

CASTELLANOS & CO LTDA
ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A-09
Bogotá, D.C. – COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-019688- -00009-0000

Fecha: 2013-06-04 14:26:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 523 RESPUESTA Folios: 20

Señor Director

División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. 08 019688

Solicitud de Patente de invención para: **“SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS INSECTICIDAS”**

Solicitante: **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

RESPUESTA AL EXAMEN DE FONDO

Yo, **Margarita Castellanos Abondano**, identificada como aparece al pie de mi firma, atentamente me permito presentar respuesta al oficio **No.384** notificado por fijación en lista del 22 de enero de 2013, estando dentro del término de la prórroga solicitada el 15 de abril de 2013, en los siguientes términos:

De la solicitud de patente

Su Despacho concluye que el pliego reivindicatorio de la presente solicitud de patente no cumple con las disposiciones del 30 de la Decisión 486. El Examinador señala lo siguiente:

- “La reivindicación 5 no tienen sustento en la descripción donde dichas secuencias que pueden estar en el cassette de expresión son mencionadas pero no se demuestra haber obtenido en ninguna modalidad preferida cassettes de expresión con secuencias con dichas características”.

- “Las reivindicaciones 9,13 y 15 no es clara debido a que uno de los pasos secuenciales esencial para el método es un proceso esencialmente biológico”.
- “El método de la reivindicación 17 no es claro puesto que la expresión “demorar el inicio de la resistencia” no ha sido explicada, además dicho método se caracteriza por dos o más proteínas de las cuales el solicitante no proporciona la SEQ ID NO correspondiente”.

Con el fin de atender las observaciones formuladas a este respecto, y de acuerdo con el artículo 34 de la Decisión 486, se presenta un nuevo capítulo reivindicatorio conformado por 17 reivindicaciones como sustituto del anteriormente presentado. De tal manera que, las objeciones formuladas a este respecto se deben tener por superadas de la siguiente manera:

- Se ha redactado nuevamente el pliego reivindicatorio, de conformidad con las sugerencias del Señor Examinador, con el fin de hacer claridad sobre la materia que se solicita proteger y el alcance de la misma.
- Con respecto a que la reivindicación 5, que está relacionada con un cassette de expresión, carece de sustento porque no se demuestra que los cassette de expresión que presentan las características que se enumeran hayan sido obtenidos de una manera preferida, vale la pena resaltar que en la descripción de la presente solicitud se proporcionan SEQ ID N° 5 y SEQ ID N° 7 como ejemplos de cassette de expresión que pueden emplearse en células provenientes de plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas por lo que se considera que dichos cassettes de expresión sí están sustentados en la descripción (Ver página 7 hasta página 17 y el ejemplo 3). De tal manera que, es claro que la reivindicación 5 si se encuentra soportada en la descripción y por lo tanto, la objeción formulada a este respecto se debe tener por superada.
- De acuerdo con el Examinador, las reivindicaciones 9 y 13-16 (nuevas reivindicaciones 12-15) están relacionadas con diversos métodos que involucran Cry1A.105 que hacen referencia a un proceso esencialmente

biológico. En particular, el Examinador señala que el paso en el cual el insecto se pone en contacto con una o más células vegetales transformadas o con una o más plantas de cultivo transgénicas corresponde a un proceso esencialmente biológico. Sin embargo, mi representada no comparte la opinión del Señor Examinador por las siguientes razones:

En primer lugar, las una o más células vegetales transformadas o las una o más plantas de cultivo transgénicas que se emplean en los métodos que se reivindican no existen en la naturaleza, sino que se obtienen a través de procedimientos de ingeniería genética en los que es imprescindible la intervención humana (Ver el paso (1) de las reivindicaciones independientes 9 ó 13). Adicionalmente, el polinucleótido que se emplea para transformar las células vegetales o las plantas es un polinucleótido recombinante o sintético que codifica una proteína quimérica que consiste en los dominios I y II de Cry1Ab, en el dominio III de Cry1Fa y el dominio de la protoxina de Cry1Ac, la cual no se encuentra en la naturaleza. De modo que, es claro que los métodos que se describen en el paso (1) de la reivindicación 9 ó 13 no han de ser considerados procesos esencialmente biológicos y por lo tanto, la objeción formulada a este respecto también se debe tener por superada.

En segundo lugar, aunque el hecho de que un insecto se alimente con un tejido vegetal es un fenómeno evidentemente natural, el hecho de que un insecto se alimente con una planta transgénica no podría existir sin la intervención humana. En este caso, las una o más células vegetales transformadas o las una o más plantas de cultivo transgénicas no podrían existir sin la intervención humana, que es imprescindible no solamente para obtener dichas una o más células vegetales transformadas o dichas una o más plantas de cultivo transgénicas, sino también para proporcionar un ambiente adecuado para que el insecto tome contacto físicamente con ellas: las células vegetales o las plantas transgénicas deben estar en el ambiente del insecto, y esto solamente es posible mediante la intervención humana. Para ello, se siembran semillas que comprenden los transgenes deseados en el campo, donde pueden brotar y desarrollarse para generar plantas de cultivo transgénicas. Mediante la presencia de las plantas transgénicas en el

campo, se completan los pasos de la reivindicación 9 ó 13, es decir, se posibilita el contacto entre el insecto y las plantas transgénicas, lo cual hubiese sido imposible en ausencia de la intervención humana. El hecho de que este paso sea un proceso esencialmente biológico o no depende de que el paso pueda ocurrir en la naturaleza, y ninguno de los pasos que se reivindican puede ocurrir de manera natural.

