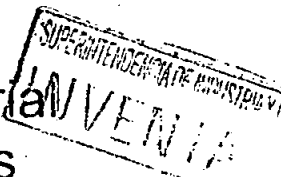


Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



SOLICITUD DE

PCT

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

EXPEDIENTE No.

00-19688

4. TITULO: SECUENCIAS DE NUCLEOTIDOS QUE CODIFICAN PROTEINAS INSECTICIDAS

2. CLASIFICACION INTERNACIONAL:

1. SOLICITANTE: MONSANTO TECHNOLOGY, LLC

DOMICILIO:

800 North Lindberg Boulevard, St. Louis,
Missouri 63167, ESTADOS UNIDOS DE
AMERICA

4. APODERADO: Dra. MARGARITA CASTELLANOS A.

2. BOGOTA, D.C.,

26 FEB. 2008



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-019688- -00000-0000

Fecha: 2008-02-26 14:47:31 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 165

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

31 Marzo 2008

SOLICITUD DE PATENTE EN COLOMBIA

①

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

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: MONSANTO TECHNOLOGY, LLC

Dirección: 800 North Lindbergh Boulevard,
St. Louis, Missouri 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICADomicilio: St. Louis, Missouri,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICALugar de Constitución: ESTADOS UNIDOS
DE AMERICA

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
O APODERADO (74)

Nombre: MARGARITA CASTELLANOS A.

Dirección: CALLE 94A No. 7A-09

Teléfono: 610 7420 Fax: 610 0706

E-mail: info@castellanosyco.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 39'779.654 TPA 70,819

INVENTOR (ES) (72)

VER ANEXO # 1

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No.

PCT/US2006/033868

Fecha

30/08/2005

Publicación Internacional No.

WO 2007/027777 A2

Fecha

08/03/2007

⑥

Título (54)

SECUENCIAS DE NUCLEOTIDOS QUE CODIFICAN PROTEINAS INSECTICIDAS

⑦

Clasificación Internacional (51)

C07K 14/325

⑧

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☒NO ☐

US

31/08/2005

60/713,144

⑨

Comprobante de pago No.

08-11,389

Fecha

Febrero 11 de 2008

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

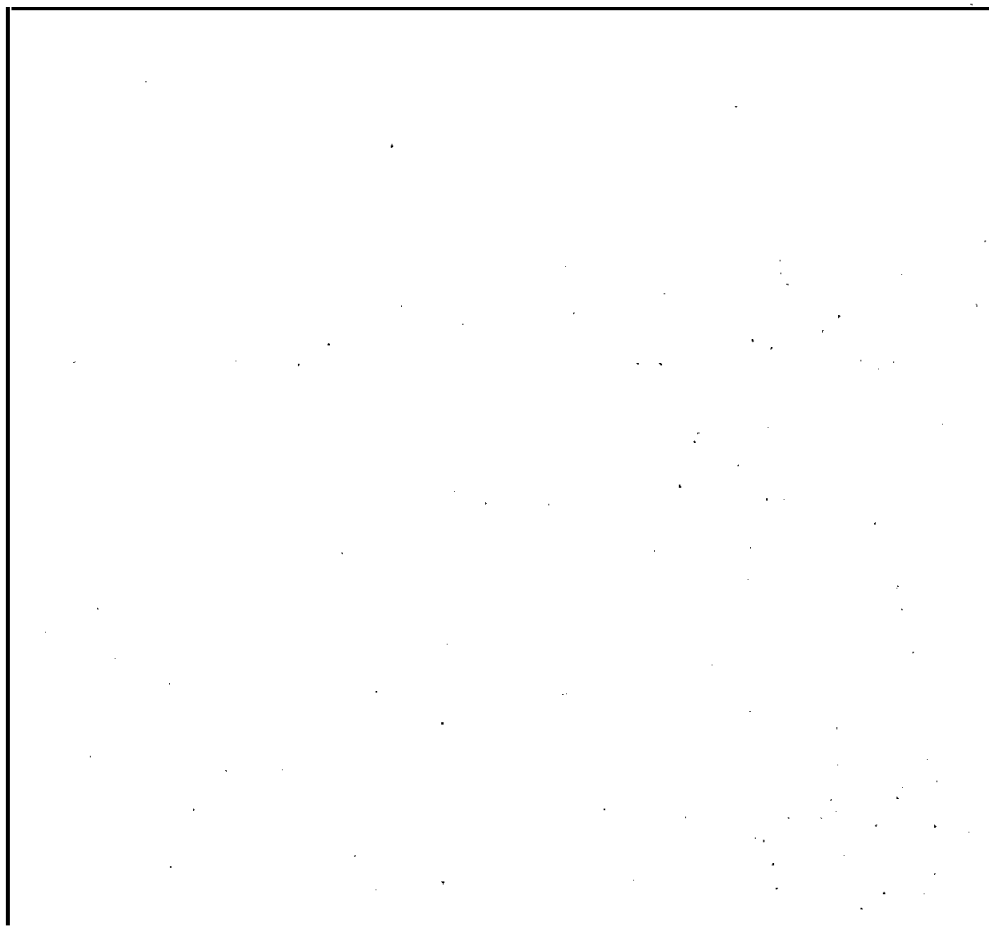
10

Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso, junto con la sustitución del mismo a mi favor
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros Tarjeta Propietario y Extracto para la Publicación.Reivindicaciones modificadas Art 19

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO

FIRMA:

Margarita Castellanos
C.C. No. 39'779.654 Usaquén - TPA 70.819 C.S.J.

CASTELLANOS & CO LTDA

ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A-09
Bogotá, D.C. - COLOMBIA

ANEXO # 1

INVENTOR(ES) (72)

- 1 NATALIA N. BOGDANOVA**
MONSANTO TECHNOLOGY LLC,
800 North Technology Llc, St. Louis, MO 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
- 2 DAVID R. CORBIN**
MONSANTO TECHNOLOGY LLC,
800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
- 3 THOMAS M. MALVAR**
MONSANTO TECHNOLOGY LLC,
800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
- 4 FREDERICK J. PERLAK**
MONSANTO TECHNOLOGY LLC,
800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
- 5 JAMES K. ROBERTS**
MONSANTO TECHNOLOGY LLC,
800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
- 6 CHARLES P. ROMANO**
MONSANTO TECHNOLOGY LLC,
800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-019688- -00000-0000

Fecha: 2008-02-26 14:47:31

Dep. 2020 NUECREACION

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 379 FASENACIONALII

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 165

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

IBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 11,389
 HA : FEBRERO 11 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

OSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ARO CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	599436	11/02/2008	3,717,000.00

***** CONCEPTO *****

T. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
	TOTAL :	\$ 501,000.00

: QUINIENTOS UN MIL PESOS

PONSABLE :

IBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

5

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

Señor

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio,
Ministerio de Comercio, Desarrollo, Industria y Turismo

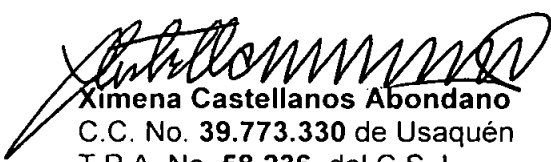
E. S. D.

Ref.: **PODER** conferido por **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

Yo, **XIMENA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente manifiesto a Uds. que sustituyo en la Dra. **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, el poder que me confirió **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**, con domicilio en **800 North Lindberg Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA**, debidamente legalizado por Apostilla bajo el No. **142500**, el día **21 de Diciembre de 2005**, con las mismas facultades que me fueron conferidas, para tramitar la solicitud de patente PCT Entrada en Fase Nacional, para: **"SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS INSECTICIDAS"**.-

Del Señor Jefe,

Acepto


Ximena Castellanos Abondano
C.C. No. **39.773.330** de Usaquén
T.P.A. No. **58.236** del C.S.J.
Calle 94 A No. 7 A-09 – Bogotá
PBX: 610 74 20


Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. **39.779.654** de Usaquén
T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.
Calle 94 A No. 7 A-09 – Bogotá
PBX: 610 74 20

Bogotá, D.C.
XCA/MCA/j1577

**AUTENTICACION DE FIRMA
MEDIANTE COMPARECENCIA PERSONAL**
(Art. 84 C.P.C. mod. Decr. 2282 de 1989, art. 1 mod. 36)

Ante el Notario Cuarenta y Uno (41) del círculo de esta ciudad compareció personalmente:
Ximena Castellano
identificado con C.C. **39773333**
expedida en: **USA** y tarjeta profesio-
nal de abogado(a) No. **58163** del Consejo
Superior de la Judicatura, con documento di-
rigido a **S.I.C.**
y declaró que la firma puesta en este escrito es
suya.

Ximena Castellano
Firma del declarante

En Bogotá D.C. a **18 FEB 2008**
AUTORIZÓ ESTA DILIGENCIA EL SUSCRITO NOTARIO



**AUTENTICACION DE FIRMA
MEDIANTE COMPARECENCIA PERSONAL**
(Art. 84 C.P.C. mod. Decr. 2282 de 1989, art. 1 mod. 36)

Ante el Notario Cuarenta y Uno (41) del círculo de esta ciudad compareció personalmente:
Margarita Castellano
identificado con C.C. **39773333**
expedida en: **USA** y tarjeta profesio-
nal de abogado(a) No. **70819** del Consejo
Superior de la Judicatura, con documento di-
rigido a **S.I.C.**
y declaró que la firma puesta en este escrito es
suya.

Margarita Castellano
Firma del declarante

En Bogotá D.C. a **18 FEB 2008**
AUTORIZÓ ESTA DILIGENCIA EL SUSCRITO NOTARIO



PODEREl (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 fabrica, 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 ATTORNEYI (we) the undersigned **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**Of **800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, EEUU**

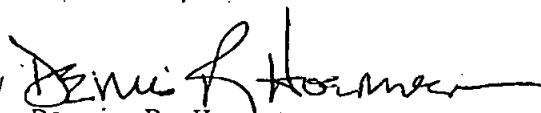
hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and /or MARGARITA CASTELLANOS A.** attorneys residing at Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia, to obtain the protection of my (our) Industrial Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, 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 ensgins; 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;

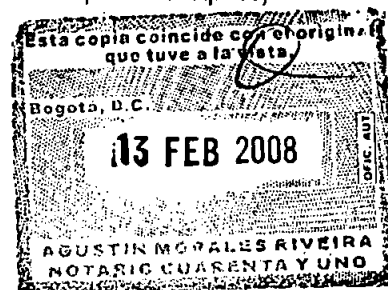
In all the above matters they may substitute this power of attorney, compromise, desist, cancel, receive, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact, in or out of court.

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)



COLOMBIA

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

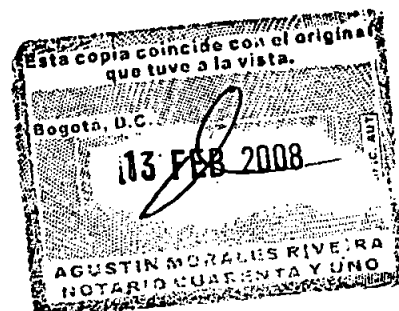
(Notary Public)

Michelle Ludwig

*Documents must be identified with date and origin



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



6027-FNPCT

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

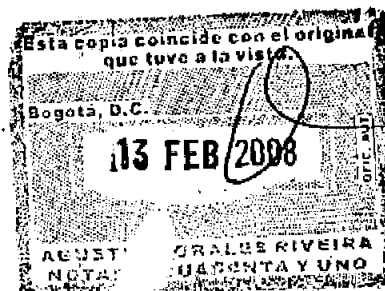
This public document
2. has been signed by MICHELLE LUDWIG
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC
4. bears the seal/stamp of MICHELLE LUDWIG-NOTARY PUBLIC-STATE OF MISSOURI

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

Comm. 48 (01-2005)



-----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

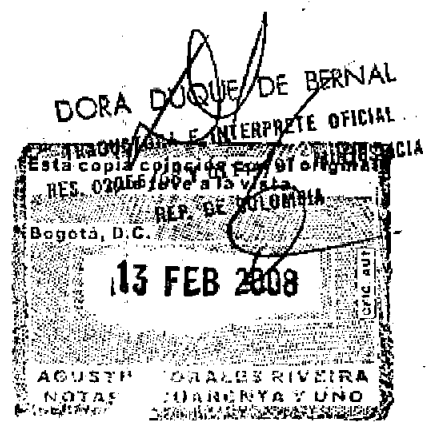
APOSTILLA

{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



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.

[Handwritten signature]

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
CUTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

Esta copia coincide con el original
que tuve a la vista.
Bogotá, D.C.
13 FEB 2008
AGUSTIN MORALES RIVEIRA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
8 March 2007 (08.03.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/027777 A2

(51) International Patent Classification: Not classified

LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167 (US).

(21) International Application Number:
PCT/US2006/033868

(74) Agent: **BALL, Timothy, K.**; MONSANTO TECHNOLOGY LLC, 800 NORTH LINDBERGH BOULEVARD, St. Louis, MO 63167 (US).

(22) International Filing Date: 30 August 2006 (30.08.2006)

(25) Filing Language: English

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

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/713,144 31 August 2005 (31.08.2005) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **MONSANTO TECHNOLOGY LLC** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **BOGDANOVA, Natalia, N.** [RU/US]; MONSANTO TECHNOLOGY LLC, 800 North Technology Llc, St. Louis, MO 63167 (US). **CORBIN, David, R.** [US/US]; MONSANTO TECHNOLOGY LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167 (US). **MALVAR, Thomas, M.** [US/US]; MONSANTO TECHNOLOGY LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167 (US). **PERLAK, Frederick, J.** [US/US]; MONSANTO TECHNOLOGY LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167 (US). **ROBERTS, James, K.** [US/US]; MONSANTO TECHNOLOGY LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, MO 63167 (US). **ROMANO, Charles, P.** [US/US]; MONSANTO TECHNOLOGY

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

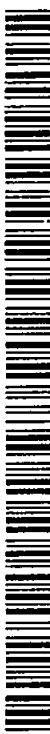
Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: NUCLEOTIDE SEQUENCES ENCODING INSECTICIDAL PROTEINS

(57) Abstract: The present invention provides nucleotide sequences encoding an insecticidal protein exhibiting lepidopteran inhibitory activity, as well as a novel insecticidal protein referred to herein as a Cry1A.105 insecticide, transgenic plants expressing the insecticide, and methods for detecting the presence of the nucleotide sequences or the insecticide in a biological sample.



WO 2007/027777 A2

BACKGROUND OF THE INVENTION

The present invention provides novel coding sequences for use in plants. The coding sequences encode a chimeric insecticidal protein toxic to a wide range of lepidopteran species crop pests.

5 Commercial formulations of naturally occurring *B. thuringiensis* isolates have long been used for the biological control of agricultural insect pests. Bt spores and crystals obtained from fermentation of *Bacillus thuringiensis* species are concentrated and formulated for foliar application according to conventional agricultural practices.

10 Members of the family of Cry1 crystal proteins are known to exhibit bioactivity against lepidopteran insect larvae and are useful as agents for controlling lepidopteran insect pests. The precursor form of Cry1 δ -endotoxins consist of two approximately equal sized segments. The carboxy-terminal portion of the precursor protein, or pro-toxin segment, stabilizes crystal formation and exhibits no insecticidal activity. The amino-terminal half of the precursor protein comprises the toxin segment of the Cry1 protein and, based on
15 alignment of conserved or substantially conserved sequences within Cry1 family members, can be further sub-divided into three structural domains. These three sub-domains are based on a three dimensional crystallographic structural model of a Cry1A δ -endotoxin in which the three sub-domains were referred to as Domain I, Domain II, and Domain III, respectively as measured from the amino terminus of the protein toxin segment. Domain I comprises about
20 the first third of the active toxin segment and has been shown to be essential for channel formation (Thompson et al., 1995). Domains II and III respectively comprise about the central and carboxy-terminal segments of the active toxin portion. Domains II and III have both been implicated in receptor binding and insect species specificity, depending on the insect and δ -endotoxin being examined (Thompson et al., 1995).

25 The likelihood of arbitrarily creating a chimeric protein with enhanced properties from the reassortment of the domain structures of the numerous native insecticidal crystal proteins known in the art is remote. This is a result of the complex nature of protein structure, folding, oligomerization, and activation including correct proteolytic processing of the chimeric precursor, if expressed in such form, to release an insecticidal toxin segment.
30 Only by careful selection of specific target regions within each parental protein for inclusion into a chimeric structure can functional insecticidal toxins be constructed that exhibit improved insecticidal activity in comparison to the parental proteins from which the chimeras are derived. Experience has shown that reassembly of the toxin domains, i.e., assembly of a

chimeric toxin consisting of domain I, II, and III of any two or more toxins that are different from each other, results in the construction of a protein that exhibits faulty crystal formation and/or the complete lack of any detectable insecticidal activity directed to a preferred target insect pest species. In some instances, a chimeric toxin will exhibit good crystal formation properties, yet exhibit no detectable insecticidal activity. Only by trial and error are effective insecticidal chimeras formulated, and even then, the skilled artisan is not certain to end up with a chimera that exhibits insecticidal activity that is equivalent to or improved in comparison to any single parental toxin protein from which the constituents of the chimera may have been derived.

The literature reports examples of the construction or assembly of chimeric proteins from two or more Bt insecticidal crystal protein precursors, yet not all exhibited insecticidal or crystal forming properties that were equivalent to or improved in comparison to the precursor proteins from which the chimeras were derived. (Bosch et al. (WO95/06730); Thompson et al. (WO95/30753); Thompson et al. (WO95/30752); Malvar et al. (WO98/22595); Gilroy et al. (US Patent No. 5,128,130); Gilroy (US Patent No. 5,055,294); Lee et al. (1992) Gene 267:3115-3121; Honce et al. (1991) Mol. Microbiol. 5 :2799-2806; Schnepf et al. (1990) J. Biol. Chem. 265:20923-20930; Perlak et al. (1990) Bio/Technol. 8:939-9943; Perlak et al (1993) Plant Mol. Biol. 22:313-321).

Expression of *B. thuringiensis* δ -endotoxins in transgenic corn plants has proven to be an effective means of controlling agriculturally important insect pests (Perlak et al. 1990; 1993). Transgenic crops expressing *B. thuringiensis* δ -endotoxins enable growers to significantly reduce the time and costs associated with applications of topically applied chemical insecticides. Use of transgenes encoding *B. thuringiensis* δ -endotoxins is particularly advantageous. Crop plants expressing *B. thuringiensis* δ -endotoxins in areas under heavy insect pressure exhibit improved yields that are better than otherwise similar non-transgenic commercial plant varieties. However, it is anticipated that insects may evolve resistance to *B. thuringiensis* δ -endotoxins expressed in transgenic plants. Such resistance, should it become widespread, would clearly limit the commercial value of germplasm containing genes encoding such *B. thuringiensis* δ -endotoxins. One possible way of increasing the effectiveness of the transgenic insecticides against target pests and contemporaneously reducing the development of insecticide-resistant pests would be to ensure that transgenic crops express high levels of *B. thuringiensis* δ -endotoxins (McGaughey and Whalon 1993; Roush 1994). In addition, having a repository of

insecticidal genes that are effective against groups of insect pests and which manifest their effects through different modes of action can safeguard against any development of resistance. Expression in a plant of two or more insecticidal compositions toxic to the same insect species, each insecticide being expressed at levels high enough to effectively delay the onset of resistance, would be another way to achieve control of the development of resistance. Examples of such insecticides useful in such combinations include but are not limited to Bt toxins, *Xenorhabdus* sp. or *Photorhabdus* sp. insecticidal proteins, deallergenized and de-glycosylated patatin proteins and/or permutins, plant lectins, and the like. Achieving co-expression of multiple insecticidally active proteins in the same plant, and/or high expression levels of those insecticidal proteins without causing undesirable plant morphological effects has been elusive.

Only a handful of the more than two-hundred and fifty individual insecticidal proteins that have been identified from *Bacillus thuringiensis* species have been tested for expression in plants. Several Cry1's, Cry3's, Cry2Aa and Cry2Ab, binary toxins Cry33/34 and Cry23/37, and a Cry9 have been successfully expressed in plants. Cry1 proteins represent the largest class of proteins that have been expressed in plants, but none have been expressed at high levels. It was necessary to target the Cry2Ab to the chloroplast to avoid undesirable phytotoxic effects. The majority of acres planted in recombinant plants express Cry1A proteins. The likelihood of the onset of resistance to Cry1A proteins by targeted insect pest species is substantially higher than it would be if a resistance management allele was also expressed along with the *cry1* allele, or if the *cry1* allele was expressed at high levels. Therefore it is desirable that alternative toxin genes be developed for expression in plants as supplements and replacements for those being used presently in the first and second generations of transgenic insect resistant plants.

SUMMARY OF THE INVENTION

The invention provides isolated nucleotide sequences for expression in plants encoding an insecticidal protein exhibiting lepidopteran insect inhibitory properties. SEQ ID NO:1 is an example of such nucleotide sequences consisting of a *cry1A.105* gene and encodes an insect inhibitory Cry1A.105 protein. SEQ ID NO:1 is similar to SEQ ID NO:3, both encoding a Cry1A.105 protein. SEQ ID NO:1 is preferred for use in a dicotyledonous cells, while SEQ ID NO:3 is preferred for use in monocotyledonous cells. SEQ ID NO:4 is encoded from SEQ ID NO:3 and is identical in amino acid sequence to SEQ ID NO:2. The isolated nucleotide sequence is intended to include sequences that exhibit at least from about 88% to about 90% or greater nucleotide sequence identity to the sequence as set forth at SEQ ID NO:1, or that hybridize to SEQ ID NO:1 under stringent hybridization conditions. The isolated nucleotide sequence is also intended to include sequences that exhibit at least about 90% nucleotide sequence identity to the sequence as set forth at SEQ ID NO:3, or that hybridize to SEQ ID NO:3 under stringent hybridization conditions.

The invention also provides an isolated and purified insecticidal protein exhibiting inhibitory activity directed to lepidopteran insect species. The insecticidal protein is designated herein at least as the toxin portion of Cry1A.105 and exhibits an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2. The full length precursor protein consisting of about 1177 amino acids as set forth in SEQ ID NO:2 is also referred to as an insecticidal Cry1A.105 protein, however any fragment of the precursor protein that exhibits insecticidal bioactivity is intended to be referred to as an insecticidal Cry1A.105 protein, and includes at least a Cry1A.105 insecticidal protein corresponding to an amino acid sequence segment from about amino acid 1 through about amino acid 612 as set forth in SEQ ID NO:2, and may also include a segment from about amino acid 2 through about amino acid 610. Any composition consisting of an insecticidally effective amount of the insecticidal protein is intended to be within the scope of the invention.

The invention also provides an expression cassette for use in expressing an insecticidal protein as set forth in SEQ ID NO:2 in a host cell. The expression cassette preferably contains a promoter functional in the intended host cell which is linked to and regulates the expression of a nucleotide sequence encoding an insecticidal segment of a Cry1A.105 protein. Exemplary expression cassettes are provided herein as set forth at SEQ ID NO:5 and SEQ ID NO:7, intended for use in a dicot plant cell or a monocot plant cell, respectively. The promoter and the coding sequence are operably linked and function

together in the host cell. The expression cassette can be intended for use in any host cell, but is preferably for use in a bacterial cell, a fungal cell, a mammalian cell, or a plant cell. Bacterial cells are preferably selected from the group consisting of a *Bacillus* species cell, a *Enterobacteriaceae* species cell, a *Pseudomonas* species cell, a *Clostridium* species cell, and a *Rhizobium* species cell, and a *Agrobacterium* species cell. If the host cell is a plant cell, it is preferable that it is a cell chosen from a crop species of plant cell, preferably either a dicotyledonous plant or a monocotyledonous plant cell. Examples of dicotyledonous plant cells are alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable. Monocotyledonous plant cells examples are corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley. Expression cassettes intended for use in a plant cell typically contain in operable linkage sequences that regulate the levels and efficiencies of expression of an intended substance, such as a Cry1A.105 insecticidal protein. Such sequences may be an expression enhancer sequence, an untranslated leader sequence, an intron sequence, a chloroplast targeting peptide encoding sequence, and a transcription termination and polyadenylation sequence.

The expression cassette is preferably incorporated into a vector for use in stabilizing the maintenance of the Cry1A.105 coding sequence within the host cell. A vector can be any number of structures known in the art, but is typically a plasmid or replicon into which the expression cassette is constructed or inserted prior to incorporation into the host cell. A vector is intended to include but not be limited to a plasmid, a cosmid, a bacmid, a phagemid, a YAC, a BAC, a suicide vector, an insertion sequence, a transposon, or even a linear nucleotide sequence to which the expression cassette is linked or in which the expression cassette is embedded.

Transgenic plants resistant to lepidopteran insect infestation are an embodiment of the present invention. Such plants contain a nucleotide sequence that encodes a Cry1A.105 insecticidal protein as set forth in SEQ ID NO:2 at least from about amino acid 2 to about amino acid 612. The transgenic plant is effective in controlling lepidopteran insect infestations brought about by insects such as leaf rollers, cutworms, armyworms, borers, bagworms, and any forage feeder. Preferred pests are fall armyworms, European corn borers, corn earworms (cotton bollworms), southwestern corn borers, and black cutworms.

The present invention is intended to include the progeny and seed or fruits or product yielded from the transgenic plant of the present invention, so long as the nucleotide sequence of the present invention encoding a Cry1A.105 insecticidal segment is maintained within the heritable and/or plastid genome of the cells of the plant, its progeny, seed, and the like.

5 The present invention also provides one or more methods for controlling lepidopteran insect infestation of a plant by providing in the diet of an insect pest a composition that contains an insecticidally effective amount of an insecticidal Cry1A.105 protein. One such composition would be plant cells that have been or are descended from a plant cell transformed with a nucleic acid sequence that encodes an insecticidal segment of a
10 Cry1A.105 amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2. A transgenic plant generated from a plant cell transformed to contain an expression cassette, exemplified as set forth at SEQ ID NO:5 and SEQ ID NO:7, which contains a sequence encoding a Cry1A.105 insecticidal amino acid sequence, would be one means for providing an insecticidal composition in the diet of the insect. Another means would be to produce an insecticidally
15 effective amount of a Cry1A.105 protein in a bacterial or fungal cell and provide the bacterial cell or fungal cell or a purified amount of the Cry1A.105 protein in the diet of one or more target insect pests susceptible to the Cry1A.105 protein.

A method of identifying a nucleotide sequence encoding a Cry1A.105 amino acid sequence in a biological sample is provided. The method consists of contacting a sample
20 being tested for the presence of the Cry1A.105 coding sequence with a polynucleotide probe that binds with specificity to the Cry1A.105 coding sequence. In particular, the probe sequence binds, or hybridizes to, a Cry1A.105 coding sequence under stringent hybridization conditions. Detecting binding in a reaction mix is diagnostic for the presence of the Cry1A.105 coding sequence.

25 A method of identifying an insecticidal fragment of a Cry1A.105 protein in a sample is also provided. The method consists of contacting a sample being tested for the presence of a Cry1A.105 insecticidal fragment with an antibody that binds specifically to the insecticidal fragment. Detecting the binding in a reaction mix is diagnostic for the presence of the Cry1A.105 protein in the sample.

30 Chimeric or hybrid insecticidal proteins are also provided. Such hybrids are composed of two or more different insecticidal proteins, each of which exhibits insecticidal activity directed to at least one member of the same insect species. The hybrid insecticidal protein is made up of parts of each of the different insecticidal proteins. Segments of insecticidal proteins used in constructing the hybrid consist of from at least about 50 to at

least about 200 contiguous amino acids selected from the contiguous amino acids making up any one of the different insecticidal proteins. A Cry1A.105 insecticidal protein as set forth in SEQ ID NO:2 from about amino acid position 2 through about amino acid position 612 is intended to be included within the group of the different insecticidal proteins from which a segment may be selected for constructing a hybrid insecticidal protein.

Various advantages and features of the present invention being apparent, the nature of the invention may be more clearly understood by reference to the following detailed description, the examples, and to the appended claims.

Brief Description of the Sequences

SEQ ID NO:1 is a synthetic sequence for expression of a Cry1A.105 insecticidal protein, preferably in a dicot cell.

5 SEQ ID NO:2 is a Cry1A.105 protein encoded from the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:1.

SEQ ID NO:3 is a synthetic sequence for expression of a Cry1A.105 insecticidal protein, preferably in a monocot cell.

SEQ ID NO:4 is a Cry1A.105 protein encoded from the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:3.

10 SEQ ID NO:5 represents a nucleotide sequence consisting of an expression cassette that functions in a plant cell, and preferably in a dicot plant cell, for expressing a Cry1A.105 insecticidal protein.

SEQ ID NO:6 represents a Cry1A.105 insecticidal protein encoded by a segment within the expression cassette as set forth in SEQ ID NO:5.

15 SEQ ID NO:7 represents a nucleotide sequence consisting of an expression cassette that functions in a plant cell, and preferably in a monocot plant cell, for expressing a Cry1A.105 insecticidal protein.

SEQ ID NO:8 represents a Cry1A.105 insecticidal protein encoded by a segment within the expression cassette as set forth in SEQ ID NO:7.

