



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-115116- -00000-0000

Fecha: 2013-05-08 15:08:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 179

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DE

**PATENTE DE INVENCION
PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL**

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO: PLANTA Y SEMILLA DE SOJA CORRESPONDIENTE AL
EVENTO TRANSGENICO MON87712 Y METODOS PARA
SU DETECCION

52. CLASIFICACION INTERNACIONAL: C12Q 1/68

71. SOLICITANTE: MONSANTO TECHNOLOGY LLC

DOMICILIO: 800 North Lindbergh, Boulevard, St. Louis,
Missouri 63167, ESTADOS UNIDOS

74. APODERADO: Dra. MARGARITA CASTELLANOS A.

22. BOGOTA, D.C.,

08 MAYO 2013



No. 13-115116-00000-0000

Fecha: 2013-05-08 15:08:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 179

DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de Invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2011/055799	Fecha 11/10/2011
Publicación Internacional No.		WO 2012/051199 A2	Fecha 19/04/2012
3	(54) TITULO DE LA INVENCION (200 caracteres o espacios máximos)		
PLANTA Y SEMILLA DE SOJA CORRESPONDIENTE AL EVENTO TRANSGENICO MON87712 Y METODOS PARA SU DETECCION			
4	CLASIFICACION INTERNACIONAL (51) CIP		
C12Q 1/68			
5	(71) SOLICITANTE(S) _____ Esta persona también es inventor Para datos adicionales utilizar hoja de información adicional		
APELLIDOS O RAZON SOCIAL MONSANTO TECHNOLOGY LLC		NOMBRE	IDENTIFICACION TIPO
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCION CIUDAD DEPARTAMENTO/ESTADO PAIS DE RESIDENCIA		800 North Lindbergh St. Louis Missouri 63167 ESTADOS UNIDOS	No. TELEFONO E-MAIL NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCION ESTADOUNIDENSE
7	(72) INVENTOR(ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información adicional		
APELLIDOS 1. COLE 2. KORTE 3. LEDEAUX 4. SPEARS 5. WU 6. 7.		NOMBRES ROBERT H. JOHN A. JOHN R. MELISSA COMPTON KUNSHENG	NACIONALIDAD ESTADOUNIDENSE ESTADOUNIDENSE ESTADOUNIDENSE ESTADOUNIDENSE ESTADOUNIDENSE
DIRECCION DE CORREO ELECTRONICO:			
8	DATOS INVENTOR(ES)		
PAIS RESIDENCIA 1. ESTADOS UNIDOS 2. ESTADOS UNIDOS 3. ESTADOS UNIDOS 4. ESTADOS UNIDOS 5. ESTADOS UNIDOS 6. 7.		DEPARTAMENTO/ESTADO MO 63167 MO 63167 MO 63167 MO 63167 MO 63167	CIUDAD St. Louis St. Louis St. Louis St. Louis St. Louis
DIRECCION 800 North Lindbergh Blvd. 800 North Lindbergh Blvd. 800 North Lindbergh Blvd. 800 North Lindbergh Blvd. 800 North Lindbergh Blvd.			
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/U OTRO(S) INVENTOR(ES)			
Los demás solicitantes y/o demás inventores se indican en una hoja a continuación			
9	(74) _____ REPRESENTANTE ☒ APODERADO		
APELLIDOS CASTELLANOS ABONDANO		NOMBRES MARGARITA	IDENTIFICACION C.C. 39.779.654 T.P. 70.819
DIRECCION Calle 94A No. 7A-09		No. TELEFONO 7560770	
CIUDAD BOGOTA		E-MAIL info@castellanosyco.co	
PAIS COLOMBIA		No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
1.	(33) PAIS DE ORIGEN ESTADOS UNIDOS	CODIGO PAIS US	(31) NUMERO 61/392267	(32) FECHA (AAA/MM/DD) 2010/10/12
2.	ESTADOS UNIDOS	US	61/393448	2010/10/15
3.				
11	DECLARACION SOBRE USO DE RECURSOS GENETICOS O BIOLOGICOS			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.				
☐ SI ☒ NO				
NOTA: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACION SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.				
☐ SI ☒ NO				
NOTA: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCION DE TASAS			
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente				
☐ SI ☒ NO				
NOTA: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas		Entidades sin animo de lucro
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.		☐ Copia de registro vigente en Cámara de Comercio.
☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.				☐ Hoja de información complementaria.
				☐ Otros, especificar.
14	AUTORIZACION DE NOTIFICACION EN LINEA ☐ SI ☒ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deber ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRONICO	N° 13-0042449 y 13-0042451		Fecha: Mayo 6 de 2013
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
Margarita Castellanos Abondano MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO - APODERADO 08 MAYO 2013				
16	ORDEN Y RELACION DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
Solicitud Internacional en Castellano				
1.	☒ Descripción	N° de folios: 75		
2.	☒ Reivindicaciones	N° de reivindicaciones: 26		
3.	☒ Dibujos y/o figuras	N° de folios: 2		
4.	☒ Resumen			
5.	☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.	9. ☒ Poderes, si fuera el caso.		
6.	☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.	10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
7.	☐ Arte final 12 x 12	11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
8.	☐ Anexo formato digital.	12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
		13. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.		
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad		
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

728713

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

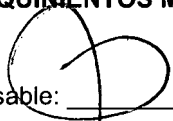
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0042449
		Bogotá D.C., Mayo 06 de 2013 - 14:49:20

RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO NI 800.174.641

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	407297881	06/05/2013	8.302.400.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
			\$500.000.00
=====			

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-115116- 00000-0000
Fecha: 2013-05-08 15:08:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 179

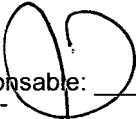
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0042451
		Bogotá D.C., Mayo 06 de 2013 - 14:49:20

RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO					NI 800.174.641	
*** Soporte del Pago ***						
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO	
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	407297881	06/05/2013	8.302.400.00	

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
16	50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00
				480.000.00
				\$480.000.00
=====				

SON: **CUATROCIENTOS OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-115116- -00000-0000
Fecha: 2013-05-08 15:08:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 179

PODER

El (los) **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

Domiciliados en **800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, EEUU**

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso-administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

- Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fábrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
- Para la obtención de registros sanitarios;
- Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales.

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy **19 de Diciembre de 2005**

en **St. Louis, Missouri, USA**

por **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

(El notario debe suscribir el documento en la pagina siguiente)

(Se requiere legalización consular o mediante apostilla)

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

Of **800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, EEUU**

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and /or MARGARITA CASTELLANOS A.** attorneys residing at Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia, to obtain the protection of my (our) Industrial Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

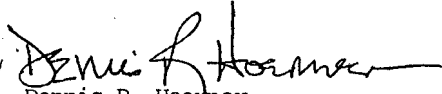
- Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
- For the obtainment of Sanitary registrations;
- Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney, compromise, desist, cancel, receive, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact, in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this **19th December, 2005**

in **St. Louis, Missouri**

by 
Dennis R. Hoerner
(Notary shall execute on the next page)

(Consular legalization or apostille is required)

CERTIFICADO NOTARIAL (Sociedad)

NOTARIAL CERTIFICATION (Corporation)

ALVARO CASTELLANOS M & CIA

Hoy 19^{de} Dic. del año 2005
compareció (eron) personalmente
DENNIS R. HOERNER

a quienes conozco como la(s) personas que firma(n) en
representación de la Sociedad (Compañía) denominada
MONSANTO TECHNOLOGY LLC

Certifico :

a) Que MONSANTO TECHNOLOGY LLC

es una sociedad/Compañía legalmente constituida y
existente de acuerdo con las leyes de

b) Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es
St. Louis, Missouri

c) Que el objeto u objetos para los cuales se otorga el
presente poder están comprendidos dentro del objeto
social de la mencionada Sociedad /Compañía.

d) Que el Sr. DENNIS R. HOERNER
esta autorizado para otorgar el presente poder. Lo anterior
esta probado por medio de los siguientes documentos, que
certifico he visto*

(Ciudad) St. Louis

(Estado) Missouri

Hoy 19 del Diciembre de 2005

(Notario Público)

*Los documentos debe identificarse con fecha y origen.

On this 19 day of Dec. of 2005
personally appeared

Dennis R. Hoerner

whom I know to be the person(s) who signed this document as
representative(s) of the Corporation /Company named
Monsanto Technology LLC

I certify:

a) That

Monsanto Technology LLC

is a corporation (Company legally constituted and in
existence in accordance with the laws of

b) That the domicile of said Corporation/Company is
St. Louis, Missouri

c) That the purpose or purposes for which the present
Power of Attorney is granted are comprised within the
object set forth in the charter of the mentioned
Corporation/Company.

d) That Mr. Dennis R. Hoerner
is (are) authorized to grant the present Power of Attorney. The
aforementioned was duly proven through the following
documents and I duly certify having seen them*:

(City) St. Louis

(State) Missouri

this 19 day of Dec of the year 2005

(Notary Public)

Michelle Ludwig

*Documents must be identified with date and origin



MICHELLE LUDWIG
My Commission Expires
July 13, 2009
St. Louis County
Commission #05550747

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document
2. has been signed by MICHELLE LUDWIG
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC
4. bears the seal/stamp of MICHELLE LUDWIG-NOTARY PUBLIC-STATE OF MISSOURI

Certified

5. at Jefferson City, Missouri
6. the 21ST day of DECEMBER, 2005
7. by Robin Carnahan, Secretary of State, State of Missouri
8. No. 142500
9. Seal/Stamp
10. Signature:

Robin Carnahan

-----TRADUCCION OFICIAL No. 06-02-04-----

de un documento escrito en INGLES, el cual para su identificación lleva el sello de la Traductora e Intérprete Oficial, Res. 2755/68 y 01144/97 de Minjusticia, al igual que la presente.-----

(Adjunto a un documento de Poder otorgado por MONSANTO TECHNOLOGY LLC)

Sello Notarial:

MICHELLE LUDWIG

Mi comisión vence Julio 13, 2009

Condado de St. Louis – Comisión #05550747

APOSTILLA

(Convención de La Haya de octubre 5, 1961)

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público

2. ha sido firmado por Michelle Ludwig

3. actuando en su carácter de Notario Público

4. Lleva el sello de Michelle Ludwig – Notario Público – Estado de Missouri

CERTIFICADO

5. En Jefferson City, Missouri

6. El día 21 de Diciembre de 2005

DORA DUQUE DE BERNAL
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RES. 02755/68 Y 01144/97 - MINJUSTICIA
REP. DE COLOMBIA

7. por Robin Carnahan, Secretario de Estado, Estado de Missouri

8. No. 142500

9. Sello (en dorado)

10. Firma:

(fdo) Robin Carnahan

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, a la cual me remito,

Bogotá, D. C., Febrero 9, 2006.



DORA DUQUE DE BERNAL
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RES. 02755/68 Y 01144/97 - MINJUSTICIA
REP. DE COLOMBIA

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 FEB 13 A 11:55

Jefe de Legalizaciones
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

613662
Dora Duque
Cuya firma aparece en el
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
19 April 2012 (19.04.2012)(10) International Publication Number
WO 2012/051199 A2

PCT

(51) International Patent Classification:
C12Q 1/68 (2006.01)(21) International Application Number:
PCT/US2011/055799(22) International Filing Date:
11 October 2011 (11.10.2011)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/392,267 12 October 2010 (12.10.2010) US
61/393,448 15 October 2010 (15.10.2010) US(71) Applicant (for all designated States except US): **MON-SANTO TECHNOLOGY LLC** [US/US]; 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **COLE, Robert, H.** [US/US]; 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167 (US). **KORTE, John, A.** [US/US]; 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167 (US). **LEDEAUX, John, R.** [US/US]; 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167 (US). **SPEARS, Melissa, Compton** [US/US]; 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167 (US). **WU, Kunsheng** [US/US]; 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167 (US).(74) Agent: **HANSON, Robert, E.**; Sonnenschein Nath & Rosenthal, 7800 Sears Tower, 233 South Wacker Dr., Chicago, IL 60606 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: SOYBEAN PLANT AND SEED CORRESPONDING TO TRANSGENIC EVENT MON87712 AND METHODS FOR DETECTION THEREOF

(57) Abstract: The present invention provides a transgenic soybean comprising event MON87712 that exhibits increased yield. The invention also provides cells, plant parts, seeds, plants, commodity products related to the event, and DNA molecules that are unique to the event and were created by the insertion of transgenic DNA into the genome of a soybean plant. The invention further provides methods for detecting the presence of said soybean event nucleotide sequences in a sample, probes and primers for use in detecting nucleotide sequences that are diagnostic for the presence of said soybean event.

WO 2012/051199 A2

**SOYBEAN PLANT AND SEED CORRESPONDING TO TRANSGENIC EVENT
MON87712 AND METHODS FOR DETECTION THEREOF**

CROSS REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

5 This application claims the benefit of United States Provisional Application Nos. 61/392,267 and 61/393,448, filed on October 12, 2010 and October 15, 2010, herein incorporated by reference in their entirety.

INCORPORATION OF SEQUENCE LISTING

10 The sequence listing that is contained in the file named "MONS299WO.txt", which is 26.3 kilobytes as measured in Microsoft Windows operating system and was created on 5 October 2011, is filed electronically herewith and incorporated herein by reference.

FIELD OF THE INVENTION

15 The present invention relates to transgenic soybean event MON87712 and plants comprising the event that exhibit increased yield. The invention also provides cells, plant parts, seeds, plants, commodity products related to the event, and DNA molecules that are unique to the event and were created by the insertion of transgenic DNA into the
20 genome of a soybean plant. The invention further provides methods for detecting the presence of said soybean event nucleotide sequences in a sample, probes and primers for use in detecting nucleotide sequences that are diagnostic for the presence of said soybean event.

BACKGROUND OF THE INVENTION

25 Soybean (*Glycine max*) is an important crop and is a primary food source in many areas of the world. The methods of biotechnology have been applied to soybean for improvement of agronomic traits and the quality of the product. One such agronomic trait is increased yield.

30 Increased yield may be achieved in transgenic plants by the expression of a transgene capable of providing such increased yield. The expression of foreign genes in plants is known to be influenced by many factors, such as the regulatory elements used in the transgene cassette, the chromosomal location of the transgene insert, the proximity of any endogenous regulatory elements close to the transgene insertion site, and

environmental factors such as light and temperature. For example, it has been observed that there may be a wide variation in the overall level of transgene expression or in the spatial or temporal pattern of transgene expression between similarly-produced events. For this reason, it is often necessary to screen hundreds of independent transformation
5 events in order to ultimately identify one event useful for commercial agricultural purposes. Such an event, once identified as having the desired transgene expression, molecular characteristics and the improved trait, may then be used for introgressing the improved trait into other genetic backgrounds using plant breeding methods. The resulting progeny would contain the transgenic event and would therefore have the
10 transgene expression characteristics for that trait of the original transformant. This may be used to produce a number of different crop varieties that comprise the improved trait and are suitably adapted to specific local growing conditions.

SUMMARY OF THE INVENTION

15 The present invention provides transgenic soybean plants and seeds comprising event MON87712, a representative seed sample of which have been deposited with American Type Culture Collection (ATCC) under the Accession No. PTA-10296. Plants comprising the event exhibit increased yield.

The invention provides a plant, seed, cell, progeny plant, or plant part comprising
20 the event and commodity products derived from a plant, cell, plant part, or seed comprising event MON87712. The invention thus provides a plant, seed, cell, progeny plant, plant part, or commodity product comprising a DNA molecule having a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 and SEQ ID NO: 6, and
25 complements thereof. The invention provides a plant, seed, cell, progeny plant, or plant part comprising a recombinant DNA molecule that produces an amplicon comprising a DNA molecule of the invention, for instance in a DNA amplification method. The plant parts of the soybean comprising event MON87712 of the present invention include, but are not limited to pollen, ovule, flower, shoot, root, stem, leaf, pod and seed. Novel
30 genetic compositions contained in the genome of a plant comprising event MON87712 and products made from a plant comprising event MON87712 such as whole or processed seed, animal feed, oil, meal, flour, food products, protein supplements, fuel products and biomass from which soybean plants comprising MON87712 have been harvested are aspects of this invention.

The invention provides DNA molecules related to event MON87712. These DNA molecules may comprise nucleotide sequences representing or derived from the junction of the transgene insertion and flanking genomic DNA of event MON87712, and/or a region of the genomic DNA flanking the inserted DNA, and/or a region of the integrated transgenic DNA flanking the insertion site, and/or a region of the integrated transgenic expression cassette, and/or a contiguous sequence of any of these regions.

In one embodiment, the invention provides a DNA molecule comprising a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 and SEQ ID NO: 6, and complements thereof. In another embodiment, the DNA molecule may comprise a polynucleotide having a sequence comprising from at least about 51-100 consecutive nucleotides of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 7 and SEQ ID NO: 8 or a polynucleotide molecule having a sequence with at least 90% identity to SEQ ID NO: 6. In yet another embodiment, the invention provides a DNA molecule comprising SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 2. According to still another embodiment, there are no more than 5000 consecutive nucleotides between the 3' end of SEQ ID NO: 1 and the 5' end of SEQ ID NO: 2, for instance, no more than 4500, 4000, 3500, 3000, 2500, 2250, 2100, 2050, 2000, or 1992 consecutive nucleotides between the 3' end of SEQ ID NO: 1 and the 5' end of SEQ ID NO: 2. According to yet another embodiment, there are no more than 5000 consecutive nucleotides between the 3' end of SEQ ID NO: 7 and the 5' end of SEQ ID NO: 8, for instance, no more than 4500, 4000, 3500, 3000, 2500, 2250, 2100, 2050, 2000, or 1914 consecutive nucleotides between the 3' end of SEQ ID NO: 7 and the 5' end of SEQ ID NO: 8. In a further embodiment, the invention provides a DNA molecule comprising SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO: 2 and further comprising a BBX32 coding sequence. In some embodiments, the BBX32 coding sequence is operably or genetically linked to SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO: 2. In other embodiments, the BBX32 coding sequence is flanked by SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 2.

The invention also provides DNA molecules useful as primers and probes diagnostic for the event. Plants, cells, plant parts, commodity products, progeny, and seeds comprising these molecules are provided.

According to one aspect of the invention, compositions and methods are provided for detecting the presence of the transgene/genomic insertion region from a novel soybean plant comprising MON87712. DNA sequences are provided that comprise at least one

junction sequence of MON87712 selected from the group consisting of SEQ ID NO: 1 (corresponding to positions 3495 through 3516 of SEQ ID NO: 6, Figure 1 [F]), SEQ ID NO: 2 (corresponding to positions 5509 through 5530 of SEQ ID NO: 6, Figure 1 [F]), SEQ ID NO: 7 (corresponding to positions 3456 through 3555 of SEQ ID NO: 6), SEQ ID NO: 8 (corresponding to positions 5470 through 5569 of SEQ ID NO: 6), and complements thereof; wherein a junction sequence is a nucleotide sequence that spans the point at which heterologous DNA inserted into the genome is linked to the soybean cell genomic DNA and detection of this sequence in a biological sample containing soybean DNA is diagnostic for the presence of the soybean event MON87712 DNA in said sample (Figure 1). A soybean event MON87712 and soybean seed comprising these DNA molecules is an aspect of this invention.

According to another aspect of the invention, two DNA molecules are provided for use in a DNA detection method, wherein the DNA molecules function as DNA primers when used together in an amplification reaction with a template derived from event MON87712 to produce an amplicon diagnostic for event MON87712 DNA in a sample. In one embodiment, a first and second DNA molecules comprise a polynucleotide molecule having a nucleotide sequence of sufficient length of consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 6, or a complement thereof.

In another embodiment, the first DNA molecule comprises a polynucleotide having a nucleotide sequence of sufficient length of consecutive polynucleotide of any portion of the transgene region of the DNA molecule of SEQ ID NO: 3 or SEQ ID NO: 5 and the second DNA molecule comprises a polynucleotide of similar length of any portion of a 5' flanking soybean genomic DNA region of SEQ ID NO: 3. Any amplicon produced by DNA primers homologous or complementary to any portion of SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 5, and any amplicon that comprises SEQ ID NO: 1 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 is an aspect of the invention.

According to another aspect of the invention, the first DNA molecule comprises a polynucleotide having a nucleotide sequence of sufficient length of consecutive polynucleotide of any portion of the transgene region of the DNA molecule of SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 5 and the second DNA molecule comprises a polynucleotide of similar length of any portion of a 3' flanking soybean genomic DNA of SEQ ID NO: 4. Any amplicons produced by DNA primers homologous or complementary to any portion of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 5, and any amplicon that comprises SEQ ID NO: 2 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8 is an aspect of the invention.

The invention provides methods, compositions, and kits useful for detecting the presence of DNA derived from soybean event MON87712. Certain methods comprise (a) contacting a sample comprising DNA with a primer set that when used in a nucleic acid amplification reaction with genomic DNA from a soybean comprising event
5 MON87712 produces an amplicon diagnostic for the event; (b) performing a nucleic acid amplification reaction thereby producing the amplicon; and (c) detecting the amplicon, wherein said amplicon comprises SEQ ID NO: 1 and/or SEQ ID NO: 2, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. The invention also provides a method for detection of the event by (a)
10 contacting a sample comprising DNA with a probe that when used in a hybridization reaction with genomic DNA from the event hybridizes to a DNA molecule specific for the event; (b) subjecting the sample and probe to stringent hybridization conditions; and (c) detecting the hybridization of the probe to the DNA molecule. Kits comprising the methods and compositions of the invention useful for detecting the presence of DNA
15 derived from the event are also provided.

Another aspect of the invention is a method of determining the zygosity of a soybean plant genome comprising soybean event MON87712 DNA in a sample comprising: a) contacting the sample with three different primers that i) when used together in a nucleic acid amplification reaction with soybean event MON87712 DNA,
20 produces a first amplicon that is diagnostic for soybean event MON87712; and ii) when used together in a nucleic acid amplification reaction with soybean genomic DNA other than MON87712 DNA, produces a second amplicon that is diagnostic for soybean wild type genomic DNA other than event MON87712 DNA; b) performing a nucleic acid amplification reaction; and c) detecting said first amplicon and said second amplicon,
25 wherein the presence of said first and second amplicons is diagnostic of a heterozygous genome in said sample, and wherein the presence of only said first amplicon is diagnostic of a homozygous genome in said sample. In one embodiment the primers comprise SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 or 15, and SEQ ID NO: 13.

In one embodiment the method of determining the zygosity of a soybean
30 comprising event MON87712, comprises (a) contacting the sample comprising soybean DNA with the primer set SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 or SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 13, and the probe set 6FAMTM-labeled SEQ ID NO: 12 and VICTM-labeled SEQ ID NO: 14 that when used in a nucleic acid amplification reaction with genomic DNA from a soybean comprising event MON87712, produces a first amplicon, releasing a fluorescent

signal from the combination of primers SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 11 or 15 and the 6FAMTM-labeled probe (SEQ ID NO: 12) that is diagnostic for soybean event MON87712; (b) performing a nucleic acid amplification reaction, thereby producing the first amplicon; and (c) detecting said first amplicon; and (d) contacting the sample comprising soybean DNA with the primer set, SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 13, and the VICTM-labeled probe (SEQ ID NO: 14) that when used in a nucleic acid amplification reaction with genomic DNA from soybean plants produces a second amplicon, releasing a fluorescent signal that is diagnostic of wild-type soybean genomic DNA homologous to the soybean genomic region of a transgene insertion identified as soybean event MON87712; (e) performing a nucleic acid amplification reaction, thereby producing the second amplicon; and (f) detecting said second amplicon; and (g) comparing the first and the second amplicons in a sample, wherein the presence of both amplicons indicates the sample is heterozygous for the transgene insertion.

The invention further provides a method of producing a soybean plant with increased yield comprising: (a) selfing a MON87712 comprising soybean plant, thereby producing a seed; (b) growing said seed to produce a plurality of progeny plant; and (c) selecting a progeny plant that comprises MON87712 or a progeny plant with increased yield. Another aspect of the invention provides a method of producing a soybean plant with increased yield comprising: (a) crossing a MON87712 comprising soybean plant with a second soybean plant, thereby producing a seed; (b) growing said seed to produce a plurality of progeny plants; and (c) selecting a progeny plant that comprises MON87712 or a progeny plant with increased yield.

In yet another aspect, the invention provides a method of increasing yield in a crop comprising a) planting a crop plant or seed comprising event MON87712; and b) growing said crop plant or seed.

The foregoing and other aspects of the invention will become more apparent from the following detailed description.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figure 1. Diagrammatical representation of the transgenic insert in the genome of a soybean comprising event MON87712; [A] corresponds to the relative positions of SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 7, both forming the junction between the 5' portion of the transgenic insert and the 3' portion of the flanking genomic DNA; [B] corresponds to the relative positions of SEQ ID NO: 2 and SEQ ID NO: 8, both forming the junction

between the 3' portion of the transgenic insert and the 5' portion of the flanking genomic DNA; [C] corresponds to the relative position of SEQ ID NO: 3, which contains the soybean genomic flanking region and a portion of the arbitrarily designated 5' end of the transgenic DNA insert; [D] corresponds to the relative position of SEQ ID NO: 4, which contains the soybean genome flanking region and a portion of the arbitrarily designated 3' end of the transgenic DNA insert; [E] represents SEQ ID NO: 5, which is the sequence of the transgenic DNA insert including the BBX32 expression cassette integrated into the genome of a soybean plant comprising event MON87712; [F] represents SEQ ID NO: 6, which is the contiguous sequence comprising the 5' flanking genomic sequence, the transgenic insert and the 3' flanking genomic sequence, comprising as represented in the figure from left to right, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 and SEQ ID NO: 4, in which SEQ ID NOs: 1 and 7, and SEQ ID NOs: 2 and 8 are incorporated as set forth above, as these sequences are present in the genome of a plant comprising event MON87712; [G] and [H] represent forward primers (SEQ ID NO: 11 or SEQ ID NO: 15, and SEQ ID NO: 13) for event-specific zygosity endpoint TAQMAN® PCR for identification of MON87712 and wild-type allele, respectively; [I] represents reverse primer (SEQ ID NO: 10) for identification of MON87712 and wild-type alleles; [J] and [K] represent probes (SEQ ID NO: 12 and SEQ ID NO: 14) used for event-specific zygosity endpoint TAQMAN® PCR for identification of MON87712 and wild-type allele, respectively. Arrows indicate the direction of 5' to 3'. LB: refers to the left border of T-DNA; RB: refers to the right border of T-DNA.

Figure 2. Meta-analysis of yield data for 9 transgenic events from 4 field seasons of field testing in the United States or South America, showing event 1 comprising MON87712 DNA with the highest yield. Panel A: average yield increases of transgenic events over their corresponding negative isolines (bushel/acre). Panel B: average yield increases of transgenic events over wild type control (bushel/acre). The numbers above each bar represent % increase.

BRIEF DESCRIPTION OF THE SEQUENCES

SEQ ID NO: 1 – A 22 bp nucleotide sequence representing the left border junction between the soybean genomic DNA and the integrated DNA insert. This sequence corresponds to positions 3495 to 3516 of SEQ ID NO: 6, and to positions 3495 through 3516 of SEQ ID NO: 3 ([C] of Figure 1). In addition, SEQ ID NO: 1 corresponds to the

integrated left border of the expression cassette at positions 1 through 11 of SEQ ID NO: 5 ([E] of Figure 1).

SEQ ID NO: 2 – A 22 bp nucleotide sequence representing the right border junction between the integrated DNA insert and the soybean genomic DNA. This sequence corresponds to positions 5509 to 5530 of SEQ ID NO: 6, and to positions 90 through 111 of SEQ ID NO: 4 ([D] of Figure 1). In addition, SEQ ID NO: 2 corresponds to positions 2004 through 2014 SEQ ID NO: 5 ([E] of Figure 1).

SEQ ID NO: 3 – A 3605 bp nucleotide sequence including the 5' soybean genomic sequence (3505 bp) flanking the inserted DNA of event MON87712 plus a region (100 bp) of the integrated DNA. This sequence corresponds to positions 1 through 3605 of SEQ ID NO: 6. It is believed that the sequence at position 3451 to 3463 of SEQ ID NO: 3 may contain anywhere from 13 to 100 individual c residues in a row.

SEQ ID NO: 4 – A 2065 bp nucleotide sequence including the 3' soybean genomic sequence (1965 bp) flanking the inserted DNA of event MON87712 plus a region (100 bp) of the integrated DNA. This sequence corresponds to positions 5420 through 7484 of SEQ ID NO: 6.

SEQ ID NO: 5 – The sequence of the integrated expression cassette imparting increased yield, including the left and the right border sequences after integration. SEQ ID NO: 5 corresponds to nucleotide positions 3506 through 5519 of SEQ ID NO: 6.

SEQ ID NO: 6 – A 7484 bp nucleotide sequence representing the contig of the 5' sequence flanking the inserted DNA of MON87712 (SEQ ID NO: 3), the sequence of the integrated DNA insert (SEQ ID NO: 5) and the 3' sequence flanking the inserted DNA of MON87712 (SEQ ID NO: 4). It is believed that the sequence at position 3451 to 3463 of SEQ ID NO: 6 may contain anywhere from 13 to 100 individual c residues in a row.

SEQ ID NO: 7: A 100 bp nucleotide sequence representing the left border junction between soybean genomic DNA and the integrated DNA insert. This sequence corresponds to positions 3456 to 3555 of SEQ ID NO: 6, and to positions 3456 through 3555 of SEQ ID NO: 3 ([C] of Figure 1). In addition, SEQ ID NO: 7 corresponds to the integrated left border of the expression cassette at positions 1 through 50 of SEQ ID NO: 5 ([E] of Figure 1).

SEQ ID NO: 8 – A 100 bp nucleotide sequence representing the right border junction between the integrated DNA insert and the soybean genomic DNA. This sequence corresponds to positions 5470 to 5569 of SEQ ID NO: 6, and to positions 51

through 150 of SEQ ID NO: 4 ([D] of Figure 1). In addition, SEQ ID NO: 8 corresponds to positions 1965 through 2014 SEQ ID NO: 5 ([E] of Figure 1).

SEQ ID NO: 9 – The nucleotide sequence of the BBX32 expression cassette of pMON83132.

5 SEQ ID NO: 10 – The reverse primer sequence used in event-specific zygosity endpoint TAQMAN PCR assay for identification of both MON87712 DNA/allele and wild-type DNA/allele. SEQ ID NO: 10 corresponds to nucleotide positions 5517 to 5546 of SEQ ID NO: 6. Production of a PCR amplicon using the combination of primers SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 11 or 15 is a positive result for the presence of event
10 MON87712.

SEQ ID NO: 11 – The forward primer sequence used to identify MON87712 event and the zygosity of MON87712 event. SEQ ID NO: 11 corresponds to nucleotide positions 5435 to 5458 of SEQ ID NO: 6.

15 SEQ ID NO: 12 – The probe sequence used to identify MON87712 event and the zygosity of MON87712 event. SEQ ID NO: 12 is a 6FAMTM-labeled synthetic oligonucleotide. Release of a fluorescent signal in an amplification reaction using primers SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 11 or 15 in combination with the 6FAMTM-labeled probe in a TAQMAN® assay is diagnostic of event MON87712.

20 SEQ ID NO: 13 – The forward primer sequence used in event-specific zygosity endpoint TAQMAN® PCR for identification of wild-type DNA/allele. Production of a PCR amplicon using primers SEQ ID NO: 13 and SEQ ID NO: 10 is diagnostic of wild-type DNA.

25 SEQ ID NO: 14 – The probe sequence used to determine the presence of soybean wild-type DNA/allele. SEQ ID NO: 14 is a VICTM-labeled synthetic oligonucleotide. Release of a fluorescent signal in an amplification reaction using primers SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 13 in combination with the VICTM-labeled probe in a TAQMAN® assay is diagnostic of the wild-type allele in a zygosity assay.

30 SEQ ID NO: 15 – An alternative forward primer sequence used to identify MON87712 event and the zygosity of MON87712 event. SEQ ID NO: 15 corresponds to nucleotide positions 5432 to 5455 of SEQ ID NO: 6.

SEQ ID NO: 16 – The sequence of primer SQ3983 used to identify MON87712 event. Production of a 97 bp PCR amplicon using the combination of primers SQ3983 and SQ22982 (SEQ ID NO: 17) is a positive result for the presence of event MON87712.

SEQ ID NO: 17 - The sequence of primer SQ22982 used to identify MON87712 event.

SEQ ID NO: 18 – The sequence of probe PB10453 used to identify MON87712 event. It is a 6FAMTM-labeled synthetic oligonucleotide.

5 SEQ ID NO: 19 – The sequence of primer SQ1532 used as an internal control in end-point TAQMAN® assays.

SEQ ID NO: 20 – The sequence of primer SQ1533 used as an internal control in end-point TAQMAN® assays.

10 SEQ ID NO: 21 – The sequence of a VICTM-labeled synthetic oligonucleotide probe PB0359 used as an internal control in end-point TAQMAN® assays.

DETAILED DESCRIPTION

The following definitions and methods are provided to better define the present invention and to guide those of ordinary skill in the art in the practice of the present invention. Unless otherwise noted, terms are to be understood according to conventional usage by those of ordinary skill in the relevant art. Definitions of common terms in molecular biology may also be found in Rieger *et al.*, *Glossary of Genetics: Classical and Molecular*, 5th edition, Springer-Verlag: New York, 1991; and Lewin, *Genes V*, Oxford University Press: New York, 1994.

20 The present invention provides transgenic soybean event MON87712. The term “event” as used herein refers to DNA molecules produced as a result of inserting transgenic DNA into a plant’s genome at a particular location on a chromosome. Event MON87712 refers to the DNA molecules produced as a result of the insertion of transgenic DNA having a sequence provided herein as SEQ ID NO: 5 into a particular chromosomal location in the *Glycine max* genome. Plants, seeds, progeny, cells, and plant parts thereof comprising event MON87712 are also provided in the present invention. A sample of seed comprising MON87712 has been deposited with American Type Culture Collection (ATCC) under Accession No. PTA-10296 on August 20, 2009. Plants comprising MON87712 exhibit increased yield.

30 As used herein, the term “soybean” means *Glycine max* and includes all plant varieties that can be bred with soybean, including wild soybean species as well as those plants belonging to *Glycine soja* that permit breeding between species.

A transgenic “event” is produced by transformation of plant cells with heterologous DNA, *i.e.*, a nucleic acid construct that comprises a transgene of interest,

regeneration of a population of independently transformed transgenic plants resulting from the insertion of the transgene into the genome of the plant, and selection of a particular plant with desirable molecular characteristics, such as insertion of a single copy of the transgene into a particular genome location, integrity of the transgenic DNA, and
5 an enhanced trait such as increased yield. A plant comprising the event can refer to the original transformant that includes the transgene inserted into the particular location in the plant's genome. A plant comprising the event can also refer to progeny of the original transformant that retain the transgene at the same particular location in the plant's genome. Such progeny may be produced by selfing or by a sexual outcross
10 between the transformant, or its progeny, and another plant. Such another plant may be a transgenic plant comprising the same or a different transgene; or may be a non-transgenic plant, such as one from a different variety. The resulting progeny may be homozygous or heterozygous for event MON87712 DNA (inserted DNA and flanking DNA). Even after repeated back-crossing to a recurrent parent, the event DNA from the transformed parent
15 is present in the progeny of the cross at the same genomic location.

A DNA molecule comprising event MON87712 refers to a DNA molecule comprising at least a portion of the inserted transgenic DNA (provided as SEQ ID NO: 5) and at least a portion of the flanking genomic DNA immediately adjacent to the inserted DNA. As such, a DNA molecule comprising event MON87712 has a nucleotide
20 sequence representing at least a portion of the transgenic DNA insert and at least a portion of the particular region of the genome of the plant into which the transgenic DNA was inserted. The arrangement of the inserted DNA in event MON87712 in relation to the surrounding plant genome is specific and unique to event MON87712 and as such the nucleotide sequence of such a DNA molecule is diagnostic and identifying for event
25 MON87712. Examples of the sequence of such a DNA molecule are provided herein as SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 and SEQ ID NO: 6. Such a DNA molecule is also an integral part of the chromosome of a plant that comprises event MON87712 and may be passed on to progenies of the plant.

30 As used herein, a "recombinant DNA molecule" is a DNA molecule comprising a combination of DNA molecules that would not naturally occur together and is the result of human intervention, *e.g.*, a DNA molecule that is comprised of a combination of at least two DNA molecules heterologous to each other, and/or a DNA molecule that is artificially synthesized and comprises a polynucleotide sequence that deviates from the

polynucleotide sequence that would normally exist in nature, and/or a DNA molecule that comprises a transgene artificially incorporated into a host cell's genomic DNA and the associated flanking DNA of the host cell's genome. An example of a recombinant DNA molecule is a DNA molecule described herein resulting from the insertion of the

5 transgene into the *Glycine max* genome, which may ultimately result in the expression of a recombinant RNA and/or protein molecule in that organism. The nucleotide sequence or any fragment derived therefrom would also be considered a recombinant DNA molecule if the DNA molecule can be extracted from cells, or tissues, or homogenate from a plant or seed or plant tissue; or can be produced as an amplicon from extracted

10 DNA or RNA from cells, or tissues, or homogenate from a plant or seed or plant tissue, any of which is derived from such materials derived from a plant comprising event MON87712. For that matter, the junction sequences as set forth at SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 and SEQ ID NO: 8, and nucleotide sequences derived from event MON87712 that also contain these junction sequences are considered to be

15 recombinant DNA, whether these sequences are present within the genome of the cells comprising event MON87712 or present in detectable amounts in tissues, progeny, biological samples or commodity products derived from plants comprising event MON87712. As used herein, the term "transgene" refers to a polynucleotide molecule artificially incorporated into a host cell's genome. Such transgene may be heterologous

20 to the host cell. The term "transgenic plant" refers to a plant comprising such a transgene. A "transgenic plant" includes a plant, plant part, a plant cell or seed whose genome has been altered by the stable integration of recombinant DNA. A transgenic plant includes a plant regenerated from an originally-transformed plant cell and progeny transgenic plants from later generations or crosses of a transformed plant. As a result of such genomic

25 alteration, the transgenic plant is distinctly different from the related wild type plant. An example of a transgenic plant is a plant described herein as comprising event MON87712.

As used herein, the term "heterologous" refers to a sequence which is not normally present in a given host genome in the genetic context in which the sequence is currently found. In this respect, the sequence may be native to the host genome, but be

30 rearranged with respect to other genetic sequences within the host sequence.

The present invention provides DNA molecules and their corresponding nucleotide sequences. As used herein, the terms "DNA sequence", "nucleotide sequence" and "polynucleotide sequence" refer to the sequence of nucleotides of a DNA molecule, usually presented from the 5' (upstream) end to the 3' (downstream) end. The

nomenclature used herein is that required by Title 37 of the United States Code of Federal Regulations § 1.822 and set forth in the tables in WIPO Standard ST.25 (1998), Appendix 2, Tables 1 and 3. The present invention is disclosed with reference to only one strand of the two nucleotide sequence strands that are provided in transgenic event MON87712.

5 Therefore, by implication and derivation, the complementary sequences, also referred to in the art as the complete complement or the reverse complementary sequences, are within the scope of the present invention and are therefore also intended to be within the scope of the subject matter claimed.

The nucleotide sequence corresponding to the complete nucleotide sequence of
10 the inserted transgenic DNA and substantial segments of the *Glycine max* genomic DNA flanking either end of the inserted transgenic DNA is provided herein as SEQ ID NO: 6. A subsection of this is the inserted transgenic DNA provided as SEQ ID NO: 5. The nucleotide sequence of the genomic DNA flanking the 5' end of the inserted transgenic DNA and a portion of the 5' end of the inserted DNA is provided herein as SEQ ID NO:
15 3. The nucleotide sequence of the genomic DNA flanking the 3' end of the inserted transgenic DNA and a portion of the 3' end of the inserted DNA is provided herein as SEQ ID NO: 4. The region spanning the location where the transgenic DNA connects to and is linked to the genomic DNA is referred to herein as the junction. A "junction sequence" or "junction region" refers to a DNA sequence and/or corresponding DNA
20 molecule that spans the inserted transgenic DNA and the adjacent flanking genomic DNA. Examples of a junction sequence of event MON87712 are provided herein as SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7, and SEQ ID NO: 8. The identification of one of these junction sequences in a nucleotide molecule derived from a soybean plant or seed is conclusive that the DNA was obtained from event MON87712 and is diagnostic for the
25 presence of DNA from event MON87712. SEQ ID NO: 1 is a 22 bp nucleotide sequence spanning the junction between the genomic DNA and the 5' end of the inserted DNA. SEQ ID NO: 7 is a 100 bp nucleotide sequence spanning the junction between the genomic DNA and the 5' end of the inserted DNA. SEQ ID NO: 2 is a 22 bp nucleotide sequence spanning the junction between the genomic DNA and the 3' end of the inserted
30 DNA. SEQ ID NO: 8 is a 100 bp nucleotide sequence spanning the junction between the genomic DNA and the 3' end of the inserted DNA. Any segment of DNA derived from transgenic event MON87712 that includes the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1 or 51 consecutive nucleotides, 55 consecutive nucleotides, 60 consecutive nucleotides, 65 consecutive nucleotides, 70 consecutive nucleotides, 75 consecutive nucleotides, 80

consecutive nucleotides, 85 consecutive nucleotides, 90 consecutive nucleotides, 95 consecutive nucleotides, or all of the nucleotides of SEQ ID NO: 7 is within the scope of the present invention. Any segment of DNA derived from transgenic event MON87712 that includes the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2 or 51 consecutive nucleotides, 5 55 consecutive nucleotides, 60 consecutive nucleotides, 65 consecutive nucleotides, 70 consecutive nucleotides, 75 consecutive nucleotides, 80 consecutive nucleotides, 85 consecutive nucleotides, 90 consecutive nucleotides, 95 consecutive nucleotides, or all of the nucleotides of SEQ ID NO: 8 is within the scope of the present invention. In addition, any polynucleotide molecule comprising a sequence complementary to any of the sequences described within this paragraph is within the scope of the present invention. 10 Figure 1 is an illustration of the transgenic DNA insert in the genome of a soybean comprising event MON87712, and the relative positions of SEQ ID NOs: 1-8 arranged 5' to 3'. The present invention also provides a nucleic acid molecule comprising a polynucleotide having a sequence that is at least 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 15 97%, 98%, or 99% identical to the full-length of SEQ ID NO: 6.

The present invention further provides exemplary DNA molecules that can be used either as primers or probes for diagnosing the presence of DNA derived from event MON87712 in a sample. Such primers or probes are specific for a target nucleic acid sequence and as such are useful for the identification of event MON87712 nucleic acid 20 sequence by the methods of the invention described herein.

A "probe" is an isolated nucleic acid to which is attached a detectable label or reporter molecule, *e.g.*, a radioactive isotope, ligand, chemiluminescent agent, or enzyme. Such a probe is complementary to a strand of a target nucleic acid, in the case of the present invention, to a strand of genomic DNA from a soybean comprising event 25 MON87712 whether from a soybean plant or from a sample that comprises DNA from the event. Probes according to the present invention include not only deoxyribonucleic or ribonucleic acids but also polyamides and other probe materials that bind specifically to a target DNA sequence and the detection of such binding can be used to diagnose/determine/confirm the presence of that target DNA sequence in a particular 30 sample.

A "primer" is typically an isolated polynucleotide that is designed for use in specific annealing or hybridization methods to hybridize to a complementary target DNA strand to form a hybrid between the primer and the target DNA strand, and then extended along the target DNA strand by a polymerase, *e.g.*, a DNA polymerase. A pair of primers

may be used with template DNA, such as a sample of *Glycine max* genomic DNA, in a thermal or isothermal amplification, such as polymerase chain reaction (PCR), or other nucleic acid amplification methods, to produce an amplicon, where the amplicon produced from such reaction would have a DNA sequence corresponding to sequence of the template DNA located between the two sites where the primers hybridized to the template. As used herein, an “amplicon” is a piece or fragment of DNA that has been synthesized using amplification techniques, *i.e.* the product of an amplification reaction. In one embodiment of the invention, an amplicon diagnostic for event MON87712 comprises a sequence not naturally found in the *Glycine max* genome. Primer pairs, as used in the present invention, are intended to refer to use of two primers binding opposite strands of a double stranded nucleotide segment for the purpose of amplifying linearly the polynucleotide segment between the positions targeted for binding by the individual members of the primer pair, typically in a thermal or isothermal amplification reaction or other nucleic acid amplification methods. Exemplary DNA molecules useful as primers are provided as SEQ ID NOs: 10-11, SEQ ID NO: 13 and SEQ ID NO: 15. The primer pair provided as SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 11 or 15 may be used as a first DNA molecule and a second DNA molecule that is different from the first DNA molecule, and both molecules are each of sufficient length of consecutive nucleotides of either SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, or SEQ ID NO: 6 or the complements thereof to function as DNA primers so that, when used together in an amplification reaction with template DNA derived from event MON87712, an amplicon that is specific and unique to transgenic event MON87712 would be produced. The use of the term “amplicon” specifically excludes primer-dimers that may be formed in the DNA amplification reaction.

Probes and primers according to the present invention may have complete sequence identity to the target sequence, although primers and probes differing from the target sequence that retain the ability to hybridize preferentially to target sequences may be designed by conventional methods. In order for a nucleic acid molecule to serve as a primer or probe it needs only be sufficiently complementary in sequence to be able to form a stable double-stranded structure under the particular solvent and salt concentrations employed. Any nucleic acid hybridization or amplification method can be used to identify the presence of transgenic DNA from event MON87712 in a sample. Probes and primers are generally at least about 11 nucleotides, at least about 18 nucleotides, at least about 24 nucleotides, and at least about 30 nucleotides or more in

length. Such probes and primers hybridize specifically to a target sequence under high stringency hybridization conditions.

Methods for preparing and using probes and primers are described, for example, in *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., vol. 1-3, ed. Sambrook *et al.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 (hereinafter, "Sambrook *et al.*, 1989"); *Current Protocols in Molecular Biology*, ed. Ausubel *et al.*, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, 1992 (with periodic updates) (hereinafter, "Ausubel *et al.*, 1992"); and Innis *et al.*, *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press: San Diego, 1990. PCR-primer pairs can be derived from a known sequence, for example, by using computer programs intended for that purpose such as Primer (Version 0.5, © 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA).

Primers and probes based on the flanking DNA and insert sequences disclosed herein can be used to confirm the disclosed sequences by known methods, *e.g.*, by re-cloning and sequencing such sequences.

