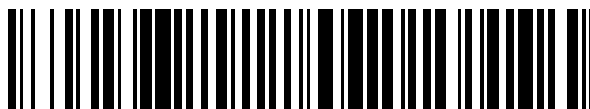


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 400 809**

51 Int. Cl.:

C07K 14/325 (2006.01)

A01H 5/10 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

A01N 63/00 (2006.01)

A01H 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2006 E 06813951 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2012 EP 1919935**

54 Título: **Secuencias de nucleótidos que codifican proteínas insecticidas**

30 Prioridad:

31.08.2005 US 713144 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.04.2013

73 Titular/es:

**MONSANTO TECHNOLOGY LLC (100.0%)
800 NORTH LINDBERGH BLVD.
ST. LOUIS, MO 63167, US**

72 Inventor/es:

**BOGDANOVA, NATALIA, N.;
CORBIN, DAVID, R.;
MALVAR, THOMAS, M.;
PERLAK, FREDERICK, J.;
ROBERTS, JAMES, K. y
ROMANO, CHARLES, P.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 400 809 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Secuencias de nucleótidos que codifican proteínas insecticidas

Antecedentes de la invención

La presente invención proporciona nuevas secuencias codificantes para su uso en plantas. Las secuencias codificantes codifican una proteína insecticida quimérica, tóxica para una amplia diversidad de plagas de especies de lepidópteros, en cultivos.

Desde hace tiempo se han usado formulaciones comerciales de aislados de origen natural de *B. thuringiensis* para el control biológico de plagas de insectos en la agricultura. Las esporas y los cristales de Bt obtenidos de la fermentación de la especie *Bacillus thuringiensis* se concentran y se formulan para aplicación foliar de acuerdo con las prácticas agrícolas convencionales.

Se conocen miembros de la familia de las proteínas cristal Cry1 que presentan bioactividad contra larvas de insectos lepidópteros y que son útiles como agentes para el control de plagas de insectos lepidópteros. La forma precursora de las δ -endotoxinas de Cry1 consiste en dos segmentos aproximadamente del mismo tamaño. La parte carboxi-terminal de la proteína precursora, o segmento pro-toxina, estabiliza la formación del cristal y no presenta actividad insecticida. La mitad amino-terminal de la proteína precursora comprende el segmento toxina de la proteína Cry1 y, basándose en el alineamiento de secuencias conservadas o sustancialmente conservadas dentro de los miembros de la familia Cry1, puede subdividirse adicionalmente en tres dominios estructurales. Estos tres subdominios se basan en un modelo estructural cristalográfico tridimensional de una δ -endotoxina de Cry1A en la cual los tres subdominios se denominan Dominio I, Dominio II y Dominio III, respectivamente, según se mide desde el extremo amino del segmento toxina de la proteína. El Dominio I comprende aproximadamente el primer tercio del segmento toxina activo y se ha observado que es esencial para la formación de canales (Thompson y col., 1995). Los Dominios II y Dominio III comprenden aproximadamente los segmentos central y carboxi-terminal, respectivamente, de la parte de toxina activa. Ambos Dominios II y III se han implicado en la unión a receptores y en la especificidad por especies de insecto, dependiendo del insecto y de la δ -endotoxina que se esté examinando (Thompson y col., 1995).

La probabilidad de crear arbitrariamente una proteína quimérica con propiedades mejoradas a partir de la reagrupación de las estructuras dominio de las numerosas proteínas de cristal insecticidas nativas conocidas en la técnica es remota. Esto se debe a la naturaleza compleja de la estructura, al plegamiento, a la oligomerización y a la activación de la proteína, incluyendo el procesamiento proteolítico correcto del precursor quimérico, si se expresa en dicha forma, para liberar un segmento toxina insecticida. Únicamente seleccionando cuidadosamente las regiones diana específicas dentro de cada proteína parental para la inclusión en una estructura quimérica pueden construirse toxinas insecticidas funcionales que presenten una actividad insecticida mejorada en comparación con las proteínas parentales a partir de las cuales derivan las quimeras. La experiencia ha demostrado que el reensamblaje de los dominios toxina, es decir, el ensamblaje de una toxina quimérica que consiste en el dominio I, II y III de cualquiera de dos o más toxinas que son diferentes entre sí, da como resultado la construcción de una proteína que presenta una formación cristalina defectuosa y/o la ausencia completa de cualquier actividad insecticida detectable dirigida a una especie de insecto plaga diana preferida. En algunos casos, una toxina quimérica presentará buenas propiedades para la formación de cristales, aun presentando actividad insecticida no detectable. Solo se formulan quimeras insecticidas eficaces por ensayo y error, e incluso después, no es seguro que el experto en la materia de con una quimera que presente actividad insecticida que sea equivalente a, o en comparación mejor que, cualquier proteína de toxina parental individual a partir de la cual pueden haber derivado los constituyentes de la quimera.

La bibliografía describe ejemplos de la construcción o el ensamblaje de proteínas quiméricas a partir de dos o más precursores de proteínas de cristal insecticidas de Bt, aunque no todas presentaban propiedades insecticidas o de formación de cristales que fuesen equivalentes a, o en comparación mejor que, las proteínas precursoras a partir de las cuales derivaban las quimeras. (Bosch y col. (WO95/06730); Thompson y col. (WO95/30753); Thompson y col. (WO95/30752); Malvar y col. (WO98/22595); Gilroy y col. (Patente de Estados Unidos Nº 5.128.130); Gilroy (Patente de Estados Unidos Nº 5.055.294); Lee y col. (1992) Gene 267: 3115-3121; Honee y col. (1991) Mol. Microbiol. 5 : 2799-2806; Schnepf y col. (1990) J. Biol. Chem. 265: 20923-20930; Perlak y col. (1990) Bio/rechnol. 8: 939-9943; Perlak y col. (1993) Plant Mol. Biol. 22: 313-321).

Se ha demostrado que la expresión de δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* en plantas de maíz transgénicas es un medio eficaz para controlar plagas de insectos importantes desde el punto de vista agrícola (Perlak y col. 1990; 1993). Los cultivos transgénicos que expresan δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* permiten a los agricultores reducir significativamente el tiempo y los costes asociados con las aplicaciones de insecticidas químicos aplicados por vía tópica. El uso de transgenes que codifiquen δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* es particularmente ventajoso. Las plantas de cultivo que expresan δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* en áreas con una fuerte presión de insectos presentan rendimientos mejorados que son mejores que, o de otra manera, similares a los de variedades de plantas comerciales no transgénicas similares. Sin embargo, se espera que los insectos puedan desarrollar resistencia a las δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* expresadas en plantas transgénicas. Si dicha resistencia llegase a dispersarse, limitaría claramente el valor comercial del germoplasma que contiene los genes que codifican dichas δ -endotoxinas

de *B. thuringiensis*. Un posible manera de aumentar la eficacia de los insecticidas transgénicos contra plagas diana y reducir al mismo tiempo el desarrollo de plagas resistentes a insecticidas sería garantizar que los cultivos transgénicos expresasen altos niveles de δ -endotoxinas de *B. thuringiensis*. (McGaughey and Whalon 1993; Roush 1994). Además, teniendo un banco de genes insecticidas que fuesen eficaces contra grupos de plagas de insectos y que manifestasen sus efectos a través de diferentes modos de acción se podría proteger contra cualquier desarrollo de resistencia. La expresión en una planta de dos o más composiciones insecticidas tóxicas contra la misma especie de insecto, expresándose cada insecticida a niveles lo suficientemente altos como para retrasar eficazmente la aparición de la resistencia, sería otra manera de conseguir el control del desarrollo de la resistencia. Son ejemplos de dichos insecticidas útiles en dichas combinaciones los que incluyen, pero sin limitación, toxinas de Bt, proteínas insecticidas de *Xenorhabdus* sp. de *Photorhabdus* sp., proteínas y/o permutéinas de patatina desalergenizadas y desglucosiladas, lectinas de plantas y similares. Ha sido difícil conseguir la co-expresión de múltiples proteínas activas desde el punto de vista insecticida en la misma planta, y/o altos niveles de expresión de estas proteínas insecticidas sin producir efectos morfológicos no deseables a las plantas.

De las más de doscientas cincuenta proteínas insecticidas individuales que se han identificado procedentes de la especie *Bacillus thuringiensis*, tan solo se han ensayado unas cuantas para la expresión en plantas. Diversas Cry1's, Cry3's, Cry2Aa y Cry2Ab, toxinas binarias Cry33/34 y Cry23/37 y una Cry9 se han expresado con éxito en plantas. Las proteínas Cry1 representan la clase de proteínas más grande que se haya expresado en plantas, pero ninguna se ha expresado a altos niveles. Ha sido necesario dirigir la Cry2Ab al cloroplasto para impedir efectos citotóxicos no deseables. La mayoría de acres plantados con plantas recombinantes expresan las proteínas Cry1A. La probabilidad de la aparición de resistencia a proteínas Cry1A por especies de plagas de insectos diana es sustancialmente mayor de la que sería si también se expresase un alelo con tratamiento de resistencia junto con el alelo cry1 o si el alelo cry1 se expresase a altos niveles. Por tanto es deseable desarrollar genes toxina alternativos para la expresión en plantas como complementos y sustitutos de los que actualmente se están usando en la primera y segunda generación de plantas transgénicas resistentes a insectos.

Sumario de la invención

La invención proporciona un polinucleótido que codifica una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEC ID N°: 2 desde la posición 10 de aminoácido a la posición 600 de aminoácido. Dicho polinucleótido es adecuado para la expresión en plantas y codifica una proteína insecticida que presenta propiedades inhibitoras de insectos lepidópteros. La SEC ID N°: 1 es un ejemplo de dichas secuencias de nucleótidos que consiste en un gen cry1A. 105 y codifica una proteína Cry1A. 105 inhibidora de insectos. La SEC ID N°: 1 es similar a la SEC ID N°: 3, codificando ambas una proteína Cry1A. 105. Se prefiere la SEC ID N°: 1 para su uso en células de plantas dicotiledóneas, mientras que se prefiere la SEC ID N°: 3 para su uso en células de plantas monocotiledóneas. La SEC ID N°: 3 codifica la SEC ID N°: 4 y es idéntica, en cuanto a la secuencia de aminoácidos, a la SEC ID N°: 2.

La invención también proporciona una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEC ID N°: 2 desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600 que presenta actividad inhibitora dirigida contra especies de insectos lepidópteros. Las proteínas insecticidas anteriores, que contienen al menos la proteína toxina Cry1A.105, también se denominan, en lo sucesivo en el presente documento, proteínas Cry1A.105 insecticidas. La proteína precursora de longitud completa consiste en aproximadamente 1177 aminoácidos como se expone en la SEC ID N°: 2. Se pretende incluir dentro del alcance de la invención cualquier composición que consista en una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de la proteína Cry1A.105 insecticida.

La invención también proporciona un casete de expresión para su uso en la expresión de una proteína insecticida como se expone en la SEC ID N°: 2 en una célula huésped. El casete de expresión contiene preferentemente un promotor funcional en la célula huésped deseada que está unido a, y regula la expresión de, una secuencia de nucleótidos que codifica un segmento insecticida de una proteína Cry1A.105. En el presente documento se proporcionan casetes de expresión ejemplares como se expone en la SEC ID N°: 5 y SEC ID N°: 7, destinados para su uso en una célula de una planta dicotiledónea o en una célula de una planta monocotiledónea respectivamente. El promotor y la secuencia codificante están unidos operativamente y funcionan juntos en la célula huésped. El casete de expresión puede destinarse para su uso en cualquier célula huésped, pero preferentemente para su uso en una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero o una célula vegetal. Preferentemente, las células bacterianas se seleccionan del grupo que consiste en una célula de especies de *Bacillus*, una célula de especies de *Enterobacteriaceae*, una célula de especies de *Pseudomonas*, una célula de especies de *Clostridium*, una célula de especies de *Rhizobium* y una célula de especies de *Agrobacterium*. Si la célula huésped es una célula vegetal, es preferible que esta célula se seleccione de una célula de una especie de planta de cultivo, preferentemente una célula de planta dicotiledónea o una célula de planta monocotiledónea. Son ejemplos de células de plantas dicotiledóneas la alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, judía, baya, mora, arándano, colza, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, tilo, algodón, alubia, arándano agrio, pepino, cucurbitácea, berenjena, árbol frutal, uva, limón, lechuga, lino, melón, mostaza, árbol de frutos secos, quimbombo, naranja, guisante, melocotón, cacahuete, pera, ciruela, patata, soja, calabaza, fresa, remolacha azucarera, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y hortalizas. Son ejemplos de células de plantas monocotiledóneas el maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo negro, centeno, grama (*festuca*, *timothy*, *bromo*, *vergel*, *San Agustín*, *Bermuda*, *agróstide*) y cebada. Los

casetes de expresión destinados para su uso en una célula vegetal contienen típicamente secuencias unidas operativamente que regulan los niveles y la eficacia de la expresión de una sustancia deseada, tal como la proteína insecticida Cry1A.105. Dichas secuencias pueden ser una secuencia potenciadora de la expresión, una secuencia líder no traducida, una secuencia intrónica, una secuencia que codifica un péptido que se dirige al cloroplasto y una secuencia poliadenilación y terminación de la transcripción.