Detailed Description of the Invention

In accordance with the present invention, the inventors have constructed nucleotide sequences that encode a novel insecticidal protein identified herein as a Cry1A.105 protein. It has been identified that the Cry1A.105 amino acid sequence, set forth in SEQ ID NO:2, exhibits properties that provide advantages over naturally occurring Bt insecticidal proteins that are toxic to lepidopteran insect species. In particular, the Cry1A.105 protein can be expressed at high levels in both monocot and dicot plants without most transgenic events exhibiting phytotoxic effects as a result of the increased levels of expression compared to effects observed when naturally occurring Cry1 proteins are expressed in plants. In addition, the Cry1A.105 protein form stable crystals when expressed in *Bacillus thuringiensis*, likely because of the stabilizing effect of the Cry1Ac protoxin segment linked to the toxin moiety of the chimeric Cry1A.105 protein. In addition, the Cry1A.105 insecticidal protein exhibits a range of insecticidal bioactivity directed to lepidopteran species that is not observed with other naturally occurring Cry1 proteins that have been identified to date. Therefore, expression of the Cry1A.105 protein in transgenic plants results in increased numbers of morphologically normal transgenic events expressing higher levels of an analogue of a Cry1 toxin that exhibits a broad range of control of lepidopteran insect pest species for any event that is selected for commercial development. Such events should result in the advantage of delaying the onset of resistance to the Cry1A toxin analogue, and when combined with a second toxin that is toxic to one or more of the insect pest species to which the Cry1A analogue is also toxic and that exerts its mode of action in a way that is different from that of the Cry1A analogue, any likelihood of the development of resistance to either toxin is anticipated to be extremely remote.

The inventors have constructed at least two different nucleotide sequences for use in plants, each nucleotide sequence encoding the same Cry1A.105 insecticidal protein. The first (or amino terminal) about two thirds of the insecticidal portion of the Cry1A.105 protein consists of amino acid sequences derived from a Cry1Ab amino acid sequence. This sequence is linked to the carboxy-terminus of the toxin portion and a part of the protoxin domain of an amino acid sequence derived from an insecticidal Cry1 protein obtained from an Ecogen *Bt aizawai* strain EG6346 (Chambers et al., 1991, J. Bacteriol. 173:3966-3976). The Cry1A.105 toxin segment is linked then to a segment that is substantially a Cry1Ac protoxin peptide sequence. The inventors demonstrated that this construction provides a unique amino acid sequence that exhibits surprisingly improved insecticidal properties when compared to the properties exhibited by the protein from which the chimera is derived.

Furthermore, the Cry1A.105 precursor protein exhibits excellent crystal forming properties and is efficiently solubilized and processed to the active toxin form in the gut of specific targeted lepidopteran insect pests.

5 The nucleotide sequences embodied herein have been constructed using methods set forth in US Patents No. 5,500,365, and 5,689,052, in particular by avoiding certain inimical sequences in the coding sequence that have been observed to be problematic for expression of heterologous gene sequences in plant cells. The segment encoding the toxin portion of the Cry1A.105 protein consists of nucleotides as set forth in SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:3 from about position 1 through about position 1830, more or less. The sequence as set forth
10 at SEQ ID NO:1 was constructed for use in dicotyledonous plant species, and in particular, in cotton plants. The sequence as set forth at SEQ ID NO:3 was constructed for expression in monocotyledonous plants, and in particular, in maize or corn plant species.

Nucleotide sequences of the present invention exhibit an overall identity of about 94.3% to each other and are identical from about nucleotide position 1330 through about
15 nucleotide position 3534. The segment of each of these nucleotide sequences encoding the toxin portion of the Cry1A.105 protein exhibits, from about nucleotide position 1 through about nucleotide position 1830, about 88.9% identity to each other. The segment of these nucleotide sequences encoding the first two domain structures of the Cry1A.105 protein is substantially more diverse and exhibits only about 84.7% identity to each other.

20 The inventors have constructed transgenic plant events using these sequences.

SEQ ID NO:1 was introduced into a plasmid vector containing an expression cassette consisting of a enhanced Figwort Mosaic Virus promoter (eFMV) sequence operably linked to a *Petunia hybrida* Hsp70 untranslated leader sequence (Ph.Hsp70, a.k.a., DnaK), an *Arabidopsis thaliana* ribulose bis phosphate carboxylase small subunit chloroplast targeting
25 peptide coding sequence, and a *Pisum sativum* E9 ribulose bis phosphate carboxylase small subunit gene transcription termination and polyadenylation sequence. The Cry1A.105 coding sequence as set forth at SEQ ID NO:1 was inserted into this expression cassette in frame with and immediately adjacent to the 3' end coding sequence of the targeting peptide coding sequence, and upstream of the E9 termination sequence. The nucleotide sequence of
30 the resulting expression cassette is set forth at SEQ ID NO:5. A segment of the vector containing the Cry1A.105 expression cassette linked to a second expression cassette containing a plant expressible GUS marker was excised and used to generate transgenic cotton events using biolistic methods. Transgenic events were tested in bioassay for insecticidal activity against several different lepidopteran pest species and were determined to

exhibit significantly better insect controlling properties than previously existing insect resistant cotton plants containing only Cry1Ac or a combination of Cry1Ac and Cry2Ab proteins. In addition, some of the Cry1A.105 transgenic cotton events exhibited levels of Cry1A.105 protein accumulation exceeding 10 to 20 parts per million throughout the growing season, even in cotton bolls, and without exhibiting any phytotoxic effects on the plant or reproductive tissues. This is in contrast to other Cry1 proteins that have been tested previously, which generally were only capable of levels of accumulation to less than about 10 parts per million, whether or not targeted to the chloroplast. Phytotoxic effects were observed when other Cry1 type proteins were tested in cotton, especially when levels of Cry1 accumulation approached or exceeded about 10 ppm.

SEQ ID NO:3 was introduced into a plasmid vector containing an expression cassette consisting of a enhanced Cauliflower Mosaic Virus promoter (eCaMV) sequence operably linked to a *Triticum aestivum* major chlorophyll a/b binding protein gene untranslated leader sequence and an *Oryza sativa* actin intron sequence, and a *Triticum aestivum* hsp17 gene transcription termination and polyadenylation sequence. The Cry1A.105 coding sequence as set forth at SEQ ID NO:3 was inserted into this expression cassette immediately adjacent to and 3' of the intron sequence and upstream of the termination sequence. The nucleotide sequence of the resulting expression cassette is set forth at SEQ ID NO:7. The vector also contains a glyphosate herbicide selectable marker that was used to select events transformed with the Cry1A.105 expression cassette. Maize events selected after transformation with the Cry1A.105 expression cassette were tested in bioassays against several lepidopteran pest species and determined to exhibit a wide range of insecticidal activity that was not prevalent with events transformed with other Bt insecticidal proteins such as Cry1Ab. The fall armyworm and black cutworm activities exhibited by events expressing insecticidal levels of Cry1A.105 coupled with the Cry1A.105 insecticidal activity directed to corn earworm and corn borer equivalent to or greater than that of events expressing Cry1Ab, provides a broader spectrum of insecticidal activity for Cry1A.105 events.

The nucleotide sequences of the present invention are exemplary. Other nucleotide sequences are capable of expressing a Cry1A.105 insecticidal protein fragment in a plant cell, and still other nucleotide sequences are capable of being designed that express well in other types of host cells. Without limiting the scope of the disclosure, it is intended that a nucleotide sequence for use in expression of a Cry1A.105 insecticidal fragment exhibit at least about 85%, or at least about 90%, or at least about 95%, or at least about 99% or greater nucleotide sequence identity to the nucleotide sequences exemplified herein. Other

nucleotide sequences intended for expression of a Cry1A.105 insecticidal fragment in a host cell other than a plant cell can be of any percentage identity or similarity to the exemplified nucleotide sequences. Nucleotide sequences can vary because of the redundancy of the genetic code, and so it is possible to synthesize any number of nucleic acid sequences that
5 encode any part of the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:2, and all of these sequences are intended to be within the scope of the present invention. Any isolated and purified nucleic acid sequence encoding at least an insecticidal fragment of a Cry1.105 protein is intended to be within the scope of the disclosure, as well as any composition in which the nucleic acid can be detected by antibody, by nucleic acid probe, or by one or more
10 pairs of primers designed to produce an amplicon consisting of such sequence.

The nucleic acid sequence exemplified herein and expressed in maize consists only of a Cry1A.105 precursor protein coding sequence, while the sequence expressed in cotton consists of a chloroplast targeted Cry1A.105 precursor protein coding sequence. The expression of Cry1 proteins in plants has proven to be problematic. It is not known whether
15 or if any particular Cry1 protein will be expressed well in any particular plant, and so trial and error experimentation is required. Some Cry1 proteins expressed in corn will result in phytotoxic effects, and so targeting the protein to the chloroplast sometimes alleviates such effects. Similar circumstances are observed with cotton plant expression of Cry1 proteins. The examples herein are not intended to teach that Cry1A.105 expression is only possible in
20 maize if localized to the cytoplasmic space, and similarly, are not intended to teach that Cry1A.105 expression is only possible in cotton if localized to the plastid. The examples are intended to teach that either method of protein localization functions with this protein to achieve morphologically normal plants that exhibit high levels of Cry1A.105 protein expression and accumulation, and that exhibit commercial levels of resistance to a broad
25 range of Lepidopteran insect plant pests in the genus' selected from the groups consisting of Anticarsia, Pseudoplusia, Rachiplusia, Helicoverpa, Heliothis, Spodoptera, Epinotia, and Armigera. It is believed that any plastid targeting peptide coding sequence would function effectively for directing the precursor Cry1A.105 protein to the plastid/chloroplast.

Untranslated leader sequences, introns and 3' transcription termination and
30 polyadenylation sequences are known in the art, and the skilled artisan would understand that in certain circumstances, expression can be enhanced or stabilized by incorporating these sequences into the expression cassettes. A number of such sequences are known in the art and are intended to be included within the scope of the present disclosure. Similarly, promoters that function to achieve the regulated expression of a linked sequence are known in

the art and are also intended to be included within the scope of the present disclosure. Promoters can be selected for use to drive expression of a linked sequence in any number of combinations of parameters, including but not limited to temporal control of expression, spatial or tissue specific control of expression, and to control the amount of a particular gene product desired to be accumulated within a particular plant cell or tissue.

The isolated and purified protein comprising an insecticidal fragment of the Cry1A.105 amino acid sequence is also intended to be within the scope of the present invention. Variants are also intended to be within the scope of the invention so long as the amino acid substitution or substitutions effecting the variation are generally conservative with respect to the substituted amino acid(s), and the substitution(s) does not result in a reduction of insecticidal bioactivity or range of species specificity. It is intended that an insecticidal fragment of a Cry1A.105 protein is a segment of the amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from about amino acid position 1 through about amino acid position 650, or from about amino acid position 2 through about amino acid position 612, or from about amino acid position 5 through about amino acid position 610, or from about amino acid position 10 through about amino acid position 600. Alternatively, it is intended that an insecticidal fragment of a Cry1A.105 protein consist of from about 550 to about 650 contiguous amino acids selected from the group consisting of amino acid residues 1 through about 650 as set forth at SEQ ID NO:2. The full length precursor protein, consisting of amino acid residue 1 through about residue 3534, exhibits excellent crystal formation properties and is tolerated well by both monocot and dicot plant species. The precursor protein also exhibits excellent stability when in crystalline form, and also exhibits excellent solubility at alkaline pH, in particular alkaline pH within a range of from about 8.0 to about 12.0, or from about 8.5 to about 11.5, or from about pH 9.0 to about pH 11.0.

The protein of the present invention can be purified and used alone in an insecticidally effective amount in any number of compositions intended for use as a lepidopteran pest control agent, or can be combined in an insecticidally effective amount with any number of other pesticidal agents that are different from the Cry1A.105 protein. Such other pesticidal agents are intended to include but not to be limited to other Bt Cry or other insecticidal compositions whether or not toxic to a lepidopteran species including chemical insecticides, fungicidal or fungistatic agents, antibiotics, antibacterial agents, bacteriostatic agents, and nematocidal or nematostatic agents. Such pesticidal combinations including a Cry1A.105 along with any number of other pesticidal agents can be produced by a transgenic cell, or formulated using purified or substantially purified pesticidal agents into a pesticide

composition in a form consisting of a dust, a granular material, an oil suspension, a water suspension, a mixture of oil and water emulsion, or a wettable powder, and then provided in a an agriculturally acceptable carrier for foliar applications. The compositions can be formulated into a seed treatment as well, either together with a Cry1A.105 in the composition intended for inclusion in the seed treatment, or as a composition applied to a seed that is derived from a transgenic plant transformed to express insecticidally effective amounts of a Cry1A.105, so that the seed treatment composition containing pesticidal agents is provided to a target lepidopteran pest along with cells of a plant grown from the seed that are producing pesticidally effective amounts of a Cry1A.105 protein. A combination of insecticidal proteins the each are toxic to the same insect species and yet manifest their toxicity effects through different modes of action would be a particularly useful combination of pesticidal agents for controlling lepidopteran species or delaying the onset of resistance to any single pesticidal agent otherwise effective against a particular lepidopteran species. An exemplary combination of such proteins would be a Cry1A.105 protein of the present invention, i.e., a first insecticidal protein, coupled with at least a second insecticidal protein different from the first. Such different insecticidal proteins include but are not limited to other lepidopteran Bt. crystalline proteins (other Cry1's, Cry2's, Cry5's, Cry9's), VIP proteins, lepidopteran insecticidal proteins referred to as TIC proteins, and insecticidal proteins produced by *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* species of bacteria. Providing in the diet of an insect pest a combination of one or more insecticidal proteins along with an agent designed for achieving dsRNA mediated gene suppression of one or more genes essential for insect survival is a particularly useful combination of pesticidal agents for controlling lepidopteran species or delaying the onset of resistance to any single pesticidal agent otherwise effective against a particular lepidopteran species.

Plants transformed with the nucleotide sequences of the present invention are provided as another embodiment of the present invention. Methods for stably introducing DNA into plant cells is known in the art, and includes but is not limited to vacuum infiltration, *Agrobacterium* or *Rhizobium* mediated transformation, electroporation, and various ballistic methods. DNA introduced into plants is generally targeted for insertion into the nuclear chromosome, although insertion into the chloroplast or plastid DNA can be achieved. DNA introduced into plants is generally linked to or associated with a sequence that provides a means for identifying or selecting the cell or cells that have been stably transformed with the DNA of interest, including but not limited to scoreable markers such as fluorescence or light emitting genes and genes encoding pigments or enzymes that, in the

presence of the appropriate substrate, impart a colorimetric feature to the transformed cell or cells, or by including selectable markers that allow a positive selection of transformed cells and tissue, providing a growth advantage to the transformed cells and essentially causing the non-transformed cells or tissue to become static or to die. Such selectable markers include
5 but are not limited to genes encoding basta, bar, methotrexate resistance, neomycin phosphotransferase, glyphosate insensitive EPSPS enzymes, glyphosate oxidoreductase (GOX) enzymes, *E. coli* *phnO* or its equivalent, and the like.

Vectors and other types of sequences designed for maintaining, manipulating, and/or shepherding the exemplified nucleotide sequences while being manipulated in the laboratory
10 or for introduction into a host cell are also included within the scope of the invention, and are intended to include but not be limited to phages, plasmids, bacmids, yacmids, cosmids, and the like.

Transformed plants are also within the scope of the present invention. Plants transformed to contain a nucleotide sequence encoding at least an insecticidal fragment of a
15 Cry1A.105 protein are specifically enabled by the present disclosure. Both monocot and dicot plants are envisioned to be within the scope of the present invention. Monocots are intended to include but not be limited to corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley, and dicot plants are intended to include at least alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry,
20 blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable. Produce from these plants as well as seeds and tissues produced from these
25 plants are specifically included within the present invention, so long as the seed, tissue, or produce contains a transgene encoding an insecticidal fragment of a Cry1A.105 protein.

Methods for detecting, in a biological sample, a Cry1A.105 protein or a nucleotide sequence encoding an insecticidal fragment of a Cry1A.105 protein are provided by the present invention. Cry1A.105 can be used to immunize animals to produce antibodies
30 specific for Cry1A.105 epitopes. Cry1A.105 specific antibodies can be used to detect the presence of Cry1A.105 in a biological sample. Methods for detecting the binding of an antibody to an antigen are known in the art. Detecting the binding of an antibody to a Cry1A.105 epitope in a biological sample is diagnostic for the presence of the protein in the sample.

Nucleotide sequences encoding a Cry1A.105 insecticidal fragment can be detected as well. Synthetic nucleotide probes can be used to bind to a target sequence, i.e., a nucleotide sequence encoding a Cry1A.105 insecticidal fragment. Methods for detecting the binding of a probe to a target sequence are known in the art. Detecting the binding of a probe to the target Cry1A.105 coding sequence is diagnostic for the presence of the coding sequence in the sample.

Synthetic nucleotide primers can be used in thermal amplification reactions to produce an amplicon from a biological sample suspected of containing a nucleotide sequence encoding an insecticidal fragment of a Cry1A.105 protein. The presence of an amplicon produced in such a thermal amplification reaction is diagnostic for the presence of the nucleotide sequence in the sample. Particularly useful sequences as probes which are diagnostic for detecting the presence of the Cry1A.105 coding sequences of the present invention in a biological sample are sequences that correspond to or are perfectly complementary to (1) nucleotide position 1401-1420 as set forth at SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:3, or (2) nucleotide position 1821 – 1840 as set forth at SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:3. These sequences correspond to (1) the 20 nucleotides spanning the sequence encoding the junction between Domain II and Domain III of the segments of different insecticidal proteins used for constructing the insecticidal portion of the proteins of the present invention, and (2) the 20 nucleotides spanning the sequence encoding the junction between Domain III and the protoxin coding segment of the different protein coding segments used for constructing the coding sequence of the pre-pro-toxin Cry1Ab.105 protein. Nucleotide sequences that are, or are complementary to, either of these segments of DNA (1401-1420 or 1821-1840) can be used as probes for detecting the presence of these coding sequences in biological samples. The detecting of such binding is diagnostic for the presence of such coding sequences in a biological sample. Other sequences as will be recognized by the skilled artisan that flank either side of these segments of DNA can be used as primers for amplifying various sized amplicon segments from such biological samples, and such amplicons are diagnostic for the presence of such coding sequences in the sample. For example, a first primer sequence corresponding to the nucleotide sequence set forth at SEQ ID NO:1 from position 1201-1220 could be used as a forward primer in a thermal amplification reaction with a second primer sequence corresponding to the reverse complement of the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:1 from position 1581-1600. Such primers when used together in a thermal amplification reaction with a biological sample containing SEQ ID NO:1 would result in the synthesis of an amplicon corresponding to SEQ ID NO:1 from nucleotide position 1201

through 1600, i.e., a 400 nucleotide amplicon, which would contain the 20 nucleotide segment from nucleotide position 1401 – 1420 as set forth in SEQ ID NO:1, and would therefore be diagnostic for the presence of the Cry1A.105 coding sequence in such sample.

5 A kit for detecting the presence of a Cry1A.105 or detecting the presence of a nucleotide sequence encoding a Cry1A.105 in a sample is provided. The kit is provided along with all reagents and control samples necessary for carrying out a method for detecting the intended agent, as well as instructions for use.

10 The following examples describe preferred embodiments of the invention. Other embodiments within the scope of the claims will be apparent to one skilled in the art from consideration of the specification or practice of the invention as disclosed herein. It is intended that the specification, together with the examples, be considered exemplary only, with the scope and spirit of the invention being indicated by the claims which follow the examples.

EXAMPLES

Example 1.

This example illustrates synthetic nucleotide sequences encoding an insecticidal
5 Cry1A.105 protein.

A nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:1 encoding a Cry1A.105
insecticidal protein was constructed for use in dicotyledonous plants. The amino acid
sequence translation is set forth at SEQ ID NO:2. The toxin encoding segment consists of
nucleotides from about position 1 through about position 1830, more or less.

10 A nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:3 encoding a Cry1A.105 amino acid
sequence was constructed for expression in monocotyledonous plants. The amino acid
sequence translation is set forth at SEQ ID NO:4. The toxin encoding segment consists of
nucleotide from about position 1 through about position 1830, more or less.

The nucleotide sequences as set forth at SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:3 are
15 substantial equivalents of each other. SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:3 exhibit an overall
identity of about 94.3%. The two coding sequences are identical from about nucleotide
position 1330 through the nucleotide position 3534. The toxin encoding portion of each
sequence consists of from about nucleotide position 1 through nucleotide position 1830, and
these segments exhibit about 88.9% identity to each other. The substantial differences
20 between the two sequences lie within from about nucleotide position 1 through about
nucleotide position 1329, or about the first two thirds of the segment encoding the toxin
portion of the Cry1A.105 protein. The two sequences exhibit about 84.7% identity
throughout this segment.

An *E. coli* strain (TOP10, Invitrogen, Inc.) transformed with a plasmid designated as
25 pMON70522 containing a beta-lactamase selectable marker and a sequence as set forth at
SEQ ID NO:3 encoding a Cry1A.105 was deposited on August 31, 2005, with the
Agriculture Research Culture Collection (NRRL) International Depository Authority at 1815
North University Street, in Peoria, Illinois 61604 U.S.A., according to the Budapest Treaty on
the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purpose of Patent
30 Procedures and was designated as NRRL B-30873.

Example 2.

This example illustrates transgenic cotton plants expressing a Cry1A.105 protein.

Delta and Pineland DP50 cotton seeds were surface sterilized and germinated overnight. Meristem explants were isolated and the primary leaves were removed by micro dissection. Dissected explants were placed in a targeting medium such that the meristems were oriented perpendicular to the direction of the particle delivery. The transformation
5 vector, pMON47740, comprises an expression cassette having a nucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:9. A *KpnI* fragment containing a GUS marker gene under the control of an e35S promoter and a chloroplast targeted Cry1A.105 coding sequence under the control of an eFMV promoter was excised from this plasmid and isolated by HPLC and used for gun transformation of the cotton meristem explants. Purified DNA containing both the
10 Cry1A.105 expression cassette and the GUS marker was precipitated onto microscopic gold beads and coated in a thin layer onto a Mylar sheet. The DNA was accelerated into the meristem tissue by electric discharge particle delivery under a partial vacuum. Following bombardment, explants were de-targeted onto hormone-free media without a selective agent. Leaf tissues from regenerated plantlets were sampled and assayed for expression of the GUS
15 marker. Transgenic plants exhibiting a high level of GUS expression were sent to the greenhouse for further screens. These plants were again tested for expression of GUS and negative portions of the plants were pruned off. This cycle of sampling and pruning of GUS-negative tissues was repeated until all sectors of from each plant were positive for the GUS marker. The plants were then maintained under standard greenhouse conditions until
20 seed harvest.

Tissues obtained from F1 GUS positive transgenic cotton plants were tested in bioassays for insecticidal activity against cotton bollworm (CBW) and fall armyworm (FAW). Previously generated isogenic cotton plants expressing insecticidal levels of Cry1Ac or a combination of Cry1Ac and Cry2Ab were used as positive controls and a non-
25 transgenic isoline was used as the negative control.

CBW square assays were used as one means for determining insecticidal activity of the transgenic cotton plants. (Adamczyk et al., (2001) J. Econ. Entomol. 94:284-290; Kranthi et al (2005) Current Science 89:291-298). Squares of leaf tissue (match head size or larger) were collected and placed individually in assay wells. Each square was infested with
30 a single third-instar CBW larva. The number of surviving insects was recorded five days after infestation.

CBW boll assays were also used to determine the insecticidal activity of boll tissue collected from the transgenic plants. 8 hard green bolls (post bloom) from each event were

collected and placed in individual cups and infested with third instar CBW larvae. The number of surviving insects was recorded five days after infestation.

5 Leaf assays were conducted to determine the insecticidal activity of transgenic leaf tissue against FAW. New leaves were taken from terminals of cotton plants. 2 leaf punches, each about 3/4" in diameter, were collected and placed in each of 16 individual assay wells. Each well was infested with a single second or third instar FAW larva. The number of surviving insects was recorded five days after infestation.

10 Bioassay results are shown in Table 1. The results show that transgenic cotton events expressing Cry1A.105 exhibited greater insecticidal activity than transgenic events expressing either Cry1Ac or a combination of Cry1Ac and Cry2Ab against both FAW and CBW.

Table 1. Bioassay results of FAW and CBW using the transgenic cotton plant tissue.

Plant	FAW (% survival) (leaf tissue)	CBW (% survival) (Square tissue)	CBW (% survival) (Boll tissue)
Cry1Ac/Cry2Ab	74.5	32.0	35.8
Cry1Ac	92.7	35.5	35.8
Isoline	99.6	96.8	54
17238	10.9	9.4	25
17567	0	12.5	12.5
17774	1.6	1.2	0
17875	3.1	4.2	0
18026	1.6	18.8	12.5
18122	7.8	22.9	0

15 Tobacco budworm and corn earworms were also tested in similar bioassays. In each case, the Cry1A.105 plants exhibited insecticidal activity against these pests as well.

Example 3.

20 This example illustrates transgenic corn plants expressing a Cry1A.105 protein. Transgenic corn plants were regenerated from cells transformed with the vector pMON40232. pMON40232 contains an expression cassette having a nucleotide sequence as set forth in SEQ ID NO:7 that contains, in operable linkage, an enhanced CAMV 35S promoter, a wheat CAB leader sequence, a rice actin 1 intron, a Cry1A.105 coding sequence

and a wheat hsp17 gene 3' transcription termination and polyadenylation sequence. A nucleotide sequence encoding an *Arabidopsis thaliana* EPSPS chloroplast targeting sequence (At.EPSES-CTP2) is positioned upstream of and in frame with the Cry1A.105 coding sequence. pMON40232 contains a recombinant gene encoding an EPSPS that is insensitive to the herbicide glyphosate, for use in selection of transgenic events. Transgenic events arising from tissue transformed with pMON40232 were designated as LAJ 105. Transgenic events were screened for the absence of any vector backbone, for the presence of a single simple inserted sequence, and for the intactness of the expression cassette containing the nucleotide sequence encoding the Cry1A.105 protein.

Bioassays were conducted with events that met the limitations of the event screen. LAJ105 transgenic corn plants were compared in the bioassay to an isogenic LH198 negative control and a positive control MON810 variety expressing the insecticidal portion of a Cry1Ab protein. Five leaf disks, each about one centimeter in diameter, were obtained from each of 10 individual Cry1A.105 transgenic events and from the controls. Leaf disks were placed on agar filled wells to keep the plant material turgid. Discs were then subjected to feeding by FAW, black cutworm (BCW), European corn borer (ECB), corn ear worm (CEW), and Southwestern corn borer (SWCB) neonate larvae. A single neonate FAW larvae, a single CEW larvae, two neonate BCW, two neonate SWCB larvae, or four neonate ECB larvae were applied to each well. Feeding damage was evaluated after four days, using a leaf damage rating (LDR) scale from 0 - 11, 0 indicating no visible feeding damage, 11 indicating at least 50% of the disc was eaten, and each point on the scale between 0 and 11 indicating a 5% increase in observed feeding damage to the leaf disc under observation.

Bioassay results indicated that events expressing Cry1A.105 protein exhibited greater insecticidal activity toward FAW, ECB and CEW than the LDR's exhibited by the Cry1Ab control against the same pest larvae. LDR's for these three pests on the Cry1A.105 events was less than 1 while the Cry1Ab control exhibited LDR's ranging from about 8 to about 10. The LDR was consistently between 1 and 2 both for the Cry1A.105 events and for the Cry1Ab control when tested for activity against SWCB, indicating that the Cry1A.105 protein was no more toxic to SWCB than was Cry1Ab. The results of this bioassay supported previous results that indicated that Cry1Ab is ineffective in controlling BCW. The Cry1A.105 events were no more effective against BCW than was the Cry1Ab control. Thus, at the levels of expression of the Cry1A.105 protein *in planta*, these plants would be effective in controlling other lepidopteran genus plant pests including but not

CLAIMS

What is claimed is:

1. An isolated nucleotide sequence encoding an insecticidal protein comprising an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from amino acid position 10 through amino acid position 600.
2. The isolated nucleotide sequence of Claim 1 selected from the group consisting of SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:3.
3. The isolated nucleotide sequence of Claim 2 for use in expressing said insecticidal protein in a crop plant.
4. The isolated nucleotide sequence of Claim 3 wherein said crop plant is selected from the group consisting of a monocotyledonous crop plant and a dicotyledonous crop plant.
5. The isolated nucleotide sequence of Claim 4 wherein said monocotyledonous plant is selected from the group of plants consisting of corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley.
6. The isolated nucleotide sequence of Claim 4 wherein said dicotyledonous plant is selected from the group of plants consisting of alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable.
7. An isolated and purified insecticidal protein comprising an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO: 2 from amino acid position 10 through amino acid position 600.

8. A composition comprising an insecticidally effective amount of the isolated and purified protein of Claim 7.
9. An expression cassette for use in expressing an insecticidal protein as set forth in SEQ ID NO:2 in a host cell, wherein said expression cassette comprises in operable linkage a promoter sequence functional in said host cell and a nucleotide sequence encoding said protein.
10. The expression cassette of Claim 9 wherein said host cell is selected from the group consisting of a bacterial cell, a fungal cell, a mammalian cell, and a plant cell.
11. The expression cassette of Claim 10 wherein
 - (a) said bacterial cell is selected from the group consisting of a *Bacillus* species cell, a *Enterobacteriaceae* species cell, a *Pseudomonas* species cell, a *Clostridium* species cell, and a *Rhizobium* species cell, and a *Agrobacterium* species cell; and
 - (b) said plant cell is selected from the group of plants consisting of a dicotyledonous plant and a monocotyledonous plant, said dicotyledonous plant being further selected from the group consisting of alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable, and said monocotyledonous plant being further selected from the group consisting of corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley.
12. The expression cassette of Claim 9 wherein said host cell is a plant cell and said expression cassette further comprises in operable linkage a sequence selected from the group consisting of an expression enhancer sequence, an untranslated leader sequence, an intron sequence, a chloroplast targeting peptide encoding sequence, and a transcription termination and polyadenylation sequence.
13. A vector comprising the expression cassette of any of Claims 9 through Claim 12.