The nucleic acid probes and primers of the present invention hybridize under stringent conditions to a target DNA sequence. Any nucleic acid hybridization or amplification method can be used to identify the presence of DNA from a transgenic event in a sample. Nucleic acid molecules or fragments thereof are capable of specifically hybridizing to other nucleic acid molecules under certain circumstances. As used herein, two nucleic acid molecules are said to be capable of specifically hybridizing to one another if the two molecules are capable of forming an anti-parallel, double-stranded nucleic acid structure. A nucleic acid molecule is said to be the "complement" of another nucleic acid molecule if they exhibit complete complementarity. As used herein, molecules are said to exhibit "complete complementarity" when every nucleotide of one of the molecules is complementary to a nucleotide of the other. Two molecules are said to be "minimally complementary" if they can hybridize to one another with sufficient stability to permit them to remain annealed to one another under at least "low-stringency" conditions. Similarly, the molecules are said to be "complementary" if they can hybridize to one another with sufficient stability to permit them to remain annealed to one another under "high-stringency" conditions. Stringency conditions are described by Sambrook *et al.*, 1989, and by Haymes *et al.*, In: *Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach*, IRL Press, Washington, DC (1985). Departures from complete complementarity are therefore permissible, as long as such departures do not completely

preclude the capacity of the molecules to form a double-stranded structure. In order for a nucleic acid molecule to serve as a primer or probe it need only be sufficiently complementary in sequence to be able to form a stable double-stranded structure under the particular solvent and salt concentrations employed.

5 As used herein, a substantially homologous sequence is a nucleic acid sequence that will specifically hybridize to the complement of the nucleic acid sequence to which it is being compared under high stringency conditions. Appropriate stringency conditions that promote DNA hybridization, for example, 6.0 x sodium chloride/sodium citrate (SSC) at about 45°C, followed by a wash of 2.0 x SSC at 50°C, are known to those
10 skilled in the art or can be found in *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. For example, the salt concentration in the wash step can be selected from a low stringency of about 2.0 x SSC at 50°C to a high stringency of about 0.2 x SSC at 50°C. In addition, the temperature in the wash step can be increased from low stringency conditions at room temperature, about 22°C, to high stringency
15 conditions at about 65°C. Both temperature and salt may be varied, or either the temperature or the salt concentration may be held constant while the other variable is changed. In one embodiment, a nucleic acid of the present invention will specifically hybridize to one or more of the nucleic acid molecules set forth in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 and SEQ ID NO: 8, or complements or fragments thereof
20 under high stringency conditions. The hybridization of the probe to the target DNA molecule can be detected by any number of methods known to those skilled in the art. These can include, but are not limited to, fluorescent tags, radioactive tags, antibody based tags, and chemiluminescent tags.

 Regarding the amplification of a target nucleic acid sequence (*e.g.*, by PCR) using
25 a particular amplification primer pair, "stringent conditions" are conditions that permit the primer pair to hybridize only to the target nucleic acid sequence to which a primer having the corresponding wild-type sequence (or its complement) would bind and preferably to produce a unique amplification product, the amplicon, in a DNA amplification reaction. Examples of DNA amplification methods include PCR,
30 Recombinase Polymerase Amplification (RPA) (see for example U.S. Pat No. 7,485,428), Strand Displacement Amplification (SDA) (see for example, U.S. Pat. Nos. 5,455,166 and 5,470,723), Transcription-Mediated Amplification (TMA) (see for example, Guatelli *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878 (1990)), Rolling Circle Amplification (RCA) (see for example, Fire and Xu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*

92:4641–4645 (1995); Lui, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 118:1587–1594 (1996); Lizardi, *et al.*, *Nature Genetics* 19:225–232 (1998), U.S. Pat. Nos. 5,714,320 and 6,235,502), Helicase Dependant Amplification (HDA) (see for example Vincent *et al.*, *EMBO Reports* 5(8): 795–800 (2004); U.S. Pat. No. 7,282,328), and Multiple Displacement
 5 Amplification (MDA) (see for example Dean *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:5261–5266 (2002)).

The term "specific for (a target sequence)" indicates that a probe or primer hybridizes under stringent hybridization conditions only to the target sequence in a sample comprising the target sequence.

10 As used herein, the term "isolated" refers to at least partially separating a molecule from other molecules normally associated with it in its native or natural state. In one embodiment, the term "isolated" refers to a DNA molecule that is at least partially separated from the nucleic acids that normally flank the DNA molecule in its native or natural state. Thus, DNA molecules fused to regulatory or coding sequences with which
 15 they are not normally associated, for example as the result of recombinant techniques, are considered isolated herein. Such molecules are considered isolated even when integrated into the chromosome of a host cell or present in a nucleic acid solution with other DNA molecules.

Any number of methods well known to those skilled in the art can be used to
 20 isolate and manipulate a DNA molecule, or fragment thereof, disclosed in the present invention. For example, PCR (polymerase chain reaction) technology can be used to amplify a particular starting DNA molecule and/or to produce variants of the original molecule. DNA molecules, or fragments thereof, can also be obtained by other techniques such as by directly synthesizing the fragment by chemical means, as is
 25 commonly practiced by using an automated oligonucleotide synthesizer.

It would be advantageous to be able to detect the presence of transgene/genomic DNA of a particular plant in order to determine whether progeny of a sexual cross contain the transgene/genomic DNA of interest. In addition, a method for detecting a particular plant would be helpful when complying with regulations requiring the pre-
 30 market approval and labeling of foods derived from the transgenic crop plants.

The presence of a transgene may be detected by any well known nucleic acid detection method such as the polymerase chain reaction (PCR) or DNA hybridization using nucleic acid probes. These detection methods generally focus on frequently used genetic elements, such as promoters, terminators, marker genes, *etc.* As a result, such

methods may not be useful for discriminating between different transformation events, particularly those produced using the same DNA construct unless the sequence of chromosomal DNA adjacent to the inserted DNA ("flanking DNA") is known. An event-specific PCR assay is discussed, for example, by Taverniers *et al.* (J. Agric. Food Chem., 53: 3041-3052, 2005) in which an event-specific tracing system for transgenic maize lines Bt11, Bt176, and GA21 and for canola event GT73 was demonstrated. In this study, event-specific primers and probes were designed based upon the sequences of the genome/transgene junctions for each event. Transgenic plant event specific DNA detection methods have also been described in US Patent Nos. 6,893,826; 6,825,400; 6,740,488; 6,733,974; 6,689,880; 6,900,014 and 6,818,807.

The DNA molecules and corresponding nucleotide sequences provided herein are therefore useful for, among other things, identifying event MON87712, selecting plant varieties or hybrids comprising event MON87712, detecting the presence of DNA derived from event MON87712 in a sample, and monitoring samples for the presence and/or absence of event MON87712 or plants and plant parts comprising event MON87712.

The present invention provides plants, progeny, seeds, plant cells, plant parts (such as pollen, ovule, pod, flower, root or stem tissue, fibers, and leaf), and commodity products. These plants, progeny, seeds, plant cells, plant parts, and commodity products contain a detectable amount of a polynucleotide of the present invention, *i.e.*, such as a polynucleotide comprising at least one of the sequences provided as the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. Plants, progeny, seeds, plant cells, plant parts and commodity products of the present invention may also contain one or more additional transgenes. Such transgene may be any nucleotide sequence encoding a protein or RNA molecule conferring a desirable trait including but not limited to increased insect resistance, increased water use efficiency or drought tolerance, increased yield performance, increased nitrogen use efficiency or increase tolerance to nitrogen stress such as high or low nitrogen supply, increased seed quality, increased disease resistance, improved nutritional quality, and/or increased herbicide tolerance, such as glyphosate or dicamba tolerance, in which the desirable trait is measured with respect to a comparable plant lacking such additional transgene.

The present invention provides plants, progeny, seeds, plant cells, and plant part such as pollen, ovule, pod, flower, root or stem tissue, and leaf derived from a transgenic

plant comprising event MON87712. A representative sample of seed comprising event MON87712 has been deposited according to the Budapest Treaty for the purpose of enabling the present invention. The repository selected for receiving the deposit is the American Type Culture Collection (ATCC) having an address at 10801 University
5 Boulevard, Manassas, Virginia USA, Zip Code 20110. The ATCC repository has assigned the accession No. PTA-10296 to event MON87712 containing seed.

The present invention provides a microorganism comprising a DNA molecule having a nucleotide sequence selected from the group consisting of the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, or at least
10 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or of SEQ ID NO: 8 present in its genome. An example of such a microorganism is a transgenic plant cell. Microorganisms, such as a plant cell of the present invention, are useful in many industrial applications, including but not limited to: (i) use as research tool for scientific inquiry or industrial research; (ii) use in culture for producing endogenous or recombinant carbohydrate, lipid, nucleic acid,
15 enzymes or protein products or small molecules that may be used for subsequent scientific research or as industrial products; and (iii) use with modern plant tissue culture techniques to produce transgenic plants or plant tissue cultures that may then be used for agricultural research or production. The production and use of microorganisms such as transgenic plant cells utilizes modern microbiological techniques and human intervention
20 to produce a man-made, unique microorganism. In this process, recombinant DNA is inserted into a plant cell's genome to create a transgenic plant cell that is separate and unique from naturally occurring plant cells. This transgenic plant cell can then be cultured much like bacteria and yeast cells using modern microbiology techniques and may exist in an undifferentiated, unicellular state. The new plant cell's genetic
25 composition and phenotype is a technical effect created by the integration of the heterologous DNA into the genome of the cell. Another aspect of the present invention is a method of using a microorganism of the present invention. Methods of using microorganisms of the present invention, such as transgenic plant cells, include (i) methods of producing transgenic cells by integrating recombinant DNA into genome of
30 the cell and then using this cell to derive additional cells possessing the same heterologous DNA; (ii) methods of culturing cells that contain recombinant DNA using modern microbiology techniques; (iii) methods of producing and purifying endogenous or recombinant carbohydrate, lipid, nucleic acid, enzymes or protein products from

cultured cells; and (iv) methods of using modern plant tissue culture techniques with transgenic plant cells to produce transgenic plants or transgenic plant tissue cultures.

As used herein, “progeny” includes any plant, seed, plant cell, and/or regenerable plant part comprising the event DNA derived from an ancestor plant and/or a polynucleotide having at least one of the sequences provided as the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. Plants, progeny, and seeds may be homozygous or heterozygous for the transgene. Progeny may be grown from seeds produced by a plant comprising event MON87712 and/or from seeds produced by a plant fertilized with pollen from a plant comprising event MON87712.

Progeny plants may be self-pollinated (also known as “selfing”) to generate a true breeding line of plants, *i.e.*, plants homozygous for the transgene. Alternatively, progeny plants may be outcrossed, *e.g.*, bred with another plant, to produce a varietal or a hybrid seed or plant. The other plant may be transgenic or nontransgenic. A varietal or hybrid seed or plant of the present invention may thus be derived by crossing a first parent that lacks the specific and unique DNA of event MON87712 with a second parent comprising event MON87712, resulting in a hybrid comprising the specific and unique DNA of event MON87712. Each parent can be a hybrid or an inbred/variety, so long as the cross or breeding results in a plant or seed of the present invention, *i.e.*, a seed having at least one allele comprising the specific and unique DNA of event MON87712 and/or the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. Two different transgenic plants may thus be mated to produce hybrid offspring that contain two independently segregating, added, exogenous genes. For example, a plant comprising event MON87712 with increased yield can be crossed with another transgenic plant, such as one tolerant to glyphosate, to produce a plant having the characteristics of both transgenic parents. Selfing of appropriate progeny can produce plants that are homozygous for both added, exogenous genes. Back-crossing to a parental plant and out-crossing with a non-transgenic plant are also contemplated, as is vegetative propagation. Descriptions of other breeding methods that are commonly used for different traits and crops can be found in one of several references, *e.g.*, Fehr, in *Breeding Methods for Cultivar Development*, Wilcox J. ed., American Society of Agronomy, Madison WI (1987). Sexually crossing one plant with another plant, *i.e.*, cross-pollinating, may be

accomplished or facilitated by human intervention, for example: by human hands collecting the pollen of one plant and contacting this pollen with the style or stigma of a second plant; by human hands and/or human actions removing, destroying, or covering the stamen or anthers of a plant (*e.g.*, by manual intervention or by application of a chemical gametocide) so that natural self-pollination is prevented and cross-pollination would have to take place in order for fertilization to occur; by human placement of pollinating insects in a position for “directed pollination” (*e.g.*, by placing beehives in orchards or fields or by caging plants with pollinating insects); by human opening or removing of parts of the flower to allow for placement or contact of foreign pollen on the style or stigma; by selective placement of plants (*e.g.*, intentionally planting plants in pollinating proximity); and/or by application of chemicals to precipitate flowering or to foster receptivity (of the stigma for pollen).

In practicing this method, the step of sexually crossing one plant with itself, *i.e.*, self-pollinating or selfing, may be accomplished or facilitated by human intervention, for example: by human hands collecting the pollen of the plant and contacting this pollen with the style or stigma of the same plant and then optionally preventing further fertilization of the plant; by human hands and/or actions removing, destroying, or covering the stamen or anthers of other nearby plants (*e.g.*, by detasseling or by application of a chemical gametocide) so that natural cross-pollination is prevented and self-pollination would have to take place in order for fertilization to occur; by human placement of pollinating insects in a position for “directed pollination” (*e.g.*, by caging a plant alone with pollinating insects); by human manipulation of the flower or its parts to allow for self-pollination; by selective placement of plants (*e.g.*, intentionally planting plants beyond pollinating proximity); and/or by application of chemicals to precipitate flowering or to foster receptivity (of the stigma for pollen).

The present invention provides a plant part that is derived from a plant comprising event MON87712. As used herein, a “plant part” refers to any part of a plant that is comprised of material derived from a plant comprising event MON87712. Plant parts include but are not limited to cells, pollen, ovule, pod, flower, root or stem tissue, fibers, and leaf. Plant parts may be viable, nonviable, regenerable, and/or non-regenerable.

The present invention provides a commodity product that is derived from a plant comprising event MON87712. As used herein, a “commodity product” refers to any composition or product that is comprised of material derived from a plant, seed, plant cell, or plant part comprising event MON87712. Commodity products may be sold to

consumers and may be viable or nonviable. Nonviable commodity products include but are not limited to nonviable seeds and grains; processed seeds, seed parts, and plant parts; dehydrated plant tissue, frozen plant tissue, and processed plant tissue; seeds and plant parts processed for animal feed for terrestrial and/or aquatic animal consumption, oil, meal, flour, flakes, bran, fiber, and any other food for human consumption; and biomasses and fuel products. Processed soybeans are the largest source of protein feed and vegetable oil in the world. Soybeans and soybean oils from plants comprising MON87712 can be used in the manufacture of many different products, not limited to, nontoxic plastics, printing inks, lubricants, waxes, hydraulic fluids, electric transformer fluids, solvents, cosmetics, and hair care products. Soybeans and oils of plants comprising MON87712 can be suitable for use in a variety of soy foods made from whole soybeans, such as soymilk, soy nut butter, natto, and tempeh, and soy foods made from processed soybeans and soybean oil, including soybean meal, soy flour, soy protein concentrate, soy protein isolates, texturized soy protein concentrate, hydrolyzed soy protein, whipped topping, cooking oil, salad oil, shortening, and lecithin. Whole soybeans are also edible, and are typically sold to consumers raw, roasted, or as edamame. Soymilk, which is typically produced by soaking and grinding whole soybeans, may be consumed without other processing, spray-dried, or processed to form soy yogurt, soy cheese, tofu, or yuba. Viable commodity products include but are not limited to seeds and plant cells. A plant comprising event MON87712 can thus be used to manufacture any commodity product typically acquired from a soybean plant. Any such commodity product that is derived from the plants comprising event MON87712 may contain at least a detectable amount of the specific and unique DNA corresponding to event MON87712, and specifically may contain a detectable amount of a polynucleotide having a nucleotide sequence of the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. Any standard method of detection for polynucleotide molecules may be used, including methods of detection disclosed herein. A commodity product is within the scope of the present invention if there is any detectable amount of the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8 in the commodity product.

The plant, progeny, seed, plant cell, plant part (such as pollen, ovule, pod, flower, root or stem tissue, and leaf), and commodity products of the present invention are therefore useful for, among other things, growing plants for the purpose of producing seed and/or plant parts comprising event MON87712 for agricultural purposes, producing
5 progeny comprising event MON87712 for plant breeding and research purposes, use with microbiological techniques for industrial and research applications, and sale to consumers.

The present invention provides methods for producing plants with increased yield and plants comprising event MON87712. An event MON87712 containing plant was
10 produced by an *Agrobacterium* mediated transformation method similar to that described in US Patent 5,914,451, using an inbred soybean line with the construct pMON83132 (Table 1). Construct pMON83132 contains a plant expression cassette for expression of the BBX32 protein in soybean plant cells. Transgenic soybean cells were regenerated into intact soybean plants and individual plants were selected from the population of
15 independently transformed transgenic plants that showed desirable molecular characteristics, such as single copy of the transgene cassette at a single locus, the integrity of the transgene cassette, absence of the construct backbone sequence, loss of the unlinked glyphosate resistance selection cassette. Furthermore, inverse PCR and DNA sequence analyses were performed to determine the 5' and 3' insert-to-plant genome
20 junctions, to confirm the organization of the elements within the insert (Figure 1), and to determine the complete DNA sequence of the insert in soybean event MON87712 (SEQ ID NO: 5). In addition, transgenic plants were screened and selected for increased yield under field conditions. A soybean plant that contains in its genome the BBX32 expression cassette of pMON83132 is an aspect of the present invention.

25 Increased yield of a transgenic plant of the present invention can be measured in a number of ways, including test weight, seed number per plant, seed weight, seed number per unit area (*i.e.* seeds, or weight of seeds, per acre), bushels per acre, tons per acre, or kilo per hectare. Expression of the BBX32 protein in plants comprising event MON87712 leads to an increase in yield brought about by the increased capacity for
30 growth and reproductive development. Increased yield results from the partitioning of growth in one or more of the yield parameters including more seeds per plot, larger seeds, more seeds per plant, and /or more plants per plot. Recombinant DNA used in this invention provides increased yield through an increase in source compounds when compared to non-transgenic soybean with the same genetic background. These

biochemical and metabolic changes are linked to diurnally-regulated pathways that are impacted by the activity of BBX32 and include carbon metabolism and nitrogen metabolism.

Methods for producing a plant with increased yield comprising transgenic event
5 MON87712 are provided. Transgenic plants used in these methods may be homozygous or heterozygous for the transgene. Progeny plants produced by these methods may be varietal or hybrid plants; may be grown from seeds produced by a plant and/or from seed comprising event MON87712 produced by a plant fertilized with pollen from a plant comprising event MON87712; and may be homozygous or heterozygous for the
10 transgene. Progeny plants may be subsequently self-pollinated to generate a true breeding line of plants, *i.e.*, plants homozygous for the transgene, or alternatively may be outcrossed, *e.g.*, bred with another unrelated plant, to produce a varietal or a hybrid seed or plant. As used herein, the term “zygosity” refers to the similarity of DNA at a specific chromosomal location (locus) in a plant. In the present invention, the DNA specifically
15 refers to the transgene insert along with the junction sequence (event DNA). A plant is homozygous if the transgene insert with the junction sequence is present at the same location on each chromosome of a chromosome pair (2 alleles). A plant is considered heterozygous if the transgene insert with the junction sequence is present on only one chromosome of a chromosome pair (1 allele). A wild-type plant is null for the event
20 DNA.

A plant with increased yield may be produced by sexually crossing a plant comprising event MON87712 comprising a polynucleotide having the nucleotide sequence of consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, a polynucleotide having the nucleotide sequence of consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive
25 nucleotides of SEQ ID NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8 with another plant and thereby producing seed, which is then grown into progeny plants. These progeny plants may be analyzed using diagnostic methods to select for progeny plants that contain event MON87712 DNA or for progeny plants with increased yield. The other plant used may or may not be transgenic. The progeny plant and/or seed
30 produced may be varietal or hybrid seed.

A plant with increased yield may be produced by selfing a plant comprising event MON87712 comprising a polynucleotide having the nucleotide sequence of consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, a polynucleotide having the nucleotide sequence of consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID

NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8 and thereby producing seed, which is then grown into progeny plants. These progeny plants may then be analyzed using diagnostic methods to select for progeny plants that comprise event MON87712 DNA.

5 Progeny plants and seeds encompassed by these methods and produced by using these methods are distinct from other plants, for example, because the progeny plants and seeds are recombinant and as such created by human intervention; contain at least one allele that consists of the transgenic DNA of the present invention; and/or contain a detectable amount of a polynucleotide sequence selected from the group consisting of
10 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. A seed may be selected from an individual progeny plant, and so long as the seed comprises SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO:
15 8, it will be within the scope of the present invention.

The plants, progeny, seeds, plant cells, plant parts (such as pollen, ovule, pod, flower, root or stem tissue, and leaves), and commodity products of the present invention may be evaluated for DNA composition, gene expression, and/or protein expression. Such evaluation may be done by using various methods such as PCR, sequencing,
20 northern blotting, southern analysis, western blotting, immuno-precipitation, and ELISA or by using the methods of detection and/or the detection kits provided herein.

Methods of detecting the presence of compositions specific to event MON87712 in a sample are provided. One method consists of detecting the presence of DNA specific to and derived from a cell, a tissue, a seed, a plant or plant parts comprising event
25 MON87712. The method provides for a template DNA sample to be contacted with a primer pair that is capable of producing an amplicon from event MON87712 DNA upon being subjected to conditions appropriate for amplification, particularly an amplicon that comprises SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or the complements
30 thereof. The amplicon is produced from a template DNA molecule derived from event MON87712, so long as the template DNA molecule incorporates the specific and unique nucleotide sequences of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. The amplicon may be single or double stranded DNA or RNA, depending on the

polymerase selected for use in the production of the amplicon. The method provides for detecting the amplicon molecule produced in any such amplification reaction, and confirming within the sequence of the amplicon the presence of the nucleotides corresponding to SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or the complements thereof. The detection of the nucleotides corresponding to SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and/or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or the complements thereof in the amplicon are determinative and/or diagnostic for the presence of event MON87712 specific DNA and thus biological material comprising event MON87712 in the sample.

Another method is provided for detecting the presence of a DNA molecule corresponding to SEQ ID NO: 3 or SEQ ID NO: 4 in a sample consisting of material derived from plant or plant tissue. The method consists of (i) obtaining a DNA sample from a plant, or from a group of different plants, (ii) contacting the DNA sample with a DNA probe molecule comprising the nucleotides as set forth in either SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO: 2, (iii) allowing the probe and the DNA sample to hybridize under stringent hybridization conditions, and then (iv) detecting a hybridization event between the probe and the target DNA sample. Detection of the hybrid composition is diagnostic for the presence of SEQ ID NO: 3 or SEQ ID NO: 4, as the case may be, in the DNA sample. Absence of hybridization is alternatively diagnostic of the absence of the transgenic event in the sample if the appropriate positive controls are run concurrently. Alternatively, determining that a particular plant contains either or both of the sequences corresponding to SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO: 2, or the complements thereof, is determinative that the plant contains at least one allele corresponding to event MON87712.

It is thus possible to detect the presence of a nucleic acid molecule of the present invention by any well known nucleic acid amplification and detection methods such as polymerase chain reaction (PCR), recombinase polymerase amplification (RPA), or DNA hybridization using nucleic acid probes. An event-specific PCR assay is discussed, for example, by Taverniers *et al.* (J. Agric. Food Chem., 53: 3041-3052, 2005) in which an event-specific tracing system for transgenic maize lines Bt11, Bt176, and GA21 and for transgenic event RT73 is demonstrated. In this study, event-specific primers and probes were designed based upon the sequences of the genome/transgene junctions for each event. Transgenic plant event specific DNA detection methods have also been described

in US Patent Nos. 6,893,826; 6,825,400; 6,740,488; 6,733,974; 6,689,880; 6,900,014 and 6,818,807.

DNA detection kits are provided. One type of kit contains at least one DNA molecule of sufficient length of contiguous nucleotides of SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, or SEQ ID NO: 6 to function as a DNA primer or probe specific for detecting the presence of DNA derived from transgenic event MON87712 in a sample. The DNA molecule being detected with the kit comprises contiguous nucleotides of the sequence as set forth in SEQ ID NO: 1 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7. Alternatively, the kit may contain at least one DNA molecule of sufficient length of contiguous nucleotides of SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, or SEQ ID NO: 6 to function as a DNA primer or probe specific for detecting the presence of DNA derived from transgenic event MON87712 in a sample. The DNA molecule being detected with the kit comprises contiguous nucleotides as set forth in SEQ ID NO: 2 or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8.

An alternative kit employs a method in which the target DNA sample is contacted with a primer pair as described above, then performing a nucleic acid amplification reaction sufficient to produce an amplicon comprising the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8. Detection of the amplicon and determining the presence of the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or the complements thereof within the sequence of the amplicon is diagnostic for the presence of event MON87712 specific DNA in a DNA sample.

A DNA molecule sufficient for use as a DNA probe is provided that is useful for determining, detecting, or for diagnosing the presence or even the absence of DNA specific and unique to event MON87712 DNA in a sample. The DNA molecule contains the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 1, or the complement thereof, the consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 2, or the complement thereof, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or the complement thereof, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or the complement thereof.

Nucleic acid amplification can be accomplished by any of the various nucleic acid amplification methods known in the art, including thermal and isothermal amplification methods. The sequence of the heterologous DNA insert, junction sequences, or flanking

sequences from event MON87712 (with representative seed samples comprising event MON87712 deposited as ATCC PTA-10296) can be verified by amplifying such sequences from the event using primers derived from the sequences provided herein followed by standard DNA sequencing of the amplicon or of the cloned DNA.

5 The amplicon produced by these methods may be detected by a plurality of techniques. One such method is Genetic Bit Analysis (Nikiforov, *et al.* Nucleic Acid Res. 22:4167-4175, 1994) where a DNA oligonucleotide is designed which overlaps both the adjacent flanking genomic DNA sequence and the inserted DNA sequence. The oligonucleotide is immobilized in wells of a microwell plate. Following thermal
10 amplification of the region of interest (using one primer in the inserted sequence and one in the adjacent flanking genomic sequence), a single-stranded amplicon can be hybridized to the immobilized oligonucleotide and serve as a template for a single base extension reaction using a DNA polymerase and labelled ddNTPs specific for the expected next base. Readout may be fluorescent or ELISA-based. Detection of a fluorescent or other
15 signal indicates the presence of the insert/flanking sequence due to successful amplification, hybridization, and single base extension.

 Another method is the Pyrosequencing technique as described by Winge (Innov. Pharma. Tech. 00:18-24, 2000). In this method an oligonucleotide is designed that overlaps the adjacent genomic DNA and insert DNA junction. The oligonucleotide is
20 hybridized to a single-stranded amplicon from the region of interest (one primer in the inserted sequence and one in the flanking genomic sequence) and incubated in the presence of a DNA polymerase, ATP, sulfurylase, luciferase, apyrase, adenosine 5' phosphosulfate and luciferin. ddNTPs are added individually and the incorporation results in a light signal which is measured. A light signal indicates the presence of the
25 transgene insert/flanking sequence due to successful amplification, hybridization, and single or multi-base extension.

 Fluorescence Polarization as described by Chen, *et al.*, (Genome Res. 9:492-498, 1999) is a method that can be used to detect the amplicon. Using this method an oligonucleotide is designed which overlaps the genomic flanking and inserted DNA
30 junction. The oligonucleotide is hybridized to single-stranded amplicon from the region of interest (one primer in the inserted DNA and one in the flanking genomic DNA sequence) and incubated in the presence of a DNA polymerase and a fluorescent-labeled ddNTP. Single base extension results in incorporation of the ddNTP. Incorporation can be measured as a change in polarization using a fluorometer. A change in polarization

indicates the presence of the transgene insert/flanking sequence due to successful amplification, hybridization, and single base extension.

TAQMAN® (PE Applied Biosystems, Foster City, CA) may also be used to detect and/or quantifying the presence of a DNA sequence using the instructions provided by the manufacturer. Briefly, a FRET oligonucleotide probe is designed which overlaps the genomic flanking and insert DNA junction. The FRET probe and amplification primers (one primer in the insert DNA sequence and one in the flanking genomic sequence) are cycled in the presence of a thermostable polymerase and dNTPs. Hybridization of the FRET probe results in cleavage and release of the fluorescent moiety away from the quenching moiety on the FRET probe. A fluorescent signal indicates the presence of the flanking/transgene insert sequence due to successful amplification and hybridization.

Molecular Beacons have been described for use in sequence detection as described in Tyangi, *et al.* (Nature Biotech. 14:303-308, 1996). Briefly, a FRET oligonucleotide probe is designed that overlaps the flanking genomic and insert DNA junction. The unique structure of the FRET probe results in it containing secondary structure that keeps the fluorescent and quenching moieties in close proximity. The FRET probe and amplification primers (one primer in the insert DNA sequence and one in the flanking genomic sequence) are cycled in the presence of a thermostable polymerase and dNTPs. Following successful amplification, hybridization of the FRET probe to the target sequence results in the removal of the probe secondary structure and spatial separation of the fluorescent and quenching moieties, which leads to the production of a fluorescent signal. The fluorescent signal indicates the presence of the flanking/transgene insert sequence due to successful amplification and hybridization.

Other described methods, such as, microfluidics (US Patent Publication No. 2006068398, US Patent No. 6,544,734) provide methods and devices to separate and amplify DNA samples. Optical dyes are used to detect and measure specific DNA molecules (WO/05017181). Nanotube devices (WO/06024023) that comprise an electronic sensor for the detection of DNA molecules or nanobeads that bind specific DNA molecules and can then be detected.

DNA detection kits can be developed using the compositions disclosed herein and the methods well known in the art of DNA detection. The kits are useful for the identification of event MON87712 in a sample and can be applied to methods for breeding plants containing the appropriate event DNA. The kits may contain DNA

primers or probes that are similar or complementary to SEQ ID NO: 1-6, or fragments or complements thereof.

The kits and detection methods of the present invention are therefore useful for, among other things, identifying event MON87712, selecting plant varieties or hybrids
5 comprising event MON87712, detecting the presence of DNA derived from event MON87712 in a sample, and monitoring samples for the presence and/or absence of event MON87712 or plants, plant parts or commodity products comprising event MON87712.

The following examples are included to demonstrate examples of certain embodiments of the invention. It should be appreciated by those of skill in the art that the
10 techniques disclosed in the examples that follow represent approaches the inventors have found function well in the practice of the invention, and thus can be considered to constitute examples of preferred modes for its practice. However, those of skill in the art should, in light of the present disclosure, appreciate that many changes can be made in the specific embodiments that are disclosed and still obtain a like or similar result without
15 departing from the spirit and scope of the invention.

EXAMPLES

Example 1: Transformation of Soybean with pMON83132 and Event Selection

This example describes transformation and generation of transgenic soybean
20 events, and selection of event MON87712.

An *Agrobacterium*-mediated transformation method was used to transform soybean cells with a binary construct designated as pMON83132. The construct contains two plant transformation cassettes or T-DNAs. Each cassette is flanked by right border and left border sequences. The transgenic insert as set forth in SEQ ID NO: 5 comprises
25 a transformation cassette containing an enhanced 35S promoter from cauliflower mosaic virus (CaMV), operably linked to a DNA molecule encoding BBX32 protein, operably linked to the 3' untranslated region from fiber protein E6 gene of *Gossypium barbadense* (cotton). The second transformation cassette contains a chimeric promoter consisting of enhancer sequences from the promoter of the figwort mosaic virus (FMV) 35S RNA
30 combined with the promoter of the *EF-1 α* gene from *Arabidopsis thaliana* that encodes elongation factor EF-1 alpha. It also contains a leader (exon 1) and intron with flanking splice sites of the *Arabidopsis EF-1 α* gene, operably linked to a DNA molecule encoding a chloroplast transit peptide (CTP2) from *Arabidopsis* EPSP synthase, fused to a codon

modified coding sequence of the *aroA* gene from the *Agrobacterium* sp. strain CP4 encoding the CP4 EPSPS protein, operably linked to a 3' untranslated region of the *RbcS2* gene from *Pisum sativum*. The CP4 *aroA* gene confers tolerance to glyphosate, and was used as a selectable marker. Table 1 is a summary of the genetic elements in pMON83132.

After transformation with construct pMON83132, transformed cells were allowed to grow and multiply on media containing glyphosate. Plants were regenerated from surviving cells. A total of 4944 independent R0 transformation events were produced and characterized by detailed molecular analyses. Events were screened by quantitative PCR and RT-PCR (TAQMAN®) for insert number (number of integration sites within the soybean genome), copy number (the number of copies of the T-DNA within one locus), the integrity of the inserted cassette and the absence of backbone sequence, and expression of the *AtBBX32* transgene transcript. Events with undesirable molecular characteristics, such as presence of multiple copies of the transgene and/or molecular complexity of the insert, the presence of the transformation vector backbone sequence were eliminated. Furthermore, linkage Southern analysis was done to remove events where the *BBX32* expression cassette was linked to the CP4 selectable marker cassette. A total of 284 events met the stringent molecular selection criteria based on the analyses described above. Three additional events were further eliminated due to unavailability of homozygous seed stocks, resulting in 281 events being advanced to R1 generation.

Table 1. Summary of the genetic elements in pMON83132.

Genetic Element	Location in Construct pMON83132	Function (Reference)
T-DNA I		
B ¹ -Left Border	1-442	DNA region from <i>Agrobacterium tumefaciens</i> containing the left border sequence used for transfer of the T-DNA (Barker <i>et al.</i> , Plant Mol. Biol. 2:335-350, 1983).
P ² - <i>e35S</i>	511-1123	Promoter for the cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S RNA (Odell <i>et al.</i> , Nature 313:810-812, 1985) containing the duplicated enhancer region (Kay <i>et al.</i> , Science 236:1299-1302, 1987) that directs transcription in plant cells.
CS ³ - <i>BBX32</i>	1148-1825	Coding sequence of the <i>BBX32</i> gene from <i>Arabidopsis thaliana</i> encoding a zinc finger protein (B-box type) (Khanna <i>et al.</i> , Plant Cell 21: 3416-3420, 2009) which modulates aspects of diurnal

		biology (Holtan <i>et al.</i> , submitted).
T ⁴ -E6	1840-2154	3' UTR region of the <i>E6</i> gene of <i>Gossypium barbadense</i> (cotton) that encodes a fiber protein involved in early fiber development (John, Plant Mol Biol. 30:297-306, 1996) which functions to direct polyadenylation of mRNA.
B-Right Border	2193-2549	DNA region from <i>Agrobacterium tumefaciens</i> containing the right border sequence used for transfer of the T-DNA (Depicker <i>et al.</i> , J. of Mol. and Applied Genetics 1:561-573, 1982; Zambryski <i>et al.</i> , J. of Mol. and Applied Genetics 1:361-370, 1982).
T-DNA II		
B-Right Border	2721-3077	DNA region from <i>Agrobacterium tumefaciens</i> containing the right border sequence used for transfer of the T-DNA (Depicker <i>et al.</i> , J. of Mol. and Applied Genetics 1:561-573, 1982; Zambryski <i>et al.</i> , J. of Mol. and Applied Genetics 1:361-370, 1982).
P-FMV/EF-1 α	3100-4139	Chimeric promoter consisting of enhancer sequences from the promoter of the Figwort Mosaic virus (FMV) 35S RNA (Richins <i>et al.</i> , Nucleic Acids Research 15:8451-8466, 1987) combined with the promoter from the <i>EF-1α</i> gene of <i>Arabidopsis thaliana</i> that encodes elongation factor EF-1 alpha (Axelos <i>et al.</i> , Molecular and General Genetics 219:106-112, 1989). It is associated with constitutive expression of the gene.
L ⁵ -EF-1 α	4140-4185	Leader (exon 1) of the <i>EF-1α</i> gene from <i>Arabidopsis thaliana</i> that encodes elongation factor EF-1 alpha (Axelos <i>et al.</i> , Molecular and General Genetics 219:106-112, 1989), which enhances gene expression.
I ⁶ -EF-1 α	4186-4807	Intron with flanking splice sites of the <i>EF-1α</i> gene from <i>Arabidopsis thaliana</i> that encodes elongation factor EF-1 alpha (Axelos <i>et al.</i> , Molecular and General Genetics 219:106-112, 1989), that enhances gene expression.
TS ⁷ -CTP2	4817-5044	Targeting sequence of the <i>ShkG</i> gene from <i>Arabidopsis thaliana</i> encoding EPSPS containing the transit peptide region) that directs transport of the EPSPS protein to the chloroplast (Klee <i>et al.</i> , Molecular and General Genetics 210:437-442, 1987).
CS-modified <i>cp4 epsps</i>	5045-6412	Codon modified coding sequence of the <i>aroA</i> gene from the <i>Agrobacterium sp.</i> strain CP4 encoding the CP4 EPSPS protein (Padgett <i>et al.</i> , 1996, in Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Economic, Environmental, Regulatory, and Technological Aspects, S.O. Duke, (ed.), Pages 53-84, CRC Press, Boca Raton, FL).

T-E9	6419-7061	3' nontranslated region of the <i>RbcS2</i> gene from <i>Pisum sativum</i> (pea) encoding the Rubisco small subunit, which functions to direct polyadenylation of the mRNA (Coruzzi <i>et al.</i> , EMBO J. 3:1671-1679, 1984).
B-Left Border	7076-7486	DNA region from <i>Agrobacterium tumefaciens</i> containing the left border sequence used for transfer of the T-DNA (Barker <i>et al.</i> , Plant Mol. Biol. 2:335-350, 1983).
Vector Backbone		
<i>aadA</i>	7582-8470	Bacterial promoter, coding sequence, and 3' UTR for an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-O-nucleotidyltransferase from the transposon Tn7 (Fling <i>et al.</i> , Nucleic Acids Research 13:7095-7106, 1985) that confers spectinomycin and streptomycin resistance.
OR ⁸ -ori-pBR322	9001-9589	Origin of replication from pBR322 for maintenance of plasmid in <i>E. coli</i> (Sutcliffe, 1979, Complete nucleotide sequence of the <i>Escherichia coli</i> plasmid pBR322. Pages 77-90 in Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press).
CS-rop	10017-10208	Coding sequence for repressor of primer protein derived from the <i>ColE1</i> plasmid for maintenance of plasmid copy number in <i>E. coli</i> (Giza and Huang, Gene 78:73-84, 1989).
OR-ori V	10946-11342	Origin of replication from the broad host range plasmid RK2 for maintenance of plasmid in <i>Agrobacterium</i> (Stalker <i>et al.</i> , Molecular and General Genetics 181:8-12, 1981).

- ¹ B, Border
- ² P, Promoter
- ³ CS, Coding Sequence
- ⁴ T, Transcription Termination Sequence
- ⁵ L, Leader
- ⁶ I, Intron
- ⁷ TS, Targeting Sequence
- ⁸ OR, Origin of Replication

10

15

At the R1 generation, events underwent segregation analysis to select only homozygous and heterozygous plants going forward. In addition, CP4 linkage analysis, TAQMAN® analysis and BBX32 expression analysis were performed to remove events where CP4 was linked to the BBX32 transgene, or where the sequence of the *OriV* origin of replication (backbone) was detected, or where BBX32 transgene expression level was undesirable, resulting in 121 events remaining. Southern hybridization analysis using different probes further eliminated 42 events that were not single copy, or single insert or

not backbone-free. Probes included the intact BBX32 coding region and its respective promoter, the polyadenylation sequence and the plasmid backbone. An additional 2 events were stopped due to lack of sufficient seeds to advance, leaving 77 events to carry forward to the R2 generation.

5 At the R2 generation, an additional 9 events were dropped due to 1) lack of sufficient seed for the R2 nursery (1 event), or 2) undesirable agronomic phenotypes (2 events), or 3) BBX32 expression level or the absence of the representative homozygous lines as determined by Invader^R (Third Wave Technologies, Inc., Madison, WI) (6 events). As a result, 68 events were carried forward for year 1 yield field test in the US.

10 Based upon yield performance, 16 events were advanced to the second season field testing in South America, from which, 9 events were selected for further yield testing. Meta-analysis of yield data from 4 seasons of field trials in the United States or South America, each with multiple locations (Table 2), showed that one progeny line designated as comprising event MON87712 was the highest yielding event (Fig. 2).

15

Table 2. Details of the four season field testing for yield.

Year	Geography	# Locations
2007	United States	18
2007-2008	South America	14
2008	United States	24
2008-2009	South America	14

Example 2: Isolation of Flanking Sequences Using Inverse PCR And Identification of Flanking Sequences by Sequencing

20 This example describes isolation of the soybean genomic DNA sequences flanking the transgenic DNA insert using inverse PCR for event MON87712, and identification of the flanking genomic sequences by sequencing.

Sequences flanking the T-DNA insertion in event MON87712 were determined using inverse PCR as described in Ochman *et al.*, 1990 (PCR Protocols: A guide to

25 Methods and Applications, Academic Press, Inc.). Plant genomic DNA was isolated from both wild-type A3525 and the transgenic line from tissue grown under greenhouse conditions. Frozen leaf tissue was ground with a mortar and a pestle in liquid nitrogen or by mechanical grinding, followed by DNA extraction using methods known in the art.

This method can be modified by one skilled in the art to extract DNA from any tissue, including, but not limited to seed.

An aliquot of DNA from each sample was digested with restriction endonucleases selected based on restriction analysis of the transgenic DNA. After self-ligation of the restriction fragments, PCR amplification was performed using primers designed from the transgenic sequence that would amplify sequences extending away from the 5' and 3' ends of the transgenic DNA. A variety of Taq polymerases and amplification systems may be used. Table 3 shows an example of PCR amplification for flanking sequence isolation using Phusion High Fidelity DNA Polymerase (Cat. No. F531S or F531L, New England Biolabs), and Thermalcyclers Applied Biosystems GeneAmp 9700, ABI 9800 Fast Thermal Cycler and MJ Opticon.

Table 3. An example of inverse PCR amplification for flanking sequence isolation.

PCR master mix (per reaction)	Volume	Component
	2.9 µl	Water
	0.05 µl	Primer 1 (100 µM)
	0.05 µl	Primer 1 (100 µM)
	5.0 µl	2X Phusion Taq
	2.0 µl	ligated DNA
	10 µl	Total
DNA amplification in a fast thermocycler	Step	Condition
	1	98°C 30 sec
	2	98°C 5 sec
	3	60°C 10 sec
	4	72°C 2 min
	5	Go to step 2 30 times
	6	72°C 4 min
	7	10°C forever
	8	End

PCR products were separated by agarose gel electrophoresis and purified using a QIAGEN gel purification kit (Qiagen, Valencia, CA). The subsequent products were sequenced directly using standard sequencing protocols. Using these two methods, the 5' flanking sequence, which extends into the left border sequence of the integrated DNA insert including the BBX32 expression cassette, was identified and is presented as SEQ ID NO: 3 ([C] of Figure 1). The 3' flanking sequence, which extends into the right border

sequence of the integrated DNA insert including the BBX32 expression cassette, was identified and is presented as SEQ ID NO: 4 ([D] of Figure 1). The transgenic DNA integrated into the soybean genomic DNA is presented as SEQ ID NO: 5 ([E] of Figure 1).

5 The isolated sequences were compared to the T-DNA sequence to identify the flanking sequences and the co-isolated T-DNA fragments. Confirmation of the presence of the expression cassette was achieved by PCR with primers designed based upon the deduced flanking sequence data and the known T-DNA sequence. The wild type sequence corresponding to the same region in which the T-DNA was integrated in the
10 transformed line was isolated using primers designed from the flanking sequences in MON87712. The flanking sequences in MON87712 and the wild type sequence were analyzed against multiple nucleotide and protein databases. This information was used to examine the relationship of the transgene to the plant genome and to look at the insertion site integrity. The flanking sequence and wild type sequences were used to design
15 primers for TAQMAN® endpoint assays used to identify the events and determine zygosity as described in Example 3.

Example 3: Event-Specific Endpoint TAQMAN® And Zygosity Assays

20 This example describes an event-specific endpoint TAQMAN® thermal amplification method for identification of event MON87712 DNA in a sample.

 Examples of conditions useful with the event MON87712-specific endpoint TAQMAN® method are described in Table 4 and Table 5. The DNA primers used in the endpoint assay are primers SQ3983 (SEQ ID NO: 16) and SQ22982 (SEQ ID NO: 17) and the 6-FAMTM labeled oligonucleotide probe is PB10453 (SEQ ID NO: 18). 6FAMTM
25 is a fluorescent dye product of Applied Biosystems (Foster City, CA) attached to the DNA probe. For TAQMAN® MGB (Minor Groove Binding) probes, the 5' exonuclease activity of Taq DNA polymerase cleaves the probe from the 5'-end, between the fluorophore and quencher. When hybridized to the target DNA strand, quencher and fluorophore are separated enough to produce a fluorescent signal.

30 Primers SQ3983 (SEQ ID NO: 16) and SQ22982 (SEQ ID NO: 17), when used as described with probe PB10453 (SEQ ID NO: 18), produce an amplicon that is diagnostic for event MON87712 DNA. The analysis includes a positive control from soybean known to contain event MON87712 DNA, a negative control from non-transgenic soybean and a negative control that contains no template DNA.

These assays are optimized for use with Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700, ABI 9800 Fast Thermal Cycler and MJ Opticon. Other methods and apparatus known to those skilled in the art may be used to produce amplicons that identify the event MON87712 DNA.

5

Table 4. Soybean MON87712 Event-Specific Endpoint TAQMAN® PCR Conditions

Step	Reagent	Volume	Comments
1	18 megohm water	adjust for final volume of 10 µl	
2	2X Universal Master Mix (dNTPs, enzyme and buffer)	5.0 µl	1X final concentration of dNTPs, enzyme and buffer
3	Event Primers SQ3983 and SQ22982 Mix (resuspended in 18 megohm water to a concentration of 20 µM for each primer) Example: In a microcentrifuge tube, the following are added to achieve 500 µl at a final concentration of 20 µM: 100 µl of Primer SQ22982 at a concentration of 100 µM 100 µl of Primer SQ3983 at a concentration of 100 µM 300 µl of 18 megohm water	0.5 µl	1.0 µM final concentration
4	Event 6-FAM™ MGB Probe PB10453 (resuspended in 18 megohm water to a concentration of 10 µM)	0.2 µl	0.2 µM final concentration
5	Internal control Primer-1 and internal control Primer-2 Mix (resuspended in 18 megohm water to a concentration of 20 µM for each primer)	0.5 µl	1 µM final concentration
6	Internal control VIC™ probe (resuspended in 18 megohm water to a concentration of 10 µM)	0.2 µl	0.2 µM final concentration

7	Extracted DNA (template): 1. Leaf or seed samples to be analyzed 2. Negative control (non-transgenic DNA) 3. Negative water control (no template control) 4. Positive control (MON87712 DNA)	3.0 µl	
---	--	--------	--

Table 5. Endpoint TAQMAN® thermocycler conditions

Cycle No.	Settings
1	50°C 2 minutes
1	95°C 10 minutes
10	95°C 15 seconds 64°C 1 minute (-1°C/cycle)
30	95°C 15 seconds 54°C 1 minute
1	10°C Forever

5 The following example describes an event-specific endpoint TAQMAN® thermal amplification method developed to determine the zygosity of event MON87712 in a sample. A zygosity assay is useful for determining if a plant comprising an event is homozygous for the event DNA, that is comprising the exogenous DNA at the same location on each chromosome of a chromosomal pair; or heterozygous for an event DNA, that is comprising the exogenous DNA on only one chromosome of a chromosomal pair; or is null for the event DNA, that is wild type. A set of three primers (SEQ ID NO: 10, 13 and 11 or 15), a 6FAMTM labeled probe (SEQ ID NO: 12) and a VICTM labeled probe (SEQ ID NO: 14) were used in the assays (Table 8). 6FAMTM and VICTM are fluorescent dye products of Applied Biosystems (Foster City, CA) attached to the DNA probes.

