flor cortada incluye, pero no se limita a, una flor prensada, una flor preservada, una flor seca o un producto incrustado en resina, utilizando la flor cortada.

En la presente descripción, el "método para controlar la biosíntesis de flavonoides" se refiere a un método para controlar la biosíntesis de flavonoides controlando la expresión de un gen que codifica una proteína involucrada en la biosíntesis de flavonoides, tal como el gen 3AT o el gen F3'5'H. Un ejemplo del gen ya mencionado de la antocianina 3-aciltransferasa es el gen de la antocianina 3-aciltransferasa derivado de perilla. Adicionalmente, un ejemplo del gen F3'5'H es el gen F3'5'H derivado de pensamiento.

[0025]

De acuerdo con la presente invención, los máximos de absorción de antocianinas pueden cambiarse a una longitud de onda más larga haciendo posible impartir un color azulado a una flor existente, permitiendo que una aciltransferasa tal como 3AT funcione y transfiera un grupo acilo aromático a antocianinas (véase FIGS. 4, 5 and 6).

Asimismo, 34% a 50% de las antocianinas de crisantemo pueden acilarse aromáticamente expresando el gen 3AT de perilla con un promotor Pf3AT y un

terminador Pf3AT (véase FIGS. 4 y 6), y utilizando este promotor para expresar varios genes, puede permitirse que un gen exógeno funcione eficiente y establemente en pétalos en rayos de crisantemo. Además, un glucósido de delphinidina, que sirve como la cadena principal básica de la antocianina azul, puede modificarse por un grupo acilo aromático (véase FIG. 6), posibilitando producir un crisantemo azul expresando simultáneamente el gen F3'5'H y el gen 3AT.

Un ejemplo de una región reguladora de transcripción, de acuerdo con la presente invención, es un ácido nucleico que consta de la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 15. No obstante, se cree además que un promotor que consta de una secuencia nucleotídica en la cual uno o varios nucleótidos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10) se han agregado, eliminado y/o sustituido en un ácido nucleico que consta de la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 15 mantiene una actividad similar a la del promotor original. En consecuencia, la región reguladora de transcripción de acuerdo con la presente invención puede ser igualmente un ácido nucleico que consta de una secuencia nucleotídica en la cual uno o varios nucleótidos se han agregado, eliminado y/o sustituido en la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 15, siempre y cuando el ácido nucleico sea capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción en pétalos de flores de crisantemo u otras plantas.

La región reguladora de transcripción de acuerdo con la presente invención puede ser igualmente un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla y capaz de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1, o un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla y tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90% con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1.

La región reguladora de transcripción, de acuerdo con la presente invención, puede ser también un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento y capaz de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15, o un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento y tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90% con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15.

Ejemplos de estos ácidos nucleicos incluyen ácidos nucleicos capaces de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 15, y constan de secuencias nucleotídicas que tienen una identidad de secuencia con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 15 de preferiblemente alrededor de 70% o más, más preferiblemente alrededor de 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% o 98% y, muy preferiblemente, alrededor de 99%.

[0027]

En esta especificación, condiciones de restricción se refieren a condiciones de hibridación fácilmente determinadas empíricamente por una persona de habilidad ordinaria en el arte, dependientes por lo general de la longitud de la sonda, la temperatura de lavado y la concentración salina. En general, la temperatura para una hibridación apropiada se hace más alta en la medida en que la sonda sea más larga, y la temperatura se hace más baja entre más corta sea la sonda. Por lo general la hibridación depende de la capacidad del ADN desnaturalizado de re-hibridar en el caso de que un esté presente una hebra complementaria en un ambiente a una temperatura cerca de su temperatura de fusión, o por debajo de ella. Más específicamente, un ejemplo de condiciones de baja restricción consiste de un lavado, etc., en solución 0.1% SDS a $5 \times \text{SSC}$ bajo condiciones de temperatura de 37°C a 42°C en la fase de lavado del filtro luego de la hibridación. Adicionalmente, un ejemplo de condiciones de alta restricción consta de lavado, etc., en 0.1% SDS a $0.1 \times \text{SSC}$ y 65°C en la fase de lavado. El uso de condiciones de restricción más alta hace posible obtener polinucleótidos que tienen una mayor homología o identidad.

[0028]

La región reguladora de transcripción, de acuerdo con la presente invención, está contenida en un vector de expresión o casete de expresión, y el vector de expresión o casete de expresión contiene una secuencia nucleotídica indicada para el gen F3'5'H de pensamiento descrito, por ejemplo, en SEQ ID NO. 2 o WO 04/020637.

La presente invención se refiere asimismo a un planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o parte o tejido de la misma, que se ha transformado con la región reguladora de la transcripción (ácido nucleico) ya mencionada, y a una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su

progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma y, particularmente, un pétalo de una flor o flor cortada, que contiene antocianinas aciladas aromáticas y/o delphinidina, que se produce utilizando el método de acuerdo con la presente invención.

[0029]

En la presente descripción, el término "planta de crisantemo" (o simplemente "crisantemo") se refiere a una planta de la familia de las Asteráceas y género Crisantemo. Ejemplos de éstas incluyen *Dendranthema grandiflorum* Kitam, *Dendranthema x grandiflorum* cv.[standard], *Dendranthema x grandiflorum* cv.[large], *Dendranthema x grandiflorum* cv.[medium] y *Dendranthema x grandiflorum* cv.[floret], y un ejemplo de una especie típica es *Chrysanthemum morifolium*. Aunque no hay limitaciones particulares sobre la planta distinta de crisantemo, preferiblemente ésta puede ser una rosa.

Ejemplos

[0030]

La siguiente sección proporciona una explicación detallada de la presente invención mediante ejemplos de la misma.

Se llevaron a cabo técnicas biológicas moleculares de acuerdo con Molecular Cloning (Sambrook and Russell, 2001), a menos que se indique específicamente lo contrario.

Ejemplo 1: Clonación del Gen Cromosómico de la Antocianina 3-Acil Transferasa de Perilla

Se sabe que existen variedades rojas de perilla, en las cuales las antocianinas se acumulan en las hojas, y variedades verdes en las cuales no lo hacen. Se preparó ADN cromosómico de las hojas de las primeras, empleando un método divulgado (véase Plant Mol. Biol., December 1997, 35(6), 915-927). Este ADN cromosómico se descompuso parcialmente con *Sau3AI* (Toyobo), y se recuperó una fracción que contenía un fragmento de ADN de 10 kb a 15 kb utilizando un método de gradiente de densidad de sacarosa. Este fragmento se insertó entonces en el sitio *BamHI* de EMBL3 (Promega), un tipo de vector de bacteriófago lambda, usando un método conocido para preparar un biblioteca de ADN cromosómico. La biblioteca resultante se cribó utilizando pSAT208 (véase Plant Cell Physiol., April

2000, 41(4), 495-502), que es ADNc de antocianina 3-acil transferasa derivada de perilla, como sonda. El cribado de la biblioteca se hizo de acuerdo con un método divulgado previamente (véase Plant Cell Physiol., July 1996, 37(5), 711-716). Las placas que hibridaron con la sonda se cortaron dejando extremos romos (*were blunted*), y se preparó ADN del bacteriófago resultante.

[0031]

Ejemplo 2: Determinación de la Secuencia Nucleotídica del Gen Cromosómico de la Antocianina 3-Aciltransferasa de Perilla

10 µg del ADN obtenido anteriormente se digirieron con XbaI y se aislaron con gel de agarosa al 0.7% seguido por transferencia a Hybond-N (Amersham). Cuando esta película se hibridó en la misma manera a como se describió previamente, se encontró que un fragmento de ADN de aproximadamente 6.8 kb se hibridó con la sonda. Luego de digerir 20 µg del mismo ADN con XbaI y aislar con 0.7% gel de agarosa, se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 6.8 kb usando GeneClean (Funakoshi) y se acopló con pBluescript SKII- digerido con XbaI. El plásmido resultante se designó pSPB513. La secuencia de ADN derivado de perilla contenida en este plásmido se determinó por desplazamiento con cebadores. Su secuencia nucleotídica se muestra en SEQ ID NO. 4. Esta secuencia es una región que muestra una alta homología con ADNc de la antocianina 3-acil transferasa en la forma de pSAT208, se observó que la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO. 6) de la proteína codificada por esta región muestra la sustitución de 19 residuos de aminoácido y la delección de 2 residuos de aminoácido, en comparación con la secuencia de aminoácidos codificada por pSAT208, y no se observaron intrones. Adicionalmente, la secuencia de la región, que muestra alta homología con pSAT208, contenía una secuencia de 3438 bp corriente arriba de ATG que se pensó era el codón de iniciación, y una secuencia de 2052 bp corriente abajo de TAA que se pensó era su codón de terminación. Un marco abierto de lectura diferente (ORF, SEQ ID NO. 5), que no era antocianina 3-acil transferasa, estaba presente en la secuencia 3438 bp ya mencionada. El siguiente experimento se condujo para amplificar la región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-acil transferasa de perilla, excluyendo esta porción.

[0032]

Ejemplo 3: Amplificación de la Región Reguladora de la Transcripción del Gen de

la Antocianina 3-Acil Transferasa de Perilla

PCR (manteniendo durante 1 minuto a 95°C, seguido por 25 ciclos de una reacción conformada por 1 minuto a 95°C, 1 minuto a 52°C, 2 minutos a 72°C y 1 minuto a 95°C) se llevó a cabo utilizando 1 ng de pSPB513 como molde y dos tipos de cebadores (5'-AAGCTTAACTATTATGATCCCACAGAG-3' (SEQ ID NO. 7, la subraya indica la secuencia de reconocimiento HindIII) y 5'-GGATCCGGCGGTGTTGAACGTAGC-3' (SEQ ID NO. 8, la subraya indica la secuencia de reconocimiento BamHI)). El fragmento de ADN de aproximadamente 1.1 kb, amplificado, se digirió con HindIII y BamHI.

[0033]

El plásmido pSPB567 descrito en el Documento de Patente 4 (en el cual el gen de la flavonoide 3',5'-hidroxilasa, derivada de pensamiento, se acopla al extremo 3' del promotor del mosaico del coliflor al que se ha agregado el potenciador EI2, y en el cual un terminador nopalina sintasa se acopla además a su extremo 3') se digirió con PaeI, y un fragmento de ADN que contenía el gen F3'5'H, derivado de pensamiento, se clonó en el sitio PaeI de pBin+ (véase Transgenic Research, 4, 288-290, 1995). Un plásmido, en el cual el promotor del mosaico del coliflor 35S, al que se agregó el potenciador EI2, está presente cerca del sitio Ascl de pBin+ en el plásmido resultante se designó pSPB575. Este plásmido se digirió entonces con HindIII y BamHI, y un fragmento de ADN, obtenido digiriendo un fragmento de ADN de aproximadamente 1.1 kb, que contenía la región reguladora de transcripción de antocianina 3-acil transferasa de perilla ya mencionada, con HindIII y BamHI se insertó en él. El plásmido resultante se designó pSFL205.

[0034]

El plásmido pSFL205 se digirió con HindIII y SacI, y se recuperó un fragmento de ADN de aproximadamente 100 bp. Este fragmento de ADN, un fragmento de ADN de aproximadamente 4 kb, obtenido digiriendo pSPB513 con SacI y XbaI, y un plásmido pBin+, digerido con HindIII y XbaI, se acoplaron para obtener el plásmido pSPB3311. Este plásmido pSPB3311 es un vector binario que contiene la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 2, y contiene la región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-acil transferasa de perilla y una región no traducida de su extremo 3'.

[0035]

Ejemplo 4: Construcción de pSPB3323

La región reguladora de transcripción del gen F3',5'H BP#40 (véase WO 04/020637) se amplificó como se describe más adelante utilizando el Takara LA PCR™ In Vitro Cloning Kit.

Se preparó ADN cromosómico de una hoja de pensamiento empleando el DNA Easy Plant Kit (Qiagen). 3 µg del ADN cromosómico se digirieron con la enzima de restricción HindIII. El ADN digerido se acopló con el ADN terminal HindIII (incluido en el Takara LA PCR™ In Vitro Cloning Kit) haciendo reaccionar durante 40 minutos a 16°C empleando Ligation High (Toyobo). Luego de diluir 4 µl de la mezcla de reacción con 10 µl de agua y desnaturalizar el ADN acoplado tratando durante 10 minutos a 94°C, la mezcla de reacción se enfrió en hielo. 5 pmol del cebador C1 (5'-GTACATATTGTCGTTAGAACGCGTAATACGACTCA-3', SEQ ID NO. 9, incluido en el kit como una secuencia parcial de la secuencia casete HindIII) y 5 pmol del cebador BP40-i5 (5'-AGGTGCATGATCGGACCATACTTC-3', SEQ ID NO. 10, equivalente a la hebra complementaria de la región traducida de BP#40) se agregaron entonces, seguidos por la repetición de 30 ciclos de una reacción en 25 µl de la mezcla de reacción conformados por 20 segundos a 98°C y 15 minutos a 68°C, de acuerdo con el protocolo del kit. La mezcla de reacción se diluyó entonces 10 veces con agua. Luego de hacer reaccionar durante 5 minutos a 98°C en 25 µl de una mezcla de reacción que contenía 5 pmol del cebador C2 (5'-CGTTAGAACGCGTAATACGACTCACTATAGGGAGA-3', SEQ ID NO. 11, incluido en el kit como secuencia parcial de la secuencia casete HindIII) y 5 pmol del cebador BP40-i7 (5'-GACCATACTTCTTAGCGAGTTTGGC-3', SEQ ID NO. 12) usando 0.5 µl de esta dilución como molde, se repitieron 30 ciclos de una reacción conformados por hacer reaccionar durante 20 segundos a 98°C y 15 minutos a 68°C.

[0036]

El fragmento de ADN resultante se insertó en el plásmido pCR2.1 (Invitrogen). Cuando se determinó la secuencia nucleotídica del ADN insertado, se observó que la secuencia tenía sitios que no coincidían con la secuencia nucleotídica ADNc de BP#40. Se cree que esto se debió a la ocurrencia de un error durante la PCR. Se llevó a cabo el siguiente procedimiento con el propósito

de amplificar una secuencia libre de error.