14. A transgenic plant or plant cell resistant to lepidopteran insect infestation comprising a nucleotide sequence encoding an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from amino acid position 10 through amino acid position 600, wherein said amino acid sequence exhibits insecticidal activity.
15. The transgenic plant or plant cell of claim 14 wherein said transgenic plant is selected from the group consisting of a dicotyledonous plant and a monocotyledonous plant, said dicotyledonous plant being further selected from the group consisting of alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable, and said monocotyledonous plant being further selected from the group consisting of corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley.
16. The transgenic plant or plant cell of claim 15 resistant to lepidopteran insect infestation, wherein said lepidopteran insect is selected from the group consisting of a leaf roller, a cutworm, an armyworm, a borer, a bagworm, and a forage feeder.
17. The transgenic plant or plant cell of claim 16, wherein said lepidopteran insect is further selected from the group consisting of a fall armyworm, a European corn borer, a corn earworm (same as cotton bollworm), a southwestern corn borer, and a black cutworm.
18. Progeny or seed of the transgenic plant or plant cell of claim 15, wherein said progeny or seed comprise said nucleotide sequence.
19. A method for controlling lepidopteran insect infestation of a plant by providing in the diet of the insect one or more plant cells transformed with a nucleic acid sequence comprising in operable linkage a plant functional promoter and a nucleotide sequence encoding an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from amino acid position 10 through amino acid position 600 exhibiting lepidopteran insecticidal activity.

20. The expression cassette of claim 12 comprising a polynucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:5 and SEQ ID NO:7.
21. A method of identifying in a biological sample a nucleotide sequence encoding a CryIA.105 amino acid sequence, said method comprising contacting said sample with a polynucleotide that hybridizes to the nucleotide sequence under stringent hybridization conditions and detecting the binding of said polynucleotide to said nucleotide sequence, wherein said binding is diagnostic for said nucleotide sequence in said sample.
22. A method of identifying in a sample a CryIA.105 protein, said method comprising contacting said sample with an antibody that binds specifically to said protein, and detecting the binding, wherein said binding is diagnostic for the presence of said protein in said sample.
23. An isolated nucleotide sequence encoding an insecticidal protein as set forth at SEQ ID NO:2 from about amino acid 1 through about amino acid 612.
24. An isolated nucleotide sequence encoding an insecticidal protein as set forth at SEQ ID NO:2 from about amino acid 1 through about amino acid 610.
25. The isolated nucleotide sequence of Claim 23 exhibiting at least about 90% identity to the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:1.
26. The isolated nucleotide sequence of Claim 23 exhibiting at least about 90% identity to the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:3.
27. A hybrid insecticidal protein comprising an amino acid segment comprising from about 500 to about 600 contiguous amino acids selected from the amino acid segment as set forth at SEQ ID NO:2 from about amino acid position 10 through about amino acid position 600.

28. A composition comprising an insecticidally effective amount of a Cry1A.105 protein, wherein said composition is selected from the group consisting of a plant cell, a bacterial cell, a fungal cell, a colloid, an emulsion, a seed coating, a bait, and a powder.
29. The composition of claim 28 wherein said Cry1A.105 protein is present in an amount from about 0.5 to about 200 parts per million (PPM).
30. The composition of claim 29 wherein said Cry1A.105 protein is present in an amount from about 0.5 to about 20 PPM.
31. The composition of claim 29 wherein said composition is a plant cell or a group of plant cells.
32. The composition of claim 31 wherein the nucleotide sequence encoding the insecticidally effective amount of said Cry1A.105 protein is present in an amount detectable using a probe that is or is complementary to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:1 from nucleotide position 1401-1420 and SEQ ID NO:1 from nucleotide position 1821-1840.
33. The composition of claim 31 wherein said insecticidally effective amount of said protein is sufficient to control a lepidopteran genus plant pest when provided in the diet of said pest, said pest being selected from the group consisting of *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia*, and *Armigera*.
34. A method for protecting a crop in a field from lepidopteran insect infestation comprising growing a transgenic crop plant comprising an insecticidally effective amount of a Cry1A.105 protein insecticidal agent in the diet of the lepidopteran insect to inhibit the insect from surviving on said transgenic crop plant.
35. The method of claim 34, wherein said transgenic crop plant further comprises an additional insecticidal agent toxic to the same insect species as the Cry1A.105 and is selected from the group consisting of a *Bacillus* toxin, a *Xenorhabdus* toxin, a *Photorhabdus* toxin, and a dsRNA specific for suppression of one or more essential genes in said insect species.

SEQUENCE LISTING

<110> Monsanto Technology LLC
Bogdanova, Natalia N.
Corbin, David R.
Malvar, Thomas M.
Perlak, Frederick J.
Roberts, James K.
Romano, Charles P.

<120> NUCLEOTIDE SEQUENCES ENCODING INSECTICIDAL PROTEINS

<130> 38-21 (52905) A

<150> 60/713,144
<151> 2005-08-31

<160> 8

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 3534
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> synthetic nucleotide sequence encoding CryIA.105 amino acid sequence

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3534)

<400> 1
atg gac aac aac cca aac atc aac gaa tgc att cca tac aac tgc ttg 48
Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu
1 5 10 15
agt aac cca gaa gtt gaa gta ctt ggt gga gaa cgc att gaa acc ggt 96
Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly
20 25 30
tac act ccc atc gac atc tcc ttg tcc ttg aca cag ttt ctg ctc agc 144
Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser
35 40 45
gag ttc gtg cca ggt gct ggg ttc gtt ctc gga cta gtt gac atc atc 192
Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile
50 55 60
tgg ggt atc ttt ggt cca tct caa tgg gat gca ttc ctg gtg caa att 240
Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile
65 70 75 80
gag cag ttg atc aac cag agg atc gaa gag ttc gcc agg aac cag gcc 288
Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala
85 90 95
atc tct agg ttg gaa gga ttg agc aat ctc tac caa atc tat gca gag 336
Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu
100 105 110
agc ttc aga gag tgg gaa gcc gat cct act aac cca gct ctc cgc gag 384
Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu
115 120 125
gaa atg cgt att caa ttc aac gac atg aac agc gcc ttg aac aca gct 432
Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala
130 135 140
atc cca ttg ttc gca gtc cag aac tac caa gtt cct ctc ttg tcc gtg 480
Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val
145 150 155 160
tac gtt caa gca gct aat ctt cac ctc agc gtg ctt cga gac gtt agc 528
Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser
165 170 175

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

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

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

ggg tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc aag 3429
Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys
1130 1135 1140

gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gky tgy atc gag atc 3474
Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile
1145 1150 1155

ggg gaa acc gag gga acc ttc att gty qac aqc gtg gag ctt ctc 3519
Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu
1160 1165 1170

ttg atg gag gaa taa 3534
Leu Met Glu Glu
1175

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

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu

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

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

```

1160
Leu Met Glu Glu
1175

<210> 3
<211> 3534
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> synthetic nucleotide sequence encoding CryIA.105 amino acid
sequence

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3534)

<400> 3
atg gac aac aac cca aac atc aac gag tgc atc ccg tac aac tgc etc 48
Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu
1 5 10 15

agc aac cct gag gtc gag gty etc ggc ggt gag cgc atc gag acc ggt 96
Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly
20 25 30

tac acc ccc atc gac atc tcc etc tcc etc acg cag ttc ctg etc agc 144
Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser
35 40 45

gag ttc gtg cca ggc gct ggc ttc gtc ctg ggc etc gtg gac atc atc 192
Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile
50 55 60

tgg ggc atc ttt ggc ccc tcc cag tgg gac gcc ttc ctg gtg caa atc 240
Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile
65 70 75 80

gag cag etc atc aac cag agy atc gag gag ttc gcc agg aac cag gcc 288
Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala
85 90 95

atc agc cgc ctg gag ggc etc agc aac etc tac caa atc tac gct gag 336
Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu
100 105 110

agc ttc cgc gag tgg gag gcc gac ccc act aac cca gct etc cgc gag 384
Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu
115 120 125

gag atg cgc atc cag ttc aac gag atg aac agc gcc ctg acc acc gcc 432
Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala
130 135 140

atc cca etc ttc gcc gtc cag aac tac caa gtc ccg etc ctg tcc gty 480
Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val
145 150 155 160

tac gtc cag gcc gcc aac ctg cac etc agc gtg ctg agy gac gtc agc 528
Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser
165 170 175

gtg ttt ggc cag agg tgg ggc ttc gag gcc gcc acc atc aac agc cgc 576
Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg
180 185 190

tac aac gac etc acc agy ctg atc ggc aac tac acc gac cac gct gtc 624
Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val
195 200 205

cgc tgg tac aac act ggc ctg gag cgc gtc tgg ggc cct gat tct aga 672
Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg
210 215 220

gac tgg att cgc tac aac cag ttc agg cgc gag ctg acc etc acc gtc 720
Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val

```

225	230	235	240	
ctg gac att gtg tcc ctc ttc ccg aac tac gac tcc cgc acc tac ccg Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro	768			
245	250	255		
atc cgc acc gtg tcc caa ctg acc cgc gaa atc tac acc aac ccc gtc Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val	816			
260	265	270		
ctg gag aac ttc gac ggt agc ttc agg ggc agc gcc cag ggc atc gag Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu	864			
275	280	285		
ggc tcc atc agg agc cca cac ctg atg gac atc ctc aac agc atc act Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr	912			
290	295	300		
atc tac acc gat gcc cac cgc ggc gag tac tac tgg tcc ggc cac cag Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln	960			
305	310	315	320	
atc atg gcc tcc ccg gtc ggc ttc agc ggc ccc gag ttt acc ttt cct Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro	1008			
325	330	335		
ctc tac ggc acg atg ggc aac gcc gct cca caa caa cgc atc gtc gct Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala	1056			
340	345	350		
cag ctg ggc cag ggc gtc tac cgc acc ctg agc tcc acc ctg tac cgc Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg	1104			
355	360	365		
agg ccc ttc aac atc ggt atc aac aac cag cag ctg tcc gtc ctg gat Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp	1152			
370	375	380		
ggc act gag ttc gcc tac ggc acc tcc tcc aac ctg ccc tcc gct gtc Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val	1200			
385	390	395	400	
tac cgc aag agc ggc acg gtg gat tcc ctg gac gag atc cca cca cag Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln	1248			
405	410	415		
aac aac aat gty ccc ccc agg cag ggt ttt tcc cac agg ctc agc cac Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His	1296			
420	425	430		
gtg tcc atg ttc cgc tcc ggc ttc agc aac tcc tcc gty agc atc atc Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile	1344			
435	440	445		
aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac aac Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn	1392			
450	455	460		
atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca cat Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His	1440			
465	470	475	480	
aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca gga Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly	1488			
485	490	495		
gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act att Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile	1536			
500	505	510		
gtt aac atc aat ggc caa tty ccc caa agg tat cgt gca aga atc cgc Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg	1584			
515	520	525		
tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt gaa Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu	1632			
530	535	540		
agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac cct Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro	1680			

545	550	555	560	
ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt aca Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr	1728			
565	570	575		
ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc agc Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser	1776			
580	585	590		
tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt act Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr	1824			
595	600	605		
gca acc ctg gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct gtg Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val	1872			
610	615	620		
aac gcc ctg ttt acc tcc acc aat cag ctg ggc ttg aaa act aac gtt Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val	1920			
625	630	635	640	
act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt agc Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser	1968			
645	650	655		
gat gag ttc tgc ctg gac gag aag cgt gaa ctg tcc gag aaa gtt aac Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys	2016			
660	665	670		
cac gcc aag cgt ctg agc gac gag agg aat ctg ttg caa gac tcc aac His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn	2064			
675	680	685		
ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc acc Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr	2112			
690	695	700		
ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac gtc Gly Ile Thr Ile Gln Gln Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val	2160			
705	710	715	720	
acc ctg tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac cag Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln	2208			
725	730	735		
aag atc gat gag tcc aaa ctg aca gcc ttc acc agg tat caa ctt aga Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg	2256			
740	745	750		
ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctg gaa atc tac tgg atc agg tac Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr	2304			
755	760	765		
aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctg tgg Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp	2352			
770	775	780		
cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac aga Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg	2400			
785	790	795	800	
tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc agg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg	2448			
805	810	815		
gat gcc gag aag tgt gcc caa cat tct cat cac ttc tcc ttg gac atc Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile	2496			
820	825	830		
gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctg gga gtc tgg gtc atc Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile	2544			
835	840	845		
ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctg ggc aac ctt gag Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu	2592			
850	855	860		
ttt ctg gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctg gct cgt gtg aag Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys	2640			

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

1175

<210> 4
 <211> 1177
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 4

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SS

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

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

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

Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
645 650 655

Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys
660 665 670

His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn
675 680 685

Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr
690 695 700

Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val
705 710 715 720

Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
725 730 735

Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg
740 745 750

Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr
755 760 765

Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp
770 775 780

Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg
785 790 795 800

Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg
805 810 815

Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile
820 825 830

Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile
835 840 845

Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu
850 855 860

Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
865 870 875 880

Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
885 890 895

Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
900 905 910

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Met Glu Glu
1175

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

<220>
<223> expression cassette encoding Cry1A.105 amino acid sequence

<220>
<221> promoter
<222> (1)..(981)
<223> FMV.e35S promoter

<220>
<221> 5'UTR
<222> (985)..(1080)

<220>
<221> transit_peptide
<222> (1090)..(1263)
<223> chloroplast targeting peptide sequence

<220>
<221> CDS
<222> (1267)..(4797)
<223> coding sequence for CryIA.105

<220>
<221> terminator
<222> (4833)..(5480)
<223> Ps.E9 rbcS transcription termination and polyadenylation sequence

<400> 5
aattctcagt ccaaagcctc aacaagggtca gggtagagag tctccaaacc attagccaaa 60
agctacagga gatcaatgaa gaatcttcaa tcaaaqtaaa ctactgttcc agcacatgca 120
tcattggtcag tangtttcag aaaaagacat ccaccgaaga cttaaagtha gtgggcacatc 180
ttgaangtaa tcttgtcaac atcgagcagc tggcttgtgg ggaccagaca aaaaaggaat 240
gggtgcagaat tgttaggcgc acctaccaaa agcatctttg cctttattgc aaagataaaq 300
cagattcctc tagtacaagt ggggaacaaa ataacgtgga aaagagctyt cctgacagcc 360
cactcactaa tgcgtatgac gaacgcagtg acgaccacaa aagaattagc ttgagctcag 420
gatttagcag cattccagat tgggttcaat caacaaggtc cgagccatat cactttatc 480
aaattggtat cgccaaaacc aagaaggaac tccatcctc aaagqttgt aaggaagaat 540
tctcagtcga aagctcgaac aaggtcaggy tacaagctct ccaaacatt agccaaaagc 600
tacaggagat caatgaagaa tcttcaatca aagtaacta ctgttcacgc acatgcacca 660
tggtcagtaa gtctcagaaa aagacatcca ccgaagactt aaagttagtg ggcattcttg 720
aaagtaactc tgtcaacatc gagcagctgg ctgtgtggga ccagacaaa aaggaatggt 780
gcagaattgt taggcgcacc taccaaaagc atctttgctt ttattgcata gataaagcag 840
attcctctag tacaagtggg gaacaaaata acgtggaaaa gagctgtcct gacagccac 900
tcactaatgc gtatgacgaa cgcagtgagc accacaaaag aattcctct atataagaag 960
gcattcattc ccatttgaag gacacagaaa aatttgctac attgtttcac aaacttcaaa 1020
tattattcat ttatttgta gctttcaaac tctttgttc ttgtttgttg attgagaata 1080
tttaaaacaa tggcttctc tatgctctct tccgtacta tgggtgcctc tccggtcag 1140
gccactatgg tcyctccttt caacggactt aagtcctcgg ctgccttccc agccaccgc 1200
aaggctaaca acgacattac ttccatcaca agcaacggcg gaagagttaa ctgcattgca 1260
gccatg gac aac aac cca aac atc aac gaa tgc att cca tac aac tgc 1308
Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys
1 5 10
ttg agt aac cca gaa gtt yaa gta ctt qgt gga gaa cgc att gaa acc 1356
Leu Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr
15 20 25 30
ggg tac act ccc atc gac atc tcc ttg tcc ttg aca cag ttt ctg etc 1404
Gly Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu
35 40 45

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

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

aac ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc Asn Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser 690 695 700	3372
acc ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac Thr Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr 705 710 715	3420
gtc acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac Val Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr 720 725 730	3468
cag aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt Gln Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu 735 740 745 750	3516
aga ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tcy atc agy Arg Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg 755 760 765	3564
tac aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc Tyr Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu 770 775 780	3612
tgg cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac Trp Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn 785 790 795	3660
aga tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc Arg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys 800 805 810	3708
agg gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac Arg Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp 815 820 825 830	3756
atc gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc Ile Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val 835 840 845	3804
atc ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt Ile Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu 850 855 860	3852
gag ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg Glu Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val 865 870 875	3900
aag aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg Lys Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp 880 885 890	3948
gaa act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg Glu Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu 895 900 905 910	3996
ttc gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc Phe Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala 915 920 925	4044
atg atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac Met Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr 930 935 940	4092
ttg cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag Leu Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu 945 950 955	4140
gaa ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga Glu Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg 960 965 970	4188
aac gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat Asn Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn 975 980 985 990	4236
gtg aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cyt tcc gtc Val Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val 995 1000 1005	4284

ctg gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga 4329
 Leu Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Cln Glu Val Arg
 1010 1015 1020
 gtc tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag 4374
 Val Cys Pro Gly Arg Gly Tyr ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys
 1025 1030 1035
 gag gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac 4419
 Glu Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr ile His Glu ile Glu Asn
 1040 1045 1050
 aac acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc 4464
 Asn Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu ile
 1055 1060 1065
 tat ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag 4509
 Tyr Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln
 1070 1075 1080
 gaa gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac 4554
 Glu Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn
 1085 1090 1095
 gaa gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag 4599
 Glu Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu
 1100 1105 1110
 aaa tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac 4644
 Lys Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn
 1115 1120 1125
 aga ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc 4689
 Arg Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr
 1130 1135 1140
 aag gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gty tgg atc gag 4734
 Lys Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp ile Glu
 1145 1150 1155
 atc ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gty gac agc gtg gag ctt 4779
 ile Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe ile Val Asp Ser Val Glu Leu
 1160 1165 1170
 ctc ttg atg gag gaa taa tgagatccac gatatacctgc aggaattggc 4827
 Leu Leu Met Glu Glu
 1175
 cggccagctt tcgttcgtat catcggtttc gacaacgttc ghcaagttca atgcatcagt 4887
 ttcattgcgc acacaccaga atcctactga gtttgagtat tatggcattg ggaaaactgt 4947
 ttttcttgta ccatttgttg tgcttgtaat ttactgtggt ttttattcgg ttttcgctat 5007
 cgaactgtga aatggaaatg gatggagaag agttaatgaa tgatatggtc cttttgttca 5067
 ttctcaaatt aatattatkt gttttttctc ttatttgttg tgtgttgaat ttgaaattat 5127
 aagagatatg caaacatttt gttttgagta aaaaatgtgc aaatcgtggc ctctaattgac 5187
 cgaagttaat atgagygata aaacacttgt agttgtacca ttatgcttat tcaactaggca 5247
 acaaataat tttcagacct agaaaaactg caaatgttac tgaatacaag tatgtctctc 5307
 tgtgttttag acatttatag actttccttt atgtaatttt ccagaattcct tgtcagattc 5367
 taatcattgc ttataatta tagttatact catggatttg tagttgagta tgaatatatt 5427
 ttttaatgca ttttatgact tgcraattga ttgacaacat gcatcaatcg acc 5480

<210> 6

<211> 1176

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser Asp
645 650 655

Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys His
660 665 670

Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn Phe
675 680 685

Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr Gly
690 695 700

Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val Thr
705 710 715 720

Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln Lys
725 730 735

Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg Gly
740 745 750

Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr Asn
755 760 765

Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp Pro
770 775 780

Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg Cys
785 790 795 800

Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg Asp
805 810 815

Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile Asp
820 825 830

Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile Phe
835 840 845

Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu Phe
850 855 860

Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys Arg
865 870 875 880

Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu Thr
885 890 895

Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe Val
900 905 910

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Met Glu Glu
1175

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

<220>
<223> expression cassette encoding Cry1A.105 amino acid sequence

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

<220>
<221> 5'UTR
<222> (650)..(710)

<220>
<221> Intron
<222> (727)..(1206)
<223> rice actin intron RACT1

<220>
<221> CDS
<222> (1216)..(4752)
<223> coding sequence for CryIA.105

<220>
<221> terminator
<222> (4781)..(4990)
<223> Ta.Hsp17 transcription termination and polyadenylation sequence

<400> 7
ggtccgatgt gagacttttc aacaaagggt aatatccgga aacctcctcg gattccattg 60
cccagctatc tgtcacttta ttgtqaagat agtggaaaag gaaggtggct cctacaaatg 120
ccatcatttc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgcgcaca gtgggtccaa 180
agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaanaaga gacgttccaa ccacgtcttc 240
aaagcaagtg gattgatgtg atggtcctgt gtgagacttt tcaacaaagg gtaatatccg 300
gaaacctcct cggattccat tgcacagcta tctgtcactt tattgtgaag atagtqaaa 360
aggaagggtg ctcctacaaa tgcacatcalt gcgataaagg aaagcccatc gttgaagatg 420
cctctgcaga cagtggtccc aaagatggac cccacccac gaggagcatc gtggaanaag 480
aagacgttcc aaccacgtct tcaaaqcaag tggattgatg tgatatctcc actgacgtaa 540
gggatgacgc acaatcccac tatecttcgc aagacccttc ctctatataa ggaagttcat 600
ttcatttga gaggacacgc tgacaagctg actctagcag atcctctaga accatcttcc 660
acacactcaa gccacactat tggagaacac acagggacaa cacaccataa gatccaaggg 720
aggcctccgc cggccgggtt aaccaccccg cccctctcct ctttctttct cggttttttt 780
ttccgtctcg gtctcgatct ttggccttgg tagtttgggt gggcgagagg cggcttcgtg 840
cgcccccaga tgggtgcgcg gtaggggycgg gatctcgcg ctggggctct cggcggcgtg 900
gatccggccc gcatctcgcg gggaaatgggg ctctcgatg tagatctgcg atccgccgtt 960
gttgggggag atgatggggg gtttaaaatt tccgccgtgc taacaaagat caggaaaggg 1020
ggaaaagggc actatggttt atatttttat atatttctgc tgcctcgtca ggcttagatg 1080
tgctagatct ttctttcttc tttttgtgg tagaatttga atccctcagc attgttcatc 1140
ggtagttttt cttttcatga tttgtgaaa atgcagcctc gtgcggagct tttttgtagg 1200
tagaagtgat caacc atg gac aac aac cca aac atc aac gag tgc atc ccg 1251
Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro
1 5 10
tac aac tgc ctc agc aac cct gag gtc gag gtg ctc ggc ggt gag cgc 1299
Tyr Asn Cys Leu Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg
15 20 25
atc gag acc ggt tac acc ccc atc gac atc tcc ctc tcc ctc acg cag 1347
Ile Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln
30 35 40
ttc ctg ctc agc gag ttc gtg cca ggc gct ggc ttc gtc ctg ggc ctc 1395
Phe Leu Leu Ser Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu
45 50 55 60
gtg gac atc atc tgg ggc atc ttt ggc ccc tcc cag tgg gac gcc ttc 1443
Val Asp Ile Ile Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe
65 70 75
ctg gty caa atc caq caq ctc atc aac cag agg atc gag gag ttc gcc 1491
Leu Val Gln Ile Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Gln Phe Ala
80 85 90

agg aac cag gcc atc agc cgc ctg gag ggc ctc agc aac ctc tac caa 1539
Arg Asn Gln Ala Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln
95 100 105

atc tac gct gag agc ttc cgc gag tgg gag gcc gac ccc act aac cca 1587
Ile Tyr Ala Glu Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro
110 115 120

gct ctc cgc gag gag atg cgc atc cag ttc aac gac atg aac agc gcc 1635
Ala Leu Arg Glu Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala
125 130 135 140

ctg acc acc gcc atc cca ctc ttc gcc gtc cag aac tac caa gtc ccg 1683
Leu Thr Thr Ala Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro
145 150 155

ctc ctg tcc gtg tac gtc cag gcc gcc aac ctg cac ctc agc gtg ctg 1731
Leu Leu Ser Val Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu
160 165 170

agg gac gtc agc gtg ttt ggc cag agg tgg ggc ttc gac gcc gcc acc 1779
Arg Asp Val Ser Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr
175 180 185

atc aac agc cgc tac aac gac ctc acc agg ctg atc ggc aac tac acc 1827
Ile Asn Ser Arg Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr
190 195 200

gac cac gct gtc cgc tgg tac aac act ggc ctg gag cgc gtc tgg gcc 1875
Asp His Ala Val Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly
205 210 215 220

cct gat tct aga gac tgg att cgc tac aac cag ttc agg cgc gag ctg 1923
Pro Asp Ser Arg Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu
225 230 235

acc ctc acc gtc ctg gac att gtg tcc ctc ttc cgc aac tac gac tcc 1971
Thr Leu Thr Val Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser
240 245 250

cgc acc tac cgc atc cgc acc gtg tcc caa ctg acc cgc gaa atc tac 2019
Arg Thr Tyr Pro Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr
255 260 265

acc aac ccc gtc ctg gag aac ttc gac ggt agc ttc agg gcc agc gcc 2067
Thr Asn Pro Val Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala
270 275 280

cag gcc atc gag gcc tcc atc agg agc cca cac ctg atg gac atc ctc 2115
Gln Gly Ile Glu Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu
285 290 295 300

aac agc atc act atc tac acc gat gcc cac cgc gcc gag tac tac tgg 2163
Asn Ser Ile Thr Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp
305 310 315

tcc gcc cac cag atc atg gcc tcc ccg gtc gcc ttc agc gcc ccc gag 2211
Ser Gly His Gln Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu
320 325 330

ttt acc ttt cct ctc tac gcc acg atg gcc aac gcc gct cca caa caa 2259
Phe Thr Phe Pro Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln
335 340 345

cgc atc gtc gct cag ctg gcc cag gcc gtc tac cgc acc ctg agc tcc 2307
Arg Ile Val Ala Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser
350 355 360

acc ctg tac cgc agg ccc ttc aac atc ggt atc aac aac cag cag ctg 2355
Thr Leu Tyr Arg Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu
365 370 375 380

tcc gtc ctg gat gcc act gag ttc gcc tac gcc acc tcc tcc aac ctg 2403
Ser Val Leu Asp Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu
385 390 395

ccc tcc gct gtc tac cgc aag agc gcc acg gtg gat tcc ctg gac gag 2451
Pro Ser Ala Val Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu
400 405 410

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

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

atc gag aac aac acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag 4407
Ile Glu Asn Asn Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu
1050 1055 1060

gaa gaa atc tat ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act 4452
Glu Glu Ile Tyr Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr
1065 1070 1075

gtg aat cag gaa gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga 4497
Val Asn Gln Glu Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg
1080 1085 1090

ggt tac aac gaa gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg 4542
Gly Tyr Asn Glu Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val
1095 1100 1105

tac gag gag aaa tcc tac aca gat gcc aga cgt gag aac cct tgc 4587
Tyr Glu Glu Lys Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys
1110 1115 1120

gag ttc aac aga ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt gcc 4632
Glu Phe Asn Arg Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly
1125 1130 1135

tat gtt acc aag gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg 4677
Tyr Val Thr Lys Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val
1140 1145 1150

tgg atc gag atc ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc 4722
Trp Ile Glu Ile Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser
1155 1160 1165

gtg gag ctt ctc ttg atg gag gaa taa tga gatctatcga ttctagaagg 4772
Val Glu Leu Leu Leu Met Glu Glu
1170 1175

cctgaattct qcacgcgttt ggacgtatgc tcattcaggt tggagccaat ttggttgatg 4832

tgtgtgcgag ttctgtcgag tctgatgaga catctctgta ttgtgtttct tccccagtg 4892

ttttctgtac ttgtgtaac ggctaatacgc caacagatgc ggcgatgaat aaatgagaaa 4952

taaattgttc tgatttttgag tgcaaaaaaa aaggaatt 4990

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

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 8

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu

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

72

420 425 430

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
645 650 655

Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys
660 665 670

His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn
675 680 685

Phe Lys Asp Ile Asn Arg Glu Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr
690 695 700

Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val
705 710 715 720

Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
725 730 735

Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg

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

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

SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS INSECTICIDAS

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En la presente invención se proveen nuevas secuencias codificantes para usar
5 en plantas. Las secuencias codificantes codifican una proteína insecticida quimérica,
tóxica para un amplio rango de especies de lepidópteros que son plagas de cultivos.

Desde hace tiempo se han usado formulaciones comerciales de aislados de *B.*
thuringiensis de ocurrencia natural para el control biológico de los insectos que son
pagas agrícolas. De acuerdo con prácticas agrícolas convencionales, las esporas y los
10 cristales de Bt, obtenidos a partir de la fermentación de especies de *Bacillus*
thuringiensis, se concentran y se formulan para una aplicación foliar.

Se sabe que las proteínas cristalinas miembros de la familia Cry1 presentan
actividad biológica contra larvas de insectos lepidópteros, y son útiles como agentes
para controlar insectos lepidópteros plaga. El precursor de las δ -endotoxinas Cry1
15 consiste en dos segmentos con un tamaño aproximadamente igual. La porción carboxi-
terminal de la proteína precursora, o el segmento de protoxina, estabiliza la formación
de cristales y no presenta actividad insecticida. La mitad amino-terminal de la proteína
precursora comprende el segmento de la toxina de la proteína Cry1, y sobre la base del
alineamiento de secuencias conservadas o sustancialmente conservadas dentro de los
20 miembros de la familia Cry1, puede sub-dividirse adicionalmente en tres dominios
estructurales. Estos tres sub-dominios se basan en un modelo cristalográfico de la
estructura tridimensional de la δ -endotoxina Cry1A, donde los tres sub-dominios se
denominaron Dominio I, Dominio II y Dominio III, respectivamente, medidos a partir del
extremo amino del segmento tóxico de la proteína. El Dominio I comprende
25 aproximadamente el primer tercio del segmento de la toxina activa, y se ha demostrado
que es esencial para la formación de canales (Thompson et al., 1995). Los Dominios II y
III, respectivamente, comprenden aproximadamente los segmentos central y carboxi-
terminal de la porción de la toxina activa. Los Dominios II y III han sido relacionados con
la unión a receptores y la especificidad por especies de insectos, dependiendo del
30 insecto y la δ -endotoxina examinada (Thompson et al., 1995).