10 Primer SEQ ID NO: 11 or 15 hybridizes and extends specifically from the inserted exogenous DNA; primer SEQ ID NO: 10 hybridizes and extends specifically from the DNA flanking the 3' side of the inserted exogenous DNA; primer SEQ ID NO: 13 hybridizes and extends specifically from the wild-type DNA corresponding to a region that was deleted during T-DNA insertion in the transgenic event MON87712. These

15 primers are diagnostic. In this example, primers SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 11 or 15 and the 6FAMTM- labeled oligonucleotide probe SEQ ID NO: 12 produce a DNA amplicon revealed by the liberation of a fluorescent signal from probe SEQ ID NO: 12,

20

which is diagnostic for event MON87712 DNA, indicating a copy of the inserted transgenic DNA present in the genomic DNA. Primers SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 13 and the VICTM-labeled oligonucleotide probe SEQ ID NO: 14 produce an amplicon revealed by the liberation of a fluorescent signal from probe SEQ ID NO: 14, which is diagnostic for the wild type allele, indicating no copy of the inserted exogenous DNA present in the genomic DNA. When the three primers and two probes are mixed together in a PCR reaction with DNA extracted from a plant, release of a fluorescent signal only from the 6FAMTM-labeled oligonucleotide probe (SEQ ID NO: 12) is indicative of and diagnostic of a plant homozygous for event MON87712. When the three primers and two probes are mixed together in a PCR reaction with DNA extracted from a plant, release of a fluorescent signal from both the 6FAMTM-labeled oligonucleotide probe SEQ ID NO: 12 and the VICTM-labeled oligonucleotide probe SEQ ID NO: 14 is indicative of and diagnostic of a plant heterozygous for event MON87712. When the three primers and two probes are mixed together in a PCR reaction with DNA extracted from a plant, release of a fluorescent signal from only the VICTM-labeled oligonucleotide probe SEQ ID NO: 14 is indicative of and diagnostic of a plant null for event MON87712, *i.e.* wild type. The assays also include a positive control from soybean containing event MON87712 DNA, a negative control from non-transgenic soybean and a negative control that contains no template DNA.

Table 6 and Table 7 provide examples of conditions used for zygosity assay for event MON87712 in a sample. These assays are optimized for use with an Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700. The allelic detection was optimized with a 7900HT Sequence Detection System by Applied Biosystems, or a PHERAstar by BMG Labtech. Other methods and apparatus known to those skilled in the art that produce amplicons that identify the event MON87712 DNA is within the skill of the art.

Table 6. Soybean MON87712 Event-Specific Zygosity Endpoint TAQMAN® PCR

Step	Details
1	Prepare the following: 200 μM Primers 100μM Event 6-FAM TM MGB* probe 100μM Wild type VIC TM MGB probe 50:50 2X ABI universal master mix : 2X AbGene universal master mix 0.1X TE

2	Prepare the following 80X Primer + probe stock: 100µM Event 6-FAM™ MGB Probe 100µM Wild type VIC™ MGB probe 200 µM Wild type forward primer 200 µM Event forward primer 200 µM reverse primer	16µl 16µl 8.5µl 8.5µl 17µl
3	Dilute the 80X Primer + Probe stock to 10X working dilution with 0.1X TE	
4	Prepare the following reaction solution (per reaction): -50:50 2X ABI universal master mix : 2X AbGene universal master mix -10X Primer + Probe working dilution -Extracted DNA (template): 1) Samples to be analyzed 2) Negative control (non-transgenic DNA) 3) Negative water control (no template control) 4) Positive control homozygous MON87712 DNA 5) Positive control heterozygous MON87712 DNA	3µl 0.6µl 2.4µl

*MGB: Minor Groove Binding

Table 7. Zygosity Endpoint TAQMAN® Thermocycler Conditions

Cycle No.	Settings
1	95°C 10 minutes
40	92°C 15 seconds 64°C 1 Minute
1	10°C Forever

Table 8. Examples of Primer And Probe Combinations Used for Zygosity Assays

Combination	Type	Direction	SEQ ID NO	Sequences
1	Primers	Reverse	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Forward	13	CTATTATTTGCTATAAG TATTTGATGTAAGAA
	Probe	Wild type allele	14	VIC- TTGTATTAATAACAAA AAATTG

	Primers	Reverse	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Forward	11	CATTCTCGAGCAGGAC CTGCAGAA
	Probe	MON87712 allele	12	6FAM- AACACTGATAGTTTAA ACTGAAG
2	Primers	Reverse	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Forward	13	CTATTATTTGCTATAAG TATTTGATGTAAGAA
	Probe	Wild type allele	14	VIC- TTGTATTAATAACAAA AAATTG
	Primers	Reverse	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Forward	15	GTACATTCTCGAGCAG GACCTGCA
	Probe	MON87712 allele	12	6FAM- AACACTGATAGTTTAA ACTGAAG

Example 4: Identification of Event MON87712 in Any MON87712 Containing Breeding Event

This example describes how one may identify the MON87712 event within progeny of any breeding event containing MON87712 soybean.

Event DNA primer pairs are used to produce an amplicon diagnostic for soybean event MON87712. An amplicon diagnostic for MON87712 comprises at least one junction sequence, provided herein as SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or the complements thereof ([A] or [B], respectively as illustrated in Figure 1). SEQ ID NO: 1 ([A] of Figure 1) is a nucleotide sequence corresponding to the junction of the 5' flanking sequence (positions 3495 through 3516 of SEQ ID NO: 3 [C], see Figure 1) and the left border of the integrated DNA insert (positions 1 through 11 of SEQ ID NO: 5 [E], see Figure 1). SEQ ID NO: 2 ([B] of Figure 1) is a nucleotide sequence corresponding to the junction of the right border of the integrated DNA insert (positions 2004 through 2014 of SEQ ID NO: 5 [E], see Figure 1) and the 3' flanking sequence (positions 90 through 111 of SEQ ID NO: 4 [D], see Figure 1). SEQ ID NO: 7 ([A] of Figure 1) is a nucleotide sequence corresponding to the junction of the 5' flanking sequence (positions 3456 through 3555 of SEQ ID NO: 3 [C], see Figure 1) and the left

border of the integrated DNA insert (positions 1 through 50 of SEQ ID NO: 5 [E], see Figure 1). SEQ ID NO: 8 ([B] of Figure 1) is a nucleotide sequence corresponding to the junction of the right border of the integrated DNA insert (positions 1965 through 2014 of SEQ ID NO: 5 [E], see Figure 1) and the 3' flanking sequence (positions 51 through 150 of SEQ ID NO: 4 [D], see Figure 1).

Event primer pairs that produce an amplicon diagnostic for MON87712 include primer pairs designed using the flanking sequences (SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 4) and the integrated transgenic DNA sequence (SEQ ID NO: 5). To acquire a diagnostic amplicon in which at least 15 nucleotides of SEQ ID NO: 1 is found, one would design a forward primer based upon SEQ ID NO: 3 from bases 1 through 3494 and a reverse primer based upon the inserted expression cassette DNA sequence, SEQ ID NO: 5 from positions 12 through 2014, in which the primers are of sufficient length of contiguous nucleotides to specifically hybridize to SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 5. To acquire a diagnostic amplicon in which at least 15 nucleotides of SEQ ID NO: 2 is found, one would design a forward primer based upon the inserted expression cassette DNA sequence, SEQ ID NO: 5, from positions 1 through 2003 and a reverse primer based upon the 3' flanking sequence, SEQ ID NO: 4, from bases 12 through 2065, in which the primers are of sufficient length of contiguous nucleotides to specifically hybridize to SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 5. For practical purposes, one should design primers that produce amplicons of a limited size range, for example, between 100 to 1000 bases. Smaller sized (shorter nucleotide length) amplicons in general may be more reliably produced in PCR reactions, allow for shorter cycle times and be easily separated and visualized on agarose gels or adapted for use in endpoint TAQMAN®-like assays. In addition, amplicons produced using primer pairs can be cloned into vectors, propagated, isolated and sequenced or can be sequenced directly with methods well established in the art. Any primer pair derived from the combination of SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 5 or the combination of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 5 that are useful in a DNA amplification method to produce an amplicon diagnostic for MON87712, plants comprising MON87712 or progeny thereof is an aspect of the present invention. Any single isolated DNA primer molecule comprising at least 11 contiguous nucleotides of SEQ ID NO: 3, or its complement that is useful in a DNA amplification method to produce an amplicon diagnostic for MON87712, plants comprising MON87712 or progeny thereof is an aspect of the present invention. Any single isolated DNA primer molecule comprising at least 11 contiguous nucleotides of SEQ ID NO: 4, or its

complement that is useful in a DNA amplification method to produce an amplicon diagnostic for MON87712, plants comprising MON87712 or progeny thereof is an aspect of the present invention. Any single isolated DNA primer molecule comprising at least 11 contiguous nucleotides of SEQ ID NO: 5, or its complement that is useful in a DNA amplification method to produce an amplicon diagnostic for MON87712, plants
5 comprising MON87712 or progeny thereof is an aspect of the present invention.

An example of the amplification conditions for this analysis is illustrated in Table 4 and Table 5 (Example 3). However, any modification of these methods or the use of DNA primers homologous or complementary to SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 or DNA
10 sequences of the transgenic insert (SEQ ID NO: 5) of event MON87712 that produce an amplicon diagnostic for MON87712 is within the scope of the present disclosure. A diagnostic amplicon comprises a DNA molecule homologous or complementary to at least one transgene/genomic junction DNA (SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, at least 51 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or at least 51 consecutive nucleotides of SEQ
15 ID NO: 8, or the complements thereof), or a substantial portion thereof.

An analysis for event MON87712 DNA in a sample should include a positive control from event MON87712, a negative control from a soybean plant that does not contain event MON87712, for example, but not limited to wild type control, and a negative control that contains no soybean genomic DNA. A primer pair that will amplify
20 an endogenous soybean DNA molecule will serve as an internal control for the DNA amplification conditions. Additional primer sequences can be selected from SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, or SEQ ID NO: 5 by those skilled in the art of DNA amplification methods, and conditions selected for the production of an amplicon by the methods shown in Table 4 and Table 5 may differ, but result in an amplicon diagnostic for event
25 MON87712 DNA. The use of these DNA primer sequences with modifications to the methods of Table 4 and Table 5 are within the scope of the invention. The amplicon produced by at least one DNA primer sequence derived from SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, or SEQ ID NO: 5 that is diagnostic for MON87712 is an aspect of the invention.

DNA detection kits that contain at least one DNA primer derived from SEQ ID
30 NO: 3, SEQ ID NO: 4, or SEQ ID NO: 5, that when used in a DNA amplification method, produces a diagnostic amplicon for MON87712, plants comprising MON87712 or progeny thereof is an aspect of the invention. A soybean plant or seed, wherein its genomic DNA produces an amplicon diagnostic for MON87712 when tested in a DNA amplification method is an aspect of the invention. The assay for the MON87712

SS

amplicon can be performed by using an Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700, ABI 9800 Fast Thermal Cycler and MJ Opticon, Stratagene Robocycler, MJ Engine, Perkin-Elmer 9700 or Eppendorf Mastercycler Gradient thermocycler or any other amplification system that can be used to produce an amplicon diagnostic of MON87712.

5 A deposit of the soybean event MON87712 comprising seed disclosed above and recited in the claims, has been made under the Budapest Treaty with the American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA. 20110. The date of deposit is August 20, 2009 and the ATCC accession number is PTA-10296. Upon issuance of a patent, all restrictions upon the deposit will be removed, and the deposit is
10 intended to meet all of the requirements of 37 C.F.R. §§ 1.801-1.809. The deposit will be maintained in the depository for a period of 30 years, or 5 years after the last request, or for the effective life of the patent, whichever is longer, and will be replaced as necessary during that period.

 Having illustrated and described the principles of the present invention, it should
15 be apparent to persons skilled in the art that the invention can be modified in arrangement and detail without departing from such principles. We claim all modifications that are within the spirit and scope of the appended claims.

CLAIMS

Claim 1. A recombinant DNA molecule comprising

- a) a polynucleotide molecule having a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 2;
- b) a polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 7 and SEQ ID NO: 8;
- c) a polynucleotide molecule having a sequence complementary to a) or b).

Claim 2. The DNA molecule of claim 1, wherein said DNA molecule is derived from event MON87712, a representative sample of seed comprising event MON87712 having been deposited under ATCC Accession No. PTA-10296.

Claim 3. The DNA molecule of claim 1, wherein said DNA molecule is comprised in a soybean plant, plant cell, seed, progeny plant, plant part, or a commodity product.

Claim 4. The DNA molecule of claim 1, wherein said DNA molecule is an amplicon produced from a template molecule derived from DNA from event MON87712.

Claim 5. A polynucleotide probe diagnostic for the presence of event MON87712 DNA, wherein said polynucleotide probe is of sufficient length to bind to a nucleic acid molecule comprising SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, or at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or of SEQ ID NO: 8, or complements thereof, and wherein said polynucleotide probe hybridizes under stringent hybridization conditions with a DNA molecule comprising SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, or at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or of SEQ ID NO: 8, or complements thereof and does not hybridize under stringent hybridization conditions with a DNA molecule not comprising SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, or at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7 or of SEQ ID NO: 8, or complements thereof.

Claim 6. A method of detecting the presence of a DNA molecule derived from event MON87712 in a DNA sample, the method comprising:

- a) contacting said DNA sample with the polynucleotide probe of claim 5;

- b) subjecting said DNA sample and said polynucleotide probe to stringent hybridization conditions; and
- c) detecting hybridization of said polynucleotide probe to said DNA molecule derived from event MON87712 in said DNA sample.

Claim 7. A pair of DNA molecules comprising a first DNA molecule and a second DNA molecule different from the first DNA molecule, to function as DNA primers when used together in an amplification reaction with a template derived from event MON87712 to produce an amplicon diagnostic for event MON87712 DNA in a sample.

Claim 8. The pair of DNA molecules of claim 7, wherein said amplicon comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, a polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and a polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8.

Claim 9. A method of detecting the presence of a DNA molecule derived from event MON87712 in a DNA sample, said method comprising:

- a) contacting said DNA sample with said pair of DNA molecules of claim 7;
- b) performing an amplification reaction to produce an amplicon comprising SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, a polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, or a polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8, or complements thereof; and
- c) detecting said amplicon.

Claim 10. A DNA detection kit comprising at least one polynucleotide molecule capable of functioning as a DNA primer or polynucleotide probe specific for detecting the presence of DNA derived from event MON87712, wherein detection of said DNA is diagnostic for the presence of said MON87712 DNA in a sample.

Claim 11. The DNA detection kit of claim 10, wherein the at least one polynucleotide molecule is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, a

polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 7, and a polynucleotide molecule having a sequence comprising at least from about 51-100 consecutive nucleotides of SEQ ID NO: 8.

Claim 12. A plant, seed, cell, or DNA-containing part thereof comprising the DNA molecule of claim 1.

Claim 13. A plant part of the plant of claim 12, wherein said plant part is selected from the group consisting of pollen, ovule, flower, pod, leaf, root, stem and shoot.

Claim 14. A plant, seed, cell or plant part thereof comprising event MON87712, a representative sample of seed comprising event MON87712 having been deposited under ATCC Accession No. PTA-10296.

Claim 15. The plant or seed of claim 14, wherein said plant or seed provides increased yield.

Claim 16. A hybrid soybean plant or seed wherein at least one parent is derived from a soybean comprising event MON87712.

Claim 17. A nonliving plant material derived from MON87712 comprising the DNA molecule of claim 1.

Claim 18. A microorganism comprising the DNA molecule of claim 1.

Claim 19. The microorganism of claim 18, wherein said microorganism is a plant cell.

Claim 20. A commodity product comprising the DNA molecule of claim 1.

Claim 21. The commodity product of claim 20, selected from the group consisting of whole or processed seed, animal feed, oil, meal, flour, flake, bran, protein concentrate, soy protein isolates, hydrolyzed soy protein, biomass and fuel products.

Claim 22. A method of producing a soybean plant with increased yield comprising:

- a) selfing a MON87712 comprising soybean plant, thereby producing a seed;
- b) growing said seed to produce a plurality of progeny plant; and

- c) selecting a progeny plant that comprises MON87712 or a progeny plant with increased yield.

Claim 23. A method of producing a soybean plant with increased yield comprising:

- a) crossing a MON87712 comprising soybean plant with a second soybean plant, thereby producing a seed;
- b) growing said seed to produce a plurality of progeny plants; and
- c) selecting a progeny plant that comprises MON87712 or a progeny plant with increased yield.

Claim 24. A method of determining the zygosity of a soybean plant genome comprising soybean event MON87712 DNA in a sample comprising:

- a) contacting the sample with three different primers that
 - i) when used together in a nucleic acid amplification reaction with soybean event MON87712 DNA, produces a first amplicon that is diagnostic for soybean event MON87712; and
 - ii) when used together in a nucleic acid amplification reaction with soybean genomic DNA other than MON87712 DNA, produces a second amplicon that is diagnostic for soybean wild type genomic DNA other than event MON87712 DNA;
- b) performing a nucleic acid amplification reaction; and
- c) detecting said first amplicon and said second amplicon;

wherein the presence of said first and second amplicons is diagnostic of a heterozygous genome in said sample, and wherein the presence of only said first amplicon is diagnostic of a homozygous genome in said sample.

Claim 25. The method of claim 24, wherein the three different primers comprise SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 or 15, and SEQ ID NO: 13.

Claim 26. A method of increasing yield in a crop comprising

- a) planting a crop plant or seed comprising event MON87712; and
- b) growing said crop plant or seed.

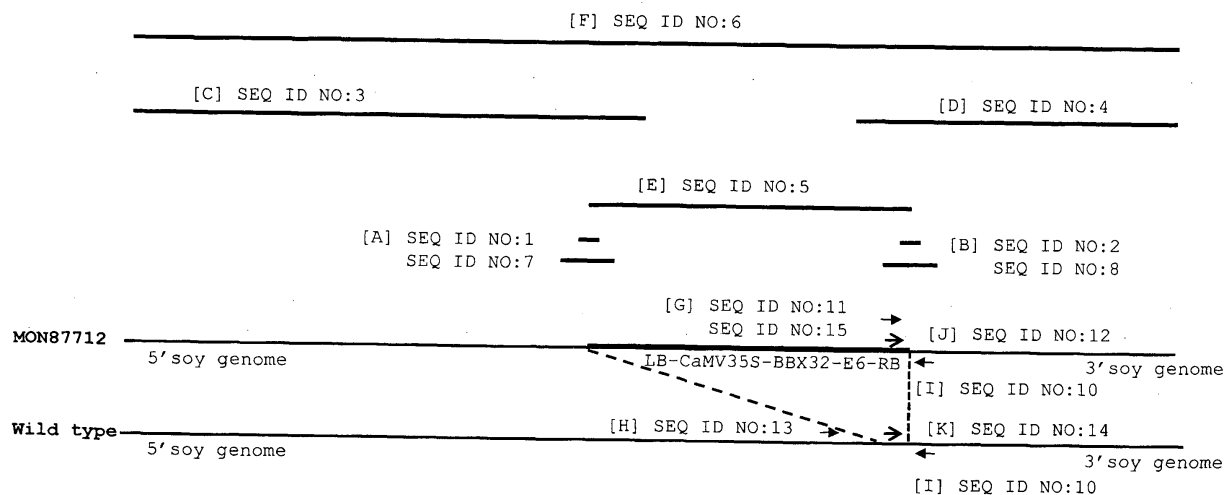


Figure 1

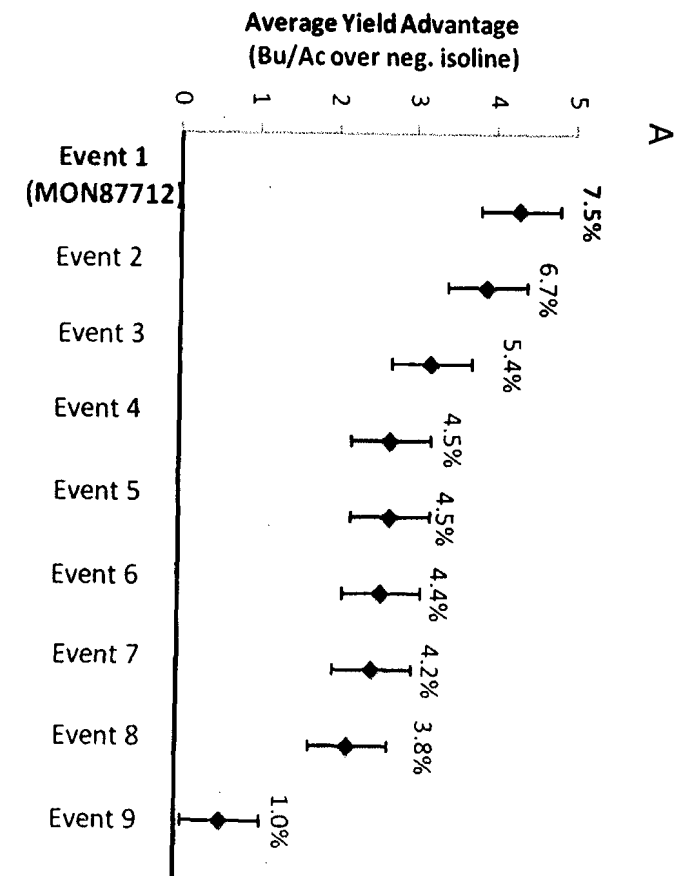
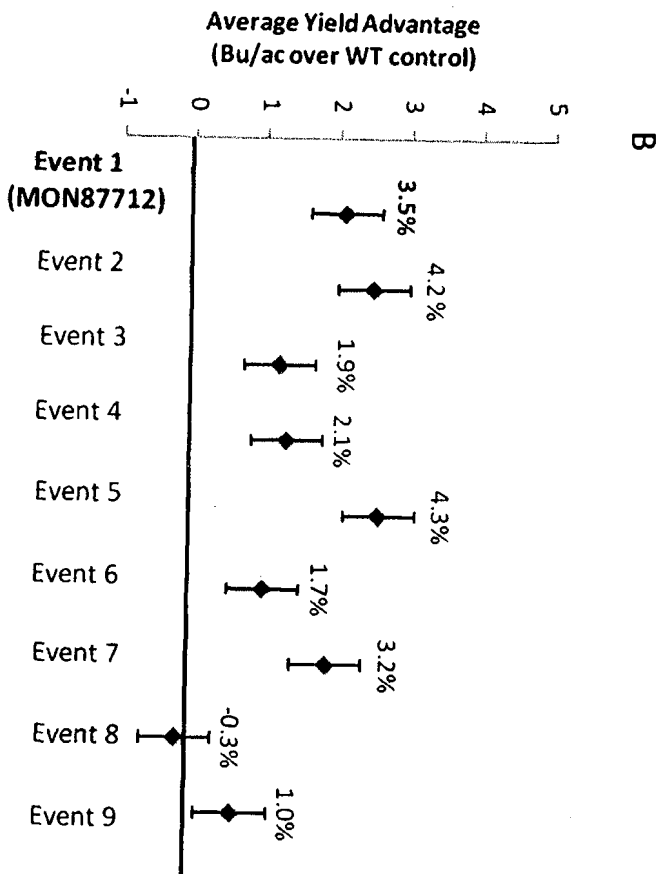


Figure 2



Listado de Secuencias - Inglés
SEQUENCE LISTING

<110> Monsanto Technology LLC
Cole, Robert H.
Korte, John A.
Ledeaux, John R.
Spears, Melissa C.
Wu, Kunsheng

<120> Soybean plant and seed corresponding to transgenic event MON87712
and methods for detection thereof

<130> MONS:299WO

<140> unknown
<141> 2011-04-29

<150> 61/392,267
<151> 2010-10-12

<150> 61/393,448
<151> 2010-10-15

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> 5' junction

<400> 1
ctataagtat ttgatggtca at 22

<210> 2
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> 3' junction

<400> 2
tcagtgttg atttacttaa ac 22

<210> 3
<211> 3605
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> 5' flank + 100 bp insert

<220>
<221> misc_feature
<222> (3451)..(3463)
<223> The sequence at position 3451 to 3463 may contain additional c
residues including, for example, from 13 to 100 or more total
consecutive c residues.

<400> 3
gtcgtcgaag gtgtgtcggt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat 60
ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc 120

Listado de Secuencias - Inglés		
atggtctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatggctcgt	180	
tgagatagct tgtgacgcaa tcttgcttgg ttcaaacctt aatacaaaaag aaggggtacac	240	
aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt	300	
actcttacct tccacccctg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag ggttctttca	360	
tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaattttata taatgatata ttatattaat	420	
acataatttaa attttcactt ttaaataatat ctaaaaaatc ttttaataca taataagtat	480	
aacaatttaa tatatatata tatcattata tttaacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540	
atgtgtttaa ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600	
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660	
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720	
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780	
catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaaca ctttttatg gacatatatt	840	
cgtcggaa ca tctatcgtt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900	
tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960	
taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020	
atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga	1080	
aggccctcaa cctagtgttg gaggttgaca tgggtggctat agaatgaata ggtgggtgaa	1140	
tccttgataa ggttaagggtg tttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat	1200	
caattttaga tacaaccaca cttccttcat agggttaatt ggagtctccc tgagtggta	1260	
aggtgtgact atgttaaggg atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaaa atctccttgg	1320	
agtaaagtgt caacatgtca tatcataata catagacatg tgcatttacc tttatgaata	1380	
aagaagaatg acatgttact atatgagtta tggaaatgct ttgatgtatg atgattgaat	1440	
ctttatgtaa tgcttgatga actaacgatt ataagattga ccttaaaaca acaagatta	1500	
ataacaattg ctataaaaca aacttgattt ttatcttcgt tacctttctt aataatgaaa	1560	
aataatttga aaaaagcgag tatggccata aggcacatag tttttcaatt gtatatacat	1620	
atcatatgat gtcttcttat cttatcatgt gttttggctt tttagcttgg aaagcgtgaa	1680	
aaattttataa gtattttcac aattaaatta atagaagggt tttaaaagaa ttaaaataaa	1740	
gtcttccgct tgagtagttc ttagtggtat ataaccatga caaatcatta caattacaag	1800	
taagaaagac atatttaagg caaaaaatag tcttcgacta tcgggttaagg acattattag	1860	
tgcatcmeta aaagaaaaaa aacaaaaaca aaattttttt attgtagcca actagaatat	1920	
aaagatgttg aagcagggtt ttgtacaaaa gttaattatt ggcaaatatg acagggtattt	1980	
tgtatttttt attttgccat aacattgata caaaatattt acatacttta ttgatgacta	2040	
atatttttta agaaacctaa ctaactatc tataataaag tctctcattt taattacatt	2100	
tttgttttca ttgatgagac ttgaacmeta acctttgtca agggatmeta cacaattctc	2160	
cacacaaacc aataaatcaa catgtttgtt taaagttgag attagagata ctaattcata	2220	
cttataacat agcataaaat atttatatta ttgaaaaat aaaataagtc agaaagaaat	2280	

Listado de Secuencias - Inglés

aatataagat tcttttggtt aattaaatga ttagaaagaa aaataaatag tataaaataa	2340
ttttagggtta attattttatt ttaactctat agttatctcc tttttaagat ttagttttgt	2400
acgaaaaaaa tataaattgt aattcttata tatacataaa agttaaatTT taccaaaagc	2460
attaaactttt ttaatctatt attatttttc taacatgaaa ctattaaata ttaattttta	2520
ttttttatgt tataaagaaa tttattttaac tttttaagaa taaaaattaa aaaatgaaaa	2580
gagattttat tctctttatt tatgccacag gcagggacag aggcagaaat aaacattagg	2640
gggccaattt tgaaattaaa atttatctaa ttaaaaaatg tatgagtatt aatttttaac	2700
aaactactgc taatatgttt tttccaaaaa aaattcaatg acatataata gaaatatatt	2760
cacataaaag acaaattaaa catttaaaaa atctattaca aatgtcattt gacatgctac	2820
catgatttag tttctaatat ttactttgtt tttccaaaat ctagtcaata gtgtgcctag	2880
accatgcact caatgttaaa agcatgtagg agcatcacia tgacaataaa atcaagataa	2940
tattttatat aatgttcata attaagcttg tcccatagac aaagattact aaataatttt	3000
aacttctcaa ataaattata atcaaatcaa tataaaggaa gaataataat gtcttttaat	3060
cacaaatgca ataatttata acctttaaaa tagtataaaa aattataaaa ataaaattta	3120
tgaaaaaat aaatgagact taaatttttt taaaaagaca aaatgtaaaa tttttacaat	3180
aaaatctact aaaaagaaat agaataattg ttttaaaaaa aataaaaaatg tcattatagt	3240
tatgcaaaac tataaaggat aattgattat tttattaaaa aaataaaaaat aacattttta	3300
tataattatt tttataatta aacttttaaa aaataattat cttaaatttta aaatattatg	3360
tattattaaa aataaaacta aaaaaaaaag ttaggggggc ctcgcacctc cgtatctggc	3420
cgcaggagaa gttatcacat gagtttcgcg ccccccccc cccgccgccc cctatttttt	3480
ttttctatta tttgctataa gtatttgatg gtcaatatgg agaaaaagaa agagtaatta	3540
ccaatttttt ttcaattcaa aaatgtagat gtccgcagcg ttattataaa atgaaagtac	3600
atttt	3605

<210> 4
 <211> 2065
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> 3' flank + 100 bp insert

<400> 4	
ataaaaatgt gagtacattc tcgagcagga cctgcagaag ctagcttgat ggggatcaga	60
ttgtcgtttc ccgccttcag tttaaactat cagtgtttga tttacttaaa cgaggtaatt	120
gtaaaactta aacttgatat agttaaatgt tatatatata tatatataat acttaactta	180
tttaattatc aaaatttatt ttgaaccaa cttttactaa tttaatatta atttattttt	240
ttgttaaaaa ggcaagtaaa gtaataaaaa aattcataaa atgatttaaa attatagagt	300
gataaactta tcttttttag tacataaaat ttcaaaaacg gagaccatga tgtctttagg	360
attaaaaagt aattaaagga aaaatgtaaa aaaaaaaaag ttaaggaact aaaaataagg	420
ataaaaagtt aaagaatggt gatcaataaa aaaaaagagt tcaataacta aaaacaaaaa	480

Listado de Secuencias - Inglés

tcctaaaaat attagtgact agtaaatact aatcttgaac aacgttctat caataattca	540
attaaagatc gagtgaagga agaatgcttc tttaaaaata aactaataaa gagatatata	600
catttcatac ttttttttat cacgtataca tttctctctt aaaaaaccat atatacattt	660
ctaaagaaaa tattgcacat ttctactttc aaaatacatt tgacggtaac atgtagatgg	720
agggaaaaat tatggttttt cttttttatt ttagtggtta tttattttta ttattatttt	780
ttttatctta ttgatagcc tgacattttt ttgatttggt tttttattaa ttgtgtgtaa	840
agacaaagta ttagatttgt gcaaataaac taggtcaaga ctaaagttaa tttattttta	900
aagactagac tttagatcat ttaaaaaaaaa ttttaagtct aacatgtcaa cctatttaag	960
taaatgtaag tatttaattt ttgttggtat tttttataat ggataggtat tcagttgggt	1020
caagaacccc ataaccatcc ctactaaata ggtatccagt cttaccccca attggccccc	1080
acaaacaggt gattaaaccc ataataaaaa aagtgaattg attaagggaa aagagaagtt	1140
taggccactt aaaccccaat tatggaagaa ttacctagac ggtaatccaa gcacaaaggt	1200
ccatggttca aggccacaaa atgtttgtat aaataggggg aaaaccctaa gtaatgacca	1260
ttgttcgttt gatgtgcatt ttattgcctt gcttactact cacaattgaa ctctgactta	1320
agcgtttgag tatcttttgc aagtatcccc cccttgggtc atcttatttg gcacgtgaag	1380
aagacaaagt ccaaaggcag gacccttcta ttagagggac agtgtccgac cattatttgg	1440
taggaatatt ttggcacccc aaagtaagat agtccttgac cctaagaatt atggcaatca	1500
cacgcacaag aaccaacata gcagcaaaaa ccaacttggg aatcattagc ctgaagaagt	1560
ccatgtagag ggctagattg acttatcctt aatgggtgagg aggctacaag cacaagtatt	1620
agatatgcgt caacatcatg tcgaagaggt cattaccctt tgacaagaaa atgcacaact	1680
acaagagggg aaccgttcct agaaacccga aaatgaaaca cctgttggag cggaggtaga	1740
gtcaaccaat tttgagatgc caaaagccac caatgttagt gtttggcagg atacacaccc	1800
tcagttcata aatatgttag ggaagcaact acagtagttc aagaacacct ttttcctcgg	1860
tgtcatggaa gccaccctcc ttccaacta gaagaacctc accatcgaga agtactatgg	1920
taccactaac ccatatgagc accttgacgt ttatatcacc caagtcagcc tgtacactat	1980
ggataatgtt gtcttatgcc aggtgttccc tacatctttg aaggggtaga tcctccatta	2040
gttcacccac ctccctcccc caaca	2065

<210> 5
 <211> 2014
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> insert

<400> 5	
tgatgggtcaa tatggagaaa aagaaagagt aattaccaat tttttttcaa ttcaaaaatg	60
tagatgtccg cagcgttatt ataaaatgaa agtacatttt gataaaacga caaattacga	120
tccgtcgtat ttataggcga aagcaataaa caaattattc taattcggaa atctttattt	180
cgacgtgtct acattcacgt ccaaatgggg gcttagatga gaaacttcac gatttggcgc	240

Listado de Secuencias - Inglés

gccaaagctt gatatcgaat tcctgcagcc cccttaaagg gggggatccg gtccgatgtg	300
agacttttca acaaagggtg atatccggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	360
gtcactttat tgtgaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	420
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	480
caccacgag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	540
attgatgtga tgggtccgatt gagacttttc aacaaagggg aatatccgga aacctcctcg	600
gattccattg ccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaagaa gaagggtggct	660
cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca	720
gtgggtccca agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa	780
ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac	840
aatcccacta tccttcgcaa gacccttcct ctatataagg aagttcattt catttgagag	900
ggaccaggtg gtaccggcgc gccaccatgg tgagcttttg cgagctttgt ggtgccgaag	960
ctgatctcca ttgtgccgcg gactctgcct tcctctgccg ttcttgtgac gctaagtccc	1020
atgcctcaaa ttttctcttc gctcgtcatt tccggcgtgt catctgccca aattgcaaat	1080
ctcttactca aaatttcggt tctggctctc ttcttccttg gcctccacga acaacatggt	1140
gttcagaatc gtcgtcttct tcttgcgtgt cgtctcttga ctgtgtctca agctccgagc	1200
tatcgtcaac gacgcgtgac gtaaacagag cgcgagggag ggaaaacaga gtgaatgcc	1260
aggccgttgc ggttacggtg gcggatggca tttttgtaaa ttgggtgtggg aagttaggac	1320
taaacaggga tttaacaaac gctgtcgttt catatgcgtc tttggctttg gctgtggaga	1380
cgaggccaag agcgacgaag agagtgttct tagcggcggc gttttggttc ggcgttaaga	1440
acacgacgac gtggcagaat ttaaagaaag tagaagatgt gactggagtt tcagctggga	1500
tgattcgagc ggttgaaagc aaattggcgc gtgcaatgac gcagcagctt agacggtggc	1560
gcgtggattc ggaggaagga tgggctgaaa acgacaacgt ttaggcgatc gcgggccctg	1620
atcacctgtc gtacagtatt tctacatttg atgtgtgatt tgtgaagaac atcaaacaaa	1680
acaagcactg gctttaatat gatgataagt attatggtaa ttaattaatt ggcaaaaaca	1740
acaatgaagc taaaatttta ttattgagc cttgcggtta atttcttggt atgatctttt	1800
tttttatttt ctaattatat atagtttcct ttgctttgaa atgctaaagg tttgagagag	1860
ttatgctctt tttttcttcc tctttctttt ttaactttat catacaaatt ttgaataaaa	1920
atgtgagtac attctcgagc aggacctgca gaagctagct tgatggggat cagattgtcg	1980
tttccgcct tcagtttaaa ctatcagtgt ttga	2014

<210> 6
 <211> 7484
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> flanks + insert

<220>
 <221> misc_feature

Listado de Secuencias - Inglés

<222> (3451)..(3463)

<223> The sequence at position 3451 to 3463 may contain additional c residues including, for example, from 13 to 100 or more total consecutive c residues.

<400> 6

gtcgtcgaag gtgtgtcgtt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat	60
ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc	120
atggtctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatggtcgt	180
tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttg ttcacaccta aatacaaaag aagggtacac	240
aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt	300
actcttacct tccaccctg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag ggttctttca	360
tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat	420
acatatttaa attttcactt ttaaatatat ctaaaaaatc ttttaatcaa taataagtat	480
aacaatttaa tatatatata ttcattata tttacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540
atgtgtttta ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780
catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaaca catttttatg gacatatatt	840
cgtcggaaac ctctatcgtt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900
tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960
taatgatgat atatgaatgt attaatgat agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020
atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga	1080
aggccctcaa cctagtgttg gaggttgaca tgggtggctat agaatgaata ggtgggtgaa	1140
tccttgataa ggtaaggtg ttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat	1200
caattttaga tacaaccaca cttccttcat agggttaatt ggagtcctcc tgagtggta	1260
aggtgtgact atgttaaggg atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaaa atctccttgg	1320
agtaaagtgt caacatgtca tatcataata catagacatg tgcatttacc tttatgaata	1380
aagaagaatg acatgttact atatgagtta tggaaatgct ttgatgtatg atgattgaat	1440
ctttatgtaa tgcttgatga actaacgatt ataagattga ccttaaaaca acaaagatta	1500
ataacaattg ctataaaaca aacttgtatt ttatcttcgt tacctttctt aataatgaaa	1560
aataatttga aaaaagcgag tatggccata aggcacatag tttttcaatt gtatatacat	1620
atcatatgat gtcttcttat cttatcatgt gttttggctt tttagcttgg aaagcgtgaa	1680
aaatttataa gtattttcac aattaaatta atagaagggt tttaaaagaa ttaaaataaa	1740
gtcttccgct tgagtagttc ttagtggtat aaacacatga caaatcatta caattacaag	1800
taagaaagac atatttaagg caaaaaatag tcttcgacta tcggttaagg acattattag	1860
tgatttcaaa aaagaaaaaa aacaaaaaca aaattttttt attgtagcca actagaatat	1920
aaagatgttg aagcagggtt ttgtacaaaa gtttaattatt ggcaaatatg acaggatttt	1980

Listado de Secuencias - Inglés						
tgtatTTTTT	atTTTgccat	aacattgata	caaaatatTTT	acatacTTta	ttgatgacta	2040
atatTTTTta	agaaaccta	ctaaactatc	tataataaag	tctctcattt	taattacatt	2100
tttgTTTTca	ttgatgagac	ttgaaccaa	acTTTgtca	agggatcaa	cacaattctc	2160
cacacaaacc	aataaatcaa	catgtttgtt	taaagttgag	attagagata	ctaattcata	2220
cttataacat	agcataaaat	atTTtatatta	tttgaaaaat	aaaataagtc	agaaagaaat	2280
aatataagat	tctTTTgttt	aattaaatga	ttagaaaagaa	aaataaatag	tataaaataa	2340
TTTTaggtta	attatTTtatt	ttaactctat	agttatctcc	TTTTtaagat	ttagTTTTgt	2400
acgaaaaaaaa	tataaattgt	aattcTTata	tatacataaa	agTTaaattt	taccaaagc	2460
attaaactTTT	ttaatctatt	attatTTTTc	taacatgaaa	ctattaaata	ttaattTTaa	2520
TTTTttatgt	tataaagaaa	TTtatTTaac	TTTTtaagaa	taaaaattaa	aaaatgaaaa	2580
gagatTTTat	tctctTTtatt	tatgccacag	gcagggacag	aggcagaaat	aaacattagg	2640
gggccaattt	tgaaattaaa	atTTtatctaa	TTaaaaaatg	tatgagtatt	aattTTaaac	2700
aaactactgc	taatatgttt	TTTccaaaaa	aaattcaatg	acataataa	gaaatatatt	2760
cacataaaag	acaaattaaa	catttaaaaa	atctattaca	aatgtcattt	gacatgctac	2820
catgatTTtag	TTTctaatat	ttactTTgtt	TTTccaaaat	ctagtcaata	gtgtgcctag	2880
accatgcact	caatgttaaa	agcatgtagg	agcatcacia	tgacaataaa	atcaagataa	2940
tattttatat	aatgttcata	attaagcttg	tcccatagac	aaagattact	aaataatttt	3000
aacttctcaa	ataaattata	atcaaataa	tataaaggaa	gaataataat	gtctTTtaat	3060
cacaaatgca	ataatttata	acTTttaaaa	tagtataaaa	aattataaaa	ataaaattta	3120
tgaaaaaaat	aatgagact	taaatTTTTt	taaaaagaca	aatgttaaaa	TTTTtacaat	3180
aaaatctact	aaaaagaaat	agaataattg	TTTTtaaaaa	aataaaaaatg	tcattatagt	3240
tatgcaaaac	tataaaggat	aattgattat	TTtatTaaaa	aaataaaaaat	aacattTTta	3300
tataattatt	TTTataatta	aactTTtaaa	aaataattat	ctaaattTTa	aaatattatg	3360
tatattaaaa	aataaaacta	aaaaaaaaag	ttaggggggc	ctcgcacctc	cgtatctggc	3420
cgcaggagaa	gttatcacat	gagtttcgcg	ccccccccc	ccgcgcgcc	cctatTTTTt	3480
TTTTctatta	TTTgctataa	gtatttgatg	gtcaatatgg	agaaaaagaa	agagtaatta	3540
ccaatTTTTt	TTcaattcaa	aatgtagat	gtccgcagcg	ttattataaa	atgaaagtac	3600
atTTtgataa	aacgacaaat	tacgatccgt	cgtatttata	ggcgaaagca	ataaacaaat	3660
tattctaatt	cggaaatctt	tatttcgacg	tgtctacatt	cacgtccaaa	tgggggctta	3720
gatgagaaac	ttcacgattt	ggcgcgccaa	agcttgatat	cgaattcctg	cagccccctt	3780
aaaggggggg	atccggtccg	atgtgagact	TTTcaacaaa	gggtaatatc	cggaaacctc	3840
ctcggattcc	attgccacg	tatctgtcac	TTtatTgtga	agatagtggg	aaaggaaggt	3900
ggctcctaca	aatgccatca	ttgcgataaa	ggaaaggcca	tcgttgaaga	tgcctctgcc	3960
gacagtggtc	caaagatgg	acccccaccc	acgaggagca	tcgtggaaaa	agaagacgtt	4020
ccaaccacgt	cttcaaagca	agtggattga	tgtgatggtc	cgattgagac	TTTTcaacaa	4080
agggtaatat	ccggaaacct	cctcggattc	cattgcccag	ctatctgtca	ctttattgtg	4140

Listado de Secuencias - Inglés

aagatagtgg aaaaggaagg tggctcctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggcc	4200
atcgttgaag atgcctctgc cgacagtggc cccaaagatg gacccccacc cacgaggagc	4260
atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc aagtggattg atgtgatatc	4320
tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttcctctata	4380
taaggaagtt catttcattt ggagaggacc aggtggtacc ggcgcgccac catggtgagc	4440
ttttgcgagc tttgtggtgc cgaagctgat ctccattgtg ccgcggactc tgccttcctc	4500
tgccgttctt gtgacgctaa gttccatgcc tcaaattttc tcttcgctcg tcatttccgg	4560
cgtgtcatct gcccaaattg caaatctctt actcaaaatt tcgtttcttg tctcttctt	4620
ccttggcctc cacgaacaac atgttggtca gaatcgtcgt cttcttcttg ctgctcgtct	4680
cttgactgtg tctcaagctc cgagctatcg tcaacgacgc gtgacgtaaa cagagcgca	4740
gggagggaaa acagagtga tgccaaggcc gttgcggtta cgggtggcga tggcattttt	4800
gtaaattggt gtggttaagtt aggactaaac agggatttaa caaacgctgt cgtttcatat	4860
gcgtcttttg ctttggctgt ggagacgagg ccaagagcga cgaagagagt gttcttagcg	4920
gcggcgtttt ggttcggcgt taagaacacg acgacgtggc agaatttaaa gaaagtagaa	4980
gatgtgactg gagtttcagc tgggatgatt cgagcggttg aaagcaaatt ggcgcgtgca	5040
atgacgcagc agcttagacg gtggcgcgtg gattcggagg aaggatgggc tgaaaacgac	5100
aacgtttagg cgatcgcggg ccctgatcac ctgtcgtaca gtatttctac atttgatgtg	5160
tgatttgtga agaacatcaa acaaaacaag cactggcttt aatatgatga taagtattat	5220
ggtaattaat taattggcaa aaacaacaat gaagctaaaa tttattttat tgagccttgc	5280
ggtaatttc ttgtgatgat cttttttttt attttctaata tatatatagt ttcctttgct	5340
ttgaaatgct aaaggtttga gagagttagt ctcttttttt cttcctcttt cttttttaac	5400
tttatcatatc aaattttgaa taaaaatgtg agtacattct cgagcaggac ctgcagaagc	5460
tagcttgatg gggatcagat tgtcgtttcc cgccttcagt ttaaaactatc agtgtttgat	5520
ttacttaaac gaggtaattg taaaacttaa acttgatata gttaaattgtt atatataat	5580
atatataata cttaacttat ttaattatca aaatttattt tgaaccaaac ttttactaat	5640
ttaatatataa tttatttttt tggttaaaaag gcaagtaaag taataaaaaa attcataaaa	5700
tgatttaaaa ttatagagtg ataaacttat ctttttttagt acataaaatt tcaaaaacgg	5760
agaccatgat gtccttagga ttaaaaagta attaaaggaa aaatgtaaaa aaaaaaaagt	5820
taaggaacta aaaataagga taaaaagtta aagaatgttg atcaataaaa aaaaagagtt	5880
caataactaa aaacaaaaat cctaaaaata ttagtgacta gtaaataact atcttgaaca	5940
acgttctatc aataattcaa ttaaagatcg agtgaaggaa gaatgcttct ttaaaaaata	6000
actaataaag agatatatac atttcatact tttttttatc acgtatacat ttctctctta	6060
aaaaaccata tatacatctt taaagaaaat attgcacatt tctactttca aaatacatct	6120
gacggtaaca tgtagatgga gggaaaaatt atggtttttc atttttattt tagtggtaat	6180
ttatttttat tattattttt tttatcttat ttgatagcct gacatttttt tgatttgttt	6240
ttttattaat tgtgtgtaaa gacaaagtat tagatttgtg caaataaact aggtcaagac	6300

Listado de Secuencias - Inglés

<213> Artificial sequence

<220>

<223> BBX32 cassette

<400> 9

ggtccgatgt gagacttttc aacaaagggg aatatccgga aacctcctcg gattccattg	60
cccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaaaag gaagggtggct cctacaaatg	120
ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtggtcccaa	180
agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc	240
aaagcaagtg gattgatgtg atggtccgat tgagactttt caacaaaggg taatatccgg	300
aaacctcttc ggattccatt gccagctat ctgtcacttt attgtgaaga tagtggaaaa	360
ggaagggtggc tctacaaat gccatcattg cgataaagga aaggccatcg ttgaagatgc	420
ctctgccgac agtgggtcca aagatggacc cccaccacg aggagcatcg tggaaaaaga	480
agacgttcca accacgtctt caaagcaagt ggattgatgt gatattcca ctgacgtaag	540
ggatgacgca caatcccact atccttcgca agacccttcc tctatataag gaagttcatt	600
tcatttggag aggaccaggt ggtaccggcg cgccaccatg gtgagctttt gcgagctttg	660
tggtgccgaa gctgatctcc attgtgccgc ggactctgcc ttcctctgcc gttcttgtga	720
cgctaagttc catgcctcaa attttctctt cgctcgtcat ttccggcgtg tcatctgccc	780
aaattgcaaa tctcttactc aaaatttcgt ttctggctct cttcttcttc ggcctccacg	840
aacaacatgt tgttcagaat cgtcgtcttc ttcttgctgc tcgtctcttg actgtgtctc	900
aagctccgag ctatcgtcaa cgacgcgtga cgtaaacaga gcgcgaggga gggaaaacag	960
agtgaatgcc aaggccgttg cggttacggg ggcggatggc atttttgtaa attgggtgtgg	1020
taagttagga ctaaacaggg atttaacaaa cgctgtcgtt tcatatgcgt ctttggcttt	1080
ggctgtggag acgaggccaa gagcgacgaa gagagtgttc ttagcggcgg cgttttgggt	1140
cggcgtaag aacacgacga cgtggcagaa tttaaagaaa gtagaagatg tgactggagt	1200
ttcagctggg atgattcgag cggttgaaag caaattggcg cgtgcaatga cgcagcagct	1260
tagacgggtgg cgcgtggatt cggaggaagg atgggctgaa aacgacaacg tttaggcgat	1320
cgcgggccct gatcacctgt cgtacagtat ttctacattt gatgtgtgat ttgtgaagaa	1380
catcaaacia aacaagcact ggctttaata tgatgataag tattatggta attaattaat	1440
tggcaaaaac aacaatgaag ctaaaatttt atttattgag ccttgcggtt aatttcttgt	1500
gatgatcttt ttttttattt tctaattata tatagtttcc tttgctttga aatgctaaag	1560
gtttgagaga gttatgctct ttttttcttc ctctttcttt tttaacttta tcatacaaat	1620
tttgaataaa aatgtgagta catt	1644

<210> 10

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> reverse primer for event zygosity

<400> 10

Listado de Secuencias - Inglés	
gttttacaat tacctcgttt aagtaaata	30
<210> 11	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220>	
<223> forward primer for event zygosity	
<400> 11	
cattctcgag caggacctgc agaa	24
<210> 12	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220>	
<223> 6FAM-labeled probe for event zygosity	
<400> 12	
aacactgata gtttaaactg aag	23
<210> 13	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220>	
<223> forward primer for wild type allele	
<400> 13	
ctattatttg ctataagtat ttgatgtaag aa	32
<210> 14	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220>	
<223> VIC-labeled probe for wild type allele	
<400> 14	
ttgtattaat aacaaaaaat tg	22
<210> 15	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220>	
<223> event-specific primer for zygosity	
<400> 15	
gtacattctc gagcaggacc tgca	24
<210> 16	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220>	
<223> event-specific primer SQ3983	
<400> 16	

tgatggggat cagattgtcg t	Listado de Secuencias - Inglés	21
<210> 17		
<211> 34		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> event-specific primer SQ22982		
<400> 17		
actatatcaa gtttaagttt tacaattacc tcgt		34
<210> 18		
<211> 22		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> event-specific probe PB10453		
<400> 18		
ccttcagttt aaactatcag tg		22
<210> 19		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> primer SQ1532 for internal control		
<400> 19		
ggtatccctc cagaccagca		20
<210> 20		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> primer SQ1533 for internal control		
<400> 20		
gtggactcct tctggatgtt gtaa		24
<210> 21		
<211> 29		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> VIC-labeled probe PB0359 for internal control		
<400> 21		
atatttgctg gaaagcagct tgaggatgg		29

**PLANTA Y SEMILLA DE SOJA CORRESPONDIENTE AL EVENTO TRANSGÉNICO
MON87712 Y MÉTODOS PARA SU DETECCIÓN**

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5

La presente solicitud reivindica el beneficio de las Solicitudes Provisionales estadounidenses Nos. 61/392,267 y 61/393,448, presentadas el 12 de octubre de 2010 y el 15 de octubre de 2010, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante esta referencia.