- Con respecto a la falta de sustento de las reivindicaciones 14 y 16 (nuevas reivindicaciones 13 y 15), vale la pena resaltar que en la descripción de la presente solicitud se describe la posibilidad de combinar Cry1A.105 con una segunda toxina que también sea tóxica para uno o más de los insectos plaga que pertenecen a aquellas especies que son susceptibles a Cry1A.105 y adicionalmente, se señala que una combinación de toxinas de este tipo debería presentar modos de acción diferentes con el propósito de obtener una mejora en la resistencia a los insectos y en la protección de las infestaciones de insectos. En la descripción se proporcionan listas de toxinas preferidas que podrían emplearse para el propósito que se ha mencionado, que podrían resultar apropiadas para combinarlas con una toxina Cry1A.105, que abarcan, sin limitaciones, las proteínas tóxicas de los grupos Cry1, Cry2, Cry5, Cry9, las proteínas VIP, las proteínas que presentan acción insecticida sobre los lepidópteros que se conocen como proteínas TIC y las proteínas insecticidas que son producidas por las bacterias de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* (Ver página 3-página 4, página 13- 23). Por lo tanto, es claro que la materia de invención recitada en las reivindicaciones 14 y 16 (nuevas reivindicaciones 13 y 15) SI se encuentra debidamente soportada en la descripción.
- Con respecto a que la expresión “demorar el inicio de la resistencia” en la reivindicación 17 (nueva reivindicación 16) no ha sido definida y que no se proveen identificadores de secuencias que correspondan a dos o más de las proteínas que se menciona, se aclara a su Despacho lo siguiente:
Se ha modificado la reivindicación 17 de tal manera que ahora se refiere a “demorar la aparición de resistencia en especies de lepidópteros” lo que aporta claridad a la misma, de conformidad con las enseñanzas de la descripción:

5

“Por consiguiente, la expresión de la proteína Cry1A.105 en plantas transgénicas resulta en cantidades incrementadas de eventos transgénicos con morfología normal, que expresan niveles elevados de un análogo de una toxina Cry1 que presenta un amplio rango de control de insectos plaga pertenecientes a especies de lepidópteros, para cualquier evento seleccionado para el desarrollo comercial. Estos eventos deberían resultar en la ventaja de demorar la aparición de resistencia al análogo de la toxina Cry1A, y cuando se los combinara con una segunda toxina que fuera tóxica para una o más de las especies de insectos plaga para las cuales el análogo de Cry1A también fuera tóxico, y que ejercieran su modo de acción de una manera que fuera diferente del análogo de Cry1A; se anticipa que cualquier probabilidad de desarrollo de resistencia a ambas toxinas sería extremadamente remota” (ver Página 10).

*“Una combinación de proteínas insecticidas, cada una de las cuales fuera tóxica para la misma especie de insecto y aún pudiera manifestar sus efectos de toxicidad a través de distintos modos de acción, sería una combinación particularmente útil de agentes pesticidas para controlar especies de lepidópteros o demorar la aparición de resistencia contra cualquier agente pesticida individual, que de otro modo sería efectivo contra una especie de lepidóptero en particular. Un ejemplo de esta combinación de proteínas sería una proteína Cry1A.105 de la presente invención, es decir, una primera proteína insecticida, unida con al menos una segunda proteína insecticida diferente de la primera. Estas proteínas insecticidas diferentes incluyen, sin limitaciones, otras proteínas cristalinas Bt. Contra lepidópteros (otras Cry1, Cry2, Cry5, Cry9), proteínas VIP, proteínas insecticidas contra lepidópteros conocidas como proteínas TIC, y proteínas insecticidas producidas por bacterias pertenecientes a especies de *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*. La introducción en la dieta de un insecto plaga de una combinación de una o más proteínas insecticidas, junto con un agente diseñado para obtener la supresión mediada por dsARN de uno o más genes esenciales para la supervivencia de los insectos, es una combinación particularmente útil para controlar especies de lepidópteros o demorar la aparición de resistencia contra cualquier agente pesticida”*

/

individual, que de otro modo sería efectivo contra una especie de lepidóptero en particular." (Ver descripción).

De los anteriores párrafos es claro que la expresión "demorar la aparición de resistencia" hace referencia a una "probabilidad extremadamente remota de que se desarrolle resistencia".

- Con relación a los identificadores de secuencias que ha solicitado el Examinador, se sostiene que con la descripción de Cry1A.105 de la presente solicitud y con las proteínas conocidas Cry1, Cry2, Cry5, Cry9 y VIP, una persona versada en la materia dispone de recursos suficientes para obtener las secuencias de las proteínas Cry1, Cry2, Cry5, Cry9 y VIP. La presente invención está relacionada con una proteína Cry1A.105 novedosa e inventiva, que es como se detalla en la SEQ ID N° 2, y con un método para usarla en combinación con una o más proteínas insecticidas diferentes de Cry1A.105 que sean conocidas en la técnica.

Así entonces, teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones, consideramos que las objeciones que por claridad hizo su Despacho quedan superadas ya que el nuevo capítulo reivindicatorio es claro, conciso y la materia reivindicada se encuentra debidamente soportada en la descripción.

Nivel inventivo

Su Despacho concluye que el documento US2004171120 (D1) afecta el nivel inventivo de la presente solicitud de patente. Su Despacho enuncia:

- "La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y el documento D1 consiste en que la SEQ ID NO 2 difiere en 2 aminoácidos de la SEQ ID NO 34, y que las secuencias nucleótidas SEQ ID NO 1 y 3 no son mencionadas en el documento citado".
- "La presente solicitud no demuestra el efecto que logra el incluir la sustitución de dos aminoácidos en la SEQ ID NO 2".
- "En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría secuencias flanco y promotores conocidos en el estado de la técnica

en las secuencias codificadoras presentadas, así como variaciones en la SEQ ID NO 34 divulgado en el documento D1 para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia”.

En cuanto a las objeciones del examinador deseamos poner de presente lo siguiente:

De acuerdo con el artículo 18 de la Decisión 486:

“Artículo 18.- Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica”.

De conformidad con el anterior artículo, se exponen a continuación las razones por las cuales la presente invención es inventiva frente a las enseñanzas del documento D1:

El problema planteado en la presente solicitud consiste en la necesidad de proporcionar moléculas y métodos para el control de insectos. Este problema es el que precisamente soluciona la presente invención toda vez que proporciona un polinucleótido que codifica una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, desde el aminoácido en posición 10 al aminoácido en posición 600 (secuencia de amino ácidos específica), donde dicho polinucleótido comprende la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 3 y una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, desde el aminoácido en la posición 10 al aminoácido en la posición 600, que presentan los efectos deseados.

Ahora bien, tal como lo reconoce el Examinador, la SEQ ID N° 2 de acuerdo con la presente invención y la SEQ ID N° 34 de acuerdo con D1 son diferentes y por lo tanto, es claro que dicho documento no anticipa la materia de invención acá reivindicada.