El casete de expresión se incorpora preferentemente en un vector para su uso en la estabilización de la conservación de la secuencia codificante de Cry1A.105 dentro de la célula huésped. Un vector puede ser cualquier cantidad de estructuras conocidas en la técnica, pero típicamente es un plásmido o un replicón en el que el casete de expresión se construye o se inserta antes de la incorporación en la célula huésped. Un vector está destinado a incluirse, pero sin limitación, en un plásmido, un cósmido, un bácmido, un fagémido, un YAC (cromosoma artificial de levadura), un BAC (cromosoma artificial bacteriano), un vector suicida, una secuencia de inserción, un transposón o incluso en una secuencia de nucleótidos lineal a la que se une el casete de expresión o en la que se inserta el casete de expresión.

Las plantas transgénicas resistentes a plagas de insectos lepidópteros constituyen una realización de la presente invención. Dichas plantas contienen una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína Cry1A.105 insecticida como se expone en la SEC ID N°: 2 desde al menos la posición del aminoácido 10 a aproximadamente la posición del aminoácido 600. La planta transgénica es eficaz en el control de plagas de insectos lepidópteros producidas por insectos tales como enrolladores foliares, gusanos cortadores, gusanos cogolleros, barrenadores, orugas de bolsón y cualquier consumidor de forraje. Las plagas preferidas son el gusano cogollero, el barrenador europeo del maíz, el gusano de la mazorca del maíz (gusano de la cápsula del algodón) y el barrenador sudoccidental del maíz.

La presente invención pretende incluir la progenie y semillas o frutos o productos cosechados de las plantas transgénicas de la presente invención, siempre que la secuencia de nucleótidos de la presente invención que codifica un segmento insecticida de Cry1A.105 se conserve dentro del genoma heredable y/o plástido de las células de la planta, su progenie, semillas y similares.

La presente invención también proporciona uno o más procedimientos para el control de plagas de insectos lepidópteros de una planta proporcionando en la dieta de un insecto plaga una composición que contenga una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de una proteína insecticida Cry1A.105. Una composición de este tipo serían las células vegetales que se han formado o que descienden de una célula vegetal transformada con una secuencia de ácido nucleico que codifica un segmento insecticida de una secuencia de aminoácidos de Cry1A.105 como se expone en la SEC ID N°: 2. Una planta transgénica generada a partir de una célula vegetal transformada para contener un casete de expresión, ilustrado como se expone en la SEC ID N°: 5 y SEC ID N°: 7, que contiene una secuencia de codifica una secuencia de aminoácidos insecticida Cry1A. 105, sería un medio para proporcionar una composición insecticida en la dieta de un insecto. Otro medio sería producir una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de una proteína Cry1A. 105 en una célula bacteriana o fúngica y proporcionar la célula bacteriana o la célula fúngica o una cantidad purificada de la proteína Cry1A.105 en la dieta de uno o más insectos plaga diana susceptibles a la proteína Cry1A. 105.

Siendo obvias las diversas ventajas y características de la presente invención, la naturaleza de la invención puede entenderse más claramente por referencia a la siguiente descripción detallada, a los ejemplos y a las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de las secuencias

La SEC ID N°: 1 es una secuencia sintética para la expresión de una proteína insecticida Cry1A.105, preferentemente en una célula de una planta dicotiledónea.

La SEC ID N°: 2 es una proteína Cry1A.105 codificada a partir de la secuencia de nucleótidos como se expone en la SEC ID N°: 1.

La SEC ID N°: 3 es una secuencia sintética para la expresión de una proteína insecticida Cry1A.105, preferentemente en una célula de una planta monocotiledónea.

La SEC ID N°: 4 es una proteína Cry1A.105 codificada a partir de la secuencia de nucleótidos como se expone en la SEC ID N°: 3.

La SEC ID N°: 5 representa una secuencia de nucleótidos que consiste en un casete de expresión que actúa en una célula vegetal, y preferentemente en una célula de una planta dicotiledónea, para expresar una proteína insecticida Cry1A.105.

La SEC ID N°: 6 representa una proteína insecticida Cry1A.105 codificada por un segmento dentro del casete de expresión como se expone en la SEC ID N°: 5.

La SEC ID N°:7 representa una secuencia de nucleótidos que consiste en un casete de expresión que actúa en una célula vegetal, y preferentemente en una célula de una planta monocotiledónea, para expresar una proteína

insecticida Cry1A.105.

La SEC ID N°: 8 representa una proteína insecticida Cry1A.105 codificada por un segmento dentro del casete de expresión como se expone en la SEC ID N°: 7.

Descripción detallada de la invención

5 De acuerdo con la presente invención, los autores de la invención han construido secuencias de nucleótidos que codifican una nueva proteína insecticida, identificada en el presente documento como una proteína Cry1A.105. Se ha identificado que la secuencia de aminoácidos de Cry1A. 105, expuesta en la SEC ID N°: 2, presenta propiedades que proporcionan ventajas sobre las proteínas insecticidas de Bt de origen natural que son tóxicas a especies de insectos lepidópteros. En particular, la proteína Cry1A.105 puede expresarse a altos niveles en plantas
10 monocotiledóneas y dicotiledóneas sin que la mayoría de los sucesos transgénicos presenten efectos fitotóxicos como resultado de los niveles aumentados de la expresión en comparación con los efectos observados cuando las proteínas Cry1 de origen natural se expresan en plantas. Además, la proteína Cry1A.105 forma cristales estables cuando se expresa en *Bacillus thuringiensis*, probablemente debido al efecto estabilizante del segmento protoxina de Cry1Ac unido al resto toxina de la proteína quimérica Cry1A. 105. Además, la proteína insecticida Cry1A.105 presenta un intervalo de bioactividad insecticida dirigido contra especies de lepidópteros no observado con otras
15 proteínas Cry1 de origen natural hasta ahora identificadas. Por lo tanto, la expresión de la proteína Cry1A. 105 en plantas transgénicas produce cantidades aumentadas de sucesos transgénicos morfológicamente normales que expresan niveles más altos de un análogo de una toxina Cry1 que presenta un amplio espectro de control de insectos plaga lepidópteros para cualquier suceso que se seleccione para el desarrollo comercial. Dichos sucesos deben dar como resultado la ventaja de retrasar la aparición de resistencia contra el análogo de la toxina Cry1A y cuando se combinan con una segunda toxina que es tóxica para una o más de las especies de insectos plaga contra la cual el análogo de Cry1A es también tóxico y que ejerce su modo de acción de una manera que es diferente de la del análogo de Cry1A, cualquier probabilidad de desarrollo de resistencia contra cualquier toxina se espera que sea extremadamente remota.

25 Los inventores han construido al menos dos secuencias de nucleótidos diferentes para su uso en plantas, codificando cada secuencia de nucleótidos la misma proteína insecticida Cry1A.105. Aproximadamente los dos primeros tercios (o extremo amino) de la parte insecticida de la proteína Cry1A.105 consisten en las secuencias de aminoácidos derivadas de una secuencia de aminoácidos de Cry1Ab. Esta secuencia está unida al extremo carboxilo de la parte toxina y una parte del dominio protoxina de una secuencia de aminoácidos derivada de una
30 proteína insecticida Cry1 obtenida de una cepa de *Bt aizawai* Ecogen EG6346 (Chambers y col., 1991, J. Bacteriol. 173: 3966-3976). El segmento toxina de Cry1A.105 se une después a un segmento que es sustancialmente una secuencia peptídica de la protoxina de Cry1Ac. Los autores de la invención demuestran que esta construcción proporciona una secuencia de aminoácidos única que presenta propiedades insecticidas sorprendentemente mejoradas cuando se compara con las propiedades mostradas por la proteína a partir de la cual deriva la quimera. Adicionalmente, la proteína precursora de Cry1A.105 presenta excelentes propiedades de formación de cristal y se disuelve y se procesa eficazmente a la forma toxina activa en el intestino de plagas de insectos lepidópteros diana específicos.

Las secuencias de nucleótidos representadas en el presente documento se han construido usando los procedimientos expuestos en las Patentes de Estados Unidos N° 5,500,365 y 5,689,052, evitando en particular
40 determinadas secuencias inimicas en la secuencia codificante que se ha observado que son problemáticas para la expresión de secuencias de genes heterólogos en células vegetales. El segmento que codifica la parte toxina de la proteína Cry1A. 105 consiste en los nucleótidos como se expone en las SEC ID N°: 1 y SEC ID N°: 3 desde aproximadamente la posición 1 hasta aproximadamente la posición 1830, más o menos. La secuencia como se indica en la SEC ID N°: 1 se construyó para su uso en especies de plantas dicotiledóneas, y en particular, en plantas de algodón. La secuencia como se indica en la SEC ID N°: 3 se construyó para la expresión en plantas monocotiledóneas, y en particular, en especies de plantas de mazorca o maíz.

Las secuencias de nucleótidos de la presente invención presentan entre sí una identidad global de aproximadamente 94,3% y son idénticas desde aproximadamente la posición del nucleótido 1330 hasta
50 aproximadamente la posición del nucleótido 3534. El segmento de cada una de estas secuencias de nucleótidos que codifica la parte toxina de la proteína Cry1A.105 presenta, desde aproximadamente la posición del nucleótido 1 a aproximadamente la posición del nucleótido 1830, una identidad entre sí de aproximadamente 88,9%. El segmento de estas secuencias de nucleótidos que codifica las dos primeras estructuras dominio de la proteína Cry1A.105 es sustancialmente más diverso y solo presenta una identidad entre sí de aproximadamente 84,7%.

Los autores de la invención han construido sucesos de plantas transgénicas usando estas secuencias.

55 La SEC ID N°: 1 se introdujo en un vector plasmídico que contenía un casete de expresión que consistía en una secuencia promotora potenciada del Virus del Mosaico de Escrofularia (eFMV, *enhanced Figwort Mosaic Virus*) unida operativamente a una secuencia líder no traducida Hsp70 de *Petunia hybrida* (Ph.Hsp70, a.k.a., DnaK), una secuencia codificante peptídica que se dirige al cloroplasto de la subunidad pequeña de la ribulosa bis fosfato carboxilasa de *Arabidopsis thaliana* y una secuencia de poliadenilación y terminación de la transcripción del gen de

la subunidad pequeña de la ribulosa bis fosfato carboxilasa E9 de *Pisum sativum*. La secuencia codificante de CryIA.105 como se expone en la SEC ID N°: 1 se insertó en este casete de expresión en fase con e inmediatamente adyacente a la secuencia codificante del extremo 3' de la secuencia codificante del péptido diana y cadena arriba de la secuencia de terminación E9. La secuencia de nucleótidos del casete de expresión resultante se expone en la SEC ID N°: 5. Se escindió un segmento del vector que contenía el casete de expresión Cry1A.105 unido a un segundo casete de expresión que contenía un marcador de GUS que podía expresarse en plantas y se usó para generar sucesos de algodón transgénicos usando procesos biolísticos. Los sucesos transgénicos se ensayaron en un bioensayo para determinar la actividad insecticida contra varias especies diferentes de plagas de lepidópteros y se determinó que presentaban propiedades de control de insectos significativamente mejores que las de las plantas de algodón resistentes a insectos previamente existentes que sólo contenían Cry1Ac o una combinación de las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab. Además, algunos de los sucesos de algodón transgénicos de Cry1A.105 presentaron niveles de acumulación de la proteína Cry1A.105 que superaban de 10 a 20 partes por millón durante el periodo de cultivo, incluso en las cápsulas del algodón, y sin presentar ningún efecto fitotóxico en la planta o en los tejidos reproductores. Esto difiere de otras proteínas Cry1 que se han ensayado previamente, que generalmente sólo fueron capaces de presentar niveles de acumulación inferiores a aproximadamente 10 partes por millón, dirigidas o no a cloroplastos. Cuando otras proteínas de tipo Cry1 se ensayaron en algodón se observaron efectos fitotóxicos, especialmente cuando los niveles de acumulación de Cry1 alcanzaban o superaban aproximadamente 10 ppm.

La SEC ID N°: 3 se introdujo en un vector plasmídico que contenía un casete de expresión que consistía en una secuencia promotora potenciada del Virus del Mosaico de la Coliflor (eCaMV) unida operativamente a una secuencia líder no traducida del gen de la proteína de unión principal de la clorofila a/b de *Triticum aestivum* y una secuencia intrónica de actina de *Oryza sativa*, y una secuencia de poliadenilación y terminación de la transcripción del gen *hsp17* de *Triticum aestivum*. La secuencia codificante de Cry1A.105 como se expone en la SEC ID N°: 3 se insertó en este casete de expresión inmediatamente adyacente a y en dirección 3' de la secuencia intrónica y cadena arriba de la secuencia de terminación. La secuencia de nucleótidos del casete expresión resultante se expone en la SEC ID N°: 7. El vector también contiene un marcador de selección del herbicida glifosato que se usó para seleccionar sucesos transformados con el casete de expresión de CryIA.105. Los sucesos del maíz seleccionados después de la transformación con el casete de expresión de Cry1A.105 se ensayaron en bioensayos contra diversas especies de plagas de lepidópteros y se determinó que presentaban un amplio intervalo de actividad insecticida que no era frecuente con sucesos transformados con otras proteínas insecticidas de Bt tal como Cry1Ab. Las actividades del gusano cogollero y del gusano cortador negro presentadas por sucesos que expresaban niveles insecticidas de Cry1A.105 junto con la actividad insecticida de Cry1A.105 dirigida al gusano de la mazorca del maíz y al barrenador del maíz equivalente o mayor que la de los sucesos que expresan Cry1Ab, proporcionan un espectro más amplio de actividad insecticida para sucesos de Cry1A.105.