10

Incorporación del Listado de Secuencias

El listado de secuencias incluido en el archivo titulado "MONS299WO.txt", que es de 26.3 kilobytes, según las mediciones del sistema operativo Microsoft Windows y se creó el 5 de octubre de 2011, se presenta adjunto en formato electrónico y se incorpora a la presente mediante esta referencia.

15

CAMPO DE LA INVENCION

20

La presente invención se refiere al evento de soja transgénica MON87712 y a las plantas que comprenden el evento que presentan un rendimiento aumentado. La invención también proporciona células, partes de plantas, semillas, plantas, productos básicos relacionados con el evento, y moléculas de ADN que son únicas para el evento y se crearon mediante la inserción de ADN transgénico en el genoma de una planta de soja.

25

La invención además proporciona métodos para detectar la presencia de dichas secuencias de nucleótidos del evento de soja en una muestra, sondas y cebadores para

su uso en la detección de las secuencias de nucleótidos que diagnostican la presencia de dicho evento de soja.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5

La soja (Glycinemax) es un cultivo importante y es una fuente de alimento principal en muchas zonas del mundo. Se han aplicado métodos de biotecnología a la soja para mejorar los rasgos agronómicos y la calidad del producto. Uno de dichos rasgos agronómicos es el rendimiento aumentado.

10

Se puede lograr el rendimiento aumentado en las plantas transgénicas mediante la expresión de un transgen que pueda proporcionar dicho rendimiento aumentado. Se sabe que muchos factores influyen en la expresión de genes externos en plantas, tales como los elementos reguladores utilizados en el casete transgénico, la ubicación cromosómica del inserto de transgen, la proximidad de cualquier elemento regulador endógeno cerca del sitio de inserción del transgen, y factores ambientales como la luz y la temperatura. Por ejemplo, se ha observado que puede haber una gran variación en el nivel general de expresión transgénica o en el patrón espacial o temporal de la expresión transgénica entre eventos que se producen de forma similar. Por esta razón, a menudo es necesario analizar cientos de eventos de transformación independientes para identificar en última instancia un evento útil a los efectos agrícolas comerciales. Dicho evento, una vez que se identifica como que tiene la expresión transgénica, las características moleculares y el rasgo mejorado deseados, se pueden utilizar para introgresar el rasgo mejorado en otros ambientes genéticos utilizando métodos de cultivo de plantas. La progenie resultante contendría el evento transgénico y, por lo tanto, tendría las características de expresión transgénica para dicho rasgo del transformado original. Esto se puede utilizar para producir una cantidad de variedades de cultivo distintas que

15

20

25

comprenden el rasgo mejorado y se adaptan adecuadamente a las condiciones de crecimiento locales específicas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5

La presente invención proporciona plantas y semillas de soja transgénica que comprenden el evento MON87712, una muestra de semillas representativa de las que se depositaron en la American Type Culture Collection (ATCC) con el No. de acceso PTA-10296. Las plantas que comprenden el evento exhiben un rendimiento aumentado.

10

La invención proporciona una planta, semilla, célula, planta de progenie o parte de planta que comprende el evento y productos básicos derivados de una planta, célula, parte de planta o semilla que comprende el evento MON87712. Por lo tanto, la invención proporciona una planta, semilla, célula, planta de progenie, parte de planta o producto

15 básico que comprende una molécula de ADN que tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 6, y sus complementos. La invención proporciona una planta, semilla, célula, planta de progenie o parte de planta que comprende una molécula de ADN recombinante que produce un amplicón que comprende

20 una molécula de ADN de la invención, por ejemplo en un método de amplificación de ADN. Las partes de la planta de la soja que comprenden el evento MON87712 de la presente invención incluyen, de modo no taxativo, polen, óvulo, flor, brote, tallo, hoja, vaina y semilla. Son aspectos de la presente invención las composiciones genéticas novedosas contenidas en el genoma de una planta que comprende el evento MON87712

25 y los productos elaborados a partir de una planta que comprende el evento MON87712, tal como semilla entera o procesada, alimento para animales, aceite, comida, harina,

productos alimenticios, complementos proteicos, productos combustibles y biomasa a partir de los cuales se han cosechado las plantas de soja que comprenden MON87712.

La invención proporciona moléculas de ADN que se refieren al evento
5 MON87712. Estas moléculas de ADN pueden comprender secuencias de nucleótidos que representan o derivan de la unión de la inserción del transgen y del ADN genómico flanqueante del evento MON87712, y/o una región del ADN genómico que flanquea el ADN insertado, y/o una región del ADN transgénico integrado que flanquea el sitio de inserción, y/o una región del casete de expresión transgénico integrado, y/o una
10 secuencia contigua de cualquiera de estas regiones.

En una modalidad, la invención proporciona una molécula de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO:
15 8 y SEQ ID NO: 6, y sus complementos. En otra modalidad, la molécula de ADN puede comprender un polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8 o una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia con al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 6. En aun
20 otra modalidad, la invención proporciona una molécula de ADN que comprende la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2. De acuerdo con aun otra modalidad, no hay más de 5000 nucleótidos consecutivos entre el extremo 3' de la SEQ ID NO: 1 y el extremo 5' de la SEQ ID NO: 2, por ejemplo, no más de 4500, 4000, 3500, 3000, 2500, 2250, 2100, 2050, 2000 o 1992 nucleótidos consecutivos entre el extremo 3' de la SEQ ID NO: 1 y el
25 extremo 5' de la SEQ ID NO: 2. De acuerdo con aun otra modalidad, no hay más de 5000 nucleótidos consecutivos entre el extremo 3' de la SEQ ID NO: 7 y el extremo 5' de la SEQ ID NO: 8, por ejemplo, no más de 4500, 4000, 3500, 3000, 2500, 2250, 2100, 2050,

2000 o 1914 nucleótidos consecutivos entre el extremo 3' de la SEQ ID NO: 7 y el extremo 5' de la SEQ ID NO: 8. En otra modalidad, la invención proporciona una molécula de ADN que comprende la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 y que comprende adicionalmente la secuencia de codificación BBX32. En algunas modalidades, la
5 secuencia de codificación BBX32 está unida operativa o genéticamente a la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2. En otras modalidades, la secuencia de codificación BBX32 está flanqueada por la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2.

La invención también proporciona moléculas de ADN útiles como cebadores y
10 sondas que diagnostican el evento. Se proporcionan plantas, células, partes de plantas, productos básicos, progenie y semillas que comprenden estas moléculas.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporcionan composiciones y métodos para detectar la presencia de la región de inserción del transgen/genómica de
15 una planta de soja novedosa que comprende MON87712. Se proporcionan secuencias de ADN que comprenden al menos una secuencia de unión de MON87712 que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1 (que corresponde a las posiciones 3495 hasta 3516 de la SEQ ID NO: 6, Figura 1 [F]), SEQ ID NO: 2 (que corresponde a las posiciones 5509 hasta 5530 de la SEQ ID NO: 6, Figura 1 [F]), SEQ ID NO: 7 (que corresponde a las
20 posiciones 3456 hasta 3555 de la SEQ ID NO: 6), SEQ ID NO: 8 (que corresponde a las posiciones 5470 hasta 5569 de la SEQ ID NO: 6), y complementos de estas; donde una secuencia de unión es una secuencia de nucleótidos que abarca el punto en el que el ADN heterólogo insertado en el genoma se une al ADN genómico de la célula de soja y la
25 detección de esta secuencia en una muestra biológica que contiene ADN de soja diagnostica la presencia del evento de soja de ADN MON87712 en dicha muestra (Figura 1). Un aspecto de la presente invención es un evento de soja MON87712 y una semilla de soja que comprende estas moléculas de ADN.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporcionan dos moléculas de ADN para su uso en un método de detección de ADN, donde las moléculas de ADN funcionan como cebadores de ADN cuando se utilizan juntas en una reacción de amplificación con un molde derivado de un evento MON87712 para producir un amplicón que diagnostica el evento de ADN MON87712 en una muestra. En una modalidad, una primera y una segunda molécula de ADN comprenden una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de longitud suficiente de nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 6, o un complemento de la misma.

10 En otra modalidad, la primera molécula de ADN comprende un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de longitud suficiente de polinucleótido consecutivo de cualquier porción de la región transgénica de la molécula de ADN de la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 5 y la segunda molécula de ADN comprende un polinucleótido de longitud similar de cualquier porción de una región de ADN genómico de soja flanqueante de la
15 SEQ ID NO: 3. Cualquier amplicón producido por los cebadores de ADN homólogos o complementarios a cualquier porción de la SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 5, y cualquier amplicón que comprende la SEQ ID NO: 1 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 es un aspecto de la invención.

20 De acuerdo con otro aspecto de la invención, la primera molécula de ADN comprende un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de longitud suficiente de polinucleótido consecutivo de cualquier porción de la región transgénica de la molécula de ADN de la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 5 y la segunda molécula de ADN comprende un polinucleótido de longitud similar de cualquier porción de un ADN
25 genómico de soja flanqueante 3' de la SEQ ID NO: 4. Cualquier amplicón producido por los cebadores de ADN homólogos o complementarios a cualquier porción de la SEQ ID

NO: 4 y SEQ ID NO: 5, y cualquier amplicón que comprende la SEQ ID NO: 2 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8 es un aspecto de la invención.

La invención proporciona métodos, composiciones, y kits útiles para detectar la presencia de ADN derivado del evento de soja MON87712. Determinados métodos comprenden (a) poner en contacto una muestra que comprende ADN con un set de cebadores que al usarse en una reacción de amplificación de ácido nucleico con ADN genómico de soja que comprende el evento MON87712 produce un amplicón que diagnostica el evento; (b) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico produciendo así el amplicón; y (c) detectar el amplicón, donde dicho amplicón comprende la SEQ ID NO: 1 y/o la SEQ ID NO: 2, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. La invención también proporciona un método para detectar el evento mediante (a) poner en contacto una muestra que comprende ADN con una sonda que al usarse en una reacción de hibridación con ADN genómico del evento que hibrida a una molécula de ADN específica para el evento; (b) someter la muestra y la sonda a condiciones de hibridación severas; y (c) detectar la hibridación de la sonda a la molécula de ADN. También se proporcionan kits que comprenden los métodos y las composiciones de la invención útiles para detectar la presencia de ADN derivado del evento.

20

Otro aspecto de la invención es un método para determinar la cigosidad de un genoma de planta de soja que comprende un ADN del evento de soja MON87712 en una muestra que comprende: a) poner en contacto la muestra con tres cebadores diferentes que i) al usarse juntos en una reacción de amplificación de ácido nucleico con el ADN del evento de soja MON87712 produce un primer amplicón que diagnostica el evento de soja MON87712; y ii) al usarse juntos en una en una reacción de amplificación de ácido nucleico con ADN genómico de soja distinto del ADN del MON87712 produce un segundo

25

amplicón que diagnostica el ADN genómico de tipo salvaje de soja diferente del ADN del evento MON87712; b) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico; y c) detectar dicho primer amplicón y dicho segundo amplicón, donde la presencia de dicho primer y segundo amplicón diagnostica un genoma heterocigótico en dicha muestra, y
5 donde la presencia de solamente dicho primer amplicón diagnostica un genoma homocigótico en dicha muestra. En una modalidad, los cebadores comprenden la SEQ ID NO: 10, la SEQ ID NO: 11 o 15, y la SEQ ID NO: 13.

En una modalidad, el método para determinar la cigosidad de una soja
10 comprende el evento MON87712, comprende (a) poner en contacto la muestra que comprende el ADN de la soja con un set de cebadores de la SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 o la SEQ ID NO: 15, la SEQ ID NO: 13, y el set de sondas etiquetado como 6FAMTM de la SEQ ID NO: 12 y etiquetado como VICTM de la SEQ ID NO: 14 que al usarse en una reacción de amplificación de ácido nucleico con ADN genómico de soja que
15 comprende el evento MON87712 produce un primer amplicón, que libera una señal fluorescente de la combinación de cebadores de la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 11 o 15 y la sonda etiquetada como 6FAMTM (SEQ ID NO: 12) que diagnostica el evento de soja MON87712; (b) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico, produciendo así el primer amplicón; y (c) detectar dicho primer amplicón; y (d) poner en contacto la
20 muestra que comprende el ADN de la soja con el set de cebadores, SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 13, y la sonda etiquetada como VICTM de la SEQ ID NO: 14) que al usarse en una reacción de amplificación de ácido nucleico con ADN genómico de las plantas de soja produce un segundo amplicón, liberando una señal fluorescente que diagnostica el ADN genómico de soja de tipo salvaje homólogo a la región genómica de la soja de una
25 inserción transgénica identificada como evento de soja MON87712; (e) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico; produciendo así el segundo amplicón; y (f) detectar dicho segundo amplicón; y (g) comparar el primer y el segundo amplicón en una

muestra, donde la presencia de ambos amplicones indica que la muestra es heterocigótica para la inserción transgénica.

La invención también proporciona un método para producir una planta de soja con rendimiento aumentado que comprende: (a) autofecundar una planta de soja que comprende MON87712, produciendo así una semilla; (b) cultivar dicha semilla para producir una pluralidad de plantas de progenie; y (c) seleccionar una planta de progenie que comprende MON87712 o una planta de progenie con rendimiento aumentado. Otro aspecto de la invención proporciona un método para producir una planta de soja con rendimiento aumentado que comprende: (a) cruzar una planta de soja que comprende MON87712 con una segunda planta de soja, produciendo así una semilla; (b) cultivar dicha semilla para producir una pluralidad de plantas de progenie; y (c) seleccionar una planta de progenie que comprende MON87712 o una planta de progenie con rendimiento aumentado.

15

En aun otro aspecto, la invención proporciona un método de rendimiento aumentado en un cultivo que comprende a) plantar una semilla o planta cultivada que comprende el evento MON87712, y b) cultivar dicha semilla o planta cultivada.

20

Los anteriores aspectos y otros de la invención serán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25

Figura 1. Representación en diagrama del inserto transgénico en el genoma de una soja que comprende en evento MON87712; [A] corresponde a las posiciones relativas de la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 7, ambas forman la unión entre la porción 5' del

inserto transgénico y la porción 3' del ADN genómico flanqueante; [B] corresponde a las posiciones relativas de la SEQ ID NO: 2 y la SEQ ID NO: 8, ambas forman la unión entre la porción 3' del inserto transgénico y la porción 5' del ADN genómico flanqueante; [C] corresponde a la posición relativa de la SEQ ID NO: 3, que contiene la región flanqueante genómica de soja y una porción del extremo 5' designado arbitrariamente del inserto de ADN transgénico; [D] corresponde a la posición relativa de la SEQ ID NO: 4, que contiene la región flanqueante del genoma de soja y una porción del extremo 3' designado arbitrariamente del inserto de ADN transgénico; [E] representa la SEQ ID NO 5, que es la secuencia del inserto de ADN transgénico que incluye el casete de expresión BBX32 integrado a un genoma de una planta de soja que comprende el evento MON87712; [F] representa la SEQ ID NO: 6, que es la secuencia contigua que comprende la secuencia genómica flanqueante 5', el inserto transgénico y la secuencia genómica flanqueante 3', que comprende tal como se representa en la figura de izquierda a derecha, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 4, donde las SEQ ID NO: 1 y 7, y las SEQ ID NO: 2 y 8 están incorporadas tal como se establece anteriormente, ya que estas secuencias están presentes en el genoma de una planta que comprende el evento MON87712; [G] y [H] representan cebadores directos (SEQ ID NO: 11 o la SEQ ID NO: 15 y la SEQ ID NO: 13) para PCR TAQMAN® de punto final de cigosidad específica del evento para la identificación de MON87712 y el alelo de tipo salvaje, respectivamente; [I] representa un cebador inverso (SEQ ID NO: 10) para la identificación de MON87712 y alelos de tipo salvaje; [J] y [K] representan sondas (SEQ ID NO: 12 y la SEQ ID NO: 14) usadas para PCR TAQMAN® de punto final de cigosidad específica del evento para la identificación de MON87712 y el alelo de tipo salvaje, respectivamente. Las flechas indican la dirección de 5' a 3'. LB: se refiere al borde izquierdo de T-DNA; RB: se refiere al borde derecho de T-DNA.

Figura 2. Metaanálisis de los datos de rendimiento para 9 eventos transgénicos de 4 temporadas de campo de pruebas de campo en Estados Unidos o América del Sur, que muestra el evento 1 que comprende ADN de MON87712 con el rendimiento más alto. Panel A: aumentos en el rendimiento promedio de los eventos transgénicos en comparación con sus isólineas (bushel/acre). Panel B: aumentos en el rendimiento promedio de los eventos transgénicos en comparación con el control de tipo salvaje (bushel/acre). Los números arriba de cada barra representan el porcentaje de aumento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS

10

SEQ ID NO: 1 – Una secuencia de nucleótidos de 22 bp que representa la unión del borde izquierdo entre el ADN genómico de soja y el inserto de ADN integrado. Esta secuencia corresponde a las posiciones 3495 a 3516 de la SEQ ID NO: 6, y a las posiciones 3495 a 3516 de la SEQ ID NO: 3 ([C] de la Figura 1). Además, la SEQ ID NO: 1 corresponde al borde izquierdo integrado del casete de expresión en las posiciones 1 a 11 de la SEQ ID NO: 5 ([E] de la Figura 1).

20

SEQ ID NO: 2 – Una secuencia de nucleótidos de 22 bp que representa la unión del borde derecho entre el inserto de ADN integrado y el ADN genómico de soja. Esta secuencia corresponde a las posiciones 5509 a 5530 de la SEQ ID NO: 6, y a las posiciones 90 a 111 de la SEQ ID NO: 4 (D] de la Figura 1). Además, la SEQ ID NO: 2 corresponde a las posiciones 2004 a 2014 de la SEQ ID NO: 5 ([E] de la Figura 1).

25

SEQ ID NO: 3 – Una secuencia de nucleótidos de 3605 bp que incluye la secuencia genómica de soja 5' (3505 bp) que flanquea el ADN insertado del evento MON87712 más una región (100 bp) del ADN integrado. Esta secuencia corresponde a las posiciones 1 a 3605 de la SEQ ID NO: 6. Se cree que la secuencia en la posición 3451

a 3463 de la SEQ ID NO: 3 puede contener entre 13 y 100 residuos c individuales seguidos.

5 SEQ ID NO: 4 – Una secuencia de nucleótidos de 2065 bp que incluye la secuencia genómica de soja 3' (1965 bp) que flanquea el ADN insertado del evento MON87712 más una región (100 bp) del ADN integrado. Esta secuencia corresponde a las posiciones 5420 a 7484 de la SEQ ID NO: 6.

10 SEQ ID NO: 5 – La secuencia del casete de expresión integrado que imparte rendimiento aumentado, incluidas las secuencias de borde derecho e izquierdo luego de la integración. SEQ ID NO: 5 corresponde a las posiciones de nucleótidos 3506 a 5519 de la SEQ ID NO: 6.

15 SEQ ID NO: 6 – Una secuencia de nucleótidos de 7484 bp que representa contig [sic] de la secuencia 5' que flanquea el ADN insertado de MON87712 (SEQ ID NO: 3), la secuencia del inserto de ADN integrado (SEQ ID NO: 5) y la secuencia 3' que flanquea el ADN insertado de MON87712 (SEQ ID NO: 4). Se cree que la secuencia en la posición 3451 a 3463 de la SEQ ID NO: 6 puede contener entre 13 y 100 residuos c individuales seguidos.

20

SEQ ID NO: 7: Una secuencia de nucleótidos de 100 bp que representa la unión del borde izquierdo entre el ADN genómico de soja y el inserto de ADN integrado. Esta secuencia corresponde a las posiciones 3456 a 3555 de la SEQ ID NO: 6, y a las posiciones 3456 a 3555 de la SEQ ID NO: 3 ([C] de la Figura 1). Además, la SEQ ID NO: 25 7 corresponde al borde izquierdo integrado del casete de expresión en las posiciones 1 a 50 de la SEQ ID NO: 5 ([E] de la Figura 1).

SEQ ID NO: 8 – Una secuencia de nucleótidos de 100 bp que representa la unión del borde derecho entre el inserto de ADN integrado y el ADN genómico de soja. Esta secuencia corresponde a las posiciones 5470 a 5569 de la SEQ ID NO: 6, y a las posiciones 51 a 150 de la SEQ ID NO: 4 (D] de la Figura 1). Además, la SEQ ID NO: 8
5 corresponde a las posiciones 1965 a 2014 de la SEQ ID NO: 5 ([E] de la Figura 1).

SEQ ID NO: 9 – La secuencia de nucleótidos del casete de expresión BBX32 de pMON83132.

10 SEQ ID NO: 10 – La secuencia de cebador inverso usada en el ensayo de PCR TAQMAN de punto final de cigosidad específica del evento para la identificación tanto del alelo/ADN de MON87712 como para el alelo/ADN de tipo salvaje. SEQ ID NO: 10 corresponde a las posiciones 5517 a 5546 de la SEQ ID NO: 6. La producción de un amplicón de PCR usando la combinación de los cebadores de la SEQ ID NO: 10 y la SEQ
15 ID NO: 11 o 15 es un resultado positivo para la presencia del evento MON87712.

SEQ ID NO: 11 – La secuencia de cebador directo usada para identificar el evento MON87712 y la cigosidad del evento MON87712. SEQ ID NO: 11 corresponde a las posiciones 5435 a 5458 de la SEQ ID NO: 6.

20

SEQ ID NO: 12 – La secuencia de sonda usada para identificar el evento MON87712 y la cigosidad del evento MON87712. SEQ ID NO: 12 es un oligonucleótido sintético etiquetado como 6FAMTM. La liberación de un señal fluorescente en una reacción de amplificación usando los cebadores de la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 11
25 o 15 en combinación con la sonda etiquetada como 6FAMTM en un ensayo TAQMAN® diagnostica el evento MON87712.

SEQ ID NO: 13 – La secuencia de cebador directo usada en PCR TAQMAN® de punto final de cigosidad específica del evento para la identificación del alelo/ADN de tipo salvaje. La producción de un amplicón de PCR usando los cebadores de la SEQ ID NO: 13 y la SEQ ID NO: 10 diagnostica el ADN de tipo salvaje.

5

SEQ ID NO: 14 – La secuencia de sonda usada para determinar la presencia del alelo/ADN de tipo salvaje de soja. SEQ ID NO: 14 es un oligonucleótido sintético etiquetado como VICTM. La liberación de un señal fluorescente en una reacción de amplificación usando los cebadores de la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 13 en una combinación con la sonda etiquetada como VICTM en un ensayo TAQMAN® diagnostica el alelo de tipo salvaje en un ensayo de cigosidad.

10

SEQ ID NO: 15 – Una secuencia de cebador directo alternativa usada para identificar el evento MON87712 y la cigosidad del evento MON87712. SEQ ID NO: 15 corresponde a las posiciones 5432 a 5455 de la SEQ ID NO: 6.

15

SEQ ID NO: 16 – La secuencia del cebador SQ3983 usada para identificar el evento MON87712. La producción de un amplicón de PCR de 97 bp usando la combinación de los cebadores SQ3983 y SQ22982 (SEQ ID NO: 17) es un resultado positivo para la presencia del evento MON87712.

20

SEQ ID NO: 17 – La secuencia del cebador SQ22982 usada para identificar el evento MON87712.

25

SEQ ID NO: 18 – La secuencia de la sonda PB10453 usada para identificar el evento MON87712. Es un oligonucleótido sintético etiquetado como 6FAMTM.

SEQ ID NO: 19 – La secuencia del cebador SQ1532 usada como un control interno en los ensayos TAQMAN® de punto final.

5 SEQ ID NO: 20 – La secuencia del cebador SQ1533 usada como un control interno en los ensayos TAQMAN® de punto final.

SEQ ID NO: 21 – La secuencia de un sonda de oligonucleótido sintética etiquetada como VICTM PB0359 usada como un control interno en los ensayos TAQMAN® de punto final.

10

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Las siguientes definiciones y métodos se proporcionan para definir mejor la presente invención y para guiar a los expertos en la técnica en la práctica de la presente invención. Salvo que se indique lo contrario, los términos se entenderán de acuerdo con el uso convencional de los expertos en la técnica en la técnica correspondiente. Las definiciones de términos comunes en la biología molecular también se pueden encontrar en Rieger et al., Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5ª edición, Springer-Verlag: Nueva York, 1991; y Lewin, Genes V, Oxford University Press: Nueva York, 1994.

20

La presente invención proporciona el evento de soja transgénico MON87712. El término "evento" tal como se usa en la presente se refiere a las moléculas de ADN producidas como resultado de insertar ADN transgénico en un genoma de planta en una ubicación particular en un cromosoma. El evento MON87712 se refiere a las moléculas de ADN producidas como resultado de la inserción del ADN transgénico que tiene una secuencia proporcionada en la presente como la SEQ ID NO: 5 en una ubicación cromosómica particular en el genoma Glycinemax. Las plantas, semillas, progenie, células

25

y partes de plantas de estos que comprenden el evento MON87712 también se proporcionan en la presente invención. Se depositó una muestra de semilla que comprende MON87712 en American Type Culture Collection (ATCC) con el número de acceso PTA-10296 el 20 de agosto de 2009. Las plantas que comprenden MON87712
5 exhiben un rendimiento aumentado.

Tal como se usa en la presente, el término "soja" se refiere a *Glycinemaxe* incluye todas las variedades vegetales que se pueden reproducir con soja, que incluye especies salvajes de soja así como aquellas plantas que pertenecen a *Glycine soja* que
10 permite la reproducción entre especies.

Un "evento" transgénico se produce por la formación de células de plantas con ADN heterólogo, esto es, una construcción de ácido nucleico que comprende un transgen de interés, la regeneración de una población de plantas transgénicas transformadas
15 independientemente que resulta de la inserción del transgen en un genoma de la planta, y la selección de una planta particular con características moleculares deseadas, tal como la inserción de una copia simple del transgen en una ubicación de genoma particular, la integridad del ADN transgénico y un rasgo mejorado tal como un rendimiento aumentado. Una planta que comprende el evento se puede referir al transformado original que incluye
20 el transgen insertado en la ubicación particular en el genoma de la planta. Una planta que comprende el evento también se puede referir a la progenie del transformado original que retiene el transgen en la misma ubicación particular en el genoma de la planta. Dicha progenie se puede producir mediante autofecundación o mediante cruzamiento sexual entre el transformado o su progenie, y otra planta. Dicha otra planta puede ser una planta
25 transgénica que comprende el mismo transgen u otro; o puede ser una planta no transgénica, tal como una de variedad diferente. La progenie resultante puede ser homocigótica o heterocigótica para el ADN del evento MON87712 (ADN insertado y ADN

flanqueante). Aun después de repetir el retrocruzamiento a un progenitor recurrente, el ADN del evento del progenitor transformado está presente en la progenie del cruzamiento en la misma ubicación genómica.

5 Una molécula de ADN que comprende el evento MON87712 se refiere a una molécula de ADN que comprende al menos una porción del ADN transgénico insertado (proporcionado como SEQ ID NO: 5) y al menos una porción del ADN genómico flanqueante inmediatamente contiguo al ADN insertado. Como tal, una molécula de ADN que comprende el evento MON87712 tiene una secuencia de nucleótidos que representa
10 al menos una porción del inserto de ADN transgénico y al menos una porción de la región particular del genoma de la planta en la cual se insertó el ADN transgénico. La disposición del ADN insertado en el evento MON87712 con relación al genoma de la planta que lo rodea es específica y única del evento MON87712 y como tal la secuencia de nucleótidos de dicha molécula de ADN diagnostica e identifica el evento MON87712. Se proporcionan
15 ejemplos de la secuencia de dicha molécula de ADN en la presente como la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 8 y la SEQ ID NO: 6. Dicha molécula de ADN también es una parte integral del cromosoma de una planta que comprende el evento MON87712 y se puede pasar en progenies de la planta.

20

Tal como se usa en la presente, una “molécula de ADN recombinante” es una molécula de ADN que comprende una combinación de moléculas de ADN que no se encuentran juntos en estado natural y es el resultado de la intervención humana, por ej., una molécula de ADN que comprende una combinación de al menos dos moléculas de
25 ADN heterólogas entre sí, y/o una molécula de ADN que está sintetizada artificialmente y comprende una secuencia de polinucleótidos que se desvía de la secuencia de polinucleótidos que existiría normalmente en la naturaleza, y/o una molécula de ADN que

comprende un transgen incorporado artificialmente en un ADN genómico de una célula hospedadora y el ADN flanqueante asociado del genoma de la célula hospedadora. Un ejemplo de una molécula de ADN recombinante es una molécula de ADN descrita en la presente que resulta de la inserción del transgen en el genoma Glycinemax que puede

5 resultar finalmente en la expresión de una molécula de proteína y/o ARN recombinante en ese organismo. La secuencia de nucleótidos o cualquier fragmento derivado de esta solo se consideraría una molécula de ADN recombinante si la molécula de ADN se puede extraer de células o tejidos u homogeneizado de una planta o semilla o tejido vegetal; o se puede producir como un amplicón a partir del ARN o ADN extraído de las células o tejidos

10 u homogeneizados de una planta o semilla o tejido vegetal, cualquiera de los cuales deriva de dichos materiales derivados de una planta que comprende el evento MON87712. En este sentido, las secuencias de unión tal como se establece en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 7 y la SEQ ID NO: 8, y las secuencias de nucleótidos derivadas del evento MON87712 que también contienen estas secuencias de

15 unión, se consideran ADN recombinante, ya sea que estas secuencias están presentes dentro del genoma de las células que comprenden el evento MON87712 o presentes en cantidades detectables en tejidos, progenie, muestras biológicas o productos básicos derivados de plantas que comprenden el evento MON87712. Tal como se usa en la presente, el término "transgen" se refiere a una molécula de polinucleótido incorporada

20 artificialmente en un genoma de célula hospedadora. Dicho transgen puede ser heterólogo de la célula hospedadora. El término "planta transgénica" se refiere a una planta que comprende dicho transgen. Una "planta transgénica" incluye una planta, parte de una planta, una célula o semilla de planta cuyo genoma fue alterado por la integración estable del ADN recombinante. Una planta transgénica incluye una planta regenerada a

25 partir de una célula de planta transformada originalmente y plantas transgénicas de progenie a partir de generaciones o cruzamientos posteriores de una planta transformada. Como resultado de dicha alteración genómica, la planta transgénica es claramente

diferente de la planta de tipo salvaje relacionada. Un ejemplo de una planta transgénica es una planta descrita en la presente que comprende el evento MON87712.

5 Tal como se usa en la presente, el término "heterólogo" se refiere a una secuencia que no está normalmente presente en un genoma hospedador dado en el contexto genético donde se encuentra la secuencia actualmente. En este sentido, la secuencia puede ser natural para el genoma hospedador, pero se redispuso con relación a otras secuencias dentro de la secuencia hospedadora.

10 La presente invención proporciona moléculas de ADN y sus secuencias de nucleótidos correspondientes. Tal como se usa en la presente, los términos "secuencia de ADN", "secuencia de nucleótidos" y "secuencia de polinucleótidos" se refieren a la secuencia de nucleótidos de una molécula de ADN, normalmente presentada desde el extremo 5' (corriente arriba) al extremo 3' (corriente abajo). La nomenclatura usada en la
15 presente es la necesaria según el Título 37 del Código de Regulaciones Federales de Estados Unidos § 1.822 y establecida en las tablas en WIPO Standard ST.25 (1998), Apéndice 2, Tablas 1 y 3. La presente invención se describe con relación a solamente una cadena de las dos cadenas de la secuencia de nucleótidos que se proporcionan en el evento transgénico MON87712. Por lo tanto, por implicación y derivación, las secuencias
20 complementarias, también referidas en la técnica como complemento completo o secuencias complementarias inversas, se encuentran dentro del alcance de la presente invención y por lo tanto pretenden encontrarse dentro del alcance de la materia reivindicada.

25 La secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de nucleótidos completa del ADN transgénico insertado y segmentos sustanciales del ADN genómico Glycinemax que flanquea cualquier extremo del ADN transgénico insertado se

proporciona en la presente como la SEQ ID NO: 6. Una subsección de este ADN transgénico insertado proporcionado como la SEQ ID NO: 5. La secuencia de nucleótidos del ADN genómico que flanquea el extremo 5' del ADN transgénico insertado y una porción del extremo 5' del ADN insertado se proporciona en la presente como la SEQ ID

5 NO: 3. La secuencia de nucleótidos del ADN genómico que flanquea el extremo 3' del ADN transgénico insertado y una porción del extremo 3' del ADN insertado se proporciona en la presente como la SEQ ID NO: 4. La región que se extiende en la ubicación donde el ADN transgénico se conecta y está unido al ADN genómico se refiere en la presente como la unión. Una "secuencia de unión" o "región de unión" se refiere a una secuencia

10 de ADN y/o molécula de ADN correspondiente que se extiende en el ADN transgénico insertado y el ADN genómico transgénico flanqueante adyacente. Los ejemplos de una secuencia de unión del evento MON87712 se proporcionan en la presente como la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 7 y la SEQ ID NO: 8. La identificación de una de estas secuencias de unión en una molécula de nucleótido derivada de una planta o

15 semilla de soja es concluyente que el ADN se obtuvo del evento MON87712 y diagnostica la presencia de ADN del evento MON87712. SEQ ID NO: 1 es una secuencia de nucleótidos de 22 bp que se extiende en la unión entre el ADN genómico y el extremo 5' del ADN insertado. SEQ ID NO: 7 es una secuencia de nucleótidos de 100 bp que se extiende en la unión entre el ADN genómico y el extremo 5' del ADN insertado. SEQ ID

20 NO: 2 es una secuencia de nucleótidos de 22 bp que se extiende en la unión entre el ADN genómico y el extremo 3' del ADN insertado. SEQ ID NO: 8 es una secuencia de nucleótidos de 100 bp que se extiende en la unión entre el ADN genómico y el extremo 3' del ADN insertado. Cualquier segmento de ADN derivado del evento transgénico MON87712 que incluye los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1 o 51 nucleótidos

25 consecutivos, 55 nucleótidos consecutivos, 60 nucleótidos consecutivos, 65 nucleótidos consecutivos, 70 nucleótidos consecutivos, 75 nucleótidos consecutivos, 80 nucleótidos consecutivos, 85 nucleótidos consecutivos, 90 nucleótidos consecutivos, 95 nucleótidos

consecutivos, o todos los nucleótidos de la SEQ ID NO: 7 está dentro del alcance de la presente invención. Cualquier segmento de ADN derivado del evento transgénico MON87712 que incluye los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2 o 51 nucleótidos consecutivos, 55 nucleótidos consecutivos, 60 nucleótidos consecutivos, 65 nucleótidos consecutivos, 70 nucleótidos consecutivos, 75 nucleótidos consecutivos, 80 nucleótidos consecutivos, 85 nucleótidos consecutivos, 90 nucleótidos consecutivos, 95 nucleótidos consecutivos, o todos los nucleótidos de la SEQ ID NO: 8 está dentro del alcance de la presente invención. Además, cualquier molécula de polinucleótido que comprende una secuencia complementaria de cualquiera de las secuencias descritas dentro de este párrafo se encuentra dentro del alcance de la presente invención. La Figura 1 es una ilustración del inserto de ADN transgénico en el genoma de una soja que comprende en evento MON87712; y las posiciones relativas de las SEQ ID NO: 1-8 dispuestas 5' a 3'. La presente invención también proporciona una molécula de ácido nucleico que comprende un polinucleótido que tiene una secuencia que es al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la longitud completa de la SEQ ID NO: 6.

La presente invención también proporciona ejemplos de moléculas de ADN que se pueden usar ya sea como cebadores o sondas para diagnosticar la presencia de ADN derivado del evento MON87712 en una muestra. Dichos cebadores o sondas son específicos para una secuencia de ácido nucleico diana y como tal son útiles en la identificación de la secuencia de ácido nucleico del evento MON87712 mediante métodos de la invención descritos en la presente.

Una "sonda" es un ácido nucleico aislado al que se une una etiqueta detectable o una molécula reportera, por ej., un isótopo radioactivo, ligando, agente quimioluminiscente o enzima. Dicha sonda es complementaria de una cadena de ácido nucleico diana en el caso de la presente invención, de una cadena de ADN genómico de una soja que

comprende el evento MON87712 ya sea de una planta de soja o de una muestra que comprende ADN del evento. Las sondas de acuerdo con la presente invención incluyen no solo ácidos desoxirribonucleicos o ribonucleicos sino también poliamidas y otros materiales de sonda que se unen específicamente a una secuencia de ADN diana y la
5 detección de dicha unión se puede usar para diagnosticar/determinar/confirmar la presencia de esa secuencia de ADN diana en una muestra particular.

Un "cebador" es típicamente un polinucleótido aislado que está diseñado para su uso en métodos de templado o hibridación específicos para hibridarse a una
10 cadena de ADN diana complementaria para formar un híbrido entre el cebador y la cadena de ADN diana y luego se extiende a lo largo de la cadena de ADN diana por una polimerasa, por ej., una polimerasa de ADN. Se puede usar un par de cebadores con ADN molde, tal como una muestra de ADN genómico Glycinemax en una amplificación
15 térmica o isotérmica tal como una reacción de cadena de polimerasa (PCR) u otros métodos de amplificación de ácido nucleico, para producir un amplicón donde el amplicón producido a partir de dicha reacción tendría una secuencia de ADN correspondiente a la secuencia del ADN molde ubicada entre los dos sitios donde los cebadores se hibridaron al molde. Tal como se usa en la presente, un "amplicón" es una parte o fragmento de ADN
20 que fue sintetizado usando técnicas de amplificación, esto es, el producto de una reacción de amplificación. En una modalidad de la invención, un amplicón que diagnostica el evento MON87712 comprende una secuencia que no se encuentra naturalmente en el genoma Glycinemax. Los pares de cebadores, tal como se usa en la presente invención, pretenden referirse a dos cebadores que se unen a cadenas opuestas de un segmento de nucleótido de cadena doble con el fin de amplificar linealmente el segmento de
25 polinucleótido entre las posiciones dirigidas a la unión por los miembros individuales del par de cebadores, típicamente en una reacción de amplificación térmica o isotérmica u otros métodos de amplificación de ácido nucleico. Se proporcionan ejemplos de moléculas

de ADN útiles como cebadores como las SEQ ID NO: 10-11, la SEQ ID NO: 13 y la SEQ ID NO: 15. El par de cebadores se proporciona como la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 11 o 15 se puede usar como una primera molécula de ADN y una segunda molécula de ADN que es diferente de la primera molécula de ADN, y ambas moléculas tienen longitud suficiente de nucleótidos consecutivos de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5, o la SEQ ID NO: 6 o los complementos de estas para funcionar como cebadores de ADN, de forma tal que cuando se usan juntos en una reacción de amplificación con ADN molde derivado del evento MON87712, se produciría un amplicón que es específico y único del evento MON87712. El uso del término "amplicón" excluye específicamente los cebadores-dímeros que se pueden formar en la reacción de amplificación de ADN.

Las sondas y cebadores de acuerdo con la presente invención pueden tener una identidad de secuencia completa a la secuencia diana, aunque los cebadores y sondas que difieren de la secuencia diana que retienen la capacidad de hibridar preferentemente a las secuencias diana se pueden diseñar mediante métodos convencionales. Para que una molécula de ácido nucleico sirva como cebador o sonda solo necesita ser suficientemente complementario en secuencia para ser capaz de formar una estructura de cadena doble estable en concentraciones particulares de solvente y sal empleadas. Cualquier método de hibridación o amplificación de ácido nucleico se puede usar para identificar la presencia de ADN transgénico del evento MON87712 en una muestra. Las sondas y los cebadores tienen por lo general al menos alrededor de 11 nucleótidos, al menos alrededor de 18 nucleótidos, al menos alrededor de 24 nucleótidos, y al menos alrededor de 30 nucleótidos o más de longitud. Dichas sondas y cebadores se hibridan específicamente a una secuencia diana en condiciones de hibridación de alta severidad.

Los métodos para preparar y usar sondas y cebadores se describen, por ejemplo, en Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., vol. 1-3, ed. Sambrook et ál., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 (en lo sucesivo, "Sambrook et ál., 1989"); Current Protocols in Molecular Biology, ed. Ausubel et ál., Greene Publishing y Wiley-Interscience, Nueva York, 1992 (con actualizaciones periódicas) (en lo sucesivo, "Ausubel et ál., 1992"); e Innis et ál., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press: San Diego, 1990. Los pares del cebador de PCR pueden derivar de una secuencia conocida, por ejemplo, usando programas informáticos destinados para ese fin tal como Primer (Versión 0.5, © 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA).

Los cebadores y las sondas basadas en las secuencias de ADN flanqueante y de inserto descritos en la presente se pueden usar para confirmar las secuencias descritas por métodos conocidos, por ej., volviendo a clonar y secuenciar dichas secuencias.