Con el fin de amplificar una región 5' no traducida de aproximadamente 2 kb y una región traducida de 200 bp de BP#40, se llevó a cabo PCR en 25 µl de una mezcla de reacción usando 200 ng de ADN cromosómico de pensamiento como molde y empleando 50 pmol del cebador BP40-i7 (SEQ ID NO. 12) y 50 pmol del cebador BP40 pro-F (5'-ACTCAAACAAGCATCTCGCCATAGG-3', SEQ ID NO. 13, secuencia en la región 5' no traducida del gen BP#40). Luego de tratar durante 5 minutos a 98°C, se repitió durante 30 ciclos una reacción conformada por 20 segundos a 98°C y 15 minutos a 68°C. El fragmento de ADN amplificado se insertó en pCR2.1. Este fragmento de ADN contenía una región 5' no traducida de aproximadamente 2.1 kb y una región traducida de 200 bp. Este plásmido se designó pSFL614. La secuencia nucleotídica del plásmido pSFL614 se muestra en SEQ ID NO. 14.

[0037]

La región no traducida 5' de aproximadamente 2.1 kb (BP40pro, SEQ ID NO. 15) contenida en pSFL614 se utilizó para transcribir el gen BP#40. En este momento, el sitio BamHI se cambió a NheI. Luego de usar 1 ng de pSFL614 como molde, agregar 50 pmol del cebador BP40pro-HindIII-F (5'-AAG CTT GTG ATC GAC ATC TCT CTC C-3', SEQ ID NO. 16), 50 pmol del cebador BP40pro-NheI-R (5'-CGA GGC TAG CTA AAC ACT TAT-3', SEQ ID NO. 17), ADN polimerasa Ex-Taq y mantener durante 5 minutos a 98°C en 25 µl de la mezcla de reacción, se repitió durante 25 ciclos una reacción conformada por 20 segundos a 98°C y 15 minutos a 68°C. El fragmento de ADN amplificado se clonó en pCR2.1. Se determinó que esta secuencia estaba libre de errores atribuibles a PCR, confirmando su secuencia nucleotídica. Este plásmido se digirió entonces con HindIII y NheI para obtener un fragmento de ADN de 470 bp. Este fragmento de ADN se designó fragmento A.

[0038]

Luego de usar 1 ng de pSFL614 como molde, agregando 50 pmol del cebador BP40pro-NheI-F (5'-TTT AGC TAG CCT CGA AGT TG-3', SEQ ID NO. 18), 50 pmol del cebador BP40pro-BamHI-R (5'-GGA TCC CTA TGT TGA GAA AAA GGG ACT-3', SEQ ID NO. 19) y ADN polimerasa Ex-Taq, y manteniendo durante 5 minutos a 98°C en 25 µl de la mezcla de reacción, una reacción que constaba de 20 segundos a 98°C y 15 minutos a 68°C se repitió durante 25 ciclos.

El fragmento amplificado de ADN se clonó en pCR2.1. Se determinó que esta secuencia estaba libre de errores atribuibles a PCR, confirmando su secuencia nucleotídica. Este plásmido se digirió entonces con HindIII y NheI para obtener un fragmento de ADN de 630 bp. Este fragmento de ADN se designó fragmento B.

[0039]

Se recuperó el más largo de los fragmentos de ADN formados digiriendo el plásmido pSPB567, descrito en el Documento de Patente 4, con HindIII y NheI, y se acopló con el fragmento A y el fragmento B ya mencionados para obtener pSFL620.

Después de digerir pSFL620 con PaeI, se recuperó un fragmento de ADN de aproximadamente 3.2 kb. Este fragmento de ADN se insertó en el sitio PaeI de pBin+. El plásmido resultante se designó pSPB3317. Un fragmento obtenido digiriendo el pSPB3311 ya mencionado con AscI y XbaI se transfectó a los sitios AscI y XbaI de pSPB3317, y el plásmido resultante se designó pSPB3323.

[0040]

Ejemplo 5: Expresión del Gen Cromosómico de la Antocianina 3-Acil
Tranferasa en Crisantemo

El pSPB3311 preparado en Ejemplo 3 se transfectó en Agrobacterium, y se transformó la variedad de crisantemo 94-765 8 (Seikouen, no comercializada) de acuerdo con un método conocido, utilizando este Agrobacterium. Aunque la transformación de crisantemo se describe en el Documento 8 Distinto de Patente, el método de transformación no se limita a éste. Se adquirieron seis líneas transformadas. Pétalos en rayos de las mismas se congelaron y trituraron, seguidos por extracción de 50 mg a 100 mg de los pétalos triturados con 500 µL de 50% de ácido acético acuoso y filtración con un filtro de 0.45 µm. Las antocianinas contenidas en este extracto se diluyeron con un factor de dilución de cinco con agua destilada y se usaron como una muestra de análisis que se analizó bajo las siguientes condiciones, empleando cromatografía líquida de alto rendimiento. Se utilizó una columna Inertsil ODS-2 (diámetro de partícula: 5 µm, 4.6 × 25 mm, GL Sciences), el caudal fue de 0.8 ml/min, la fase móvil contenía 1.5% ácido fosfórico, y se llevó a cabo elución isocrática durante 40 minutos usando un gradiente de concentración lineal de 4% de ácido acético y 5% de acetonitrilo a 20% de ácido acético y 25% de acetonitrilo, seguida por elución durante 10 minutos con 25% de acetonitrilo que contenía 1.5% de ácido fosfórico y

20% de ácido acético. La detección se efectuó usando el Detector de Arreglo de Diodos Agilent Serie 1100 (GL Sciences) sobre un rango de longitud de onda de 250 nm a 600 nm, y se determinó la relación de contenido de cada antocianidina, de acuerdo con el área de absorción óptica a 530 nm.

[0041]

Entre las antocianinas en los transformantes constituidos por las líneas analizadas 1275-13, 1275-14, 1275-15 y 1275-17, 23%, 1%, 17% y 34%, respectivamente, tuvieron tiempos de retención de 20 minutos o más, y estas antocianinas sugirieron haberse modificado por grupos acilos aromáticos. Los máximos de absorbencia de las antocianinas, que eluyeron en tiempos de retención de 20 minutos o más, cambiaron a una longitud de onda más larga, y el color de flor existente pudo hacerse azul como resultado de la transformación ya mencionada. Por otro lado, ninguna de las antocianinas presentes en los pétalos de las flores de la variedad original de crisantemo 94-765 demostró tiempos de retención de 20 minutos o más.

Antocianinas de crisantemo transformado 1275-17 se analizaron mediante LC-FT-ICR-MS (J. Japan Soc. Hort. Sci., 77, 94-102 (2008) and Plant J., 54, 949-962). El uso de esta técnica posibilita medir con precisión los espectros de masas de las antocianinas y obtener espectros MS/MS mediante espectrometría de masas en tándem. Un pico correspondiente a un compuesto equivalente a cianidina (cumaroil) glucósido (m/z detectado: 595.146259), que no se detectó en el hospedero, se detectó en el transformante de crisantemo 1275-17, y únicamente el fragmento m/z 287.1 correspondiente a cianidina se detectó entre los fragmentos MS/MS.

Sobre la base de los resultados anteriores, se determinó que la región reguladora de transcripción de 3AT de una especie diferente en la forma de perilla funcionaba en una planta de crisantemo, y se determinó que esta 3AT de perilla funcionaba en crisantemo y cambiaba la estructura de la antocianina y el color de la flor. Adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, se determinó que los máximos de absorción de las antocianinas cambiaban a una longitud de onda más larga, como resultado de permitir que una aciltransferasa, tal como 3AT, funcionara y transfiriera un grupo acilo aromático a antocianina (véase FIGS. 4, 5 y 6).

[0042]

Ejemplo 6: Expresión del Gen Cromosómico de la Antocianina 3-Acil Transferasa

de Perilla y el Gen F3'5'H de Pensamiento en Crisantemo

El pSPB3323 preparado en Ejemplo 4 se transfectó en *Agrobacterium*, y la variedad de crisantemo 94-765 (Seikoen, no comercializada) se transformó de acuerdo con un método conocido, utilizando este *Agrobacterium*. Se adquirieron seis líneas transformadas. Las antocianinas contenidas en los pétalos de las flores se analizaron empleando cromatografía líquida de alto rendimiento, de acuerdo con el método descrito en Ejemplo 5.

[0043]

20%, 2% y 50% de las antocianinas en transformantes en la forma de las líneas analizadas 1300-2, 1300-3 y 1300-4, respectivamente, tuvieron tiempos de retención de 20 minutos o más, y estas antocianinas sugirieron haberse modificado por grupos acilos aromáticos. Ninguna de las antocianinas del hospedero demostró tiempos de retención de 20 minutos o más. Con base en estos hallazgos, era evidente que la región reguladora de la transcripción de 3AT de una especie diferente en la forma de perilla había funcionado en una planta de crisantemo, y que la estructura de la antocianina y el color de la flor se alteraron como resultado de que esta 3AT de perilla había funcionado en crisantemo. Por consiguiente, el uso de la región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla para expresar varios genes permite que genes exógenos funcionen de manera eficiente y estable en pétalos lingüiformes de las flores de crisantemo.

[0044]

Adicionalmente, se analizaron las antocianidinas extraídas de acuerdo con el método descrito a continuación. Se congelaron pétalos en rayos y luego se trituraron, seguidos por extracción de 50 mg a 100 mg del pétalo triturado con 500 μ L de 1% de cloruro de hidrógeno-metanol, agregando 500 μ L de 4 N de ácido clorhídrico (HCl) a este extracto y mezclando, e hidrolizando durante 1 hora a 100°C. Después de enfriar la solución luego de la hidrólisis, se agregó un 1 ml de 0.05 M de ácido trifluoroacético (TFA) y se mezcló en ella. Seguidamente, esta solución se agregó a una Sep-Pak C18 (Millipore) para adsorber el producto de hidrólisis. La Sep-Pak C18 se lavó preliminarmente con 80% acetonitrilo (MeCN) y se equilibró con 0.05 M TFA. Luego de lavar el producto de hidrólisis absorbido en la Sep-Pak C18 con 0.05 M TFA, el producto de hidrólisis se lavó posteriormente con 20% MeCN y 0.05 M TFA, seguido por elución del producto de hidrólisis con

80% MeCN y 0.05 M TFA para obtener una muestra de análisis.

La muestra de análisis se analizó bajo las siguientes condiciones utilizando cromatografía líquida de alto rendimiento. Se empleó una columna Inertsil ODS-2 (diámetro de partícula: tamaño de partícula 5 μ m, 4.6 $\times$ 25 mm, GL Sciences) para la columna, el caudal fue de 0.8 ml/min, la fase móvil contenía 1.5% ácido fosfórico, y se llevó a cabo una elución isocrática durante 20 minutos empleando una gradiente de concentración lineal de 5% ácido acético y 6.25% acetonitrilo a 20% ácido acético y 25% acetonitrilo, seguido por elución durante 5 minutos con 25% acetonitrilo que contenía 1.5% ácido fosfórico y 20% ácido acético. La detección se llevó a cabo utilizando un Detector de Arreglo de Diodos Agilent Serie 1100 (GL Sciences) sobre una región de longitud de onda de 250 nm a 600 nm, y las relaciones de abundancia de cada una de las antocianidinas se determinó de acuerdo con el área de absorbencia óptica a 530 nm.

Como resultado del análisis, se detectó delfinidina en relaciones de 0.9%, 0.8%, 1.4% y 0.6% de la cantidad total de antocianidinas en transformantes que constaban de las líneas analizadas 1300-3, 1300-4, 1300-5 y 1300-6, respectivamente. Esto sugiere que la región reguladora de transcripción BP#40 de pensamiento gobierna la transcripción de BP#40.

Antocianinas tipo delfinidina modificadas con grupos acilos aromáticos sugirieron estar también contenidas en las líneas 1300-3 y 1300-4, en las cuales se detectaron delfinidina, y antocianinas que sugirieron haberse modificado por grupos acilos aromáticos. De esta manera, un glucósido de delfinidina, que sirve como la cadena principal básica de antocianina azul, puede modificarse por un grupo acilo aromático, posibilitando producir a un crisantemo azul expresando simultáneamente el gen F3'5'H y el gen 3AT.

[0045]

Ejemplo 7: Producción de pBI121-Perilla 3ATpro::ADHNF-Pansy F3'5'H#40::Perilla 3ATter

Una región promotora (Pf3ATpro) de aproximadamente 1.1 kbp del gen de la antocianina 3-aciltransferasa (Pf3AT) de perilla se amplificó llevando a cabo PCR con ADN polimerasa Prime Star (Takara) utilizando el plásmido pSPB3311 obtenido en el Ejemplo 3 como molde, y usando HAP gPf3ATpro long Fd (5'-AAGCTTGGCGCGCCGTTTAAACAATTATTATGATCCCACAG-3', SEQ ID NO. 20) y X-gPf3ATpro-Rv (5'-TCTAGAGGCGGTGTTGAACGTAGCTGTGG-3', SEQ ID NO. 21) como cebadores. El producto PCR resultante se clonó en pCR-BluntII-

TOPO (Invitrogen) y el plásmido resultante se designó pCR-Pf3ATpro.

A continuación, una región 3' no traducida de aproximadamente 1.5 kbp (Pf3ATter) del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla s amplió con PCR con ADN polimerasa Prime Star (Takara) utilizando pSPB3311 como molde, y usando SSS-gPf3ATter-FD (5'-GAGCTCACTAGTGTGCGACTAAATGTATGTAATTAATACTAAT-3', SEQ ID NO. 22) y ESS-gPf3ATter-Rv (5'-GAATTCAGGCCTGCCCCGGGCTATCTTTATCATATTTTCGTCTAC-3', SEQ ID NO. 23) como cebadores. El producto PCR se clonó en pCRBluntII-TOPO (Invitrogen) el plásmido resultante se designó pCR-Pf3ATter.

Un fragmento de ADN Pf3ATter obtenido digiriendo pCR-Pf3ATter con SacI y EcoRI se insertó en los sitios SacI y EcoRI de pBI121-ADHNF. A continuación, el plásmido resultante se digirió con HindIII y XbaI y se acopló con un fragmento de ADN pF3ATpro obtenido digiriendo pCR-Pf3ATpro con HindIII y XbaI, y el vector binario resultante se designó pBI121-Pf3ATp- GUS-Pf3ATt.

[0046]

Se preparó una biblioteca de ADN cromosómico de rosa tugosa en la manera descrita a continuación empleando el Kit λ BlueSTAR™ Xho I Half-Site Arms (Novagen, <http://www.merckbiosciences.com/product/69242>). Se preparó ADN cromosómico de una hoja joven de rosa tugosa utilizando Nucleon Phytopure™ (Tepnel Life Sciences). Aproximadamente 100 μ g de ADN cromosómico se digirieron con la restrictasa Sau3AI.