Las secuencias de nucleótidos de la presente invención son ejemplares. Otras secuencias de nucleótidos pueden expresar un fragmento de la proteína insecticida Cry1A.105 en una célula vegetal, y además pueden diseñarse otras secuencias de nucleótidos que se expresen bien en otros tipos de células huésped. Sin limitar el alcance de la divulgación, se pretende que una secuencia de nucleótidos, para su uso en la expresión de un fragmento insecticida de CryIA.105, presente al menos aproximadamente una identidad de secuencia de nucleótidos del 85%, o al menos aproximadamente del 90%, o al menos aproximadamente del 95%, o al menos del 99% o más, con las secuencias de nucleótidos ilustradas en el presente documento. Otras secuencias de nucleótidos destinadas para la expresión de un fragmento insecticida de Cry1A.105 en una célula huésped que no sea una célula vegetal pueden tener cualquier porcentaje de identidad o de similitud con las secuencias de nucleótidos ilustradas. Las secuencias de nucleótidos pueden variar debido a la redundancia del código genético, y por tanto es posible sintetizar cualquier cantidad de secuencias de ácido nucleico que codifiquen cualquier parte de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEC ID N°: 2 y se pretende que todas estas secuencias estén dentro del alcance de la presente invención.

La secuencia de ácido nucleico ejemplificada en el presente documento y expresada en el maíz consiste únicamente en una secuencia codificante de la proteína precursora Cry1A.105, mientras que la secuencia expresada en el algodón consiste en una secuencia codificante de la proteína precursora Cry1A.105 dirigida al cloroplasto. Se ha demostrado que la expresión de proteínas Cry1 en plantas es problemática. No se sabe si cualquier proteína Cry1 particular se expresará bien en cualquier planta particular, y por eso se requiere experimentación por ensayo y error. Algunas proteínas Cry1 expresadas en maíz producirán efectos fitotóxicos, y por eso a veces el direccionamiento de la proteína al cloroplasto alivia dichos efectos. Se observan similares circunstancias con la expresión de las proteínas Cry1 en las plantas de algodón. Los ejemplos del presente documento no pretenden demostrar que la expresión de Cry1A.105 sólo es posible en maíz si se localizan en el espacio citoplásmico, y de manera similar, no pretende demostrar que la expresión de Cry1A.105 sólo es posible en algodón si se localizada en el plastidio. Los ejemplos pretenden demostrar que cualquier procedimiento de localización de la proteína funciona con esta proteína para conseguir plantas morfológicamente normales que presenten altos niveles de expresión y acumulación de la proteína Cry1A.105, y que presente niveles de resistencia comerciales frente a una amplia diversidad de plagas de plantas de insectos lepidópteros en los géneros seleccionados de los grupos que consisten en *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Helicoverpa*, *Heliothis*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*. Se cree que cualquier secuencia codificante peptídica que se dirija al plastidio funcionaría eficazmente para dirigir la proteína Cry1A.105 precursora al plastidio/cloroplasto.

En la técnica se conocen secuencias líder no traducidas, secuencias intrónicas y de poliadenilación y terminación de la transcripción en dirección 3' y el experto en la técnica entenderá que en determinadas circunstancias, la expresión puede potenciarse o estabilizarse incorporando estas secuencias en los casetes de expresión. En la técnica se conocen diversas secuencias de este tipo y están presentes para incluirse dentro del alcance de la presente divulgación.

De manera similar, los promotores que funcionan para conseguir la expresión regulada de una secuencia unida se conocen en la técnica y también están destinados a incluirse dentro del alcance de la presente divulgación. Los promotores pueden seleccionarse para su uso para dirigir la expresión de una secuencia unida en cualquier cantidad de combinaciones de parámetros, incluyendo pero sin limitación, el control de expresión temporal, control de expresión específico espacial o tisular y control de la cantidad de un producto génico particular que se desea que se acumule dentro de una célula o tejido de una planta en particular.

La proteína precursora de longitud completa, que consiste en el resto de aminoácido 1 hasta aproximadamente el resto 3534, presenta excelentes propiedades de formación de cristales y es bien tolerada por las especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. La proteína precursora también presenta excelente estabilidad cuando se encuentra en forma cristalina y también presenta una excelente solubilidad a pH alcalino, en particular a un pH alcalino dentro de un intervalo de aproximadamente 8,0 a aproximadamente 12,0, o de aproximadamente 8,5 a aproximadamente 11,5, o de aproximadamente pH 9,0 a aproximadamente pH 11,0.

La proteína de la presente invención puede purificarse y usarse en solitario en una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida en cualquier cantidad de composiciones destinadas para su uso como un agente para el control de plagas de lepidópteros o puede combinarse en una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida con cualquiera de otros agentes pesticidas que son diferentes de la proteína Cry1A.105. Dichos otros agentes pesticidas que se pretenden incluir, pero sin limitación, con otro proteína Cry de Bt u otras composiciones insecticidas tanto tóxicas como no tóxicas contra una especie de lepidóptero incluyen insecticidas químicos, agentes fungicidas o fungistáticos, antibióticos, agentes antibacterianos, agentes bacteriostáticos y agentes nematocidas o nematostáticos. Dichas combinaciones pesticidas que incluyen una Cry1A.105 junto con cualquier cantidad de otros agentes pesticidas pueden producirse por una célula transgénica o formularse usando agentes pesticidas purificados o sustancialmente purificados en una composición pesticida en una forma que consiste en un polvo, un material granular, una suspensión oleaginosa, una suspensión acuosa, una mezcla de emulsión de aceite y agua o un polvo humectable y después proporcionarse en un transportador aceptable desde el punto de vista agrícola para aplicaciones foliares. Las composiciones también pueden formularse en un tratamiento para semillas, junto con una Cry1A.105 en la composición destinada para la inclusión en el tratamiento de semillas, o como una composición aplicada a una semilla que deriva de una planta transgénica transformada para expresar cantidades eficaces desde el punto de vista insecticida de una Cry1A.105, de tal manera que la composición para el tratamiento de semillas que contiene los agentes pesticidas se proporcione a un lepidóptero plaga diana junto con células de una planta desarrollada a partir de la semilla que produce cantidades eficaces desde el punto de vista pesticida de una proteína Cry1A.105. Una combinación de propiedades insecticidas cada una tóxica para la misma especie de insecto y que aún manifestase sus efectos de toxicidad a través de diferentes modos de acción sería una combinación particularmente útil de agentes pesticidas para el control de especies de lepidópteros o para retrasar la aparición de resistencia contra cualquier agente pesticida individual de otra manera eficaz contra una especie de lepidóptero particular. Una combinación ejemplar de dichas proteínas sería una proteína Cry1A.105 de la presente invención, es decir, una primera proteína insecticida, acoplada al menos con una segunda proteína insecticida diferente de la primera. Dichas proteínas insecticidas diferentes incluyen, pero sin limitación, otras proteínas cristalinas de Bt contra lepidópteros (otras Cry1's, Cry2's, Cry5's, Cry9's), proteínas VIP, proteínas insecticidas de lepidópteros denominadas proteínas TIC, y proteínas insecticidas producidas por especies de bacterias de *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*. Proporcionando en la dieta de un insecto plaga una combinación de una o más proteínas insecticidas junto con un agente diseñado para conseguir la supresión de genes mediada por ARNbc de uno o más genes esenciales para la supervivencia del insecto es una combinación particularmente útil de agentes pesticidas para el control de especies de lepidópteros o para retrasar la aparición de resistencia contra cualquier agente pesticida individual de otra manera eficaz contra una especie de lepidóptero particular.

Las plantas transformadas con las secuencias de nucleótidos de la presente invención se proporcionan como otra realización de la presente invención. En la técnica se conocen procedimientos para introducir de manera estable ADN en las células vegetales, y se incluye pero sin limitación, infiltración al vacío, transformación mediada por *Agrobacterium* o *Rhizobium*, electroporación y diversos procedimientos balísticos. El ADN introducido en las plantas generalmente se dirige para la inserción en el cromosoma nuclear, aunque también puede conseguirse la inserción en el ADN de cloroplastos o plastidios. El ADN introducido en las plantas está generalmente unido a, o asociado con, una secuencia que proporciona un medio para identificar o seleccionar la célula o las células que se han transformado de manera estable con el ADN de interés, incluyendo pero sin limitación, marcadores de lectura tales como genes que emiten fluorescencia o luz y genes que codifican pigmentos o enzimas que, en presencia del sustrato apropiado, otorgan una característica colorimétrica a la célula o células transformadas, o incluyendo marcadores de selección que permitan una selección positiva de las células y tejidos transformados, proporcionando una mayor ventaja a las células transformadas y esencialmente haciendo que las células o tejidos no transformados no se vuelvan estáticos o se mueran. Dichos marcadores de selección incluyen, pero sin limitación, genes que codifican a las enzimas basta, bar, resistencia a metotrexato, neomicin fosfotransferasa, enzimas EPSPS insensibles a glifosato, enzimas glifosato oxidoreductasa (GOX), phnO de *E. coli* o su equivalente y similares.

Los vectores y otros tipos de secuencias diseñados para conservar, manipular y/o conducir las secuencias de nucleótidos ilustradas cuando se están manipulando en el laboratorio o para la introducción en una célula huésped también se incluyen dentro del alcance de la invención y pretende incluir, pero sin limitación, fagos, plásmidos, bácmidos, yácmidos, cósmidos y similares.

- 5 Las plantas transformadas también se encuentran dentro del alcance de la presente invención. Las plantas transformadas que contienen una secuencia de nucleótidos que codifica al menos un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105 son específicamente adecuadas para la presente divulgación. Tanto las plantas monocotiledóneas como las dicotiledóneas se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Se pretende incluir, pero sin limitación, las siguientes monocotiledóneas maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo negro, centeno, grama (festuca, timothy, bromo, vergel, San Agustín, Bermuda, agróstide) y cebada y las plantas dicotiledóneas que se pretende incluir son al menos alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, judía, baya, mora, arándano, colza, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, tilo, algodón, alubia, arándano agrio, pepino, cucurbitácea, berenjena, árbol frutal, uva, limón, lechuga, lino, melón, mostaza, árbol de frutos secos, quimbombo, naranja, guisante, melocotón, cacahuete, pera, ciruela, patata, soja, calabaza, fresa, remolacha azucarera, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y hortalizas. Los productos de estas plantas, así como semillas y tejidos producidos a partir de estas plantas, se incluyen específicamente dentro de la presente invención, siempre que la semilla, el tejido o el producto contenga un transgén que codifique un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105.

- 20 La proteína Cry1A.105 puede usarse para inmunizar animales para producir anticuerpos específicos para epítopes de Cry1A.105. Pueden usarse anticuerpos específicos de Cry1A.105 para detectar la presencia de Cry1A.105 en una muestra biológica. En la técnica se conocen procedimientos para detectar la unión de un anticuerpo a un antígeno. La detección de la unión de un anticuerpo a un epítope de Cry1A.105 en una muestra biológica constituye una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de la proteína en la muestra.

- 25 También pueden detectarse secuencias de nucleótidos que codifiquen un fragmento insecticida de Cry1A.105. Para unirse a una secuencia diana pueden usarse sondas de nucleótidos sintéticas, es decir, una secuencia de nucleótidos que codifique un fragmento insecticida de Cry1A.105. En la técnica se conocen procedimientos para detectar la unión de una sonda a una secuencia diana. La detección de la unión de una sonda a la secuencia codificante Cry1A.105 diana constituye una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de la secuencia codificante en la muestra.

- 30 También pueden usarse cebadores de nucleótidos sintéticos en reacciones de amplificación térmica para producir un amplicón a partir de una muestra biológica que se sospecha que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105. La presencia de un amplicón producido en dicha reacción de amplificación térmica constituye una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de la secuencia de nucleótidos en la muestra. Son secuencias particularmente útiles como sondas, que constituyen una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de las secuencias codificantes de Cry1A.105 de la presente invención en una muestra biológica, las que se corresponden con o las que son perfectamente complementarias con (1) la posición de nucleótidos 1401-1420 como se indica en la SEC ID N°: 1 o SEC ID N°: 3 o (2) la posición de nucleótidos 1821-1840 como se indica en la SEC ID N°: 1 o SEC ID N°: 3. Estas secuencias se corresponden con (1) los 20 nucleótidos que abarcan la secuencia que codifica la unión entre el Dominio II y Dominio de los segmentos de diferentes proteínas insecticidas usadas para la construcción de la parte insecticida de las proteínas de la presente invención y (2) los 20 nucleótidos que abarcan la secuencia que codifica la unión entre el Dominio III y el segmento que codifica la protoxina de los diferentes segmentos codificantes de la proteína usados para la construcción de la secuencia codificante de la proteína pre-pro-toxina Cry1Ab.105. Las secuencias de nucleótidos que se corresponden con, o son complementarias a, cualquiera de estos segmentos de ADN (1401-1420 o 1821-1840) pueden usarse como sondas para detectar la presencia de estas secuencias codificantes en muestras biológicas. La detección de dicha unión constituye una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de dichas secuencias codificantes en una muestra biológica. El experto en la materia reconocerá otras secuencias que flanquean ambos lados de estos segmentos de ADN que pueden usarse como cebadores para amplificar distintos segmentos de amplicón dimensionados a partir de dichas muestras biológicas y dichos amplicones constituyen una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de dichas secuencias codificantes en la muestra. Por ejemplo, podría usarse una primera secuencia codificante, que correspondería a la secuencia de nucleótidos indicada en la SEC ID N°: 1 desde la posición 1201 a la 1220, como un cebador directo en una reacción de amplificación térmica con una segunda secuencia cebadora que correspondería al complemento inverso de la secuencia de nucleótidos como se indica en la SEC ID N°: 1 desde la posición 1581 a la 1600. Cuando dichos cebadores se usan juntos en una reacción de amplificación térmica con una muestra biológica que contiene la SEC ID N°: 1 producirían la síntesis de un amplicón correspondiente a la SEC ID N°: 1 desde la posición del nucleótido 1201 a la 1600, es decir, un amplicón de 400 nucleótidos, que contendría el segmento de 20 nucleótidos desde la posición del nucleótido 1401 al 1420 como se indica en la SEC ID N°: 1 y por lo tanto constituiría una prueba de diagnóstico para detectar la presencia de la secuencia codificante de Cry1A.105 en dicha muestra.