15

Las sondas y los cebadores de ácido nucleico de la presente invención se hibridan en condiciones severas con una secuencia de ADN diana. Cualquier método de hibridación o amplificación de ácido nucleico se puede usar para identificar la presencia de ADN de un evento transgénico en una muestra. Las moléculas de ácido nucleico o fragmentos de estas son capaces de hibridarse específicamente a otras moléculas de ácido nucleico en determinadas circunstancias. Tal como se usa en la presente, se dice que dos moléculas de ácido nucleico son capaces de hibridarse específicamente entre sí si dos de las moléculas son capaces de formar una estructura antiparalela, de cadena doble de ácido nucleico. Se dice que una molécula de ácido nucleico es el "complemento" de otra molécula de ácido nucleico si exhiben complementariedad completa. Tal como se usa en la presente, se dice que las moléculas exhiben "complementariedad completa" cuando cada nucleótido de una de las moléculas es complementaria a un nucleótido de la

25

otra. Se dice que dos moléculas son "mínimamente complementarias" si se pueden hibridar entre sí con estabilidad suficiente para permitirle permanecer templados entre sí en condiciones de al menos "baja severidad". De manera similar, se dice que las moléculas son "complementarias" si se pueden hibridar entre sí con estabilidad suficiente para permitirle permanecer templados entre sí en condiciones de "alta severidad". Las condiciones de severidad se describen en Sambrook et ál., 1989, y en Haymes et ál., In: Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach, IRL Press, Washington, DC (1985). Por lo tanto, desviaciones de la complementariedad completa son permisibles, siempre que dichas desviaciones no impidan completamente la capacidad de las moléculas de formar una estructura de cadena doble. Para que una molécula de ácido nucleico sirva como cebador o sonda solo necesita ser suficientemente complementario en secuencia para ser capaz de formar una estructura de cadena doble estable en concentraciones particulares de solvente y sal empleadas.

15 Tal como se usa en la presente, la secuencia sustancialmente homóloga es una secuencia de ácido nucleico que se hibridará específicamente al complemento de una secuencia de ácido nucleico a la que se compara en condiciones de alta severidad. Las condiciones de severidad apropiadas que promueven la hibridación de ADN, por ejemplo, 6.0 x cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC) a alrededor de 45°C, seguido de un lavado de 2.0 x SSC a 50°C, son conocidas por los expertos en la técnica o se pueden encontrar en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Por ejemplo, la concentración de sal en el paso de lavado se puede seleccionar de una baja severidad de alrededor de 2.0 x SSC a 50°C a una alta severidad de alrededor de 0.2 x SSC a 50°C. Además, la temperatura en el paso de lavado se puede aumentar a partir de condiciones de baja severidad a temperatura ambiente, alrededor de 22°C, a condiciones de alta severidad a alrededor de 65°C. Tanto la temperatura y la sal pueden variar o tanto la concentración de temperatura como la de sal se pueden mantener constantes mientras

otra variable cambia. En una modalidad, un ácido nucleico de la presente invención se hibridará específicamente con uno o más moléculas de ácido nucleico establecidas en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 7 y la SEQ ID NO: 8, o complementos o fragmentos de estos en condiciones de alta severidad. La hibridación de la sonda a la
5 molécula de ADN diana se puede detectar mediante cualquier cantidad de métodos conocidos por los expertos en la técnica. Estos pueden incluir, de forma no taxativa, etiquetas fluorescentes, etiquetas radioactivas, etiquetas basadas en anticuerpo y etiquetas quimioluminiscentes.

10 Con respecto a la amplificación de una secuencia de ácido nucleico diana (por ej., por PCR) usando un par de cebadores de amplificación particular, "condiciones severas" son condiciones que permiten que el par de cebadores se hibride solo a la secuencia de ácido nucleico diana al que se uniría un cebador que tiene la secuencia de tipo salvaje correspondiente (o su complemento) y preferentemente producen un producto
15 de amplificación único, el amplicón, en una reacción de amplificación de ADN. Los ejemplos de métodos de amplificación de ADN incluyen amplificación de polimerasa recombinasa (RPA) (véase por ejemplo la patente estadounidense N° 7,485,428), amplificación por desplazamiento de cadena (SDA) (véase por ejemplo la patente estadounidense N° 5,455,166 y 5,470,723), Transcription-Mediated Amplification (TMA)
20 (véase por ejemplo, Guatelliet ál., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874–1878 (1990)), Rolling Circle Amplification (RCA) (véase por ejemplo, Fire and Xu, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:4641–4645 (1995); Lui, et ál., J. Am. Chem. Soc. 118:1587–1594 (1996); Lizardi, et ál., Nature Genetics 19:225–232 (1998), Patente estadounidense N° 5,714,320 y 6,235,502)), amplificación dependiente de helicasa (HDA) (véase por ejemplo Vincent et
25 ál., EMBO Reports 5(8): 795–800 (2004); patente estadounidense N° 7,282,328), y amplificación por desplazamiento múltiple (MDA) (véase por ejemplo Dean et. ál., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:5261–5266 (2002)).

El término "específico para (una secuencia diana)" indica que una sonda o cebador se hibrida en condiciones de hibridación severas solo a la secuencia diana en una muestra que comprende la secuencia diana.

5 Tal como se usa en la presente, el término "aislado" se refiere a al menos separar parcialmente una molécula de otras moléculas normalmente asociadas con esta en su estado natural. En una modalidad, el término "aislado" se refiere a una molécula de ADN que está al menos parcialmente separada de los ácidos nucleicos que flanquean normalmente la molécula de ADN en su estado natural. Por lo tanto, las moléculas de
10 ADN fusionadas a secuencias de regulación o codificación con las que no se asocian normalmente, por ejemplo como resultado de técnicas recombinantes, se consideran aisladas en la presente. Dichas moléculas se consideran aisladas aun cuando están integradas al cromosoma de una célula hospedadora o presente en una solución de ácido nucleico con otras moléculas de ADN.

15 Se puede usar cualquier cantidad de métodos conocidos por los expertos en la técnica para aislar y manipular una molécula de ADN, o fragmento de esta, descritos en la presente invención. Por ejemplo la tecnología PCR (reacción en cadena de polimerasa) se puede usar para amplificar una molécula de ADN de partida particular y/o para producir
20 variantes de la molécula original. Las moléculas de ADN, o fragmentos de estas, también se pueden obtener mediante otras técnicas tales como mediante la síntesis directa del fragmento por medios químicos, como se practica comúnmente usando un sintetizador de oligonucleótido automatizado.

25 Sería ventajoso ser capaz de detectar la presencia del ADN transgénico/genómico de una planta particular para poder determinar si la progenie de un cruzamiento sexual contiene el ADN transgénico/genómico de interés. Además, un

método para detectar una planta particular sería de ayuda al cumplir con las regulaciones que requieren la aprobación previa y etiquetado de alimento derivados de plantas de cultivo transgénicas.

La presencia de un transgen se puede detectar mediante cualquier método de
5 detección de ácido nucleico conocido tal como la reacción en cadena de polimerasa (PCR) o hibridación de ADN usando sondas de ácido nucleico. Estos métodos de detección por lo general se enfocan en elementos genéticos usados con frecuencia, tales como promotores, terminadores, genes marcadores, etc. Como resultado, dichos métodos pueden no ser útiles para discriminar entre eventos de transformación diferentes,
10 particularmente aquellos producidos usando la misma construcción de ADN salvo que la secuencia de ADN cromosómico contiguo al ADN insertado ("ADN flanqueante") sea conocida. Se describe un ensayo por PCR específico del evento, por ej., por Tavernier et al. (J. Agric. FoodChem., 53: 3041-3052, 2005) donde se demostró un sistema de rastreo específico del evento para las líneas de maíz transgénico Bt11, Bt176 y GA21 y para el
15 evento de canola GT73. En este estudio, los cebadores y sondas específicos del evento se diseñaron en función de las secuencias de las uniones de genoma/transgen para cada evento. Los métodos de detección de ADN específicos del evento de la planta transgénica también se describieron en la patente estadounidense N° 6,893,826; 6,825,400; 6,740,488; 6,733,974; 6,689,880; 6,900,014 y 6,818,807.

20

Las moléculas de ADN y las secuencias de nucleótidos correspondientes proporcionados en la presente son por lo tanto útiles para, entre otras cosas, identificar el evento MON87712, seleccionar híbridos o variedades de plantas que comprendan el evento MON87712, detectar la presencia de ADN derivado del evento MON87712 en una
25 muestra y monitorear muestras por la presencia/ausencia del evento MON87712 o plantas y partes de plantas que comprenden el evento MON87712.

La presente invención proporciona plantas, progenie, semillas, células de plantas, partes de plantas (tales como polen, óvulo, vaina, flor, tejido del tallo o raíz, fibras y hoja) y productos básicos. Estas plantas, progenie, semillas, células de plantas, partes de plantas y productos básicos contienen una cantidad detectable de un polinucleótido de la presente invención, esto es, tales como un polinucleótido que comprende al menos una de las secuencias proporcionadas como los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. Las plantas, progenie, semillas, células de plantas, partes de plantas y productos básicos de la presente invención también pueden contener uno o más transgenes adicionales. Dicho transgen puede ser cualquier secuencia de nucleótidos que codifica una proteína o molécula de ARN que confiere un rasgo deseado que incluye de modo no taxativo resistencia a insectos aumentada, eficacia del uso de agua o tolerancia a la sequía aumentadas, rendimiento aumentado, eficacia del uso de nitrógeno aumentada o tolerancia aumentada a tensión de nitrógeno tal como suministro de alto o bajo nitrógeno, calidad de semilla aumentada, resistencia a enfermedad aumentada, calidad nutricional mejorada y/o tolerancia a herbicidas aumentada, tal como tolerancia a glifosato o dicamba, donde el rasgo deseado se mide con relación a una planta comparable que carece de transgen adicional.

20

La presente invención proporciona plantas, progenie, semillas, células de plantas, y una parte de planta tal como polen, óvulo, vaina, flor, tejido del tallo o raíz, y hoja derivadas de una planta transgénica que comprende el evento MON87712. Una muestra representativa de semilla que comprende el evento MON87712 se depositó de acuerdo con el Tratado de Budapest con el fin de posibilitar la presente invención. El repositorio seleccionado para recibir el depósito es American Type Culture Collection (ATCC) con domicilio en 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia, EUA, Código postal 20110.

25

El repositorio de ATCC asignó el número de acceso PTA-10296 a la semilla que contiene el evento MON87712.

La presente invención proporciona un microorganismo que comprende una

5 molécula de ADN que tiene una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o la SEQ ID NO: 8 presente en su genoma. Un ejemplo de dicho microorganismo es una célula de planta transgénica. Los microorganismos, tales como una célula de

10 planta transgénica de la presente invención son útiles en muchas aplicaciones industriales, que incluyen de modo no taxativo: (i) uso como herramienta de investigación para investigación científica o búsqueda industrial; (ii) uso en un cultivo para producir carbohidrato endógeno o recombinante, lípido, ácido nucleico, enzimas o productos de proteína o pequeñas moléculas que se pueden usar para investigaciones científicas

15 posteriores o como productos industriales; y (iii) uso con técnicas modernas de cultivo de tejido de planta para producir cultivos de plantas transgénicas o de tejido de planta que luego se pueden usar para investigación o producción agrícola. La producción y el uso de microorganismos tales como células de planta transgénica utilizan las técnicas microbiológicas modernas e intervención humana para producir un microorganismo único

20 artificial. En este proceso, el ADN recombinante se inserta en un genoma de célula de planta para crear una célula de planta transgénica que esté separada y sea única de células de plantas de origen natural. Esta célula de planta transgénica luego se puede cultivar como las células de bacterias y levadura usando técnicas modernas de microbiología y puede existir en un estado unicelular y no diferenciado. La nueva

25 composición genética y fenotipo de la célula de planta es un efecto técnico creado por la integración del ADN heterólogo en el genoma de la célula. Otro aspecto de la presente invención es un método para usar un microorganismo de la presente invención. Los

métodos para usar microorganismos de la presente invención, tales como células de plantas transgénicas, incluyen (i) métodos para producir células transgénicas mediante la integración de ADN recombinante en el genoma de la célula y luego usando esta célula para obtener células adicionales que poseen el mismo ADN heterólogo; (ii) métodos para

5 cultivar células que contienen ADN recombinante usando técnicas modernas de microbiología; (iii) métodos para producir y purificar carbohidrato endógeno o recombinante, lípido, ácido nucleico, enzimas o productos de proteína de células cultivadas; y (iv) métodos para usar técnicas modernas de cultivo de tejido vegetal con células de plantas transgénicas para producir cultivos de plantas transgénicas o de tejidos

10 de plantas transgénicas.

Tal como se usa en la presente, "progenie" incluye cualquier planta, semilla, célula de planta y/o parte de planta regenerable que comprende el ADN del evento derivado de una planta antecesora o un polinucleótido que tiene al menos una de las

15 secuencias que se proporcionan como los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. Las plantas, progenie y semillas pueden ser homocigóticos o heterocigóticos para el transgen. La progenie se puede cultivar a partir de semillas producidas por una planta que

20 comprende el evento MON87712 y/o de semillas producidas por una planta fertilizada con polen de una planta que comprende el evento MON87712.

Las plantas de progenie se pueden autopolinizar (también se conoce como "autofecundación" para generar una verdadera línea de reproducción de plantas, esto es,

25 plantas homocigóticas para el transgen. De manera alternativa, las plantas de progenie se pueden cruzar, por ej., reproducir con otra planta, para producir una semilla o planta híbrida o varietal. La otra planta puede ser transgénica o no transgénica. Una semilla o

planta híbrida o varietal de la presente invención puede por lo tanto derivar del cruzamiento de un primer progenitor que carece de ADN específico y único del evento MON87712 con un segundo progenitor que comprende el evento MON87712, dando como resultado un híbrido que comprende el ADN específico y único del evento

5 MON87712. Cada progenitor puede ser un híbrido o un innato/variedad siempre que el cruzamiento o la reproducción de como resultado una planta o semilla de la presente invención, esto es, una semilla que tiene al menos un alelo que comprende el ADN específico y único del evento MON87712 y/o los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o al

10 menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. Se pueden aparear por lo tanto dos plantas transgénicas diferentes para producir descendencia híbrida que contiene dos genes exógenos, agregados, segregados independientemente. Por ejemplo, una planta que comprende el evento MON87712 con rendimiento aumentado se puede cruzar con otra planta transgénica, tal como una tolerante al glifosato, para producir una planta que

15 tiene las características de ambos progenitores transgénicos. La autofecundación de la progenie apropiada puede producir plantas que son homocigóticas para ambos genes exógenos agregados. El retrocruzamiento con una planta progenitora y el cruzamiento con una planta no transgénica también se contemplan, como ocurre con la multiplicación vegetativa. Las descripciones de otros métodos de reproducción que se usan

20 comúnmente para diferentes rasgos y cultivos se pueden encontrar en una de las varias referencias, por ej., Fehr, en *Breeding Methods for Cultivar Development*, Wilcox J. ed., American Society of Agronomy, Madison WI (1987). El cruzamiento sexual de una planta con otra planta, esto es, polinización cruzada, se puede lograr o facilitar por intervención humana, por ejemplo: por humanos que recogen con sus manos el polen de

25 una planta y ponen en contacto este polen con el estilo o estigma de una segunda planta; por humanos que con sus manos y/o acciones retiran, destruyen o cubren el estambre o las anteras de una planta (por ej., por intervención manual o por una aplicación de un

gametocida químico) de forma tal que la autopolinización natural se evita y deberá ocurrir la polinización cruzada para que ocurra la fertilización; humanos que colocan insectos de polinización en una posición para "polinización directa" (por ej., colocando colmenas en huertos o campos o enjaulando plantas con insectos de polinización); humanos que abren
5 o retiran partes de la flor para permitir la colocación o el contacto de polen extraño en el estilo o estigma; mediante la colocación selectiva de plantas (por ej., plantar plantas de forma intencional en proximidad de polinización); y/o mediante la aplicación de químicos para precipitar la floración o promover la receptividad (del estigma para polen).

10 En la práctica de este método, el paso de cruzamiento sexual de una planta con sí misma, esto es, autopolinización o autofecundación, se puede lograr o facilitar por intervención humana, por ejemplo: por humanos que recogen con sus manos el polen de la planta y ponen en contacto este polen con el estilo o estigma de la misma planta y luego prevenir opcionalmente la fertilización posterior de la planta; humanos que con sus
15 manos y/o acciones retiran, destruyen o cubren el estambre o las anteras de otras planta cercanas (por ej., por descope o por una aplicación de un gametocida químico) de forma tal que la polinización cruzada natural se evita y deberá ocurrir la autopolinización para que ocurra la fertilización; humanos que colocan insectos de polinización en una posición para "polinización directa" (por ej., enjaulando una planta sola con insectos de polinización); mediante manipulación humana de la flor o sus partes para permitir la
20 autopolinización; mediante la colocación selectiva de plantas (por ej., plantar plantas de forma intencional más allá de la proximidad de polinización); y/o mediante la aplicación de químicos para precipitar la floración o promover la receptividad (del estigma para polen).

25 La presente invención proporciona una parte de una planta que deriva de una planta que comprende el evento MON87712. Tal como se usa en la presente, una "parte de una planta" se refiere a cualquier parte de una planta que comprende material derivado

de una planta que comprende el evento MON87712. Las partes de plantas incluyen de modo no taxativo células, polen, óvulo, vaina, flor, tejido del tallo o raíz, fibras y hoja. Las partes de plantas puede ser viables, no viables, regenerables y/o no regenerables.

- 5 La presente invención proporciona un producto básico derivado de una planta que comprende el evento MON87712. Tal como se usa en la presente, un "producto básico" se refiere a cualquier composición o producto compuesto por un material derivado de una planta, semilla, célula de planta o parte de plantas que comprende el evento MON87712. Los productos básicos pueden venderse a consumidores y pueden ser
- 10 viables o no viables. Los productos básicos no viables incluyen de modo no taxativo semillas y granos no viables; semillas procesadas, partes de semillas y partes de plantas; tejido de plantas deshidratadas, tejido de plantas congeladas y tejido de plantas procesadas; partes de plantas y semillas procesadas para alimento de animales para el consumo de animales acuáticos y/o terrestres, aceite, harina, harina, copos, salvado, fibra
- 15 y cualquier otro alimento para consumo humano; y biomasas y combustibles. Las semillas de soja procesadas son la fuente más grande de alimento proteico y aceite vegetal del mundo. Las semillas de soja y aceite de soja de plantas que comprenden MON87712 pueden usarse en la fabricación de muchos productos diferentes, que incluyen de modo no taxativo, plásticos no tóxicos, tintas de impresión, lubricantes, ceras, fluidos
- 20 hidráulicos, fluidos de transformadores eléctricos, solventes, cosméticos y productos para el cuidado del cabello. Las semillas de soja y aceites de plantas que comprenden MON87712 pueden ser adecuados para usar en diversos comidas con soja hechas de semillas de soja enteras, tales como leche de soja, mantequilla de nuez de soja, natto y tempeh, y comidas con soja hechas de semillas de soja y aceite de soja procesados, que
- 25 incluyen harina de soja, harina de soja, concentrado de proteína de soja, aislados de proteína de soja, concentrado de proteína de soja texturizada, proteína de soja hidrolizada, crema batida, aceite de cocina, aceite para ensalada, manteca y lecitina. Las

semillas de soja enteras son también comestibles, y se venden a los consumidores típicamente crudas, tostadas o edamame. La leche de soja, que se produce típicamente al poner en remojo y moler semillas de soja enteras, puede consumirse sin otro procesamiento, secadas por aspersión o procesadas para formar yogur de soja, queso de soja, tofu o yuba. Los productos básicos viables incluyen de modo no taxativo semillas y células de plantas. Una planta que comprende el evento MON87712 puede por ende usarse para fabricar cualquier producto básico típicamente adquirido de una planta de soja. Cualquiera de tales productos básicos derivados de plantas que comprenden el evento MON87712 pueden contener al menos una cantidad detectable del ADN único y específico que corresponde al evento MON87712, y específicamente pueden contener una cantidad detectable de un polinucleótido que tenga una secuencia de nucleótidos de los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. Se puede usar cualquier método estándar de detección de moléculas de polinucleótidos, que incluye métodos de detección descritos en la presente. Un producto básico está dentro del alcance de la presente invención si hay alguna cantidad detectable de los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8 en el producto básico.

La planta, progenie, semilla, célula de la planta, parte de la planta (tal como polen, óvulo, vaina, flor, tejido del tallo o la raíz, y hoja), y productos básicos de la presente invención son por ende útiles para, entre otras cosas, cultivar plantas a efectos de producir semillas y/o partes de plantas que comprenden el evento MON87712 a efectos agrícolas, producir progenie que comprende el evento MON87712 a efectos de la

reproducción de plantas e investigación, uso con técnicas microbiológicas para aplicaciones industriales y de investigación y venta a consumidores.

La presente invención proporciona métodos para producir plantas con
5 rendimiento aumentado y plantas que comprenden el evento MON87712. Se produjo una planta que contiene el evento MON87712 por una método de transformación mediada por *Agrobacterium* similar al descrito en la patente estadounidense 5,914,451, usando una línea de soja innata con la construcción pMON83132 (Tabla 1). La construcción pMON83132 contiene un casete de expresión de plantas para la expresión de la proteína
10 BBX32 en células de soja. Las células de soja transgénicas se regeneraron en plantas de soja intactas y se seleccionaron plantas individuales de la población de plantas transgénicas transformadas independientemente que mostraron características moleculares deseables, tales como copia simple del casete de transgen en un solo lugar, la integridad del casete de transgen, ausencia de la secuencia de la estructura de
15 construcción, pérdida del casete de selección de resistencia de glifosato no unido. Además, se llevaron a cabo análisis de las secuencias de ADN y PCR inverso para determinar las uniones del genoma inserto-a-planta 5' y 3', para confirmar la organización de los elementos dentro del inserto (Figura 1), y para determinar la secuencia de ADN completa del inserto en el evento de soja MON87712 (SEQ ID NO: 5). Además, se
20 investigaron y seleccionaron plantas transgénicas para un rendimiento aumentado en condiciones de campo. Una planta de soja que contiene en su genoma el casete de expresión BBX32 de pMON83132 es un aspecto de la presente invención.

El rendimiento aumentado de una planta transgénica de la presente invención
25 puede calcularse de varias maneras, que incluyen peso de la muestra, cantidad de semillas por planta, peso de la semilla, cantidad de semillas por área de unidad (es decir, semillas o peso de semillas por acre), bushel por acre, toneladas por acre o kilo por

hectárea. La expresión de la proteína BBX32 en plantas que comprenden el evento MON87712 provoca un aumento en el rendimiento ocasionado por el aumento de la capacidad de crecimiento y desarrollo reproductivo. El rendimiento aumentado resulta de dividir el crecimiento en uno o más de los parámetros de rendimiento que incluyen más
5 semillas por parcela, semillas más grandes, más semillas por planta y/o más plantas por parcela. El ADN recombinante usado en esta invención proporciona un rendimiento aumentado a través de un aumento de los compuestos fuente en comparación con semillas de soja no transgénicas con los mismos antecedentes genéticos. Estos cambios bioquímicos y metabólicos están vinculados a vías reguladas diurnamente e impactadas
10 por la actividad de BBX32 e incluyen metabolismo de carbono y metabolismo de nitrógeno.

Se proporcionan métodos para producir una planta con rendimiento aumentado que comprende el evento transgénico MON87712. Las plantas transgénicas usadas en
15 estos métodos pueden ser homocigóticas o heterocigóticas para el transgen. Las plantas de progenie producidas por estos métodos pueden ser plantas híbridas o varietales; pueden cultivarse a partir de semillas producidas por una planta y/o de semilla que comprende el evento MON87712 producido por una planta fertilizada con polen de una planta que comprende el evento MON87712; y puede ser homocigótica o heterocigótica
20 para el transgen. Las plantas de progenie pueden ser por ende autopolinizadas para generar una verdadera línea de reproducción de plantas, es decir, plantas homocigóticas para el transgen, o de manera alternativa pueden ser cruzadas, por ej., reproducidas con otra planta no relacionada, para producir una semilla o planta híbrida o varietal. Tal como se usa en la presente, el término "cigotidad" se refiere a la similitud de ADN en una
25 ubicación cromosómica específica (lugar) de una planta. En la presente invención, el ADN se refiere específicamente al inserto de transgen junto con la secuencia de unión (ADN del evento). Una planta es homocigótica si el inserto de transgen con la secuencia de

unión está presente en la misma ubicación en cada cromosoma de un par de cromosomas (2 alelos). Una planta se considera heterocigótica si el inserto de transgen con la secuencia de unión está presente en un solo cromosoma de un par de cromosomas (1 alelo). Una planta de tipo salvaje es inválida para el ADN del evento.

5

Se puede producir una planta con rendimiento aumentado cruzando sexualmente una planta que comprende el evento MON87712 que comprende un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos de nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos de los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8 con otra planta y produciendo así semillas, que se cultivan luego en plantas de progenie. Estas plantas de progenie pueden analizarse usando métodos de diagnóstico para seleccionar plantas de progenie que contengan ADN del evento MON87712 o para plantas de progenie con rendimiento aumentado. La otra planta usada puede ser transgénica o no. La semilla y/o planta de progenie producida puede ser una semilla híbrida o varietal.

10

15

20

25

Se puede producir una planta con rendimiento aumentado autofecundando una planta que comprende el evento MON87712 que comprende un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos de nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos de los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8 y produciendo así semillas, que se cultivan luego en plantas de progenie. Estas plantas de progenie pueden analizarse luego usando métodos de diagnóstico para seleccionar plantas de progenie que comprendan ADN del evento MON87712.

Las semillas y plantas de progenie comprendidas en estos métodos y producidas usando estos métodos son distintas que otras plantas, por ejemplo, debido a que las semillas y plantas de progenie son recombinantes y como tales creadas por la intervención humana; contienen al menos un alelo que consiste en el ADN transgénico de la presente invención; y/o contienen una cantidad detectable de una secuencia de polinucleótido que se selecciona del grupo que consiste en nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. Una semilla puede seleccionarse de una planta de progenie individual, y siempre que la semilla comprenda la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, estará dentro del alcance de la presente invención.

Puede evaluarse la composición de ADN, expresión génica y/o expresión proteica de las plantas, progenie, semillas, células de plantas, partes de plantas (tales como polen, óvulo, vaina, flor, tejido del tallo o raíz, y hojas), y productos básicos de la presente invención. Dicha evaluación puede llevarse a cabo usando varios métodos tales como PCR, secuenciamiento, transferencia northern, análisis southern, transferencia western, inmuno precipitación y ELISA o usando los métodos de detección y/o kits de detección que se proporcionan en la presente.

Se proporcionan métodos para detectar la presencia de composiciones específicas del evento MON87712 en una muestra. Un método consiste en detectar la presencia de ADN específico de y que deriva de una célula, tejido, semilla, planta o partes de plantas que comprende el evento MON87712. El método proporciona una muestra de ADN molde para poner en contacto con un par de cebadores que es capaz de producir un amplicón del ADN del evento MON87712 tras someterse a condiciones adecuadas de

amplificación, particularmente un amplicón que comprende la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o los complementos de este. El amplicón se produce a partir de una molécula de ADN molde derivada del evento MON87712, siempre que la

5 molécula de ADN molde incorpore las secuencias de nucleótidos únicas y específicas de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. El amplicón puede ser un ADN o ARN de cadena simple o doble, según la polimerasa seleccionada para usar en la producción del amplicón. El método proporciona la detección de la molécula de

10 amplicón producida en cualquier reacción de amplificación, y la confirmación dentro de la secuencia del amplicón de la presencia de los nucleótidos correspondientes a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o los complementos de este. La detección de los nucleótidos correspondientes a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al

15 menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y/o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o los complementos de estas en el amplicón determinan y/o diagnostican la presencia del ADN específico de evento MON87712 y por ende el material biológico comprende el evento MON87712 en la muestra.

20 Se proporciona otro método para detectar la presencia de una molécula de ADN correspondiente a la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 en una muestra que consiste en material derivado de plantas o tejido de plantas. El método consiste en (i) obtener una muestra de ADN de una planta, o de un grupo de diferentes plantas, (ii) poner en contacto la muestra de ADN con una molécula de sonda de ADN que comprenda los nucleótidos

25 tal como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2, (iii) permitir que la prueba y la muestra de ADN se hibriden en condiciones de hibridación severas, y luego (iv) detectar un evento de hibridación entre la prueba y la muestra de ADN diana. La

detección de la composición híbrida diagnóstica la presencia de la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, cualquiera sea el caso, en la muestra de ADN. La ausencia de hibridación diagnóstica de manera alternativa la ausencia del evento transgénico en la muestra si los controles positivos adecuados se ejecutan al mismo tiempo. De manera alternativa,
5 determinar que una planta particular contiene alguna o ambas secuencias correspondientes a la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2, o los complementos de estas, determina que la planta contiene al menos un alelo correspondiente al evento MON87712.

Por ende es posible detectar la presencia de una molécula de ácido nucleico de la presente invención por cualquier método conocido de detección y amplificación de
10 ácido nucleico tal como reacción en cadena de la polimerasa (PCR), amplificación por recombinasa polimerasa (RPA) o hibridación de ADN usando sondas de ácido nucleico. Se discute un ensayo por PCR específico del evento, por ej., por Tavernier et al. (J. Agric. Food Chem., 53: 3041-3052, 2005) donde se demuestra un sistema de rastreo específico del evento para las líneas de maíz transgénicas Bt11, Bt176 y GA21 y para el evento
15 transgénico RT73. En este estudio, los cebadores y sondas específicos del evento se diseñaron en función de las secuencias de las uniones de genoma/transgen para cada evento. Los métodos de detección de ADN específicos del evento de la planta transgénica también se describieron en la patente estadounidense N° 6,893,826; 6,825,400; 6,740,488; 6,733,974; 6,689,880; 6,900,014 y 6,818,807.

20

Se proporcionan kits de detección de ADN. Un tipo de kit contiene al menos una molécula de ADN de longitud suficiente de nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, o la SEQ ID NO: 6 para funcionar como un cebador o sonda de ADN específico para detectar la presencia de ADN derivado del evento transgénico MON87712
25 en una muestra. La molécula de ADN que se detecta con el kit comprende nucleótidos contiguos de la secuencia tal como se establece en la SEQ ID NO: 1 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7. De manera alternativa, un kit puede

contener al menos una molécula de ADN de longitud suficiente de nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, o la SEQ ID NO: 6 para funcionar como un cebador o sonda de ADN específico para detectar la presencia de ADN derivado del evento transgénico MON87712 en una muestra. La molécula de ADN que se detecta con el kit
5 comprende nucleótidos contiguos tal como se establece en la SEQ ID NO: 2 o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8.

Un kit alternativo emplea un método donde la muestra de ADN diana se pone en contacto con un par de cebadores tal como se describe anteriormente, realizando luego
10 una reacción de amplificación de ácidos nucleicos suficiente como para producir un amplicón que comprende los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8. La detección del amplicón y la determinación de la presencia de los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos
15 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o los complementos de estos dentro de la secuencia del amplicón diagnóstica la presencia del ADN específico del evento MON87712 en una muestra de ADN.

20 Se proporciona una molécula de ADN suficiente como para usar como una sonda de ADN que es útil para determinar, detectar o diagnosticar la presencia o incluso la ausencia de ADN específico y único para el ADN del evento MON87712 en una muestra. La molécula de ADN contiene los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, o el complemento de estos, los nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, o el
25 complemento de estos, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o el complemento de estos, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o el complemento de estos.

La amplificación de ácidos nucleicos puede lograrse mediante cualquiera de los varios métodos de amplificación de ácidos nucleicos conocidos en la técnica, que incluyen métodos de amplificación térmica e isotérmica. La secuencia del inserto de ADN heterólogo, secuencias de unión o secuencias flanqueantes del evento MON87712 (con
5 muestras de semillas representativas que comprenden el evento MON87712 depositado como ATCC PTA-10296) puede verificarse amplificando dichas secuencias del evento usando cebadores derivados de las secuencias proporcionadas en la presente seguido por el secuenciación de ADN estándar del amplicón o del ADN clonado.

10 El amplicón producido por estos métodos puede detectarse mediante diversas técnicas. Uno de estos métodos es el Genetic Bit Analysis (Nikiforov, et ál. NucleicAcid Res. 22:4167-4175, 1994) donde se diseña un oligonucleótido de ADN que solapa la secuencia de ADN genómico flanqueante contigua y la secuencia de ADN insertada. El oligonucleótido es inmovilizado en pocillos de una placa de micropocillos. Tras la
15 amplificación térmica de la región de interés (usando un cebador en la secuencia insertada y uno en la secuencia genómica flanqueante contigua), se puede hibridar un amplicón de cadena simple al oligonucleótido inmovilizado y servir como molde para una reacción de extensión de base simple usando un ADN polimerasa y etiquetados como ddNTP específicos para la siguiente base esperada. La lectura puede ser fluorescente o
20 basada en ELISA. La detección de una señal fluorescente u otra señal indica la presencia de inserto/secuencia flanqueante debido a una amplificación, hibridación y extensión de base simple exitosas.

Otro método es la técnica de pirosecuenciación tal como se describe en Winge
25 (Innov. Pharma. Tech. 00:18-24, 2000). En este método se diseña un oligonucleótido que solapa la unión del ADN genómico adyacente y ADN de inserto. El oligonucleótido se hibrida a un amplicón de cadena simple de la región de interés (un cebador en la

secuencia insertada y uno en la secuencia genómica flanqueante) y se incuba en presencia de un ADN polimerasa, ATP, sulfurilasa, luciferasa, apirasa, adenosina 5' fosfosulfato y luciferina. Los ddNTP se agregan individualmente y la incorporación resulta en una señal luminosa que se calcula. Una señal luminosa indica la presencia de la
5 secuencia de inserto de transgen/flanqueante debido a una amplificación, hibridación y extensión de base simple o base múltiple exitosas.

La polarización fluorescente tal como se describe en Chen, et ál., (Genome Res. 9:492-498, 1999) es un método que puede usarse para detectar el amplicón. Usando este
10 método se diseña un oligonucleótido que solapa la unión del ADN genómico flanqueante y el insertado. El oligonucleótido se hibrida a un amplicón de cadena simple de la región de interés (un cebador en la secuencia ADN insertada y uno en la de ADN genómica flanqueante) y se incuba en presencia de un ADN polimerasa y etiquetado como ddNTP con fluorescente. La extensión de base simple resulta en la incorporación del ddNTP. La
15 incorporación puede calcularse como un cambio en la polarización usando un fluorómetro. Un cambio en la polarización indica la presencia del inserto de transgen/secuencia flanqueante debido a una amplificación, hibridación y extensión de base simple exitosas.

TAQMAN® (PE AppliedBiosystems, Foster City, CA) también puede usarse para
20 detectar y/o cuantificar la presencia de una secuencia de ADN usando las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Brevemente, se diseña una sonda de oligonucleótido FRET que solapa la unión del ADN genómico flanqueante y de inserto. La sonda FRET y los cebadores de amplificación (un cebador en la secuencia de ADN de inserto y uno en la secuencia genómica flanqueante) se ciclan en presencia de una polimerasa termoestable
25 y dNTP. La hibridación de la sonda FRET resulta en la escisión y liberación del resto fluorescente lejos del resto de inactivación en la sonda FRET. Una señal fluorescente

indica la presencia de la secuencia de inserto de transgen/flanqueante debido a una amplificación e hibridación exitosas.

Se describieron balizas moleculares para usar en la detección de secuencias tal
5 como se describe en Tyangi, et ál. (NatureBiotech. 14:303-308, 1996). Brevemente, se
diseña una sonda de oligonucleótido FRET que solapa la unión del ADN genómico
flanqueante y de inserto. La estructura única de la sonda FRET provoca que contenga
una estructura secundaria que mantiene los restos fluorescentes y de inactivación muy
próximos entre sí. La sonda FRET y los cebadores de amplificación (un cebador en la
10 secuencia de ADN de inserto y uno en la secuencia genómica flanqueante) se ciclan en
presencia de una polimerasa termoestable y dNTP. Tras la amplificación exitosa, la
hibridación de la sonda FRET a la secuencia diana resulta en el retiro de la estructura
secundaria de sonda y separación espacial de los restos fluorescentes y de inactivación,
que provoca la producción de una señal fluorescente. La señal fluorescente indica la
15 presencia de la secuencia de inserto de transgen/flanqueante debido a una amplificación
e hibridación exitosas.

Otros métodos descritos, tales como, microfluidos (publicación de patente
estadounidense N° 2006068398, patente estadounidense N° 6,544,734) proporcionan
20 métodos y dispositivos para separar y amplificar muestras de ADN. Las tintas ópticas se
usan para detectar y calcular moléculas de ADN específicas (WO/05017181). Los
dispositivos de nanotubos (WO/06024023) que comprenden un sensor electrónico para
detectar moléculas de ADN o nanoesferas que se unen a moléculas de ADN específicas
pueden así ser detectados.

25

Los kits de detección de ADN pueden desarrollarse usando las composiciones
descritas en la presente y los métodos conocidos en la técnica de la detección de ADN.

Los kits son útiles para identificar el evento MON87712 en una muestra y pueden aplicarse a métodos para reproducir plantas que contienen el ADN del evento adecuado. Los kits pueden contener cebadores o sondas de ADN que son similares o complementarios a la SEQ ID NO: 1-6, o fragmentos o complementos de estos.

5

Los kits y métodos de detección de la presente invención son útiles para, entre otras cosas, identificar el evento MON87712, seleccionar híbridos o variedades de plantas que comprendan el evento MON87712, detectar la presencia de ADN derivado del evento MON87712 en una muestra y monitorear muestras por la presencia y/o ausencia del evento MON87712 o plantas, partes de plantas o productos básicos que comprendan el evento MON87712.

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar ejemplos de determinadas modalidades de la invención. Los expertos en la técnica deben considerar que las técnicas descritas en los ejemplos que siguen representan enfoques que los inventores consideraron que funcionan bien en la práctica de la invención, y por ende puede considerarse que constituyen ejemplos de modos preferidos para su práctica. Sin embargo, los expertos en la técnica deben, en vista de la presente descripción, apreciar que se pueden realizar varios cambios en las modalidades específicas descritas y aun así obtener un resultado parecido o similar sin alejarse del espíritu y alcance de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Transformación de semillas de soja con pMON83132 y selección del evento

25

Este ejemplo describe la transformación y generación de eventos de semillas de soja transgénicas, y la selección del evento MON87712.

Se usó un método de transformación mediado por *Agrobacterium* para
5 transformar células de soja con una construcción binaria designada como pMON83132. La construcción contiene dos casetes de transformación de plantas o T-DNA. Cada casete está flanqueado por secuencias con borde derecho y borde izquierdo. El inserto transgénico tal como se establece en la SEQ ID NO: 5 comprende un casete de transformación que contiene un promotor 35S aumentado del virus del mosaico de la
10 coliflor (CaMV), unido operativamente a una molécula de ADN que codifica la proteína BBX32, unido operativamente a la región 3' sin traducir del gen E6 de la proteína fibrosa de *Gossypium barbadense* (algodón). El segundo casete de transformación contiene un promotor quimérico que consiste en secuencias potenciadoras del promotor del virus del mosaico de la escrofularia (FMV) 35S ARN combinado con el promotor del gen EF-1 α de
15 *Arabidopsis thaliana* que codifica el factor de elongación EF-1 alfa. También contiene un líder (exón 1) e intrón con sitios de empalme flanqueantes del gen *Arabidopsis* EF-1 α , unidos operativamente a una molécula de ADN que codifica un péptido de tránsito del cloroplasto (CTP2) de *Arabidopsis* EPSP sintasa, fusionados a una secuencia de codificación modificada por codones del gen *aroA* de la cepa *Agrobacterium* sp. CP4 que
20 codifica la proteína CP4 EPSPS, unidos operativamente a una región 3' sin traducir del gen *RbcS2* de *Pisum sativum*. El gen CP4 *aroA* confiere tolerancia al glifosato, y se usó como marcador seleccionable. La Tabla 1 es un resumen de los elementos genéticos en pMON83132.

25 Tras la transformación con la pMON83132, se les permitió a las células transformadas que crecieran y se multiplicaran en medios que contuvieran glifosato. Las plantas se regeneraron a partir de células supervivientes. Se produjo un total de 4944

eventos de transformación R0 independientes y se caracterizaron por análisis moleculares detallados. Los eventos se investigaron por PCR cuantitativa PCR y RT-PCR (TAQMAN®) para la cantidad de insertos (cantidad de sitios de integración dentro del genoma de la soja), cantidad de copias (la cantidad de copias del T-DNA dentro de un lugar), la integridad del casete insertado y la ausencia de secuencia de estructura principal y expresión de la transcripción del transgen AtBBX32. Los eventos con características moleculares indeseables, tales como la presencia de múltiples copias del transgen y/o complejidad molecular del inserto, se eliminó la presencia de la secuencia de la estructura principal del vector de transformación. Además, el análisis southern de unión se realizó para retirar eventos donde el casete de expresión BBX32 estaba unido al casete marcador seleccionable CP4. Un total de 284 eventos cumplieron con el riguroso criterio de selección molecular basado en el análisis descrito anteriormente. Se eliminaron además tres eventos adicionales debido a la falta de disponibilidad de reservas de semillas homocigóticas, provocando que 281 eventos avanzaran a la generación R1.

Tabla 1. Resumen de los elementos genéticos en pMON83132.

Elemento genético	Ubicación en la construcción pMON83132	Función (referencia)
T-DNA I		
Borde izquierdo B1	1-442	La región de ADN de Agrobacteriumtumefaciens que contiene la secuencia de borde izquierdo usado para la transferencia del T-DNA(Barker et ál., Plant Mol. Biol.2:335-350, 1983).
P2-e35S	511-1123	El promotor del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) 35S ARN (Odell et ál., Nature313:810-812, 1985) que contiene la región potenciadora duplicada (Kay et ál., Science236:1299-1302, 1987) que dirige la transcripción en células de plantas.
CS3-BBX32	1148-1825	Secuencia de codificación del gen BBX32 de Arabidopsisthaliana que codifica una proteína de dedo de zinc (tipo B-box) (Khannaet ál., PlantCell 21: 3416-3420, 2009) que modula aspectos de biología diurna (Holtanet ál., presentado).
T4-E6	1840-2154	Región 3' UTR del gen E6 de Gossypium barbadense (algodón) que codifica una proteína de fibra implicada en el desarrollo temprano de las fibras (John, Plant Mol Biol.30:297-306, 1996) que funciona para dirigir la poliadenilación del ARNm.
Borde derecho B	2193-2549	La región de ADN de Agrobacteriumtumefaciens que contiene la secuencia de borde derecho usado para la transferencia del T-DNA (Depicker et ál., J. of Mol. and Applied Genetics1:561-573, 1982; Zambryskiet ál., J. of Mol. and Applied Genetics1:361-370, 1982).
T-DNA II		
Borde derecho B	2721-3077	La región de ADN de Agrobacteriumtumefaciens que contiene la secuencia de borde derecho usada para transferir el T-DNA (Depickeret ál., J. of Mol. y

		AppliedGenetics1:561-573, 1982; Zambryskiet ál., J. of Mol. y AppliedGenetics1:361-370, 1982).
P-FMV/EF-1 α	3100-4139	El promotor quimérico que consiste en secuencias potenciadoras del promotor del virus del mosaico de la escrofularia (FMV) 35S ARN (Richins et ál., Nucleic Acids Research15:8451-8466, 1987) combinado con el promotor del gen EF-1 α de Arabidopsisthaliana que codifica el factor de elongación EF-1 alfa (Axeloset ál., Molecular and General Genetics219:106-112, 1989). Está asociado con la expresión constitutiva del gen.
L5-EF-1 α	4140-4185	El líder (exón 1) del gen EF1 α de Arabidopsisthaliana que codifica el factor de elongación EF-1 alfa (Axeloset ál., Molecular and General Genetics219:106-112, 1989), que potencia la expresión génica.
I6-EF-1 α	4186-4807	El intrón con sitios de empalme flanqueantes del gen EF1 α de Arabidopsisthaliana que codifica el factor de elongación EF-1 alfa (Axeloset ál., Molecular and General Genetics219:106-112, 1989), que potencia la expresión génica.
TS7-CTP2	4817-5044	La secuencia diana del gen ShkG de Arabidopsisthaliana que codifica la EPSPS que contiene la región de péptidos de tránsito) que dirige el transporte de la proteína EPSPS al cloroplasto (Kleeet ál., Molecular and General Genetics210:437-442, 1987).
cp4 epsps modificado con CS	5045-6412	Secuencia de codificación modificada por codones del gen aroA de la cepa CP4 deAgrobacteriumsp. que codifica la proteína CP4 EPSPS (Padgette et ál., 1996, en Herbicide-ResistantCrops: Agricultural, Economic, Environmental, Regulatory, and TechnologicalAspects, S.O. Duke, (ed.), Páginas 53-84, CRC Press, Boca Raton, FL).
T-E9	6419-7061	región 3' sin traducir del gen RbcS2 de

		Pisumsativum (arveja) que codifica la subunidad pequeña de Rubisco, que funciona para dirigir la poliadenilación del ARNm(Coruzzi et ál., EMBO J.3:1671-1679, 1984).
Borde izquierdo B	7076-7486	La región de ADN de Agrobacteriumtumefaciens que contiene la secuencia de borde izquierdo usado para la transferencia del T-DNA(Barkeret ál., Plant Mol. Biol.2:335-350, 1983).
Estructura principal del vector		
aadA	7582-8470	Promotor bacteriano, secuencia de codificación y 3' UTR para una enzima que modifica aminoglicósidos, 3''(9)-O-nucleotidiltransferasa del transposón Tn7 (Fling et ál., Nucleic Acids Research13:7095-7106, 1985) que confiere resistencia a la streptomycin y spectinomycin.
OR8-ori-pBR322	9001-9589	Origen de la replicación a partir de pBR322 para el mantenimiento del plásmido en E. coli(Sutcliffe, 1979, Complete nucleotide sequence of the Escherichia coli plasmid pBR322. Páginas 77-90 en Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press).
CS-rop	10017-10208	Secuencia de codificación para el represor de la proteína cebadora derivada del plásmido ColE1 para el mantenimiento de la cantidad de copias de plásmido en E. coli(Giza and Huang, Gene78:73-84, 1989).
OR-ori V	10946-11342	Origen de la replicación a partir del plásmido RK2 de amplio rango de hospedadores para el mantenimiento del plásmido en Agrobacterium (Stalkeret ál., Molecular and General Genetics181:8-12, 1981).

1 B, Borde

2 P, Promotor

3 CS, Secuencia de codificación

- 4 T, Secuencia de terminación de la transcripción
- 5 L, Líder
- 6 I, Intrón
- 7 TS, Secuencia diana
- 5 8OR, Origen de la replicación

En la generación de R1, los eventos se sometieron al análisis de segregación para seleccionar que sigan adelante solo plantas homocigóticas y heterocigóticas. Además, el análisis de unión a CP4, análisis TAQMAN® y análisis de expresión de BBX32 se llevaron a cabo para retirar eventos donde CP4 estuviera unido al transgen BBX32, o donde se detectó la secuencia del origen de replicación OriV (estructura principal), o donde el nivel de expresión del transgen BBX32 era indeseable, quedando aún 121 eventos. El análisis southern de hibridación usando diferentes sondas eliminó además 42 eventos que no eran copia simple, o inserto simple o no eran sin estructura principal. Las sondas incluían la región de codificación BBX32 intacta y su respectivo promotor, la secuencia de poliadenilación y la estructura principal del plásmido. Otros 2 eventos se detuvieron debido a la falta de suficientes semillas para avanzar, dejando 77 eventos para pasar a la generación R2.