Este fragmento de ADN se llenó luego parcialmente con un fragmento de ADN polimerasa I Klenow (Toyobo) en la presencia de dGTP y dATP, y se fraccionó mediante centrifugación de gradiente de densidad de sacarosa. Se recuperó ADN de alrededor de 13 kb y se concentró mediante precipitación en etanol. Aproximadamente 180 ng de ADN se ligaron durante 15 horas a 4°C con 1 μ L del Kit λ BlueSTAR™ Xho I Half-Site Arms, seguidos por la realización de empaquetado *in vitro* para obtener una biblioteca cromosómica.

Esta biblioteca de ADN cromosómico de rosa tugosa se cribó con ADNc de flavanona 3-hidroxilasa (F3H) de torenia (NCBI No. AB211958) para obtener placas que indicaran señales. Una de estas placas se convirtió en un plásmido llevando a cabo hibridación *in vivo* usando el método recomendado por el fabricante (Novagen). Éste se digirió entonces con la enzima de restricción SpeI para recuperar un fragmento de ADN de 2.6 kb, y se obtuvo el plásmido pSPB804 sub-clonando este fragmento de ADN en el sitio SpeI de pBluescript SKII-

(Stratagene). Este plásmido tenía una secuencia nucleotídica que mostró homología con F3H.

Con el fin de amplificar la región no traducida 5' de F3H, se llevó a cabo PCR en 50 µl de una mezcla de reacción utilizando 1 de pSPB804 como molde, usando el cebador RrF3H-F (5'-AAGCTTCTAGTTAGACAAAAAGCTA-3', SEQ ID NO. 26) y el cebador RrF3H (5'-GGATCCTCTCTTGATATTTCCGTTC-3', SEQ ID NO. 27), y empleando ADN polimerasa Ex-Taq (Takara). Las condiciones de reacción de PCR consistieron en hacer reaccionar durante 5 minutos a 94°C, repitiendo 30 ciclos de reacción, uno de los cuales constó de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 50°C y 30 segundos a 72°C y, finalmente, manteniendo durante 7 minutos a 72°C. El fragmento de ADN resultante se insertó en pCR-TOPO (Invitrogen) para obtener el plásmido pSPB811. Se pudo recuperar una región no traducida 5' F3H de aproximadamente 2.1 kb de este plásmido utilizando HindIII y BamHI.

[0047]

Plásmido pSFL814 (que contenía R. rugosa F3H 5':BFP3'5'#40:nos 3') se obtuvo sustituyendo la porción promotora de pSPB567 descrito en el Documento de Patente 4 (plásmido pUC que contenía el promotor CaMV35S, al cual se había agregado el potenciador EI2, F3'5'HBP40 de pensamiento y el terminador nopalina sintasa) con la región 5' no traducida de aproximadamente 1.2 kb de F3H, usando HindIII y BamHI.

Se mezclaron un fragmento de ADN amplificado por PCR utilizando pSLF814 como molde y usando ADH-BP40-Fd (5'-CAAGAAAAATAAATGGCAATTCTAGTCACCGAC-3', SEQ ID NO. 28) y NcoI-BP40-Rv (5'-CTCGAGCGTACGTGAGCATC-3', SEQ ID NO. 29) como cebadores, y un fragmento de ADN amplificado por PCT utilizando pB1221 ADH-221 como molde y usando BamHI-ADH-Fd (5'-CGCGGATCCGTCTATTAACTCAGTATTC-3', SEQ ID NO. 30) y BP40-ADH-Rv (5'-TAGAATTGCCATTTATTTTCTTGATTTCCTTCAC-3', SEQ ID NO. 31) como cebadores, y se obtuvo un fragmento de ADN, en el cual ADH-5'UTR 94 bp de tabaco se acopló directamente al codón de iniciación de F3'5'H#40 de pensamiento, por PCR usando esta mezcla de fragmentos de ADN como molde y usando BamHI-ADH-Fd y NcoI-BP40-Rv como cebadores.

Luego de subclonar, mediante la técnica *TA-cloning*, este fragmento de ADN en pCR2.1, se ligaron un fragmento de ADN de aproximadamente 600 bp, obtenido digiriendo con BamHI y NcoI, y un fragmento de vector, binario obtenido

45

digiriendo pSFL814 con BamHI y NcoI, para obtener pBinPLUS Rugosa rose F3Hpro:ADHNF-pansy-F3'5'H#40::NOSter.

[0048]

Un fragmento de ADN ADHNF-pansy-F3'5'H#40 se amplificó por PCR utilizando el pBinPLUS Rosa rugosa F3Hpro:ADHNF-pansy-F3'5'H#40::NOSter como molde, usando SpeISmal-ADH-Fd (5'-ACTAGTCCCGGGGTCTATTTAACTCAGTATTCAG-3', SEQ ID NO. 24) y Scal-BP40-Rv (5'-GAGCTCTCAGGTTGCGTACGGGTTTGAGG-3', SEQ ID NO. 25) como cebadores, y empleando ADN polimerasa Prime Star. Este fragmento de ADN se clonó en pCR-BluntII-TOPO, y el plásmido resultante se designó pCR-ADHBP40-SpeSac.

Un fragmento de ADN ADHNF-pansy F3'5'H#40, obtenido digiriendo pCR-ADHBP40-SpeSac con SpeI y EcoICRI, se ligó con un fragmento de factor binario obtenido digiriendo pBI121-Pf3ATp-GUS-Pf3ATt con Sall, seguido por corte dejando extremos romos (*blunting*) utilizando Blunting High (Toyobo) y digiriendo posteriormente con XbaI para obtener pBI121-perilla 3ATpro::ADHNF-pansy-F3'5'H#40::perilla 3ATter, y éste se transformó en la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* EHA105.

Siete líneas de crisantemos recombinantes de la variedad de crisantemo Taihei se obtuvieron utilizando este *Agrobacterium* transformado. Se detectó delfinidina en 5 de estas líneas, y el contenido de delfinidina alcanzó 17.7%.

Adicionalmetne, se construyó pSPB3718 insertando un casete de expresión de perilla 3ATpro::ADHNF-pansy-F3'5'H#40::perilla 3ATter obtenido de pBI121-perilla 3ATpro::ADHNF-pansy-3'5'H#40::perilla 3ATter en pWTT2132 (WO 96/36716), y se transformó en la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* Agl0. La variedad de crisantemo Improved Regan (Seikoen) se transformó usando esta cepa de *Agrobacterium* transformado. Se adquirieron 25 líneas de crisantemos recombinantes, y se observó un cambio en el color de la flor en 7 de estas líneas. El contenido máximo de delfinidina fue 20%.

[0049]

Ejemplo 8

pSFL535 (descrito en WO 2008/156206) se digirió parcialmente con PacI, y se recuperó un fragmento de ADN del cual se había eliminado un casete de expresión que contenía el gen F3'5'H de pensamiento. Este fragmento de ADN se ligó con un fragmento de ADN de aproximadamente 3.2 kb, obtenido digiriendo

pSFL620 descrito en Ejemplo 4 con Pacl, para obtener el plásmido pSFL635 que tiene la estructura mostrada en FIG. 7. Cuando T-DNA de este plásmido se transfecta en una planta, se expresan constitutivamente el gen de la flavona sintasa, derivada de torenia, y la antocianina metiltransferasa, derivada de torenia, y se espera que el gen F3'5'H de pensamiento se exprese específicamente en los pétalos de las flores. Este plásmido se transfectó en *Agrobacterium* empleando el método descrito en WO 2008/156206, y este *Agrobacterium* se transfectó en la variedad de rosa WKS124 para obtener 83 líneas de transformantes. Los pétalos de las flores contenían malvidina, petunidina y delphinidina no expresadas en WKS124. Su contenido total entre todas las antocianidinas fue un promedio de 73% y un máximo de 85%. Este resultado indica que la región promotora derivada de BP40 de pensamiento, obtenida en este experimento (región 5' no traducida de aproximadamente 2.1 kb contenida en pSFL514 (BP40pro, SEQ ID NO. 15, véase Ejemplo 4)), es apropiada para expresar genes exógenos en plantas y, particularmente, en rosas.

POSIBILIDAD DE APLICACIÓN INDUSTRIAL

[0050]

Se determinó que una región promotora, considerada que regula la transcripción de genes de enzimas en las hojas de perilla, a saber, una región reguladora de transcripción de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, era capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción en los pétalos de las flores de una especie diferente en la forma de crisantemo. En consecuencia, puede inducirse específicamente la transcripción de genes exógenos en tejidos tales como flores, en las cuales se acumulan antocianinas, utilizando esta región reguladora de la transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla. Aunque ejemplos de genes exógenos transcritos incluyen genes asociados con el color y la fragancia de la flor, no se limitan a éstos.

Adicionalmente, se determinó también que la región reguladora de transcripción del gen F3'5'H derivado de pensamiento era útil para alterar el color de las flores de plantas de crisantemo y plantas distintas de crisantemos.

REIVINDICACIONES

1. Un método para transcribir un ácido nucleico en una planta de crisantemo mediante tecnología de recombinación genética utilizando un vector de expresión o casete de expresión, que contiene un ácido nucleico seleccionado del grupo conformado por:

(1) un ácido nucleico que incluye la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1;

(2) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, y que incluye una secuencia nucleotídica en la cual la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1 se ha modificado por adición, delección y/o sustitución de uno o varios nucleótidos;

(3) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, y capaz de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con un ácido nucleico que consta de una secuencia nucleotídica complementaria a la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1; y,

(4) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, y que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90% con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método para transcribir el ácido nucleico es un método para controlar la biosíntesis de flavonoides, transcribiendo un ácido nucleico involucrado en la biosíntesis de flavonoides.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método para transcribir el ácido nucleico es un método para modificar antocianinas, transcribiendo un ácido nucleico involucrado en la modificación de antocianinas.

4. Un método para producir una planta de crisantemo que contiene una antocianina acilada aromática en sus pétalos, expresando antocianina 3-aciltransferasa de perilla en una planta de crisantemo, utilizando un vector de expresión o casete de expresión, que contiene un ácido nucleico definido en la reivindicación 1.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el vector de expresión o casete de expresión contiene la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 2.

6. Una planta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma, transfectada con el ácido nucleico definido en la reivindicación 1 o producida según el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

7. La planta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma de acuerdo con la reivindicación 6, que contiene una antocianina acilada aromática.

8. La planta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma de acuerdo con la reivindicación 6, que contiene delphinidina.

9. La planta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma de acuerdo con la reivindicación 6, la cual es una flor cortada.

10. Un producto procesado de una flor cortada utilizando la flor cortada de acuerdo con la reivindicación 9.

11. Un ácido nucleico seleccionado del grupo conformado por:

(1) un ácido nucleico que contiene la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15;

(2) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, y que incluye una secuencia nucleotídica en la cual la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15 se ha modificado por adición, delección y/o sustitución de uno o varios nucleótidos;

(3) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, y capaz de hibridarse bajo condiciones de alta restricción con un ácido nucleico que consta de una secuencia nucleotídica complementara a la secuencia nucleotídica indicada en

SEQ ID NO. 15; y,

(4) un ácido nucleico capaz de funcionar como una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, y que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90% con la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15.

12. Un método para expresar un ácido nucleico en una planta de crisantemo o planta distinta de una planta de crisantemo, utilizando un vector de expresión o casete de expresión que contiene el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 11.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el método para expresar el ácido nucleico es un método para controlar la biosíntesis de flavonoides expresando un ácido nucleico involucrado en la biosíntesis de flavonoides.

14. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el método para expresar el ácido nucleico es un método para modificar antocianinas, expresando un ácido nucleico involucrado en la modificación de antocianinas.

15. Una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma, transfectada con el ácido nucleico definido en la reivindicación 11 o producida según el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14.

16. La planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma de acuerdo con la reivindicación 15, que contiene una antocianina acilada aromática.

17. La planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma de acuerdo con la reivindicación 15, que contiene delfinidina.

18. La planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o producto de proliferación vegetativa, parte o tejido de la misma de acuerdo con la reivindicación 15, la cual es una flor cortada.

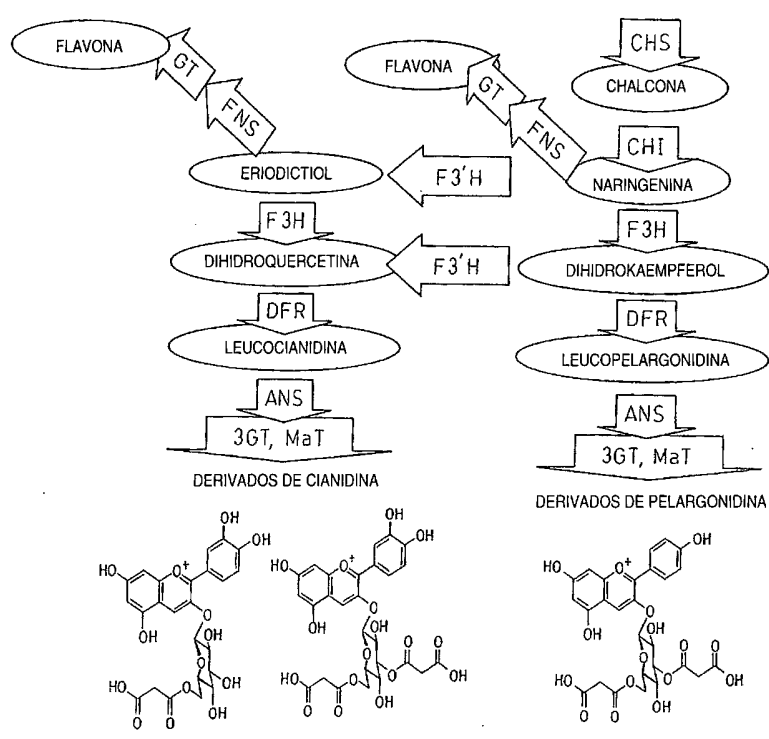
52

19. Un producto procesado de una flor cortada usando la flor cortada de acuerdo con reivindicación 18.

EXTRACTO

Se divulgan un método para controlar la síntesis de flavonoides en una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo mediante tecnología de recombinación genética, utilizando una región reguladora de transcripción útil para alterar el color de las flores, un método para modificar antocianinas, un método para producir una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, que contiene antocianinas modificadas en sus pétalos, y una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma, transformada con la región reguladora. En el método de acuerdo con la presente invención, se usa un vector de expresión o casete de expresión que contiene una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, tal como un ácido nucleico que contiene la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1, o una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, tal como la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15.