Ejemplos

Ejemplo 1.

Este ejemplo ilustra secuencias de nucleótidos sintéticas que codifican una proteína Cry1A.105 insecticida.

Se construyó una secuencia de nucleótidos como se indica en la SEC ID N°: 1 que codificaba una proteína insecticida Cry1A.105 para uso en plantas dicotiledóneas. La traducción de la secuencia de aminoácidos se indica en la SEC ID N°: 2. El segmento que codifica la toxina consiste en los nucleótidos desde aproximadamente la posición 1 a aproximadamente la posición 1830, más o menos.

Se construyó una secuencia de nucleótidos como se indica en la SEC ID N°: 3 que codificaba una secuencia de aminoácidos Cry1A.105 para la expresión en plantas monocotiledóneas. La traducción de la secuencia de aminoácidos se indica en la SEC ID N°: 4. El segmento que codifica la toxina consiste en los nucleótidos desde aproximadamente la posición 1 a aproximadamente la posición 1830, más o menos.

Las secuencias de nucleótidos como se indica en la SEC ID N°: 1 y SEC ID N°: 3 son sustancialmente equivalentes entre sí. La SEC ID N°: 1 y la SEC ID N°: 3 presentan una identidad global de aproximadamente el 94,3%. Las dos secuencias codificantes son idénticas desde aproximadamente la posición del nucleótido 1330 hasta la posición del nucleótido 3534. La parte de cada secuencia que codifica la toxina consiste en desde aproximadamente el la posición del nucleótido 1 hasta la posición del nucleótido 1830, y estos segmentos presentan entre sí una identidad de aproximadamente el 88,9%. Las diferencias sustanciales entre las dos secuencias se encuentran dentro de aproximadamente la posición de nucleótido 1 a aproximadamente posición de nucleótido 1329, o aproximadamente los dos primeros tercios del segmento que codifica la parte toxina de la proteína Cry1A.105. A lo largo de este segmento, las dos secuencias presentan una identidad de aproximadamente el 84,7%.

Una cepa de *E. coli* (TOP10, Invitrogen, Inc.) transformada con un plásmido denominado pMON70522 que contenía un marcador de selección de la beta-lactamasa y una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 3 que codificaba una Cry1A.105 se depositó el 31 de agosto del 2005 en la Agriculture Research Culture Collection (NRRL) internacional Depository Authority at 1815 North University Street, en Peoria, Illinois 61604 Estados Unidos, de acuerdo con el Tratado de Budapest sobre el Internacional Recognition of the Deposito of Microorganisms para los fines de los procedimientos de las Patentes y se denominó NRRL B-30873.

Ejemplo 2.

Este ejemplo ilustra plantas de algodón transgénicas que expresan una proteína Cry1A.105.

Semillas de algodón Delta y Pineland DP50 se esterilizaron en la superficie y germinaron durante una noche. Se aislaron explantes del meristemo y se quitaron las hojas primarias mediante microdissección. Los explantes diseccionados se colocaron en un medio de direccionamiento de tal manera que los meristemos se orientaron perpendiculares a la dirección de la administración de las partículas. El vector de transformación, pMON47740, comprendía un casete de expresión que tenía una secuencia de nucleótidos indicada en la SEC ID N°: 9. Un fragmento de *KpnI* que contenía un gen marcador de GUS (beta-glucuronidasa) bajo el control de un promotor e35S y una secuencia codificante de Cry1A.105 dirigida al cloroplasto bajo el control de un promotor eFMV se escindió de este plásmido y se aisló mediante HPLC y se usó para la transformación con proyectil de los explantes del meristemo del algodón. El ADN purificado, que contenía tanto el casete de expresión de Cry1A.105 como el marcador de GUS, se precipitó sobre perlas de oro microscópicas y se revistió con una capa de estaño sobre una lámina Mylar. El ADN se aceleró dentro del tejido meristemático por suministro de partículas con descarga eléctrica al vacío parcial. Después del bombardeo, los explantes se des-direccionaron sobre un medio sin hormonas sin agente selectivo. Los tejidos foliares de las plántulas regeneradas se muestrearon y se sometieron a ensayo para detectar la expresión del marcador de GUS. Las plantas transgénicas que presentaban un alto nivel de expresión de GUS se enviaron al invernadero para posteriores exploraciones. Estas plantas se sometieron de nuevo a ensayo para detectar la expresión de GUS y las partes negativas de las plantas se podaron. Este ciclo de muestreo y de poda de tejidos negativos a GUS se repitió hasta que todos los sectores de cada planta fueron positivos para el marcador de GUS. Después, las plantas se conservaron en condiciones convencionales de invernadero hasta la recogida de la semilla.

Los tejidos obtenidos de plantas de algodón transgénicas F1, positivas a GUS, se sometieron a ensayo en bioensayos para detectar la actividad insecticida contra el gusano de las cápsulas de algodón (CBW, *cotton bollworm*) y el gusano cogollero (FAW, *fall armyworm*). Previamente las plantas de algodón isogénicas generadas que expresaban niveles insecticidas de Cry1Ac o una combinación de Cry1Ac y Cry2Ab se usaron como controles positivos y como control negativo se usó una isolínea no transgénica.

Como un medio para determinar la actividad insecticida de las plantas de algodón transgénicas se usaron ensayos con CBW en cuadrados. (Adamczyk y col., (2001) J. Econ. Entomol. 94: 284-290; Kranthi y col (2005) Current Science 89: 291-298). Se recogieron cuadrados de tejido foliar (del tamaño de una cabeza de cerilla o mayor) y se colocaron individualmente en pocillos de ensayo. Cada cuadrado se infestó con una sola larva de CBW del tercer estadio. Cinco días después de la infestación se registró el número de insectos supervivientes.

También se usaron ensayos con CBW en cápsulas para determinar la actividad insecticida del tejido de la cápsula recogido de plantas transgénicas. Se recogieron 8 cápsulas verdes duras (post-floración) de cada suceso y se colocaron en cubetas individuales y se infestaron con larvas de CBW del tercer estadio. Cinco días después de la infestación se registró el número de insectos supervivientes

- 5 Se realizaron ensayos foliares para determinar la actividad insecticida del tejido foliar transgénico contra FAW. Se extrajeron hojas nuevas de los extremos de las plantas de algodón. Se recogieron 2 perforaciones foliares, cada una con un diámetro de aproximadamente 1,9 cm (3/4") y se colocaron en cada uno de los 16 pocillos de ensayo individuales. Cada pocillo se infestó con una sola larva de FAW del segundo o tercer estadio. Cinco días después de la infestación se registró el número de insectos supervivientes.
- 10 Los resultados de los bioensayos se muestran en la Tabla 1. Los resultados demuestran que los sucesos de algodón transgénico que expresan Cty1A.105 presentan una mayor actividad insecticida en comparación con los sucesos transgénicos que expresan Cry1Ac o una combinación de Cry1Ac y Cry2Ab contra FAW y CBW.

Tabla 1. Resultados de los bioensayos de FAW y CBW usando el tejido de la planta de algodón transgénica.

Planta	FAW (% de supervivencia) (tejido foliar)	CBW (% de supervivencia) (Tejido en forma de cuadrado)	CBW (% de supervivencia) (Tejido de cápsula)
Cry1Ac/Cv2Ab	74,5	32,0	35,8
Cry1Ac	92,7	35,5	35,8
Isolina	99,6	96,8	54
17238	10,9	9,4	25
17567	0	12,5	12,5
17774	1,6	1,2	0
17875	3,1	4,2	0
18026	1,6	18,8	12,5
18122	7,8	22,9	0

- 15 En ensayos similares también se realizaron ensayos con el gusano del tabaco y el gusano de la mazorca del maíz. En cada caso, las plantas que expresaban Cry1A.105 también presentaron actividad insecticida contra estas plagas.

Ejemplo 3.

Este ejemplo ilustra plantas de maíz transgénicas que expresan una proteína Cry1A.105.

- 20 Se regeneraron plantas de maíz transgénicas de células transformadas con el vector pMON40232. Este vector contiene un casete de expresión que tiene una secuencia de nucleótidos como se indica en la SEC ID N°: 7 que contiene, en unión operativa, un promotor 35S del CAMV potenciado, una secuencia líder CAB de trigo, un intrón de la actina 1 del arroz, una secuencia codificante Cry1A.105 y una secuencia de poliadenilación y terminación de la transcripción en dirección 3' del gen hsp17 del trigo. Se colocó una secuencia de nucleótidos que codificaba una secuencia de direccionamiento al cloroplasto de la EPSPS de *Arabidopsis thaliana* (At.EPSES-CTP2) cadena abajo de y en fase con la secuencia codificante Cry1A.105. Para su uso en la selección de sucesos transgénicos, el vector
- 25 pMON40232 contenía un gen recombinante que codificaba una EPSPS (5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato-sintasa) que no es sensible al herbicida glifosato. A los sucesos transgénicos que surgieron de tejido transformado con pMON40232 se les denominó LAJ 105. Los sucesos transgénicos se exploraron para detectar la ausencia de cualquier estructura del vector, para detectar la presencia de una sola secuencia simple insertada y para detectar la integridad del casete de expresión que contenía la secuencia de nucleótidos que codificaba la proteína Cry1A.105.
- 30 Se realizaron bioensayos con sucesos que cumplían las limitaciones de la exploración del suceso. En el bioensayo, las plantas de maíz transgénicas LAJ105 se compararon con un control negativo isogénico LH198 y con una variedad MON810 como un control positivo que expresaba la parte insecticida de una proteína Cry1Ab. Se obtuvieron cinco discos foliares, cada uno de un centímetro de diámetro, de cada uno de los diez sucesos transgénicos de Cry1A.105 individuales y de los controles. Los discos foliares se colocaron en pocillos cargados con agar para conservar turgente el material vegetal. Después, los discos se sometieron a alimentación de larvas
- 35 neonatas de FAW, gusano cortador negro (BCW, *black cutworm*), barrenador europeo del maíz (ECB, *European corn borer*), gusano de la mazorca del maíz (CEW, *corn ear worm*) y barrenador sudoccidental del maíz (SWCB, *Southwestern corn borer*). A cada pocillo se aplicó, una sola larva neonata de FAW, una sola larva de CEW, dos larvas neonatas de BCW, dos larvas neonatas de SWCB y cuatro larvas neonatas de ECB. Después de cuatro días
- 40 se evaluaron los daños producidos por la alimentación usando una escala clasificadora de daño foliar (LDR, *leaf damage rating*) de 0 - 11, indicando 0 que no se observaban daños debidos a la alimentación, indicando 11 que los insectos devoraron al menos el 50% del disco e indicando cada punto de la escala entre 0 y 11 un aumento del 5% en el daño observado debido a la alimentación en el disco foliar sometido a observación.

Los resultados del bioensayo indicaron que los sucesos que expresaban la proteína Cry1A.105 presentaban una mayor actividad insecticida contra FAW, ECB y CEW en comparación con los valores LDR presentados por el control Cry1Ab contra la misma larva plaguicida. Los valores LDR para estas tres plagas sobre los sucesos Cry1A.105 fueron menores que 1 mientras que el control Cry1Ab presentó valores LDR que variaban de aproximadamente 8 a 10. El valor LDR estaba regularmente entre 1 y 2 tanto para el suceso de Cry1A.105 como para el control Cry1Ab cuando se ensayó para detectar la actividad contra SWCB, indicando que la proteína Cry1A.105 no era más tóxica para SWCB de lo que lo era Cry1Ab. Los resultados de este bioensayo refuerzan los resultados previos que indicaban que Cry1Ab era ineficaz en el control de BCW. Los sucesos Cry1A.105 no fueron más eficaces contra BCW de lo que lo fueron con el control Cry1Ab. Por tanto, a los niveles de expresión de la proteína Cry1A.105 en plantas, estas plantas serían eficaces en el control de otras plagas de plantas de géneros de lepidópteros incluyendo, pero sin limitación, las de los géneros *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliiothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> Monsanto Technology LLC
Bogdanova, Natalia N.
Corbin, David R.
Malvar, Thomas M.
Perlak, Frederick J.
- 20 Roberts, James K.
Romano, Charles P.
- <120> SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS INSECTICIDAS
- 25 <130> 38-21 (52905) A
- <150> 60/713.144
<151> 31-08-2005
- 30 <160> 8
- <170> PatentIn versión 3.3
- 35 <210> 1
<211> 3534
<212> ADN
<213> artificial
<220>
<223> Secuencia de nucleótidos sintética que codifica la secuencia de aminoácidos de Cry1A.105
- 40 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(3534)
- 45 <400> 1