En la generación R2, otros 9 eventos se descartaron debido a 1) falta de suficientes semillas para el vivero R2 (1 evento), o 2) fenotipos agronómicos indeseables (2 eventos), o 3) nivel de expresión BBX32 o la ausencia de las líneas homocigóticas representativas tal como se determina por InvaderR (Third Wave Technologies, Inc., Madison, WI) (6 eventos). Como resultado, se llevaron a cabo 68 eventos durante una prueba de campo de rendimiento del año 1 en EUA. En función del rendimiento, 16 eventos pasaron a la prueba de campo de la temporada dos en América del Sur, de los cuales se seleccionaron 9 eventos para más pruebas de rendimiento. Los metaanálisis de

datos de rendimiento de 4 temporadas de pruebas de campo en Estados Unidos o América del Sur, cada uno con varias ubicaciones (Tabla 2), mostraron que una línea de progenie designada como que comprende el evento MON87712 fue el evento con mayor rendimiento (Fig. 2).

5

Tabla 2. Detalles de las pruebas de campo de cuatro temporadas para rendimiento.

Año	Geografía	# ubicaciones
2007	Estados Unidos	18
2007-2008	América del Sur	14
2008	Estados Unidos	24
2008-2009	América del Sur	14

Ejemplo 2: Aislamiento de secuencias flanqueantes usando PCR inverso e
10 identificación de secuencias flanqueantes por secuenciación

Este ejemplo describe el aislamiento de las secuencias de ADN genómico de soja que flanquea el inserto de ADN transgénico usando PCR inverso para el evento MON87712, y la identificación de las secuencias genómicas flanqueantes por
15 secuenciación.

Las secuencias que flanquean el inserto T-DNA en el evento MON87712 se determinaron usando PCR inverso tal como se describe en Ochman et al., 1990 (PCR Protocols: A guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc.). El ADN genómico
20 de plantas se aisló de la línea transgénica y A3525 de tipo salvaje del tejido cultivado en condiciones de invernadero. El tejido de hojas congeladas se molió con un mortero y una mano en nitrógeno líquido o con molienda mecánica, seguido por extracción de ADN usando métodos conocidos en la técnica. Este método puede modificarse por un experto

en la técnica para extraer ADN de cualquier tejido, que incluye de modo no taxativo, semillas.

Una alícuota de ADN de cada muestra se digirió con endonucleasas de
5 restricción seleccionadas según análisis de restricción del ADN transgénico. Tras la auto
ligación de los fragmentos de restricción, se realizó la amplificación por PCR usando
cebadores diseñados a partir de la secuencia transgénica que amplificaría secuencias que
se extienden más allá de los extremos 5' y 3' del ADN transgénico. Pueden usarse varias
polimerasas Taq y sistemas de amplificación. La Tabla 3 muestra un ejemplo de
10 amplificación por PCR para flanquear el aislamiento de secuencias usando Phusion High
Fidelity DNA Polymerase (Cat. No. F531S or F531L, New England Biolabs), y
Thermalcyclers Applied BiosystemsGeneAmp 9700, ABI 9800 Fast Thermal Cyclers and
MJ Opticon.

Tabla 3. Ejemplo de amplificación de PCR inverso para aislamiento de secuencias flanqueantes.

Mezcla maestra de PCR (por reacción)	Volumen	Componente
	2.9 µl	Agua
	0.5 µl	Cebador 1 (100 µM)
	0.05 µl	Cebador 1 (100 µM)
	5.0 µl	2X PhusionTaq
	2.0 µl	ADN ligado
	10 µl	Total
Amplificación de ADN en un termociclador rápido	Paso	Condición
	1	98oC 30 seg
	2	98oC 5 seg
	3	60oC 10 seg
	4	72oC 2 min
	5	Dirigirse al paso 2 30 veces
	6	72oC 4 min
	7	10oC para siempre
	8	Fin

Los productos de PCR se separaron por electroforesis de gel de agarosa y se
5 purificaron usando un kit de purificación de gel QIAGEN (Qiagen, Valencia, CA). Los
productos posteriores se secuenciaron directamente usando protocolos de secuenciación
estándar. Usando estos dos métodos, la secuencia flanqueante 5', que se extiende en la
secuencia del borde izquierdo del inserto de ADN integrado que incluye el casete de
expresión BBX32, se identificó y presentó como la SEQ ID NO: 3 ([C] de la Figura 1). La
10 secuencia flanqueante 3', que se extiende en la secuencia del borde derecho del inserto
de ADN integrado que incluye el casete de expresión BBX32, se identificó y presentó

como la SEQ ID NO: 4 (D) de la Figura 1). El ADN transgénico integrado en el ADN genómico de soja se presentó como la SEQ ID NO: 5 ([E] de la Figura 1).

Las secuencias aisladas se compararon a la secuencia de T-DNA para identificar
5 las secuencias flanqueantes y los fragmentos de T-DNA co-aislados. La confirmación de la presencia del casete de expresión se logró por PCR con cebadores diseñados según los datos de la secuencia flanqueante deducida y la secuencia T-DNA conocida. La secuencia de tipo salvaje correspondiente a la misma región donde se integró el T-DNA en la línea transformada se aisló usando cebadores diseñados a partir de las secuencias
10 flanqueantes en MON87712. Las secuencias flanqueantes en MON87712 y la secuencia de tipo salvaje se analizaron contra bases de datos de proteínas y nucleótidos múltiples. Esta información se usó para examinar la relación del transgen al genoma de la planta y para observar la integridad del sitio de inserción. La secuencia flanqueante y secuencias de tipo salvaje se usaron para diseñar cebadores para ensayos de punto final TAQMAN®
15 usados para identificar los eventos y determinar la cigosidad tal como se describe en el Ejemplo 3.

Ejemplo 3: Ensayos de cigosidad y TAQMAN® de punto final específicos del
evento
20

Este ejemplo describe un método de amplificación térmica TAQMAN® de punto final específico del evento para identificar el ADN del evento MON87712 en una muestra.

En la Tabla 4 y Tabla 5 se describen ejemplos de condiciones útiles con el
25 método TAQMAN® de punto final específico del evento MON87712. Los cebadores de ADN usados en el ensayo de punto final son los cebadores SQ3983 (SEQ ID NO: 16) y SQ22982 (SEQ ID NO: 17) y la sonda de oligonucleótidos etiquetados como 6-FAMTM es

PB10453 (SEQ ID NO: 18). 6FAMTM es un producto de tinte fluorescente de AppliedBiosystems (Foster City, CA) unido a la sonda de ADN. Para las sondas TAQMAN® MGB (unión al surco menor), la actividad de exonucleasa 5' de ADN polimerasa Taq escinde la sonda del extremo 5', entre el fluoróforo y el inactivador. Al
5 hibridarse a la cadena de ADN diana, el inactivador y el fluoróforo se separan lo suficiente como para producir una señal fluorescente.

Los cebadores SQ3983 (SEQ ID NO: 16) y SQ22982 (SEQ ID NO: 17), al usarse tal como se describe con la sonda PB10453 (SEQ ID NO: 18), producen un amplicón que
10 diagnostica el ADN del evento MON87712. El análisis incluye un control positivo de la soja que se conoce contiene el ADN del evento MON87712, un control negativo de la soja no transgénica y un control negativo que no contiene ningún ADN molde.

Estos ensayos se optimizan para usar con AppliedBiosystemsGeneAmp PCR
15 System 9700, ABI 9800 FastThermalCycler y MJ Opticon. Otros métodos y aparatos conocidos por los expertos en la técnica pueden usarse para producir amplicones que identifican el ADN del evento MON87712.

Tabla 4. Condiciones de PCR TAQMAN® de punto final específico del evento MON87712 de soja

Paso	Reactivo	Volumen	Comentarios
1	18 megaohmios de agua	ajustar para volumen final de 10 µl	
2	2X Universal Master Mix (dNTP, enzima y amortiguador)	5.0 µl	1X de concentración final de dNTP, enzima y amortiguador
3	La mezcla de cebadores del evento SQ3983 y SQ22982 (resuspendidos en 18 megaohmios de agua a una concentración de 20 µM para cada cebador) Ejemplo: En un tubo microcentrífuga, se agrega lo siguiente para lograr 500 µl a una concentración final de 20 µM: 100 µl de Cebador SQ22982 a una concentración de 100 µM 100 µl de Cebador SQ3983 a una concentración de 100 µM 300 µl de 18 megaohmios de agua	0.5 µl	1.0 µM de concentración final
4	Evento 6-FAMTM MGB Sonda PB10453 (resuspendido en 18 megaohmios de agua a una concentración de 10 µM)	0.2 µl	0.2 µM de concentración final

5	Mezcla de Cebador 1 de control interno y Cebador 2 de control interno (resuspendidos en 18 megaohmios de agua a una concentración de 20 µM para cada cebador)	0.5 µl	1 µM de concentración final
6	Sonda VICTM de control interno (resuspendida en 18 megaohmios de agua a una concentración de 10 µM)	0.2 µl	0.2 µM de concentración final
7	ADN extraído (molde): 1. Muestras de hojas o semillas a analizar 2. Control negativo (ADN no transgénico) 3. Control negativo de agua (sin control de molde) 4. Control positivo (ADN de MON87712)	3.0 µl	

Tabla 5. Condiciones de termociclador TAQMAN® de punto final

Ciclo Nº	Ajustes
1	50°C 2 minutos
1	95°C 10 minutos
10	95°C 15 segundos 64°C 1 minuto (-1°C/ciclo)
30	95°C 15 segundos 54°C 1 minuto
1	10°C para siempre

El siguiente ejemplo describe un método de amplificación térmica TAQMAN® de punto final específico del evento desarrollado para determinar la cigosidad del evento MON87712 en una muestra. El ensayo de cigosidad se útil para determinar si una planta que comprende un evento es homocigótica para el ADN del evento, que comprende el

5 ADN exógeno en la misma ubicación en cada cromosoma de un par de cromosomas; o heterocigótica para un ADN del evento, que comprende el ADN exógeno en solo un cromosoma de un par de cromosomas; o es nula para un ADN del evento, que es de tipo salvaje. Un conjunto de tres cebadores (SEQ ID NO: 10, 13 y 11 o 15), una sonda etiquetada como 6FAMTM (SEQ ID NO: 12) y una sonda etiquetada como VICTM (SEQ

10 ID NO: 14) se usaron en los ensayos (Tabla 8). 6FAMTM y VICTM son productos de tinte fluorescente de AppliedBiosystems (Foster City, CA) unidos a las sondas de ADN. El cebador de la SEQ ID NO: 11 o 15 se hibrida y extiende específicamente desde el ADN exógeno insertado; el cebador de la SEQ ID NO: 10 se hibrida y extiende específicamente del ADN que flanquea el lado 3' del ADN exógeno insertado; el cebador de la SEQ ID NO:

15 13 se hibrida y extiende específicamente desde el ADN de tipo salvaje que corresponde a una región que se eliminó durante el inserto de T-DNA en el evento transgénico MON87712. Estos cebadores son diagnóstico. En este ejemplo, los cebadores de la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 11 o 15 y la sonda de oligonucleótidos etiquetada como 6FAMTM de la SEQ ID NO: 12 producen un amplicón de ADN revelado por la liberación

20 de una señal fluorescente de la sonda de la SEQ ID NO: 12, que diagnostica el ADN del evento MON87712, lo que indica una copia del ADN transgénico insertado presente en el ADN genómico. Los cebadores de la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 13 y la sonda de oligonucleótidos etiquetada como VICTM de la SEQ ID NO: 14 producen un amplicón revelado por la liberación de una señal fluorescente de la sonda de la SEQ ID NO: 14, que

25 diagnostica el alelo de tipo salvaje, lo que no indica ninguna copia del ADN exógeno insertado presente en el ADN genómico. Cuando los tres cebadores y dos sondas se mezclan en una reacción por PCR con ADN extraído de una planta, la liberación de una

- señal fluorescente solo de una sonda de oligonucleótidos etiquetada como 6FAMTM (SEQ ID NO: 12) indica y diagnostica una planta homocigótica para el evento MON87712. Cuando los tres cebadores y dos sondas se mezclan en una reacción por PCR con ADN extraído de una planta, la liberación de una señal fluorescente de ambas sondas de oligonucleótidos etiquetada como 6FAMTM SEQ ID NO: 12 y la sonda de oligonucleótidos etiquetada como VICTM SEQ ID NO: 14 indica y diagnostica una planta heterocigótica para el evento MON87712. Cuando los tres cebadores y dos sondas se mezclan en una reacción por PCR con ADN extraído de una planta, la liberación de una señal fluorescente solo de la sonda de oligonucleótidos etiquetada como VICTM SEQ ID NO: 14 indica y diagnostica una planta nula para el evento MON87712, es decir, de tipo salvaje. Los ensayos también incluyen un control positivo del ADN del evento MON87712 que contiene soja, un control negativo de la soja no transgénica y un control negativo que no contiene ningún ADN molde.
- La Tabla 6 y la Tabla 7 proporcionan ejemplos de condiciones usados para el ensayo de cigosidad para el evento MON87712 en una muestra. Estos ensayos se optimizan para usar con AppliedBiosystemsGeneAmp PCR System 9700. La detección de alelos se optimizó con 7900HT SequenceDetectionSystem de AppliedBiosystems, o PHERAstar de BMG Labtech. Otros métodos y aparatos conocidos por los expertos en la técnica que producen amplicones que identifican el ADN del evento MON87712 se encuentran dentro de la experiencia en la técnica.

Tabla 6. PCR TAQMAN® de punto final de cigosidad específico del evento MON87712 de soja

Paso	Detalles	
1	Preparar lo siguiente: 200 µM de cebadores 100µM de la sonda del evento 6-FAMTM MGB* 100µM de la sonda VICTM MGB de tipo salvaje Mezcla maestra universal 50:50 2X ABI: Mezcla maestra universal 2X AbGene 0.1X TE	
2	Preparar la siguiente reserva de cebador 80X + sonda: 100µM de la sonda del evento 6-FAMTM MGB 100µM de la sonda VICTM MGB de tipo salvaje 200 µM de cebador directo de tipo salvaje 200 µM de cebador directo del evento 200 µM de cebador inverso	16µl 16µl 8.5µl 8.5µl 17µl
3	Diluir la reserva cebador 80X + sonda para la dilución de trabajo 10X con 0.1X TE	
4	Preparar la siguiente solución de reacción (por reacción): -Mezcla maestra universal 50:50 2X ABI: Mezcla maestra universal 2X AbGene -Dilución de trabajo de cebador 10X + sonda -ADN extraído (molde): 1) Muestras a analizar 2) Control negativo (ADN no transgénico) 3) Control negativo de agua (sin control de molde) 4) Control positivo de ADN MON87712 homocigótico 5) Control positivo de ADN MON87712 heterocigótico	3µl 0.6µl 2.4µl

*MGB: Unión de surco menor

Tabla 7. Condiciones de termociclador TAQMAN® de punto final de cigosidad

Ciclo N°	Ajustes
1	95oC 10 minutos
40	92oC 15 segundos 64oC 1 minuto
1	10oC para siempre

5 Tabla 8. Ejemplos de combinaciones de cebadores y sondas usadas para ensayos de cigosidad

Combinación	Tipo de	Dirección	SEQ ID NO	Secuencias
1	Cebadores	Inverso	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Directo	13	CTATTATTTGCTATAAG TATTTGATGTAAGAA
	Sonda	Alelo de tipo salvaje	14	VIC- TTGTATTAATAACAAAA AATTG
	Cebadores	Inverso	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Directo	11	CATTCTCGAGCAGGAC CTGCAGAA
	Sonda	Alelo MON87712	12	6FAM- AACACTGATAGTTTAAA CTGAAG
2	Cebadores	Inverso	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Directo	13	CTATTATTTGCTATAAG TATTTGATGTAAGAA
	Sonda	Alelo de tipo salvaje	14	VIC- TTGTATTAATAACAAAA AATTG

	Cebadores	Inverso	10	GTTTTACAATTACCTCG TTTAAGTAAATCA
		Directo	15	GTACATTCTCGAGCAG GACCTGCA
	Sonda	Alelo MON87712	12	6FAM- AACACTGATAGTTTAAA CTGAAG

Ejemplo 4: Identificación del evento MON87712 en cualquier evento de reproducción que contiene MON87712

5 Este ejemplo describe cómo uno puede identificar el evento MON87712 dentro de la progenie de cualquier evento de reproducción que contiene soja MON87712.

Los pares de cebadores de ADN del evento se usan para producir un amplicón que diagnostica el evento MON87712 de soja. Un amplicón que diagnostica MON87712

10 comprende al menos una secuencia de unión, proporcionada en la presente como la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o los complementos de estos ([A] o [B], respectivamente tal como se ilustra en la Figura 1). SEQ ID NO: 1 ([A] de la Figura

15 1) es una secuencia de nucleótidos que corresponde a la unión de la secuencia flanqueante 5' (posiciones 3495 a 3516 de la SEQ ID NO: 3 [C], véase la Figura 1) y el borde izquierdo del inserto de ADN integrado (posiciones 1 a 11 de la SEQ ID NO: 5 ([E], véase la Figura 1). SEQ ID NO: 2 ([B] de la Figura 1) es una secuencia de nucleótidos que corresponde a la unión del borde derecho del inserto de ADN integrado (posiciones 2004 a 2014 de la SEQ ID NO: 5 [E], véase la Figura 1) y la secuencia flanqueante 3'

20 (posiciones 90 a 111 de la SEQ ID NO: 4 ([D], véase la Figura 1). SEQ ID NO: 7 ([A] de la Figura 1) es una secuencia de nucleótidos que corresponde a la unión de la secuencia flanqueante 5' (posiciones 3456 a 3555 de la SEQ ID NO: 3 [C], véase la Figura 1) y el

borde izquierdo del inserto de ADN integrado (posiciones 1 a 50 de la SEQ ID NO: 5 ([E], véase la Figura 1). SEQ ID NO: 8 ([B] de la Figura 1) es una secuencia de nucleótidos que corresponde a la unión del borde derecho del inserto de ADN integrado (posiciones 1965 a 2014 de la SEQ ID NO: 5 [E], véase la Figura 1) y la secuencia flanqueante 3' (posiciones 51 a 150 de la SEQ ID NO: 4 ([D], véase la Figura 1).

Los pares de cebadores del evento que producen un amplicón que diagnostica el MON87712 incluyen pares de cebadores diseñados usando las secuencias flanqueantes (SEQ ID NO: 3 y la SEQ ID NO: 4, y la secuencia de ADN transgénica integrada (SEQ ID NO: 5). Para adquirir un amplicón de diagnóstico donde hay al menos 15 nucleótidos de la SEQ ID NO: 1, se diseñaría un cebador directo basado en la SEQ ID NO: 3 de las bases 1 a 3494 y un cebador inverso basado en la secuencia de ADN de casete de expresión insertada, SEQ ID NO: 5 de posiciones 12 a 2014, donde los cebadores tienen longitud suficiente de nucleótidos contiguos para hibridarse específicamente a la SEQ ID NO: 3 y la SEQ ID NO: 5. Para adquirir un amplicón de diagnóstico donde hay al menos 15 nucleótidos de la SEQ ID NO: 2, se diseñaría un cebador directo basado en la secuencia de ADN de casete de expresión insertada, SEQ ID NO: 5, de las posiciones 1 a 2003 y un cebador inverso basado en la secuencia flanqueante 3', SEQ ID NO: 4 de bases 12 a 2065, donde los cebadores tienen longitud suficiente de nucleótidos contiguos para hibridarse específicamente a la SEQ ID NO: 4 y la SEQ ID NO: 5. A efectos prácticos, se deberían diseñar cebadores que producen amplicones de un rango de tamaño limitado, por ejemplo, entre 100 y 1000 bases. Los amplicones de tamaño pequeño (longitud de nucleótidos más cortos) en general pueden producirse de forma más confiable en reacciones por PCR, permiten ciclos de tiempo más cortos y pueden separarse y visualizarse fácilmente en geles de agarosa o adaptarse para usarse en ensayos de tipo de TAQMAN® punto final. Además, los amplicones producidos usando pares de cebadores pueden clonarse en vectores, propagarse, aislarse y secuenciarse o pueden

ser directamente secuenciados con métodos bien establecidos en la técnica. Cualquier par de cebadores derivado de la combinación de la SEQ ID NO: 3 y la SEQ ID NO: 5 o la combinación de la SEQ ID NO: 4 y la SEQ ID NO: 5 que son útiles en el método de amplificación de ADN para producir un amplicón que diagnostica MON87712, las plantas que comprenden MON87712 o progenie de este es un aspecto de la presente invención. Cualquier molécula de cebadores de ADN aislado simple que comprende al menos 11 nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 3, o su complemento que son útiles en el método de amplificación de ADN para producir un amplicón que diagnostica MON87712, las plantas que comprenden MON87712 o progenie de este es un aspecto de la presente invención. Cualquier molécula de cebadores de ADN aislado simple que comprende al menos 11 nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 4, o su complemento que son útiles en el método de amplificación de ADN para producir un amplicón que diagnostica MON87712, las plantas que comprenden MON87712 o progenie de este es un aspecto de la presente invención. Cualquier molécula de cebadores de ADN aislado simple que comprende al menos 11 nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 5, o su complemento que son útiles en el método de amplificación de ADN para producir un amplicón que diagnostica MON87712, las plantas que comprenden MON87712 o progenie de este es un aspecto de la presente invención.

Un ejemplo de las condiciones de amplificación para este análisis se ilustra en la Tabla 4 y Tabla 5 (Ejemplo 3). Sin embargo, cualquier modificación de estos métodos o el uso de cebadores de ADN homólogos o complementarios a la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o secuencias de ADN del inserto transgénico (SEQ ID NO: 5) del evento MON87712 que producen un amplicón que diagnostica MON87712 está dentro del alcance de la presente descripción. Un amplicón de diagnóstico comprende una molécula de ADN homóloga o complementaria a al menos un ADN de unión genómica/transgénica (SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, al menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o al

menos 51 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o los complementos de estos), o una porción sustancial de estos.

Un análisis para el ADN del evento MON87712 en una muestra debería incluir un control positivo del evento MON87712, un control negativo de una planta de soja que no contiene el evento MON87712, por ejemplo, de modo no taxativo control de tipo salvaje, y un control negativo que no contiene ningún ADN genómico de soja. Un par de cebadores que amplificará una molécula de ADN endógeno de soja servirá como control interno de las condiciones de amplificación de ADN. Las secuencias de cebadores adicionales pueden seleccionarse de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, o la SEQ ID NO: 5 por los expertos en la técnica de métodos de amplificación de ADN, y las condiciones seleccionadas para la producción de un amplicón mediante los métodos mostrados en la Tabla 4 y Tabla 5 pueden diferir, pero provocan un amplicón que diagnostica el ADN del evento MON87712. El uso de estas secuencias de cebadores de ADN con modificaciones de los métodos de la Tabla 4 y Tabla 5 se encuentran dentro del alcance de la invención. El amplicón producido por al menos una secuencia de cebadores de ADN derivado de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, o la SEQ ID NO: 5 que diagnostica MON87712 es un aspecto de la invención.

Los kits de detección de ADN que contienen al menos un cebador de ADN derivado de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, o la SEQ ID NO: 5, que cuando se usan en un método de amplificación de ADN, produce un amplicón que diagnostica MON87712, las plantas que comprenden MON87712 o progenie de estas es un aspecto de la presente invención. Una planta o semilla de soja, cuando su ADN genómico produce un amplicón que diagnostica MON87712 cuando se prueba en un método de amplificación de ADN es un aspecto de la invención. El ensayo para el amplicón MON87712 puede llevarse a cabo usando un AppliedBiosystemsGeneAmp PCR System 9700, ABI 9800 FastThermalCycler y

MJ Opticon, StratageneRobocycler, MJ Engine, termocicladorPerkin-Elmer 9700 o EppendorfMastercyclerGradient o cualquier otro sistema de amplificación que puede usarse para producir un amplicón que diagnostica MON87712.

- 5 Se realizó un depósito del evento MON87712 de soja que comprende la semilla descrita anteriormente y mencionada en las reivindicaciones, conforme al Tratado de Budapest en American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA. 20110. La fecha de depósito es 20 de agosto de 2009 y el número de acceso de ATCC es PTA-10296. Tras la expedición de una patente, se retirarán todas las
- 10 restricciones tras el depósito, y el depósito pretende cumplir con todos los requisitos de 37 C.F.R. §§ 1.801-1.809. El depósito se mantendrá en el depositario durante un período de 30 años, o 5 años tras la última solicitud, o durante la vida efectiva de la patente, el período más extenso, y se reemplazará de ser necesario durante ese período.

- 15 Tras ilustrar y describir los principios de la presente invención, debe ser aparente para los expertos en la técnica que la invención puede modificarse en arreglo y detalle sin alejarse de dichos principios. Se reivindica que todas las modificaciones se encuentran dentro del espíritu y alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ADN recombinante que comprende:
 - a) una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que se selecciona
5 del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2;
 - b) una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 7 y la SEQ ID NO: 8;
 - c) una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia complementaria a
10 a) o b).
2. La molécula de ADN de la reivindicación 1, donde dicha molécula de ADN deriva del evento MON87712, como una muestra representativa de la semilla que comprende el evento MON87712 que fue depositado con el N° de acceso ATCC PTA-
15 10296.
3. La molécula de ADN de la reivindicación 1, donde dicha molécula de ADN se encuentra comprendida en una planta, célula de planta, semilla, planta de progenie, parte de planta o un producto básico de soja.
20
4. La molécula de ADN de la reivindicación 1, donde dicha molécula de ADN es un amplicón producido a partir de una molécula molde derivada del ADN del evento MON87712.
- 25 5. Una sonda de polinucleótido que diagnostica la presencia de ADN del evento MON87712, donde dicha sonda de polinucleótido tiene la longitud suficiente para unirse a una molécula de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO:

2, o al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 8, complementos de estas, y donde dicha sonda de polinucleótido se hibrida en condiciones de hibridación severas con una molécula de ADN que comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, o al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 8, complementos de estas, y no se hibrida en condiciones de hibridación severas con una molécula de ADN que no comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, o al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 8, o complementos de estas.

10 6. Un método para detectar la presencia de una molécula de ADN derivada del evento MON87712 en una muestra de ADN, dicho método comprende:

- a) poner en contacto dicha muestra de ADN con la sonda de polinucleótido de la reivindicación 5;
- b) someter dicha muestra de ADN y dicha sonda de polinucleótido a
15 condiciones de hibridación severas; y
- c) detectar la hibridación de dicha sonda de polinucleótido a dicha molécula de ADN derivada del evento MON87712 en dicha muestra de ADN.

20 7. Un par de moléculas de ADN que comprende una primera molécula de ADN y una segunda molécula de ADN diferente de la primera molécula de ADN para funcionar como cebadores de ADN cuando se utilizan juntas en una reacción de amplificación con un molde derivado de un evento MON87712 para producir un amplicón que diagnostica el ADN del evento MON87712 en una muestra.

25 8. El par de moléculas de ADN de la reivindicación 7, donde dicho amplicón comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia

que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8.

- 5 9. Un método para detectar la presencia de una molécula de ADN derivada del evento MON87712 en una muestra de ADN, dicho método comprende:
- a) poner en contacto dicha muestra de ADN con dicho par de moléculas de ADN de la reivindicación 7;
- b) realizar una reacción de amplificación para producir un amplicón que
- 10 comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8, o complementos de estas; y
- 15 c) detectar dicho amplicón.

10. Un kit de detección de ADN que comprende al menos una molécula de polinucleótido capaz de funcionar como cebador de ADN o sonda de polinucleótido específico para la detección de la presencia de ADN derivado del evento MON87712,
- 20 donde la detección de dicho ADN diagnostica la presencia de dicha ADN de MON87712 en una muestra.

11. El kit de detección de ADN de la reivindicación 10, donde la al menos una molécula de polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1, la
- 25 SEQ ID NO: 2, una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y una molécula

de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8.

12. Una planta, semilla, célula o parte que contiene ADN de estas que
5 comprende una molécula de ADN de la reivindicación 1.

13. Parte de una planta de la planta de la reivindicación 12, donde dicha parte
de una planta se selecciona del grupo que consiste en polen, óvulo, flor, vaina, hoja, raíz,
tallo y brote.

10
14. Una planta, semilla, célula o parte de estas que contiene el evento
MON87712, una muestra representativa de la semilla que comprende el evento
MON87712 que fue depositado con el N° de acceso ATCC PTA-10296.

15
15. La planta o semilla de la reivindicación 14, donde dicha planta o semilla
proporciona un rendimiento aumentado.

16. Una planta o semilla de soja híbrida donde al menos un progenitor deriva
de una soja que comprende el evento MON87712.

20
17. Un material de planta inanimado derivado de MON87712 que comprende la
molécula de ADN de la reivindicación 1.

18. Un microorganismo que comprende la molécula de ADN de la
25 reivindicación 1.

19. El microorganismo de la reivindicación 18, donde dicho microorganismo es una célula de planta.

20. Un producto básico que comprende la molécula de ADN de la reivindicación 5 1.

21. El producto básico de la reivindicación 20 que se selecciona del grupo que consiste en semilla entera o procesada, alimentos para animal, aceite, harina, harina, copos, salvado, concentrado de proteínas, aislados de proteínas de soja, proteína de soja 10 hidrolizada, biomasas y combustibles.

22. Un método para producir una planta de soja con rendimiento aumentado que comprende:

- 15 a) autofecundar una planta de soja que comprende MON87712, produciendo así una semilla;
- b) cultivar dicha semilla para producir una pluralidad de planta de progenie; y
- c) seleccionar una planta de progenie que comprende MON87712 o una planta de progenie con un rendimiento aumentado.

20 23. Un método para producir una planta de soja con rendimiento aumentado que comprende:

- a) cruzar una planta de soja que comprende MON87712 con una segunda planta de soja, produciendo así una semilla;
- b) cultivar dicha semilla para producir una pluralidad de plantas de progenie; y
- 25 c) seleccionar una planta de progenie que comprende MON87712 o una planta de progenie con un rendimiento aumentado.

24. Un método para determinar la cigosidad de un genoma de planta de soja que comprende el ADN del evento MON87712 de soja en una muestra que comprende:

- a) poner en contacto la muestra con tres cebadores diferentes que
 - i) al usarse juntos en una reacción de amplificación de ácido nucleico con el
- 5 ADN del evento MON87712 de soja, produce un primer amplicón que diagnostica el evento MON87712 de soja; y

- ii) al usarse juntos en una reacción de amplificación de ácido nucleico con el
- ADN genómico de soja que no es ADN de MON87712, produce un segundo amplicón que diagnostica el ADN genómico de tipo salvaje de soja que no es ADN del evento
- 10 MON87712; y

- b) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico; y
 - c) detectar dicho primer amplicón y dicho segundo amplicón;

donde la presencia de dicho primer y segundo amplicón diagnostica un genoma heterocigótico en dicha muestra, y donde la presencia de solamente dicho primer

15 amplicón diagnostica un genoma homocigótico en dicha muestra.

25. El método de la reivindicación 24, donde los tres cebadores diferentes comprenden la SEQ ID NO: 10, la SEQ ID NO: 11 o 15, y la SEQ ID NO: 13.

20 26. Un método para aumentar el rendimiento en un cultivo que comprende:

- a) plantar una semilla o planta de cultivo que comprende el evento
- MON87712; y
- b) cultivar dicha semilla o planta de cultivo.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una soja transgénica que comprende el evento MON87712 que exhibe un rendimiento aumentado. La invención también
5 proporciona células, partes de plantas, semillas, plantas, productos básicos relacionados con el evento, y moléculas de ADN que son únicas para el evento y se crearon mediante la inserción de ADN transgénico en el genoma de una planta de soja. La invención además proporciona métodos para detectar la presencia de dichas secuencias de nucleótidos del evento de soja en una muestra, sondas y cebadores para su uso en la
10 detección de las secuencias de nucleótidos que diagnostican la presencia de dicho evento de soja.

15

20

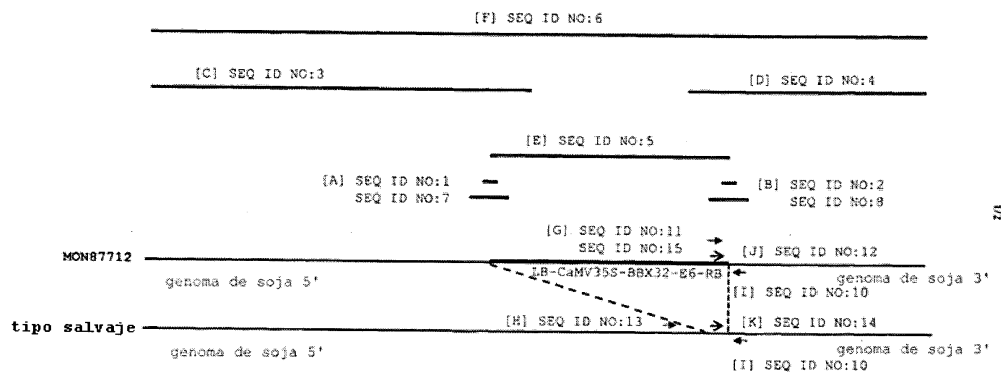


Figura 1

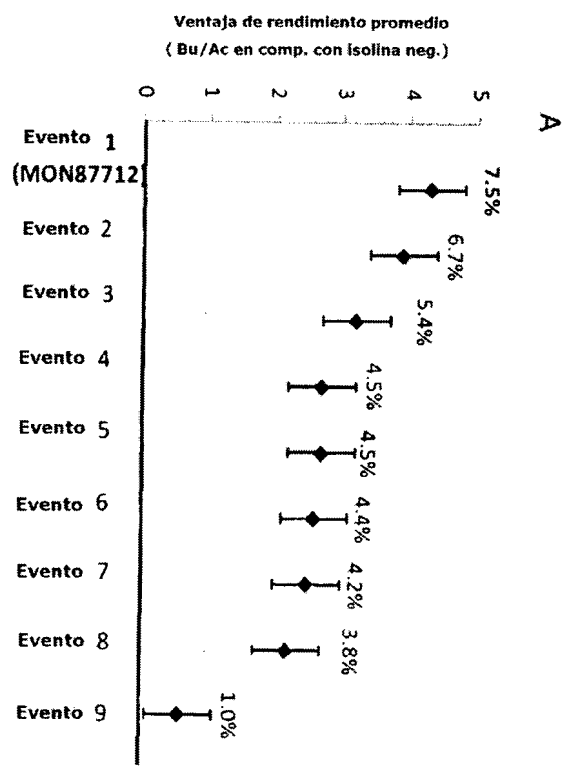
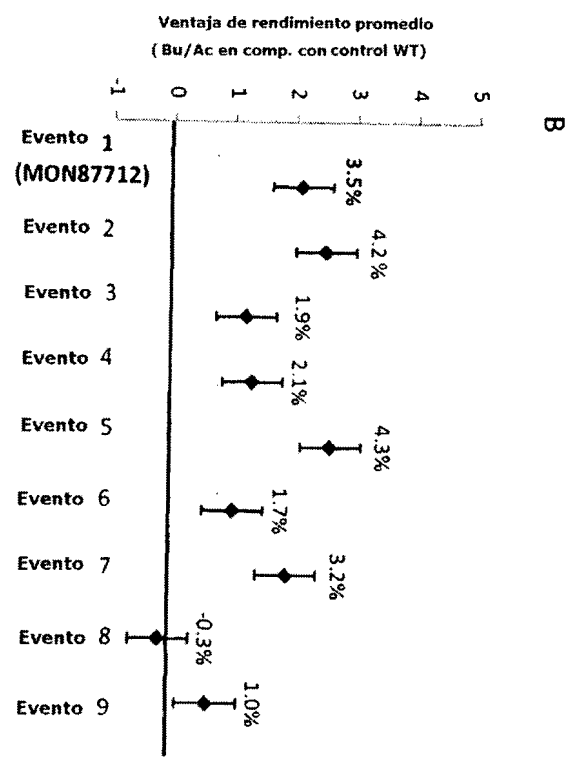


Figura 2



LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Monsanto Technology LLC

Cole, Robert H.

Korte, John A.

Ledeaux, John R.

Spears, Melissa C.

Wu, Kunsheng

<120> Planta y semilla de soja que corresponden al evento transgénico MON87712
Y métodos para la detección del mismo

<130> MONS:299WO

<140> desconocido

<141> 2011-04-29

<150> 61/392,267

<151> 2010-10-12

<150> 61/393,448

<151> 2010-10-15

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> union 5'

<400> 1

ctataagtat ttgatggtca at

<210> 2
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> unión 3'

<400> 2
tcagtgtttg atttacttaa ac 22

<210> 3
<211> 3605
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> flanqueo 5' + inserto 100 bp

<220>
<221> misc_feature
<222> (3451)..(3463)
<223> La secuencia en la posición 3451 a 3463 puede contener residuos c adicionales que incluyen , por ejemplo, de 13 a 100 o más residuos c consecutivos totales.

<400> 3
gtcgtcgaag gtgtgtcgtt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat 60

ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc 120

atggctctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatgggtcgt 180

tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttgg ttcaaaccta aatacaaaag aagggtacac 240

aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt 300

actcttacct tccacccctg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag gggtctttca 360

tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat 420

acatatttaa attttcactt ttaaataatat ctaaaaaatc tttaatacaa taataagtat 480

aacaatttaa tatatatata tatcattata tttacaacg ttaaccatta aaatttcctt 540

atgtgtttaa ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat 600

gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa 660

aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg 720

aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta 780

catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaacia catttttatg gacatatatt 840

cgtcggaaca ctctatcggt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata 900

tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat 960

taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat 1020

atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga 1080

aggccctcaa cctagtgttg gaggttgaca tgggtggctat agaataaata ggtgggtgaa 1140

tccttgataa ggtaagggtg tttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat 1200

caattttaga tacaaccaca cttccttcat aggggttaatt ggagtctccc tgagtggta 1260

agggtgact atgttaaggg atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaaa atctccttgg 1320

agtaaagtgt caacatgtca tatcataata catagacatg tgcattttacc tttatgaata 1380

aagaagaatg acatgttact atatgagtta tggaaatgct ttgatgtatg atgattgaat 1440

ctttatgtaa tgcttgatga actaacgatt ataagattga ccttaaaaca acaaagatta 1500

ataacaattg ctataaaaca aacttgtatt ttatcttcgt tacctttctt aataatgaaa	1560
aataatttga aaaaagcgag tatggccata aggcacatag tttttcaatt gtatatacat	1620
atcatatgat gtcttcttat cttatcatgt gttttggctt tttagcttgg aaagcgtgaa	1680
aaatttataa gtattttcac aattaaatta atagaagggg tttaaaagaa ttaaaataaa	1740
gtcttccgct tgagtagttc ttagtggtat ataaccatga caaatcatta caattacaag	1800
taagaaagac atatttaagg caaaaatag tcttcgacta tcggttaagg acattattag	1860
tgcattcaaa aaagaaaaaa aacaaaaaca aaattttttt attgtagcca actagaatat	1920
aaagatgttg aagcaggtta ttgtacaaaa gttaattatt ggcaaatacg acaggatatt	1980
tgtatTTTTT attttgccat aacattgata caaaatattt acatacttta ttgatgacta	2040
atatttttta agaaacctaa ctaaactatc tataataaag tctctcattt taattacatt	2100
tttgTTTTca ttgatgagac ttgaacaaaa acctttTgtca agggatcaaa cacaattctc	2160
cacacaaacc aataaatcaa catgtttggt taaagttgag attagagata ctaattcata	2220
cttataacat agcataaaat atttatatta ttTgaaaaat aaaataagtc agaaagaaat	2280
aatataagat tcttttTgtt aattaaatga ttagaaagaa aaataaatag tataaaataa	2340
ttttaggtta attatttatt ttaactctat agttatctcc tttttaagat ttagttttgt	2400
acgaaaaaaa tataaattgt aattcttata tatacataaa agttaaattt taccaaaagc	2460
attaaacttt ttaatctatt attatttttc taacatgaaa ctattaaata ttaattttta	2520
ttttttatgt tataaagaaa tttatttaac tttttaagaa taaaaattaa aaatgaaaa	2580
gagattttat tctctttatt tatgccacag gcagggacag aggcagaaat aaacattagg	2640

gggccaattt tgaaattaaa atttatctaa ttaaaaaatg tatgagtatt aattttaaac 2700

aaactactgc taatatgttt ttccaaaaa aaattcaatg acatataata gaaatatatt 2760

cacataaaaag acaaattaaa catttaaaaa atctattaca aatgtcattt gacatgctac 2820

catgatttag tttctaatat ttactttgtt ttccaaaat ctagtcaata gtgtgcctag 2880

accatgcact caatgttaaa agcatgtagg agcatcacia tgacaataaa atcaagataa 2940

tattttatat aatgttcata attagcttg tcccatagac aaagattact aaataatttt 3000

aacttctcaa ataaattata atcaaatcaa tataaaggaa gaataataat gtcttttaat 3060

cacaaatgca ataatttata acctttaaaa tagtataaaa aattataaaa ataaaattta 3120

tgaaaaaat aatgagact taaatttttt taaaaagaca aatgtaaaa tttttacaat 3180

aaaatctact aaaaagaaat agaataattg ttttaaaaaa aataaaaatg tcattatagt 3240

tatgcaaac tataaaggat aattgattat tttattaaaa aaataaaaat aacattttta 3300

tataattatt tttataatta aacttttaaa aaataattat ctaaatttta aaatattatg 3360

tatattaaaa aataaaacta aaaaaaaaag ttaggggggc ctgcacctc cgtatctggc 3420

cgcaggagaa gttatcacat gagtttcgcg ccccccccc cccgccgcc cctatttttt 3480

ttttctatta ttgctataa gtatttgatg gtcaatatgg agaaaaagaa agagtaatta 3540

ccaatttttt ttcaattcaa aatgtagat gtccgcagcg ttattataaa atgaaagtac 3600

athtt 3605

<210> 4

<211> 2065

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> flanqueo 3'+ inserto 100 bp

<400> 4

ataaaaatgt gagtacattc tcgagcagga cctgcagaag ctagcttgat ggggatcaga	60
ttgtcgtttc ccgccttcag tttaaactat cagtgtttga ttactttaa cgaggtaatt	120
gtaaaactta aacttgatat agttaaatgt tatatatata tatatataat acttaactta	180
tttaattatc aaaatttatt ttgaaccaa cttttactaa tttaatatta atttattttt	240
ttgttaaaaa ggcaagtaaa gtaataaaaa aattcataaa atgatttaaa attatagagt	300
gataaactta tcttttttag tacataaaat ttcaaaaacg gagaccatga tgtctttagg	360
attaaaaagt aattaaagga aaaatgtaaa aaaaaaaaag ttaaggaact aaaaataagg	420
ataaaaagtt aaagaatggt gatcaataaa aaaaaagagt tcaataacta aaaacaaaaa	480
tcctaaaaat attagtgact agtaaatact aatcttgaac aacgttctat caataattca	540
attaaagatc gagtgaagga agaatgcttc tttaaaaata aactaataaa gagatatata	600
catttcatac ttttttttat cacgtataca tttctctctt aaaaaccat atatacattt	660
ctaaagaaaa tattgcacat ttctactttc aaaatacatt tgacggtaac atgtagatgg	720
agggaaaaat tatggttttt catttttatt ttagtggttaa tttattttta ttattatttt	780
ttttatctta ttgatagcc tgacattttt ttgatttggt tttttattaa ttgtgtgtaa	840
agacaaagta ttagatttgt gcaaataaac taggtcaaga ctaaagtta tttaatttta	900
aagactagac tttagatcat ttaaaaaaaaa ttttaagtct aacatgtcaa cctattttaag	960
taaatgtaag tatttaattt ttgttggtat tttttataat ggataggtat tcagttgggt	1020

caagaacccc ataaccatcc ctactaaata ggtatccagt cttaccccca attggccccc	1080
acaaacaggt gattaaaccc ataataaaaa aagtgaattg attaagggaa aagagaagtt	1140
taggccactt aaacccaat tatggaagaa ttacctagac ggtaatccaa gcacaaaggt	1200
ccatggttca aggccacaa atgtttgtat aaataggggg aaaaccctaa gtaatgacca	1260
ttgttcgttt gatgtgcatt ttattgcctt gcttactact cacaattgaa ctctgactta	1320
agcgtttgag tatcttttgc aagtatcccc cccttgggtc atcttatttg gcacgtgaag	1380
aagacaaagt ccaaaggcag gacccttcta ttagagggac agtgtccgac cattatttgg	1440
taggaatatt ttggcacccc aaagtaagat agtccttgac cctaagaatt atggcaatca	1500
cacgcacaag aaccaacata gcagcaaaaa ccaacttggg aatcattagc ctgaagaagt	1560
ccatgtagag ggctagattg acttatcctt aatggtgagg aggctacaag cacaagtatt	1620
agatatgcgt caacatcatg tcgaagaggt cattaccctt tgacaagaaa atgcacaact	1680
acaagagggg aaccgttcct agaaacccga aaatgaaaca cctgttggag cggaggtaga	1740
gtcaaccaat tttagatgc caaaagccac caatgttagt gtttggcagg atacacaccc	1800
tcagttcata aatatgttag ggaagcaact acagtagttc aagaacacct ttttcctcgg	1860
tgatcatgaa gccaccctcc ttcccaacta gaagaacctc accatcgaga agtactatgg	1920
taccactaac ccatatgagc accttgacgt ttatatcacc caagtcagcc tgtacactat	1980
ggataatggt gtcttatgcc aggtgttccc tacatctttg aaggggtaga tcctccatta	2040
gttcacccac ctccctcccc caaca	2065

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> inserto

<400> 5

tgatggtcaa tatggagaaa aagaaagagt aattaccaat tttttttcaa ttcaaaaatg	60
tagatgtccg cagcgttatt ataaaatgaa agtacatttt gataaaacga caaattacga	120
tccgtcgtat ttataggcga aagcaataaa caaattattc taattcggaa atctttat	180
cgacgtgtct acattcacgt ccaaatgggg gcttagatga gaaacttcac gatttggcgc	240
gccaaagctt gatatcgaat tcctgcagcc cccttaaagg gggggatccg gtccgatgtg	300
agacttttca acaaagggtg atatccggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	360
gtcactttat tgtgaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	420
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	480
cacccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	540
attgatgtga tgggtccgatt gagacttttc aacaaagggg aatatccgga aacctcctcg	600
gattccattg cccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaaaag gaaggtggct	660
cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca	720
gtggtcccaa agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa	780
ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac	840
aatcccacta tccttcgcaa gacccttcct ctatataagg aagttcattt catttggaga	900
ggaccaggtg gtaccggcgc gccaccatgg tgagcttttg cgagctttgt ggtgccgaag	960

ctgatctcca ttgtgccgcg gactctgcct tcctctgccg ttcttgtgac gctaagttcc 1020
atgcctcaaa ttttctcttc gtcgtcatt tccggcgtgt catctgccca aattgcaaat 1080
ctcttactca aaatttcgtt tctggtcctc ttcttccttg gcctccacga acaacatgtt 1140
gttcagaatc gtcgtcttct tcttgcgtgt cgtctcttga ctgtgtctca agctccgagc 1200
tatcgtcaac gacgcgtgac gtaaacagag cgcgagggag ggaaaacaga gtgaatgccca 1260
aggccgttgc ggttacggtg gcggatggca tttttgtaa ttggtgtggt aagttaggac 1320
taaacagggg ttaacaaac gctgtcgttt catatgcgtc tttggctttg gctgtggaga 1380
cgaggccaag agcgacgaag agagtgttct tagcggcggc gttttggttc ggcgttaaga 1440
acacgacgac gtggcagaat ttaaagaaag tagaagatgt gactggagtt tcagctggga 1500
tgattcgagc ggttgaaagc aaattggcgc gtgcaatgac gcagcagctt agacggtggc 1560
gcgtggattc ggaggaagga tgggctgaaa acgacaacgt ttaggcgatc gcgggccctg 1620
atcacctgtc gtacagtatt tctacatttg atgtgtgatt tgtgaagaac atcaaacaaa 1680
acaagcactg gctttaatat gatgataagt attatggtaa ttaattaatt ggcaaaaaca 1740
acaatgaagc taaaatttta tttattgagc cttgcggtta atttcttgtg atgatctttt 1800
ttttattttt ctaattatat atagtttcct ttgctttgaa atgctaaagg tttgagagag 1860
ttatgctctt ttttcttcc tctttctttt ttaactttat catacaaatt ttgaataaaa 1920
atgtgagtac attctcgagc aggacctgca gaagctagct tgatggggat cagattgtcg 1980
tttccgcct tcagtttaaa ctatcagtgt ttga 2014

<210> 6

<211> 7484

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> flanqueos + insertos

<220>

<221> misc_feature

<222> (3451)..(3463)

<223> La secuencia en las posiciones 3451 a 3463 puede contener residuos c adicionales que incluyen, por ejemplo, de 13 a 100 o más residuos c consecutivos totales.