Fig.1



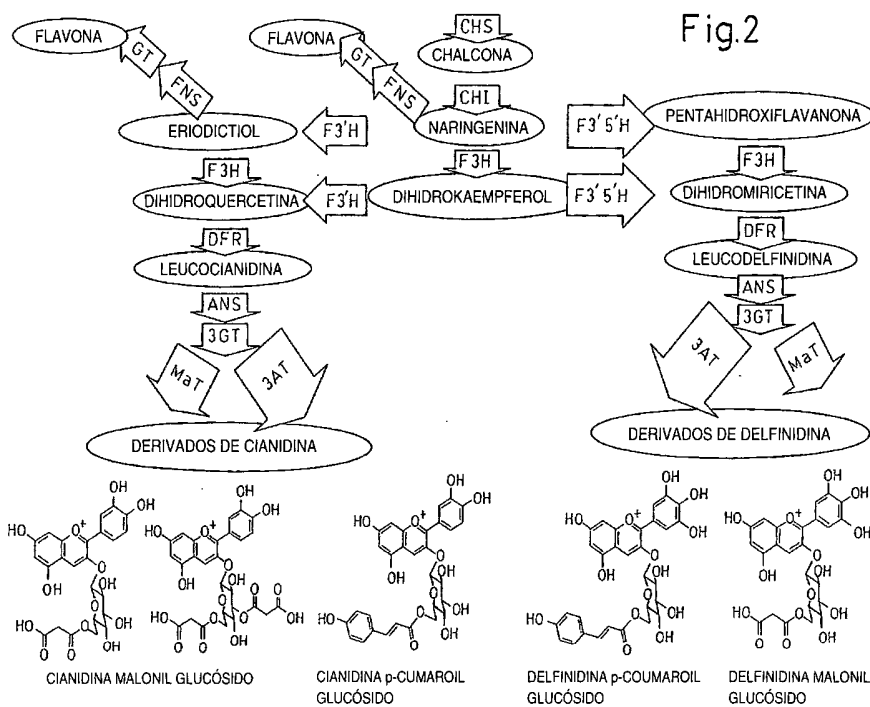


Fig.3

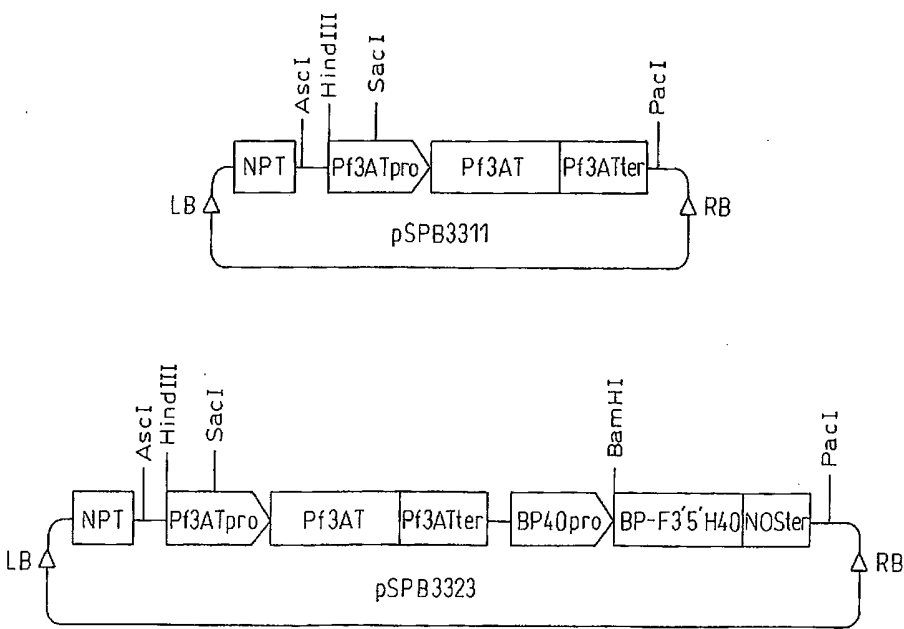
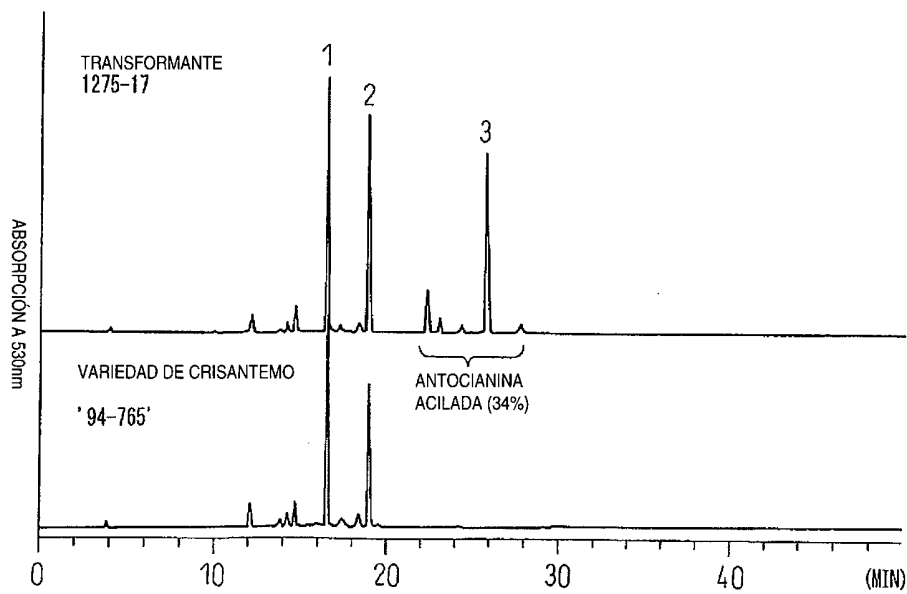


Fig.4



4/7

5
5

Fig.5

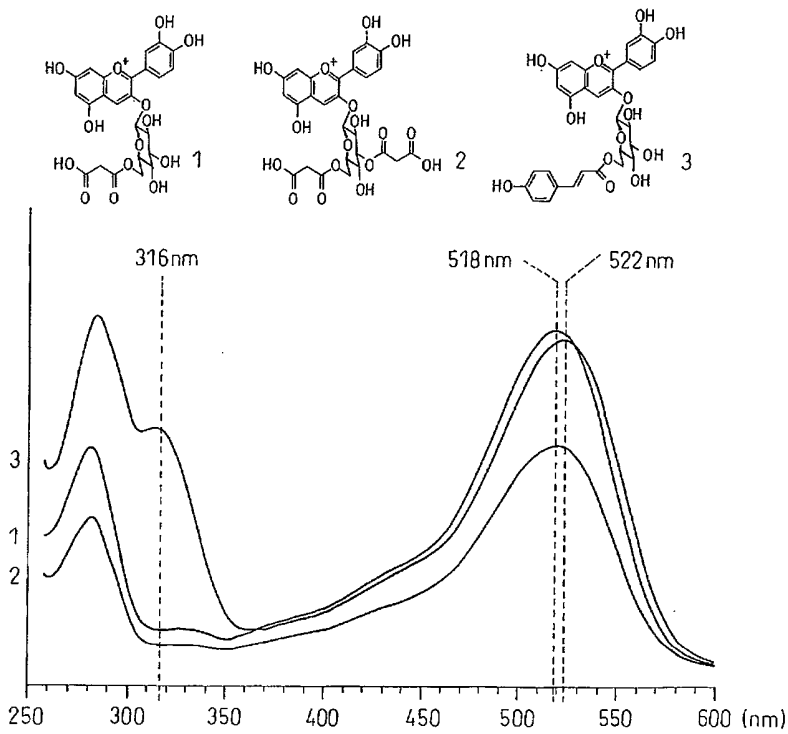


Fig.6

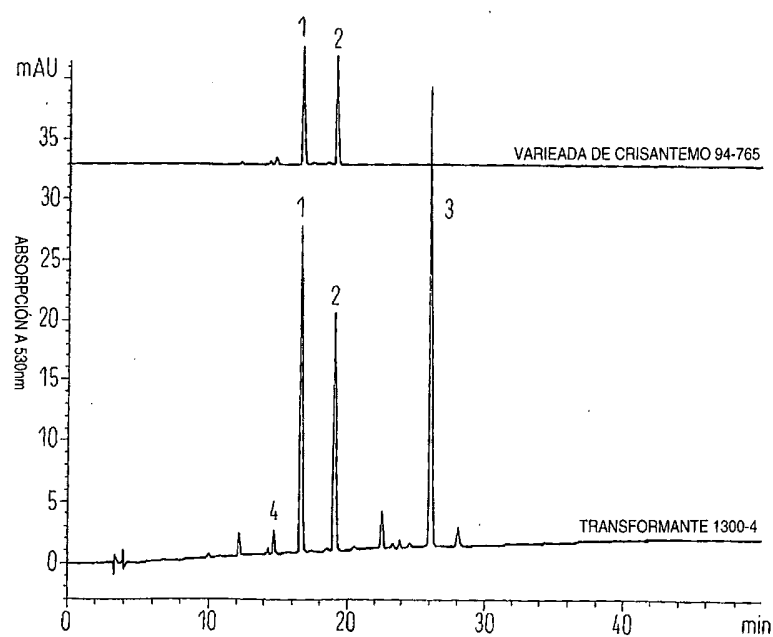
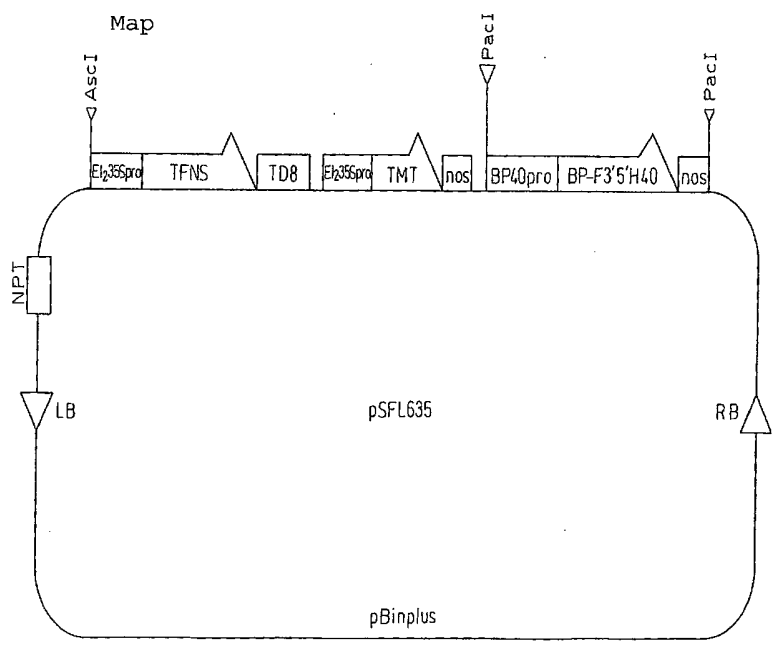


Fig.7



LISTADO DE SECUENCIAS

<110> National Agriculture and Food Research Organization, and Suntory Holdings Limited

<120> Método para Producir Plantas de Crisantemo que Contienen Antocianina Modificada en sus Pétalos

<130> Y539-PCT

<150> JP2009-107055

<151> 2009-04-24

<160> 31

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1096

<212> DNA

<213> *Perilla frutescens*

<220>

<221> promotor

<222> (1)..(1096)

<223> promotor de la antocianina 3-acil transferasa

<400> 1

aactattatg atccacaga gtttttgaca gatgagtctt caggaggaga tgctgaacct	60
tttcactact ctactgaacg catcacaagt ttatcggctt atatgactaa tagggatcaa	120
cttcacaaca gagaggctca tagagctctt aaagaggatt tgatcgagca catatggaaa	180
aaattcggca ctaactaaat atataattta cgttttatgc actcgtaatt taaaatttca	240
tgtgtctcat tgtagtttat ttaattatgt ttctactctt gtaattttta ttttgttgtg	300
aagtaaatta tgaatttata attatatggg taattttttg ataattatgc aattaaat	360
aattaatatt ttttaaagtc aagagaaaaa tgttatttta ataacatgtt cttattaaaa	420
aataaaatga taaatatttt atgtagggtg ggagaaaatg aaaaaataat attttatttg	480
aaggttgggt tggatgaggt cactgatggg agtataaata atactccctc cgtcccataa	540
ttattgtcca ttattccttt ttgggatgtc ccaaaattat agtcctattc taaattggga	600
ttgtatttaa atattctttt acaaatataa ccctatttga tatagtatga atgcaattaa	660
tatagtaaaa aaataagggc aatataggat aattattgta aattgtatat ttccaataca	720
tattaaatgt gatttcttaa tctgtgtgaa aataggaagt ggactataat tatgggacgg	780
agggagtata aagttggagg ttgtggatgt ggaggagaaa gaaattaata ttttatttaa	840
agattggatt aaaggaggtc actgatgtgg gtagtcttag aggaaatgta gtcttagagg	900
aatctgccc agcaaaataa aataataagt aaataaataa actaaatatg tattgaatgc	960
gacatctagc aatatagcca catatatagt gcagtagcac gcagcgtctg ttactcgtca	1020
gtcgtcaaag aatggtaagt atagaaaagc atctttaaat aacacaccaa aaaccacagc	1080
tacgttcaac accgcc	1096

<210> 2
 <211> 4087
 <212> DNA
 <213> *Perilla frutescens*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1097)..(2443)
 <223> pSPB3311, promotor de la antocianina 3-acil transferasa + CDS +
 terminador