Cuando se realiza un alineamiento entre las secuencias SEQ ID N° 34 de D1 (es decir, la secuencia de aminoácidos de la endotoxina EG11768 de *B. thuringiensis*)

y SEQ ID N° 2 de la presente invención, puede comprobarse que hay diferencias a nivel de siete (7) aminoácidos (ver el resultado del alineamiento que se adjunta). A este respecto, es importante resaltar con el alineamiento que se adjunta es evidente que en D1 no se describe la SEQ ID N° 2 ni los aminoácidos 10-600 de la SEQ ID N° 2.

Adicionalmente, en D1 se indica que la actividad insecticida de los híbridos Cry1A/Cry1F es impredecible. A modo de ejemplo, en el párrafo [0302] y las tablas 4 y 5 de D1 se indica que otras proteínas similares que consistieron en quimeras Cry1A/Cry1F, por ejemplo, en las δ -endotoxinas que son producidas por las cepas EG11061, EG11062, EG11071, o EG11073, "no presentaron actividad insecticida sobre las larvas de los insectos que se analizaron, a pesar de que 1) estaban compuestas por al menos una δ -endotoxina parentales que presentaba actividad sobre dichas larvas y que 2) formaron cristales estables y bien definidos en *B. thuringiensis*. Con estos resultados, puede demostrarse la naturaleza impredecible de las construcciones que están basadas en híbridos de toxinas". Adicionalmente, en el párrafo [0307] de D1 se indica que es posible realizar mejoras en las δ -endotoxinas modificando el sitio de intercambio de las dos δ -endotoxinas parentales. Sin embargo, las mejoras en la bioactividad de las δ -endotoxinas híbridas basadas en la modificación de los sitios de intercambio son impredecibles.

En particular, de entre las δ -endotoxinas que son producidas por las diversas cepas que se describen en D1, la proteína EG11768 consiste en los dominios 1 y 2 de Cry1Ac, el dominio 3 de Cry1F y la protoxina Cry1Ac (véase la figura 4) y presenta la secuencia de aminoácidos que se detalla en SEQ ID N° 34; EG11073 consiste en dominios que son sustancialmente idénticos a los de EG11768, pero comprende una porción mayor del extremo amino del dominio 3 de Cry1F (véase la figura 1A y la figura 1B) y EG11074 consiste en dominios que son sustancialmente idénticos a los de EG11768, pero comprende una porción menor del extremo amino del dominio 3 de Cry1F (véase la figura 1A y la figura 1B) y presenta la secuencia de aminoácidos que se detalla en SEQ ID N° 12. Por medio de un alineamiento entre la SEQ ID N° 34 y la SEQ ID N° 12 (que se adjunta), se determinó que hay diferencias a nivel de 9 residuos de aminoácidos. Vale destacar que, aunque sus estructuras son ampliamente similares, las proteínas EG11768, EG11073 y EG11074 se caracterizan por perfiles de actividad dramáticamente diferentes. En

particular, según puede observarse en la tabla 5, la proteína EG11073 careció de actividad insecticida sobre las plagas que se analizaron, mientras que la proteína EG11074 presentó una actividad insecticida excelente sobre todas ellas. Adicionalmente, según puede observarse en la tabla 11, la proteína EG11768 presentó una actividad insecticida sobre el rizador de la soja y la oruga de las leguminosas que fue entre 4 y 10 veces mayor que la que presentó la proteína EG11074. De esta manera, dado el pequeño número de cambios a nivel de los residuos de aminoácidos entre las proteínas EG11768 y EG11074 (es decir, la diferencia es de 9 aminoácidos), puede concluirse que la actividad insecticida de los híbridos es impredecible. Cuando se realiza un alineamiento entre la secuencia de la proteína Cry1A.105 de la presente invención con la secuencia de las proteínas EG11768 y EG11074 de D1, pueden observarse diferencias a nivel de 7 aminoácidos y de 16 aminoácidos, respectivamente (el alineamiento se adjunta). Sobre la base del hecho de que en D1 se indica que las δ -endotoxinas híbridas resultan impredecibles, en combinación con el hecho de que TIC105 es similar a varios de los híbridos que se describen en D1 que no presentaron sus propiedades, puede concluirse que a partir de D1 es imposible determinar con certeza si una proteína híbrida que comprenda la secuencia de aminoácidos de TIC105 presentará el perfil tóxico que se describe en la memoria descriptiva.

También con relación a la actividad inventiva, en D1 se indica que es imposible predecir si será posible obtener una producción (o un nivel de acumulación) eficiente de los híbridos Cry1A/Cry1F. En particular, en D1 se describe en detalle que la producción eficiente de una δ -endotoxina híbrida en *B. thuringiensis* es impredecible, y que puede variar en función de las δ -endotoxinas parentales que se emplean en su construcción (Ver ejemplo 6.2).

En conclusión, en D1 se indica que es imposible predecir la actividad insecticida y el nivel de acumulación de los híbridos Cry1A/Cry1F. Sobre la base de D1, aquellos versados en la técnica no hubiesen podido predecir la estructura o la actividad insecticida de una proteína Cry1A.105 de acuerdo con la presente invención. De hecho, el contenido de D1 es opuesto a la posición del Examinador, que sostiene que aquellos versados en la técnica podrían construir fácilmente una proteína Cry1A.105, una proteína alternativa a la que se describe en D1 con la SEQ ID N° 34, que presentara una actividad insecticida idéntica. Por lo tanto, puede concluirse

que es imposible determinar o predecir con certeza que el objeto de la presente invención que se describe en la reivindicación 1 podrá obtenerse al modificar la SEQ ID Nº 34 de D1. Por el contrario, a partir del contenido de D1, puede concluirse que la presente invención presenta actividad inventiva, ya que en D1 se describe que la actividad insecticida y la producción (o el nivel de acumulación) de los híbridos Cry1A/Cry1F son impredecibles.

Así entonces, teniendo en cuenta que las enseñanzas de la anterioridad D1 citada por su Despacho no llevan a un técnico versado en la materia a obtener la materia de invención acá reivindicada toda vez que no enseña ni sugiere como un todo las características técnicas esenciales de la misma, es claro que a partir de dicho documento no era posible para un técnico medio obtener de manera obvia y/o evidente la presente invención.