atg gac aac aac cca aac atc aac gaa tgc att cca tac aac tgc ttg Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu 1 5 10 15	48
agt aac cca gaa gtt gaa gta ctt ggt gga gaa cgc att gaa acc ggt Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly 20 25 30	96
tac act ccc atc gac atc tcc ttg tcc ttg aca cag ttt ctg ctc agc Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser 35 40 45	144
gag ttc gtg cca ggt gct ggg ttc gtt ctc gga cta gtt gac atc atc Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile 50 55 60	192
tgg ggt atc ttt ggt cca tct caa tgg gat gca ttc ctg gtg caa att Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile 65 70 75 80	240
gag cag ttg atc aac cag agg atc gaa gag ttc gcc agg aac cag gcc Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala 85 90 95	288
atc tct agg ttg gaa gga ttg agc aat ctc tac caa atc tat gca gag Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu 100 105 110	336
agc ttc aga gag tgg gaa gcc gat cct act aac cca gct ctc cgc gag Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu 115 120 125	384
gaa atg cgt att caa ttc aac gac atg aac agc gcc ttg acc aca gct Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala 130 135 140	432
atc cca ttg ttc gca gtc cag aac tac caa gtt cct ctc ttg tcc gtg Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val 145 150 155 160	480
tac gtt caa gca gct aat ctt cac ctc agc gtg ctt cga gac gtt agc Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser 165 170 175	528

gtg ttt ggg caa agg tgg gga ttc gat gct gca acc atc aat agc cgt Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg 180 185 190	576
tac aac gac ctt act agg ctg att gga aac tac acc gac cac gct gtt Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val 195 200 205	624
cgt tgg tac aac act ggc ttg gag cgt gtc tgg ggt cct gat tct aga Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg 210 215 220	672
gat tgg att aga tac aac cag ttc agg aga gaa ttg acc ctc aca gtt Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val 225 230 235 240	720
ttg gac att gtg tct ctc ttc ccg aac tat gac tcc aga acc tac cct Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro 245 250 255	768
atc cgt aca gtg tcc caa ctt acc aga gaa atc tat act aac cca gtt Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val 260 265 270	816
ctt gag aac ttc gac ggt agc ttc cgt ggt tct gcc caa ggt atc gaa Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu 275 280 285	864
ggc tcc atc agg agc cca cac ttg atg gac atc ttg aac agc ata act Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr 290 295 300	912
atc tac acc gat gct cac aga gga gag tat tac tgg tct gga cac cag Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln 305 310 315 320	960
atc atg gcc tct cca gtt gga ttc agc ggg ccc gag ttt acc ttt cct Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro 325 330 335	1008
ctc tat gga act atg gga aac gcc gct cca caa caa cgt atc gtt gct Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala 340 345 350	1056
caa cta ggt cag ggt gtc tac aga acc ttg tct tcc acc ttg tac aga Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg 355 360 365	1104
aga ccc ttc aat atc ggt atc aac aac cag caa ctt tcc gtt ctt gac Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp 370 375 380	1152
gga aca gag ttc gcc tat gga acc tct tct aac ttg cca tcc gct gtt Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val 385 390 395 400	1200
tac age aag agc gga acc gtt gat tcc ttg gac gaa atc cca cca cag Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln 405 410 415	1248
aac aac aat gtg cca ccc agg caa gga ttc tcc cac agg ttg agc cac Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His 420 425 430 435	1296
gtg tcc atg ttc cgt tcc gga ttc agc aac agt tcc gtg agc atc atc Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile 435 440 445	1344
aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac aac Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn 450 455 460	1392
atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca cat Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His 465 470 475 480	1440
aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca gga Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly 485 490 495	1488

gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act att Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile 500 505 510	1536
gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt gca aga atc cgc Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg 515 520 525	1584
tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt gaa Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu 530 535 540	1632
agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac cct Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro 545 550 555 560	1680
ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt aca Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr 565 570 575	1728
ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc agc Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser 580 585 590	1776
tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt act Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr 595 600 605	1824
gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct gtg Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val 610 615 620	1872
aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg aaa act aac gtt Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val 625 630 635 640	1920
act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt agc Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser 645 650 655	1968
gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc gag aaa gtt aaa Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys 660 665 670	2016
cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg caa gac tcc aac His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn 675 680 685	2064
ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc acc Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr 690 695 700	2112
ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac gtc Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val 705 710 715 720	2160
acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac cag Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln 725 730 735	2208
aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt aga Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg 740 745 750	2256
ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tgc atc agg tac Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr 755 760 765	2304
aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc tgg Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp 770 775 780	2352
cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac aga Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg 785 790 795 800	2400
tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc agg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg 805 810 815	2448

gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac atc Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile 820 825 830	2496
gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc atc Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile 835 840 845	2544
ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt gag Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu 850 855 860	2592
ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg aag Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys 865 870 875 880	2640
aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg gaa Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu 885 890 895	2688
act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg ttc Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe 900 905 910	2736
gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc atg Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met 915 920 925	2784
atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac ttg Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu 930 935 940	2832
cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag gaa Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu 945 950 955 960	2880
ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga aac Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn 965 970 975	2928
gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat gtg Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val 980 985 990	2976
aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cgt tcc gtc ctg Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu 995 1000 1005	3024
gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga gtc Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val 1010 1015 1020	3069
tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag gag Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu 1025 1030 1035	3114
gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac aac Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn 1040 1045 1050	3159
acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc tat Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr 1055 1060 1065	3204
ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag gaa Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu 1070 1075 1080	3249
gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac gaa Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu 1085 1090 1095	3294
gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag aaa Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys 1100 1105 1110	3339
tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac aga Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg 1115 1120 1125	3384

ES 2 400 809 T3

ggt tac	agg gac tac aca cca	ctt cca gtt ggc tat	gtt acc aag	3429
Gly Tyr	Arg Asp Tyr Thr Pro	Leu Pro Val Gly Tyr	Val Thr Lys	
1130	1135	1140		
gag ctt	gag tac ttt cct gag	acc gac aaa gtg tgg	atc gag atc	3474
Glu Leu	Glu Tyr Phe Pro Glu	Thr Asp Lys Val Trp	Ile Glu Ile	
1145	1150	1155		
ggt gaa	acc gag gga acc ttc	atc gtg gac agc gtg	gag ctt ctc	3519
Gly Glu	Thr Glu Gly Thr Phe	Ile Val Asp Ser Val	Glu Leu Leu	
1160	1165	1170		
ttg atg	gag gaa taa			3534
Leu Met	Glu Glu			
1175				

<210> 2
 <211> 1177
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 2

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

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

530	535	540
Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro 545 550 555 560		
Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr 565 570 575		
Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser 580 585 590		
Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr 595 600 605		
Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val 610 615 620		
Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val 625 630 635 640		
Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser 645 650 655		
Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys 660 665 670		
His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn 675 680 685		
Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr 690 695 700		
Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val 705 710 715 720		
Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln 725 730 735		
Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg 740 745 750		
Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr 755 760 765		
Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp 770 775 780		
Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg 785 790 795 800		
Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg 805 810 815		
Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile 820 825 830		
Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile 835 840 845		
Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu		

850	855	860
Phe Leu Glu Glu Lys 865	Pro Leu Val Gly Glu 870	Ala Leu Ala Arg Val Lys 875 880
Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu 885 890 895		
Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe 900 905 910		
Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met 915 920 925		
Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu 930 935 940		
Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu 945 950 955 960		
Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn 965 970 975		
Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val 980 985 990		
Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu 995 1000 1005		
Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val 1010 1015 1020		
Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu 1025 1030 1035		
Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn 1040 1045 1050		
Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr 1055 1060 1065		
Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu 1070 1075 1080		
Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu 1085 1090 1095		
Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys 1100 1105 1110		
Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg 1115 1120 1125		
Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys 1130 1135 1140		
Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile 1145 1150 1155		
Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu		

	1160	1165	1170
	Leu Met Glu Glu 1175		
5	<210> 3 <211> 3534 <212> ADN <213> artificial		
10	<220> <223> Secuencia de nucleótidos sintética que codifica la secuencia de aminoácidos de Cry1A.105		
	<220> <221> CDS <222> (1)..(3534)		
15	<400> 3		

atg gac aac aac cca aac atc aac gag tgc atc ccg tac aac tgc ctc Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu 1 5 10 15	48
agc aac cct gag gtc gag gtg ctc ggc ggt gag cgc atc gag acc ggt Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly 20 25 30	96
tac acc ccc atc gac atc tcc ctc tcc ctc acg cag ttc ctg ctc agc Tyr Thr 35 Ile Asp Ile Ser 40 Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser 45	144
gag ttc gtg cca ggc gct ggc ttc gtc ctg ggc ctc gtg gac atc atc Glu Phe Val Pro Gly Ala 55 Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile 50 60	192
tgg ggc atc ttt ggc ccc tcc cag tgg gac gcc ttc ctg gtg caa atc Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile 65 70 75 80	240
gag cag ctc atc aac cag agg atc gag gag ttc gcc agg aac cag gcc Glu Gln Leu Ile 85 Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala 90 95	288
atc agc cgc ctg gag ggc ctc agc aac ctc tac caa atc tac gct gag Ile Ser Arg 100 Leu Glu Gly Leu Ser 105 Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu 110	336
agc ttc cgc gag tgg gag gcc gac ccc act aac cca gct ctc cgc gag Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp 120 Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu 115 125	384
gag atg cgc atc cag ttc aac gac atg aac agc gcc ctg acc acc gcc Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala 130 135 140	432
atc cca ctc ttc gcc gtc cag aac tac caa gtc ccg ctc ctg tcc gtg Ile Pro Leu Phe Ala Val 150 Gln Asn Tyr Gln Val 155 Pro Leu Leu Ser Val 145 160	480
tac gtc cag gcc gcc aac ctg cac ctc agc gtg ctg agg gac gtc agc Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser 165 170 175	528
gtg ttt ggc cag agg tgg ggc ttc gac gcc gcc acc atc aac agc cgc Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe 185 Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg 180 190	576
tac aac gac ctc acc agg ctg atc ggc aac tac acc gac cac gct gtc Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val 195 200 205	624
cgc tgg tac aac act ggc ctg gag cgc gtc tgg ggc cct gat tct aga Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg 210 215 220	672
gac tgg att cgc tac aac cag ttc agg cgc gag ctg acc ctc acc gtc Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val	720

225	230	235	240	
ctg gac att gtg tcc ctc ttc ccg aac tac gac tcc cgc acc tac ccg Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro	245	250	255	768
atc cgc acc gtg tcc caa ctg acc cgc gaa atc tac acc aac ccc gtc Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val	260	265	270	816
ctg gag aac ttc gac ggt agc ttc agg ggc agc gcc cag ggc atc gag Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu	275	280	285	864
ggc tcc atc agg agc cca cac ctg atg gac atc ctc aac agc atc act Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr	290	295	300	912
atc tac acc gat gcc cac cgc ggc gag tac tac tgg tcc ggc cac cag Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Gln Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln	305	310	315	960
atc atg gcc tcc ccg gtc ggc ttc agc ggc ccc gag ttt acc ttt cct Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro	325	330	335	1008
ctc tac ggc acg atg ggc aac gcc gct cca caa caa cgc atc gtc gct Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala	340	345	350	1056
cag ctg ggc cag ggc gtc tac cgc acc ctg agc tcc acc ctg tac cgc Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg	355	360	365	1104
agg ccc ttc aac atc ggt atc aac aac cag cag ctg tcc gtc ctg gat Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp	370	375	380	1152
ggc act gag ttc gcc tac ggc acc tcc tcc aac ctg ccc tcc gct gtc Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val	385	390	395	1200
tac cgc aag agc ggc acg gtg gat tcc ctg gac gag atc cca cca cag Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln	405	410	415	1248
aac aac aat gtg ccc ccc agg cag ggt ttt tcc cac agg ctc agc cac Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His	420	425	430	1296
gtg tcc atg ttc cgc tcc ggc ttc agc aac tcc tcc gtg agc atc atc Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile	435	440	445	1344
aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac aac Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn	450	455	460	1392
atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca cat Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His	465	470	475	1440
aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca gga Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly	485	490	495	1488
gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act att Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile	500	505	510	1536
gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt gca aga atc cgc Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg	515	520	525	1584
tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt gaa Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu	530	535	540	1632
agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac cct Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro				1680

545	550	555	560	
ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt aca Leu Thr Phe Gln Ser 565 Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr 575				1728
ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc agc Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr 585 Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser 590				1776
tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt act Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr 595 600 605				1824
gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct gtg Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val 610 615 620				1872
aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg aaa act aac gtt Asn Ala Leu Phe Thr 625 630 635 Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val 640				1920
act gac tat cac att gag caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt agc Thr Asp Tyr His 645 Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser 650 655				1968
gat gag ttc tgc ctc gag gag aag cgt gaa ctc tcc gag aaa gtt aaa Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg 660 665 Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys 670				2016
cac gcc aag cgt ctc agc gag gag agg aat ctc ttg caa gac tcc aac His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn 675 680 685				2064
ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc acc Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr 690 695 700				2112
ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac gtc Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val 705 710 715 720				2160
acc ctc tcc gga act ttc gag gag tgc tac cct acc tac ttg tac cag Thr Leu Ser Gly Thr 725 Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln 730 735				2208
aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt aga Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg 740 745 750				2256
ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tcg atc agg tac Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr 755 760 765				2304
aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc tgg Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp 770 775 780				2352
cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac aga Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg 785 790 795 800				2400
tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc agg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg 805 810 815				2448
gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac atc Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile 820 825 830				2496
gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc atc Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile 835 840 845				2544
ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt gag Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp 850 855 Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu 860				2592
ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg aag Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys				2640

865	870	875	880	
aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg gaa Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu 885 890 895				2688
act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg ttc Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe 900 905 910				2736
gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc atg Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met 915 920 925				2784
atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac ttg Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu 930 935 940				2832
cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag gaa Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu 945 950 955 960				2880
ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga aac Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn 965 970 975				2928
gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat gtg Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val 980 985 990				2976
aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cgt tcc gtc ctg Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu 995 1000 1005				3024
gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga gtc Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val 1010 1015 1020				3069
tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag gag Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu 1025 1030 1035				3114
gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac aac Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn 1040 1045 1050				3159
acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc tat Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr 1055 1060 1065				3204
ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag gaa Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu 1070 1075 1080				3249
gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac gaa Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu 1085 1090 1095				3294
gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag aaa Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys 1100 1105 1110				3339
tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac aga Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg 1115 1120 1125				3384
ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc aag Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys 1130 1135 1140				3429
gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg tgg atc gag atc Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile 1145 1150 1155				3474
ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc gtg gag ctt ctc Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu 1160 1165 1170				3519
ttg atg gag gaa taa Leu Met Glu Glu				3534