<400> 6

gtcgtcgaag gttgtgtcgtt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat	60
ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc	120
atgggtctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatggtcgt	180
tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttgg ttcaaacctt aatacaaaag aagggtacac	240
aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt	300
actcttacct tccacccttg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag gggtctttca	360
tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat	420
acatatttaa attttcactt ttaaataat ctaaaaaatc ttttaatcaa taataagtat	480
aacaatttaa tatatatata tatcattata tttacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540
atgtgtttaa ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780

catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaaca cttttttatg gacatatatt	840
cgtcggaaca ctctatcggt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900
tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960
taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020
atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga	1080
agccctcaa cctagtgttg gaggttgaca tgggtgctat agaatgaata ggtgggtgaa	1140
tccttgataa ggttaagggtg ttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat	1200
caattttaga tacaaccaca cttccttcat aggggttaatt ggagtctccc tgagtgggtca	1260
aggtgtgact atgttaaggg atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaaa atctccttgg	1320
agtaaagtgt caacatgtca taccataata catagacatg tgcatttacc tttatgaata	1380
aagaagaatg acatgttact atatgagtta tggaaatgct ttgatgtatg atgattgaat	1440
ctttatgtaa tgcttgatga actaacgatt ataagattga ccttaaaaca acaaagatta	1500
ataacaattg ctataaaaca aacttgattt ttatcttcgt tacctttctt aataatgaaa	1560
aataatttga aaaaagcgag tatggccata aggcacatag tttttcaatt gtatatacat	1620
atcatatgat gtcttcttat cttatcatgt gttttggctt tttagcttgg aaagcgtgaa	1680
aaatttataa gtattttcac aattaaatta atagaagggg tttaaaagaa ttaaaataaa	1740
gtcttccgct tgagtagttc ttagtggtat ataaccatga caaatcatta caattacaag	1800
taagaaagac atattttaagg caaaaaatag tcttcgacta tcggttaagg acattattag	1860
tgatttcaaa aaagaaaaaa aacaaaaaca aaattttttt attgtagcca actagaatat	1920

aaagatgttg aagcaggtta ttgtacaaaa gttaattatt ggcaaatatg acaggtatTT 1980

tgtatTTTTT atTTtgccat aacattgata caaaatattt acatacttta ttgatgacta 2040

atattTTTTa agaaacctaa ctaaactatc tataataaag tctctcattt taattacatt 2100

tttgttttca ttgatgagac ttgaaccaa accTTtgTca agggatcaaa cacaattctc 2160

cacacaaacc aataaatcaa catgTTtgTt taaagttgag attagagata ctaattcata 2220

cttataacat agcataaaat atttatatta tttgaaaaat aaaataagtc agaaagaaat 2280

aatataagat tctTTtgTtt aattaaatga ttagaaagaa aaataaatag tataaaataa 2340

ttttaggtta attatttatt ttaactctat agttatctcc tttttaagat ttagttttgt 2400

acgaaaaaaa tataaattgt aattcttata tatacataaa agttaaattt taccaaaagc 2460

attaaacttt ttaatctatt attatttttc taacatgaaa ctattaaata ttaattttaa 2520

ttttttatgt tataaagaaa tttatttaac tttttaagaa taaaaattaa aaatgaaaa 2580

gagattttat tctctttatt tatgccacag gcagggacag aggcagaaat aaacattagg 2640

gggccaattt tgaaattaa atttatctaa ttaaaaaatg tatgagtatt aattttaaac 2700

aaactactgc taatatgttt tttccaaaa aaattcaatg acatataata gaaatatatt 2760

cacataaaag acaaattaa catttaaaaa atctattaca aatgtcattt gacatgctac 2820

catgatttag tttctaatat ttactttgtt tttccaaat ctagtcaata gtgtgcctag 2880

accatgcact caatgttaaa agcatgtagg agcatcacia tgacaataaa atcaagataa 2940

tattttatat aatgttcata attagcttg tcccatagac aaagattact aaataatttt 3000

aacttctcaa ataaattata atcaaatcaa tataaaggaa gaataataat gtcttttaat 3060

cacaaatgca ataatttata accTTtaaaa tagtataaaa aattataaaa ataaaattta 3120

tgaaaaaaat aaatgagact taaatttttt taaaaagaca aaatgtaaaa tttttacaat	3180
aaaatctact aaaaagaaat agaataattg ttttaaaaaa aataaaaatg tcattatagt	3240
tatgcaaaac tataaaggat aattgattat tttattaaaa aaataaaaat aacattttta	3300
tataattatt tttataatta aactttttaa aaataattat cttaaatttta aaatattatg	3360
tatattaaaa aataaaacta aaaaaaaaag ttaggggggc ctcgcacctc cgtatctggc	3420
cgcaggagaa gttatcacat gagtttcgcg ccccccccc cccgccgccc cctatttttt	3480
ttttctatta tttgctataa gtatttgatg gtcaatatgg agaaaaagaa agagtaatta	3540
ccaatttttt ttcaattcaa aaatgtagat gtccgcagcg ttattataaa atgaaagtac	3600
attttgataa aacgacaaat tacgatccgt cgtatttata ggcgaaagca ataaacaaat	3660
tattctaatt cggaaatctt tatttcgacg tgtctacatt cacgtccaaa tgggggctta	3720
gatgagaaac ttcacgattt ggcgcgccaa agcttgatat cgaattcctg cagccccctt	3780
aaaggggggg atccggtccg atgtgagact tttcaacaaa gggtaatatc cggaaacctc	3840
ctcggattcc attgcccagc tatctgtcac tttattgtga agatagtgga aaaggaaggt	3900
ggctcctaca aatgccatca ttgcgataaa ggaaaggcca tcgttgaaga tgcctctgcc	3960
gacagtggtc ccaaagatgg acccccaccc acgaggagca tcgtggaaaa agaagacgtt	4020
ccaaccacgt cttcaaagca agtggattga tgtgatggtc cgattgagac ttttcaacaa	4080
agggtaatat ccggaacct cctcggattc cattgcccag ctatctgtca ctttattgtg	4140
aagatagtgg aaaaggaagg tggctcctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggcc	4200
atcgttgaag atgcctctgc cgacagtggc ccaaagatg gacccccacc cacgaggagc	4260

atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg ttttcaaagc aagtggattg atgtgatatc 4320

tccactgacg taagggatga cgacacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttcctctata 4380

taaggaagtt catttcattt ggagaggacc aggtgggtacc ggcgcgccac catggtgagc 4440

ttttgcgagc tttgtggtgc cgaagctgat ctccattgtg ccgcggactc tgccttcctc 4500

tgccgttctt gtgacgctaa gttccatgcc tcaaattttc tcttcgctcg tcatttccgg 4560

cgtgtcatct gcccaaattg caaatctctt actcaaaatt tcgtttcttg tcctcttctt 4620

ccttggcctc cacgaacaac atgttggtca gaatcgtcgt cttcttcttg ctgctcgtct 4680

cttgactgtg tctcaagctc cgagctatcg tcaacgacgc gtgacgtaaa cagagcgcg 4740

gggagggaaa acagagtga tgccaaggcc gttgcggtta cgggtggcgga tggcattttt 4800

gtaaattggt gtggttaagt aggactaaac agggatttaa caaacgctgt cgtttcatat 4860

gcgtcttttg ctttggctgt ggagacgagg ccaagagcga cgaagagagt gttcttagcg 4920

gcggcgtttt ggttcggcgt taagaacacg acgacgtggc agaatttaaa gaaagtagaa 4980

gatgtgactg gagtttcagc tgggatgatt cgagcggttg aaagcaaatt ggcgcgtgca 5040

atgacgcagc agcttagacg gtggcgcgtg gattcggagg aaggatgggc tgaaaacgac 5100

aacgtttagg cgatcgcggg ccctgatcac ctgtcgtaca gtatttctac atttgatgtg 5160

tgatttgtga agaacatcaa acaaaacaag cactggcttt aatatgatga taagtattat 5220

ggtaattaat taattggcaa aaacaacaat gaagctaaaa ttttatttat tgagccttgc 5280

ggttaatttc ttgtgatgat cttttttttt attttctaata tatatatagt ttcctttgct 5340

ttgaaatgct aaaggtttga gagagttatg ctcttttttt cttcctcttt cttttttaac 5400

tttatcatac aaattttgaa taaaaatgtg agtacattct cgagcaggac ctgcagaagc 5460

tagcttgatg gggatcagat tgtcgtttcc cgccttcagt ttaaactatc agtgtttgat	5520
ttacttaaac gaggtaattg taaaacttaa acttgatata gttaaatggt atatatatat	5580
atatataata cttaacttat ttaattatca aaatttatTT tgaaccaaac ttttactaat	5640
ttaatattaa tttatTTTT tgttaaaaag gcaagtaaag taataaaaaa attcataaaa	5700
tgatttaaaa ttatagagtg ataaacttat cttttttagt acataaaatt tcaaaaacgg	5760
agaccatgat gtcttttagga ttaaaaagta attaaaggaa aaatgtaaaa aaaaaaagt	5820
taaggaacta aaaataagga taaaaagtta aagaatgttg atcaataaaa aaaaagagtt	5880
caataactaa aaacaaaaat cctaaaaata ttagtgacta gtaaatacta atcttgaaca	5940
acgttctatc aataattcaa ttaaagatcg agtgaaggaa gaatgcttct ttaaaaataa	6000
actaataaag agatatatac atttcatact tttttttatc acgtatacat ttctctctta	6060
aaaaaccata tatacatttc taaagaaaat attgcacatt tctactttca aaatacattt	6120
gacggtaaca tgtagatgga gggaaaaatt atgggttttc atttttattt tagtgttaat	6180
ttatTTTTat tattatTTTT tttatcttat ttgatagcct gacatTTTT tgatttgttt	6240
ttttattaat tgtgtgtaaa gacaaagtat tagatttggt caaataaact aggtcaagac	6300
taaagtttat ttaattttta agactagact ttagatcatt taaaaaaaa ttttaagtcta	6360
acatgtcaac ctatttaagt aaatgtaagt atttaatttt tgttggtatt ttttataatg	6420
gataggtatt cagttggttc aagaacccca taaccatccc tactaaatag gtatccagtc	6480
ttacccccaa ttggcccca caaacagggt attaaacca taataaaaaa agtgaattga	6540
ttaagggaaa agagaagttt aggccactta aacccaatt atggaagaat tacctagacg	6600

gtaatccaag cacaaaggtc catggttcaa ggcccacaaa tgtttgata aataggggga 6660
aaaccctaag taatgaccat tgttcgtttg atgtgcattt tattgccttg cttactactc 6720
acaattgaac tctgacttaa gcgtttgagt atcttttgca agtatcccc ccttgggtca 6780
tcttatttgg cacgtgaaga agacaaagtc caaaggcagg acccttctat tagagggaca 6840
gtgtccgacc attatttggg aggaatattt tggcacccca aagtaagata gtccttgacc 6900
ctaagaatta tggcaatcac acgcacaaga accaacaatag cagcaaaaac caacttggga 6960
atcattagcc tgaagaagtc catgtagagg gctagattga cttatcctta atggtgagga 7020
ggctacaagc acaagtatta gatatgcgtc aacatcatgt cgaagaggtc attacccttt 7080
gacaagaaaa tgcacaacta caagagggtg accgttccta gaaacccgaa aatgaaacac 7140
ctgttgagc ggaggtagag tcaaccaatt ttgagatgcc aaaagccacc aatgttagtg 7200
tttggcagga tacacaccct cagttcataa atatgttagg gaagcaacta cagtagttca 7260
agaacacctt tttcctcggg gtcattggaag ccaccctcct tcccaactag aagaacctca 7320
ccatcgagaa gtactatggg accactaacc catatgagca ccttgacgtt tatatcacc 7380
aagtcagcct gtacactatg gataatgttg tcttatgccg ggtgttcctt acatctttga 7440
aggggtagat cctccattag ttcaccacc tccctcccc aaca 7484

<210> 7

<211> 100

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> unión 5' más larga

<400>	7		
cccccccgcg	cgccccctat	tttttttttc	tattatttgc tataagtatt tgatggtcaa 60
tatggagaaa	aagaaagagt	aattaccaat	tttttttcaa 100
<210>	8		
<211>	100		
<212>	ADN		
<213>	Secuencia artificial		
<220>			
<223>	unión 3' más larga		
<400>	8		
ggggatcaga	ttgtcgtttc	ccgccttcag	tttaaactat cagtgtttga ttacttaaa 60
cgaggtaatt	gtaaaactta	aacttgatat	agttaaattgt 100
<210>	9		
<211>	1644		
<212>	ADN		
<213>	Secuencia artificial		
<220>			
<223>	casete BBX32		
<400>	9		
ggtccgatgt	gagacttttc	aacaaaggg	aatatccgga aacctcctcg gattccattg 60
cccagctatc	tgtcacttta	ttgtgaagat	agtggaaaag gaaggaggct cctacaaatg 120
ccatcattgc	gataaaggaa	aggccatcgt	tgaagatgcc tctgccgaca gtggtcccaa 180
agatggaccc	ccaccacga	ggagcatcgt	ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc 240
aaagcaagtg	gattgatgtg	atgggtccgat	tgagactttt caacaaagg taatatccgg 300

aaacctcctc ggattccatt gcccagctat ctgtcacttt attgtgaaga tagtggaana 360

ggaaggtggc tcctacaaat gccatcattg cgataaagga aaggccatcg ttgaagatgc 420

ctctgccgac agtgggtccca aagatggacc cccacccacg aggagcatcg tggaaaaaga 480

agacgttcca accacgtctt caaagcaagt ggattgatgt gatatctcca ctgacgtaag 540

ggatgacgca caatcccact atccttcgca agacccttcc tctatataag gaagttcatt 600

tcatttggag aggaccaggt ggtaccggcg cgccaccatg gtgagctttt gcgagctttg 660

tggtgccgaa gctgatctcc attgtgccgc ggactctgcc ttcctctgcc gttcttgtga 720

cgctaagttc catgcctcaa attttctctt cgctcgtcat ttccggcgtg tcatctgccc 780

aaattgcaaa tctcttactc aaaatttcgt ttctggctct cttcttctt ggctccacg 840

aacaacatgt tgttcagaat cgtcgtcttc ttcttgctgc tcgtctcttg actgtgtctc 900

aagctccgag ctatcgtcaa cgacgcgtga cgtaaacaga gcgcgaggga gggaaaacag 960

agtgaatgcc aaggccgttg cggttacggt ggcggatggc atttttgtaa attggtgtgg 1020

taagttagga ctaaacaggg atttaacaaa cgctgtcgtt tcatatgcgt ctttggcttt 1080

ggctgtggag acgaggccaa gagcgacgaa gagagtgttc ttagcggcgg cgttttggtt 1140

cggcgttaag aacacgacga cgtggcagaa tttaaagaaa gtagaagatg tgactggagt 1200

ttcagctggg atgattcgag cggttgaaag caaattggcg cgtgcaatga cgcagcagct 1260

tagacggtgg cgcgtggatt cggaggaagg atgggctgaa aacgacaacg tttaggcgat 1320

cgcgggccct gatcacctgt cgtacagtat ttctacattt gatgtgtgat ttgtgaagaa 1380

catcaacaa aacaagcact ggctttaata tgatgataag tattatggta attaattaat 1440

tggcaaaaac aacaatgaag ctaaaatttt atttattgag ccttgcggtt aatttcttgt 1500

gatgatcttt ttttttattt tctaattata tatagtttcc ttgctttga aatgctaaag 1560

gtttgagaga gttatgctct ttttttcttc ctctttcttt tttaacttta tcatacaaat 1620

tttgaataaa aatgtgagta catt 1644

<210> 10

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador inverso para cigosidad del evento

<400> 10

gttttacaat tacctcgttt aagtaaatca 30

<210> 11

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador directo para cigosidad del evento

<400> 11

cattctcgag caggacctgc agaa 24

<210> 12

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sonda etiquetada como 6FAM para cigosidad del evento

<400> 12
aacactgata gtttaaactg aag 23

<210> 13
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador directo para alelo de tipo salvaje

<400> 13
ctattatttg ctataagtat ttgatgtaag aa 32

<210> 14
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sonda etiquetada como VIC para alelo de tipo salvaje

<400> 14
ttgtattaat aacaaaaaat tg 22

<210> 15
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador específico del evento para cigosidad

<400> 15
gtacattctc gagcaggacc tgca 24

<210> 16
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador específico del evento SQ3983

<400> 16
tgatggggat cagattgtcg t 21

<210> 17
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador específico del evento SQ22982

<400> 17
actatatcaa gtttaagttt tacaattacc tcgt 34

<210> 18
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sonda específica del evento PB10453

<400> 18
ccttcagttt aaactatcag tg 22

<210> 19

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador SQ1532 para control interno

<400> 19

ggtatccctc cagaccagca

20

<210> 20

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador SQ1533 para control interno

<400> 20

gtggactcct tctggatggt gtaa

24

<210> 21

<211> 29

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sonda etiquetada como VIC PB0359 para control interno

<400> 21

atatttgctg gaaagcagct tgaggatgg

29



174

A global bioscience nonprofit
organization dedicated to biological
standards and biodiversity.

IP, Licensing and Services
10801 University Boulevard
Manassas, Virginia 20110-2209 USA
Telephone: (800) 638-6597
Facsimile: (703) 334-2932
Internet: <http://www.atcc.org>

**BUDAPEST RESTRICTED CERTIFICATE OF DEPOSIT
BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF
THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE
INTERNATIONAL FORM
RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT ISSUED PURSUANT TO RULE 7.3
AND VIABILITY STATEMENT ISSUED PURSUANT TO RULE 10.2**

The American Type Culture Collection (ATCC®) has received your deposit of seeds/strain(s)/strain(s) in connection with the filing of an application for patent. The following information is provided to fulfill Patent Office requirements.

To:
Radomir Stojšin
Monsanto Technology LLC
700 Chesterfield Pkway West
Chesterfield, MO 63017

Deposited on Behalf of: **Monsanto Technology LLC**

Date of Receipt of seeds/strain(s) by the ATCC®: **August 20, 2009**

<u>Identification Reference by Depositor:</u>	<u>ATCC ®Patent Deposit Designation:</u>	<u>Quantity Deposit Materials Received:</u>
Soybean, Glycine max: MON87712	PTA-10296	100 packets / 25 seeds in each

The ATCC® understands that:

1. The deposit of these seeds/strain(s) does not grant ATCC® a license, either express or implied, to infringe the patent, and our release of these seeds/strain(s) to others does not grant them a license, either express or implied, to infringe the patent.
2. If the deposit should die or be destroyed during the effective term of the patent, it shall be your responsibility to replace it with viable material. It is also your responsibility to supply a sufficient quantity for distribution for the deposit term. ATCC® will distribute and maintain the material for 30 years or 5 years following the most recent request for the deposit, whichever is longer. The United States and many other countries are signatory to the Budapest Treaty.

Prior to the issuance of a U.S. Patent, the ATCC® agrees in consideration for a one-time service charge, not to distribute these seeds/strain(s) or any information relating thereto or to their deposit except as instructed by the depositor or relevant patent office. After relevant patent issues we are responsible to release the seeds/strain(s) and they will be made available for distribution to the public without any restrictions. We will inform you of requests for the seeds/strain(s) for 30 years from date of deposit.



A global bioscience nonprofit
organization dedicated to biological
standards and biodiversity

IP, Licensing and Services
10801 University Boulevard
Manassas, Virginia 20110-2209 USA
Telephone: (800) 638-6597
Facsimile: (703) 334-2932
Internet: <http://www.atcc.org>

The deposit was tested on September 08, 2009 and on that date, the seeds/strain(s) were viable International
Depository Authority: American Type Culture Collection (ATCC®), Manassas, VA, USA

Signature of person having authority to represent ATCC®:

Rochelle
Harrington

Digitally signed by Rochelle
Harrington
DN: cn=Rochelle Harrington,
o=ATCC, ou=IFLS,
email=rharrington@atcc.org, c=US
Location: Manassas, VA 20110
Date: 2009.09.10 10:44:21 -0400

September 10, 2009

ATCC® Patent Depository

Date

cc: Stephanie M. Liva
Ref: Docket or Case No. : 38-21(56970)

ATCC

BUDAPEST CERTIFICADO RESTRINGIDO DE DEPÓSITO
TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL
DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS A LOS FINES DEL PROCEDIMIENTO EN
MATERIA DE PATENTES
FORMULARIO INTERNACIONAL
RECEPCIÓN EN EL CASO DE UN DEPÓSITO ORIGINAL EMITIDA CONFORMIDAD
CON EL ARTÍCULO 7.3
Y DECLARACIÓN DE VIABILIDAD DE EMISIÓN DE CONFORMIDAD CON EL
ARTÍCULO 10.2

La American Type Culture Collection (ATCC ®) ha recibido su depósito de semillas /
cepa (s) / cepa (s) en relación con la presentación de una solicitud de patente. La
siguiente información se proporciona para cumplir con los requisitos de la Oficina de
Patentes.

Para:

Radomir Stojšin

Monsanto Technology LLC

700 West Chesterfield Pkway

Chesterfield, MO 63017

Depositado en nombre de: Monsanto Technology LLC

Fecha de recepción de las semillas / cepa (s) por la ATCC ®: 20 de agosto 2009

Referencia Identificación por depositante:

Soja, Glycine max: MON87712

ATCC ® depósito de patente Denominación:

PTA-10 296

Materiales Depósito cantidad recibida:

100 paquetes/ 25 semillas en cada uno

La ATCC ® entiende que:

1. El depósito de estas semillas / cepa (s) no concede ATCC ® una licencia, ya sea expresa o implícita, para infringir la patente, y nuestra liberación de estas semillas / cepa (s) a los demás no les concede una licencia, ya sea expresa o implícita, para infringir la patente.
2. Si el depósito debe morir o ser destruido durante la vigencia de la patente, será su responsabilidad para reemplazarlo con material viable. También es su responsabilidad de suministrar una cantidad suficiente para su distribución durante el plazo de depósito. ATCC ® distribuirá y mantener el material durante 30 años o 5 años después de la última solicitud del depósito, lo que sea mayor. Los Estados Unidos y muchos otros países son signatarios del Tratado de Budapest.

Antes de la emisión de una patente de EE.UU., la ATCC ® está de acuerdo en la consideración para un cargo de servicio de una sola vez, a no distribuir estas semillas / cepa (s) o cualquier información relacionada con ella o para su depósito, excepto como se indica por el depositante o relevantes oficina de patentes. Después de los problemas de patentes pertinentes somos responsables de liberar las semillas / cepa (s) y estará disponible para su distribución al público sin ninguna restricción. Le informaremos de las solicitudes de las semillas / cepa (s) durante 30 años a partir de la fecha de depósito.

El depósito se probó el 08 de septiembre de 2009 y en esa fecha, las semillas / cepa (s) eran viables
Autoridad Internacional de Depósito: American Type Culture Collection (ATCC ®), Manassas, VA, EE.UU.

Firma de la persona autorizada para representar ATCC ®:
10 de septiembre 2009

ATCC ® Patente Depository Fecha

cc: Stephanie M. Liva

Ref: Expediente o Caso No.: 38-21 (56970)

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS				
		PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____				
(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud:				
(51) Clasificación Internacional :						
(71) Solicitante(s)		MONSANTO TECHNOLOGY LLC				
(72) Inventor(es)		COLE, Robert H.; KORTE, John A.; LEDEAUX, John R.; SPEARS, Melissa Compton; WU, Kunsheng				
(74) Apoderado:		DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO				
(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País
		61/392.267		12/10/2010		US
		61/393.448		15/10/2010		US
(85) Fecha inicio fase nacional:					(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT.					Fecha: 19/04/2012	
Fecha de presentación de la solicitud: 11/10/2011					N° publicación: WO 2012/051199 A2	
No. de solicitud PCT/US2011/055799						
(54) Título: PLANTA Y SEMILLA DE SOJA CORRESPONDIENTE AL EVENTO TRANSGENICO MON87712 Y METODOS PARA SU DETECCION						

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN		
	___ Patente de Invención ___ Patente modelo de utilidad <u> X </u> PCT		

(21) No. De solicitud	(51) int. Cl:
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) MONSANTO TECHNOLOGY LLC
(30) Prioridad	(72) Interventor (es) COLE, Robert H. KORTE, John A. LEDEAUX, John R. SPEARS, Melissa Compton WU, Kunsheng
(31) No. Prioridad 61/392267, 61/393448	(74) Apoderado (s) DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO
(32) Fecha 2010/10/12, 2010/10/15	
(33) País US, US	
(54) Título PLANTA Y SEMILLA DE SOJA CORRESPONDIENTE AL EVENTO TRANSGENICO MON87712 Y METODOS PARA SU DETECCION	
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT	
(85) Fecha límite inicio Fase Nacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud 11/10/2011 No. de solicitud PCT/US2011/055799	(87) Publicación internacional Fecha 19/04/2012 No. Publicación WO 2012/051199 A2

Resumen reivindicación (es):

- Una molécula de ADN recombinante que comprende:
 - una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2;
 - una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 7 y la SEQ ID NO: 8;
 - una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia complementaria a a) o b).
- La molécula de ADN de la reivindicación 1, donde dicha molécula de ADN deriva del evento MON87712, como una muestra representativa de la semilla que comprende el evento MON87712 que fue depositado con el N° de acceso ATCC PTA-10296.
- La molécula de ADN de la reivindicación 1, donde dicha molécula de ADN se encuentra comprendida en una planta, célula de planta, semilla, planta de progenie, parte de planta o un producto básico de soja.
- La molécula de ADN de la reivindicación 1, donde dicha molécula de ADN es un amplicón producido a partir de una molécula molde derivada del ADN del evento MON87712.
- Una sonda de polinucleótido que diagnostica la presencia de ADN del evento MON87712, donde dicha sonda de polinucleótido tiene la longitud suficiente para unirse a una molécula de ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, o al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 8, complementos de estas, y donde dicha sonda de polinucleótido se hibrida en condiciones de hibridación severas con una molécula de ADN que comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, o al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 8, complementos de estas, y no se hibrida en condiciones de hibridación severas con una molécula de ADN que no comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, o al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 8, o complementos de estas.
- Un método para detectar la presencia de una molécula de ADN derivada del evento MON87712 en una muestra de ADN, dicho método comprende:
 - poner en contacto dicha muestra de ADN con la sonda de polinucleótido de la reivindicación 5;
 - someter dicha muestra de ADN y dicha sonda de polinucleótido a condiciones de hibridación severas; y
 - detectar la hibridación de dicha sonda de polinucleótido a dicha molécula de ADN derivada del evento MON87712 en dicha muestra de ADN.
- Un par de moléculas de ADN que comprende una primera molécula de ADN y una segunda molécula de ADN diferente de la primera molécula de ADN para funcionar como cebadores de ADN cuando se utilizan juntas en una reacción de amplificación con un molde derivado de un evento MON87712 para producir un amplicón que diagnostica el ADN del evento MON87712 en una muestra.
- El par de moléculas de ADN de la reivindicación 7, donde dicho amplicón comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, y una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 8.
- Un método para detectar la presencia de una molécula de ADN derivada del evento MON87712 en una muestra de ADN, dicho método comprende:
 - poner en contacto dicha muestra de ADN con dicho par de moléculas de ADN de la reivindicación 7;
 - realizar una reacción de amplificación para producir un amplicón que comprende la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de 51-100 nucleótidos consecutivos de la SEQ ID NO: 7, o una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia que comprende al menos alrededor de

PATENTE DE INVENCION _____ **MODELO DE UTILIDAD** _____ **Art 33 Decisión 486/00**

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

Completa _____ Incompleta _____

PATENTE DE INVENCION PCT X **MODELO DE UTILIDAD PCT** _____ **Art.33 Decisión 486/00, Circular Única**

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

Completa X Incompleta _____

DISEÑO INDUSTRIAL _____ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

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

Completa _____ Incompleta _____

ESQUEMA DE TRAZADO _____ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

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

Completa _____ Incompleta _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-115116- -00000-0000

Fecha: 2013-05-08 15:08:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 179

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Monsanto Technology LLC

Cole, Robert H.

Korte, John A.

Ledeaux, John R.

Spears, Melissa C.

Wu, Kunsheng

<120> Planta y semilla de soja que corresponden al evento transgénico MON87712

Y métodos para la detección del mismo

<130> MONS:299W0

<140> desconocido

<141> 2011-04-29

<150> 61/392,267

<151> 2010-10-12

<150> 61/393,448

<151> 2010-10-15

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> union 5'

<400> 1

ctataagtat ttgatggtca at

<210> 2
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> unión 3'

 <400> 2
 tcagtgtttg atttacttaa ac 22

 <210> 3
 <211> 3605
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> flanqueo 5' + inserto 100 bp

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (3451)..(3463)
 <223> La secuencia en la posición 3451 a 3463 puede contener residuos c
 adicionales que incluyen , por ejemplo, de 13 a 100 o más residuos c consecutivos
 totales.

 <400> 3
 gtcgtcgaag gtgtgtcgtt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat 60

 ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc 120

 atggctctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatgggtcgt 180

 tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttgg ttcaaacctt aatacaaaag aagggtacac 240

 aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt 300

actcttacc tccaccctg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag ggttctttca	360
tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat	420
acatatttaa attttcaactt ttaaataatat ctaaaaaatc ttttaatcaa taataagtat	480
aacaatttaa tatatatata tatcattata tttacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540
atgtgtttaa ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780
catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaaca catttttatg gacatatatt	840
cgtcggaaac ctctatcgtt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900
tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960
taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020
atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga	1080
aggccctcaa cctagtgttg gaggttgaca tgggtggctat agaatgaata ggtgggtgaa	1140
tccttgataa ggtaaggtg tttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat	1200
caattttaga tacaaccaca cttccttcat agggttaatt ggagtctccc tgagtggta	1260
agggtgact atgttaaggg atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaaa atctccttgg	1320
agtaaagtgt caacatgtca tatcataata catagacatg tgcatttacc tttatgaata	1380
aagaagaatg acatgttact atatgagtta tggaaatgct ttgatgtatg atgattgaat	1440
ctttatgtaa tgcttgatga actaacgatt ataagattga ccttaaaaca acaaagatta	1500

ataacaattg ctataaaaca aacttgtatt ttatcttcgt tacctttctt aataatgaaa	1560
aataatttga aaaaagcgag tatggccata aggcacatag tttttcaatt gtatatacat	1620
atcatatgat gtcttcttat cttatcatgt gttttggctt tttagcttgg aaagcgtgaa	1680
aaatttataa gtattttcac aattaaatta atagaagggt tttaaaagaa ttaaaataaa	1740
gtcttccgct tgagtagttc ttagtggtat ataaccatga caaatcatta caattacaag	1800
taagaaagac atatttaagg caaaaaatag tcttcgacta tcggttaagg acattattag	1860
tgcattcaaa aaagaaaaaa aacaaaaaca aaattttttt attgtagcca actagaatat	1920
aaagatgttg aagcaggtta ttgtacaaaa gttaattatt ggcaaatatg acaggtatTT	1980
tgtatttttt attttgccat aacattgata caaaatattt acatacttta ttgatgacta	2040
atatttttta agaaacctaa ctaaactatc tataataaag tctctcattt taattacatt	2100
tttgttttca ttgatgagac ttgaacaaaa acctttgtca agggatcaaa cacaattctc	2160
cacacaaacc aataaatcaa catgtttggt taaagttgag attagagata ctaattcata	2220
cttataacat agcataaaat atttatatta ttgaaaaat aaaataagtc agaaagaaat	2280
aatataagat tcttttgttt aattaaatga ttagaaagaa aaataaatag tataaaataa	2340
ttttaggtta attatttatt ttaactctat agttatctcc tttttaagat ttagttttgt	2400
acgaaaaaaa tataaattgt aattcttata tatacataaa agttaattt taccaaaagc	2460
attaaacttt ttaatctatt attatttttc taacatgaaa ctattaaata ttaattttta	2520
ttttttatgt tataaagaaa tttatttaac tttttaagaa taaaaattaa aaaatgaaaa	2580
gagattttat tctctttatt tatgccacag gcagggacag aggcagaaat aaacattagg	2640

gggccaattt tgaaattaaa atttatctaa ttaaaaaatg tatgagtatt aattttaaac	2700
aaactactgc taatatgttt tttccaaaaa aaattcaatg acatataata gaaatatatt	2760
cacataaaag acaaattaaa catttaaaaa atctattaca aatgtcattt gacatgctac	2820
catgatttag tttctaatat ttactttgtt tttccaaat ctagtcaata gtgtgcctag	2880
accatgcact caatgttaaa agcatgtagg agcatcacia tgacaataaa atcaagataa	2940
tattttatat aatgttcata attaaagcttg tcccatagac aaagattact aaataatttt	3000
aacttctcaa ataaattata atcaaatcaa tataaaggaa gaataataat gtcttttaat	3060
cacaaatgca ataatttata acctttaaaa tagtataaaa aattataaaa ataaaattta	3120
tgaaaaaat aaatgagact taaatttttt taaaaagaca aaatgtaaaa tttttacaat	3180
aaaatctact aaaaagaaat agaataattg ttttaaaaaa aataaaaatg tcattatagt	3240
tatgcaaac tataaaggat aattgattat tttattaaaa aaataaaaat aacattttta	3300
tataattatt tttataatta aacttttaaa aaataattat ctaaatttta aaatattatg	3360
tatattaaaa aataaaacta aaaaaaaaag ttaggggggc ctcgcacctc cgtatctggc	3420
cgcaggagaa gtatcacat gagtttcgcg ccccccccc cccgccgcc cctatttttt	3480
ttttctatta ttgctataa gtatttgatg gtcaatatgg agaaaaagaa agagtaatta	3540
ccaatttttt ttcaattcaa aaatgtagat gtccgcagcg ttattataaa atgaaagtac	3600
atatt	3605

<210> 4

<211> 2065

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> flanqueo 3'+ inserto 100 bp

<400> 4

ataaaaatgt gagtacattc tcgagcagga cctgcagaag ctagcttgat ggggatcaga	60
ttgtcgtttc ccgccttcag tttaaactat cagtgtttga tttacttaaa cgaggtaatt	120
gtaaaactta aacttgatat agttaaatgt tatatatata tatatataat acttaactta	180
tttaattatc aaaatttatt ttgaaccaa cttttactaa tttaatatta atttattttt	240
ttgttaaaaa ggcaagtaaa gtaataaaaa aattcataaa atgatttaaa attatagagt	300
gataaactta tcttttttag tacataaaat ttcaaaaacg gagaccatga tgtctttagg	360
attaaaaagt aattaaagga aaaatgtaaa aaaaaaaag ttaaggaact aaaaataagg	420
ataaaaagtt aaagaatgtt gatcaataaa aaaaaagagt tcaataacta aaaacaaaaa	480
tcctaaaaat attagtgact agtaaatact aatcttgaac aacgttctat caataattca	540
attaaagatc gagtgaagga agaatgcttc tttaaaaata aactaataaa gagatatata	600
catttcatac ttttttttat cacgtataca ttctctctt aaaaaacat atatacattt	660
ctaaagaaaa tattgcacat ttctactttc aaaatacatt tgacggtaac atgtagatgg	720
agggaaaaat tatggttttt catttttatt ttagtggttaa tttattttta ttattatttt	780
ttttatctta tttagatgcc tgacattttt ttgatttggt tttttattaa ttgtgtgtaa	840
agacaaagta ttagatttgt gcaaataaac taggtcaaga ctaaagttta tttaatttta	900
aagactagac tttagatcat ttaaaaaaaaa ttttaagtct aacatgtcaa cctatttaag	960
taaatgtaag tatttaattt ttgttggtat tttttataat ggataggat tcagttgggt	1020

caagaacccc ataaccatcc ctactaaata ggtatccagt cttaccccca attggcccc	1080
acaacacagg gattaaaccc ataataaaaa aagtgaattg attaagggaa aagagaagtt	1140
taggccactt aaacccaat tatggaagaa ttacctagac ggtaatccaa gcacaaaggt	1200
ccatggttca aggcccacaa atgtttgtat aaatagggg aaaaccctaa gtaatgacca	1260
ttgttcgttt gatgtgcatt ttattgcctt gcttactact cacaattgaa ctctgactta	1320
agcgtttgag tatcttttgc aagtatcccc cccttgggtc atcttatttg gcacgtgaag	1380
aagacaaagt ccaaaggcag gacccttcta ttagagggac agtgtccgac cattatttgg	1440
taggaatatt ttggcacccc aaagtaagat agtccttgac cctaagaatt atggcaatca	1500
cacgcacaag aaccaacata gcagcaaaaa ccaacttggg aatcattagc ctgaagaagt	1560
ccatgtagag ggctagattg acttatcctt aatggtgagg aggctacaag cacaagtatt	1620
agatatgcgt caacatcatg tcgaagaggt cattaccctt tgacaagaaa atgcacaact	1680
acaagagggg aaccgttcct agaaacccga aaatgaaaca cctgttgag cgagggtaga	1740
gtcaaccaat ttgagatgc caaaagccac caatgttagt gtttggcagg atacacaccc	1800
tcagttcata aatatgttag ggaagcaact acagtagttc aagaacacct ttttcctcgg	1860
tgtcatggaa gccaccctcc ttcccaacta gaagaacctc accatcgaga agtactatgg	1920
taccactaac ccatatgagc accttgacgt ttatatcacc caagtcagcc tgtacactat	1980
ggataatggt gtcttatgcc aggtgttccc tacatctttg aaggggtaga tcctccatta	2040
gttcacccac ctccctcccc caaca	2065

<210> 5

<211> 2014

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> inserto

<400> 5

tgatggtcaa tatggagaaa aagaaagagt aattaccaat tttttttcaa ttcaaaaatg	60
tagatgtccg cagcgttatt ataaaatgaa agtacatttt gataaaacga caaattacga	120
tccgtcgtat ttataggcga aagcaataaa caaattattc taattcggaa atctttattt	180
cgacgtgtct acattcacgt ccaaattggg gcttagatga gaaacttcac gatttggcgc	240
gccaaagctt gatatcgaat tcctgcagcc cccttaaagg gggggatccg gtccgatgtg	300
agacttttca acaaagggtg atatccggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	360
gtcactttat tgtgaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	420
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	480
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	540
attgatgtga tgggtccgatt gagacttttc aacaaaggtt aatatccgga aacctcctcg	600
gattccattg cccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaagaa gaaggtggct	660
cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca	720
gtgggtccaa agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa	780
ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac	840
aatcccacta tccttcgcaa gacccttcct ctatataagg aagttcattt catttggaga	900
ggaccagggtg gtaccggcgc gccaccatgg tgagcttttg cgagctttgt ggtgccgaag	960

ctgatctcca ttgtgccg cg gactctgcct tcctctgccg ttcttgtgac gctaagttcc	1020
atgcctcaaa ttttctcttc gtcgctcatt tccggcgtgt catctgcccc aattgcaa	1080
ctcttactca aaatttcgtt tctggtcctc ttttccttg gcctccacga acaacatgtt	1140
gttcagaatc gtcgtcttct tcttgcgtct cgtctcttga ctgtgtctca agctccgagc	1200
tatcgtcaac gacgcgtgac gtaaacagag cgcgaggag ggaaaacaga gtgaatgcca	1260
aggccgttgc ggttacggtg gcggatggca tttttgtaa ttgggtgtgt aagtaggac	1320
taaacagga ttaacaaac gctgtcgtt catatgcgtc ttggctttg gctgtggaga	1380
cgaggccaag agcgacgaag agagtgttct tagcggcggc gttttggtc ggcgttaaga	1440
acacgacgac gtggcagaat ttaagaaag tagaatgt gactggagt tcagctggga	1500
tgattcgagc ggttgaaagc aaattggcg gtgcaatgac gcagcagct agacggtggc	1560
gcgtggattc ggaggaagga tgggtgaaa acgacaacgt ttaggcgatc gcgggccctg	1620
atcacctgtc gtacagtatt tctacatttg atgtgtgatt tgtgaagaac atcaaaaa	1680
acaagcactg gctttaatat gatgataagt attatggtaa ttaattaatt ggcaaaaaca	1740
acaatgaagc taaaatttta ttattgagc cttgcggtta atttcttgat atgatcttt	1800
ttttatttt ctaattatat atagtttct ttgcttgaa atgctaaagg ttgagagag	1860
ttatgctctt ttttcttcc tcttctttt ttaactttat catacaaatt ttgaataaaa	1920
atgtgagtac attctcgagc aggacctgca gaagctagct tgatgggat cagattgtcg	1980
tttccgcct tcagtttaa ctatcagtgt ttga	2014

<210> 6
 <211> 7484

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> flanqueos + insertos

<220>

<221> misc_feature

<222> (3451)..(3463)

<223> La secuencia en las posiciones 3451 a 3463 puede contener residuos c adicionales que incluyen, por ejemplo, de 13 a 100 o más residuos c consecutivos totales.