<400> 2

aactattatg atccacaga gtttttgaca gatgagtctt caggaggaga tgctgaacct	60
tttcactact ctactgaacg catcacaagt ttatcggctt atatgactaa tagggatcaa	120
cttcacaaca gagaggctca tagagctctt aaagaggatt tgatcgagca catatggaaa	180
aaattcggca ctaactaaat atataattta cgttttatgc actcgtaatt taaaatttca	240
tgtgtctcat tgtagtttat ttaattatgt tttcactctt gtaattttta ttttgttgtg	300
aagtaaatta tgaatttata attatatggg taattttttg ataattatgc aattaaat	360
aattaatatt ttttaaagtc aagagaaaaa tgttatttta ataacatggt cttattaaaa	420
aataaaatga taaatatttt atgtagggtg ggagaaaatg aaaaaataat attttatttg	480
aagggtgggt tggatgaggt cactgatggg agtataaata atactccctc cgtcccataa	540
ttattgtcca ttattccttt ttgggatgtc ccaaaattat agtcctattc taaattggga	600
ttgtatttaa atattctttt acaaatataa ccctatttga tatagtatga atgcaattaa	660
tatagtaaaa aaataagggc aatataggat aattattgta aattgtatat ttccaataca	720
tattaaatgt gatttcttaa tctgtgtgaa aataggaagt ggactataat tatgggacgg	780
agggagtata aagttggagg ttgtggatgt ggaggagaaa gaaattaata ttttatttaa	840
agattggatt aaaggaggtc actgatgtgg gtagtcttag aggaaatgta gtcttagagg	900
aaatctgccc agcaaaataa aataataagt aaataaataa actaaatatg tattgaatgc	960
gacatctagc aatatagcca catatatagt gcagtagcac gcagcgctcg ttactcgtca	1020
gtcgtcaaag aatggtaagt atagaaaagc atctttaaat aacacaccaa aaaccacagc	1080
tacgttcaac accgcc atg acc acc acc gtg atc gaa acg tgt aga gtt ggg	1132
Met Thr Thr Thr Val Ile Glu Thr Cys Arg Val Gly	
1 5 10	
cca ccg ccg gac tcg gtg gcg gag caa tcg ttg ccg ctc aca ttc ttc	1180
Pro Pro Pro Asp Ser Val Ala Glu Gln Ser Leu Pro Leu Thr Phe Phe	
15 20 25	
gac atg acg tgg ctg cat ttt cat ccc atg ctt cag ctc ctc ttc tac	1228
Asp Met Thr Trp Leu His Phe His Pro Met Leu Gln Leu Leu Phe Tyr	
30 35 40	
gaa ttc cct tgt tcc aag caa cat ttc tca gaa tcc atc att cca aaa	1276
Glu Phe Pro Cys Ser Lys Gln His Phe Ser Glu Ser Ile Ile Pro Lys	
45 50 55 60	

ctc aaa caa tct ctc tct aaa act ctc ata cac ttc ttc cct ctc tca Leu Lys Gln Ser Leu Ser Lys Thr Leu Ile His Phe Phe Pro Leu Ser	1324
65 70 75	
tgc aat tta atc tac cct tca tct ccg gag aaa atg ccc gag ttt cgg Cys Asn Leu Ile Tyr Pro Ser Ser Pro Glu Lys Met Pro Glu Phe Arg	1372
80 85 90	
tat cta tcg ggg gac tcg gtt tct ttc act atc gca gaa tct agc gac Tyr Leu Ser Gly Asp Ser Val Ser Phe Thr Ile Ala Glu Ser Ser Asp	1420
95 100 105	
gac ttc gat gat ctc gtc gga aat cgc gca gaa tct ccc gtt agg ctc Asp Phe Asp Asp Leu Val Gly Asn Arg Ala Glu Ser Pro Val Arg Leu	1468
110 115 120	
tac aac ttc gtc cct aaa ttg ccg cag att gtc gaa gaa tct gat aga Tyr Asn Phe Val Pro Lys Leu Pro Gln Ile Val Glu Glu Ser Asp Arg	1516
125 130 135 140	
aaa ctc ttc caa gtt ttc gcc gtg cag gtg act ctt ttc cca ggt cga Lys Leu Phe Gln Val Phe Ala Val Gln Val Thr Leu Phe Pro Gly Arg	1564
145 150 155	
ggc gtc ggt att gga ata gca acg cat cac acc gtt agc gat gcc ccg Gly Val Gly Ile Gly Ile Ala Thr His His Thr Val Ser Asp Ala Pro	1612
160 165 170	
tcg ttt ctc gcc ttt ata acg gct tgg gct tgg atg agc aaa cac att Ser Phe Leu Ala Phe Ile Thr Ala Trp Ala Trp Met Ser Lys His Ile	1660
175 180 185	
gaa gat gaa gat gaa gag ttt aaa tct ttg cca gtt ttc gat aga tcc Glu Asp Glu Asp Glu Glu Phe Lys Ser Leu Pro Val Phe Asp Arg Ser	1708
190 195 200	
gtc ata aaa tat ccg acg aaa ttt gac tcg att tat tgg aaa aag gcg Val Ile Lys Tyr Pro Thr Lys Phe Asp Ser Ile Tyr Trp Lys Lys Ala	1756
205 210 215 220	
cta aaa ttt cct ttg caa tct cgt cat ccc tca tta ccg acg gac cgc Leu Lys Phe Pro Leu Gln Ser Arg His Pro Ser Leu Pro Thr Asp Arg	1804
225 230 235	
att cga acc acg ttc gtt ttc acc caa tcc gaa att aag aaa ttg aag Ile Arg Thr Thr Phe Val Phe Thr Gln Ser Glu Ile Lys Lys Leu Lys	1852
240 245 250	
ggt tcg att cag tcc aga gtt cca agt tta gtc cat ctc tca tct ttt Gly Ser Ile Gln Ser Arg Val Pro Ser Leu Val His Leu Ser Ser Phe	1900
255 260 265	
gta gcg att gca gct tat atg tgg gct ggc gta acg aaa tca ctc aca Val Ala Ile Ala Ala Tyr Met Trp Ala Gly Val Thr Lys Ser Leu Thr	1948
270 275 280	
gca gat gaa gac cac gac gac ggg gat gca ttt ttc ttg att ccg gtc Ala Asp Glu Asp His Asp Asp Gly Asp Ala Phe Phe Leu Ile Pro Val	1996
285 290 295 300	
gat cta agg cca cga tta gat ccg cca gtt ccc gaa aat tac ttc ggg Asp Leu Arg Pro Arg Leu Asp Pro Pro Val Pro Glu Asn Tyr Phe Gly	2044
305 310 315	
aac tgc tta tcg tac gcg ctg ccg aga atg cgg cgg cga gag ctg gtg	2092

Asn Cys Leu Ser Tyr Ala Leu Pro Arg Met Arg Arg Arg Glu Leu Val	
320 325 330	
gga gag aaa ggg gtg ttt ctg gcg gct gag gca atc gcg gcg gag atc	2140
Gly Glu Lys Gly Val Phe Leu Ala Ala Glu Ala Ile Ala Ala Glu Ile	
335 340 345	
aaa aaa agg atc aac gac aag aga ata tta gaa acg gtg gag aaa tgg	2188
Lys Lys Arg Ile Asn Asp Lys Arg Ile Leu Glu Thr Val Glu Lys Trp	
350 355 360	
tcg ctg gag att cgt gaa gcg ttg cag aaa tca tat ttt tcg gtg gca	2236
Ser Leu Glu Ile Arg Glu Ala Leu Gln Lys Ser Tyr Phe Ser Val Ala	
365 370 375 380	
gga tcg agc aag cta gat ctt tac ggt gca gat ttt gga tgg ggg aag	2284
Gly Ser Ser Lys Leu Asp Leu Tyr Gly Ala Asp Phe Gly Trp Gly Lys	
385 390 395	
gcg aga aag caa gaa ata ttg tcg att gat ggg gag aaa tat gca atg	2332
Ala Arg Lys Gln Glu Ile Leu Ser Ile Asp Gly Glu Lys Tyr Ala Met	
400 405 410	
acg ctt tgt aaa gcc agg gat ttc gaa gga gga ttg gag gtt tgc ttg	2380
Thr Leu Cys Lys Ala Arg Asp Phe Glu Gly Gly Leu Glu Val Cys Leu	
415 420 425	
tct ttg cct aag gac aaa atg gat gct ttt gct gct tat ttt tca gcg	2428
Ser Leu Pro Lys Asp Lys Met Asp Ala Phe Ala Ala Tyr Phe Ser Ala	
430 435 440	
gga att aat ggt taa taaatgtatg taattaaact aatattatta tgtaacaatt	2483
Gly Ile Asn Gly	
445	
aattaagtgt tgagtaacgt gaagaataat atctttttacc tattatatat ttatgagttg	2543
gttcaaataa aatcacttca tttattgtat taaccgttta gtgttcttct caccatattt	2603
tggtgctatt ttttaaaaaa tgtttttttt attgtatttt agtattaatt gttttaccac	2663
taaaattaca gtaaaatgca agatagttta atttttacat ttacatatga aacacattct	2723
ctttataacc aacctctcta tatatataat atgtgtgtat gtatgtatac acatgtatga	2783
atactagaaa tatatcttaa accatccatc cttcaaaaat ttcggggcca tattgcatgg	2843
tgacattata atatttgata atttcttcga acacgttatt aattcaattt aataattcta	2903
ataaaaagac gctcagacaa tatatgtaga taggatcggc ccaaaggggt gtctgggtgg	2963
gctgtcggcc atgggccccg aaatcttagg ggcaaaaaaa aaaaaattca ttatacctag	3023
ggcaaaaaaa ttaccgctct tcacttctct gcctctctcc ctcateccctc gttcctcctc	3083
tctcttccct atgtacgcct ctttactccc ctccccctct ctcagttctc tatcacttgt	3143
attttgtatt gaaaacttgt tgaaaactaa accaaaaata gaaaaaggta tagaaaattt	3203
gaaaacaaag gttgtttttt tgtgttgctg cagttcccaa acttgccgag ttgccgactt	3263
gccgtgttga attgttatat atgttaaaag cctaaaaatat atcctttcag aattgagatg	3323
gattgttgta actatcaggt tttttttatt gagaatttta gatcaattag ttatcttgta	3383
attttttatt ctttttaata caatactccc tccatcccaa tagcaaggtc cccttgctat	3443

```

tgggcacggg tattaaggag gaggattatt ataatgaaaa ttaatataaa gtaagtggat 3503
tccactttat taaggaatat tataatcaaa agtaatataa agtaagtgga ttccacttta 3563
attaggacac taattatttt cttttttggt atgagacttt gctattggga catcccaaaa 3623
aggcaaaaga gaccttgcta ttaggacggt ggacgtgctg ccgaggcacg caaattaatt 3683
tacctttcct cttctatact aactcgtagt agcggcgagt aaaggtcgaa ccctcaagga 3743
gcaattgaac tagatgtgct attagaaata aaataaacac aagtgagagg ggagtttttg 3803
gtttcaattt aactaaaact aattatgaaa atgaaaaaac aaatataaaa cataaacagg 3863
tagacgaaat atgataaaga tagaattcta gttctcggtt cagttatcac ctttctccaa 3923
gtatttcatg aataatgcaa cgctcttttt catacaactt agaatcgatg tccaaagggt 3983
aatatcaage tttattttacc taattgtctc gtacgattag ttaactaaaa caagctcttt 4043
aattaactct actcaattag ataacctaga ataagctctc taga 4087

```

```

<210> 3
<211> 448
<212> PRT
<213> Perilla frutescens

```

```

<400> 3

```

```

Met Thr Thr Thr Val Ile Glu Thr Cys Arg Val Gly Pro Pro Pro Asp
1           5           10          15

```

```

Ser Val Ala Glu Gln Ser Leu Pro Leu Thr Phe Phe Asp Met Thr Trp
          20           25           30

```

```

Leu His Phe His Pro Met Leu Gln Leu Leu Phe Tyr Glu Phe Pro Cys
          35           40           45

```

```

Ser Lys Gln His Phe Ser Glu Ser Ile Ile Pro Lys Leu Lys Gln Ser
          50           55           60

```

```

Leu Ser Lys Thr Leu Ile His Phe Phe Pro Leu Ser Cys Asn Leu Ile
          65           70           75           80

```

```

Tyr Pro Ser Ser Pro Glu Lys Met Pro Glu Phe Arg Tyr Leu Ser Gly
          85           90           95

```

```

Asp Ser Val Ser Phe Thr Ile Ala Glu Ser Ser Asp Asp Phe Asp Asp
          100          105          110

```

```

Leu Val Gly Asn Arg Ala Glu Ser Pro Val Arg Leu Tyr Asn Phe Val
          115          120          125

```

```

Pro Lys Leu Pro Gln Ile Val Glu Glu Ser Asp Arg Lys Leu Phe Gln
          130          135          140

```

Val Phe Ala Val Gln Val Thr Leu Phe Pro Gly Arg Gly Val Gly Ile
145 150 155 160

Gly Ile Ala Thr His His Thr Val Ser Asp Ala Pro Ser Phe Leu Ala
165 170 175

Phe Ile Thr Ala Trp Ala Trp Met Ser Lys His Ile Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Glu Phe Lys Ser Leu Pro Val Phe Asp Arg Ser Val Ile Lys Tyr
195 200 205