1175

- 5
 - <210> 4
 - <211> 1177
 - <212> PRT
 - <213> artificial
- 10
 - <220>
 - <223> Construcción sintética
 - <400> 4

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

Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu
 275 280 285
 Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr
 290 295 300
 Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln
 305 310 315 320
 Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro
 325 330 335
 Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala
 340 345 350
 Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg
 355 360 365
 Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp
 370 375 380
 Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val
 385 390 395 400
 Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln
 405 410 415
 Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His
 420 425 430
 Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile
 435 440 445
 Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn
 450 455 460
 Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His
 465 470 475 480
 Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly
 485 490 495
 Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile
 500 505 510
 Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg
 515 520 525
 Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu
 530 535 540
 Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro
 545 550 555 560
 Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr
 565 570 575
 Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser
 580 585 590

Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr
 595 600 605
 Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val
 610 615 620
 Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val
 625 630 635 640
 Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
 645 650 655
 Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys
 660 665 670
 His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn
 675 680 685
 Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr
 690 695 700
 Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val
 705 710 715 720
 Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
 725 730 735
 Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg
 740 745 750
 Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr
 755 760 765
 Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp
 770 775 780
 Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg
 785 790 795 800
 Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg
 805 810 815
 Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile
 820 825 830
 Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile
 835 840 845
 Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu
 850 855 860
 Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
 865 870 875 880
 Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
 885 890 895
 Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
 900 905 910

Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met
915 920 925

Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu
930 935 940

Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu
945 950 955 960

Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn
965 970 975

Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val
980 985 990

Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu
995 1000 1005

Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val
1010 1015 1020

Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu
1025 1030 1035

Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn
1040 1045 1050

Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr
1055 1060 1065

Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu
1070 1075 1080

Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu
1085 1090 1095

Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys
1100 1105 1110

Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg
1115 1120 1125

Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys
1130 1135 1140

Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile
1145 1150 1155

Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu
1160 1165 1170

Leu Met Glu Glu
1175

<210> 5
<211> 5480
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> casete de expresión que codifica la secuencia de aminoácidos de Cry1A.105

	<220>
	<221> promotor
	<222> (1)..(981)
5	<223> promotor e35S del FMV
	<220>
	<221> Región no traducida 5' (5'UTR)
	<222> (985)..(1080)
10	<220>
	<221> transit_péptido
	<222> (1090)..(1263)
	<223> secuencia peptídica dirigida al cloroplasto
15	<220>
	<221> CDS
	<222> (1267)..(4797)
	<223> secuencia codificante de Cry1A.105
20	<220>
	<221> terminador
	<222> (4833)..(5480)
	<223> Secuencia de poliadenilación y terminación de la transcripción de rbcS E9 de Ps (<i>Pisum sativum</i>)
25	<400> 5

aattctcagt ccaaagcctc aacaagggtca gggtagagag tctccaaacc attagccaaa	60
agctacagga gatcaatgaa gaatcttcaa tcaaagttaa ctactgttcc agcacatgca	120
tcatggtcag taagtttcag aaaaagacat ccaccgaaga cttaaagtta gtgggcatct	180
ttgaaagtaa tcttgtcaac atcgagcagc tggcttgttg ggaccagaca aaaaaggaat	240
gggtgcagaat tgtaggcgc acctaccaa agcatctttg cctttattgc aaagataaag	300
cagattcctc tagtacaagt ggggaacaaa ataacgtgga aaagagctgt cctgacagcc	360
cactcactaa tgcgtatgac gaacgcagt acgaccacaa aagaattagc ttgagctcag	420
gatttagcag cattccagat tgggttcaat caacaaggta cgagccatat cactttattc	480
aaattggtat cgccaaaacc aagaaggaa tcccatcctc aaaggtttgt aaggagaat	540
tctcagtcca aagcctcaac aaggtcaggg tacagagtct ccaaaccatt agccaaaagc	600
tacaggagat caatgaagaa tcttcaatca aagtaacta ctgttccagc acatgcatca	660
tggtcagtaa gtttcagaaa aagacatcca ccgaagactt aaagttagtg ggcattcttg	720
aaagtaatct tgtcaacatc gagcagctgg cttgtgggga ccagacaaaa aaggaaatgg	780
gcagaattgt taggcgcacc taccaaaagc atctttgcct ttattgcaa gataaagcag	840
attcctctag tacaagtggg gaacaaaata acgtggaaaa gagctgtcct gacagcccac	900
tcactaatgc gtatgacgaa cgcagtgcg accacaaaag aattccctct atataagaag	960
gcattcattc ccatttgaag gacacagaaa aatttgctac attgtttcac aaacttcaa	1020
tattattcat ttatttgtca gctttcaaac tctttgtttc ttgtttgttg attgagaata	1080
tttaaaacaa tggcttctc tatgctctct tccgctacta tggttgcctc tccggtcag	1140
gccactatgg tcgctccttt caacggactt aagtcctccg ctgccttccc agccaccgc	1200
aaggctaaca acgacattac ttccatcaca agcaacggcg gaagagttaa ctgcatgcag	1260
gccatg gac aac aac cca aac atc aac gaa tgc att cca tac aac tgc	1308
Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys	
1 5 10	
ttg agt aac cca gaa gtt gaa gta ctt ggt gga gaa cgc att gaa acc	1356
Leu Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr	
15 20 25 30	
ggg tac act ccc atc gac atc tcc ttg tcc ttg aca cag ttt ctg ctc	1404
Gly Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu	
35 40 45	

agc gag ttc gtg cca ggt gct ggg ttc gtt ctc gga cta gtt gac atc Ser Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile 50 55 60	1452
atc tgg ggt atc ttt ggt cca tct caa tgg gat gca ttc ctg gtg caa Ile Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln 65 70 75	1500
att gag cag ttg atc aac cag agg atc gaa gag ttc gcc agg aac cag Ile Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln 80 85 90	1548
gcc atc tct agg ttg gaa gga ttg agc aat ctc tac caa atc tat gca Ala Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala 95 100 105 110	1596
gag agc ttc aga gag tgg gaa gcc gat cct act aac cca gct ctc cgc Glu Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg 115 120 125	1644
gag gaa atg cgt att caa ttc aac gac atg aac agc gcc ttg acc aca Glu Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr 130 135 140	1692
gct atc cca ttg ttc gca gtc cag aac tac caa gtt cct ctc ttg tcc Ala Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser 145 150 155	1740
gtg tac gtt caa gca gct aat ctt cac ctc agc gtg ctt cga gac gtt Val Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val 160 165 170	1788
agc gtg ttt ggg caa agg tgg gga ttc gat gct gca acc atc aat agc Ser Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser 175 180 185 190	1836
cgt tac aac gac ctt act agg ctg att gga aac tac acc gac cac gct Arg Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala 195 200 205	1884
gtt cgt tgg tac aac act ggc ttg gag cgt gtc tgg ggt cct gat tct Val Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser 210 215 220	1932
aga gat tgg att aga tac aac cag ttc agg aga gaa ttg acc ctc aca Arg Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr 225 230 235	1980
gtt ttg gac att gtg tct ctc ttc ccg aac tat gac tcc aga acc tac Val Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr 240 245 250	2028
cct atc cgt aca gtg tcc caa ctt acc aga gaa atc tat act aac cca Pro Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro 255 260 265 270	2076
gtt ctt gag aac ttc gac ggt agc ttc cgt ggt tct gcc caa ggt atc Val Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile 275 280 285	2124
gaa ggc tcc atc agg agc cca cac ttg atg gac atc ttg aac agc ata Glu Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile 290 295 300	2172
act atc tac acc gat gct cac aga gga gag tat tac tgg tct gga cac Thr Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His 305 310 315	2220
cag atc atg gcc tct cca gtt gga ttc agc ggg ccc gag ttt acc ttt Gln Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe 320 325 330	2268
cct ctc tat gga act atg gga aac gcc gct cca caa caa cgt atc gtt Pro Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val 335 340 345 350	2316
gct caa cta ggt cag ggt gtc tac aga acc ttg tct tcc acc ttg tac Ala Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr 355 360 365	2364

aga aga ccc ttc aat atc ggt atc aac aac cag caa ctt tcc gtt ctt Arg Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu 370 375 380	2412
gac gga aca gag ttc gcc tat gga acc tct tct aac ttg cca tcc gct Asp Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala 385 390 395	2460
gtt tac aga aag agc gga acc gtt gat tcc ttg gac gaa atc cca cca Val Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro 400 405 410	2508
cag aac aac aat gtg cca ccc agg caa gga ttc tcc cac agg ttg agc Gln Asn Asn Asn Val Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser 415 420 425 430	2556
cac gtg tcc atg ttc cgt tcc gga ttc agc aac agt tcc gtg agc atc His Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile 435 440 445	2604
atc aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac Ile Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn 450 455 460	2652
aac atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca Asn Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala 465 470 475	2700
cat aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca His Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr 480 485 490	2748
gga gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr 495 500 505 510	2796
att gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt gca aga atc Ile Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile 515 520 525	2844
cgc tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly 530 535 540	2892
gaa agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac Glu Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp 545 550 555	2940
cct ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt Pro Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe 560 565 570	2988
aca ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc Thr Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe 575 580 585 590	3036
agc tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt Ser Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val 595 600 605	3084
act gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct Thr Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala 610 615 620	3132
gtg aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg aaa act aac Val Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn 625 630 635	3180
gtt act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt Val Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu 640 645 650	3228
agc gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc gag aaa gtt Ser Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val 655 660 665 670	3276
aaa cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg caa gac tcc Lys His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser 675 680 685	3324

aac ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc Asn Phe Lys Asp 690 Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Ser 700	3372
acc ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac Thr Gly Ile Thr Ile Gln Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr 715	3420
gtc acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac Val Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr 720 725 730	3468
cag aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt Gln Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu 735 740 745 750	3516
aga ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tcg atc agg Arg Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg 755 760 765	3564
tac aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc Tyr Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu 770 775 780	3612
tgg cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac Trp Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn 785 790 795	3660
aga tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc Arg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys 800 805 810	3708
agg gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac Arg Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp 815 820 825 830	3756
atc gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc Ile Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val 835 840 845	3804
atc ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt Ile Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu 850 855 860	3852
gag ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg Glu Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val 865 870 875	3900
aag aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg Lys Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp 880 885 890	3948
gaa act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg Glu Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu 895 900 905 910	3996
ttc gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc Phe Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Ala Asp Thr Asn Ile Ala 915 920 925	4044
atg atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac Met Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr 930 935 940	4092
ttg cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag Leu Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu 945 950 955	4140
gaa ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga Glu Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg 960 965 970	4188
aac gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat Asn Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn 975 980 985 990	4236
gtg aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cgt tcc gtc Val Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val 995 1000 1005	4284

ctg gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga Leu Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg 1010 1015 1020	4329
gtc tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag Val Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys 1025 1030 1035	4374
gag gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac Glu Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn 1040 1045 1050	4419
aac acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc Asn Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile 1055 1060 1065	4464
tat ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag Tyr Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln 1070 1075 1080	4509
gaa gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac Glu Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn 1085 1090 1095	4554
gaa gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag Glu Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu 1100 1105 1110	4599
aaa tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac Lys Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn 1115 1120 1125	4644
aga ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc Arg Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr 1130 1135 1140	4689
aag gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg tgg atc gag Lys Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu 1145 1150 1155	4734
atc ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc gtg gag ctt Ile Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu 1160 1165 1170	4779
ctc ttg atg gag gaa taa tgagatccac gatatacctgc aggaattggc Leu Leu Met Glu Glu 1175	4827
cggccagctt tgcgttcgtat catcggtttc gacaacgttc gtcaagttca atgcatcagt	4887
ttcattgccc acacaccaga atcctactga gtttgagtat tatggcattg ggaanaactgt	4947
ttttcttgta ccatttggtg tgcttgtaat ttactgtgtt ttttattcgg ttttcgctat	5007
cgaactgtga aatggaaatg gatggagaag agttaatgaa tgatatggtc cttttgttca	5067
ttctcaaatt aatattattt gttttttctc ttatttggtg tgtgttgaat ttgaaattat	5127
aagagatatg caaacatttt gttttgagta aaaatgtgtc aaatcgtggc ctctaataac	5187
cgaagttaat atgaggagta aaacacttgt agttgtacca ttatgcttat tcaactaggca	5247
acaaatatat tttcagacct agaaaagctg caaatgttac tgaatacaag tatgtectct	5307
tgtgttttag acatttatgg actttccttt atgtaatttt ccagaatcct tgcagattc	5367
taatcattgc tttataatta tagttatact catggatttg tagttgagta tgaanaattt	5427
ttttaatgca ttttatgact tgccaattga ttgacaacat gcatcaatcg acc	5480

<210> 6

<211> 1176

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 6

```

Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu Ser
1          5          10          15

Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly Tyr
20          25          30

Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser Glu
35          40          45

Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile Trp
50          55          60

Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile Glu
65          70          75          80

Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala Ile
85          90          95

Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu Ser
100         105         110

Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu Glu
115         120         125

Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala Ile
130         135         140

Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val Tyr
145         150         155         160

Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser Val
165         170         175

Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg Tyr
180         185         190

Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val Arg
195         200         205

Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg Asp
210         215         220

Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val Leu
225         230         235         240

Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro Ile
245         250         255

Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val Leu
260         265         270

Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu Gly
275         280         285

Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr Ile
290         295         300

Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln Ile
305         310         315         320