Concesión de una solicitud foránea:

Aunque compartimos la opinión de su Despacho, en cuanto a que la concesión de una solicitud de patente en otros países, equivalente a la solicitud Colombiana, no obliga a su Despacho a otorgar el privilegio de patente para la misma invención, sí constituye un antecedente favorable para el estudio de patentabilidad que respetuosamente solicitamos tener en cuenta.

Por lo tanto, informamos a su Despacho que la presente invención ha sido otorgada por las siguientes oficinas de patentes: EEUU (8034997 y 8344207), Europa (EP1919935), Australia, Canadá, China, Honduras, Japón, Corea, México, Nueva Zelandia, Pakistán, Filipinas, Singapur, Vietnam, Ucrania y Sud África.

Dado que la presente solicitud cumple con las disposiciones de los artículos 30, 16 y 18 de la Decisión 486, respetuosamente solicito a ese Despacho que se proceda con la concesión de la presente solicitud.

Anexos

Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por 17 reivindicaciones.

Copia de la alineación de secuencias Cry1A.105 vs EG11074

Copia de la alineación de secuencias Cry1A.105 vs EG11768

Copia de la alineación de secuencias EG11074vs EG11768

Señor Director,


Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. 39.779.654 de Usaquén

T.P.A. No. 70.819 de C.S.J.

Calle 94 A No. 7 A-09 – Bogotá, D.C.

Tel.: 7560770

Bogotá D.C.

04 JUN. 2013

REIVINDICACIONES:

1. Un polinucleótido que codifica una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, desde el aminoácido en posición 10 al aminoácido en posición 600, donde dicho polinucleótido comprende la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 3.
2. Una proteína insecticida que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, desde el aminoácido en la posición 10 al aminoácido en la posición 600.
3. Una composición que comprende la proteína insecticida de la reivindicación 2.
4. Un cassette de expresión para usar en la expresión de la proteína insecticida que tiene una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 2 en una célula huésped, donde dicho cassette de expresión comprende, unidos operativamente, una secuencia promotora funcional en dicha célula huésped y el polinucleótido de la reivindicación 1.
5. El cassette de expresión de la reivindicación 4, donde dicha célula huésped es una célula vegetal, y dicho cassette de expresión comprende además, unidos operativamente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia potenciadora de la expresión, una secuencia directriz no traducida, una secuencia de un intrón, una secuencia que codifica un péptido de direccionamiento al cloroplasto, y una secuencia de terminación y poliadenilación.
6. Una célula huésped que comprende el polinucleótido de la reivindicación 1 y se selecciona del grupo que consiste en una célula bacteriana y una célula fúngica
7. La célula huésped de la reivindicación 6, donde dicha célula bacteriana se selecciona del grupo que consiste en una especie de *Bacillus*, una célula de una especie de *Enterobacteriaceae*, una célula de una especie de *Pseudomonas*, una célula de una especie de *Clostridium* y una célula de una especie de *Rhizobium*, y una célula de una especie de *Agrobacterium*.

8. Un vector que comprende el cassette de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5.
9. Un método para controlar una infestación de una planta por parte de insectos lepidópteros, que comprende
 - (1) transformar una o más células de plantas con un ácido nucleico que comprende, unidos operativamente, un promotor funcional en plantas y un polinucleótido que codifica una proteína que exhibe una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:2 desde el aminoácido en posición 10 al aminoácido en posición 600, que presenta actividad insecticida contra lepidópteros; y
 - (2) contactar el insecto con una o más células vegetales transformadas obtenidas en el paso (1).
10. El cassette de expresión de la reivindicación 4, que comprende una secuencia de polinucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 7.
11. Una proteína insecticida híbrida que comprende un segmento de aminoácidos, que comprende al menos 500 aminoácidos contiguos seleccionados del segmento de aminoácidos indicado en SEQ ID NO: 2, desde el aminoácido en la posición 10 al aminoácido en la posición 600.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, donde dicha composición se selecciona del grupo que consiste en un coloide, una emulsión, un recubrimiento para semillas, una carnada y un polvo.
13. Un método para proteger un cultivo en un campo de una infestación de insectos lepidópteros, que comprende
 - (1) generar una planta de cultivo transgénica que comprende una cantidad efectiva como insecticida de un agente proteico insecticida Cry1A.105 donde dicho agente insecticida comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, desde el aminoácido de posición 10 al aminoácido de posición 600; y
 - (2) contactar el insecto con la planta de cultivo transgénica obtenido del paso (1) donde dicho insecto está inhibido para sobrevivir en dicha planta de cultivo transgénica.
14. El método de la reivindicación 13, donde dicha planta de cultivo transgénica comprende además un agente insecticida adicional, que es tóxico para la

misma especie de insecto que Cry1A.105 y se selecciona del grupo que consiste en una toxina de *Bacillus*, una toxina de *Xenorhabdus*, una toxina de *Photorhabdus* y un ARNds específico para suprimir uno o más genes esenciales en dicha especie de insecto.

15. El método de la reivindicación 13 ó 14, donde el rendimiento de dicha planta de cultivo mejora respecto del rendimiento de un cultivo isogénico que carece de dichos uno o más agentes insecticidas.
16. El método de la reivindicación 14, donde dicho agente insecticida adicional es una toxina de *Bacillus* seleccionada del grupo de proteínas que consiste de una toxina Cry1, Cry2, Cry5, Cry9 y una proteína VIP.
17. Un método para demorar la aparición de resistencia en especies de lepidópteros, que comprende proveer una primera proteína insecticida Cry1A.105 con al menos una segunda proteína insecticida diferente de la primera, donde dicha primera proteína insecticida Cry1A.105 comprende la secuencia de aminoácidos que va del aminoácido en posición 10 al aminoácido en posición 600 de la SEQ ID NO:2 y dicha segunda proteína insecticida se selecciona del grupo de proteínas que consiste de una toxina Cry1, Cry2, Cry5, Cry9 y una proteína VIP.