La probabilidad de crear arbitrariamente una proteína quimérica con propiedades mejoradas a partir de la re-asignación de las estructuras de los dominios de las numerosas proteínas insecticidas cristalinas nativas conocidas en la técnica es remota. Esto es un resultado de la naturaleza compleja de la estructura de la proteína, su plegamiento, su oligomerización y su activación, incluyendo el procesamiento proteolítico correcto del precursor quimérico, si se expresa de tal forma, para liberar un segmento de toxina insecticida. Solamente la selección cuidadosa de regiones blanco específicas dentro de cada proteína progenitora, para incluirlas en una estructura quimérica, puede permitir construir toxinas insecticidas funcionales que presenten una actividad insecticida mejorada, en comparación con las proteínas progenitoras de las que derivan las quimeras. La experiencia ha demostrado que el re-ensamblaje de los dominios de las toxinas, es decir, el ensamblaje de una toxina quimérica que consiste en los dominios I, II, y III de cualesquiera dos o más toxinas, que son esencialmente diferentes unas de otras, resulta en la construcción de una proteína que presenta una formación de cristales con fallos, y/o en la carencia completa de cualquier actividad insecticida detectable dirigida a una especie de insecto plaga blanco preferida. En algunos casos, una toxina quimérica presentará un proceso de formación de cristales apropiado, y sin embargo no presentará una actividad insecticida detectable. Las quimeras insecticidas efectivas solamente pueden formularse con el método de prueba y error, y aún así, aquellos entrenados en la técnica no pueden tener la seguridad de obtener una quimera que presente una actividad insecticida que sea equivalente o mejor, en comparación con cualquier proteína tóxica progenitora a partir de la cual se hayan obtenido los constituyentes de la quimera.

En la literatura se mencionan ejemplos de la construcción o el ensamblaje de proteínas quiméricas de dos o más precursores de proteínas insecticidas cristalinas Bt, pero no todos presentaron propiedades insecticidas o de formación de cristales que fueran equivalentes o mejoradas, en comparación con las proteínas precursoras a partir de las cuales derivaban las quimeras (Bosch et al. (WO95/06730); Thompson et al. (WO95/30753); Thompson et al. (WO95/30752); Malvar et al. (WO98/22595); Gilroy et al. (Patente de los EEUU N° 5128130); Gilroy (Patente de los EEUU N° 5055294); Lee et al. (1992) Gene 267:3115-3121; Honee et al. (1991) Mol. Microbiol. 5 :2799-2806;

Schnepf et al. (1990) J. Biol. Chem. 265:20923-20930; Perlak et al. (1990) Bio/Technol. 8:939-9943; Perlak et al (1993) Plant Mol. Biol. 22:313-321).

La expresión de δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* en plantas de maíz transgénicas ha resultado ser un medio efectivo para controlar los insectos plaga de importancia agrícola (Perlak et al. 1990; 1993). Los cultivos transgénicos que expresan δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* permiten que los encargados del cultivo reduzcan significativamente el tiempo y los costos asociados con las aplicaciones de insecticidas químicos aplicados en forma tópica. El uso de transgenes que codifican δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* es particularmente ventajoso. Las plantas de cultivo que expresan δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* en áreas bajo una presión intensa por parte de insectos resulta en rendimientos mejorados, que son mejores que los de las variedades de plantas comerciales no transgénicas, similares en otros aspectos. Sin embargo, se anticipa que los insectos pueden desarrollar resistencia a las δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* expresadas en las plantas transgénicas. Esta resistencia, de propagarse, limitaría claramente el valor comercial del germoplasma que contiene los genes que codifican estas δ -endotoxinas de *B. thuringiensis*. Una manera posible para incrementar la efectividad de los insecticidas transgénicos contra las plagas blanco, y al mismo tiempo reducir el desarrollo de plagas resistentes a los insecticidas, comprendería asegurar que los cultivos transgénicos expresaran niveles elevados de δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* (McGaughey y Whalon 1993; Roush 1994). Además, la presencia de una reserva de genes insecticidas efectivos contra grupos de insectos plaga, y que manifiesten sus efectos a través de distintos modos de acción, podrá proporcionar protección contra el desarrollo de cualquier resistencia. La expresión en una planta de dos o más composiciones insecticidas tóxicas para la misma especie de insecto, donde cada insecticida se expresa a niveles suficientemente elevados como para demorar efectivamente el inicio de la resistencia, sería otra manera para obtener el control del desarrollo de resistencia. Los ejemplos de insecticidas de este tipo, útiles en estas combinaciones, incluyen, sin limitaciones, toxinas Bt, proteínas insecticidas de *Xenorhabdus* sp. o *Photorhabdus* sp., proteínas y/o muteínas des-alergenizadas y des-glicosiladas, lectinas vegetales, y semejantes. No ha resultado posible obtener la co-expresión de múltiples proteínas insecticidas activas en la misma planta, y/u obtener

niveles de expresión elevados de estas proteínas insecticidas, sin provocar efectos morfológicos indeseables sobre la planta.

Se ha evaluado la expresión en plantas solamente en unas pocas de las más de doscientas cincuenta proteínas insecticidas individuales identificadas a partir de especies de *Bacillus thuringiensis*. Ha sido posible expresar varias Cry1, Cry3, Cry2a y Cry2Ab, toxinas binarias Cry33/34 y Cry23/37, y una Cry9 con éxito en plantas. Las proteínas Cry1 representan la clase más grande de proteínas que han sido expresadas en plantas, pero ninguna ha podido ser expresada a niveles elevados. Fue necesario dirigir Cry2Ab al cloroplasto para evitar efectos fitotóxicos indeseables. La mayor parte de los acres sembrados con plantas recombinantes expresan proteínas Cry1A. La probabilidad de la aparición de resistencia a las proteínas Cry1A en las especies de insectos plaga blanco es sustancialmente mayor que la que habría si también se expresara un alelo de manejo de resistencia junto con el alelo *cry1*, o si el alelo *cry1* se expresara a niveles elevados. Por consiguiente, resulta deseable el desarrollo de genes de toxinas alternativas, para expresarlos en plantas como suplementos y reemplazos para aquellos usados actualmente en la primera y la segunda generación de plantas transgénicas con resistencia a insectos.

RESUMEN DE LA INVENCION

En la invención se proveen secuencias de nucleótidos aisladas para expresar en plantas, que codifican una proteína insecticida que presenta propiedades de inhibición de insectos lepidópteros. SEQ ID N° 1 es un ejemplo de estas secuencias de nucleótidos, consiste en un gen *cry1A.105* y codifica una proteína inhibidora de insectos Cry1A.105. SEQ ID N° 1 es similar a SEQ ID N° 3, y ambas codifican una proteína Cry1A.105. Se prefiere SEQ ID N° 1 para usar en células de dicotiledóneas, mientras que se prefiere SEQ ID N° 3 para usar en células de monocotiledóneas. SEQ ID N° 4 es codificada a partir de SEQ ID N° 3, y tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a la de SEQ ID N° 2. La secuencia de nucleótidos aislada incluye secuencias que presentan al menos entre aproximadamente 88% y aproximadamente 90%, o más identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia indicada en SEQ ID N° 1, o que hibridizan con SEQ ID N° 1 bajo condiciones de hibridización severas. La secuencia de nucleótidos aislada también incluye secuencias que presentan al menos

aproximadamente 90% de identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia indicada en SEQ ID N° 3, o que hibridizan con SEQ ID N° 3 bajo condiciones de hibridización severas.

En la invención también se provee una proteína insecticida aislada y purificada que presenta actividad de inhibición dirigida a especies de insectos lepidópteros. En la presente documentación, la proteína insecticida comprende al menos la porción tóxica Cry1A.105, y presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2. La proteína precursora completa, que consiste en aproximadamente 1177 aminoácidos, que se indica en SEQ ID N° 2, también se conoce como una proteína insecticida Cry1A.105, sin embargo, cualquier fragmento de la proteína precursora que presenta actividad biológica insecticida se conoce como una proteína insecticida Cry1A.105, e incluye al menos una proteína insecticida Cry1A.105 que corresponde a un segmento de una secuencia de aminoácidos de entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 612, como se indica en SEQ ID N° 2, y también puede incluir un segmento de entre aproximadamente el aminoácido 2 y aproximadamente el aminoácido 610. Cualquier composición que consiste en una cantidad efectiva como insecticida de la proteína insecticida está dentro del alcance de la invención.

En la invención también se provee un cassette de expresión para usar en la expresión de una proteína insecticida, como se indica en SEQ ID N° 2, en una célula huésped. El cassette de expresión preferiblemente contiene un promotor funcional en la célula huésped deseada, que está unido y regula la expresión de una secuencia de nucleótidos que codifica un segmento insecticida de una proteína Cry1A.105. En la presente documentación se proporcionan ejemplos de cassettes de expresión, indicados en SEQ ID N° 5 y SEQ ID N° 7, que pueden usarse en una célula vegetal de dicotiledónea o una célula vegetal de monocotiledónea, respectivamente. El promotor y la secuencia codificante están unidos operativamente, y operan juntos en la célula huésped. El cassette de expresión puede usarse en cualquier célula huésped, pero preferiblemente se usa en una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero o una célula vegetal. Las células bacterianas se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en una célula de 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*. Si la célula huésped es una célula vegetal, preferiblemente es una célula seleccionada de una especie de planta de cultivo, preferiblemente una planta dicotiledónea o una planta monocotiledónea. Los ejemplos de plantas dicotiledóneas son la alfalfa, la manzana, el albaricoque, el espárrago, el poroto, la baya, la zarzamora, el arándano, la canola, la zanahoria, la coliflor, el apio, la cereza, el garbanzo, el pomelo, el algodón, la habichuela, la grosella, el pepino, las cucúrbitas, la berenjena, los árboles frutales, la uva, el limón, la lechuga, la semilla de lino, el melón, la mostaza, los nogales, la okra, la naranja, la arveja, el durazno, el maní, la pera, la ciruela, la papa, la soja, la frutilla, la remolacha, el girasol, la batata, el tabaco, el tomate, el nabo y las verduras. Los ejemplos de plantas monocotiledóneas son el maíz, el trigo, la avena, el arroz, el sorgo, el mijo, el trigo sarraceno, el centeno, el pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y la cebada. Los cassettes de expresión que pueden usarse en una célula vegetal típicamente contienen secuencias unidas operativamente que regulan los niveles y las eficiencias de expresión de una sustancia deseada, tal como una proteína insecticida Cry1A.105. Estas secuencias pueden ser una secuencia potenciadora de la expresión, una secuencia directriz no traducida, una secuencia de intrón, una secuencia que codifica un péptido de direccionamiento a cloroplasto y una secuencia de terminación de la transcripción y poliadenilación.

El cassette de expresión preferiblemente se incorpora en un vector para usar en la estabilización y el mantenimiento de la secuencia codificante Cry1A.105 dentro de la célula huésped. Un vector puede ser cualquier cantidad de estructuras conocidas la técnica, pero típicamente es un plásmido o un replicón en el que se construye o inserta el cassette de expresión, antes de incorporarlo en la célula huésped. Un vector incluye, sin limitaciones, un plásmido, un cósmido, un bácmido, un fagémido, un YAC, un BAC, un vector suicida, una secuencia de inserción, un transposón o aún una secuencia de nucleótidos lineal con la cual está unida el cassette de expresión, o en la cual está embebido el cassette de expresión.

Las plantas transgénicas resistentes a la infestación por parte de insectos lepidópteros son una realización de la presente invención. Estas plantas contienen una

secuencia de nucleótidos que codifica una proteína insecticida Cry1A.105, como se indica en SEQ ID N° 2, al menos entre aproximadamente el aminoácido 2 y aproximadamente el aminoácido 612. La planta transgénica es efectiva para controlar la infestación por parte de insectos lepidópteros, provocada por insectos tales como rizadores de hojas, orugas cortadoras, orugas marchadoras, taladros, orugas de bolsón y cualquier insecto forrajeador. Las plagas preferidas son las orugas marchadoras de otoño, los taladros del maíz europeos, las orugas de la mazorca del maíz (orugas de los copos de algodón), los taladros del maíz sudoccidentales y las orugas cortadoras negras. En la presente invención se incluye la progenie y las semillas, los frutos o los productos obtenidos a partir de la planta transgénica de la presente invención, siempre que secuencia de nucleótidos de la presente invención, que codifica un segmento insecticida Cry1A.105, se mantenga dentro del genoma heredable y/o de plástido de las células de la planta, su progenie, sus semillas, y semejantes.

En la presente invención también se proveen uno o más métodos para controlar la infestación de una planta por parte de insectos lepidópteros, que comprenden colocar en la dieta de un insecto plaga una composición que contiene una cantidad efectiva como insecticida de una proteína insecticida Cry1A.105. Una de estas composiciones comprendería células vegetales, que fueran o descendieran de una célula vegetal transformada con una secuencia de ácido nucleico que codificara un segmento insecticida de una secuencia de aminoácidos Cry1A.105, como se indica en SEQ ID N° 2. Una planta transgénica generada a partir de una célula vegetal transformada para que contuviera un cassette de expresión, indicada, por ejemplo, en SEQ ID N° 5 y SEQ ID N° 7, que contuviera una secuencia que codificara una secuencia de aminoácidos insecticida Cry1A.105, constituiría un medio para proporcionar una composición insecticida en la dieta del insecto. Otra manera comprendería producir una cantidad efectiva como insecticida de una proteína Cry1A.105 en células bacterianas o fúngicas, y colocar las células bacterianas o fúngicas, o una cantidad purificada de la proteína Cry1A.105, en la dieta de uno o más insectos plaga blanco susceptibles a la proteína Cry1A.105.

Se proporciona un método para identificar una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos Cry1A.105 en una muestra biológica. El método

consiste en poner en contacto una muestra, en la que se evalúa la presencia de la secuencia codificante Cry1A.105, con un polinucleótido sonda que se une con especificidad a la secuencia codificante Cry1A.105. En particular, la secuencia sonda se une o hibridiza con una secuencia codificante Cry1A.105 bajo condiciones de hibridización severas. La detección de la unión en una mezcla de reacción sirve como diagnóstico para la presencia de la secuencia codificante Cry1A.105.

También se proporciona un método para identificar un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105 en una muestra. El método consiste en poner en contacto una muestra, en la que se evalúa la presencia de un fragmento insecticida Cry1A.105, con un anticuerpo que se une específicamente al fragmento insecticida. La detección de la unión en una mezcla de reacción sirve como diagnóstico para la presencia de la proteína Cry1A.105 en una muestra.

También se proporcionan proteínas quiméricas o híbridas. Estos híbridos están compuestos por dos o más proteínas insecticidas diferentes, cada una de las cuales presenta actividad insecticida dirigida al menos a un miembro de la misma especie de insecto. La proteína insecticida híbrida está compuesta por partes de cada una de las distintas proteínas insecticidas. Los segmentos de proteínas insecticidas usados en la construcción del híbrido consisten en entre al menos aproximadamente 50 y al menos aproximadamente 200 aminoácidos contiguos, seleccionados entre los aminoácidos contiguos que componen cualquiera de las distintas proteínas insecticidas. Se incluye una proteína insecticida Cry1A.105, como se indica en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido en la posición 2 y aproximadamente el aminoácido en la posición 612, en el grupo de proteínas insecticidas diferentes a partir de las cuales puede seleccionarse un segmento para construir una proteína insecticida híbrida.

Aunque diversas ventajas y características de la presente invención son evidentes, la naturaleza de la invención podrá comprenderse con mayor facilidad con referencia a la siguiente descripción detallada, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS

SEQ ID N° 1 es una secuencia sintética para la expresión de una proteína insecticida Cry1A.105, preferiblemente en una célula de dicotiledónea.

SEQ ID N° 2 es una proteína Cry1A.105 codificada por la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1.

SEQ ID N° 3 es una secuencia sintética para la expresión de una proteína insecticida Cry1A.105, preferiblemente en una célula de monocotiledónea.

5 SEQ ID N° 4 es una proteína Cry1A.105 codificada por la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 3.

SEQ ID N° 5 representa una secuencia de nucleótidos que consiste en un cassette de expresión que funciona en una célula vegetal, y preferiblemente en una célula de planta dicotiledónea, para expresar una proteína insecticida Cry1A.105.

0 SEQ ID N° 6 representa una proteína insecticida Cry1A.105 codificada por un segmento dentro del cassette de expresión indicado en SEQ ID N° 5.

SEQ ID N° 7 representa una secuencia de nucleótidos que consiste en un cassette de expresión que funciona en una célula vegetal, y preferiblemente en una célula de planta monocotiledónea, para expresar una proteína insecticida Cry1A.105.

5 SEQ ID N° 8 representa una proteína insecticida Cry1A.105 codificada por un segmento dentro del cassette de expresión indicado en SEQ ID N° 7.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención, los inventores han construido secuencias de nucleótidos que codifican una nueva proteína insecticida, identificada en la presente
0 documentación como una proteína Cry1A.105. Se ha determinado que la secuencia de aminoácidos Cry1A.105, indicada en SEQ ID N° 2, presenta propiedades que confieren ventajas respecto de las proteínas insecticidas Bt de ocurrencia natural, que son tóxicas para especies de insectos lepidópteros. En particular, la proteína Cry1A.105 puede expresarse a niveles elevados en plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, sin la
5 mayor parte de los eventos transgénicos que presentan efectos fitotóxicos, como resultado de los niveles de expresión incrementados, en comparación con los efectos observados cuando se expresan proteínas Cry1 de ocurrencia natural en plantas. Además, la proteína Cry1A.105 forma cristales estables cuando se expresa en *Bacillus thuringiensis*, probablemente debido al efecto estabilizador del segmento de protoxina
0 de Cry1Ac unido a la porción de toxina de la proteína quimérica Cry1A.105. Además, la proteína insecticida Cry1A.105 presenta un rango de actividad biológica insecticida

dirigida a especies de lepidópteros, que no se observa con otras proteínas Cry1 de
ocurrencia natural identificadas hasta la fecha. 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.

Los inventores han construido al menos dos secuencias de nucleótidos
diferentes para usar en plantas, donde cada secuencia de nucleótidos codifica la misma
proteína insecticida Cry1A.105. Aproximadamente los primeros dos tercios (o amino-
terminales) de la porción insecticida de la proteína Cry1A.105 consiste en secuencias
de aminoácidos derivadas de una secuencia de aminoácidos Cry1Ab. Esta secuencia
está unida al extremo carboxilo de la porción de la toxina, y a una parte del dominio de
protoxina de una secuencia de aminoácidos derivada de una proteína insecticida Cry1
obtenida de una cepa Ecogen *Bt aizawai* EG6346 (Chambers et al., 1991, J. Bacteriol.
173:3966-3976). El segmento de la toxina de Cry1A.105 está unido a un segmento que
es sustancialmente la secuencia del péptido de la protoxina de Cry1Ac. Los inventores
demostraron que esta construcción provee una secuencia de aminoácidos única, que
sorprendentemente presenta propiedades insecticidas mejoradas, en comparación con
las propiedades que presenta la proteína de la que deriva la quimera. Además, la
proteína precursora Cry1A.105 presenta propiedades de formación de cristales
excelentes, y se solubiliza y procesa de forma eficiente para dar la forma de toxina
activa en el intestino de los insectos lepidópteros plaga específicos que se desea
combatir.

Las secuencias de nucleótidos presentadas en la presente documentación han sido construidas usando los métodos detallados en las Patentes de los EEUU N° 5500365 y 5689052, en particular, evitando determinadas secuencias en la secuencia codificante, de las cuales se ha observado que son problemáticas para la expresión de secuencias genéticas heterólogas en células vegetales. El segmento que codifica la porción de toxina de la proteína Cry1A.105 consiste en los nucleótidos indicados en SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3, entre aproximadamente la posición 1 y aproximadamente la posición 1830, en forma aproximada. La secuencia indicada en SEQ ID N° 1 se construyó para usar en especies de plantas dicotiledóneas, y en particular, en plantas de algodón. La secuencia indicada en SEQ ID N° 3 se construyó para expresar en plantas monocotiledóneas, y en particular, en plantas de especies de maíz.

Las secuencias de nucleótidos de la presente invención presentan una identidad general de aproximadamente 94,3% unas con otras, y son idénticas entre aproximadamente el nucleótido en la posición 1330 y aproximadamente el nucleótido en la posición 3534. Los segmentos de cada una de estas secuencias de nucleótidos que codifican la porción de toxina de la proteína Cry1A.105 presentan aproximadamente 88,9% de identidad unos con otros, entre aproximadamente el nucleótido en la posición 1 y aproximadamente el nucleótido en la posición 1830. Los segmentos de estas secuencias de nucleótidos que codifican las primeras dos estructuras de dominios de la proteína Cry1A.105 son sustancialmente más diversos y presentan solamente aproximadamente 84,7% de identidad unos con otros.

Los inventores han construido eventos de plantas transgénicas usando estas secuencias.

SEQ ID N° 1 se introdujo en un plásmido vector que contenía un cassette de expresión que consistía en una secuencia de un promotor del virus en mosaico de la escrofularia mejorado (eFMV), unida operativamente a una secuencia de una directriz no traducida Hsp70 de *Petunia hybrida* (Ph.Hsp70, también conocida como DnaK), una secuencia codificante del péptido de direccionamiento a cloroplastos de la subunidad pequeña de la ribulosa bis fosfato carboxilasa de *Arabidopsis thaliana*, y una secuencia de terminación de la transcripción y poliadenilación del gen de la subunidad pequeña de la ribulosa bis fosfato carboxilasa E9 de *Pisum sativum*. La secuencia codificante

Cry1A.105 indicada en SEQ ID N° 1 se insertó en este cassette de expresión, en el marco de lectura e inmediatamente adyacente con el extremo 3' de la secuencia codificante de la secuencia codificante del péptido de direccionamiento, y río arriba de la secuencia de terminación E9. La secuencia de nucleótidos del cassette de expresión resultante se indica en SEQ ID N° 5. Se separó un segmento del vector que contiene el cassette de expresión Cry1A.105, unido a un segundo cassette de expresión que contiene un marcador GUS que puede expresarse en plantas, y se lo usó para generar eventos transgénicos de algodón usando métodos biolísticos. En ensayos biológicos, se evaluó la actividad insecticida de los eventos transgénicos contra diversas especies de lepidópteros plaga, y se determinó que presentaban propiedades de control de insectos significativamente mejores que las plantas de algodón resistentes a insectos existentes con anterioridad, que solamente contenían Cry1Ac o una combinación de proteínas Cry1Ac y Cry2Ab. Además, algunos de los eventos transgénicos de algodón Cry1A.105 presentaron niveles de acumulación de proteínas Cry1A.105 que excedieron entre 10 y 20 partes por millón durante la temporada de cultivo, aún en copos de algodón, sin que presentaran efectos fitotóxicos sobre los tejidos vegetativos o reproductivos. Esto contrasta con otras proteínas Cry1 evaluadas con anterioridad, que en general presentaron solamente niveles de acumulación menores que aproximadamente 10 partes por millón, estuvieran dirigidas o no al cloroplasto. Se observaron efectos fitotóxicos cuando se evaluaron otros tipos de proteínas Cry1 en algodón, especialmente cuando los niveles de acumulación de Cry1 se aproximaron o excedieron 10 ppm.

SEQ ID N° 3 se introdujo en un plásmido vector que contenía un cassette de expresión que consistía en una secuencia promotora mejorada del virus en mosaico de la coliflor (CaMV), unida operativamente a una secuencia directriz no traducida de un gen de una proteína mayor de unión a clorofila a/b de *Triticum aestivum* y una secuencia de un intrón de actina de *Oryza sativa*, y una secuencia de terminación de la transcripción y poliadenilación del gen *hsp17* de *Triticum aestivum*. La secuencia codificante Cry1A.105 indicada en SEQ ID N° 3 se insertó en este cassette de expresión en una posición inmediatamente adyacente y 3' de la secuencia del intrón, y río arriba de la secuencia de terminación. La secuencia de nucleótidos del cassette de

expresión resultante se indica en SEQ ID N° 7. El vector también contiene un marcador de selección del herbicida glifosato, que se usó para seleccionar los eventos transformados con el cassette de expresión Cry1A.105. Los eventos de maíz seleccionados después de la transformación con el cassette de expresión Cry1A.105 se evaluaron en ensayos biológicos contra diversas especies de lepidópteros, y se determinó que presentaban un amplio rango de actividad insecticida, que no fue prevalente con los eventos transformados con otras proteínas insecticidas Bt, tales como Cry1Ab. Las actividades contra la oruga marchadora de otoño y la oruga cortadora negra presentadas por los eventos presentaron niveles insecticidas de Cry1A.105, en combinación con la actividad insecticida de Cry1A.105 dirigida a la oruga de las mazorcas de maíz y al taladro de maíz, fueron equivalentes o mayores que las de los eventos que expresaban Cry1Ab, lo que constituye un espectro de actividad insecticida más amplio para los eventos Cry1A.105.

Las secuencias de nucleótidos de la presente invención son ejemplos. Hay otras secuencias de nucleótidos capaces de expresar un fragmento de una proteína insecticida Cry1A.105 en una célula vegetal, y aún pueden diseñarse otras secuencias de nucleótidos que se expresen bien en otros tipos de células huésped. Sin limitar el alcance de la descripción, se pretende que una secuencia de nucleótidos para usar en la expresión de un fragmento insecticida Cry1A.105 presente al menos aproximadamente 85%, o al menos aproximadamente 90%, o al menos aproximadamente 95%, o al menos aproximadamente 99% o más identidad de secuencia de nucleótidos con las secuencias de nucleótidos presentadas como ejemplos en la presente documentación. Otras secuencias de nucleótidos diseñadas para la expresión de un fragmento insecticida Cry1A.105 en una célula huésped distinta de una célula vegetal pueden presentar cualquier porcentaje de identidad o similitud con las secuencias de nucleótidos presentadas como ejemplos. Las secuencias de nucleótidos pueden variar debido a la redundancia del código genético, y por ende, es posible sintetizar cualquier cantidad de secuencias de ácidos nucleicos que codifiquen cualquier parte de la secuencia de aminoácidos detallada en SEQ ID N° 2, y todas estas secuencias se incluyen dentro del alcance de la presente invención. Dentro del alcance de la descripción se pretende incluir cualquier secuencia de ácido nucleico aislada y

purificada, que codifica al menos un fragmento insecticida de una proteína Cry1.105, así como cualquier composición en la que pueda detectarse el ácido nucleico con un anticuerpo, un ácido nucleico sonda o uno o más pares de cebadores diseñados para producir un amplicón que consiste en dicha secuencia.

5 La secuencia de ácido nucleico presentada como ejemplo en la presente documentación y expresada en maíz consiste en una secuencia codificante de una proteína precursora Cry1A.105, mientras que la secuencia expresada en algodón consiste en una secuencia codificante de una proteína precursora Cry1A.105 dirigida al cloroplasto. Se ha demostrado que la expresión de proteínas Cry1 en plantas es
0 problemática. No es posible saber si una proteína Cry1 se expresará, en lo absoluto o en particular, en una planta en particular y de forma apropiada, y de modo que se requieren experimentos de prueba y error. Algunas proteínas Cry1 expresadas en maíz resultarán en efectos fitotóxicos, por lo que el direccionamiento de la proteína al cloroplasto a veces alivia estos efectos. Se observan circunstancias similares con la
5 expresión de proteínas Cry1 en plantas de algodón. Los ejemplos en la presente documentación pretenden indicar que la expresión Cry1A.105 solamente es posible en maíz si se localiza en el espacio citoplasmático, y de forma similar, no pretenden indicar que la expresión de Cry1A.105 solamente es posible en algodón si se localiza en el plástido. Los ejemplos pretenden indicar que cualquier método de localización de la
0 proteína funciona con esta proteína para obtener plantas de morfología normal, que presenten niveles elevados de expresión y acumulación de proteínas Cry1A.105, y que presenten niveles comerciales de resistencia a un amplio rango de insectos lepidópteros que son plagas de plantas, de géneros seleccionados del grupo que consiste en *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Helicoverpa*, *Heliothis*, *Spodoptera*,
5 *Epinotia* y *Armigera*. Se cree que cualquier secuencia codificante de un péptido de direccionamiento a plástidos podría funcionar de forma efectiva para dirigir la proteína precursora Cry1A.105 a un plástido/cloroplasto.

Las secuencias directrices no traducidas, los intrones y las secuencias 3' de terminación de la transcripción y poliadenilación son conocidas en la técnica, y aquellos
0 entrenados en la técnica comprenderán que, en determinadas circunstancias, es posible mejorar o estabilizar la expresión incorporando estas secuencias en los

cassettes de expresión. En la técnica se conoce una cantidad de estas secuencias, y se pretende incluirlas dentro del alcance de la presente descripción. De forma similar, en la técnica se conocen promotores que son útiles para obtener la expresión regulada de una secuencia unida, y también se pretende incluirlos dentro del alcance de la presente descripción. Es posible seleccionar los promotores para usar en el direccionamiento de la expresión de una secuencia unida en cualquier cantidad de combinaciones de parámetros, incluyendo, sin limitaciones, el control temporal, espacial o con especificidad tisular de la expresión, y el control de la cantidad de un producto génico particular, del que se desea que se acumule en una célula o un tejido vegetal en particular.