Pro Thr Lys Phe Asp Ser Ile Tyr Trp Lys Lys Ala Leu Lys Phe Pro
210 215 220

Leu Gln Ser Arg His Pro Ser Leu Pro Thr Asp Arg Ile Arg Thr Thr
225 230 235 240

Phe Val Phe Thr Gln Ser Glu Ile Lys Lys Leu Lys Gly Ser Ile Gln
245 250 255

Ser Arg Val Pro Ser Leu Val His Leu Ser Ser Phe Val Ala Ile Ala
260 265 270

Ala Tyr Met Trp Ala Gly Val Thr Lys Ser Leu Thr Ala Asp Glu Asp
275 280 285

His Asp Asp Gly Asp Ala Phe Phe Leu Ile Pro Val Asp Leu Arg Pro
290 295 300

Arg Leu Asp Pro Pro Val Pro Glu Asn Tyr Phe Gly Asn Cys Leu Ser
305 310 315 320

Tyr Ala Leu Pro Arg Met Arg Arg Arg Glu Leu Val Gly Glu Lys Gly
325 330 335

Val Phe Leu Ala Ala Glu Ala Ile Ala Ala Glu Ile Lys Lys Arg Ile
340 345 350

Asn Asp Lys Arg Ile Leu Glu Thr Val Glu Lys Trp Ser Leu Glu Ile
355 360 365

Arg Glu Ala Leu Gln Lys Ser Tyr Phe Ser Val Ala Gly Ser Ser Lys
370 375 380

Leu Asp Leu Tyr Gly Ala Asp Phe Gly Trp Gly Lys Ala Arg Lys Gln
385 390 395 400

Glu Ile Leu Ser Ile Asp Gly Glu Lys Tyr Ala Met Thr Leu Cys Lys

405

410

415

Ala Arg Asp Phe Glu Gly Gly Leu Glu Val Cys Leu Ser Leu Pro Lys
420 425 430

Asp Lys Met Asp Ala Phe Ala Ala Tyr Phe Ser Ala Gly Ile Asn Gly
435 440 445

<210> 4
<211> 6835
<212> DNA
<213> *Perilla frutescens*

<220>
<221> CDS
<222> (1608)..(2330)
<223> Otro ORF

<220>
<221> CDS
<222> (3439)..(4785)
<223> SAT208 ORF

<220>
<221> misc_feature
<222> (6815)..(6815)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 4
ccccaaaaac cttgattagg gtgatggttc acgtagtggg ccacgcgcct gatagacggt 60
ttttcgccct ttgacgttgg agtccacgtt ctttaatagt ggactcctgt tccaaactgg 120
aacaacactc aaccctatct cggctctatc ttttgattta taagggattt tgccgatttc 180
ggcctattgg ttaaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat tttaacaaaa 240
tattaacgct tacaatttcc attcgccatt caggctgcgc aactggtggg aagggcgatc 300
ggtgcggggc tcttcgctat tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt 360
aagttgggta acgccagggt tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgcgcg 420
cgcgtaatac gactcactat agggcgaatt ggggtaccggg cccccctcg aggtcgacgg 480
tatcgataag cttgatatcg aattcctgca gcccggggga tccactagtt ctagaagatg 540
aagagacaaa acatcgacta cttgcccttg tgtttgggca aaattaaatt aatgtaattg 600
taattgtgag atgtgtgtta gtaattatgc tatgtgtgtg ttagtaatta tgagatgtgt 660
gtgtttgtaa ttttgagatg tcttttctc actttataaa taattaatgt attttatgca 720
tatctatttc tcttattctt ttcatacaaa cctgcatgca taagtctcaa tcatgcattg 780
gattctttat gccttgtcaa tttctttttg tacaaacctc atgcatctca atcatgcatt 840
ggattcttat actctcattt caatttatat gcaagagtaa agctaagtat atcacatgca 900
ttggattcca ctttatatca aattgatttc ttgataaatc acatgctttt gtcagccatc 960
acatgcattg gattccactt tatatcaaat taatttcttg ataaatcaca tacttttgtc 1020

```

ggccatttca tgcattggat tccactttat atcaaattga ttttttgata aatcacatgc 1080
ttttgtcggc tagcccatgc tttgtctata catatctcag aaaatgcaca tcaaaagaaa 1140
ctcaaacaaa atcctcaata ccttaccaca tctttcaact tcactttaga aaaatgtctg 1200
cacatgaaaa ttctgatgtt gaatcaaact caagttctaa ttattctgat tctaacgaac 1260
ttgatgaatg gctagagcga ggttatgaaa aatatcgtga agttgatagt ataatccaga 1320
atgtgctcat aaataatccc aatctggttg taggagctca aacttctaca gtcagaagaa 1380
ggatttgtga tagggaacgt gagaatgggtg aagagcgttt gatgaaagac tattttgtct 1440
ctaattccaac gtattctcca gagctcttcc gacgatgatt tcacatgcag aaatcacttt 1500
ttcttcgtat agtggaggcc gttactacca atgatgacta ttttcaacag aggccaaatt 1560
gcacgggtag aaaagggtctt tcaccattgt aaaaatgtac aggagct atg agg gta 1616
                                Met Arg Val
                                1

ttg gct tat ggg gca tca gcc gat gtc gtt gat gaa tac tta cga atg 1664
Leu Ala Tyr Gly Ala Ser Ala Asp Val Val Asp Glu Tyr Leu Arg Met
    5                      10                      15

agt gca acg gta aca aga gat gct gtc atc cat ttc gta gaa ggt gtc 1712
Ser Ala Thr Val Thr Arg Asp Ala Val Ile His Phe Val Glu Gly Val
    20                      25                      30                      35

att tca tgc ttc agt gac aca tat ctt agg aag cct aat caa caa gat 1760
Ile Ser Cys Phe Ser Asp Thr Tyr Leu Arg Lys Pro Asn Gln Gln Asp
                40                      45                      50

ttg gca aga cta ctc tat gtt gga gag caa cgt ggt ttt cct ggc atg 1808
Leu Ala Arg Leu Leu Tyr Val Gly Glu Gln Arg Gly Phe Pro Gly Met
                55                      60                      65

att ggt agt att gat tgc atg cac tgg gaa tgg aca aat tgt cct aat 1856
Ile Gly Ser Ile Asp Cys Met His Trp Glu Trp Thr Asn Cys Pro Asn
    70                      75                      80

gcc tgg gca ggg caa ttt aca ggg aga agt gga aag tca aca atc att 1904
Ala Trp Ala Gly Gln Phe Thr Gly Arg Ser Gly Lys Ser Thr Ile Ile
    85                      90                      95

ttg gaa gct gtt gca tca tat gat tta tgg ata tgg cat gcg ttt ttt 1952
Leu Glu Ala Val Ala Ser Tyr Asp Leu Trp Ile Trp His Ala Phe Phe
    100                      105                      110                      115

gga aca tca ggt gcg tgc aat gat att aat gtt ctc cac ggt tct cca 2000
Gly Thr Ser Gly Ala Cys Asn Asp Ile Asn Val Leu His Gly Ser Pro
                120                      125                      130

att ttt agt gat gtt tta gaa ggt cga gca cca cat gtt agt tac atc 2048
Ile Phe Ser Asp Val Leu Glu Gly Arg Ala Pro His Val Ser Tyr Ile
                135                      140                      145

gtc aat ggt cgc caa aat gat aga gca tat tat ctc acc gat ggc ata 2096
Val Asn Gly Arg Gln Asn Asp Arg Ala Tyr Tyr Leu Thr Asp Gly Ile
                150                      155                      160

tat cct tca tgg gct gca ttt gta aag tca atc aca tct cct atg act 2144
Tyr Pro Ser Trp Ala Ala Phe Val Lys Ser Ile Thr Ser Pro Met Thr
    165                      170                      175

```

cga aag tat aag ttg ttt gtt caa cac caa gaa gct gct aga aaa gat	2192
Arg Lys Tyr Lys Leu Phe Val Gln His Gln Glu Ala Ala Arg Lys Asp	
180 185 190 195	
gta gaa cgg gcc ttt gga gtt cta caa gct cgt ttt gca ttt att cga	2240
Val Glu Arg Ala Phe Gly Val Leu Gln Ala Arg Phe Ala Phe Ile Arg	
200 205 210	
cgt cca tgt ctt gtt tgg gac aag gtt ttg atg gga aaa att atg atg	2288
Arg Pro Cys Leu Val Trp Asp Lys Val Leu Met Gly Lys Ile Met Met	
215 220 225	
gct tgt atc atc ata cac aat atg att gtg gag gat gaa tga	2330
Ala Cys Ile Ile Ile His Asn Met Ile Val Glu Asp Glu	
230 235 240	
gacacatacc taaactatta tgatcccaca gagtttttga cagatgagtc ttcaggagga	2390
gatgctgaac ctttttacta ctctactgaa cgcatacacia gtttatcggc ttatatgact	2450
aatagggatc aacttcacaa cagagaggct catagagctc ttaaagagga tttgatcgag	2510
cacatatgga aaaaattcgg cactaactaa atatataatt tacgttttat gcactcgtaa	2570
tttaaaattt catgtgtctc attgtagttt atttaattat gttttcactc ttgtaatttt	2630
tattttgttg tgaagtaa atgaattta taattatatg ggtaattttt tgataattat	2690
gcaattaaaa ataattaata ttttttaaat gcaagagaaa aatgttattt taataacatg	2750
ttcttattaa aaaataaaat gataaatatt ttatgtaggt tgggagaaaa tgaaaaaata	2810
atattttatt tgaagggttg gttggatgag gtcactgatg ggagtataaa taatactccc	2870
tccgtcccat aattattgtc cattattcct ttttgggatg tcccaaaatt atagtcctat	2930
tctaaattgg gattgtattt aaatattcct ttacaaatat aaccctattt gatatagtat	2990
gaatgcaatt aatatagtaa aaaaataagg gcaatatagg ataattattg taaattgtat	3050
atttccaata catattaaat gtgatttctt aatctgtgtg aaaataggaa gtggactata	3110
attatgggac ggagggagta taaagttgga gggtgtggat gtggaggaga aagaaattaa	3170
tattttattt aaagattgga ttaaaggagg tcaactgatgt gggtagtctt agaggaaatg	3230
tagtcttaga ggaaatctgc ccagcaaaat aaaataataa gtaaataaat aaactaaata	3290
tgtattgaat ggcacatcta gcaatatagc cacatatata gtgcagtagc acgcagcgct	3350
cggtactcgt cagtcgtcaa agaatggtaa gtatagaaaa gcactctttaa ataacacacc	3410
aaaaaccaca gctacgttca acaccgcc atg acc acc acc gtg atc gaa acg	3462
Met Thr Thr Thr Val Ile Glu Thr	
245	
tgt aga gtt ggg cca ccg ccg gac tcg gtg gcg gag caa tcg ttg ccg	3510
Cys Arg Val Gly Pro Pro Pro Asp Ser Val Ala Glu Gln Ser Leu Pro	
250 255 260	
ctc aca ttc ttc gac atg acg tgg ctg cat ttt cat ccc atg ctt cag	3558
Leu Thr Phe Phe Asp Met Thr Trp Leu His Phe His Pro Met Leu Gln	
265 270 275 280	
ctc ctc ttc tac gaa ttc cct tgt tcc aag caa cat ttc tca gaa tcc	3606

Leu	Leu	Phe	Tyr	Glu	Phe	Pro	Cys	Ser	Lys	Gln	His	Phe	Ser	Glu	Ser		
				285					290					295			
atc	att	cca	aaa	ctc	aaa	caa	tct	ctc	tct	aaa	act	ctc	ata	cac	ttc		3654
Ile	Ile	Pro	Lys	Leu	Lys	Gln	Ser	Leu	Ser	Lys	Thr	Leu	Ile	His	Phe		
			300					305					310				
ttc	cct	ctc	tca	tgc	aat	tta	atc	tac	cct	tca	tct	ccg	gag	aaa	atg		3702
Phe	Pro	Leu	Ser	Cys	Asn	Leu	Ile	Tyr	Pro	Ser	Ser	Pro	Glu	Lys	Met		
			315				320					325					
ccc	gag	ttt	cgg	tat	cta	tcg	ggg	gac	tcg	gtt	tct	ttc	act	atc	gca		3750
Pro	Glu	Phe	Arg	Tyr	Leu	Ser	Gly	Asp	Ser	Val	Ser	Phe	Thr	Ile	Ala		
	330					335					340						
gaa	tct	agc	gac	gac	ttc	gat	gat	ctc	gtc	gga	aat	cgc	gca	gaa	tct		3798
Glu	Ser	Ser	Asp	Asp	Phe	Asp	Asp	Leu	Val	Gly	Asn	Arg	Ala	Glu	Ser		
345					350					355					360		
ccc	gtt	agg	ctc	tac	aac	ttc	gtc	cct	aaa	ttg	ccg	cag	att	gtc	gaa		3846
Pro	Val	Arg	Leu	Tyr	Asn	Phe	Val	Pro	Lys	Leu	Pro	Gln	Ile	Val	Glu		
				365					370					375			
gaa	tct	gat	aga	aaa	ctc	ttc	caa	gtt	ttc	gcc	gtg	cag	gtg	act	ctt		3894
Glu	Ser	Asp	Arg	Lys	Leu	Phe	Gln	Val	Phe	Ala	Val	Gln	Val	Thr	Leu		
			380					385					390				
ttc	cca	ggg	cga	ggc	gtc	ggg	att	gga	ata	gca	acg	cat	cac	acc	gtt		3942
Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Val	Gly	Ile	Gly	Ile	Ala	Thr	His	His	Thr	Val		
		395				400						405					
agc	gat	gcc	ccg	tcg	ttt	ctc	gcc	ttt	ata	acg	gct	tgg	gct	tgg	atg		3990
Ser	Asp	Ala	Pro	Ser	Phe	Leu	Ala	Phe	Ile	Thr	Ala	Trp	Ala	Trp	Met		
	410					415					420						
agc	aaa	cac	att	gaa	gat	gaa	gat	gaa	gag	ttt	aaa	tct	ttg	cca	gtt		4038
Ser	Lys	His	Ile	Glu	Asp	Glu	Asp	Glu	Glu	Phe	Lys	Ser	Leu	Pro	Val		
425				430					435					440			
ttc	gat	aga	tcc	gtc	ata	aaa	tat	ccg	acg	aaa	ttt	gac	tcg	att	tat		4086
Phe	Asp	Arg	Ser	Val	Ile	Lys	Tyr	Pro	Thr	Lys	Phe	Asp	Ser	Ile	Tyr		
				445					450					455			
tgg	aaa	aag	gcg	cta	aaa	ttt	cct	ttg	caa	tct	cgt	cat	ccc	tca	tta		4134
Trp	Lys	Lys	Ala	Leu	Lys	Phe	Pro	Leu	Gln	Ser	Arg	His	Pro	Ser	Leu		
			460					465					470				
ccg	acg	gac	cgc	att	cga	acc	acg	ttc	gtt	ttc	acc	caa	tcc	gaa	att		4182
Pro	Thr	Asp	Arg	Ile	Arg	Thr	Thr	Phe	Val	Phe	Thr	Gln	Ser	Glu	Ile		
			475				480					485					
aag	aaa	ttg	aag	ggg	tcg	att	cag	tcc	aga	gtt	cca	agt	tta	gtc	cat		4230
Lys	Lys	Leu	Lys	Gly	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Val	Pro	Ser	Leu	Val	His		
	490				495						500						
ctc	tca	tct	ttt	gta	gcg	att	gca	gct	tat	atg	tgg	gct	ggc	gta	acg		4278
Leu	Ser	Ser	Phe	Val	Ala	Ile	Ala	Ala	Tyr	Met	Trp	Ala	Gly	Val	Thr		
505				510					515					520			
aaa	tca	ctc	aca	gca	gat	gaa	gac	cac	gac	gac	ggg	gat	gca	ttt	ttc		4326
Lys	Ser	Leu	Thr	Ala	Asp	Glu	Asp	His	Asp	Asp	Gly	Asp	Ala	Phe	Phe		
				525					530					535			
ttg	att	ccg	gtc	gat	cta	agg	cca	cga	tta	gat	ccg	cca	gtt	ccc	gaa		4374
Leu	Ile	Pro	Val	Asp	Leu	Arg	Pro	Arg	Leu	Asp	Pro	Pro	Val	Pro	Glu		
			540					545					550				