BLAST®

Basic Local Alignment Search Tool

NCBI/ BLAST/ blastp suite-2sequences/ Formatting Results - MPNDMK3X114
[Formatting options](#)
[Download](#)
[Blast report description](#)

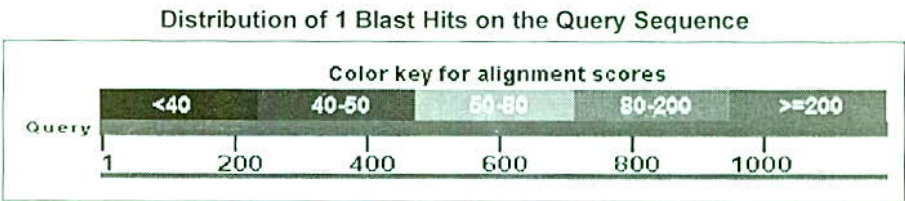
Blast 2 sequences

Strain 11768 protein (SEQ 34 of Malvar appln)

Query ID Icl|22751
Description Strain 11768 protein (SEQ 34 of Malvar appln)
Molecule type amino acid
Query Length 1177

Subject ID 22753
Description Strain 11074 protein (SEQ 12 of Malvar appln)
[See details](#)
Molecule type amino acid
Subject Length 1177
Program BLASTP 2.2.28+

Graphic Summary



Dot Matrix View

Descriptions

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
Strain 11074 protein (SEQ 12 of Malvar appln)	2422	2422	100%	0.0	99%	22753

Alignments

Strain 11074 protein (SEQ 12 of Malvar appln)
Sequence ID: Icl|22753 Length: 1177 Number of Matches: 1
Range 1: 1 to 1177

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
-------	--------	--------	------------	-----------	------	-------

2422 bits (27)	0.0()	Compositional matrix adust.	11/1177 (99%)	119/1177 (99%)	0/1177 (0%)
Features:					
Query	1	MDNNPNINECIPYNCLSNPEVEVLGGERIETGYTPIDISLSLTQFLLSEFVPGAGFVLGL			60
Sbjct	1	MDNNPNINECIPYNCLSNPEVEVLGGERIETGYTPIDISLSLTQFLLSEFVPGAGFVLGL			60
Query	61	VDIIWGI FGPSQWDAFLVQIEQLINQRIEEFARNQAI SRLEGLSNLYQIYAESFREWEAD			120
Sbjct	61	VDIIWGI FGPSQWDAFLVQIEQLINQRIEEFARNQAI SRLEGLSNLYQIYAESFREWEAD			120
Query	121	PTNPALREEMRIQFNDMNSALTTAIPLFAVQNYQVPLLSVYVQAANLHLSVLRDVSFVGQ			180
Sbjct	121	PTNPALREEMRIQFNDMNSALTTAIPLFAVQNYQVPLLSVYVQAANLHLSVLRDVSFVGQ			180
Query	181	RWGFDAATINSRYNDLTRLIGNYTDYAVRWYNTGLERVWGPDSRDWVRYNQFRRELTTLTV			240
Sbjct	181	RWGFDAATINSRYNDLTRLIGNYTDYAVRWYNTGLERVWGPDSRDWVRYNQFRRELTTLTV			240
Query	241	LDIVALFPNYDSRRYPVRTVSQLTREIYTNPVLENFDGSGFRGSAQGIERSIRSPHLMIDL			300
Sbjct	241	LDIVALFPNYDSRRYPVRTVSQLTREIYTNPVLENFDGSGFRGSAQGIERSIRSPHLMIDL			300
Query	301	NSITIIYTDahrGYYYWSGHQIMASPVGFSGPEFTFPLYGTMGNAAPQQRIVAQLGQGVYR			360
Sbjct	301	NSITIIYTDahrGYYYWSGHQIMASPVGFSGPEFTFPLYGTMGNAAPQQRIVAQLGQGVYR			360
Query	361	TLSSSTLYRRPFNIGINNQQLSVLDGTEFAYGTSSNLPSAVYRKSGTVDSLDEIPQNNNV			420
Sbjct	361	TLSSSTLYRRPFNIGINNQQLSVLDGTEFAYGTSSNLPSAVYRKSGTVDSLDEIPQNNNV			420
Query	421	PPRQGFSHRLSHVSMFRSGFSNSSVSIIPAPMFSWIHRSAEFNNIIASDSITQIPLVKAH			480
Sbjct	421	PPRQGFSHRLSHVSMFRSGFSNSSVSIIPAPMFSWHRSA N I + ITQIPLVKAH			480
Query	481	TLQSGTTFVVRGPGFTGGDILRRTSGGPFAYTIVNINGQLPQYRARIYASTTNLRIYVT			540
Sbjct	481	TLQSGTTFVVRGPGFTGGDILRRTSGGPFAYTIVNINGQLPQYRARIYASTTNLRIYVT			540
Query	541	VAGERIFAGQFNKMTMDTGDPLTFQSFYSYATINTAFTFPMQSSFTVGADTFSSGNEVYID			600
Sbjct	541	VAGERIFAGQFNKMTMDTGDPLTFQSFYSYATINTAFTFPMQSSFTVGADTFSSGNEVYID			600
Query	601	RFELIPVTATLEAEYNLERAQKAVNALFTSTNQLGLKTNVTDYHIDQVSNLVTYLSDEFC			660
Sbjct	601	RFELIPVTATLEAEYNLERAQKAVNALFTSTNQLGLKTNVTDYHIDQVSNLVTYLSDEFC			660
Query	661	LDEKRELSEKVZHAKRLSDERNLLQDSNFKDINRQPERGWGGSTGITIQGGDDVFKENYV			720
Sbjct	661	LDEKRELSEKVZHAKRLSDERNLLQDSNFKDINRQPERGWGGSTGITIQGGDDVFKENYV			720
Query	721	TLSGTFDECYPTYLYQKIDESKLFKAFTRYQLRGYIEDSQDLEIYLIRYNAKHETVNVPGT			780
Sbjct	721	TLSGTFDECYPTYLYQKIDESKLFKAFTRYQLRGYIEDSQDLEIYLIRYNAKHETVNVPGT			780
Query	781	GSLWPLSAQSPIGKCGEPNRCAPHLEWNPDLDCSCRDGEKCAHSHHFSLDIDVGCTDLN			840
Sbjct	781	GSLWPLSAQSPIGKCGEPNRCAPHLEWNPDLDCSCRDGEKCAHSHHFSLDIDVGCTDLN			840
Query	841	EDLGWVVIFFIKIKTQDGHARLGNLEFLEEKPLVGEALARVKRAEKKWRDKREKLEWETNIV			900
Sbjct	841	EDLGWVVIFFIKIKTQDGHARLGNLEFLEEKPLVGEALARVKRAEKKWRDKREKLEWETNIV			900
Query	901	YKEAKESVDALFVNSQYDQLQADTNIAMIIHAADKRVHSIREAYLPELSVIPGVNAAI FEE			960
Sbjct	901	YKEAKESVDALFVNSQYDQLQADTNIAMIIHAADKRVHSIREAYLPELSVIPGVNAAI FEE			960
Query	961	LEGRIFTAFLYDARNVIKNGDFNNGLSCWNVKGHVDVEEQNNQRSVLVVPWEAEVSQE			1020
Sbjct	961	LEGRIFTAFLYDARNVIKNGDFNNGLSCWNVKGHVDVEEQNNQRSVLVVPWEAEVSQE			1020
Query	1021	VRVCPGRGYILRVTAAYKEGYGEGCVTIHEIENNTDELKFSNCVEEEIYPNNTVTCNDYTV			1080
Sbjct	1021	VRVCPGRGYILRVTAAYKEGYGEGCVTIHEIENNTDELKFSNCVEEEIYPNNTVTCNDYTV			1080
Query	1081	NQEEYGGAYTSRNRGYNEAPSPADYASVYEEKSYTDGRENPCFNRGYRDTPLPVGY			1140
Sbjct	1081	NQEEYGGAYTSRNRGYNEAPSPADYASVYEEKSYTDGRENPCFNRGYRDTPLPVGY			1140
Query	1141	VTKELEYFPETDKVWIEIGETEGTFIVDSVELLLMEE	1177		
Sbjct	1141	VTKELEYFPETDKVWIEIGETEGTFIVDSVELLLMEE	1177		