La proteína aislada y purificada que comprende un fragmento insecticida de la secuencia de aminoácidos Cry1A.105 también se incluye dentro del alcance de la presente invención. Las variantes también se incluyen dentro del alcance de la presente invención, siempre que la o las sustituciones de aminoácidos que afecten la variación sean generalmente conservativas respecto de los aminoácidos sustituidos, y que la o las sustituciones no resulten en una reducción de la actividad biológica insecticida o el rango de especificidad de especies. Se pretende que un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105 sea un segmento de la secuencia de aminoácidos que se indica en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido en la posición 1 y aproximadamente el aminoácido en la posición 650, o entre aproximadamente el aminoácido en la posición 2 y aproximadamente el aminoácido en la posición 612, o entre aproximadamente el aminoácido en la posición 5 y aproximadamente el aminoácido en la posición 610, o entre aproximadamente el aminoácido en la posición 10 y aproximadamente el aminoácido en la posición 600. Como alternativa, se pretende que un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105 consista en entre aproximadamente 550 y aproximadamente 650 aminoácidos contiguos seleccionados del grupo que consiste en los residuos de aminoácidos entre 1 y aproximadamente 650, indicados en SEQ ID N° 2. La proteína precursora completa, que se extiende entre el residuo de aminoácido 1 y aproximadamente el residuo 3534, presenta propiedades de formación de cristales excelentes, y es bien tolerada por especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. La proteína precursora también presenta una

estabilidad excelente cuando está en forma cristalina, y también presenta una solubilidad excelente a pH alcalino, en particular, a un pH alcalino en el rango de entre aproximadamente 8,0 y aproximadamente 12,0, o entre aproximadamente 8,5 y aproximadamente 11,5, o entre aproximadamente pH 9,0 y aproximadamente pH 11,0.

- 5 La proteína de la presente invención puede purificarse y usarse sola, en una cantidad efectiva como insecticida, en cualquier cantidad de composiciones dirigidas a un uso como agente para el control de lepidópteros plaga, o puede combinarse, en una cantidad efectiva como insecticida, con cualquier cantidad de otros agentes pesticidas, que son diferentes de la proteína Cry1A.105. Estos otros a pesticidas incluyen, sin
- 0 limitaciones, composiciones insecticidas Bt Cry u otras, que puedan ser tóxicas o no para una especie de lepidóptero, incluyendo insecticidas químicos, fungicidas o agentes fungistáticos, antibióticos, agentes antibacterianos, agentes bacteriostáticos, y agentes nematocidas o nematostáticos. Estas combinaciones pesticidas que incluyen una proteína Cry1A.105, junto con cualquier cantidad de otros agentes pesticidas, pueden
- 5 producirse en una célula transgénica, o pueden formularse usando agentes pesticidas purificados o sustancialmente purificados, en una forma que consiste en un polvillo, un material granulado, una suspensión oleosa, una suspensión acuosa, una mezcla de aceite y una emulsión en agua, o un polvo humedecible, y luego pueden proporcionarse en un vehículo aceptable para el uso agrícola para realizar aplicaciones foliares. Las
- 0 composiciones también pueden formularse en un tratamiento para semillas, en combinación con una proteína Cry1A.105, en la composición que se desee incluir en el tratamiento para semillas, o como una composición que se aplica a una semilla, que deriva de una planta transgénica transformada para que exprese una cantidad efectiva como insecticida de una proteína Cry1A.105, de modo que la composición de
- 5 tratamiento para semillas que contiene agentes pesticidas se administre sobre un lepidóptero plaga blanco, junto con las células de una planta cultivada a partir de la semilla, que produzcan cantidades efectivas como pesticidas de una proteína Cry1A.105. 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
- 0 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.

En otra realización de la presente invención, se proporcionan plantas transformadas con las secuencias de nucleótidos de la presente invención. En la técnica se conocen métodos para introducir ADN en células vegetales de forma estable, y dichos métodos incluyen, sin limitaciones, infiltración al vacío, transformación mediada por *Agrobacterium* o *Rhizobium*, electroporación, y diversos métodos balísticos. El ADN introducido en plantas generalmente se diseña para que se inserte en el cromosoma nuclear, aunque puede efectuarse una inserción en el ADN de los cloroplastos o los plástidos. El ADN introducido en plantas generalmente está unido o asociado a una secuencia que provee un medio para identificar o seleccionar la o las células que han sido transformadas en forma estable con el ADN de interés, incluyendo, sin limitaciones, marcadores que pueden calificarse, tales como genes que emiten fluorescencia o luz, y genes que codifican pigmentos o enzimas que, en presencia del sustrato apropiado, imparten una característica colorimétrica a la o las células transformadas, o incluyendo marcadores de selección que permiten una selección positiva de las células y los tejidos transformados, lo que confiere una ventaja de crecimiento a las células transformadas, y provoca esencialmente que las células o los tejidos no transformados se tornen

estáticos o mueran. Estos marcadores de selección incluyen, sin limitaciones, genes que codifican basta, bar, resistencia a metotrexato, neomicina fosfotransferasa, enzimas EPSPS insensibles a glifosato, enzimas glifosato oxidorreductasa (GOX), *phnO* de *E. coli* o su equivalente, y semejantes.

5 En el alcance de la presente invención también se incluyen vectores y otros tipos de secuencias diseñadas para mantener, manipular y/o conducir las secuencias de nucleótidos presentadas como ejemplos, mientras se las manipula en el laboratorio, o que pueden introducirse en una célula huésped, y éstos incluyen, sin limitaciones, fagos, plásmidos, bácmidos, yácmidos, cósmidos y semejantes.

10 Las plantas transformadas también están dentro del alcance de la presente invención. En la presente descripción se incluyen específicamente las plantas transformadas para que contengan una secuencia de nucleótidos que codifica al menos un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105. Dentro del alcance de la presente invención se contemplan plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. Las
15 monocotiledóneas incluyen, sin limitaciones, maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada, y las plantas dicotiledóneas incluyen al menos alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas,
20 berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras. En la presente invención se incluyen específicamente los productos de estas plantas, así como semillas y tejidos obtenidos a partir de estas plantas, siempre que las semillas, los tejidos o los productos
25 contengan un transgen que codifique un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105.

 En la presente invención se proporcionan métodos para detectar una proteína Cry1A.105 o una secuencia de nucleótidos que codifica un fragmento insecticida de una proteína Cry1A.105 en una muestra biológica. Es posible usar Cry1A.105 para
0 inmunizar animales y producir anticuerpos específicos para los epitopes Cry1A.105. Los anticuerpos⁵ específicos para Cry1A.105 pueden usarse para detectar la presencia de

Cry1A.105 en una muestra biológica. En la técnica se conocen métodos para detectar la unión de un anticuerpo a un antígeno. La detección de la unión de un anticuerpo a un epítopo Cry1A.105 en una muestra biológica sirve como diagnóstico para la presencia de la proteína en la muestra.

- 5 También es posible detectar las secuencias de nucleótidos que codifican un fragmento insecticida Cry1A.105. Pueden usarse nucleótidos sonda sintéticos para que se unan a una secuencia blanco, es decir, una secuencia de nucleótidos que codifica un fragmento insecticida Cry1A.105. En la técnica se conocen métodos para detectar la unión de una sonda a una secuencia blanco. La detección de la unión de una sonda
0 con la secuencia codificante Cry1A.105 blanco sirve como diagnóstico para la presencia de la secuencia codificante en la muestra.

- Pueden usarse cebadores de nucleótidos sintéticos en reacciones de amplificación térmica, para producir un amplicón a partir de una muestra de la que se sospecha que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica un fragmento
5 insecticida de una proteína Cry1A.105. La presencia de un amplicón producida en dicha reacción de amplificación térmica sirve como diagnóstico para la presencia de la secuencia de nucleótidos en la muestra. Las secuencias particularmente útiles como sondas que son diagnósticas para detectar la presencia de las secuencias codificantes Cry1A.105 de la presente invención en una muestra biológica son secuencias que
10 corresponden o son perfectamente complementarias a (1) los nucleótidos en las posiciones 1401-1420 indicados en SEQ ID N° 1 o SEQ ID N° 3, o (2) los nucleótidos en las posiciones 1821-1840 indicados en SEQ ID N° 1 o SEQ ID N° 3. Estas secuencias corresponden a (1) los 20 nucleótidos que abarcan la secuencia que codifica la unión entre el dominio II y el dominio III de los segmentos de distintas proteínas insecticidas
15 usadas para construir la porción de las proteínas de la presente invención, y (2) los 20 nucleótidos que abarcan la secuencia que codifica la unión entre el dominio III y el segmento que codifica la protoxina de los distintos segmentos que codifican proteínas usados para construir la secuencia codificante de la pre-pro-toxina de la proteína Cry1Ab.105. Las secuencias de nucleótidos que son idénticas o complementarias con
20 cualquiera de estos segmentos de ADN (1401-1420 ó 1821-1840) pueden usarse como sondas para detectar la presencia de estas secuencias codificantes en muestras

biológicas. La detección de esta unión sirve para diagnosticar la presencia de estas secuencias codificantes en una muestra biológica. Como lo reconocerán aquellos entrenados en la técnica, podrán usarse otras secuencias que rodeen cualquiera de estos segmentos de ADN como cebadores para amplificar diversos segmentos
5 amplificados de diversos tamaños a partir de estas muestras biológicas, y estos amplicones servirán para diagnosticar la presencia de estas secuencias codificantes en la muestra. Por ejemplo, podría usarse una primera secuencia que correspondiera a la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1, entre las posiciones 1201 y 1220, como cebador directo en una reacción de amplificación térmica, con una segunda
10 secuencia cebadora que correspondiera al complemento inverso de la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1, entre las posiciones 1581 y 1600. Cuando se los usara juntos en una reacción de amplificación térmica con una muestra biológica que contiene SEQ ID N° 1, se obtendría la síntesis de un amplicón que correspondería a SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1201 y 1600, es decir, un
15 amplicón de 400 nucleótidos, que contendría el segmento de 20 nucleótidos que abarcaría los nucleótidos entre las posiciones 1401 y 1420, como se indica en SEQ ID N° 1, por lo que serviría para diagnosticar la presencia de la secuencia codificante Cry1A.105 en esta muestra.

Se proporciona un conjunto de elementos para detectar la presencia de una
20 proteína Cry1A.105 o detectar la presencia de una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína Cry1A.105 en una muestra. El conjunto de elementos contiene todos los reactivos y las muestras control necesarias para poner en práctica un método para detectar el agente deseado, así como instrucciones para usarlo.

En los siguientes ejemplos se describen realizaciones preferidas de la invención.
25 Otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones serán evidentes para aquellos entrenados en la técnica, a partir de la consideración de la memoria descriptiva o la práctica de la invención, tal como se la describe en la presente documentación. Se pretende que la memoria descriptiva, junto con los ejemplos, sea considerada solamente como ejemplo, ya que el alcance y el espíritu de la invención están indicados
30 por las reivindicaciones que siguen a los ejemplos.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

En este ejemplo se ilustran secuencias de nucleótidos sintéticas codifican una proteína insecticida Cry1A.105.

Se construyó una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1, que
 5 codificaba una proteína insecticida Cry1A.105, para usar en plantas dicotiledóneas. La traducción en una secuencia de aminoácidos se indica en SEQ ID N° 2. La toxina que codifica el segmento consiste en los nucleótidos entre aproximadamente la posición 1 y aproximadamente la posición 1830, en forma aproximada.

Se construyó una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 3, que
 0 codificaba una secuencia de aminoácidos Cry1A.105, para la expresión en plantas monocotiledóneas. La traducción en una secuencia de aminoácidos se indica en SEQ ID N° 4. La toxina que codifica el segmento consiste en los nucleótidos entre aproximadamente la posición 1 y aproximadamente la posición 1830, en forma aproximada.

Las secuencias de nucleótidos indicadas en SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3 son
 5 equivalentes sustanciales una de otra. SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3 presentan una identidad general de aproximadamente 94,3%. Las dos secuencias codificantes son idénticas entre aproximadamente el nucleótido en la posición 1330 y el nucleótido en la posición 3534. La porción de cada secuencia que codifica la toxina consiste en entre
 0 aproximadamente el nucleótido en la posición 1 y el nucleótido en la posición 1830, y estos segmentos presentan aproximadamente 88,9% de identidad uno con otro. Las diferencias sustanciales entre las dos secuencias están entre aproximadamente el nucleótido en la posición 1 y aproximadamente el nucleótido en la posición 1329, o aproximadamente los primeros dos tercios del segmento que codifica la porción tóxica
 5 de la proteína Cry1A.105. Las dos secuencias presentan aproximadamente 84,7% de identidad en este segmento.

Se depositó una cepa de *E. coli* (TOP10, Invitrogen, Inc.) transformada con un plásmido denominado pMON70522, que contenía un marcador de selección de beta-lactamasa y una secuencia indicada en SEQ ID N° 3, que codificaba una proteína
 0 Cry1A.105, el 31 de Agosto de 2005, en la Autoridad de Depósito Internacional de la Colección de Cultivos de Investigación Agrícola (NRRL), en 1815 North University

Street, en Peoria, Illinois 61604, EEUU, de acuerdo con el Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional de Depósitos de Microorganismos para el Propósito de Procedimientos de Patentes, y se la denominó NRRL B-30873.

Ejemplo 2

5 En este ejemplo se ilustran plantas de algodón transgénicas que expresan una proteína Cry1A.105.

Se esterilizaron en forma superficial semillas de algodón Delta y Pineland DP50, y se las hizo germinar durante la noche. Se aislaron explantes de los meristemas, y se retiraron las hojas primarias por micro-disección. Los explantes disectados se colocaron

10 en un medio de direccionamiento, de modo que los meristemas estuvieran orientados de forma perpendicular a la dirección de la administración de partículas. El vector de transformación, pMON47740, comprende un cassette de expresión que tiene una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 9. A partir de este plásmido, se separó un fragmento *KpnI*, que contenía un marcador GUS bajo el control de un promotor e35S

15 y una secuencia codificante Cry1A.105 dirigida al cloroplasto, bajo el control de un promotor eFMV, se lo aisló por HPLC y se lo usó para la transformación con cañón de explantes de meristemas de algodón. El ADN purificado que contenía el cassette de expresión Cry1A.105 y el marcador GUS se hizo precipitar en esferas de oro microscópicas, y se lo aplicó como un recubrimiento sobre una lámina Mylar. El ADN se

20 aceleró en el tejido de meristema a través de una administración por descarga eléctrica bajo un vacío parcial. Después del bombardeo, los explantes se separaron del blanco en un medio libre de hormonas sin un agente de selección. Se tomaron muestras de hojas a partir de plántulas regeneradas, y en ellas se evaluó la expresión del marcador GUS. Las plantas transgénicas que presentaban un nivele elevado de expresión de

25 GUS se enviaron al invernadero para realizar análisis adicionales. En estas plantas se evaluó nuevamente la expresión de GUS, y se podaron las porciones negativas de las plantas. Este ciclo de toma de muestras y poda de tejidos negativos para GUS se repitió hasta que todos los sectores de cada planta fueron positivos para el marcador GUS. Las plantas se mantuvieron posteriormente bajo condiciones de invernadero

30 convencionales hasta que se cosecharon las semillas.

Los tejidos obtenidos a partir de las plantas de algodón transgénicas F1 positivas para GUS se evaluaron en ensayos biológicos, para determinar la actividad insecticida contra la oruga de los copos de algodón (CBW) y la oruga marchadora de otoño (FAW). Se usaron plantas de algodón isogénicas generadas con anterioridad, que expresaban niveles insecticidas de Cry1Ac, o una combinación de Cry1Ac y Cry2Ab, como controles positivos, y se usó una isolínea no transgénica como control negativo.

Se usaron análisis de cuadrados CBW como un medio para determinar la actividad insecticida de las plantas de algodón transgénicas (Adamczyk et al., (2001) J. Econ. Entomol. 94:284-290; Kranthi et al (2005) Current Science 89:291-298). Se recolectaron cuadrados de tejido foliar (con un tamaño similar al de la cabeza o mayor), y se los colocó individualmente en las cavidades de ensayo. Cada cuadrado se infestó con una única larva de tercer estadio de CBW. Se registró la cantidad de insectos sobrevivientes cinco días después de la infestación.

También se usaron ensayos en copos CBW para determinar la actividad insecticida del tejido de copos recolectado a partir de las plantas transgénicas. Se recolectaron 8 copos verdes duros (después del florecimiento) de cada evento, se los colocó en recipientes individuales y se los infestó con larvas de tercer estadio de CBW. Se registró la cantidad de insectos sobrevivientes cinco días después de la infestación.

Se realizaron ensayos en hojas para determinar la actividad insecticida de tejido foliar transgénico contra FAW. Se extrajeron hojas nuevas de terminales de plantas de algodón. Se recolectaron 2 perforaciones de hojas, cada una de aproximadamente 3/4" de diámetro, y se las colocó en cada una de las 16 cavidades de ensayo individuales. Cada cavidad se infestó con una única larva de segundo o tercer estadio de FAW. Se registró la cantidad de insectos sobrevivientes cinco días después de la infestación.

Los resultados de los ensayos biológicos se presentan en la Tabla 1. Los resultados indican que los eventos transgénicos de algodón que expresaban Cry1A.105 presentaron una mayor actividad que los eventos transgénicos que expresaban Cry1Ac o una combinación de Cry1Ac y Cry2Ab contra FAW y CBW.

Tabla 1. Resultados de los ensayos biológicos de FAW y CBW usando tejido vegetal transgénico de algodón.

Planta	FAW (% de supervivencia) (tejido de hoja)	CBW (% de supervivencia) (tejido de cuadrado)	(% de supervivencia) (tejido de copo)
Cry1Ac/Cry2Ab	74,5	32,0	35,8
Cry1Ac	92,7	35,5	35,8
Isolínea	99,6	96,8	54
17238	10,9	9,4	25
17567	0	12,5	12,5
17774	1,6	1,2	0
17875	3,1	4,2	0
18026	1,6	18,8	12,5
18122	7,8	22,9	0

También se evaluaron orugas de los retoños de tabaco y orugas de las mazorcas de maíz en ensayos biológicos similares. En cada caso, las plantas Cry1A.105 también presentaron actividad insecticida contra estas plagas.

Ejemplo 3

En este ejemplo se ilustran plantas de maíz transgénicas que expresan una proteína Cry1A.105.

Se regeneraron plantas de maíz transgénicas a partir de células transformadas con el vector pMON40232. pMON40232 contenía un cassette de expresión que tenía una secuencia de nucleótidos como se indica en SEQ ID N° 7, que contenía, unidos operativamente, un promotor CAMV 35S mejorado, una secuencia directriz de trigo CAB, un intrón 1 de actina de arroz, una secuencia codificante Cry1A.105 y una secuencia de terminación de la transcripción y poliadenilación 3' del gen hsp17 de trigo. Se colocó una secuencia de nucleótidos que codificaba una secuencia de direccionamiento a cloroplasto de EPSPS de *Arabidopsis thaliana* (At.EPSES-CTP2) río arriba y en el mismo marco de lectura con la secuencia codificante Cry1A.105. pMON40232 contiene un gen recombinante que codifica una EPSPS que es insensible

al herbicida glifosato, para usar en la selección de eventos transgénicos. Los eventos transgénicos que surgieron del tejido transformado con pMON40232 se denominaron LAJ 105. En los eventos transgénicos se evaluó la ausencia de cualquier esqueleto vector, la presencia de una única secuencia simple insertada y el carácter intacto del cassette de expresión que contenía la secuencia de nucleótidos que codificaba la proteína Cry1A.105.

Se realizaron ensayos biológicos con los eventos que satisficieron las limitaciones del análisis de eventos. En el ensayo, se compararon las plantas de maíz transgénicas LAJ105 con un control negativo isogénico LH198, y con una variedad de control positivo MON810 que expresaba la porción insecticida de una proteína Cry1Ab. Se obtuvieron cinco discos de hojas, cada uno de los cuales tenía aproximadamente un centímetro de diámetro, a partir de cada uno de los 10 eventos transgénicos Cry1A.105 individuales y a partir de los controles. Se colocaron discos de hojas en cavidades rellenas con agar para mantener el material vegetal turgente. Luego se sometieron los discos a alimentación por larvas neonatas de FAW, oruga cortadora negra (BCW), taladro del maíz europeo (ECB), oruga de las mazorcas de maíz (CEW) y taladro del maíz sudoccidental (SWCB). Se aplicó una única larva neonata de FAW, una única larva de CEW, dos BCW neonatas, dos larvas neonatas de SWCB o cuatro larvas neonatas de ECB a cada cavidad. El daño provocado por la alimentación se evaluó después de cuatro días, usando una escala de evaluación del daño foliar (LDR) de 0 a 11, donde 0 indica la ausencia de daño visible debido a la alimentación, 11 indica que al menos 50% del disco ha sido comido, y cada punto de la escala entre 0 y 11 indica un incremento de 5% en el daño causado por la alimentación observado en el disco foliar analizado.

Los resultados del ensayo biológico indicaron que los eventos que expresaban la proteína Cry1A.105 presentaron una mayor actividad insecticida respecto de FAW, ECB y CEW que la LDR presentada por el control Cry1Ab contra las mismas larvas de plagas. Las LDR para estas tres plagas sobre los eventos Cry1A.105 fueron menores que 1, mientras que el control Cry1Ab presentó LDR que variaron entre aproximadamente 8 y aproximadamente 10. La LDR se mantuvo consistentemente entre 1 y 2 para los eventos Cry1A.105 y para el control Cry1Ab cuando se evaluó la

actividad contra SWCB, lo que indica que la proteína Cry1A.105 no fue más tóxica para SWCB que Cry1Ab. Los resultados de este ensayo biológico apoyaron los resultados previos, que indicaron que Cry1Ab no es efectiva para controlar BCW. Los eventos Cry1A.105 no fueron más efectivos contra BCW que el control Cry1Ab. Por consiguiente, a los niveles de expresión de la proteína Cry1A.105 *in planta*, estas plantas serían efectivas para controlar otras plagas de plantas correspondientes a otros géneros de lepidópteros, incluyendo, sin limitaciones, aquellas de los géneros *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*.

REIVINDICACIONES:

1. Una secuencia de nucleótidos aislada que codifica una proteína insecticida que comprende una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600.
- 5 2. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 1, seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3.
3. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 2, para usar en la expresión de dicha proteína insecticida en una planta de cultivo.
4. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 3, donde dicha planta de
10 cultivo se selecciona del grupo que consiste en una planta de cultivo monocotiledónea y una planta de cultivo dicotiledónea.
5. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 4, donde dicha planta monocotiledónea se selecciona del grupo de plantas que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo,
15 vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.
6. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 4, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona del grupo de plantas que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino,
20 cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras.
7. Una proteína insecticida aislada y purificada que comprende una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y
25 el aminoácido en la posición 600.
8. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de la proteína aislada y purificada de la reivindicación 7.
9. Un cassette de expresión para usar en la expresión de una proteína insecticida como se indica en SEQ ID N° 2 en una célula huésped, donde dicho cassette de
30 expresión comprende, unidos operativamente, una secuencia promotora funcional en dicha célula huésped y una secuencia de nucleótidos que codifica dicha proteína.

- 10.El cassette de expresión de la reivindicación 9, donde dicha célula huésped se selecciona del grupo que consiste en una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero y una célula vegetal.
- 11.El cassette de expresión de la reivindicación 10, donde
- 5 (a) 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*; y
- (b) dicha célula vegetal se selecciona del grupo de plantas que consiste en una
- 10 planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga,
- 15 semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto
- 20 quilla) y cebada.
- 12.El cassette de expresión de la reivindicación 9, 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
- 25 secuencia de un intrón, una secuencia que codifica un péptido de direccionamiento al cloroplasto, una secuencia de terminación de transcripción y una secuencia de poliadenilación.
- 13.Un vector que comprende el cassette de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.
- 30 14.Una planta o una célula vegetal transgénica resistente a la infestación por parte de insectos lepidópteros, que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica

una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicha secuencia de aminoácidos presenta actividad insecticida.

- 5 15. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 14, donde dicha planta transgénica se selecciona del grupo que consiste en una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena,
- 10 árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.
- 15 16. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 15, resistente a una infestación por parte de insectos lepidópteros, donde dicho insecto lepidóptero se selecciona del grupo que consiste en un rizador de hojas, una oruga cortadora, una oruga marchadora, un taladro, una oruga de bolsón y un insecto forrajeador.
- 20 17. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 16, donde dicho insecto lepidóptero se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en una oruga marchadora de otoño, un taladro del maíz europeo, una oruga de la mazorca del maíz (igual a una oruga de los copos de algodón), un taladro del maíz sudoccidental y una oruga cortadora negra
- 25 18. Progenie o semillas de la planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 15, donde dicha progenie o dichas semillas comprenden dicha secuencia de nucleótidos.
- 30 19. Un método para controlar una infestación de una planta por parte de insectos lepidópteros, que comprende colocar en la dieta del insecto una o más células vegetales transformadas con una secuencia de ácido nucleico, que comprende, unidos operativamente, un promotor funcional en plantas y una secuencia de

nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, que presenta actividad insecticida contra lepidópteros.

20. El cassette de expresión de la reivindicación 12, que comprende una secuencia de polinucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 5 y SEQ ID N° 7.

21. Un método para identificar una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos Cry1A.105 en una muestra biológica, donde dicho método comprende poner en contacto dicha muestra con un polinucleótido que hibridiza con la secuencia de nucleótidos bajo condiciones de hibridización severas, y detectar la unión de dicho polinucleótido a dicha secuencia de nucleótidos, donde dicha unión sirve como diagnóstico para dicha secuencia de nucleótidos en dicha muestra.

22. Un método para identificar una proteína Cry1A.105 en una muestra, donde dicho método comprende poner en contacto dicha muestra con un anticuerpo que se une específicamente a dicha proteína, y detectar la unión, donde dicha unión sirve como diagnóstico para la presencia de dicha proteína en dicha muestra.

23. Una secuencia de nucleótidos aislada que codifica una proteína insecticida indicada en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 612.

24. Una secuencia de nucleótidos aislada que codifica una proteína insecticida indicada en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 610.

25. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 23, que presenta al menos aproximadamente 90% de identidad con la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1.

26. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 23, que presenta al menos aproximadamente 90% de identidad con la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 3.

27. Una proteína insecticida híbrida que comprende un segmento de aminoácidos, que comprende entre aproximadamente 500 y aproximadamente 600 aminoácidos contiguos seleccionados entre el segmento de aminoácidos indicado en SEQ ID N°

2, entre aproximadamente el aminoácido en la posición 10 y aproximadamente el aminoácido en la posición 600.

28. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de una proteína Cry1A.105, donde dicha composición se selecciona del grupo que consiste en una célula vegetal, una célula bacteriana, una célula fúngica, un coloide, una emulsión, un recubrimiento para semillas, una carnada y un polvo.

29. La composición de la reivindicación 28, donde dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 200 partes por millón (PPM).

30. La composición de la reivindicación 29, donde dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 20 PPM.

31. La composición de la reivindicación 29, donde dicha composición es una célula vegetal o un grupo de células vegetales.

32. La composición de la reivindicación 31, donde la secuencia de nucleótidos que codifica la cantidad efectiva como insecticida de dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad que puede detectarse usando una sonda que es idéntica o complementaria con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1401-1420, y SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1821-1840.

33. La composición de la reivindicación 31, donde dicha cantidad efectiva como insecticida de dicha proteína es suficiente para controlar una plaga de plantas perteneciente a un género de lepidópteros cuando se la incluye en la dieta de dicha plaga, donde dicha plaga se selecciona del grupo que consiste en *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*.

34. Un método para proteger un cultivo en un campo de una infestación de insectos lepidópteros, que comprende cultivar una planta de cultivo transgénica que comprende una cantidad efectiva como insecticida de un agente proteico insecticida Cry1A.105 en la dieta del insecto lepidóptero, a partir de las plantas de cultivo transgénicas sobrevivientes.

35. El método de la reivindicación 34, donde dicha planta de cultivo transgénica comprende 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.
- 5 36. El método de la reivindicación 34 ó 35, 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.

SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS INSECTICIDAS**RESUMEN**

En la presente invención se proveen secuencias de nucleótidos que codifican una proteína insecticida que presenta actividad de inhibición de lepidópteros, así como
5 una nueva proteína insecticida conocida en la presente documentación como insecticida Cry1A.105, plantas transgénicas que expresan el insecticida, y métodos para detectar la presencia de las secuencias de nucleótidos o el insecticida en una muestra biológica.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Monsanto Technology LLC
Bogdanova, Natalia N.
5 Corbin, David R.
Malvar, Thomas M.
Perlak, Frederick J.
Roberts, James K.
Romano, Charles P.
10
<120> SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS
INSECTICIDAS

<130> 38-21 (52905) A
15
<150> 60/713,144
<151> 2005-08-31

<160> 8
20
<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 3534
25 <212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> secuencia de nucleótidos sintética que codifica la secuencia de aminoácidos
30 Cry1A.105

<220>
<221> CDS
35 <222> (1)..(3534)

<400> 1
atg gac aac aac cca aac atc aac gaa tgc att cca tac aac tgc ttg 48
Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu
40 1 5 10 15

agt aac cca gaa gtt gaa gta ctt ggt gga gaa cgc att gaa acc ggt 96
Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly
20 25 30
45
tac act ccc atc gac atc tcc ttg tcc ttg aca cag ttt ctg ctc agc 144
Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser
35 40 45
50 gag ttc gtg cca ggt gct ggg ttc gtt ctc gga cta gtt gac atc atc 192
Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile
50 55 60

tgg ggt atc ttt ggt cca tct caa tgg gat gca ttc ctg gtg caa att 240

Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile
 65 70 75 80
 gag cag ttg atc aac cag agg atc gaa gag ttc gcc agg aac cag gcc 288
 5 Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala
 85 90 95
 atc tct agg ttg gaa gga ttg agc aat ctc tac caa atc tat gca gag 336
 0 Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu
 100 105 110
 agc ttc aga gag tgg gaa gcc gat cct act aac cca gct ctc cgc gag 384
 Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu
 115 120 125
 5 gaa atg cgt att caa ttc aac gac atg aac agc gcc ttg acc aca gct 432
 Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala
 130 135 140
 20 atc cca ttg ttc gca gtc cag aac tac caa gtt cct ctc ttg tcc gtg 480
 Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val
 145 150 155 160
 tac gtt caa gca gct aat ctt cac ctc agc gtg ctt cga gac gtt agc 528
 25 Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser
 165 170 175
 gtg ttt ggg caa agg tgg gga ttc gat gct gca acc atc aat agc cgt 576
 30 Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg
 180 185 190
 tac aac gac ctt act agg ctg att gga aac tac acc gac cac gct gtt 624
 Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val
 195 200 205
 35 cgt tgg tac aac act ggc ttg gag cgt gtc tgg ggt cct gat tct aga 672
 Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg
 210 215 220
 40 gat tgg att aga tac aac cag ttc agg aga gaa ttg acc ctc aca gtt 720
 Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val
 225 230 235 240
 ttg gac att gtg tct ctc ttc ccg aac tat gac tcc aga acc tac cct 768
 45 Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro
 245 250 255
 atc cgt aca gtg tcc caa ctt acc aga gaa atc tat act aac cca gtt 816
 0 Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val
 260 265 270
 ctt gag aac ttc gac ggt agc ttc cgt ggt tct gcc caa ggt atc gaa 864
 Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu
 275 280 285

ggc tcc atc agg agc cca cac ttg atg gac atc ttg aac agc ata act 912
 Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr
 290 295 300

5 atc tac acc gat gct cac aga gga gag tat tac tgg tct gga cac cag 960
 Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln
 305 310 315 320

10 atc atg gcc tct cca gtt gga ttc agc ggg ccc gag ttt acc ttt cct 1008
 Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro
 325 330 335

15 ctc tat gga act atg gga aac gcc gct cca caa caa cgt atc gtt gct 1056
 Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala
 340 345 350

20 caa cta ggt cag ggt gtc tac aga acc ttg tct tcc acc ttg tac aga 1104
 Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg
 355 360 365

25 aga ccc ttc aat atc ggt atc aac aac cag caa ctt tcc gtt ctt gac 1152
 Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp
 370 375 380

gga aca gag ttc gcc tat gga acc tct tct aac ttg cca tcc gct gtt 1200
 Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val
 385 390 395 400

30 tac aga aag agc gga acc gtt gat tcc ttg gac gaa atc cca cca cag 1248
 Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln
 405 410 415

35 aac aac aat gtg cca ccc agg caa gga ttc tcc cac agg ttg agc cac 1296
 Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His
 420 425 430

40 gtg tcc atg ttc cgt tcc gga ttc agc aac agt tcc gtg agc atc atc 1344
 Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile
 435 440 445

45 aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac aac 1392
 Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn
 450 455 460

atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca cat 1440
 Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His
 465 470 475 480

50 aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca gga 1488
 Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly
 485 490 495

gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act att 1536

	Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile	
	500 505 510	
5	ggt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt gca aga atc cgc Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg	1584
	515 520 525	
10	tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt gaa Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu	1632
	530 535 540	
15	agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac cct Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro	1680
	545 550 555 560	
	ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt aca Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr	1728
	565 570 575	
20	ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc agc Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser	1776
	580 585 590	
25	tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt act Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr	1824
	595 600 605	
30	gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct gtg Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val	1872
	610 615 620	
35	aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg aaa act aac gtt Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val	1920
	625 630 635 640	
	act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt agc Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser	1968
	645 650 655	
40	gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc gag aaa gtt aaa Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys	2016
	660 665 670	
45	cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg caa gac tcc aac His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn	2064
	675 680 685	
50	ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc acc Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr	2112
	690 695 700	
	ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac gtc Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val	2160
	705 710 715 720	

acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac cag 2208
 Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
 725 730 735

5 aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt aga 2256
 Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg
 740 745 750

10 ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tcg atc agg tac 2304
 Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr
 755 760 765

15 aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc tgg 2352
 Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp
 770 775 780

20 cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac aga 2400
 Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg
 785 790 795 800

25 tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc agg 2448
 Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg
 805 810 815

gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac atc 2496
 Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile
 820 825 830

30 gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc atc 2544
 Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile
 835 840 845

35 ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt gag 2592
 Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu
 850 855 860

40 ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg aag 2640
 Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
 865 870 875 880

45 aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg gaa 2688
 Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
 885 890 895

act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg ttc 2736
 Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
 900 905 910

50 gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc atg 2784
 Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met
 915 920 925

atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac ttg 2832

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

5 cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag gaa 2880
 Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu
 945 950 955 960

10 ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga aac 2928
 Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn
 965 970 975

15 gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat gtg 2976
 Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val
 980 985 990

aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cgt tcc gtc ctg 3024
 Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu
 995 1000 1005

20 gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga gtc 3069
 Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val
 1010 1015 1020

25 tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag gag 3114
 Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu
 1025 1030 1035

30 gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac aac 3159
 Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn
 1040 1045 1050

35 acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc tat 3204
 Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr
 1055 1060 1065

ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag gaa 3249
 Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu
 1070 1075 1080

40 gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac gaa 3294
 Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu
 1085 1090 1095

45 gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag aaa 3339
 Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys
 1100 1105 1110

50 tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac aga 3384
 Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg
 1115 1120 1125

ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc aag 3429
 Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys
 1130 1135 1140

	gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg tgg atc gag atc	3474
	Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile	
	1145 1150 1155	
5	ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc gtg gag ctt ctc	3519
	Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu	
	1160 1165 1170	
10	ttg atg gag gaa taa	3534
	Leu Met Glu Glu	
	1175	
15	<210> 2	
	<211> 1177	
	<212> PRT	
	<213> artificial	
20	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 2	
25	Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu	
	1 5 10 15	
30	Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly	
	20 25 30	
35	Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser	
	35 40 45	
40	Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile	
	50 55 60	
45	Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile	
	65 70 75 80	
50	Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala	
	85 90 95	
55	Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu	
	100 105 110	
60	Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu	
	115 120 125	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

	Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala
	340 345 350
5	Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg
	355 360 365
10	Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp
	370 375 380
15	Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val
	385 390 395 400
	Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln
	405 410 415
20	Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His
	420 425 430
25	Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile
	435 440 445
30	Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn
	450 455 460
35	Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His
	465 470 475 480
	Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly
	485 490 495
40	Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile
	500 505 510
45	Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg
	515 520 525
50	Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu
	530 535 540
	Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro
	545 550 555 560

Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr
565 570 575
5

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

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

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

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

25 Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
645 650 655

30 Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys
660 665 670

35 His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn
675 680 685

40 Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr
690 695 700

45 Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val
705 710 715 720

50 Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
725 730 735

55 Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg
740 745 750

60 Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr
755 760 765

Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp
 770 775 780

5 Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg
 785 790 795 800

10 Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg
 805 810 815

15 Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile
 820 825 830

Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile
 835 840 845

20 Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu
 850 855 860

25 Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
 865 870 875 880

30 Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
 885 890 895

35 Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
 900 905 910

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

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

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

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

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

	Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu
	995 1000 1005
5	
	Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val
	1010 1015 1020
10	
	Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu
	1025 1030 1035
15	
	Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn
	1040 1045 1050
20	
	Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr
	1055 1060 1065
25	
	Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu
	1070 1075 1080
30	
	Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu
	1085 1090 1095
35	
	Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys
	1100 1105 1110
40	
	Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg
	1115 1120 1125
45	
	Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys
	1130 1135 1140
50	
	Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile
	1145 1150 1155
55	
	Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu
	1160 1165 1170
60	
	Leu Met Glu Glu
	1175

<210> 3
 <211> 3534
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> secuencia de nucleótidos sintética que codifica la secuencia de aminoácidos
 Cry1A.105

10

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3534)

15

<400> 3
 atg gac aac aac cca aac atc aac gag tgc atc ccg tac aac tgc ctc 48
 Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu
 1 5 10 15

20

agc aac cct gag gtc gag gtg ctc ggc ggt gag cgc atc gag acc ggt 96
 Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly
 20 25 30

25

tac acc ccc atc gac atc tcc ctc tcc ctc acg cag ttc ctg ctc agc 144
 Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser
 35 40 45

30

gag ttc gtg cca ggc gct ggc ttc gtc ctg ggc ctc gtg gac atc atc 192
 Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile
 50 55 60

35

tgg ggc atc ttt ggc ccc tcc cag tgg gac gcc ttc ctg gtg caa atc 240
 Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile
 65 70 75 80

40

gag cag ctc atc aac cag agg atc gag gag ttc gcc agg aac cag gcc 288
 Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala
 85 90 95

45

atc agc cgc ctg gag ggc ctc agc aac ctc tac caa atc tac gct gag 336
 Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu
 100 105 110

50

agc ttc cgc gag tgg gag gcc gac ccc act aac cca gct ctc cgc gag 384
 Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu
 115 120 125

gag atg cgc atc cag ttc aac gac atg aac agc gcc ctg acc acc gcc 432
 Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala
 130 135 140

atc cca ctc ttc gcc gtc cag aac tac caa gtc ccg ctc ctg tcc gtg 480
 Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val
 145 150 155 160

	tac gtc cag gcc gcc aac ctg cac ctc agc gtg ctg agg gac gtc agc	528
	Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser	
	165 170 175	
5	gtg ttt ggc cag agg tgg ggc ttc gac gcc gcc acc atc aac agc cgc	576
	Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg	
	180 185 190	
10	tac aac gac ctc acc agg ctg atc ggc aac tac acc gac cac gct gtc	624
	Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val	
	195 200 205	
	cgc tgg tac aac act ggc ctg gag cgc gtc tgg ggc cct gat tct aga	672
15	Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg	
	210 215 220	
	gac tgg att cgc tac aac cag ttc agg cgc gag ctg acc ctc acc gtc	720
	Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val	
20	225 230 235 240	
	ctg gac att gtg tcc ctc ttc ccg aac tac gac tcc cgc acc tac ccg	768
	Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro	
	245 250 255	
25	atc cgc acc gtg tcc caa ctg acc cgc gaa atc tac acc aac ccc gtc	816
	Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val	
	260 265 270	
30	ctg gag aac ttc gac ggt agc ttc agg ggc agc gcc cag ggc atc gag	864
	Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu	
	275 280 285	
	ggc tcc atc agg agc cca cac ctg atg gac atc ctc aac agc atc act	912
35	Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr	
	290 295 300	
	atc tac acc gat gcc cac cgc ggc gag tac tac tgg tcc ggc cac cag	960
	Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln	
40	305 310 315 320	
	atc atg gcc tcc ccg gtc ggc ttc agc ggc ccc gag ttt acc ttt cct	1008
	Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro	
	325 330 335	
45	ctc tac ggc acg atg ggc aac gcc gct cca caa caa cgc atc gtc gct	1056
	Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala	
	340 345 350	
50	cag ctg ggc cag ggc gtc tac cgc acc ctg agc tcc acc ctg tac cgc	1104
	Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg	
	355 360 365	
	agg ccc ttc aac atc ggt atc aac aac cag cag ctg tcc gtc ctg gat	1152

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

5 ggc act gag ttc gcc tac ggc acc tcc tcc aac ctg ccc tcc gct gtc 1200
 Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val
 385 390 395 400

10 tac cgc aag agc ggc acg gtg gat tcc ctg gac gag atc cca cca cag 1248
 Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln
 405 410 415

15 aac aac aat gtg ccc ccc agg cag ggt ttt tcc cac agg ctc agc cac 1296
 Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His
 420 425 430

gtg tcc atg ttc cgc tcc ggc ttc agc aac tcg tcc gtg agc atc atc 1344
 Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile
 435 440 445

20 aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac aac 1392
 Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn
 450 455 460

25 atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca cat 1440
 Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His
 465 470 475 480

30 aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca gga 1488
 Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly
 485 490 495

35 gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act att 1536
 Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile
 500 505 510

gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt gca aga atc cgc 1584
 Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg
 515 520 525

40 tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt gaa 1632
 Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu
 530 535 540

45 agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac cct 1680
 Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro
 545 550 555 560

50 ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt aca 1728
 Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr
 565 570 575

ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc agc 1776
 Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser
 580 585 590

tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt act 1824
 Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr
 595 600 605
 5 gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct gtg 1872
 Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val
 610 615 620
 10 aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg aaa act aac gtt 1920
 Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val
 625 630 635 640
 15 act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt agc 1968
 Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
 645 650 655
 20 gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc gag aaa gtt aaa 2016
 Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys
 660 665 670
 25 cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg caa gac tcc aac 2064
 His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn
 675 680 685
 30 ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc acc 2112
 Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr
 690 695 700
 35 ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac gtc 2160
 Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val
 705 710 715 720
 40 acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac cag 2208
 Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
 725 730 735
 45 aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt aga 2256
 Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg
 740 745 750
 50 ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tgc atc agg tac 2304
 Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr
 755 760 765
 55 aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc tgg 2352
 Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp
 770 775 780
 60 cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac aga 2400
 Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg
 785 790 795 800
 65 tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc agg 2448

Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg
 805 810 815

5 gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac atc 2496
 Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile
 820 825 830

10 gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc atc 2544
 Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile
 835 840 845

15 ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt gag 2592
 Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu
 850 855 860

20 ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg aag 2640
 Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
 865 870 875 880

25 aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg gaa 2688
 Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
 885 890 895

30 act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg ttc 2736
 Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
 900 905 910

35 gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc atg 2784
 Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met
 915 920 925

40 atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac ttg 2832
 Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu
 930 935 940

45 cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag gaa 2880
 Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu
 945 950 955 960

50 ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga aac 2928
 Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn
 965 970 975

55 gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat gtg 2976
 Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val
 980 985 990

60 aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cgt tcc gtc ctg 3024
 Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu
 995 1000 1005

65 gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga gtc 3069
 Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val
 1010 1015 1020

tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag gag 3114
 Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu
 1025 1030 1035

5

gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac aac 3159
 Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn
 1040 1045 1050

10

acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc tat 3204
 Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr
 1055 1060 1065

15

ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag gaa 3249
 Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln Glu
 1070 1075 1080

20

gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac gaa 3294
 Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn Glu
 1085 1090 1095

25

gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag aaa 3339
 Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu Lys
 1100 1105 1110

30

tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac aga 3384
 Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn Arg
 1115 1120 1125

35

ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc aag 3429
 Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr Lys
 1130 1135 1140

40

gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg tgg atc gag atc 3474
 Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu Ile
 1145 1150 1155

45

ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc gtg gag ctt ctc 3519
 Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu Leu
 1160 1165 1170

50

ttg atg gag gaa taa 3534
 Leu Met Glu Glu
 1175

<210> 4
 <211> 1177
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 4

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile Ile
 435 440 445
 5
 Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn Asn
 450 455 460
 0
 Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His
 465 470 475 480
 5 Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr Gly
 485 490 495
 10 Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr Ile
 500 505 510
 15 Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile Arg
 515 520 525
 Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly Glu
 530 535 540
 20 Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro
 545 550 555 560
 25 Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr
 565 570 575
 30 Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe Ser
 580 585 590
 35 Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val Thr
 595 600 605
 40 Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val
 610 615 620
 45 Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val
 625 630 635 640

Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
645 650 655

5 Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys
660 665 670

10 His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn
675 680 685

Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr
690 695 700

15 Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val
705 710 715 720

20 Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln
725 730 735

25 Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg
740 745 750

30 Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr
755 760 765

Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp
770 775 780

35 Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg
785 790 795 800

40 Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg
805 810 815

45 Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile
820 825 830

50 Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile
835 840 845

Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu
850 855 860

Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
 865 870 875 880
 5
 Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
 885 890 895
 0
 Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
 900 905 910
 5 Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala Met
 915 920 925
 0 Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr Leu
 930 935 940
 5 Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu Glu
 945 950 955 960
 0 Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg Asn
 965 970 975
 0 Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn Val
 980 985 990
 5 Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val Leu
 995 1000 1005
 0 Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg Val
 1010 1015 1020
 5 Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys Glu
 1025 1030 1035
 0 Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn
 1040 1045 1050
 0 Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile Tyr
 1055 1060 1065

	Pro Asn	Asn Thr Val Thr Cys	Asn Asp Tyr Thr Val	Asn Gln Glu
	1070	1075	1080	
5	Glu Tyr	Gly Gly Ala Tyr Thr	Ser Arg Asn Arg Gly	Tyr Asn Glu
	1085	1090	1095	
10	Ala Pro	Ser Val Pro Ala Asp	Tyr Ala Ser Val Tyr	Glu Glu Lys
	1100	1105	1110	
15	Ser Tyr	Thr Asp Gly Arg Arg	Glu Asn Pro Cys Glu	Phe Asn Arg
	1115	1120	1125	
	Gly Tyr	Arg Asp Tyr Thr Pro	Leu Pro Val Gly Tyr	Val Thr Lys
	1130	1135	1140	
20	Glu Leu	Glu Tyr Phe Pro Glu	Thr Asp Lys Val Trp	Ile Glu Ile
	1145	1150	1155	
25	Gly Glu	Thr Glu Gly Thr Phe	Ile Val Asp Ser Val	Glu Leu Leu
	1160	1165	1170	
30	Leu Met	Glu Glu		
	1175			
35	<210>	5		
	<211>	5480		
	<212>	ADN		
	<213>	artificial		
40	<220>			
	<223>	cassette de expresión que codifica la secuencia de aminoácidos Cry1A.105		
	<220>			
	<221>	promotor		
	<222>	(1)..(981)		
45	<223>	promotor FMV.e35S		
	<220>			
	<221>	5'UTR		
	<222>	(985)..(1080)		
50	<220>			
	<221>	péptido_de_tránsito		
	<222>	(1090)..(1263)		
	<223>	secuencia de péptido de direccionamiento al cloroplasto		

<220>
 <221> CDS
 <222> (1267)..(4797)
 5 <223> secuencia codificante de Cry1A.105

<220>
 <221> terminador
 <222> (4833)..(5480)
 0 <223> secuencia de terminación de la transcripción y poliadenilación Ps.E9 rbcS

<400> 5
 aattctcagt ccaaagcctc aacaaggta gggtagagag tctccaaacc attagccaaa 60
 5 agctacagga gatcaatgaa gaattctcaa tcaaagtaaa ctactgttcc agcacatgca 120
 tcatggtcag taagtttcag aaaaagacat ccaccgaaga cttaaagtta gtgggcatct 180
 ttgaaagtaa tcttgtaac atcgagcagc tggcttgtgg ggaccagaca aaaaaggaat 240
 10 ggtgcagaat tgtaggcgc acctaccaa agcatctttg cctttattgc aaagataaag 300
 cagattcctc tagtacaagt ggggaacaaa ataacgtgga aaagagctgt cctgacagcc 360
 15 cactactaa tgcgtatgac gaacgcagtg acgaccacaa aagaattagc ttgagctcag 420
 gatttagcag cattccagat tgggttcaat caacaaggta cgagccatat cactttattc 480
 aaattggtat cgccaaaacc aagaaggaac tccatcctc aaaggtttgt aaggaagaat 540
 0 tctcagtcca aagcctcaac aaggtcaggg tacagagtct ccaaaccatt agccaaaagc 600
 tacaggagat caatgaagaa tcttcaatca aagtaaacta ctgttcagc acatgcatca 660
 15 tggtcagtaa gttcagaaa aagacatcca ccgaagactt aaagttagtg ggcatctttg 720
 aaagtaatct tgtcaacatc gagcagctgg ctgtgggga ccagacaaaa aaggaatggt 780
 gcagaattgt taggcgcacc taccaaaagc atcttgcct ttattgcaa gataaagcag 840
 0 attcctctag tacaagtggg gaacaaaata acgtggaaaa gagctgtcct gacagcccac 900
 tcaactatgc gtatgacgaa cgcagtacg accacaaaag aattccctct atataagaag 960
 5 gcattcattc ccattgaag gacacagaaa aatttgctac attgtttcac aaactcaaa 1020
 tattattcat ttattgtca gcttcaaac tcttgtttc ttgttgtg attgagaata 1080
 tttaaacaac tggcttctc tatgtctct tccgtacta tggttgcctc tccggctcag 1140
 0 gccactatgg tcgtccttt caacggactt aagtctccg ctgcctccc agccaccgc 1200
 aaggctaaca acgacattac ttccatcaca agcaacggcg gaagagttaa ctgcatgcag 1260

gccatg gac aac aac cca aac atc aac gaa tgc att cca tac aac tgc 1308
 Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys
 1 5 10

5 ttg agt aac cca gaa gtt gaa gta ctt ggt gga gaa cgc att gaa acc 1356
 Leu Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr
 15 20 25 30

10 ggt tac act ccc atc gac atc tcc ttg tcc ttg aca cag ttt ctg ctc 1404
 Gly Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu
 35 40 45

15 agc gag ttc gtg cca ggt gct ggg ttc gtt ctc gga cta gtt gac atc 1452
 Ser Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile
 50 55 60

20 atc tgg ggt atc ttt ggt cca tct caa tgg gat gca ttc ctg gtg caa 1500
 Ile Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln
 65 70 75

att gag cag ttg atc aac cag agg atc gaa gag ttc gcc agg aac cag 1548
 Ile Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln
 80 85 90

25 gcc atc tct agg ttg gaa gga ttg agc aat ctc tac caa atc tat gca 1596
 Ala Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala
 95 100 105 110

30 gag agc ttc aga gag tgg gaa gcc gat cct act aac cca gct ctc cgc 1644
 Glu Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg
 115 120 125

35 gag gaa atg cgt att caa ttc aac gac atg aac agc gcc ttg acc aca 1692
 Glu Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr
 130 135 140

40 gct atc cca ttg ttc gca gtc cag aac tac caa gtt cct ctc ttg tcc 1740
 Ala Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser
 145 150 155

gtg tac gtt caa gca gct aat ctt cac ctc agc gtg ctt cga gac gtt 1788
 Val Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val
 160 165 170

45 agc gtg ttt ggg caa agg tgg gga ttc gat gct gca acc atc aat agc 1836
 Ser Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser
 175 180 185 190

50 cgt tac aac gac ctt act agg ctg att gga aac tac acc gac cac gct 1884
 Arg Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala
 195 200 205

gtt cgt tgg tac aac act ggc ttg gag cgt gtc tgg ggt cct gat tct 1932
 Val Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser

	210	215	220	
	aga gat tgg att aga tac aac cag ttc agg aga gaa ttg acc ctc aca			1980
5	Arg Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr			
	225	230	235	
	ggt ttg gac att gtg tct ctc ttc ccg aac tat gac tcc aga acc tac			2028
	Val Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr			
10	240	245	250	
	cct atc cgt aca gtg tcc caa ctt acc aga gaa atc tat act aac cca			2076
	Pro Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro			
	255	260	265	270
15	ggt ctt gag aac ttc gac ggt agc ttc cgt ggt tct gcc caa ggt atc			2124
	Val Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile			
	275	280	285	
	gaa ggc tcc atc agg agc cca cac ttg atg gac atc ttg aac agc ata			2172
20	Glu Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile			
	290	295	300	
	act atc tac acc gat gct cac aga gga gag tat tac tgg tct gga cac			2220
25	Thr Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His			
	305	310	315	
	cag atc atg gcc tct cca gtt gga ttc agc ggg ccc gag ttt acc ttt			2268
	Gln Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe			
30	320	325	330	
	cct ctc tat gga act atg gga aac gcc gct cca caa caa cgt atc gtt			2316
	Pro Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val			
	335	340	345	350
35	gct caa cta ggt cag ggt gtc tac aga acc ttg tct tcc acc ttg tac			2364
	Ala Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr			
	355	360	365	
	aga aga ccc ttc aat atc ggt atc aac aac cag caa ctt tcc gtt ctt			2412
40	Arg Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu			
	370	375	380	
	gac gga aca gag ttc gcc tat gga acc tct tct aac ttg cca tcc gct			2460
45	Asp Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala			
	385	390	395	
	ggt tac aga aag agc gga acc gtt gat tcc ttg gac gaa atc cca cca			2508
	Val Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro			
50	400	405	410	
	cag aac aac aat gtg cca ccc agg caa gga ttc tcc cac agg ttg agc			2556
	Gln Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser			
	415	420	425	430

cac gtg tcc atg ttc cgt tcc gga ttc agc aac agt tcc gtg agc atc 2604
 His Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser Val Ser Ile
 435 440 445

5 atc aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct gag ttc aac 2652
 Ile Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala Glu Phe Asn
 450 455 460

10 aac atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg gtg aaa gca 2700
 Asn Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala
 465 470 475

15 cat aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca ggg ttt aca 2748
 His Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro Gly Phe Thr
 480 485 490

20 gga gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt gct tac act 2796
 Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe Ala Tyr Thr
 495 500 505 510

att gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt gca aga atc 2844
 Ile Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg Ala Arg Ile
 515 520 525

25 cgc tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act gtt gca ggt 2892
 Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr Val Ala Gly
 530 535 540

30 gaa agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat acc ggt gac 2940
 Glu Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp
 545 550 555

35 cct ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac aca gct ttt 2988
 Pro Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe
 560 565 570

40 aca ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct gac act ttc 3036
 Thr Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala Asp Thr Phe
 575 580 585 590

agc tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg att cca gtt 3084
 Ser Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu Ile Pro Val
 595 600 605

45 act gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc cag aag gct 3132
 Thr Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala
 610 615 620

50 gtg aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg aaa act aac 3180
 Val Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn
 625 630 635

gtt act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc acc tac ctt 3228
 Val Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu

	640	645	650	
	agc gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc gag aaa gtt			3276
	Ser Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val			
5	655	660	665	670
	aaa cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg caa gac tcc			3324
	Lys His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser			
		675	680	685
0	aac ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg ggt gga agc			3372
	Asn Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser			
		690	695	700
5	acc ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag gag aac tac			3420
	Thr Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr			
		705	710	715
	gtc acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc tac ttg tac			3468
10	Val Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr			
		720	725	730
	cag aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg tat caa ctt			3516
	Gln Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu			
15	735	740	745	750
	aga ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac tcg atc agg			3564
	Arg Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg			
		755	760	765
30	tac aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act ggt tcc ctc			3612
	Tyr Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu			
		770	775	780
15	tgg cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga gag cct aac			3660
	Trp Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn			
		785	790	795
	aga tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac tgc tcc tgc			3708
40	Arg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys			
		800	805	810
	agg gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc tcc ttg gac			3756
	Arg Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp			
15	815	820	825	830
	atc gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga gtc tgg gtc			3804
	Ile Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val			
		835	840	845
40	atc ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt ggc aac ctt			3852
	Ile Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu			
		850	855	860

gag ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc gct cgt gtg 3900
 Glu Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val
 865 870 875

5 aag aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa ctc gaa tgg 3948
 Lys Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp
 880 885 890

0 gaa act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg gat gct ttg 3996
 Glu Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu
 895 900 905 910

5 ttc gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc aac atc gcc 4044
 Phe Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr Asn Ile Ala
 915 920 925

0 atg atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt gag gct tac 4092
 Met Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg Glu Ala Tyr
 930 935 940

0 ttg cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc atc ttc gag 4140
 Leu Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala Ile Phe Glu
 945 950 955

5 gaa ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac gat gcc aga 4188
 Glu Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr Asp Ala Arg
 960 965 970

0 aac gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc tgc tgg aat 4236
 Asn Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser Cys Trp Asn
 975 980 985 990

5 gtg aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag cgt tcc gtc 4284
 Val Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln Arg Ser Val
 995 1000 1005

0 ctg gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa gag gtt aga 4329
 Leu Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln Glu Val Arg
 1010 1015 1020

0 gtc tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc gct tac aag 4374
 Val Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr Ala Tyr Lys
 1025 1030 1035

5 gag gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag atc gag aac 4419
 Glu Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn
 1040 1045 1050

0 aac acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag gaa gaa atc 4464
 Asn Thr Asp Glu Leu Lys Phe Ser Asn Cys Val Glu Glu Glu Ile
 1055 1060 1065

0 tat ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act gtg aat cag 4509
 Tyr Pro Asn Asn Thr Val Thr Cys Asn Asp Tyr Thr Val Asn Gln

	1070	1075	1080	
	gaa gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga ggt tac aac			4554
	Glu Glu Tyr Gly Gly Ala Tyr Thr Ser Arg Asn Arg Gly Tyr Asn			
5	1085	1090	1095	
	gaa gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtg tac gag gag			4599
	Glu Ala Pro Ser Val Pro Ala Asp Tyr Ala Ser Val Tyr Glu Glu			
10	1100	1105	1110	
	aaa tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc gag ttc aac			4644
	Lys Ser Tyr Thr Asp Gly Arg Arg Glu Asn Pro Cys Glu Phe Asn			
	1115	1120	1125	
15	aga ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc tat gtt acc			4689
	Arg Gly Tyr Arg Asp Tyr Thr Pro Leu Pro Val Gly Tyr Val Thr			
	1130	1135	1140	
	aag gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg tgg atc gag			4734
20	Lys Glu Leu Glu Tyr Phe Pro Glu Thr Asp Lys Val Trp Ile Glu			
	1145	1150	1155	
	atc ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc gtg gag ctt			4779
	Ile Gly Glu Thr Glu Gly Thr Phe Ile Val Asp Ser Val Glu Leu			
25	1160	1165	1170	
	ctc ttg atg gag gaa taa tgagatccac gatacctgc aggaattggc			4827
	Leu Leu Met Glu Glu			
	1175			
30	cggccagctt tcgttcgtat catcggttc gacaacgttc gtcaagttca atgcatcagt			4887
	ttcattgcgc acacaccaga atcctactga gtttgagtat tatggcattg ggaaaactgt			4947
35	ttttcttgta ccatttggtg tgcttgtaat ttactgtgtt tttattcgg ttttcgctat			5007
	cgaactgtga aatggaaatg gatggagaag agttaatgaa tgatatggtc cttttgttca			5067
	ttctcaaatt aatattattt gtttttctc ttatttggtg tgtgttgaat ttgaaattat			5127
40	aagagatatg caaacatttt gttttgagta aaaatgtgtc aaatcgtggc ctctaagac			5187
	cgaagttaat atgaggagta aaacacttgt agttgtacca ttatgcttat tcactaggca			5247
45	acaaatatat ttccagacct agaaaagctg caaatgttac tgaatacaag tatgtcctct			5307
	tgtgttttag acatttatgg actttccttt atgtaatttt ccagaatcct tgcagattc			5367
	taatcattgc ttataatta tagttatact catggatttg tagttgagta tgaaaatatt			5427
50	tttaatgca tttatgact tgccaatga ttgacaacat gcatcaatcg acc			5480