aat tac ttc ggg aac tgc tta tcg tac gcg ctg ccg aga atg cgg cgg Asn Tyr Phe Gly Asn Cys Leu Ser Tyr Ala Leu Pro Arg Met Arg Arg 555 560 565	4422
cga gag ctg gtg gga gag aaa ggg gtg ttt ctg gcg gct gag gca atc Arg Glu Leu Val Gly Glu Lys Gly Val Phe Leu Ala Ala Glu Ala Ile 570 575 580	4470
gcg gcg gag atc aaa aaa agg atc aac gac aag aga ata tta gaa acg Ala Ala Glu Ile Lys Lys Arg Ile Asn Asp Lys Arg Ile Leu Glu Thr 585 590 595 600	4518
gtg gag aaa tgg tcg ctg gag att cgt gaa gcg ttg cag aaa tca tat Val Glu Lys Trp Ser Leu Glu Ile Arg Glu Ala Leu Gln Lys Ser Tyr 605 610 615	4566
ttt tcg gtg gca gga tcg agc aag cta gat ctt tac ggt gca gat ttt Phe Ser Val Ala Gly Ser Ser Lys Leu Asp Leu Tyr Gly Ala Asp Phe 620 625 630	4614
gga tgg ggg aag gcg aga aag caa gaa ata ttg tcg att gat ggg gag Gly Trp Gly Lys Ala Arg Lys Gln Glu Ile Leu Ser Ile Asp Gly Glu 635 640 645	4662
aaa tat gca atg acg ctt tgt aaa gcc agg gat ttc gaa gga gga ttg Lys Tyr Ala Met Thr Leu Cys Lys Ala Arg Asp Phe Glu Gly Gly Leu 650 655 660	4710
gag gtt tgc ttg tct ttg cct aag gac aaa atg gat gct ttt gct gct Glu Val Cys Leu Ser Leu Pro Lys Asp Lys Met Asp Ala Phe Ala Ala 665 670 675 680	4758
tat ttt tca gcg gga att aat ggt taa taaatgtatg taattaaact Tyr Phe Ser Ala Gly Ile Asn Gly 685	4805
aatattatta tgtaacaatt aattaagtgt tgagtaacgt gaagaataat atcttttacc	4865
tattatatat ttatgagttg gttcaaataa aatcacttca tttattgtat taaccgttta	4925
gtgttcttct caccatattt tgggtgctatt ttttaaaaaa tgtttttttt attgtatttt	4985
agtattaatt gttttaccac taaaattaca gtaaaatgca agatagttta atttttacat	5045
ttacatatga aacacattct ctttataacc aacctctcta tatatataat atgtgtgtat	5105
gtatgtatac acatgtatga atactagaaa tatatcttaa accatccatc cttcaaaaat	5165
ttcggggcca tattgcatgg tgacattata atatttgata atttcttcga acacgttatt	5225
aattcaattt aataattcta ataaaaagac gctcagacaa tatatgtaga taggatcggc	5285
ccaaaggggt gtctgggtgg gctgtcgccc atgggccccg aaatcttagg ggcaaaaaaa	5345
aaaaaattca ttatacctag ggcaaaaaaa ttaccgctct tcaactctct gctctctctc	5405
ctcatccctc gttcctcctc tctcttccct atgtacgcct ctttcaactcc ctccccctct	5465
ctcagttctc tatcacttgt attttgtatt gaaaacttgt tgaaaactaa accaaaaata	5525
gaaaaaggta tagaaaattt gaaaacaaag gttgtttttt tgtgttgctg cagttcccaa	5585
acttgccgag ttgcgcactt gccgtgttga attgttatat atgttaaaag cctaaaatat	5645
atcctttcag aattgagatg gattgttgta actatcaggt tttttttatt gagaatttta	5705

gatcaattag ttatcttgta attttttatt ctttttaata caatactccc tccatcccaa 5765
tagcaaggtc cccttgctat tgggcacggg tattaaggag gaggattatt ataatgaaaa 5825
ttaatataaa gtaagtggat tccactttat taaggaatat tataatcaaa agtaatataa 5885
agtaagtgga ttccacttta attaggacac taattatttt cttttttggg atgagacttt 5945
gctattggga catcccaaaa aggcaaaaga gaccttgcta ttaggacggg ggacgtgctg 6005
ccgaggcacg caaattaatt tacctttcct cttctatact aactcgtagt agcggcgagt 6065
aaaggtcgaa ccctcaagga gcaattgaac tagatgtgct attagaaata aaataaacac 6125
aagtgagagg ggagtttttg gtttcaattt aactaaaact aattatgaaa atgaaaaaac 6185
aatataaaa cataaacagg tagacgaaat atgataaaga tagaattcta gttctcggtt 6245
cagttatcac ctttctccaa gtatttcacg aataatgcaa cgctctttt catacaactt 6305
agaatcgatg tccaaagggt aatatcaagc tttatttacc taattgtctc gtacgattag 6365
ttaactaaaa caagctcttt aattaactct actcaattag ataacctaga ataagctctc 6425
tagagcggcc gccaccgcgg tggagctcca gcttttgctc cctttagtga gggttaattg 6485
cgcgcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttctgtgtg aaattgttat ccgctcacia 6545
ttccacacia catacgagcc ggaagcataa agtgtaaagc ctggggtgcc taatgagtga 6605
gctaactcac attaatgagc ttgcgctcac tgcccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt 6665
gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cgggttgctg attgggccgc 6725
tcttccgctt ccttggttac ttgactcgtc gcgctcggcc gtcggctgcg gcgagcggtg 6785
tcaagctcac tcaaaggcgg taataccggn tatccacaga atcaggggat 6835

<210> 5
<211> 240
<212> PRT
<213> Perilla frutescens

<400> 5

Met Arg Val Leu Ala Tyr Gly Ala Ser Ala Asp Val Val Asp Glu Tyr
1 5 10 15

Leu Arg Met Ser Ala Thr Val Thr Arg Asp Ala Val Ile His Phe Val
20 25 30

Glu Gly Val Ile Ser Cys Phe Ser Asp Thr Tyr Leu Arg Lys Pro Asn
35 40 45

Gln Gln Asp Leu Ala Arg Leu Leu Tyr Val Gly Glu Gln Arg Gly Phe
50 55 60

Pro Gly Met Ile Gly Ser Ile Asp Cys Met His Trp Glu Trp Thr Asn
65 70 75 80

Cys Pro Asn Ala Trp Ala Gly Gln Phe Thr Gly Arg Ser Gly Lys Ser
85 90 95

Thr Ile Ile Leu Glu Ala Val Ala Ser Tyr Asp Leu Trp Ile Trp His
100 105 110

Ala Phe Phe Gly Thr Ser Gly Ala Cys Asn Asp Ile Asn Val Leu His
115 120 125

Gly Ser Pro Ile Phe Ser Asp Val Leu Glu Gly Arg Ala Pro His Val
130 135 140

Ser Tyr Ile Val Asn Gly Arg Gln Asn Asp Arg Ala Tyr Tyr Leu Thr
145 150 155 160

Asp Gly Ile Tyr Pro Ser Trp Ala Ala Phe Val Lys Ser Ile Thr Ser
165 170 175

Pro Met Thr Arg Lys Tyr Lys Leu Phe Val Gln His Gln Glu Ala Ala
180 185 190

Arg Lys Asp Val Glu Arg Ala Phe Gly Val Leu Gln Ala Arg Phe Ala
195 200 205

Phe Ile Arg Arg Pro Cys Leu Val Trp Asp Lys Val Leu Met Gly Lys
210 215 220

Ile Met Met Ala Cys Ile Ile Ile His Asn Met Ile Val Glu Asp Glu
225 230 235 240

<210> 6
<211> 448
<212> PRT
<213> *Perilla frutescens*

<400> 6

Met Thr Thr Thr Val Ile Glu Thr Cys Arg Val Gly Pro Pro Pro Asp
1 5 10 15

Ser Val Ala Glu Gln Ser Leu Pro Leu Thr Phe Phe Asp Met Thr Trp
20 25 30

Leu His Phe His Pro Met Leu Gln Leu Leu Phe Tyr Glu Phe Pro Cys
35 40 45

Ser Lys Gln His Phe Ser Glu Ser Ile Ile Pro Lys Leu Lys Gln Ser
50 55 60

Leu Ser Lys Thr Leu Ile His Phe Phe Pro Leu Ser Cys Asn Leu Ile
65 70 75 80

Tyr Pro Ser Ser Pro Glu Lys Met Pro Glu Phe Arg Tyr Leu Ser Gly
 85 90 95

Asp Ser Val Ser Phe Thr Ile Ala Glu Ser Ser Asp Asp Phe Asp Asp
 100 105 110

Leu Val Gly Asn Arg Ala Glu Ser Pro Val Arg Leu Tyr Asn Phe Val
 115 120 125

Pro Lys Leu Pro Gln Ile Val Glu Glu Ser Asp Arg Lys Leu Phe Gln
 130 135 140

Val Phe Ala Val Gln Val Thr Leu Phe Pro Gly Arg Gly Val Gly Ile
 145 150 155 160

Gly Ile Ala Thr His His Thr Val Ser Asp Ala Pro Ser Phe Leu Ala
 165 170 175

Phe Ile Thr Ala Trp Ala Trp Met Ser Lys His Ile Glu Asp Glu Asp
 180 185 190

Glu Glu Phe Lys Ser Leu Pro Val Phe Asp Arg Ser Val Ile Lys Tyr
 195 200 205

Pro Thr Lys Phe Asp Ser Ile Tyr Trp Lys Lys Ala Leu Lys Phe Pro
 210 215 220

Leu Gln Ser Arg His Pro Ser Leu Pro Thr Asp Arg Ile Arg Thr Thr
 225 230 235 240

Phe Val Phe Thr Gln Ser Glu Ile Lys Lys Leu Lys Gly Ser Ile Gln
 245 250 255

Ser Arg Val Pro Ser Leu Val His Leu Ser Ser Phe Val Ala Ile Ala
 260 265 270

Ala Tyr Met Trp Ala Gly Val Thr Lys Ser Leu Thr Ala Asp Glu Asp
 275 280 285

His Asp Asp Gly Asp Ala Phe Phe Leu Ile Pro Val Asp Leu Arg Pro
 290 295 300

Arg Leu Asp Pro Pro Val Pro Glu Asn Tyr Phe Gly Asn Cys Leu Ser
 305 310 315 320

Tyr Ala Leu Pro Arg Met Arg Arg Arg Glu Leu Val Gly Glu Lys Gly
 325 330 335

Val Phe Leu Ala Ala Glu Ala Ile Ala Ala Glu Ile Lys Lys Arg Ile
 340 345 350

Asn Asp Lys Arg Ile Leu Glu Thr Val Glu Lys Trp Ser Leu Glu Ile
 355 360 365

Arg Glu Ala Leu Gln Lys Ser Tyr Phe Ser Val Ala Gly Ser Ser Lys
 370 375 380

Leu Asp Leu Tyr Gly Ala Asp Phe Gly Trp Gly Lys Ala Arg Lys Gln
 385 390 395 400

Glu Ile Leu Ser Ile Asp Gly Glu Lys Tyr Ala Met Thr Leu Cys Lys
 405 410 415

Ala Arg Asp Phe Glu Gly Gly Leu Glu Val Cys Leu Ser Leu Pro Lys
 420 425 430

Asp Lys Met Asp Ala Phe Ala Ala Tyr Phe Ser Ala Gly Ile Asn Gly
 435 440 445

<210> 7
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador que contiene HindIII

<400> 7
 aagcttaact attatgatcc cacagag

27

<210> 8
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador que contiene BamHI

<400> 8
 ggatccggcg gtgttgaacg tagc

24

<210> 9
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador C1

<400> 9
 gtacatattg tcgttagaac gcgtaatacg actca

35

<210> 10
 <211> 24

<212>	DNA		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	Cebador BP40-i5		
<400>	10		
	aggtgcatga tcggaccata cttc		24
<210>	11		
<211>	35		
<212>	DNA		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	Cebador C2		
<400>	11		
	cgttagaacg cgtaatacga ctcactatag ggaga		35
<210>	12		
<211>	25		
<212>	DNA		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	Cebador BP40-i7		
<400>	12		
	gaccatactt cttagcgagt ttggc		25
<210>	13		
<211>	25		
<212>	DNA		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	Cebador BP40pro-F		
<400>	13		
	actcaaaca gcatctcgcc atagg		25
<210>	14		
<211>	2369		
<212>	DNA		
<213>	Viola x wittrockiana		
<220>			
<221>	misc_feature		
<223>	Plásmido pSFL614		
<400>	14		
	actcaaaca gcatctcgcc aatggttctc taaattttct tctactctca tctcacgtgg		60
	tttccgccaa tctgtctctg attacagcct tttcacatat gtcaaagggt cagttagtgt		120
	ttttgtcctt gtttatgtcg acgatataat cgttactggc aacaatctag atgccatttc		180
	tgagactaaa caattcctcg caaattcatt ctctattaaa gatctcggca ctcttcgata		240
	ttttcttgga atcgaagtat ctcgttctac gaaagggtatt ttcttatgtc aacgaaaata		300

cactctcgat attctctcag attctgggtca ccttggatgt cgaccttctc catttcccat	360
ggagcaacat cttcatctac ttctgatga tggtaacca ctaccgacc catccattta	420
tcgacgtctg gttggtcgac tactttactt gactgtcact cgtcctgata ttcaatatgc	480
agtgaatact cttagtcaat tcatgcaact tctcgttcg acccatctcg atgcggcaaa	540
tcgagttctc cgatatctca aaggatcagt tggtaaagga atcctccttt cggccactag	600
tctcttttca cttgttggtt ttgctgattc tgactgggct ggttgtccaa ctactcgtcg	660
ttcaactact ggctacatta ccatgcttgg ttcaagtcct atctcttgga aaactaaaaa	720
gcaaccact gtctctcgat cttctgccga agccgaatat cgatcactcg ctgctctcac	780
ttcagagata cagtggcttc attatctact ctcggatctc ggttttcccc ctcaacaacc	840
gattaccgtt cattgtgaca accaagctgc tatacacatc gctaataatc cggttttcca	900
tgaacgaaca aagcacattg agctcgattg tcactttggt cgtgaaaaaa ttatttctgg	960
tctcgtctcc accagttatt tgcgttctc agatcaactt gctgatattt tcacaaaacc	1020
acttggtgca gatgcattta atcaccttat ttccaagttg ggcgtgatcg acatctctct	1080
cccggctcca acttgacggg ggggtgttaa cgtatacaag attttctaat cttgtatatt	1140
tgattttcta atatcttgta tatttgattt tctattatct tgtatttgaa cttttgtatt	1200
tccttagtat caggaaagt agttgtagat attattttat atttcaaate tgtatctaat	1260
acttgccctat ataaaggcca actaatcaat gaaatgaaca catcaatttt ctcaatttct	1320
cattctctgt ttccatatct attctctatt ttcacatttt ctgaaaagaa agatgcttga	1380
catgatcaga gacagttctt tcttcttcat actttcgtac taaacttctc ctggtccgca	1440
actaatcttc catcattttc ttgtgatctt cacttgagga tagtctctag aaaacggcac	1500
ggtcacgctg gataagtgt taggatccct cgaagttgag ttgcatgaat tttgcgggta	1560
cgcaagtgac ttgactctta tcttggacgt cttatatgct cgaccaaag ttggccaagt	1620
cgggatgctc gggttaagcc tctcttaggt caagtttatg agcgaacccc tttctttgag	1680
ggctctttat ttgccaaact gtctgccatt aaagttctat tagagctcta atgctgtgta	1740
tgtggctacc gatcaccttc attctcagag gaatcctctt ttcgaaatttc tggtaacttg	1800
aaactagctg cttcaatttc agccactcga attaaacact aaaacagaa attgagagga	1860
acggggccctc ttccaaatat agaaagaaac agataatgtc aaaagacaca tcaactaggt	1920
cgagatacct gctcacatgc atcacatcta accaactcga gtcggaacgag aaatgagttc	1980
gtaactcgat gataataagg caaaggtcta aaaccacatt cggttgggtg ttgtgttcat	2040
ggaccgatca cgtgccctaa cctaaccccc gcatccatcc accaacagct agtctcgc	2100
gagtccccca aagttcctat ttatatcact aaagtccctt tttctcaaca tagacatgca	2160
aacacgagac aacatggcaa ttctagtcac cgacttcgtt gtcgcgggcta taattttctt	2220
gatcactcgg ttcttagttc gttctctttt caagaaacca acccgaccgc tcccccgagg	2280