BLAST®

Basic Local Alignment Search Tool

[NCBI/BLAST/blastp suite-2sequences/](#) [Formatting Results - MPNA76RZ114](#)
[Formatting options](#)
[Download](#)
[Blast report description](#)

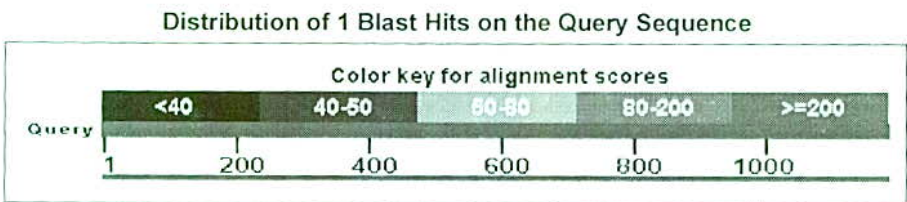
Blast 2 sequences

Cry1A.105 (SEQ 2 of Monsanto 52905 family)

Query ID Icl|4527
Description Cry1A.105 (SEQ 2 of Monsanto 52905 family)
Molecule type amino acid
Query Length 1177

Subject ID 4529
Description Strain 11768 protein (SEQ 34 of Malvar appln)
[See details](#)
Molecule type amino acid
Subject Length 1177
Program BLASTP 2.2.28+

Graphic Summary



Dot Matrix View

Descriptions

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
Strain 11768 protein (SEQ 34 of Malvar appln)	2431	2431	100%	0.0	99%	4529

Alignments

Strain 11768 protein (SEQ 34 of Malvar appln)
Sequence ID: Icl|4529 Length: 1177 Number of Matches: 1
Range 1: 1 to 1177

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
-------	--------	--------	------------	-----------	------	-------