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala Gln Lys Ala Val Asn

	610	615	620
5	Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val Thr 625 630 635 640		
10	Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser Asp 645 650 655		
	Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser Glu Lys Val Lys His 660 665 670		
15	Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Ser Asn Phe 675 680 685		
20	Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp Gly Gly Ser Thr Gly 690 695 700		
25	Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys Glu Asn Tyr Val Thr 705 710 715 720		
30	Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr Tyr Leu Tyr Gln Lys 725 730 735		
35	Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg Tyr Gln Leu Arg Gly 740 745 750		
40	Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr Ser Ile Arg Tyr Asn 755 760 765		
45	Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr Gly Ser Leu Trp Pro 770 775 780		
50	Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly Glu Pro Asn Arg Cys 785 790 795 800		
	Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp Cys Ser Cys Arg Asp 805 810 815		
	Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe Ser Leu Asp Ile Asp 820 825 830		

Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly Val Trp Val Ile Phe
835 840 845

5 Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu Gly Asn Leu Glu Phe
850 855 860

10 Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys Arg
865 870 875 880

15 Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu Thr
885 890 895

20 Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe Val
900 905 910

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu Ile Glu Asn Asn Thr

	1040		1045		1050
5	Asp Glu	Leu Lys Phe Ser Asn	Cys Val Glu Glu Glu	Ile Tyr Pro	
	1055	1060	1065		
0	Asn Asn	Thr Val Thr Cys Asn	Asp Tyr Thr Val Asn	Gln Glu Glu	
	1070	1075	1080		
5	Tyr Gly	Gly Ala Tyr Thr Ser	Arg Asn Arg Gly Tyr	Asn Glu Ala	
	1085	1090	1095		
0	Pro Ser	Val Pro Ala Asp Tyr	Ala Ser Val Tyr Glu	Glu Lys Ser	
	1100	1105	1110		
5	Tyr Thr	Asp Gly Arg Arg Glu	Asn Pro Cys Glu Phe	Asn Arg Gly	
	1115	1120	1125		
0	Tyr Arg	Asp Tyr Thr Pro Leu	Pro Val Gly Tyr Val	Thr Lys Glu	
	1130	1135	1140		
5	Leu Glu	Tyr Phe Pro Glu Thr	Asp Lys Val Trp Ile	Glu Ile Gly	
	1145	1150	1155		
0	Glu Thr	Glu Gly Thr Phe Ile	Val Asp Ser Val Glu	Leu Leu Leu	
	1160	1165	1170		
5	Met Glu	Glu			
	1175				
0	<210>	7			
	<211>	4990			
	<212>	ADN			
	<213>	artificial			
5	<220>				
	<223>	cassette de expresión que codifica la secuencia de aminoácidos Cry1A.105			
0	<220>				
	<221>	promotor			
	<222>	(1)..(614)			
	<223>	promotor CAMV e35s			
	<220>				

<221> 5'UTR
 <222> (650)..(710)
 <220>
 5 <221> Intrón
 <222> (727)..(1206)
 <223> rice actin intron RACT1
 <220>
 0 <221> CDS
 <222> (1216)..(4752)
 <223> secuencia codificante de Cry1A.105
 <220>
 5 <221> terminador
 <222> (4781)..(4990)
 <223> secuencia de terminación de la transcripción y poliadenilación Ta.Hsp17
 <400> 7
 0 ggtccgatgt gagacttttc aacaaagggt aatatccgga aacctcctcg gattccattg 60
 ccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaaaag gaagggtggct cctacaaatg 120
 ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtggtcccaa 180
 5 agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttcaa ccacgtcttc 240
 aaagcaagtg gattgatgtg atgggccgat gtgagacttt tcaacaaagg gtaatatccg 300
 0 gaaacctcct cggattccat tgcccagcta tctgtcactt tattgtgaag atagtggaaa 360
 aggaaggtgg ctctacaaa tgccatcatt gcgataaagg aaaggccatc gttgaagatg 420
 cctctgccga cagtggtccc aaagatggac cccacccac gaggagcatc gtggaaaaag 480
 5 aagacgttcc aaccacgtct tcaaagcaag tggattgatg tgatatctcc actgacgtaa 540
 gggatgacgc acaatccac tatecttcgc aagacccttc ctctatataa ggaagttcat 600
 0 ttcatltgga gaggacacgc tgacaagctg actctagcag atcctctaga accatcttcc 660
 acacactcaa gccacactat tggagaacac acagggacaa cacaccataa gatccaaggg 720
 aggcctccgc cgcgcgggt aaccaccccg cccctcctct cttctttct cggtttttt 780
 5 ttccgtctcg gtctcgatct ttggccttgg tagtttgggt gggcgagagg cggcttcgtg 840
 cgcgccaga tcggtgcgcg ggaggggagg gatctgcgg ctggggctct cgcggcgctg 900
 0 gatccggccc ggatctcgcg ggaatgggg ctctcggatg tagatctcg atccgccgtt 960
 gttgggggag atgatggggg gtttaaaatt tccgccgtgc taaacaagat caggaagagg 1020
 ggaaaagggc actatggttt atattttat atatttctgc tgcttcgtca ggcttagatg 1080

tgctagatct ttctttcttc ttttgtggg tagaattga atccctcagc attgttcac 1140
 ggtagtttt ctttcatga tttgtgacaa atgcagcctc gtgcggagct tttttagg 1200
 5 tagaagtgat caacc atg gac aac aac cca aac atc aac gag tgc atc ccg 1251
 Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro
 1 5 10
 0 tac aac tgc ctc agc aac cct gag gtc gag gtg ctc ggc ggt gag cgc 1299
 Tyr Asn Cys Leu Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg
 15 20 25
 atc gag acc ggt tac acc ccc atc gac atc tcc ctc tcc ctc acg cag 1347
 5 Ile Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln
 30 35 40
 ttc ctg ctc agc gag ttc gtg cca ggc gct ggc ttc gtc ctg ggc ctc 1395
 Phe Leu Leu Ser Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu
 0 45 50 55 60
 gtg gac atc atc tgg ggc atc ttt ggc ccc tcc cag tgg gac gcc ttc 1443
 Val Asp Ile Ile Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe
 65 70 75
 5 ctg gtg caa atc gag cag ctc atc aac cag agg atc gag gag ttc gcc 1491
 Leu Val Gln Ile Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala
 80 85 90
 0 agg aac cag gcc atc agc cgc ctg gag ggc ctc agc aac ctc tac caa 1539
 Arg Asn Gln Ala Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln
 95 100 105
 atc tac gct gag agc ttc cgc gag tgg gag gcc gac ccc act aac cca 1587
 5 Ile Tyr Ala Glu Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro
 110 115 120
 gct ctc cgc gag gag atg cgc atc cag ttc aac gac atg aac agc gcc 1635
 Ala Leu Arg Glu Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala
 0 125 130 135 140
 ctg acc acc gcc atc cca ctc ttc gcc gtc cag aac tac caa gtc ccg 1683
 Leu Thr Thr Ala Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro
 145 150 155
 5 ctc ctg tcc gtg tac gtc cag gcc gcc aac ctg cac ctc agc gtg ctg 1731
 Leu Leu Ser Val Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu
 160 165 170
 0 agg gac gtc agc gtg ttt ggc cag agg tgg ggc ttc gac gcc gcc acc 1779
 Arg Asp Val Ser Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr
 175 180 185
 atc aac agc cgc tac aac gac ctc acc agg ctg atc ggc aac tac acc 1827

Ile Asn Ser Arg Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr
 190 195 200

5 gac cac gct gtc cgc tgg tac aac act ggc ctg gag cgc gtc tgg ggc 1875
 Asp His Ala Val Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly
 205 210 215 220

0 cct gat tct aga gac tgg att cgc tac aac cag ttc agg cgc gag ctg 1923
 Pro Asp Ser Arg Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu
 225 230 235

5 acc ctc acc gtc ctg gac att gtg tcc ctc ttc ccg aac tac gac tcc 1971
 Thr Leu Thr Val Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser
 240 245 250

cgc acc tac ccg atc cgc acc gtg tcc caa ctg acc cgc gaa atc tac 2019
 Arg Thr Tyr Pro Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr
 255 260 265

20 acc aac ccc gtc ctg gag aac ttc gac ggt agc ttc agg ggc agc gcc 2067
 Thr Asn Pro Val Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala
 270 275 280

25 cag ggc atc gag ggc tcc atc agg agc cca cac ctg atg gac atc ctc 2115
 Gln Gly Ile Glu Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu
 285 290 295 300

30 aac agc atc act atc tac acc gat gcc cac cgc ggc gag tac tac tgg 2163
 Asn Ser Ile Thr Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp
 305 310 315

35 tcc ggc cac cag atc atg gcc tcc ccg gtc ggc ttc agc ggc ccc gag 2211
 Ser Gly His Gln Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu
 320 325 330

ttt acc ttt cct ctc tac ggc acg atg ggc aac gcc gct cca caa caa 2259
 Phe Thr Phe Pro Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln
 335 340 345

40 cgc atc gtc gct cag ctg ggc cag ggc gtc tac cgc acc ctg agc tcc 2307
 Arg Ile Val Ala Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser
 350 355 360

45 acc ctg tac cgc agg ccc ttc aac atc ggt atc aac aac cag cag ctg 2355
 Thr Leu Tyr Arg Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu
 365 370 375 380

50 tcc gtc ctg gat ggc act gag ttc gcc tac ggc acc tcc tcc aac ctg 2403
 Ser Val Leu Asp Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu
 385 390 395

ccc tcc gct gtc tac cgc aag agc ggc acg gtg gat tcc ctg gac gag 2451
 Pro Ser Ala Val Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu
 400 405 410

atc cca cca cag aac aac aat gtg ccc ccc agg cag ggt ttt tcc cac 2499
 Ile Pro Pro Gln Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His
 415 420 425
 5 agg ctc agc cac gtg tcc atg ttc cgc tcc ggc ttc agc aac tcg tcc 2547
 Arg Leu Ser His Val Ser Met Phe Arg Ser Gly Phe Ser Asn Ser Ser
 430 435 440
 0 gtg agc atc atc aga gct cct atg ttc tct tgg ata cac cgt agt gct 2595
 Val Ser Ile Ile Arg Ala Pro Met Phe Ser Trp Ile His Arg Ser Ala
 445 450 455 460
 5 gag ttc aac aac atc att gca tcc gac agc att act caa ata ccc ttg 2643
 Glu Phe Asn Asn Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu
 465 470 475
 20 gtg aaa gca cat aca ctt cag tca ggt act act gtt gtc aga ggt cca 2691
 Val Lys Ala His Thr Leu Gln Ser Gly Thr Thr Val Val Arg Gly Pro
 480 485 490
 25 ggg ttt aca gga gga gac att ctt cgt cgc aca agt gga gga ccc ttt 2739
 Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Ser Gly Gly Pro Phe
 495 500 505
 30 gct tac act att gtt aac atc aat ggc caa ttg ccc caa agg tat cgt 2787
 Ala Tyr Thr Ile Val Asn Ile Asn Gly Gln Leu Pro Gln Arg Tyr Arg
 510 515 520
 35 gca aga atc cgc tat gcc tct act aca aat ctc agg atc tac gtg act 2835
 Ala Arg Ile Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Asn Leu Arg Ile Tyr Val Thr
 525 530 535 540
 40 gtt gca ggt gaa agg atc ttt gct ggt cag ttc aac aag act atg gat 2883
 Val Ala Gly Glu Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp
 545 550 555
 45 acc ggt gac cct ttg aca ttc caa tct ttt agc tac gca act atc aac 2931
 Thr Gly Asp Pro Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn
 560 565 570
 50 aca gct ttt aca ttc cca atg agc cag agt agc ttc aca gta ggt gct 2979
 Thr Ala Phe Thr Phe Pro Met Ser Gln Ser Ser Phe Thr Val Gly Ala
 575 580 585
 55 gac act ttc agc tca ggg aat gaa gtt tac atc gac agg ttt gaa ttg 3027
 Asp Thr Phe Ser Ser Gly Asn Glu Val Tyr Ile Asp Arg Phe Glu Leu
 590 595 600
 60 att cca gtt act gca acc ctc gag gct gag tac aac ctt gag aga gcc 3075
 Ile Pro Val Thr Ala Thr Leu Glu Ala Glu Tyr Asn Leu Glu Arg Ala
 605 610 615 620
 65 cag aag gct gtg aac gcc ctc ttt acc tcc acc aat cag ctt ggc ttg 3123

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

5 aaa act aac gtt act gac tat cac att gac caa gtg tcc aac ttg gtc 3171
Lys Thr Asn Val Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val
640 645 650

0 acc tac ctt agc gat gag ttc tgc ctc gac gag aag cgt gaa ctc tcc 3219
Thr Tyr Leu Ser Asp Glu Phe Cys Leu Asp Glu Lys Arg Glu Leu Ser
655 660 665

5 gag aaa gtt aaa cac gcc aag cgt ctc agc gac gag agg aat ctc ttg 3267
Glu Lys Val Lys His Ala Lys Arg Leu Ser Asp Glu Arg Asn Leu Leu
670 675 680

caa gac tcc aac ttc aaa gac atc aac agg cag cca gaa cgt ggt tgg 3315
Gln Asp Ser Asn Phe Lys Asp Ile Asn Arg Gln Pro Glu Arg Gly Trp
685 690 695 700

0 ggt gga agc acc ggg atc acc atc caa gga ggc gac gat gtg ttc aag 3363
Gly Gly Ser Thr Gly Ile Thr Ile Gln Gly Gly Asp Asp Val Phe Lys
705 710 715

5 gag aac tac gtc acc ctc tcc gga act ttc gac gag tgc tac cct acc 3411
Glu Asn Tyr Val Thr Leu Ser Gly Thr Phe Asp Glu Cys Tyr Pro Thr
720 725 730

0 tac ttg tac cag aag atc gat gag tcc aaa ctc aaa gcc ttc acc agg 3459
Tyr Leu Tyr Gln Lys Ile Asp Glu Ser Lys Leu Lys Ala Phe Thr Arg
735 740 745

5 tat caa ctt aga ggc tac atc gaa gac agc caa gac ctt gaa atc tac 3507
Tyr Gln Leu Arg Gly Tyr Ile Glu Asp Ser Gln Asp Leu Glu Ile Tyr
750 755 760

tcg atc agg tac aat gcc aag cac gag acc gtg aat gtc cca ggt act 3555
Ser Ile Arg Tyr Asn Ala Lys His Glu Thr Val Asn Val Pro Gly Thr
765 770 775 780

0 ggt tcc ctc tgg cca ctt tct gcc caa tct ccc att ggg aag tgt gga 3603
Gly Ser Leu Trp Pro Leu Ser Ala Gln Ser Pro Ile Gly Lys Cys Gly
785 790 795

5 gag cct aac aga tgc gct cca cac ctt gag tgg aat cct gac ttg gac 3651
Glu Pro Asn Arg Cys Ala Pro His Leu Glu Trp Asn Pro Asp Leu Asp
800 805 810

0 tgc tcc tgc agg gat ggc gag aag tgt gcc cac cat tct cat cac ttc 3699
Cys Ser Cys Arg Asp Gly Glu Lys Cys Ala His His Ser His His Phe
815 820 825

tcg ttg gac atc gat gtg gga tgt act gac ctg aat gag gac ctc gga 3747
Ser Leu Asp Ile Asp Val Gly Cys Thr Asp Leu Asn Glu Asp Leu Gly
830 835 840

gtc tgg gtc atc ttc aag atc aag acc caa gac gga cac gca aga ctt 3795
Val Trp Val Ile Phe Lys Ile Lys Thr Gln Asp Gly His Ala Arg Leu
845 850 855 860

5 ggc aac ctt gag ttt ctc gaa gag aaa cca ttg gtc ggt gaa gct ctc 3843
Gly Asn Leu Glu Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu
865 870 875

0 gct cgt gtg aag aga gca gag aag aag tgg agg gac aaa cgt gag aaa 3891
Ala Arg Val Lys Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys
880 885 890

5 ctc gaa tgg gaa act aac atc gtt tac aag gag gcc aaa gag tcc gtg 3939
Leu Glu Trp Glu Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val
895 900 905

20 gat gct ttg ttc gtg aac tcc caa tat gat cag ttg caa gcc gac acc 3987
Asp Ala Leu Phe Val Asn Ser Gln Tyr Asp Gln Leu Gln Ala Asp Thr
910 915 920

25 aac atc gcc atg atc cac gcc gca gac aaa cgt gtg cac agc att cgt 4035
Asn Ile Ala Met Ile His Ala Ala Asp Lys Arg Val His Ser Ile Arg
925 930 935 940

30 gag gct tac ttg cct gag ttg tcc gtg atc cct ggt gtg aac gct gcc 4083
Glu Ala Tyr Leu Pro Glu Leu Ser Val Ile Pro Gly Val Asn Ala Ala
945 950 955

35 atc ttc gag gaa ctt gag gga cgt atc ttt acc gca ttc tcc ttg tac 4131
Ile Phe Glu Glu Leu Glu Gly Arg Ile Phe Thr Ala Phe Ser Leu Tyr
960 965 970

40 gat gcc aga aac gtc atc aag aac ggt gac ttc aac aat ggc ctc agc 4179
Asp Ala Arg Asn Val Ile Lys Asn Gly Asp Phe Asn Asn Gly Leu Ser
975 980 985

45 tgc tgg aat gtg aaa ggt cat gtg gac gtg gag gaa cag aac aat cag 4227
Cys Trp Asn Val Lys Gly His Val Asp Val Glu Glu Gln Asn Asn Gln
990 995 1000

50 cgt tcc gtc ctg gtt gtg cct gag tgg gaa gct gaa gtg tcc caa 4272
Arg Ser Val Leu Val Val Pro Glu Trp Glu Ala Glu Val Ser Gln
1005 1010 1015

55 gag gtt aga gtc tgt cca ggt aga ggc tac att ctc cgt gtg acc 4317
Glu Val Arg Val Cys Pro Gly Arg Gly Tyr Ile Leu Arg Val Thr
1020 1025 1030

60 gct tac aag gag gga tac ggt gag ggt tgc gtg acc atc cac gag 4362
Ala Tyr Lys Glu Gly Tyr Gly Glu Gly Cys Val Thr Ile His Glu
1035 1040 1045

atc gag aac aac acc gac gag ctt aag ttc tcc aac tgc gtc gag 4407

	Ile	Glu	Asn	Asn	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Phe	Ser	Asn	Cys	Val	Glu	
	1050						1055					1060				
	gaa gaa atc tat ccc aac aac acc gtt act tgc aac gac tac act															4452
5	Glu	Glu	Ile	Tyr	Pro	Asn	Asn	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Asp	Tyr	Thr	
	1065						1070					1075				
	gtg aat cag gaa gag tac gga ggt gcc tac act agc cgt aac aga															4497
0	Val	Asn	Gln	Glu	Glu	Tyr	Gly	Gly	Ala	Tyr	Thr	Ser	Arg	Asn	Arg	
	1080						1085					1090				
	ggg tac aac gaa gct cct tcc gtt cct gct gac tat gcc tcc gtt															4542
5	Gly	Tyr	Asn	Glu	Ala	Pro	Ser	Val	Pro	Ala	Asp	Tyr	Ala	Ser	Val	
	1095						1100					1105				
	tac gag gag aaa tcc tac aca gat ggc aga cgt gag aac cct tgc															4587
	Tyr	Glu	Glu	Lys	Ser	Tyr	Thr	Asp	Gly	Arg	Arg	Glu	Asn	Pro	Cys	
	1110						1115					1120				
0	gag ttc aac aga ggt tac agg gac tac aca cca ctt cca gtt ggc															4632
	Glu	Phe	Asn	Arg	Gly	Tyr	Arg	Asp	Tyr	Thr	Pro	Leu	Pro	Val	Gly	
	1125						1130					1135				
	tat gtt acc aag gag ctt gag tac ttt cct gag acc gac aaa gtg															4677
5	Tyr	Val	Thr	Lys	Glu	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Glu	Thr	Asp	Lys	Val	
	1140						1145					1150				
	tgg atc gag atc ggt gaa acc gag gga acc ttc atc gtg gac agc															4722
0	Trp	Ile	Glu	Ile	Gly	Glu	Thr	Glu	Gly	Thr	Phe	Ile	Val	Asp	Ser	
	1155						1160					1165				
	gtg gag ctt ctc ttg atg gag gaa taa tga gatctatcga ttctagaagg															4772
5	Val	Glu	Leu	Leu	Leu	Met	Glu	Glu								
	1170						1175									
	cctgaattct gcatgcgttt ggacgtatgc tcattcaggt tggagccaat ttggttgatg															4832
	tgtgtgcgag ttcttgcgag tctgatgaga catctctgta ttgtgtttct ttcccagtg															4892
0	ttttctgtac ttgtgtaac ggctaatacg caacagattc ggcatgaat aaatgagaaa															4952
	taaattgttc tgattttgag tgcaaaaaaaaa aaggaatt															4990
5	<210> 8															
	<211> 1177															
	<212> PRT															
	<213> artificial															
0	<220>															
	<223> Construcción sintética															
	<400> 8															

Met Asp Asn Asn Pro Asn Ile Asn Glu Cys Ile Pro Tyr Asn Cys Leu
 1 5 10 15
 5 Ser Asn Pro Glu Val Glu Val Leu Gly Gly Glu Arg Ile Glu Thr Gly
 20 25 30
 Tyr Thr Pro Ile Asp Ile Ser Leu Ser Leu Thr Gln Phe Leu Leu Ser
 0 35 40 45
 Glu Phe Val Pro Gly Ala Gly Phe Val Leu Gly Leu Val Asp Ile Ile
 5 50 55 60
 Trp Gly Ile Phe Gly Pro Ser Gln Trp Asp Ala Phe Leu Val Gln Ile
 65 70 75 80
 0 Glu Gln Leu Ile Asn Gln Arg Ile Glu Glu Phe Ala Arg Asn Gln Ala
 85 90 95
 5 Ile Ser Arg Leu Glu Gly Leu Ser Asn Leu Tyr Gln Ile Tyr Ala Glu
 100 105 110
 Ser Phe Arg Glu Trp Glu Ala Asp Pro Thr Asn Pro Ala Leu Arg Glu
 0 115 120 125
 Glu Met Arg Ile Gln Phe Asn Asp Met Asn Ser Ala Leu Thr Thr Ala
 5 130 135 140
 Ile Pro Leu Phe Ala Val Gln Asn Tyr Gln Val Pro Leu Leu Ser Val
 145 150 155 160
 0 Tyr Val Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Ser Val Leu Arg Asp Val Ser
 165 170 175
 5 Val Phe Gly Gln Arg Trp Gly Phe Asp Ala Ala Thr Ile Asn Ser Arg
 180 185 190
 Tyr Asn Asp Leu Thr Arg Leu Ile Gly Asn Tyr Thr Asp His Ala Val
 0 195 200 205
 Arg Trp Tyr Asn Thr Gly Leu Glu Arg Val Trp Gly Pro Asp Ser Arg
 210 215 220

5	Asp Trp Ile Arg Tyr Asn Gln Phe Arg Arg Glu Leu Thr Leu Thr Val	225	230	235	240
0	Leu Asp Ile Val Ser Leu Phe Pro Asn Tyr Asp Ser Arg Thr Tyr Pro	245	250	255	
5	Ile Arg Thr Val Ser Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Val	260	265	270	
0	Leu Glu Asn Phe Asp Gly Ser Phe Arg Gly Ser Ala Gln Gly Ile Glu	275	280	285	
5	Gly Ser Ile Arg Ser Pro His Leu Met Asp Ile Leu Asn Ser Ile Thr	290	295	300	
0	Ile Tyr Thr Asp Ala His Arg Gly Glu Tyr Tyr Trp Ser Gly His Gln	305	310	315	320
5	Ile Met Ala Ser Pro Val Gly Phe Ser Gly Pro Glu Phe Thr Phe Pro	325	330	335	
0	Leu Tyr Gly Thr Met Gly Asn Ala Ala Pro Gln Gln Arg Ile Val Ala	340	345	350	
5	Gln Leu Gly Gln Gly Val Tyr Arg Thr Leu Ser Ser Thr Leu Tyr Arg	355	360	365	
0	Arg Pro Phe Asn Ile Gly Ile Asn Asn Gln Gln Leu Ser Val Leu Asp	370	375	380	
5	Gly Thr Glu Phe Ala Tyr Gly Thr Ser Ser Asn Leu Pro Ser Ala Val	385	390	395	400
0	Tyr Arg Lys Ser Gly Thr Val Asp Ser Leu Asp Glu Ile Pro Pro Gln	405	410	415	
5	Asn Asn Asn Val Pro Pro Arg Gln Gly Phe Ser His Arg Leu Ser His	420	425	430	

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

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

Ile Ile Ala Ser Asp Ser Ile Thr Gln Ile Pro Leu Val Lys Ala His
0 465 470 475 480

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

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

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

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

Arg Ile Phe Ala Gly Gln Phe Asn Lys Thr Met Asp Thr Gly Asp Pro
20 545 550 555 560

Leu Thr Phe Gln Ser Phe Ser Tyr Ala Thr Ile Asn Thr Ala Phe Thr
35 565 570 575

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

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

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

Asn Ala Leu Phe Thr Ser Thr Asn Gln Leu Gly Leu Lys Thr Asn Val
50 625 630 635 640

Thr Asp Tyr His Ile Asp Gln Val Ser Asn Leu Val Thr Tyr Leu Ser
645 650 655

	Asp	Glu	Phe	Cys	Leu	Asp	Glu	Lys	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Lys	Val	Lys
				660				665					670			
5																
	His	Ala	Lys	Arg	Leu	Ser	Asp	Glu	Arg	Asn	Leu	Leu	Gln	Asp	Ser	Asn
			675					680					685			
10																
	Phe	Lys	Asp	Ile	Asn	Arg	Gln	Pro	Glu	Arg	Gly	Trp	Gly	Gly	Ser	Thr
		690				695						700				
15																
	Gly	Ile	Thr	Ile	Gln	Gly	Gly	Asp	Asp	Val	Phe	Lys	Glu	Asn	Tyr	Val
	705					710					715				720	
20																
	Thr	Leu	Ser	Gly	Thr	Phe	Asp	Glu	Cys	Tyr	Pro	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Gln
				725					730					735		
25																
	Lys	Ile	Asp	Glu	Ser	Lys	Leu	Lys	Ala	Phe	Thr	Arg	Tyr	Gln	Leu	Arg
			740						745					750		
30																
	Gly	Tyr	Ile	Glu	Asp	Ser	Gln	Asp	Leu	Glu	Ile	Tyr	Ser	Ile	Arg	Tyr
		755						760					765			
35																
	Asn	Ala	Lys	His	Glu	Thr	Val	Asn	Val	Pro	Gly	Thr	Gly	Ser	Leu	Trp
	770						775					780				
40																
	Pro	Leu	Ser	Ala	Gln	Ser	Pro	Ile	Gly	Lys	Cys	Gly	Glu	Pro	Asn	Arg
	785					790					795				800	
45																
	Cys	Ala	Pro	His	Leu	Glu	Trp	Asn	Pro	Asp	Leu	Asp	Cys	Ser	Cys	Arg
				805					810				815			
50																
	Asp	Gly	Glu	Lys	Cys	Ala	His	His	Ser	His	His	Phe	Ser	Leu	Asp	Ile
			820					825						830		
55																
	Asp	Val	Gly	Cys	Thr	Asp	Leu	Asn	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Trp	Val	Ile
		835					840					845				
60																
	Phe	Lys	Ile	Lys	Thr	Gln	Asp	Gly	His	Ala	Arg	Leu	Gly	Asn	Leu	Glu
	850						855					860				

Phe Leu Glu Glu Lys Pro Leu Val Gly Glu Ala Leu Ala Arg Val Lys
 865 870 875 880

5 Arg Ala Glu Lys Lys Trp Arg Asp Lys Arg Glu Lys Leu Glu Trp Glu
 885 890 895

10 Thr Asn Ile Val Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Ser Val Asp Ala Leu Phe
 900 905 910

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5

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

0

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

5

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

20

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

25

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

Leu Met Glu Glu
1175

Reivindicaciones modificadas bajo el artículo 19.

1. Un polinucleótido aislado que codifica una proteína insecticida que comprende una
secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en
5 la posición 10 y el aminoácido en la posición 600.
2. El polinucleótido aislado de la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste
en SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3.
3. El polinucleótido aislado de la reivindicación 2, para usar en la expresión de dicha
proteína insecticida en una planta de cultivo.
- 10 4. El polinucleótido aislado de la reivindicación 3, donde dicha planta de cultivo se
selecciona del grupo que consiste en una planta de cultivo monocotiledónea y una
planta de cultivo dicotiledónea.
5. El polinucleótido aislado de la reivindicación 4, donde dicha planta monocotiledónea
se selecciona del grupo de plantas que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo,
15 mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine,
Bermuda, pasto quilla) y cebada.
6. El polinucleótido aislado de la reivindicación 4, donde dicha planta dicotiledónea se
selecciona del grupo de plantas que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque,
espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio,
20 cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas,
berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza,
nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla,
remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras.
7. Una proteína insecticida aislada y purificada que comprende una secuencia de
25 aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y
el aminoácido en la posición 600.
8. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de la
proteína aislada y purificada de la reivindicación 7.
9. Un cassette de expresión para usar en la expresión de una proteína insecticida que
30 tiene una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2 en una célula
huésped, donde dicho cassette de expresión comprende, unidos operativamente,

una secuencia promotora funcional en dicha célula huésped y un polinucleótido que codifica dicha proteína.