76

tcctctcggt tggcccttgg tgggcgcct cctctccta ggcgccatgc ctcacgtcgc	2340
actagccaaa ctcgctaaga agtatggtc	2369

<210> 15
 <211> 1102
 <212> DNA
 <213> Viola x wittrockiana

<220>
 <221> misc_feature
 <223> BP40pro

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(6)
 <223> HindIII

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1097)..(1102)
 <223> BamHI

<400> 15	
aagcttgtga tcgacatctc tctcccggt ccaacttgac ggggggtgtt aaacgtatac	60
aagattttct aatcttgtat atttgatttt ctaatatctt gtatatattga ttttctatta	120
tcttgtattt gaacttttgt atttccttag tatcaggaaa gttagttgta gatattattt	180
tatatttcaa atctgtatct aatacttgcc tatataaagg ccaactaatc aatgaaatga	240
acacatcaat tttctcaatt tctcattctc tgttttcata tctattctct attttcacat	300
tttctgaaaa gaaagatgct tgacatgac agagacagtt ctttcttctt catactttcg	360
tactaaactt ctctgggtcc gcaactaatc ttccatcatt ttcttgtgat cttcacttga	420
ggatagtctc tagaaaacgg cacggtcacg ctggataagt gtttagctag cctcgaagtt	480
gagttgcatg aattttgcgg gtacgcaagt gacttgactc ttatcttggc cgtcttatat	540
gctcgaccaa atgttggcca agtcgggatg ctcgggttaa gcctctctta ggtcaagttt	600
atgagcgaac ccttttcttt gagggctctt tatttgccaa ctcgtctgcc attaaagttc	660
tattagagct ctaatgctgt gtatgtggct accgatcacc ttcattctca gaggaatcct	720
cttttcgaat ttctgggtact ttgaaactag ctgcttcaat ttcagccact cgaattaaac	780
actaaaacag aacattgaga ggaacgggcc ctcttccaaa tatagaaaga aacagataat	840
gtcaaaagac acatcaacta ggtcgagata cctgctcaca tgcatcacat ctaaccaact	900
cgagtcggac gagaaatgag ttcgtaactc gatgataata aggcaaaggt ctaaaaccac	960
attcggttgg tggttgtgtt catggaccga tcacgtgccc taacctaacc cccgcatcca	1020
tccaccaaca gctagtcctc gccgagtcct ccaaagttcc tatttatatc actaaagtcc	1080
ctttttctca acatagggat cc	1102

<210> 16
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Cebador BP40pro-HindIII-F

<400> 16
aagcttgtagc tcgacatctc tctcc

25

<210> 17
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Cebador BP40pro-NheI-R

<400> 17
cgaggctagc taaacactta t

21

<210> 18
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Cebador BP40pro-NheI-F

<400> 18
ttagctagc ctogaagttg

20

<210> 19
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Cebador BP40pro-BamHI-R

<400> 19
ggatccctat gttgagaaaa agggact

27

<210> 20
<211> 41
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Cebador HAP gPf3ATpro long Fd

<400> 20
aagcttggcg cgccgttttaa acaactatta tgatcccaca g

41

<210> 21
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Cebador X-gPf3ATpro-RV

<400> 21
tctagaggcg gtggtgaacg tagctgtgg 29

<210> 22
<211> 41
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador SSS-gPf3ATter-Fd

<400> 22
gagctcacta gtgtcgacta aatgtatgta attaaactaa t 41

<210> 23
<211> 43
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador ESS-gPf3ATter-Rv

<400> 23
gaattcaggc ctgcccgggc tatctttatc atatttcgtc tac 43

<210> 24
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador SpeISmaI-ADH-Fd

<400> 24
actagtcctcg gggctctatct aactcagtat tcag 34

<210> 25
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador SacI-BP40-Rv

<400> 25
gagctctcag gttgcgtacg ggtttgagg 29

<210> 26
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> cebador RrF3H-F

<400> 26
aagcttctag ttagacaaaa agcta 25

<210> 27
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> cebador RrF3H

<400> 27
ggatcctctc ttgatatttc cgttc

25

<210> 28
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> cebador ADH-BP40-Fd

<400> 28
caagaaaaat aaatggcaat tctagtcacc gac

33

<210> 29
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> NcoI-BP40-Rv

<400> 29
ctcgagcgta cgtgagcatc

20

<210> 30
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> cebador BamHI-ADH-Fd

<400> 30
cgcggatccg tctattttaac tcagtattc

29

<210> 31
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> cebador BP40-ADH-Rv

<400> 31
tagaattgcc atttattttt cttgatttcc ttcac

35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/053909

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/29(2006.01)i, A01H1/00(2006.01)i, A01H5/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N15/00-15/90, A01H1/00, A01H5/00, C12N5/00-5/28

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/BIOSIS/MEDLINE/SCISEARCH/CONFSCI/WPIDS (STN), JSTPlus (JDreamII),
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	WO 2004/020637 A1 (INTERNATIONAL FLOWER DEVELOPMENTS PTY. LTD.), 11 March 2004 (11.03.2004), & EP 1546340 A1 & JP 2006-512057 A & US 7612257 B2	11-19/1-10
X/A	WO 2005/017147 A1 (INTERNATIONAL FLOWER DEVELOPMENTS PTY. LTD.), 24 February 2005 (24.02.2005), & EP 1652916 A1	11-19/1-10
A	WO 1994/028140 A1 (INTERNATIONAL FLOWER DEVELOPMENTS PTY. LTD.), 08 December 1994 (08.12.1994), & EP 703982 A1 & JP 8-511683 A & US 5948955 A	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 May, 2010 (17.05.10)

Date of mailing of the international search report

25 May, 2010 (25.05.10)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/053909

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SEO J et al., Co-expression of flavonoid 3'-5'-hydroxylase and flavonoid 3'-hydroxylase accelerates decolorization in transgenic Chrysanthemum petals., J. Plant Biol., 2007, vol. 50, p. 626-631	1-10
A	WO 1996/025500 A1 (Suntory Ltd.), 22 August 1996 (22.08.1996), & EP 810287 A1 & JP 9-70290 A & US 7105719 B1	1-10
A	YONEKURA-SAKAKIBARA K et al., Molecular and biochemical characterization of a novel hydroxycinnamoyl-CoA: anthocyanin 3-O-glucoside-6"-O-acyltransferase from Perilla frutescens., Plant Cell Physiol., 2000, vol. 41, p. 495-502	1-10
P,X	WO 2009/062253 A1 (INTERNATIONAL FLOWER DEVELOPMENTS PTY. LTD.), 22 May 2009 (22.05.2009), SEQ ID NO:18; paragraphs [0182] to [0195] (Family: none)	11-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/053909

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/053909

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

The inventions according to claims 1-10 are characterized in that a nucleic acid which comprises the sequence depicted in SEQ ID NO:1 and can act as a transcription regulation region for a perilla anthocyanin 3-acyltransferase gene, or a nucleic acid having a high sequence identity to the sequence of the aforementioned nucleic acid is introduced into a plant belonging to the genus *Chrysanthemum* in the family Asteraceae.

The inventions according to claims 11-19, on the other hand, are characterized by a nucleic acid which comprises the sequence depicted in SEQ ID NO:15 and can act as a transcription regulation region for a pansy flavonoid 3'-5'-hydroxylase gene, or a nucleic acid having a high sequence identity to the sequence of the aforementioned nucleic acid.

A common technical feature between the former group of inventions and the latter group of inventions resides only in a nucleic acid that can act as a plant-derived gene transcription regulation region. However, many nucleic acids each of which can act as a plant-derived gene transcription regulation region and can induce the expression of a heterogeneous gene when introduced into a transgenic plant have been reported before the filing of the present application, as disclosed in Document 1 shown below. Therefore, the technical feature cannot be regarded as a "special technical feature" as prescribed in PCT Rule 13.2.

Consequently, it is considered that the claims of the present application include the following different two groups of inventions: claims 1-10; and claims 11-19, which do not comply with the requirement of unity of invention.

Document 1: WO 2004/020637 A1

84

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/JP2010/053909

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

AOKI, Atsushi
SEIWA PATENT & LAW, Toranomom 37 Mori Bldg.,
5-1, Toranomom 3-chome, Minato-ku, Tokyo
1058423
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 07 October 2011 (07.10.2011)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference Y539-PCT	
International application No. PCT/JP2010/053909	International filing date (day/month/year) 09 March 2010 (09.03.2010)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address National Agriculture and Food Research Organization 3-1-1, Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 3058517 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address Incorporated Administrative Agency National Agriculture and Food Research Organization 3-1-1, Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 3058517 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned
	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Fujino Kaori e-mail pt07.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 07
---	--

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

AOKI, Atsushi
SEIWA PATENT & LAW, Toranomon 37 Mori Bldg.,
5-1, Toranomon 3-chome, Minato-ku, Tokyo
1058423
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 07 October 2011 (07.10.2011)	
Applicant's or agent's file reference Y539-PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP2010/053909	International filing date (day/month/year) 09 March 2010 (09.03.2010)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

NODA, Naonobu: AIDA, Ryutaro: SATO, Sanae: OHMIYA, Akemi
c/o National Institute of Floricultural Science, National Agriculture and Food
Research Organization, 2-1, Fujimoto, Tsukuba-shi, Ibaraki
3058519
JapanState of Nationality
JPState of Residence
JP

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

NODA, Naonobu: AIDA, Ryutaro: SATO, Sanae: OHMIYA, Akemi
c/o National Institute of Floricultural Science, Incorporated Administrative
Agency National Agriculture and Food Research Organization, 2-1,
Fujimoto, Tsukuba-shi, Ibaraki
3058519
JapanState of Nationality
JPState of Residence
JP

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Fujino Kaori

e-mail pt07.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 07

Facsimile No. +41 22 338 90 90

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: 22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) Prioridad (32) Fecha (33) País 2009-107055 24/04/2009 JP		(51) Int Cl: C12N 015/029 (71) Solicitante(s) INCORPORATED ADMINISTRATIVE AGENCY NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION y SUNTORY HOLDINGS LIMITED (72) Inventor(es) NAONOBU NODA Y OTROS (74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 24/11/2011 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 09/03/2010 No. de solicitud PCT/JP2010/053909		(87) Publicación internacional Fecha: 28/10/2010 N° publicación: WO 2010/122850	
(54) Titulo: MÉTODO PARA PRODUCIR UNA PLANTA DE CRISANTEMO QUE TIENE PÉTALOS QUE CONTIENEN ANTOCIANINA MODIFICADA			

Resumen:

Se divulgan un método para controlar la síntesis de flavonoides en una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo mediante tecnología de recombinación genética, utilizando una región reguladora de transcripción útil para alterar el color de las flores, un método para modificar antocianinas, un método para producir una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, que contiene antocianinas modificadas en sus pétalos, y una planta de crisantemo o una planta distinta de crisantemo, su progenie, o productos propagados vegetativamente, parte o tejido de la misma, transformada con la región reguladora. En el método de acuerdo con la presente invención, se usa un vector de expresión o casete de expresión que contiene una región reguladora de transcripción del gen de la antocianina 3-aciltransferasa de perilla, tal como un ácido nucleico que contiene la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 1, o una región reguladora de transcripción del gen F3'5'H de pensamiento, tal como la secuencia nucleotídica indicada en SEQ ID NO. 15.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0099110

Bogotá D.C., Octubre 07 de 2011 - 17:12:08

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629951	07/10/2011	57.648.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	VR. UNDITARIO	VR. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1642 S.DISTINTIVO CAMBIOO TITULARIDAT-TRANSFERENCIA INSCRIPC	361.000.00	361.000.00
				\$361.000.00

SON: **TRESCIENTOS SESENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-143302- -00000-0000

Fecha: 2011-10-24 17:22:43 Dep. 2020 DIR NUEVASOR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 91

COLO: 18835 -84-002-8

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Octubre 7 de 2011 - 17:12:18

89

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

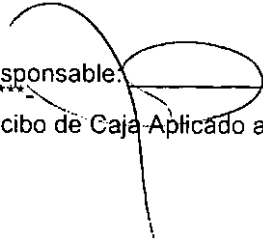
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 0099124
		Bogotá D.C., Octubre 07 de 2011 - 17:12:08

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS	NI 860.041.367
---------------------------------	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629951	07/10/2011	57.648.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	1612 TASA ANUAL AÑOS 8 a 12 CUATRENIO PARA MANTENIMIENTO DE	451.000.00 451.000.00
			\$451.000.00

SON: **CUATROCIENTOS CINCUENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-143302-00000-0000

Fecha: 2011-10-24 17:22:43 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE(YII) Eva: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 91

COLO: 18835 - 841-002-8

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0099195

Bogotá D.C., Octubre 07 de 2011 - 17:12:08

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629951	07/10/2011	57.648.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	1.000.00	1.000.00
				\$1.000.00

SON: **MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-143302-00000-0000
Fecha: 2011-10-24 17:22:43 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 91

0010: 18835 - 841-002-8

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870264 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Octubre 7 de 2011 - 17:12:20

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0099196

Bogotá D.C., Octubre 07 de 2011 - 17:12:08

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629951	07/10/2011	57.648.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	1.000.00	1.000.00
				\$1.000.00

SON: **MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-143302-00000-0000
Fecha: 2011-10-24 17:22:43 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE IYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 91

COLO: 18835-841-002-8

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-810165 Call Center: (571) 6513240

Octubre 7 de 2011 - 17:12:20



No. 11-143302- -00000-0000

Fecha: 2011-10-24 17:22:43 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 91

6/00

PATENTE DE INVENCION ☐

MODE

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