2431 bits (6300)	0.0()	Compositional matrix ad ust.	1170/1177 (99%)	1173/1177 (99%)	0/1177 (0%)
Features:					
Query	1	MDNNPNINECIPYNCLSNPEVEVLGGERIETGYTPIDISLSLTQFLLSEFVPGAGFVLGL	60		
Sbjct	1	MDNNPNINECIPYNCLSNPEVEVLGGERIETGYTPIDISLSLTQFLLSEFVPGAGFVLGL	60		
Query	61	VDIIWGI FGPSQWDAFLVOIEQLINQRIEEFARNQAI SRLEGLSNLYQIYAESFREWEAD	120		
Sbjct	61	VDIIWGI FGPSQWDAFLVOIEQLINQRIEEFARNQAI SRLEGLSNLYQIYAESFREWEAD	120		
Query	121	PTNPALREEMRIQFNDMNSALTTAIPLFAVQNYQVPLL SVYVQAA NLHLSVLRDVS VFQ	180		
Sbjct	121	PTNPALREEMRIQFNDMNSALTTAIPLFAVQNYQVPLL SVYVQAA NLHLSVLRDVS VFQ	180		
Query	181	RWGFDAATINSRYNDLTRLIGNYTDHAVRWYNTGLERVWGPDSRDWIRYNQFRRELTLTV	240		
Sbjct	181	RWGFDAATINSRYNDLTRLIGNYTDHAVRWYNTGLERVWGPDSRDWIRYNQFRRELTLTV	240		
Query	241	LDIVSLFPNYDSRTYPIRTVSQLTREIYTNPVLENFDGSGFRGSAQGI EGSI RSPHLM DIL	300		
Sbjct	241	LDIVSLFPNYDSRTYPIRTVSQLTREIYTNPVLENFDGSGFRGSAQGI EGSI RSPHLM DIL	300		
Query	301	NSITIYTD AHRG EYYWSGHQIMASPVGFSGPEFTFPLYGTMGNAAPQQRIVAQLGQGVYR	360		
Sbjct	301	NSITIYTD AHRG EYYWSGHQIMASPVGFSGPEFTFPLYGTMGNAAPQQRIVAQLGQGVYR	360		
Query	361	TLSSSTLYRRPFNIGINNQQLSVLDGTEFAYGTSSNLPSAVYRKSGTVDSLDEI PPQNNNV	420		
Sbjct	361	TLSSSTLYRRPFNIGINNQQLSVLDGTEFAYGTSSNLPSAVYRKSGTVDSLDEI PPQNNNV	420		
Query	421	PPRQGFSHRLSHVSMFRSGFSNSSVSI I RAPMFSWIHRSAEFNNIIASDSITQIPLVKAH	480		
Sbjct	421	PPRQGFSHRLSHVSMFRSGFSNSSVSI I RAPMFSWIHRSAEFNNIIASDSITQIPLVKAH	480		
Query	481	TLQSGTIVVRGPGFTGGDILRRTSGGPFAYTIVNINGQLPQRYPARIRYASTTNLRIYVT	540		
Sbjct	481	TLQSGTIVVRGPGFTGGDILRRTSGGPFAYTIVNINGQLPQRYPARIRYASTTNLRIYVT	540		
Query	541	VAGERIFAGQFNKMTMDTGDPLTFQSESYATINTAFTFPMQSSFTVGADTFSSGNEVYID	600		
Sbjct	541	VAGERIFAGQFNKMTMDTGDPLTFQSESYATINTAFTFPMQSSFTVGADTFSSGNEVYID	600		
Query	601	RFELIPVTATLEAEYNLERAQKAVNALFTSTNQLGLKTNVTDYHIDQVSNLVTYLSDEFC	660		
Sbjct	601	RFELIPVTATLEAEYNLERAQKAVNALFTSTNQLGLKTNVTDYHIDQVSNLVTYLSDEFC	660		
Query	661	LDEKRELSEKVHAKRLSDERNLLQDSNFKDINRQPERGWGGSTGITIQGGDDVFKENYV	720		
Sbjct	661	LDEKRELSEKVHAKRLSDERNLLQDSNFKDINRQPERGWGGSTGITIQGGDDVFKENYV	720		
Query	721	TLSGTFDECYPTYLYQKIDESKLKAFTRYQLRGYIEDSQDLEIY SIRYNAKHETVNVPGT	780		
Sbjct	721	TLSGTFDECYPTYLYQKIDESKLKAFTRYQLRGYIEDSQDLEIY IRYNAKHETVNVPGT	780		
Query	781	GSLWPLSAQSPIGKCGEPNRCAPHLEWNPDLDCSCRDGEKCAHHSHHFSLDIDVGCTDLN	840		
Sbjct	781	GSLWPLSAQSPIGKCGEPNRCAPHLEWNPDLDCSCRDGEKCAHHSHHFSLDIDVGCTDLN	840		
Query	841	EDLGWVVI FKIKTQDGHARLGNLEFLEEKPLVGEALARVKRAEKKWRDKREKLEWETNIV	900		
Sbjct	841	EDLGWVVI FKIKTQDGHARLGNLEFLEEKPLVGEALARVKRAEKKWRDKREKLEWETNIV	900		
Query	901	YKEAKESVDALFVNSQYDQLQADTNIAMHAADKRVHSIREAYLPELSVIPGVNAAI FEE	960		
Sbjct	901	YKEAKESVDALFVNSQYDQLQADTNIAMHAADKRVHSIREAYLPELSVIPGVNAAI FEE	960		
Query	961	LEGRIFTAFLYDARNVIKNGDFNNGLSCWNVKGHVDVEEQNNQRSVLVVPWEAEVSOE	1020		
Sbjct	961	LEGRIFTAFLYDARNVIKNGDFNNGLSCWNVKGHVDVEEQNNQRSVLVVPWEAEVSOE	1020		
Query	1021	VRVCPGRGYILPVTAYKEGYGEGCVTIHEIENNTDELKFSNCVVEEIIYPNNTVTCNDYTV	1080		
Sbjct	1021	VRVCPGRGYILPVTAYKEGYGEGCVTIHEIENNTDELKFSNCVVEEIIYPNNTVTCNDYTV	1080		
Query	1081	NQEEYGGAYTSRNRGYNEAPSVPADYASVYEEKSYTDGRENPCFENRGYRDYTPLPVGY	1140		
Sbjct	1081	NQEEYGGAYTSRNRGYNEAPSVPADYASVYEEKSYTDGRENPCFENRGYRDYTPLPVGY	1140		
Query	1141	VTKELEYFPETDKVWIEIGETEGTFIVDSVELLLMEE	1177		
Sbjct	1141	VTKELEYFPETDKVWIEIGETEGTFIVDSVELLLMEE	1177		

BLAST®

Basic Local Alignment Search Tool

[NCBI/BLAST/blastp suite-2sequences/](#) **Formatting Results - MPN5B5PC114**
[Formatting options](#)
[Download](#)
[Blast report description](#)

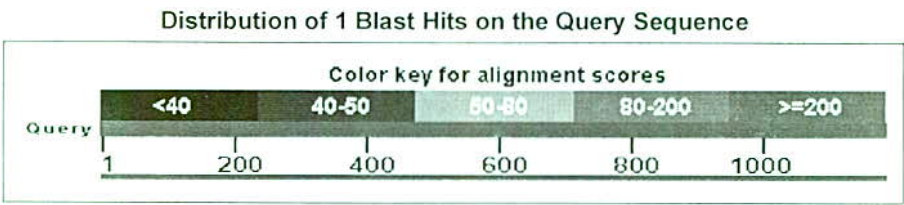
Blast 2 sequences

Cry1A.105 (SEQ 2 of Monsanto 52905 family)

Query ID |cl|16185
Description Cry1A.105 (SEQ 2 of Monsanto 52905 family)
Molecule type amino acid
Query Length 1177

Subject ID 16187
Description Strain 11074 protein (SEQ 12 of Malvar appln) [See details](#)
Molecule type amino acid
Subject Length 1177
Program BLASTP 2.2.28+

[Graphic Summary](#)



[Dot Matrix View](#)

[Descriptions](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
Strain 11074 protein (SEQ 12 of Malvar appln)	2409	2409	100%	0.0	99%	16187

[Alignments](#)

Strain 11074 protein (SEQ 12 of Malvar appln)
Sequence ID: |cl|16187 Length: 1177 Number of Matches: 1
Range 1: 1 to 1177

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
-------	--------	--------	------------	-----------	------	-------