<400> 6

gtcgtcgaag gtgtgtcgtt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat	60
ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc	120
atggtctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatggtcgt	180
tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttgg ttcaaacctt aatacaaaaag aagggtacac	240
aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt	300
actcttacc tccacccttg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag ggttctttca	360
tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat	420
acatatttaa attttcactt ttaaataatat ctaaaaaatc ttttaatcaa taataagtat	480
aacaatttaa tatatatata tatcattata tttaacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540
atgtgtttaa ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780

catactataa tccgtcagaa atttcattg gaactaaca catttttatg gacatatatt	840
cgtcggaaca ctctatcggt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900
tttcgccgaa aatcgacgct tttttgtag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960
taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020
atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga	1080
aggccctcaa cctagtgtg gaggttgaca tgggtgctat agaataaata ggtgggtgaa	1140
tccttgataa ggtaaggtg tttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat	1200
caattttaga tacaaccaca cttccttcat agggttaatt ggagtctccc tgagtggta	1260
aggtgtgact atgttaagg atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaa atctccttg	1320
agtaaagtgt caacatgtca taccataata catagacatg tgcatttacc tttatgaata	1380
aagaagaatg acatgttact atatgagtta tggaaatgct ttgatgatg atgattgaat	1440
ctttatgtaa tgcttgatga actaacgatt ataagattga ccttaaaaca acaaagatta	1500
ataacaattg ctataaaaca aacttgattt ttatcttctg tacctttctt aataatgaaa	1560
aataatttga aaaaagcgag tatggccata aggcacatag tttttcaatt gtatatacat	1620
atcatatgat gtcttcttat cttatcatgt gttttggctt ttagcttgg aaagcgtgaa	1680
aaatttataa gtattttcac aattaaatta atagaagggt tttaaaagaa ttaaaataaa	1740
gtcttcgct tgagtagttc ttagtggtat ataaccatga caaatcatta caattacaag	1800
taagaaagac atatttaagg caaaaaatag tcttcgacta tcggttaagg acattattag	1860
tgatttcaa aaagaaaaa aaaaaaaca aaattttttt attgtagcca actagaatat	1920

aaagatgttg aagcaggtta ttgtacaaaa gttaattatt ggcaaatatg acaggatatt	1980
tgtatTTTTT atTTTgccat aacattgata caaaatattt acatacttta ttgatgacta	2040
atatttttta agaaacctaa ctaaactatc tataataaag tctctcattt taattacatt	2100
tttgttttca ttgatgagac ttgaaccaa accTTTgtca agggatcaaa cacaattctc	2160
cacacaaacc aataaatcaa catgtttgtt taaagttgag attagagata ctaattcata	2220
cttataacat agcataaaat atttatatta ttTgaaaaat aaaataagtc agaaagaaat	2280
aatataagat tctTTTgttt aattaaatga ttagaaagaa aaataaatag tataaaataa	2340
ttttaggtta attatttatt ttaactctat agttatctcc tttttaagat ttagttttgt	2400
acgaaaaaaa tataaattgt aattcttata tatacataaa agttaaatTT taccaaaagc	2460
attaaacttt ttaatctatt attatttttc taacatgaaa ctattaaata ttaattttta	2520
ttttttatgt tataaagaaa tttatttaac tttttaagaa taaaaattaa aaatgaaaa	2580
gagattttat tctctttatt tatgccacag gcagggacag aggcagaaat aaacattagg	2640
gggccaattt tgaaattaaa atttatctaa ttaaaaaatg tatgagtatt aattttaaac	2700
aaactactgc taatatgttt tttccaaaa aaattcaatg acatataata gaaatatatt	2760
cacataaaag acaaattaaa catttaaaaa atctattaca aatgtcattt gacatgctac	2820
catgatttag tttctaatat ttactttgtt tttccaaat ctagtcaata gtgtgcctag	2880
accatgcact caatgttaaa agcatgtagg agcatcacia tgacaataaa atcaagataa	2940
tattttatat aatgttcata attaagcttg tcccatagac aaagattact aaataatttt	3000
aacttctcaa ataaattata atcaaatcaa tataaaggaa gaataataat gtcttttaat	3060
cacaaatgca ataatttata acctttaaaa tagtataaaa aattataaaa ataaaattta	3120

tgaaaaaat aaatgagact taaatTTTT taaaaagaca aaatgtaaaa tttttacaat	3180
aaaatctact aaaaagaaat agaataattg ttttaaaaa aataaaaatg tcattatagt	3240
tatgcaaac tataaaggat aattgattat tttattaaaa aaataaaaat aacatttta	3300
tataattatt tttataatta aacttttaaa aaataattat ctaaatttta aaatattatg	3360
tatattaaaa aataaaacta aaaaaaaaag ttaggggggc ctgcacctc cgtatctggc	3420
cgcaggagaa gtatcacat gagtttcgcg ccccccccc cccgccgcc cctatttttt	3480
ttttctatta ttgctataa gtatttgatg gtcaatatgg agaaaaagaa agagtaatta	3540
ccaatttttt ttcaattcaa aaatgtagat gtccgcagcg ttattataaa atgaaagtac	3600
attttgataa aacgacaaat tacgatccgt cgtatttata ggcgaaagca ataaacaaat	3660
tattctaatt cggaaatctt tatttcgacg tgtctacatt cacgtccaaa tgggggctta	3720
gatgagaaac ttcacgattt ggcgcgcaa agcttgatat cgaattcctg cagccccctt	3780
aaagggggg atccggtccg atgtgagact tttcaacaaa gggtaatatc cggaacctc	3840
ctcggattcc attgccagc tatctgtcac tttattgtga agatagtgga aaaggaaggt	3900
ggctcctaca aatgccatca ttgcgataa ggaaaggcca tcgttgaaga tgcctctgcc	3960
gacagtggtc ccaaagatgg acccccacc acgaggagca tcgtggaaaa agaagacgtt	4020
ccaaccacgt cttcaaagca agtggattga tgtgatggtc cgattgagac tttcaacaa	4080
agggtaatat ccggaaacct cctcggattc cattgccag ctatctgtca ctttattgtg	4140
aagatagtgg aaaaggaagg tggctcctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggcc	4200
atcgttgaag atgcctctgc cgacagtgtt ccaaagatg gacccccacc cacgaggagc	4260

atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc aagtggattg atgtgatatc	4320
tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttcctctata	4380
taaggaagtt catttcattt ggagaggacc aggtggtagc gccgcgccac catggtgagc	4440
ttttgcgagc tttgtggtgc cgaagctgat ctccattgtg ccgcggactc tgccttcctc	4500
tgccgttctt gtgacgctaa gttccatgcc tcaaattttc tcttcgctcg tcatttcgg	4560
cgtgtcatct gcccaaattg caaatctctt actcaaaatt tcgtttctgg tcctcttctt	4620
ccttgccctc cacgaacaac atgttggtca gaatcgtcgt cttcttcttg ctgctcgtct	4680
cttgactgtg tctcaagctc cgagctatcg tcaacgacgc gtgacgtaaa cagagcgcga	4740
gggagggaaa acagagtga tgccaaggcc gttgcggtta cggtaggcga tggcattttt	4800
gtaaattggt gtggttaagt aggactaaac agggatttaa caaacgctgt cgtttcatat	4860
gcgtctttgg ctttggtgtg ggagacgagg ccaagagcga cgaagagagt gttcttagcg	4920
gcggcgtttt gggtcggcgt taagaacacg acgacgtggc agaatttaaa gaaagtagaa	4980
gatgtgactg gagtttcagc tgggatgatt cgagcggttg aaagcaaatt gccgcgtgca	5040
atgacgcagc agcttagacg gtggcgcgtg gattcggagg aaggatgggc tgaaaacgac	5100
aacgtttagg cgatcgcggg ccctgacac ctgtcgtaca gtatttctac atttgatgtg	5160
tgatttgtga agaacaatcaa acaaaacaag cactggcttt aatatgatga taagtattat	5220
ggtaattaat taattggcaa aaacaacaat gaagctaaaa ttttatttat tgagccttgc	5280
ggttaatttc ttgtgatgat cttttttttt attttctaata tatatatagt ttcctttgct	5340
ttgaaatgct aaaggtttga gagagttagt ctcttttttt cttcctcttt cttttttaac	5400
tttatcatat aaattttgaa taaaaatgtg agtacattct cgagcaggac ctgcagaagc	5460

tagcttgatg gggatcagat tgtcgtttcc cgccttcagt ttaaactatc agtgtttgat	5520
ttactttaaac gaggtaattg taaaacttaa acttgatata gttaaatgtt atatatatat	5580
atatataata cttacttat ttaattatca aaatttattt tgaaccaaac ttttactaat	5640
ttaatattaa tttatttttt tgttaaaaag gcaagtaaag taataaaaaa attcataaaa	5700
tgatttaaaa ttatagagtg ataaacttat cttttttagt acataaaatt tcaaaaacgg	5760
agaccatgat gtctttagga ttaaaaagta attaaaggaa aaatgtaaaa aaaaaaagt	5820
taaggaaacta aaaataagga taaaaagtta aagaatgttg atcaataaaa aaaaagagtt	5880
caataactaa aaacaaaaat cctaaaaata ttagtgacta gtaaatacta atcttgaaca	5940
acgttctatc aataattcaa ttaaagatcg agtgaaggaa gaatgcttct ttaaaaataa	6000
actaataaag agatatatac atttcatact tttttttatc acgtatacat ttctctctta	6060
aaaaaccata tatacatttc taaagaaaat attgcacatt tctactttca aaatacattt	6120
gacggaaca tgtagatgga gggaaaaatt atggtttttc atttttattt tagtgtaat	6180
ttatttttat tattattttt tttatcttat ttgatagcct gacatttttt tgatttgttt	6240
ttttattaat tgtgtgtaaa gacaaagtat tagatttggtg caaataaact aggtcaagac	6300
taaagtttat ttaattttta agactagact ttagatcatt taaaaaaaaa tttaagtcta	6360
acatgtcaac ctatttaagt aaatgtaagt atttaatttt tgttggttatt ttttataatg	6420
gataggattt cagttggttc aagaacccca taaccatccc tactaaatag gtatccagtc	6480
ttacccccaa ttggccccca caaacaggtg attaaaccca taataaaaaa agtgaattga	6540
ttaagggaaa agagaagttt aggccactta aacccaatt atggaagaat tacctagacg	6600

gtaatccaag cacaaggtc catggttcaa ggcccacaaa tgtttgata aataggggga	6660
aaaccctaag taatgaccat tgttcgtttg atgtgcattt tattgccttg cttactactc	6720
acaattgaac tctgacttaa gcgtttgagt atcttttgca agtatcccc ccttgggtca	6780
tcttatttgg cacgtgaaga agacaaagtc caaaggcagg acccttctat tagagggaca	6840
gtgtccgacc attatttggg aggaatatth tggcacccca aagtaagata gtccttgacc	6900
ctaagaatta tggcaatcac acgcacaaga accaakatag cagcaaaaac caacttgga	6960
atcattagcc tgaagaagtc catgtagagg gctagattga cttatcctta atggtgagga	7020
ggctacaagc acaagtatta gatatgcgtc aacatcatgt cgaagaggtc attacccttt	7080
gacaagaaaa tgcacaacta caagagggtg accgttccta gaaacccgaa aatgaaacac	7140
ctgttggagc ggaggtagag tcaaccaatt ttgagatgcc aaaagccacc aatgttagtg	7200
tttggcagga tacacaccct cagttcataa atatgttagg gaagcaacta cagtagttca	7260
agaacacctt tttcctcggt gtcatggaag ccaccctcct tcccaactag aagaacctca	7320
ccatcgagaa gtactatggt accactaacc catatgagca ccttgacgtt tatatcacc	7380
aagtcagcct gtacactatg gataatgttg tcttatgcca ggtgttcctt acatctttga	7440
aggggtagat cctccattag ttcacccacc tccctcccc aaca	7484

<210> 7
<211> 100
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> unión 5' más larga

<400> 7
 cccccccgc cgccccctat ttttttttc tattatttgc tataagtatt tgatgggtcaa 60

 tatggagaaa aagaaagagt aattaccaat tttttttcaa 100

 <210> 8
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> unión 3' más larga

 <400> 8
 ggggatcaga ttgtcgtttc ccgccttcag tttaaactat cagtgtttga ttacttaaa 60

 cgaggtatt gtaaaactta aacttgatat agttaaatt 100

 <210> 9
 <211> 1644
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> casete BBX32

 <400> 9
 ggtccgatgt gagacttttc aacaaaggt aatatccgga aacctcctcg gattccattg 60

 ccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaaaag gaagggtggct cctacaaatg 120

 ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtggtcccaa 180

 agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc 240

 aaagcaagtg gattgatgtg atggtccgat tgagactttt caacaaagg taatatccgg 300

aaacctctc ggattccatt gccagctat ctgtcacttt attgtgaaga tagtgga	360
ggaaggtggc tcctacaaat gccatcattg cgataaagga aaggccatcg ttgaagatgc	420
ctctgccgac agtgggtcca aagatggacc cccaccacg aggagcatcg tggaaaaga	480
agacgtcca accacgtctt caaagcaagt ggattgatgt gatattcca ctgacgtaag	540
ggatgacgca caatccact atccttcgca agacccttc tctatataag gaagtcatt	600
tcatttggag aggaccaggt ggtaccggcg cgccaccatg gtgagctttt gcgagctttg	660
tggtgccgaa gctgatctcc attgtgccg ggactctgcc ttcctctgcc gttcttga	720
cgctaagttc catgcctcaa atttctctt cgctcgcat ttccggcgtg tcactgccc	780
aaattgcaa tctcttactc aaaatttcgt ttctggctct cttcttcctt ggcctccacg	840
aacaacatgt tggtcagaat cgtcgtcttc ttcttgctgc tcgtctcttg actgtgtctc	900
aagctccgag ctatcgtcaa cgacgcgtga cgtaaacaga gcgcgaggga gggaaaacag	960
agtgaatgcc aaggccgttg cggttacggt ggcggatggc atttttgtaa attggtgtgg	1020
taagttagga ctaaacaggg atttaacaaa cgctgtcgtt tcatatcgt ctttggcttt	1080
ggctgtggag acgaggccaa gagcgacgaa gagagtgttc ttagcggcgg cgttttggtt	1140
cggcgttaag aacacgacga cgtggcagaa tttaaagaaa gtagaagatg tgactggagt	1200
ttcagctggg atgattcgag cggttgaaag caaattggcg cgtgcaatga cgcagcagct	1260
tagacggtgg cgcgtggatt cggaggaagg atgggctgaa aacgacaacg ttaggcgat	1320
cgcgggccct gatcacctgt cgtacagtat ttctacattt gatgtgtgat ttgtgaaga	1380
catcaaaca aacaagcact ggctttaata tgatgataag tattatggta attaattaat	1440
tggcaaaaac aacaatgaag ctaaaatttt atttattgag ccttgcggtt aatttcttgt	1500

gatgatcttt ttttttattt tctaattata tatagtttcc ttgctttga aatgctaaag 1560

gtttgagaga gttatgctct ttttttcttc ctctttcttt ttttaacttta tcatacaaat 1620

tttgaataaa aatgtgagta catt 1644

<210> 10

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador inverso para cigosidad del evento

<400> 10

gttttacaat tacctcggtt aagtaaatca 30

<210> 11

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador directo para cigosidad del evento

<400> 11

cattctcgag caggacctgc agaa 24

<210> 12

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sonda etiquetada como 6FAM para cigosidad del evento

<400> 12
aacactgata gtttaaactg aag 23

<210> 13
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador directo para alelo de tipo salvaje

<400> 13
ctattatttg ctataagtat ttgatgtaag aa 32

<210> 14
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sonda etiquetada como VIC para alelo de tipo salvaje

<400> 14
ttgtattaat aacaaaaaat tg 22

<210> 15
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador específico del evento para cigosidad

<400> 15
gtacattctc gagcaggacc tgca 24

<210> 16
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador específico del evento SQ3983

<400> 16
tgatggggat cagattgtcg t 21

<210> 17
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador específico del evento SQ22982

<400> 17
actatatcaa gtttaagttt tacaattacc tcgt 34

<210> 18
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sonda específica del evento PB10453

<400> 18
ccttcagttt aaactatcag tg 22

<210> 19

<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador SQ1532 para control interno

<400> 19
ggtatccctc cagaccagca 20

<210> 20
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador SQ1533 para control interno

<400> 20
gtggactcct tctggatgtt gtaa 24

<210> 21
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sonda etiquetada como VIC PB0359 para control interno

<400> 21
atatttgctg gaaagcagct tgaggatgg 29

Listado de Secuencias - Inglés
SEQUENCE LISTING

<110> Monsanto Technology LLC
Cole, Robert H.
Korte, John A.
Ledeaux, John R.
Spears, Melissa C.
Wu, Kunsheng

<120> Soybean plant and seed corresponding to transgenic event MON87712
and methods for detection thereof

<130> MONS:299W0

<140> unknown
<141> 2011-04-29

<150> 61/392,267
<151> 2010-10-12

<150> 61/393,448
<151> 2010-10-15

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5' junction

<400> 1
ctataagtat ttgatgggtca at 22

<210> 2
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> 3' junction

<400> 2
tcagtgtttg atttacttaa ac 22

<210> 3
<211> 3605
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

Listado de Secuencias - Inglés

<223> 5' flank + 100 bp insert

<220>

<221> misc_feature

<222> (3451)..(3463)

<223> The sequence at position 3451 to 3463 may contain additional c residues including, for example, from 13 to 100 or more total consecutive c residues.

<400> 3

gtcgtcgaag gtgtgtcgtt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat	60
ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc	120
atggtctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatggtcgt	180
tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttgg ttcaaacctt aatacaaaaag aagggtacac	240
aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt	300
actcttacct tccacccttg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag ggttctttca	360
tttccccgtc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat	420
acatatttaa attttcaact ttaaataatat ctaaaaaatc ttttaatcaa taataagtat	480
aacaatttaa tatatatata tatcattata tttacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540
atgtgtttta ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780
catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaaca catttttatg gacatatatt	840
cgtcggaaca ctctatcgtt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900
tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tagattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960
taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020
atacatgcat ctatgaatga cattgcatat gagttggcac gtaagttgag actacttaga	1080
aggccctcaa cctagtgttg gaggttgaca tgggtggctat agaatagaata ggtgggtgaa	1140
tccttgataa ggttaagggtg tttgcaagcc ttatcgaggc aagccattat ccatactcat	1200
caattttaga tacaaccaca cttccttcat aggggttaatt ggagtctccc tgagtgggtca	1260
aggtgtgact atgttaagggt atgtactagg ttaatcgctc aaaaagtaaa atctccttgg	1320
agtaaagtgt caacatgtca tatcataata catagacatg tgcatttacc tttatgaata	1380

Listado de Secuencias - Inglés						
aagaagaatg	acatgttact	atatgagtta	tggaaatgct	ttgatgtatg	atgattgaat	1440
ctttatgtaa	tgcttgatga	actaacgatt	ataagattga	ccttaaaaca	acaaagatta	1500
ataacaattg	ctataaaaca	aacttgtatt	ttatcttcgt	tacctttctt	aataatgaaa	1560
aataatttga	aaaaagcgag	tatggccata	aggcacatag	tttttcaatt	gtatatacat	1620
atcatatgat	gtcttcttat	cttatcatgt	gttttggctt	tttagcttgg	aaagcgtgaa	1680
aaattttataa	gtatttttcac	aattaaatta	atagaagggg	tttaaaagaa	ttaaaataaa	1740
gtcttccgct	tgagtagttc	ttagtgggtat	ataaccatga	caaatacatta	caattacaag	1800
taagaaagac	atattttaagg	caaaaaatag	tcttcgacta	tcggttaagg	acattattag	1860
tgcattcaaa	aaagaaaaaa	aacaaaaaca	aaatTTTTTT	attgtagcca	actagaatat	1920
aaagatgttg	aagcagggtta	ttgtacaaaa	gttaattatt	ggcaaatatg	acagggtattt	1980
tgtatttttt	atTTTgccat	aacattgata	caaaatatTT	acatacttta	ttgatgacta	2040
atatttttta	agaaacctaa	ctaaactatc	tataataaag	tctctcattt	taattacatt	2100
tttgTTTTca	ttgatgagac	ttgaaccaa	acctttgtca	agggatcaaa	cacaattctc	2160
cacacaaacc	aataaatcaa	catgtttgtt	taaagttgag	attagagata	ctaattcata	2220
cttataacat	agcataaaat	atttatatta	tttgaaaaat	aaaataagtc	agaaagaaat	2280
aatataagat	tcttttgttt	aattaaatga	ttagaaagaa	aaataaatag	tataaaataa	2340
tttttaggtta	attattttatt	ttaactctat	agttatctcc	tttttaagat	ttagttttgt	2400
acgaaaaaaa	tataaattgt	aattcttata	tatacataaa	agttaaattt	taccaaagc	2460
attaaacttt	ttaatctatt	attatTTTTc	taacatgaaa	ctattaaata	ttaattttta	2520
ttttttatgt	tataaagaaa	tttatttaac	tttttaagaa	taaaaattaa	aaaatgaaaa	2580
gagattttat	tctcttttatt	tatgccacag	gcagggacag	aggcagaaat	aaacattagg	2640
gggccaattt	tgaaattaaa	atttatctaa	ttaaaaaatg	tatgagtatt	aattttaaac	2700
aaactactgc	taatattgtt	tttccaaaaa	aaattcaatg	acataataa	gaaatatatt	2760
cacataaaaag	acaaattaaa	catttaaaaa	atctattaca	aatgtcattt	gacatgctac	2820
catgatttag	tttctaatat	ttactttgtt	tttccaaaat	ctagtcaata	gtgtgcctag	2880
accatgcact	caatgttaaa	agcatgtagg	agcatcacia	tgacaataaa	atcaagataa	2940
tattttatat	aatgttcata	attaagcttg	tcccatagac	aaagattact	aaataatttt	3000
aacttctcaa	ataaattata	atcaaatcaa	tataaaggaa	gaataataat	gtcttttaat	3060
cacaaatgca	ataatttata	acctttaaaa	tagtataaaa	aattataaaa	ataaaattta	3120

Listado de Secuencias - Inglés

tgaaaaaaat aaatgagact taaatTTTTT taaaaagaca aaatgtaaaa tttttacaat	3180
aaaatctact aaaaagaaat agaataattg ttttaaaaaa aataaaaatg tcattatagt	3240
tatgcaaaac tataaaggat aattgattat tttattaaaa aaataaaaat aacattttta	3300
tataattatt tttataatta aactttttaa aaataattat ctaaatttta aaatattatg	3360
tatattaaaa aataaaacta aaaaaaaaag ttaggggggc ctgcacctc cgtatctggc	3420
cgcaggagaa gttatcacat gagtttcgcg cccccccccc ccgcccgc cctatttttt	3480
ttttctatta tttgtataa gtatttgatg gtcaatatgg agaaaaagaa agagtaatta	3540
ccaatttttt ttcaattcaa aaatgtagat gtccgcagcg ttattataaa atgaaagtac	3600
atttt	3605

<210> 4
 <211> 2065
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

 <220>
 <223> 3' flank + 100 bp insert

<400> 4 ataaaaaatgt gagtacattc tcgagcagga cctgcagaag ctagcttgat ggggatcaga	60
ttgtcgtttc ccgccttcag tttaaactat cagtgtttga tttacttaaa cgaggtaatt	120
gtaaaactta aacttgatat agttaaatgt tatatatata tatatataat acttaactta	180
tttaattatc aaaattttatt ttgaaccaa cttttactaa tttaatatta atttatTTTT	240
ttgttaaaaa ggcaagtaaa gtaataaaaa aattcataaa atgatttaaa attatagagt	300
gataaactta tcttttttag tacataaaat ttcaaaaacg gagaccatga tgtctttagg	360
attaaaaagt aattaaagga aaaatgtaaa aaaaaaaaag ttaaggaact aaaaataagg	420
ataaaaagtt aaagaatggt gatcaataaa aaaaaagagt tcaataacta aaaacaaaaa	480
tcctaaaaat attagtgact agtaaatact aatcttgaac aacgttctat caataattca	540
attaaagatc gagtgaagga agaattgctt tttaaaaata aactaataaa gagatatata	600
catttcatac ttttttttat cacgtataca tttctctctt aaaaaccat atatacatTT	660
ctaaagaaaa tattgcacat ttctactttc aaaatacatt tgacggtaac atgtagatgg	720
agggaaaaat tatggTTTTT catTTTTatt ttagtggttaa tttattttta ttattatttt	780
ttttatctta ttgatagcc tgacattttt ttgatttggt tttttattaa ttgtgtgtaa	840

Listado de Secuencias - Inglés

agacaaagta ttagatttgt gcaaataaac taggtcaaga ctaaagttta ttttaatttta	900
aagactagac ttttagatcat ttataaaaaa ttttaagtct aacatgtcaa cctattttaag	960
taaatgtaag tattttaattt ttgtttgttat tttttataat ggataggtat tcagttgggtt	1020
caagaacccc ataaccatcc ctactaaata ggtatccagt cttacccccca attggccccc	1080
acaaacaggt gattaaaccc ataataaaaa aagtgaattg attaagggaa aagagaagtt	1140
taggccactt aaaccccaat tatggaagaa ttacctagac ggtaatccaa gcacaaaggt	1200
ccatgggttca aggcccacaa atgtttgtat aaatagggggg aaaaccctaa gtaatgacca	1260
ttgttcgttt gatgtgcatt ttattgcctt gcttactact cacaattgaa ctctgactta	1320
agcgtttgag tatcttttgc aagtatcccc cccttgggtc atcttatttg gcacgtgaag	1380
aagacaaagt ccaaaggcag gacccttcta ttagagggac agtgtccgac cattatttgg	1440
taggaatatt ttggcacccc aaagtaagat agtccttgac cctaagaatt atggcaatca	1500
cacgcacaag aaccaacata gcagcaaaaa ccaacttggg aatcattagc ctgaagaagt	1560
ccatgtagag ggctagattg acttatcctt aatgggtgagg aggctacaag cacaagtatt	1620
agatatgcgt caacatcatg tcgaagaggt cattaccctt tgacaagaaa atgcacaact	1680
acaagaggggt aaccgttcct agaaacccga aaatgaaaca cctgttggag cggaggtaga	1740
gtcaaccaat tttgagatgc caaaagccac caatgttagt gtttggcagg atacacaccc	1800
tcagttcata aatatgttag ggaagcaact acagtagttc aagaacacct ttttcctcgg	1860
tgtcatggaa gccaccctcc ttcccaacta gaagaacctc accatcgaga agtactatgg	1920
taccactaac ccatatgagc accttgacgt ttatatcacc caagtcagcc tgtacactat	1980
ggataatggt gtcttatgcc aggtgttccc tacatctttg aaggggtaga tcctccatta	2040
gttcacccac ctccctcccc caaca	2065

<210> 5
 <211> 2014
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> insert

<400> 5	
tgatgggtcaa tatggagaaa aagaaagagt aattaccaat tttttttcaa ttcaaaaatg	60
tagatgtccg cagcgttatt ataaaatgaa agtacatttt gataaaacga caaattacga	120
tccgtcgtat ttataggcga aagcaataaa caaattattc taattcggaa atctttattt	180

Listado de Secuencias - Inglés

cgacgtgtct	acattcacgt	ccaaatgggg	gcttagatga	gaaacttcac	gatttggcgc	240
gccaaagctt	gatatcgaat	tcctgcagcc	cccttaaagg	gggggatccg	gtccgatgtg	300
agacttttca	acaaagggta	atatccggaa	acctcctcgg	attccattgc	ccagctatct	360
gtcactttat	tgtgaagata	gtggaaaagg	aagggtggctc	ctacaaatgc	catcattgcg	420
ataaaggaaa	ggccatcggt	gaagatgcct	ctgccgacag	tgggtcccaa	gatggacccc	480
caccacagag	gagcatcggt	gaaaaagaag	acgttccaac	cacgtcttca	aagcaagtgg	540
attgatgtga	tgggtccgatt	gagacttttc	aacaaagggg	aatatccgga	aacctcctcg	600
gattccattg	cccagctatc	tgtcacttta	ttgtgaagat	agtggaaaag	gaagggtggct	660
cctacaaatg	ccatcattgc	gataaaggaa	aggccatcgt	tgaagatgcc	tctgccgaca	720
gtgggtcccaa	agatggaccc	ccaccacaga	ggagcatcgt	ggaaaaagaa	gacgttccaa	780
ccacgtcttc	aaagcaagtg	gattgatgtg	atatctccac	tgacgtaagg	gatgacgcac	840
aatcccacta	tccttcgcaa	gacccttcct	ctatataagg	aagttcattt	catttgagaga	900
ggaccaggtg	gtaccggcgc	gccaccatgg	tgagcttttg	cgagctttgt	ggtgccgaag	960
ctgatctcca	ttgtgccgcg	gactctgcct	tcctctgccg	ttcttgtgac	gctaagttcc	1020
atgcctcaaa	ttttctcttc	gctcgtcatt	tccggcggtg	catctgcca	aattgcaaat	1080
ctcttactca	aaatttcggt	tctggctcct	ttcttccttg	gcctccacga	acaacatggt	1140
gttcagaatc	gtcgtcttct	tcttgctgct	cgtctcttga	ctgtgtctca	agctccgagc	1200
tatcgtcaac	gacgcgtgac	gtaaacagag	cgcgaggagg	ggaaaacaga	gtgaatgcca	1260
aggccgttgc	ggttacgggt	gcggatggca	tttttgtaaa	ttgggtgtgg	aagttaggac	1320
taaacaggga	tttaacaaac	gctgtcgttt	catatgcgtc	tttggttttg	gctgtggaga	1380
cgaggccaag	agcgacgaag	agagtgttct	tagcggcggc	gttttggttc	ggcgtaaga	1440
acacgacgac	gtggcagaat	ttaaagaaag	tagaagatgt	gactggagtt	tcagctggga	1500
tgattcgagc	ggttgaaagc	aaattggcgc	gtgcaatgac	gcagcagctt	agacgggtggc	1560
gcgtggattc	ggaggaagga	tgggctgaaa	acgacaacgt	ttaggcgatc	gcgggccctg	1620
atcacctgtc	gtacagtatt	tctacatttg	atgtgtgatt	tgtgaagaac	atcaaacaaa	1680
acaagcactg	gctttaatat	gatgataagt	attatggtaa	ttaattaatt	ggcaaaaaaca	1740
acaatgaagc	taaaatttta	tttattgagc	cttgcggtta	atttcttgtg	atgatctttt	1800
tttttatatt	ctaattatat	atagtttcct	ttgctttgaa	atgctaaagg	tttgagagag	1860

Listado de Secuencias - Inglés

ttatgctctt tttttcttcc tctttctttt ttaactttat catacaaatt ttgaataaaa	1920
atgtgagtac attctcgagc aggacctgca gaagctagct tgatggggat cagattgtcg	1980
tttcccgct tcagtttaaa ctatcagtgt ttga	2014

<210> 6
 <211> 7484
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> flanks + insert

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3451)..(3463)
 <223> The sequence at position 3451 to 3463 may contain additional c residues including, for example, from 13 to 100 or more total consecutive c residues.

<400> 6	
gtcgtcgaag gtgtgtcggt gaagctcctt tttttaagta gtggtagaaa tactagaaat	60
ataatatgca tgggataatc attaacttac cttaaagagt tggaagaagg catccttttc	120
atgggtctttc attgctccgt atgtaggcca tggatgaaga aactattgct tgatgggtcg	180
tgagatagct tgtgacgcaa tcctgcttgg ttcaaaccta aatacaaaag aagggtagac	240
aaaattaaaa gacaatgaat gagttataat atatattgaa aaagttttga attctaattt	300
actcttacct tccaccctg ggtataatca tagggcgatc attgggtaag ggttctttca	360
tttcccgctc taaatcatgt tcattgatag acaatttata taatgatata ttatattaat	420
acatatttaa attttcactt ttaaataat ctaaaaaac ttttaataca taataagtat	480
aacaatttaa tatatatata tatcattata tttacaacg ttaaccatta aaatttcctt	540
atgtgtttta ctatttaatg agtcattttt tattatctca cgtgtttaat aacattcaat	600
gggtcttggt tctttttttg accgattttg tttattatcg atgaattata ttaccgacaa	660
aacatttgct ggaaagctct gtcgataatg ctaacttttc tgacaaatat ttatccatcg	720
aaaaagttcc atcacaaata aataatttaa aaattcatca gaaaaaattc atatttccta	780
catactataa tccgtcagaa atttccattg gaactaaca catttttatg gacatatatt	840
cgtcggaaca ctctatcggt aattttaatg tttatgataa atttagatct gtcaattata	900
tttcgccgaa aatcgacgct tttttttag tgattaattc aatgatgaaa tgaattatat	960
taatgatgat atatgaatgt attaatgatg agatatgaca ttgtttgaaa tgattataat	1020

Listado de Secuencias - Inglés

atacatgcat	ctatgaatga	cattgcatat	gagttggcac	gtaagttgag	actacttaga	1080
aggccctcaa	cctagtgttg	gaggttgaca	tggtggctat	agaatgaata	ggtgggtgaa	1140
tccttgata	ggttaaggtg	tttgcaagcc	ttatcgaggc	aagccattat	ccatactcat	1200
caatittaga	tacaaccaca	cttccttcat	agggttaatt	ggagtctccc	tgagtgggtca	1260
aggtgtgact	atgttaaggg	atgtactagg	ttaatcgctc	aaaaagtaaa	atctccttgg	1320
agtaaagtgt	caacatgtca	tatcataata	catagacatg	tgcatttacc	tttatgaata	1380
aagaagaatg	acatgttact	atatgagtta	tggaaatgct	ttgatgtatg	atgattgaat	1440
ctttatgtaa	tgcttgatga	actaacgatt	ataagattga	ccttaaaaca	acaagatta	1500
ataacaattg	ctataaaaaca	aacttgtatt	ttatcttcgt	tacctttctt	aataatgaaa	1560
aataatttga	aaaaagcgag	tatggccata	aggcacatag	tttttcaatt	gtatatacat	1620
atcatatgat	gtcttcttat	cttatcatgt	gttttggctt	tttagcttgg	aaagcgtgaa	1680
aaattttataa	gtattttcac	aattaaatta	atagaaggggt	tttaaaagaa	ttaaaataaa	1740
gtcttccgct	tgagtagttc	ttagtgggtat	ataaccatga	caaatcatta	caattacaag	1800
taagaaagac	atattttaagg	caaaaaatag	tcttcgacta	tcgggttaagg	acattattag	1860
tgcatcaaa	aaagaaaaaa	aacaaaaaca	aaatTTTTTT	attgtagcca	actagaatat	1920
aaagatgttg	aagcagggtta	ttgtacaaaa	gttaattatt	ggcaaatatg	acagggtattt	1980
tgtatttttt	attttgccat	aacattgata	caaaatatTT	acatacttta	ttgatgacta	2040
atattttttta	agaaacctaa	ctaaactatc	tataataaag	tctctcattt	taattacatt	2100
tttgttttca	ttgatgagac	ttgaaccaa	acctttgtca	agggatcaaa	cacaattctc	2160
cacacaaacc	aataaatcaa	catgtttgtt	taaagttgag	attagagata	ctaattcata	2220
cttataacat	agcataaaat	atttatatta	tttgaaaaat	aaaataagtc	agaaagaaat	2280
aatataagat	tcttttgttt	aattaaatga	ttagaaagaa	aaataaatag	tataaaataa	2340
ttttagggtta	attattttatt	ttaactctat	agttatctcc	tttttaagat	ttagttttgt	2400
acgaaaaaaa	tataaattgt	aattcttata	tatacataaa	agttaaattt	taccaaagc	2460
attaaacttt	ttaatctatt	attatttttc	taacatgaaa	ctattaaata	ttaattttta	2520
ttttttatgt	tataaagaaa	tttatTTAAC	tttttaagaa	taaaaattaa	aaaatgaaaa	2580
gagattttat	tctctttatt	tatgccacag	gcaggggacag	aggcagaaat	aaacattagg	2640
gggccaattt	tgaaattaaa	atttatctaa	ttaaaaaatg	tatgagtatt	aatttttaac	2700

Listado de Secuencias - Inglés						
aaactactgc	taatatgttt	tttccaaaaa	aaattcaatg	acataataa	gaaatatatt	2760
cacataaaag	acaaattaaa	catttaaaaa	atctattaca	aatgtcattt	gacatgctac	2820
catgatttag	tttctaatat	ttactttgtt	tttccaaaat	ctagtcaata	gtgtgcctag	2880
accatgcact	caatgtttaa	agcatgtagg	agcatcacia	tgacaataaa	atcaagataa	2940
tattttatat	aatgttcata	attaagcttg	tcccatagac	aaagattact	aaataatttt	3000
aactttctca	ataaattata	atcaaataca	tataaaggaa	gaataataat	gtcttttaat	3060
cacaaatgca	ataattttata	acctttaaaa	tagtataaaa	aattataaaa	ataaaaattta	3120
tgaaaaaaat	aaatgagact	taaatttttt	taaaaagaca	aaatgtaaaa	tttttacaat	3180
aaaatctact	aaaaagaaat	agaataattg	ttttaaaaaa	aataaaaaatg	tcattatagt	3240
tatgcaaaac	tataaaggat	aattgattat	tttattaaaa	aaataaaaaat	aacattttta	3300
tataattatt	tttataatta	aactttttaa	aaataattat	ctaaatttta	aaatattatg	3360
tatatataaa	aataaaacta	aaaaaaaaag	ttaggggggg	ctcgcacctc	cgtatctggc	3420
cgcaggagaa	gttatcacat	gagtttcgcg	cccccccccc	cccgccgccc	cctatttttt	3480
ttttctatta	tttgcataaa	gtatttgatg	gtcaatatgg	agaaaaagaa	agagtaatta	3540
ccaatttttt	ttcaattcaa	aaatgtagat	gtccgcagcg	ttattataaa	atgaaagtac	3600
attttgataa	aacgacaaat	tacgatccgt	cgtattttata	ggcgaaagca	ataaacaat	3660
tattctaatt	cggaatctt	tatttcgacg	tgtctacatt	cacgtccaaa	tgggggctta	3720
gatgagaaac	ttcacgattt	ggcgcgccaa	agcttgatat	cgaattcctg	cagccccctt	3780
aaaggggggg	atccggtccg	atgtgagact	tttcaacaaa	gggtaatatc	cggaacctc	3840
ctcggattcc	attgccagc	tatctgtcac	tttattgtga	agatagtgga	aaaggaaggt	3900
ggctcctaca	aatgccatca	ttgcgataaa	ggaaaggcca	tcgttgaaga	tgctcttgcc	3960
gacagtggtc	ccaaagatgg	acccccaccc	acgaggagca	tcgtggaaaa	agaagacgtt	4020
ccaaccacgt	cttcaaagca	agtggattga	tgtgatggtc	cgattgagac	ttttcaacaa	4080
agggtaatat	ccggaaacct	cctcggattc	cattgcccag	ctatctgtca	ctttattgtg	4140
aagatagtgg	aaaaggaagg	tggtccttac	aaatgccatc	attgcgataa	aggaaaggcc	4200
atcgttgaag	atgcctctgc	cgacagtggg	cccaaagatg	gacccccacc	cacgaggagc	4260
atcgtggaag	aagaagacgt	tccaaccacg	tcttcaaagc	aagtggattg	atgtgatatc	4320
tccactgacg	taagggatga	cgcacaatcc	cactatcctt	cgcaagaccc	ttcctctata	4380
taaggaagtt	catttcattt	ggagaggacc	aggtgggtacc	ggcgcgccac	catggtgagc	4440

Listado de Secuencias - Inglés

ttttgcgagc	tttgtggtgc	cgaagctgat	ctccattgtg	ccgcgggactc	tgcccttcctc	4500
tgccgtttctt	gtgacgctaa	gttccatgcc	tcaaattttc	tcttcgctcg	tcattttccgg	4560
cgtgtcatct	gcccaaattg	caaatctctt	actcaaaatt	tcgtttctgg	tcctcttctt	4620
ccttggcctc	cacgaacaac	atgttgttca	gaatcgctcg	cttcttcttg	ctgctcgctt	4680
cttgactgtg	tctcaagctc	cgagctatcg	tcaacgacgc	gtgacgtaaa	cagagcgcgga	4740
gggagggaaa	acagagtga	tgccaaggcc	gttgcggtta	cgggtggcgga	tggcattttt	4800
gtaaattggt	gtggtaagtt	aggactaaac	agggatttaa	caaacgctgt	cgtttcatat	4860
gcgtctttgg	ctttggctgt	ggagacgagg	ccaagagcga	cgaagagagt	gttcttagcg	4920
gcggcgtttt	ggttcggcgt	taagaacacg	acgacgtggc	agaattttaa	gaaagtagaa	4980
gatgtgactg	gagtttcagc	tgggatgatt	cgagcggttg	aaagcaaatt	ggcgcgtgca	5040
atgacgcagc	agcttagacg	gtggcgcggtg	gattcggagg	aaggatgggc	tgaaaacgac	5100
aacgttttagg	cgatcgcggg	ccctgatcac	ctgtcgtaca	gtattttctac	atttgatgtg	5160
tgatttgtga	agaacatcaa	acaaaacaag	cactggcttt	aatatgatga	taagtattat	5220
ggtaattaat	taattggcaa	aaacaacaat	gaagctaaaa	ttttatttat	tgagccttgc	5280
ggttaatttc	ttgtgatgat	cttttttttt	attttcta	tatatatagt	ttcctttgct	5340
ttgaaatgct	aaaggtttga	gagagttatg	ctcttttttt	cttcctcttt	cttttttaac	5400
tttatcatat	aaattttgaa	taaaaatgtg	agtacattct	cgagcaggac	ctgcagaagc	5460
tagcttgatg	gggatcagat	tgtcgtttcc	cgccttcagt	ttaaactatc	agtgtttgat	5520
ttacttaaac	gaggtaattg	taaaacttaa	acttgatata	gttaaattgtt	atatatatat	5580
atatataata	cttaacttat	ttaattatca	aaattttatt	tgaaccaa	ttttactaat	5640
ttaatattaa	tttatttttt	tgttaaaaag	gcaagtaaag	taataaaaaa	attcataaaa	5700
tgatttaaaa	ttatagagtg	ataaacttat	cttttttagt	acataaaatt	tcaaaaacgg	5760
agaccatgat	gtcttttagga	ttaaaaagta	attaaaggaa	aaatgtaaaa	aaaaaaaagt	5820
taaggaacta	aaaataagga	taaaaagtta	agaatgtttg	atcaataaaa	aaaaagagtt	5880
caataactaa	aaacaaaaat	cctaaaaata	ttagtgacta	gtaaataacta	atcttgaaca	5940
acgttctatc	aataattcaa	ttaaagatcg	agtgaaggaa	gaatgcttct	ttaaaaaata	6000
actaataaag	agatatatac	atttcatact	tttttttatc	acgtatacat	ttctctctta	6060
aaaaaccata	tatacatctt	taaagaaaat	attgcacatt	tctactttca	aaatacatct	6120

Listado de Secuencias - Inglés

gacggtaaca tgtagatgga gggaaaaaatt atgggtttttc attttttattt tagtggttaat	6180
ttattttttat tattatttttt tttatcttat ttgatagcct gacattttttt tgatttgttt	6240
ttttattaat tgtgtgtaaa gacaaagtat tagatttgtg caaataaaact aggtcaagac	6300
taaagtttat ttaattttaa agactagact ttagatcatt taaaaaaaat ttttaagtcta	6360
acatgtcaac ctatttaagt aaatgtaagt atttaattttt tgttggttatt ttttataatg	6420
gatagggtatt cagttgggtc aagaacccca taaccatccc tactaaatag gtatccagtc	6480
ttacccccaa ttggccccca caaacagggtg attaaaccca taataaaaaa agtgaattga	6540
ttaagggaaa agagaagttt aggccactta aaccccaatt atggaagaat tacctagacg	6600
gtaatccaag cacaaagggtc catggttcaa ggcccacaaa tgtttgtata aataggggga	6660
aaaccctaag taatgaccat tgttcgtttg atgtgcattt tattgccttg cttactactc	6720
acaattgaac tctgacttaa gcgtttgagt atcttttgca agtatcccc ccttgggtca	6780
tcttatttgg cacgtgaaga agacaaagtc caaaggcagg acccttctat tagagggaca	6840
gtgtccgacc attatttggg aggaatattt tggcacccca aagtaagata gtccttgacc	6900
ctaagaatta tggcaatcac acgcacaaga accaacatag cagcaaaaac caacttggga	6960
atcattagcc tgaagaagtc catgtagagg gctagattga cttatcctta atgggtgagga	7020
ggctacaagc acaagtatta gatatgcgtc aacatcatgt cgaagagggtc attacccttt	7080
gacaagaaaa tgcacaacta caagagggtg accgttccta gaaacccgaa aatgaaacac	7140
ctgttggagc ggaggtagag tcaaccaatt ttgagatgcc aaaagccacc aatgttagtg	7200
tttggcagga tacacaccct cagttcataa atatgttagg gaagcaacta cagtagttca	7260
agaacacctt tttcctcggg gtcattggaag ccaccctcct tcccaactag aagaacctca	7320
ccatcgagaa gtactatggg accactaacc catatgagca ccttgacgtt tatatcacc	7380
aagtcagcct gtacactatg gataatgttg tcttatgcca ggtgttccct acatctttga	7440
aggggtagat cctccattag ttcacccacc tccctcccc aaca	7484

<210> 7
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> 5' longer junction

<400> 7	
cccccccgcc cgccccctat tttttttttc tattatttgc tataagtatt tgatgggtcaa	60

Listado de Secuencias - Inglés

tatggagaaa aagaaagagt aattaccaat tttttttcaa 100

<210> 8
<211> 100
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> 3' longer junction

<400> 8
ggggatcaga ttgtcgtttc ccgccttcag tttaaactat cagtgtttga tttacttaaa 60
cgaggtaatt gtaaaactta aacttgatat agttaaatgt 100

<210> 9
<211> 1644
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> BBX32 cassette

<400> 9
ggtccgatgt gagacttttc aacaaagggg aatatccgga aacctcctcg gattccattg 60
cccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaagag gaagggtggct cctacaaatg 120
ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtgggtcccaa 180
agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc 240
aaagcaagtg gattgatgtg atgggtccgat tgagactttt caacaaaggg taatatccgg 300
aaacctctc ggattccatt gccagctat ctgtcacttt attgtgaaga tagtggaaga 360
ggaagggtggc tcctacaaat gccatcattg cgataaagga aaggccatcg ttgaagatgc 420
ctctgccgac agtggtccca aagatggacc cccacccacg aggagcatcg tggaaaaaga 480
agacgttcca accacgtctt caaagcaagt ggattgatgt gatatctcca ctgacgtaag 540
ggatgacgca caatcccact atccttcgca agacccttcc tctatataag gaagttcatt 600
tcatttgagg aggaccaggt ggtaccggcg cgccaccatg gtgagctttt gcgagctttg 660
tggtgccgaa gctgatctcc attgtgccgc ggactctgcc ttcctctgcc gttcttgtga 720
cgctaagttc catgcctcaa attttctctt cgctcgtcat ttccggcgtg tcatctgccc 780
aaattgcaaa tctcttactc aaaatttcgt ttctggctct cttcttctctt ggcctccacg 840
aacaacatgt tgttcagaat cgtcgtcttc ttcttgctgc tcgtctcttg actgtgtctc 900

Listado de Secuencias - Inglés

aagctccgag ctatcgtcaa cgacgcgtga cgtaaacaga gcgcgagggga gggaaaacag	960
agtgaatgcc aaggccgttg cggttacggt ggcggatggc atttttgtaa attggtgtgg	1020
taagttagga ctaaacaggg atttaacaaa cgctgtcgtt tcatatgcgt ctttggcttt	1080
ggctgtggag acgaggccaa gagcgacgaa gagagtgttc ttagcggcgg cgttttggtt	1140
cggcgттаag aacacgacga cgtggcagaa tttaaagaaa gtagaagatg tgactggagt	1200
ttcagctggg atgattcgag cggttgaaag caaattggcg cgtgcaatga cgcagcagct	1260
tagacggttg cgcgtggatt cggaggaagg atgggctgaa aacgacaacg tttaggcgat	1320
cgcgggccct gatcacctgt cgtacagtat ttctacattt gatgtgtgat ttgtgaagaa	1380
catcaaacia aacaagcact ggctttaata tgatgataag tattatggta attaattaat	1440
tggcaaaaac aacaatgaag ctaaaatttt atttattgag ccttgcgggtt aatttcttgt	1500
gatgatcttt ttttttattt tctaattata tatagtttcc tttgctttga aatgctaaag	1560
gtttgagaga gttatgctct ttttttcttc ctctttcttt tttaacttta tcatacaaat	1620
tttgaataaa aatgtgagta catt	1644

<210> 10
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> reverse primer for event zygosity

<400> 10 gttttacaat tacctcgttt aagtaaatca	30
--	----

<210> 11
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> forward primer for event zygosity

<400> 11 cattctcgag caggacctgc agaa	24
--	----

<210> 12
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>

Listado de Secuencias - Inglés

<223>	6FAM-labeled probe for event zygosity	
<400>	12	
	aacactgata gtttaaactg aag	23
<210>	13	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	forward primer for wild type allele	
<400>	13	
	ctattatttg ctataagtat ttgatgtaag aa	32
<210>	14	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	VIC-labeled probe for wild type allele	
<400>	14	
	ttgtattaat aacaaaaaat tg	22
<210>	15	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	event-specific primer for zygosity	
<400>	15	
	gtacattctc gagcaggacc tgca	24
<210>	16	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	event-specific primer SQ3983	
<400>	16	
	tgatggggat cagattgtcg t	21
<210>	17	
<211>	34	
<212>	DNA	

Listado de Secuencias - Inglés

<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	event-specific primer SQ22982	
<400>	17	
	actatatcaa gtttaagttt tacaattacc tcgt	34
<210>	18	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	event-specific probe PB10453	
<400>	18	
	ccttcagttt aaactatcag tg	22
<210>	19	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	primer SQ1532 for internal control	
<400>	19	
	ggtatccctc cagaccagca	20
<210>	20	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	primer SQ1533 for internal control	
<400>	20	
	gtggactcct tctggatggt gtaa	24
<210>	21	
<211>	29	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<223>	VIC-labeled probe PB0359 for internal control	
<400>	21	
	atatttgctg gaaagcagct tgaggatgg	29