```

Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro Leu
325 330 335

Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala Gln
340 345 350

Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg Arg
355 360 365

Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp Gly
370 375 380

Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val Tyr
385 390 395 400

Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln Asn
405 410 415

Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His Val
420 425 430

Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile Arg
435 440 445

Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn Ile
450 455 460

Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His Thr
465 470 475 480

Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly Gly
485 490 495

Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile Val
500 505 510

Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg Tyr
515 520 525

Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu Arg
530 535 540

Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro Leu
545 550 555 560

Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr Phe
565 570 575

Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser Ser
580 585 590

Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr Ala
595 600 605

Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val Asn
610 615 620

Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val Thr
625 630 635 640

Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser Asp
 645 650 655
 Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys His
 660 665 670
 Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn Phe
 675 680 685
 Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr Gly
 690 695 700
 Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val Thr
 705 710 715 720
 Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln Lys
 725 730 735
 Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg Gly
 740 745 750
 Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr Asn
 755 760 765
 Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp Pro
 770 775 780
 Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg Cys
 785 790 795 800
 Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg Asp
 805 810 815
 Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile Asp
 820 825 830
 Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile Phe
 835 840 845
 Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu Phe
 850 855 860
 Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys Arg
 865 870 875 880
 Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu Thr
 885 890 895
 Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe Val
 900 905 910
 Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met Ile
 915 920 925
 His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu Pro
 930 935 940
 Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu Leu
 945 950 955 960

Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn Val
965 970 975

Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val Lys
980 985 990

Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu Val
995 1000 1005

Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val Cys
1010 1015 1020

Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu Gly
1025 1030 1035

Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn Thr
1040 1045 1050

Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr Pro
1055 1060 1065

Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu Glu
1070 1075 1080

Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu Ala
1085 1090 1095

Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys Ser
1100 1105 1110

Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg Gly
1115 1120 1125

Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys Glu
1130 1135 1140

Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile Gly
1145 1150 1155

Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu Leu
1160 1165 1170

Met Glu Glu
1175

<210> 7
<211> 4990
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Casete de expresión que codifica la secuencia de aminoácidos de Cry1A.105

<220>
<221> promotor
<222> (1)..(614)
<223> promotor e35s del CAMV

<220>
<221> Región no traducida 5' (5'UTR)

<222> (650)..(710)

	<220>
	<221> Intrón
	<222> (727)..(1206)
5	<223> intrón de actina del arroz RACT1
	<220>
	<221> CDS
	<222> (1216)..(4752)
10	<223> secuencia codificante de Cry1A.105
	<220>
	<221> terminador
	<222> (4781)..(4990)
15	<223> Secuencia poliadenilación y terminación de la transcripción de Hsp17 de <i>Ta</i> (<i>Triticum aestivum</i>)
	<400> 7

ggtccgatgt gagacttttc aacaaaggggt aatatccgga aacctcctcg gattccattg	60
cccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaaaag gaagggtggct cctacaaatg	120
ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtgggtcccaa	180
agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc	240
aaagcaagtg gattgatgtg atgggtccgat gtgagacttt tcaacaaagg gtaatatccg	300
gaaacctcct cggattccat tgcccagcta tctgtcactt tattgtgaag atagtggaaa	360
aggaaggtg ctctacaaa tgccatcatt gcgataaagg aaaggccatc gttgaagatg	420
cctctgccga cagtgggtccc aaagatggac cccacccac gaggagcatc gtggaaaaag	480
aagacgttcc aaccacgtct tcaaagcaag tggattgatg tgatatctcc actgacgtaa	540
gggatgacgc acaatccac tatccttcgc aagacccttc ctctatataa ggaagtcat	600
ttcatttggg gaggacacgc tgacaagctg actctagcag atcctctaga accatcttcc	660
acacactcaa gccacactat tggagaacac acagggacaa cacaccataa gatccaaggg	720
aggcctccgc cgcgcgggt aaccaccccg cccctctcct ctttctttct cggtttttt	780
ttccgtctcg gtctcgatct ttggccttgg tagtttgggt gggcgagagg cggcttcgtg	840
cgcgccaga tcggtgcgcg ggaggggcgg gatctcgcgg ctggggctct cgcggcgtg	900
gatccggccc ggatctcgcg gggaatgggg ctctcggatg tagatctgcg atccgccgtt	960
gttgggggag atgatggggg gtttaaaatt tccgccgtgc taaacaagat caggaagagg	1020
ggaaaagggc actatgggtt atatttttat atatttctgc tgcttcgtca ggcttagatg	1080
tgctagatct ttctttcttc tttttgtggg tagaatttga atccctcagc attgttcac	1140
ggtagttttt cttttcatga tttgtgacaa atgcagcctc gtgcggagct tttttgtagg	1200
tagaagtgat caacc atg gac aac aac cca aac atc aac gag tgc atc ccg	1251
Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro	
1 5 10	
tac aac tgc ctc agc aac cct gag gtc gag gtg ctc ggc ggt gag cgc	1299
Tyr Asn Cys Leu Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg	
15 20 25	
atc gag acc ggt tac acc ccc atc gac atc tcc ctc tcc ctc acg cag	1347
Ile Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln	
30 35 40	
ttc ctg ctc agc gag ttc gtg cca ggc gct ggc ttc gtc ctg ggc ctc	1395
Phe Leu Leu Ser Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu	
45 50 55 60	
gtg gac atc atc tgg ggc atc ttt ggc ccc tcc cag tgg gac gcc ttc	1443
Val Asp Ile Ile Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe	
65 70 75	
ctg gtg caa atc gag cag ctc atc aac cag agg atc gag gag ttc gcc	1491
Leu Val Gln Ile Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala	
80 85 90	

agg aac cag gcc atc agc cgc ctg gag ggc ctc agc aac ctc tac caa Arg Asn Gln Ala Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln 95 100 105	1539
atc tac gct gag agc ttc cgc gag tgg gag gcc gac ccc act aac cca Ile Tyr Ala Glu Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro 110 115 120	1587
gct ctc cgc gag gag atg cgc atc cag ttc aac gac atg aac agc gcc Ala Leu Arg Glu Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala 125 130 135 140	1635
ctg acc acc gcc atc cca ctc ttc gcc gtc cag aac tac caa gtc ccg Leu Thr Thr Ala Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro 145 150 155	1683
ctc ctg tcc gtg tac gtc cag gcc gcc aac ctg cac ctc agc gtg ctg Leu Leu Ser Val Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu 160 165 170	1731
agg gac gtc agc gtg ttt ggc cag agg tgg ggc ttc gac gcc gcc acc Arg Asp Val Ser Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr 175 180 185	1779
atc aac agc cgc tac aac gac ctc acc agg ctg atc ggc aac tac acc Ile Asn Ser Arg Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr 190 195 200	1827
gac cac gct gtc cgc tgg tac aac act ggc ctg gag cgc gtc tgg ggc Asp His Ala Val Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly 205 210 215 220	1875
cct gat tct aga gac tgg att cgc tac aac cag ttc agg cgc gag ctg Pro Asp Ser Arg Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu 225 230 235	1923
acc ctc acc gtc ctg gac att gtg tcc ctc ttc ccg aac tac gac tcc Thr Leu Thr Val Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser 240 245 250	1971
cgc acc tac ccg atc cgc acc gtg tcc caa ctg acc cgc gaa atc tac Arg Thr Tyr Pro Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr 255 260 265	2019
acc aac ccc gtc ctg gag aac ttc gac ggt agc ttc agg ggc agc gcc Thr Asn Pro Val Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala 270 275 280	2067
cag ggc atc gag ggc tcc atc agg agc cca cac ctg atg gac atc ctc Gln Gly Ile Glu Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu 285 290 295 300	2115
aac agc atc act atc tac acc gat gcc cac cgc ggc gag tac tac tgg Asn Ser Ile Thr Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp 305 310 315	2163
tcc ggc cac cag atc atg gcc tcc ccg gtc ggc ttc agc ggc ccc gag Ser Gly His Gln Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu 320 325 330	2211
ttt acc ttt cct ctc tac ggc acg atg ggc aac gcc gct cca caa caa Phe Thr Phe Pro Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln 335 340 345	2259
cgc atc gtc gct cag ctg ggc cag ggc gtc tac cgc acc ctg agc tcc Arg Ile Val Ala Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser 350 355 360	2307
acc ctg tac cgc agg ccc ttc aac atc ggt atc aac aac cag cag ctg Thr Leu Tyr Arg Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu 365 370 375 380	2355
tcc gtc ctg gat ggc act gag ttc gcc tac ggc acc tcc tcc aac ctg Ser Val Leu Asp Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu 385 390 395	2403
ccc tcc gct gtc tac cgc aag agc ggc acg gtg gat tcc ctg gac gag Pro Ser Ala Val Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu 400 405 410	2451

atc cca cca cag aac aac aat gtg ccc ccc agg cag ggt ttt tcc cac Ile Pro Gln Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His 415 420 425	2499
agg ctc agc cac gtg tcc atg ttc cgc tcc ggc ttc agc aac tcc tcc Arg Leu Ser His Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser 430 435 440	2547
gtg agc atc atc aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct Val Ser Ile Ile Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala 445 450 455 460	2595
gag ttc aac aac atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg Glu Phe Asn Asn Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu 465 470 475	2643
gtg aaa gca cat aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca Val Lys Ala His Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro 480 485 490	2691
ggg ttt aca gga gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe 495 500 505	2739
gct tac act att gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt Ala Tyr Thr Ile Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg 510 515 520	2787
gca aga atc cgc tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act Ala Arg Ile Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr 525 530 535 540	2835
gtt gca ggt gaa agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat Val Ala Gly Glu Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp 545 550 555	2883
acc ggt gac cct ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac Thr Gly Asp Pro Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn 560 565 570	2931
aca gct ttt aca ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct Thr Ala Phe Thr Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala 575 580 585	2979
gac act ttc agc tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg Asp Thr Phe Ser Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu 590 595 600	3027
att cca gtt act gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc Ile Pro Val Thr Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala 605 610 615 620	3075
cag aag gct gtg aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg Gln Lys Ala Val Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu 625 630 635	3123
aaa act aac gtt act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc Lys Thr Asn Val Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val 640 645 650	3171
acc tac ctt agc gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc Thr Tyr Leu Ser Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser 655 660 665	3219
gag aaa gtt aaa cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg Glu Lys Val Lys His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu 670 675 680	3267
caa gac tcc aac ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg Gln Asp Ser Asn Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp 685 690 695 700	3315
ggt gga agc acc ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag Gly Gly Ser Thr Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys 705 710 715	3363
gag aac tac gtc acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc Glu Asn Tyr Val Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr 720 725 730	3411

tac ttg tac cag aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg Tyr Leu Tyr Gln Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg 735 740 745	3459
tat caa ctt aga ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac Tyr Gln Leu Arg Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr 750 755 760	3507
tcg atc agg tac aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act Ser Ile Arg Tyr Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr 765 770 775 780	3555
ggt tcc ctc tgg cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga Gly Ser Leu Trp Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly 785 790 795	3603
gag cct aac aga tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac Glu Pro Asn Arg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp 800 805 810	3651
tgc tcc tgc agg gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc Cys Ser Cys Arg Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe 815 820 825	3699
tcc ttg gac atc gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga Ser Leu Asp Ile Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly 830 835 840	3747
gtc tgg gtc atc ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt Val Trp Val Ile Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu 845 850 855 860	3795
ggc aac ctt gag ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc Gly Asn Leu Glu Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu 865 870 875	3843
gct cgt gtg aag aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa Ala Arg Val Lys Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys 880 885 890	3891
ctc gaa tgg gaa act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg Leu Glu Trp Glu Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val 895 900 905	3939
gat gct ttg ttc gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc Asp Ala Leu Phe Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Ala Asp Thr 910 915 920	3987
aac atc gcc atg atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt Asn Ile Ala Met Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg 925 930 935 940	4035
gag gct tac ttg cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc Glu Ala Tyr Leu Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala 945 950 955	4083
atc ttc gag gaa ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac Ile Phe Glu Glu Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr 960 965 970	4131
gat gcc aga aac gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc Asp Ala Arg Asn Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser 975 980 985	4179
tgc tgg aat gtg aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag Cys Trp Asn Val Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln 990 995 1000	4227
cgt tcc gtc ctg gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa Arg Ser Val Leu Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln 1005 1010 1015	4272
gag gtt aga gtc tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc Glu Val Arg Val Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr 1020 1025 1030	4317
gct tac aag gag gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag Ala Tyr Lys Glu Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu 1035 1040 1045	4362

atc gag aac aac acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag ile Glu Asn Asn Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu 1050 1055 1060	4407
gaa gaa atc tat ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act Glu Glu Ile Tyr Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr 1065 1070 1075	4452
gtg aat cag gaa gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga Val Asn Gln Glu Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg 1080 1085 1090	4497
ggg tac aac gaa gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg Gly Tyr Asn Glu Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val 1095 1100 1105	4542
tac gag gag aaa tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc Tyr Glu Glu Lys Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys 1110 1115 1120	4587
gag ttc aac aga ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc Glu Phe Asn Arg Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly 1125 1130 1135	4632
tat gtt acc aag gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg Tyr Val Thr Lys Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val 1140 1145 1150	4677
tgg atc gag atc ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc Trp Ile Glu Ile Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser 1155 1160 1165	4722
gtg gag ctt ctc ttg atg gag gaa taa tga gatctatcga ttctagaagg Val Glu Leu Leu Leu Met Glu Glu 1170 1175	4772
cctgaattct gcatgcgttt ggacgtatgc tcattcaggt tggagccaat ttggttgatg	4832
tgtgtgcgag ttcttgcgag tctgatgaga catctctgta ttgtgtttct ttccccagtg	4892
ttttctgtac ttgtgtaatc ggctaatacgc caacagattc ggcgatgaat aaatgagaaa	4952
taaattgttc tgattttgag tgcaaaaaaa aaggaatt	4990