2409 bits (6242)	0.0()	Compositional matrix ad ust.	1161/1177 (99%)	116 /1177 (98%)	0/1177 (0%)
Features:					
Query	1	MDNNPNINECIPYNCLSNPEVEVLGGERIETGYTPIDISLSLTQFLLSEFVPGAGFVLGL			60
Sbjct	1	MDNNPNINECIPYNCLSNPEVEVLGGERIETGYTPIDISLSLTQFLLSEFVPGAGFVLGL			60
Query	61	VDIIWGI FGPSQWDAFLVQIEQLINQRI EEFARNQAISRLEGLSNLYQIYAESFREWEAD			120
Sbjct	61	VDIIWGI FGPSQWDAFLVQIEQLINQRI EEFARNQAISRLEGLSNLYQIYAESFREWEAD			120
Query	121	PTNPALREEMRIQFNDMNSALTTAIPLFAVQNYQVPLL SVYVQAA NLHLSVLRDVS VFQG			180
Sbjct	121	PTNPALREEMRIQFNDMNSALTTAIPLFAVQNYQVPLL SVYVQAA NLHLSVLRDVS VFQG			180
Query	181	RWGFDAATINSRYNDLTRIGNYTDHAVRWYNTGLERVWGPDSRDWIRYNQFRRELTLTV			240
Sbjct	181	RWGFDAATINSRYNDLTRIGNYTD+AVRWYNTGLEPVGPDSDW+RYNQFRRELTLTV			240
Query	241	LDIVSLFPNYDSRTYPIRTVSQLTREIYTNPVLENFDGSGFRGSAQGI EGSI RSPHLM DIL			300
Sbjct	241	LDIV+LFPNYDSP YPIRTVSQLTREIYTNPVLENFDGSGFRGSAQGI E SI RSPHLM DIL			300
Query	301	NSITIYTD AHRGEY YWSGHQIMASPVGFSGPEFTFPLYGTMGNAAPQORIVAQLGQGVYR			360
Sbjct	301	NSITIYTD AHRGYYYWSGHQIMASPVGFSGPEFTFPLYGTMGNAAPQORIVAQLGQGVYR			360
Query	361	TLSSSTLYRRPFNIGINNQQLSVLDGTEFAYGTSSNLPSAVYRKSGTVDSLDEIPPQNNNV			420
Sbjct	361	TLSSSTLYRRPFNIGINNQQLSVLDGTEFAYGTSSNLPSAVYRKSGTVDSLDEIPPQNNNV			420
Query	421	PPRQGFSHRLSHVSMFRSGFSNSSVSIIRAPMFESWIHRSAEFNNIIASDSITQIPLVKAH			480
Sbjct	421	PPRQGFSHRLSHVSMFRSGFSNSSVSIIRAPMFESW HRSA N I + ITQIPLVKAH			480
Query	481	TLQSGTTVVRGPGFTGGDILRRTSGGPFAYTIVNINGQLPQRYPARIRYASTTNLRIYVT			540
Sbjct	481	TLQSGTTVVRGPGFTGGDILRRTSGGPFAYTIVNINGQLPQRYPARIRYASTTNLRIYVT			540
Query	541	VAGERIFAGQFNKMTDGDPLTFQSFYSYATINTAFTFPMSSQSSFTVGADTFSSGNEVYID			600
Sbjct	541	VAGERIFAGQFNKMTDGDPLTFQSFYSYATINTAFTFPMSSQSSFTVGADTFSSGNEVYID			600
Query	601	RFELIPVTATLEAEYNLERAQKAVNALFTSTNQLGLKTNVTDYHIDQVSNLVTYLSDEFC			660
Sbjct	601	RFELIPVTATLEAEYNLERAQKAVNALFTSTNQLGLKTNVTDYHIDQVSNLVTYLSDEFC			660
Query	661	LDEKRELSEKVKHAKRLSDERNLLQDSNFKDINRQPERGWGGSTGITIQGGDDVFKENYV			720
Sbjct	661	LDEKRELSEKVKHAKRLSDERNLLQDSNFKDINRQPERGWGGSTGITIQGGDDVFKENYV			720
Query	721	TLSGTFDECYPTYLYQKIDESKLFKAFTRYQLRGYIEDSQDLEIYIRYNAKHETVNVPGT			780
Sbjct	721	TLSGTFDECYPTYLYQKIDESKLFKAFTRYQLRGYIEDSQDLEIYIRYNAKHETVNVPGT			780
Query	781	GSLWPLSAQSPIGKCGEPNRCAPHLEWNPDLDCSCRDGEKCAHSHHFSLDIDVGCTDLN			840
Sbjct	781	GSLWPLSAQSPIGKCGEPNRCAPHLEWNPDLDCSCRDGEKCAHSHHFSLDIDVGCTDLN			840
Query	841	EDLGWVWIFKIKTQDGHARLGNLEFLEEKPLVGEALARVKRAEKKWRDKREKLEWETNIV			900
Sbjct	841	EDLGWVWIFKIKTQDGHARLGNLEFLEEKPLVGEALARVKRAEKKWRDKREKLEWETNIV			900
Query	901	YKEAKESVDALFVNSQYDQLQADTNIAMIIHAADKRVHSIPEAYLPELSVIPGVNAAI FEE			960
Sbjct	901	YKEAKESVDALFVNSQYDQLQADTNIAMIIHAADKRVHSIPEAYLPELSVIPGVNAAI FEE			960
Query	961	LEGRIFTAFLYDARNVIKNGDFNGLSCWNVKGHVDVEEQNNQRSVLVVPWEAEVSOE			1020
Sbjct	961	LEGRIFTAFLYDARNVIKNGDFNGLSCWNVKGHVDVEEQNNQRSVLVVPWEAEVSOE			1020
Query	1021	VRVCPGRGYILPVTAYKEGYGEGCVTIHEIENNTDELKFSNCVEEEIYPNNTVTCNDYTV			1080
Sbjct	1021	VRVCPGRGYILPVTAYKEGYGEGCVTIHEIENNTDELKFSNCVEEEIYPNNTVTCNDYTV			1080
Query	1081	NQEEYGGAYTSRNRGYNEAPSVPADYASVYEEKSYTDGRRNPCEFNRGYRDYTPLPVGY			1140
Sbjct	1081	NQEEYGGAYTSRNRGYNEAPSVPADYASVYEEKSYTDGRRNPCEFNRGYRDYTPLPVGY			1140
Query	1141	VTKELEYFPETDKVWIEIGETEGTFIVDSVELLLMEE	1177		
Sbjct	1141	VTKELEYFPETDKVWIEIGETEGTFIVDSVELLLMEE	1177		