<210> 8
<211> 1177
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 8

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

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

420					425					430					
Val	Ser	Met	Phe	Arg	Ser	Gly	Phe	Ser	Asn	Ser	Ser	Val	Ser	Ile	Ile
		435					440					445			
Arg	Ala	Pro	Met	Phe	Ser	Trp	Ile	His	Arg	Ser	Ala	Glu	Phe	Asn	Asn
	450					455					460				
Ile	Ile	Ala	Ser	Asp	Ser	Ile	Thr	Gln	Ile	Pro	Leu	Val	Lys	Ala	His
465				470						475					480
Thr	Leu	Gln	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Val	Arg	Gly	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly
				485					490					495	
Gly	Asp	Ile	Leu	Arg	Arg	Thr	Ser	Gly	Gly	Pro	Phe	Ala	Tyr	Thr	Ile
			500					505					510		
Val	Asn	Ile	Asn	Gly	Gln	Leu	Pro	Gln	Arg	Tyr	Arg	Ala	Arg	Ile	Arg
		515					520					525			
Tyr	Ala	Ser	Thr	Thr	Asn	Leu	Arg	Ile	Tyr	Val	Thr	Val	Ala	Gly	Glu
	530					535					540				
Arg	Ile	Phe	Ala	Gly	Gln	Phe	Asn	Lys	Thr	Met	Asp	Thr	Gly	Asp	Pro
545				550						555					560
Leu	Thr	Phe	Gln	Ser	Phe	Ser	Tyr	Ala	Thr	Ile	Asn	Thr	Ala	Phe	Thr
				565					570					575	
Phe	Pro	Met	Ser	Gln	Ser	Ser	Phe	Thr	Val	Gly	Ala	Asp	Thr	Phe	Ser
			580					585					590		
Ser	Gly	Asn	Glu	Val	Tyr	Ile	Asp	Arg	Phe	Glu	Leu	Ile	Pro	Val	Thr
		595					600					605			
Ala	Thr	Leu	Glu	Ala	Glu	Tyr	Asn	Leu	Glu	Arg	Ala	Gln	Lys	Ala	Val
	610					615					620				
Asn	Ala	Leu	Phe	Thr	Ser	Thr	Asn	Gln	Leu	Gly	Leu	Lys	Thr	Asn	Val
625				630						635					640
Thr	Asp	Tyr	His	Ile	Asp	Gln	Val	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Tyr	Leu	Ser
				645					650					655	
Asp	Glu	Phe	Cys	Leu	Asp	Glu	Lys	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Lys	Val	Lys
			660					665					670		
His	Ala	Lys	Arg	Leu	Ser	Asp	Glu	Arg	Asn	Leu	Leu	Gln	Asp	Ser	Asn
	675						680					685			
Phe	Lys	Asp	Ile	Asn	Arg	Gln	Pro	Glu	Arg	Gly	Trp	Gly	Gly	Ser	Thr
	690					695					700				
Gly	Ile	Thr	Ile	Gln	Gly	Gly	Asp	Asp	Val	Phe	Lys	Glu	Asn	Tyr	Val
705				710						715					720
Thr	Leu	Ser	Gly	Thr	Phe	Asp	Glu	Cys	Tyr	Pro	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Gln
				725					730					735	
Lys	Ile	Asp	Glu	Ser	Lys	Leu	Lys	Ala	Phe	Thr	Arg	Tyr	Gln	Leu	Arg

740	745	750
Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr 755 760 765		
Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp 770 775 780		
Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg 785 790 795 800		
Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg 805 810 815		
Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile 820 825 830		
Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile 835 840 845		
Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu 850 855 860		
Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys 865 870 875 880		
Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu 885 890 895		
Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe 900 905 910		
Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met 915 920 925		
Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu 930 935 940		
Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu 945 950 955 960		
Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn 965 970 975		
Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val 980 985 990		
Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu 995 1000 1005		
Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val 1010 1015 1020		
Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu 1025 1030 1035		
Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn 1040 1045 1050		
Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr		

1055	1060	1065
Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys 1070 1075	Asn Asp Tyr Thr Val 1080	Asn Gln Glu
Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr 1085 1090	Ser Arg Asn Arg Gly 1095	Tyr Asn Glu
Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp 1100 1105	Tyr Ala Ser Val Tyr 1110	Glu Glu Lys
Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg 1115 1120	Glu Asn Pro Cys Glu 1125	Phe Asn Arg
Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro 1130 1135	Leu Pro Val Gly Tyr 1140	Val Thr Lys
Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu 1145 1150	Thr Asp Lys Val Trp 1155	Ile Glu Ile
Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe 1160 1165	Ile Val Asp Ser Val 1170	Glu Leu Leu
Leu Met Glu Glu 1175		

REIVINDICACIONES

1. Un polinucleótido que codifica una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600.
- 5 2. El polinucleótido de la reivindicación 1, seleccionado de la SEC ID N°: 1 y SEC ID N°: 3, preferentemente el polinucleótido está destinado para su uso en la expresión de dicha proteína insecticida en una planta de cultivo.
3. El polinucleótido de la reivindicación 2, en el que dicha planta de cultivo está seleccionada de una planta de cultivo monocotiledónea y una planta de cultivo dicotiledónea, preferentemente
 - (i) dicha planta monocotiledónea está seleccionada de maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo negro, centeno, grama (festuca, timothy, bromo, vergel, San Agustín, Bermuda, agróstide) y cebada, o
 - 10 (ii) dicha planta dicotiledónea está seleccionada de alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, judía, baya, mora, arándano, colza, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, tilo, algodón, alubia, arándano agrio, pepino, cucurbitácea, berenjena, árbol frutal, uva, limón, lechuga, lino, melón, mostaza, árbol de frutos secos, quimbombo, naranja, guisante, melocotón, cacahuete, pera, ciruela, patata, soja, calabaza, fresa, remolacha azucarera, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y hortalizas.
- 15 4. El polinucleótido de la reivindicación 1, que codifica una proteína insecticida que presenta una secuencia de aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde aminoácido 1 al aminoácido 612.
5. El polinucleótido de la reivindicación 1, que codifica la proteína insecticida como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde el aminoácido 1 al aminoácido 610.
- 20 6. Una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600.
7. La proteína insecticida de la reivindicación 6, que es una proteína insecticida híbrida que comprende un segmento de aminoácidos que comprende al menos 500 aminoácidos contiguos seleccionados del segmento de aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600.
8. Una composición que comprende una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de la proteína de la reivindicación 6.
- 25 9. La composición de la reivindicación 8, que comprende una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de dicha proteína insecticida, en la que dicha composición está seleccionada de una célula vegetal, una célula bacteriana, una célula fúngica, un coloide, una emulsión, un revestimiento para semillas, un cebo y un polvo.
10. La composición de la reivindicación 9, en la que dicha proteína insecticida está presente en una cantidad de $5 \cdot 10^{-5}$ a 0,02 % en moles (de 0,5 a 200 partes por millón (ppm)), preferentemente
 - (i) dicha proteína insecticida está presente en una cantidad de $5 \cdot 10^{-5}$ - $2 \cdot 10^{-3}$ % en moles (de 0,5 a 20 ppm), o
 - (ii) dicha composición es una célula vegetal o un grupo de células vegetales, más preferentemente el polinucleótido que codifica la cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de dicha proteína insecticida esté presente en una cantidad que puede detectarse usando una sonda que es o es complementaria a una
 - 35 secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID N°: 1 desde la posición del nucleótido 1401 a la 1420 y la SEC ID N°: 1 desde la posición del nucleótido 1821 a la 1840, o

dicha cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de dicha proteína es suficiente para controlar una plaga de plantas de géneros de lepidópteros cuando se proporciona en la dieta de dicha plaga, seleccionándose dicha plaga de *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*.
- 40 11. Un casete de expresión para su uso en la expresión de una proteína insecticida que tiene la secuencia de aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 en una célula huésped, en el que dicho casete de expresión comprende, en unión operativa, una secuencia promotora funcional en dicha célula huésped y un polinucleótido que codifica dicha proteína.
12. El casete de expresión de la reivindicación 11 en el que dicha célula huésped está seleccionada de una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero y una célula vegetal, preferentemente
 - (a) dicha célula bacteriana está seleccionada de una célula de especies de *Bacillus*, una célula de especies de *Enterobacteriaceae*, una célula de especies de *Pseudomonas*, una célula de especies de *Clostridium*, una célula de especies de *Rhizobium* y una célula de especies de *Agrobacterium*; y
 - 50 (b) dicha célula vegetal está seleccionada de una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, seleccionándose adicionalmente dicha planta dicotiledónea de alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, judía, baya, mora, arándano, colza, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, tilo, algodón, alubia, arándano agrio, pepino, cucurbitácea, berenjena, árbol frutal, uva, limón, lechuga, lino, melón, mostaza, árbol de frutos secos, quimbombo, naranja, guisante, melocotón, cacahuete, pera, ciruela, patata, soja, calabaza, fresa, remolacha

azucarera, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y hortalizas, y seleccionándose dicha planta monocotiledónea adicionalmente de maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo negro, centeno, grama (festuca, timothy, bromo, vergel, San Agustín, Bermuda, agróstide) y cebada

13. El casete de expresión de la reivindicación 11, en el que dicha célula huésped es una célula vegetal y dicho casete de expresión comprende adicionalmente, en unión operativa, un polinucleótido seleccionado de una secuencia potenciadora de expresión, una secuencia líder no traducida, una secuencia intrónica, una secuencia que codifica un péptido que se dirige al cloroplasto y una secuencia de poliadenilación y terminación de la transcripción, comprendiendo preferentemente dicho casete de expresión un polinucleótido que codifica una proteína insecticida.
14. Un vector que comprende el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13.
15. Una planta transgénica o una célula vegetal resistente a una infestación por insectos lepidópteros que comprende un polinucleótido que codifica una proteína que presenta la secuencia aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600, en el que dicha proteína presenta actividad insecticida cuando se expresa en dicha planta o en célula vegetal.
16. La planta transgénica o célula vegetal de la reivindicación 15, en la que dicha planta transgénica está seleccionada de una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, seleccionándose adicionalmente dicha planta dicotiledónea entre alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, judía, baya, mora, arándano, colza, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, tilo, algodón, alubia, arándano agrio, pepino, cucurbitácea, berenjena, árbol frutal, uva, limón, lechuga, lino, melón, mostaza, árbol de frutos secos, quimbombo, naranja, guisante, melocotón, cacahuete, pera, ciruela, patata, soja, calabaza, fresa, remolacha azucarera, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y hortalizas, y seleccionándose dicha planta monocotiledónea adicionalmente de maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo negro, centeno, grama (festuca, timothy, bromo, vergel, San Agustín, Bermuda, agróstide) y cebada
17. La planta transgénica o célula vegetal de la reivindicación 16 resistente a una infestación por insectos lepidópteros, en la que dicho insecto lepidóptero está seleccionada de un enrollador foliar, un gusano cortador, un gusano cogollero, un barrenador, una oruga de bolsón y un consumidor de forraje, preferentemente dicho insecto lepidóptero se selecciona adicionalmente de un gusano cogollero, un barrenador europeo del maíz, un gusano de la mazorca del maíz o un gusano de la cápsula del algodón, y un barrenador sudoccidental del maíz.
18. La descendencia o la semilla de la planta transgénica o célula vegetal de la reivindicación 17, en la que dicha descendencia o semilla comprende dicho polinucleótido.
19. Un procedimiento para controlar una infestación por insectos lepidópteros de una planta proporcionado en la dieta del insecto una o más células vegetales transformadas con un ácido nucleico que comprende, en unión operativa, un promotor funcional de planta y un polinucleótido que codifica una proteína que presente la secuencia de aminoácidos como se presenta en la SEC ID N°: 2 desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600 que presente actividad insecticida contra lepidópteros.
20. Un procedimiento para proteger un cultivo en un campo contra una infestación por insectos lepidópteros que comprende cultivar una planta de cultivo transgénica que comprende una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida de un agente insecticida de la proteína Cry1A.105 en la dieta del insecto lepidóptero para inhibir la supervivencia del insecto en dicha planta de cultivo transgénica, en el que dicho agente insecticida comprende una secuencia de aminoácidos desde la posición del aminoácido 10 a la posición del aminoácido 600 como se presenta en la SEC ID N°: 2.
21. El procedimiento de la reivindicación 20, en el que
 - (i) dicha planta de cultivo transgénica comprende adicionalmente un agente insecticida adicional tóxico para la misma especie de insecto que la Cry1A.105 y está seleccionado de una toxina de *Bacillus*, una toxina de *Xenorhabdus*, una toxina de *Photorhabdus* y un ARNbc específico para la supresión de uno o más genes esenciales en dichas especies de insectos; y/o
 - (ii) el rendimiento de dicho cultivo se mejora en comparación con el rendimiento de un cultivo isogénico que carece de dicho agente o agentes insecticidas.
22. Un procedimiento para retrasar la aparición de la resistencia de una especie de lepidóptero que comprende proporcionar una primera proteína insecticida Cry1A.105 al menos con una segunda proteína insecticida diferente de la primera, en la que dicha segunda proteína insecticida está seleccionada del grupo de proteínas que consiste en una toxina Cry1, una Cry2, una Cry5, una Cry9 y una proteína VIP.
23. El procedimiento de la reivindicación 21, en el que dicho agente insecticida adicional, que es una toxina de *Bacillus*, está seleccionado del grupo de proteínas que consisten en una toxina Cry1, una Cry2, una Cry5, una Cry9 y una VIP.