10. El cassette de expresión de la reivindicación 9, donde dicha célula huésped se selecciona del grupo que consiste en una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero y una célula vegetal.

11. El cassette de expresión de la reivindicación 10, donde

(a) 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*; y

(b) dicha célula vegetal se selecciona del grupo de plantas que consiste en una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, broma, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.

12. El cassette de expresión de la reivindicación 9, donde dicha célula huésped es una célula vegetal, y dicho cassette de expresión comprende además, unidos operativamente, un polinucleótido seleccionado 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, una secuencia de terminación de transcripción y una secuencia de poliadenilación.

13. Un vector que comprende el cassette de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.

14. Una planta o una célula vegetal transgénica resistente a la infestación por parte de insectos lepidópteros, que comprende un polinucleótido que codifica una proteína que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicha proteína presenta actividad insecticida cuando está expresada en dicha planta o célula vegetal.
15. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 14, donde dicha planta transgénica se selecciona del grupo que consiste en una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.
16. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 15, resistente a una infestación por parte de insectos lepidópteros, donde dicho insecto lepidóptero se selecciona del grupo que consiste en un rizador de hojas, una oruga cortadora, una oruga marchadora, un taladro, una oruga de bolsón y un insecto forrajeador.
17. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 16, donde dicho insecto lepidóptero se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en una oruga marchadora de otoño, un taladro del maíz europeo, una oruga de la mazorca del maíz u oruga de los copos de algodón, un taladro del maíz sudoccidental y una oruga cortadora negra
18. Progenie o semillas de la planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 15, donde dicha progenie o dichas semillas comprenden dicho polinucleótido.
19. Un método para controlar una infestación de una planta por parte de insectos lepidópteros, que comprende colocar en la dieta del insecto una o más células

vegetales transformadas con un ácido nucleico, que comprende, unidos operativamente, un promotor funcional en plantas y un polinucleótido que codifica una proteína que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, que presenta actividad insecticida contra lepidópteros.

20. El cassette de expresión de la reivindicación 12, que comprende un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID N° 5 y SEQ ID N° 7.

21. Un método para identificar un polinucleótido que codifica una proteína Cry1A.105 que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2 en una muestra biológica entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicho método comprende poner en contacto dicha muestra con una sonda de polinucleótido que hibridiza con el polinucleótido bajo condiciones de hibridización severas, y detectar la unión de dicha sonda de polinucleótido a dicho polinucleótido, donde dicha unión sirve como diagnóstico para la presencia de dicho polinucleótido en dicha muestra.

22. Un método para identificar una proteína Cry1A.105 que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO:2 en una muestra entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicho método comprende poner en contacto dicha muestra con un anticuerpo que se une específicamente a dicha proteína, y detectar la unión, donde dicha unión sirve como diagnóstico para la presencia de dicha proteína en dicha muestra.

23. Un polinucleótido aislado que codifica una proteína insecticida que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 612.

24. Un polinucleótido aislado que codifica una proteína insecticida indicada en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 610.

25. El polinucleótido aislado de la reivindicación 23, que presenta al menos aproximadamente 90% de identidad con la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1.

26. El polinucleótido aislado de la reivindicación 23, que presenta al menos aproximadamente 90% de identidad con la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 3.
27. Una proteína insecticida híbrida que comprende un segmento de aminoácidos, que
5 comprende entre aproximadamente 500 y aproximadamente 600 aminoácidos contiguos seleccionados entre el segmento de aminoácidos indicado en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido en la posición 10 y aproximadamente el aminoácido en la posición 600.
28. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de una
0 proteína Cry1A.105 que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2 entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicha composición se selecciona del grupo que consiste en una célula vegetal, una célula bacteriana, una célula fúngica, un coloide, una emulsión, un recubrimiento para semillas, una carnada y un polvo.
29. La composición de la reivindicación 28, donde dicha proteína Cry1A.105 está
5 presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 200 partes por millón (PPM).
30. La composición de la reivindicación 29, donde dicha proteína Cry1A.105 está
0 presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 20 PPM.
31. La composición de la reivindicación 29, donde dicha composición es una célula vegetal o un grupo de células vegetales.
32. La composición de la reivindicación 31, donde el polinucleótido que codifica la
5 cantidad efectiva como insecticida de dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad que puede detectarse usando una sonda que es o complementaria con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1401-1420, y SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1821-1840.
33. La composición de la reivindicación 31, donde dicha cantidad efectiva como
0 insecticida de dicha proteína es suficiente para controlar una plaga de plantas perteneciente a un género de lepidópteros cuando se la incluye en la dieta de dicha

plaga, donde dicha plaga se selecciona del grupo que consiste en *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*.

34. Un método para proteger un cultivo en un campo de una infestación de insectos lepidópteros, que comprende cultivar una planta de cultivo transgénica que
5 comprende una cantidad efectiva como insecticida de un agente proteico insecticida Cry1A.105 en la dieta del insecto lepidóptero para inhibir que el insecto sobreviva en dicho cultivo vegetal transgénico, donde dicho agente insecticida comprende una secuencia de aminoácidos entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, como se indica en SEQ ID NO:2.
- 10 35. El método de la reivindicación 34, donde dicha planta de cultivo transgénica comprende 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 ARNs específico para suprimir uno o más genes esenciales en dicha especie de insecto.
- 15 36. El método de la reivindicación 34 ó 35, 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.

		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT		
(21) N° de solicitud:		(51) int. Cl.:		
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) MONSANTO TECHNOLOGY, LLC		
(30) Prioridad	(31) N° Prioridad	32) Fecha	(33) País	
	60/713.144	31/08/2005	US	
		(72) Inventor(es) NATALIA N. BOGDANOVA DAVID R. CORBIN THOMAS M. MALVAR FREDERICK J. PERLAK JAMES K. ROBERTS CHARLES P. ROMANO		
		(74) Apoderado: MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO		
(85)	Fecha limite inicio fase nacional:		(87)	Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha:	08/03/2007
	Fecha de presentación de la solicitud: 30/08/2006		N° publicación:	WO 2007/027777 A2
	N° de solicitud PCT/US2006/033868			
(54) Título: SECUENCIAS DE NUCLEOTIDOS QUE CODIFICAN PROTEINAS INSECTICIDAS				

Reivindicación(es):

1. Un polinucleótido aislado que codifica una proteína insecticida que comprende una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600.
2. El polinucleótido aislado de la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3.
3. El polinucleótido aislado de la reivindicación 2, para usar en la expresión de dicha proteína insecticida en una planta de cultivo.
4. El polinucleótido aislado de la reivindicación 3, donde dicha planta de cultivo se selecciona del grupo que consiste en una planta de cultivo monocotiledónea y una planta de cultivo dicotiledónea.
5. El polinucleótido aislado de la reivindicación 4, donde dicha planta monocotiledónea se selecciona del grupo de plantas que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, broma, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.
6. El polinucleótido aislado de la reivindicación 4, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona del grupo de plantas que consiste en alfalfa, manzana, albaricóque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras.
7. Una proteína insecticida aislada y purificada que comprende una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600.
8. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de la proteína aislada y purificada de la reivindicación 7.
9. Un cassette de expresión para usar en la expresión de una proteína insecticida que tiene una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2 en una célula huésped, donde dicho cassette de expresión comprende, unidos operativamente, una secuencia promotora funcional en dicha célula huésped y un polinucleótido que codifica dicha proteína.
10. El cassette de expresión de la reivindicación 9, donde dicha célula huésped se selecciona del grupo que

- consiste en una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero y una célula vegetal.
11. El cassette de expresión de la reivindicación 10, donde
(a) 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*; y
(b) dicha célula vegetal se selecciona del grupo de plantas que consiste en una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricóque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, broma, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.
 12. El cassette de expresión de la reivindicación 9, donde dicha célula huésped es una célula vegetal, y dicho cassette de expresión comprende además, unidos operativamente, un polinucleótido seleccionado 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, una secuencia de terminación de transcripción y una secuencia de poliadenilación.
 13. Un vector que comprende el cassette de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.
 14. Una planta o una célula vegetal transgénica resistente a la infestación por parte de insectos lepidópteros, que comprende un polinucleótido que codifica una proteína que presenta una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicha proteína presenta actividad insecticida cuando está expresada en dicha planta o célula vegetal.



No. 08-019688- -00000-0000

Fecha: 2008-02-26 14:47:31
 Tra. 11 PATENTE IYII
 Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACION I
 Eve: 379 FASE NACIONAL II
 Folios: 165

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
 División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRÁMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION (X) MODELO DE UTILIDAD ()	(X)	()
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente	(X)	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	(X)	()
- Descripción de la invención	(X)	()
- Dibujos de ser estos pertinentes	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	(X)	()

COMPLETA (X) INCOMPLETA ()

DISEÑO INDUSTRIAL ()

- Indicación de que se solicita el registro de 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 ()

EZQUEMA DE TRAZADO ()

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	()	()
- Representación gráfica del Esquema de Trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()

COMPLETA () INCOMPLETA ()

Firma responsable: _____

Fecha: _____

167

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
CASTELLANOS ABONDANO MARGARITA
Apoderado(a) y/o Representante de
MONSANTO TECHNOLOGY LLC

REFERENCIA	Radicación No.	8 19688
	Solicitud internacional	PCT/US2006/033868
	Fecha inicio fase nacional	31/03/2008
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	6268

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

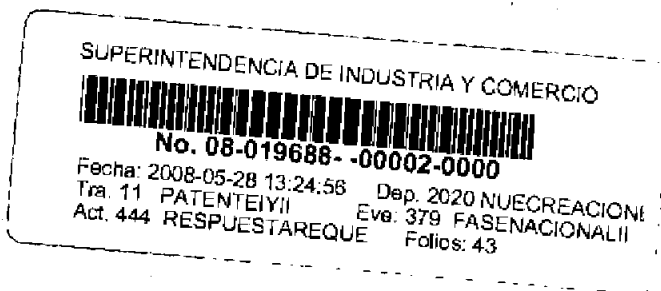
En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 11 6 MAYO 2008
jfernand

CASTELLANOS & Co.
Calle 94 A No. 7º-09
Bogotá-Colombia



Señora

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo Industria y Turismo

E. S. D.

Expediente: No. 08.019.688

Solicitud de Patente PCT entrada Fase Nacional para: **SECUENCIAS DE NUCLEOTIDOS QUE CODIFICAN PROTEINAS INSECTICIDAS**

Solicitante: **MONSANTO TECHNOLOGY, LLC.**

RESPUESTA A EXAMEN DE FORMA

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, en atención a su oficio No. 6268 notificado el 16 de mayo de 2008, atentamente me permito dar repuesta al mismo de la siguiente manera:

Establece el funcionario examinador lo siguiente:

- ***"la solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante"***.

Con el objeto de atender a las anteriores observaciones, me permito presentar los siguientes documentos:

- Copia auténtica del documento de cesión debidamente notariado y apostillado con su respectiva traducción oficial.

Adicionalmente presento copia del Reporte preliminar Internacional sobre Patentabilidad Capítulo II con su respectiva traducción al español.

Cumplido así con lo dispuesto, atentamente solicito a Ud. se continúe con el trámite correspondiente a esta solicitud de Patente de Invención.

De la Señora Jefe,


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.: 610 7420 – 610 7480

Bogotá, D.C., 28 MAYO 2008

Patentes/15/P1577/MEMORIAL FORMA CESION

170

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1572

1. Country: United States of America

This public document
2. has been signed by L. Edelen

3. acting in the capacity of Certifying Officer

4. bears the seal/stamp of U. S. Patent and Trademark Office

Certified

5. at Washington, D.C.

6. the eleventh of March, 2008

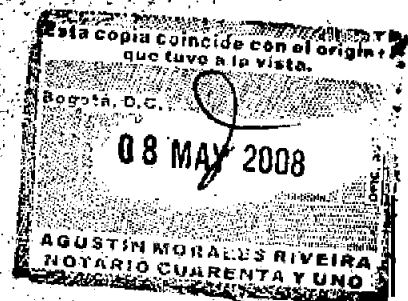
7. by Assistant Authentication Officer, United States Department of State

8. No. 08015089-1

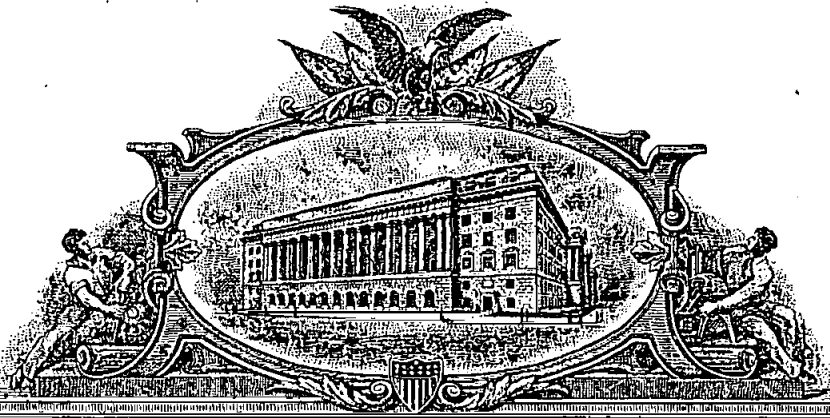
9. Seal/Stamp:

10. Signature:

Fernesia T. Crawford
Fernesia T. Crawford



A 7113599



THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

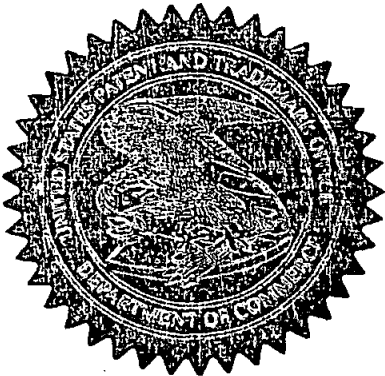
UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

February 26, 2008

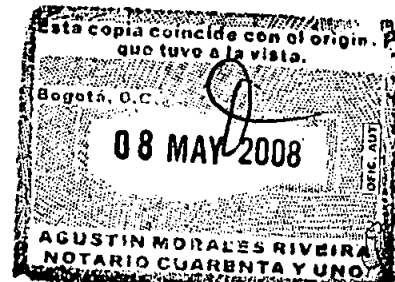
**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED IS A TRUE COPY FROM THE
RECORDS OF THIS OFFICE OF A DOCUMENT RECORDED ON
March 02, 2006.**

**By Authority of the
Under Secretary of Commerce for Intellectual Property
and Director of the United States Patent and Trademark Office**



L. Edelen

**L. EDELEN
Certifying Officer**



RECORDATION FORM COVER SHEET
PATENTS ONLY

T-013 P-002/007 F-630

Patent and Trademark Office

Honorable Commissioner of Patents and Trademarks: Please record the attached original documents or copy thereof.

1. Name and address of conveying party(ies):

See Attached

Is the name(s) of conveying party(ies) attached? ☒ Yes ☐ No

2. Nature of conveyance:

Assignment ☐ Merger
Security Agreement ☐ Change of Name
Other _____

Execution Date: See Attached

2. Name and address of receiving party(ies):

Name: Monsanto Technology LLC

Internal Address: 800 North Lindbergh

St. Louis, Missouri 63167

Street Address: 800 North Lindbergh

City: St. Louis State: MO ZIP: 63167

Additional name(s) & address(es) attached? ☐ Yes ☒ No

Application number(s) or patent number(s):

If this document is being filed together with a new application, the execution date of the application is: _____

A. Patent Application No.(s)

60/713,144

B. Patent No.(s)

Additional numbers attached? ☐ Yes ☒ No

Name and address of party to whom correspondence concerning document should be mailed:

Name: Gail Wuellner, Timothy K. Ball

Internal Address: Monsanto Company

800 North Lindbergh, Mail Zone E2NA

St. Louis, Missouri 63167

Street Address: 800 North Lindbergh

Mail Zone E2NA

City: St. Louis State: MO ZIP: 63167

6. Total number of applications and patents involved: 1

7. Total fee (37 CFR 3.41) \$ 40.00

☐ Enclosed

☒ Authorized to be charged to deposit account

8. Deposit account number:

13-4125

(Attach duplicate copy of this page if paying by deposit account)

DO NOT USE THIS SPACE

Statement and signature.

To the best of my knowledge and belief, the foregoing information is true and correct and any attached copy is a true copy of the original document.

Timothy K. Ball

Name of Person Signing

Signature

Date

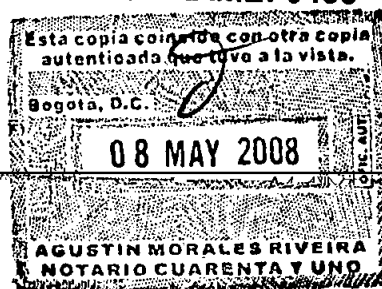
Total number of pages including cover sheet, attachments, and document: 6

Mail documents to be recorded with required cover sheet information to:
Commissioner of Patents & Trademarks, Box Assignments
Washington, D.C. 20231

(Form PTO-1595-Recordation Form Cover Sheet - page 1 of 3)

700247541

PATENT
REEL: 017305 FRAME: 0493



Recordation Form Cover Sheet (Continued)**Name of Conveying Parties****Execution Date**

Natalia N. Bogdanova

February 15, 2006

David R Corbin

February 21, 2006

Thomas M. Malvar

February 13, 2006

Frederick J. Perlak

March 1, 2006

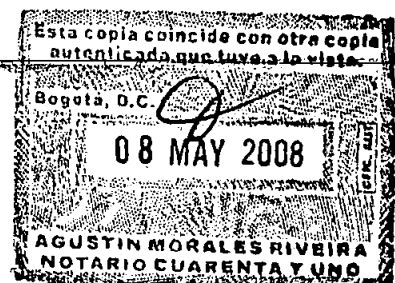
James K. Roberts

March 1, 2006

Charles P. Romano

February 15, 2006

PATENT
REEL: 017305 FRAME: 0494



Attorney Docket No. 38-21(52905)**ASSIGNMENT**

WHEREAS, WE, the undersigned, have made, and have an obligation to assign to Monsanto Technology LLC, certain invention or inventions which are disclosed in patent application(s) and/or provisional patent application(s) entitled:

Nucleotide Sequences Encoding Insecticidal Proteins

identified as U.S. Serial No. 60/713,144 and filed on August 31, 2005; and

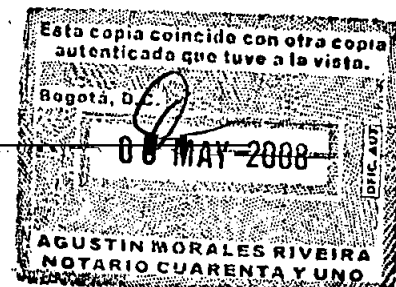
WHEREAS, Monsanto Technology LLC, of St. Louis, Missouri, a Corporation of the State of Delaware, is desirous of acquiring the entire right, title and interest in and to said invention or inventions and any and all patents to be obtained therefor;

NOW, THEREFORE, FOR GOOD AND VALUABLE CONSIDERATION, the receipt of which is hereby acknowledged, WE do hereby sell, assign and transfer to said Monsanto Technology LLC, its successors and assigns, the entire right, title and interest in and to said invention or inventions, in any form or embodiment thereof, and in and to said application(s); and in and to any and all applications filed in any country based thereon, including the right to file applications in countries other than the country of priority filing under the provisions of any international convention; also in and to any and all improvements on said invention or inventions now or hereafter made by us as employee(s), agent(s) or contractor(s) of said Monsanto Technology LLC; also the entire right, title and interest in and to any and all patents, including reissues and extensions thereof, to be obtained in any country upon said invention, inventions or improvements, and any and all continuing applications, including divisional, continuation and continuation-in-part applications, substitute applications, and applications claiming benefit of an earlier filed provisional application, which may be filed upon said invention, inventions or improvements in any country; and

WE hereby authorize and request the issuing authority to issue any and all patents on said application or applications to said Monsanto Technology LLC, as assignee of the entire interest.

WE further agree, without any payment by Monsanto Technology LLC other than in reimbursement of reasonable expenses we may incur, to communicate to said Monsanto Technology LLC, its representatives, agents or assignees of the entire right, title and interest hereto, any facts relating to said invention, inventions or improvements, including evidence for purposes of interference, opposition or other legal proceedings, whenever requested; testify in any interference, opposition or other legal proceedings, whenever requested; and execute and deliver, on request, all lawful papers required to make any of the foregoing provisions effective.

PATENT
REEL: 017305 FRAME: 0495



Attorney Docket No. 38-21(52905)

IN TESTIMONY WHEREOF, WE have hereto set our hands on the dates set after our signatures.

Signature: Natalia N. Bogdanova Date: Feb. 15, 2006

Name: Natalia N. Bogdanova

City and state or country of residence: St. Louis, Missouri

State of Missouri }
County of St. Louis } ss.

On this 15th day of February, 2006, before me personally appeared Natalia N. Bogdanova, to me known to be the person who executed the foregoing instrument and acknowledged that he/she executed the same as his/her free act and deed; in testimony whereof I have hereto set my hand and official seal on the day last above written.

(seal)

Michelle Ludwig
Notary Public or Consular Officer

My Commission expires 7/13/2009



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

Signature: David R. Corbin Date: Feb 21, 2006

Name: David R. Corbin

City and state or country of residence: Chesterfield, Missouri

State of Missouri }
County of St. Louis } ss.

On this 21st day of February, 2006, before me personally appeared David R. Corbin, to me known to be the person who executed the foregoing instrument and acknowledged that he/she executed the same as his/her free act and deed; in testimony whereof I have hereto set my hand and official seal on the day last above written.

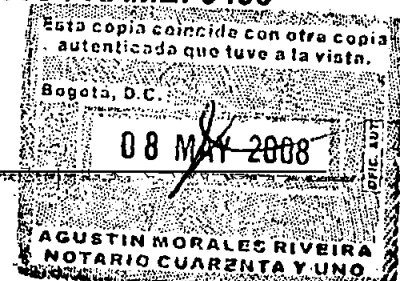
(seal)

Margaret J. Durham
Notary Public or Consular Officer

My Commission expires Apr. 27, 2006

Margaret J. Durham
NOTARY PUBLIC-STATE OF MISSOURI
MY COMMISSION EXPIRES APRIL 27, 2006
ST. LOUIS COUNTY

PATENT
REEL: 017305 FRAME: 0496



Attorney Docket No. 38-21(52905)Signature: Thomas M. MalvarDate: 2/13/2006Name: Thomas M. MalvarCity and state or country of residence: North Stonington, ConnecticutState of Connecticut }
County of New London } ss.

On this 13th day of February, 2006, before me personally appeared Thomas M. Malvar, to me known to be the person who executed the foregoing instrument and acknowledged that he/she executed the same as his/her free act and deed; in testimony whereof I have hereto set my hand and official seal on the day last above written.

(seal)

Kathleen Bernier
 Notary Public or Consular Officer
My Commission expires 1/31/2010Signature: Frederick J. PerlakDate: 03/01/2006Name: Frederick J. PerlakCity and state or country of residence: St. Louis, MissouriState of Missouri }
County of St. Louis } ss.

On this 1st day of March, 2006, before me personally appeared Frederick J. Perlak, to me known to be the person who executed the foregoing instrument and acknowledged that he/she executed the same as his/her free act and deed; in testimony whereof I have hereto set my hand and official seal on the day last above written.

(seal)

Michelle Ludwig
 Notary Public or Consular Officer
My Commission expires 7/13/2009
 MICHELLE LUDWIG
 My Commission Expires
 July 13, 2009
 St. Louis County
 Commission #06650747

PATENT

REEL: 017305 FRAME: 0497



Attorney Docket No. 38-21(52905)Signature: James K. RobertsDate: 3/1/06Name: James K. RobertsCity and state or country of residence: Chesterfield, MissouriState of MOCounty of St. Louis

} ss.

On this 1st day of March, 2006, before me personally appeared James K. Roberts, to me known to be the person who executed the foregoing instrument and acknowledged that he/she executed the same as his/her free act and deed; in testimony whereof I have hereto set my hand and official seal on the day last above written.

"NOTARY SEAL"
Daria D. Gaul, Notary Public
St. Louis County, State of Missouri
My Commission Expires 10/1/2007
Commission Number 03385595

My Commission expires 10/01/07Signature: Charles P. RomanoDate: February 15, 2006Name: Charles P. RomanoCity and state or country of residence: Chesterfield, MissouriState of MissouriCity
County of St. Louis

} ss.

On this 15th day of February, 2006, before me personally appeared Charles P. Romano, to me known to be the person who executed the foregoing instrument and acknowledged that he/she executed the same as his/her free act and deed; in testimony whereof I have hereto set my hand and official seal on the day last above written.

(seal)

Christine Y. Hogan
Notary Public or Consular Officer

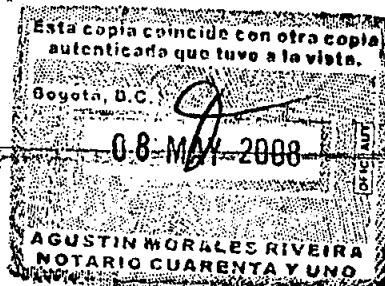
My Commission expires 11/17/08

CHRISTINE Y. HOGAN
Notary Public — Notary Seal
STATE OF MISSOURI
City of St. Louis
My Commission Expires: Nov. 17, 2008
Commission # 04513239

4

RECORDED: 03/02/2006

PATENT
REEL: 017305 FRAME: 0498



TRADUCCIÓN

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

A quien corresponda:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS, Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos.

26 de febrero de 2008

CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ANEXO ES COPIA FIEL DE LOS ARCHIVOS DE ESTA OFICINA DE UN DOCUMENTO REGISTRADO el 2 de marzo de 2006.

En nombre del Comisario de Patentes y Marcas (Firmado) L. Edelen - Funcionario certificante.

(Sello seco sobre oblea dorada) OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

(Adjuntos):

PATENTES SOLAMENTE

Oficina de Patentes y Marcas

Al Sr. Comisario de Patentes y Marcas: se ruega registrar los documentos adjuntos

1. Nombre de los cedentes:

Ver adjunto

Hay una lista adicional de cedentes

2. Nombre del cesionario:

MONSANTO TECHNOLOGY LLC

Domicilio: 800 North Lindbergh, St. Louis, Missouri 63167

No hay una lista adicional de cesionarios.

3. Naturaleza del traspaso: CESIÓN

Fecha de la firma: Ver adjunto.

4. Número de solicitud o registro: A. Solicitud de Patente Nro: 60/713,144

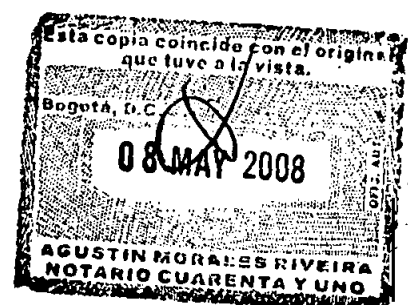
No hay números adicionales adjuntos

5. Enviar correspondencia a:

Gail Wuellner, Timothy K. Ball, Monsanto Company, 800 North Lindbergh, Mail Zone E2NA, St. Louis, Missouri 63167

6. Cantidad total de solicitudes y patentes afectadas: 1

[Handwritten signature]



7. Monto total de aranceles: \$40,00

Se autoriza su débito de la cuenta de depósito.

8. Cuenta Nro 13-4125 (adjuntar un duplicado de esta página si se abona mediante cuenta de depósito)

9. Declaración y firma: A mi leal saber y entender, la información precedente es veraz y correcta y la copia adjunta es copia fiel del documento original.

Nombre del firmante: Timothy K. Ball – (firmado, ilegible)

Fecha: 2 de marzo de 2006.

Total de páginas incluida la carátula: 6

Formulario de registro (continuación)

Nombre de los cedentes:

Natalia N. Bogdanova – Fecha de firma: 15 de febrero de 2006

Dávid R. Corbin – Fecha de firma: 21 de febrero de 2006

Thomas M. Malvar – Fecha de firma: 13 de febrero de 2006

Frederick J. Perlak – Fecha de firma: 1 de marzo de 2006

James K. Roberts – Fecha de firma: 1 de marzo de 2006

Charles P. Romano – Fecha de firma: 15 de febrero de 2006

Caso Nro: 38-21 (52905)

CESIÓN

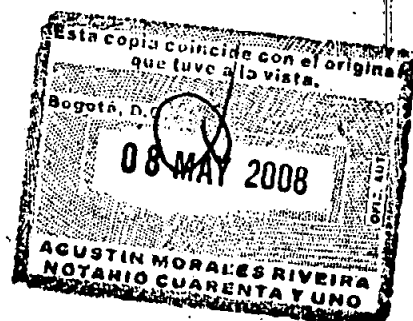
POR CUANTO, nosotros, los suscriptos, hemos realizado y tenemos la obligación de ceder a Monsanto Technology LLC cierta/s invención/es respecto de la/s cual/es se ha/n presentado solicitud/es de patente y/o solicitud/es de patente provisional/es bajo el título:

SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN PROTEÍNAS INSECTIDAS

identificadas como US 60/713,144 y presentada el 31 de agosto de 2005; y

POR CUANTO, **Monsanto Technology LLC** de St. Louis, Missouri, una sociedad anónima de Delaware desea adquirir todos los derechos sobre dicha invención o invenciones, y sobre todas las patentes de invención que se obtengan al respecto;

AHORA, POR LO TANTO, por una contraprestación válida y onerosa de cuya entrega se acusa recibo en la presente, vendemos, cedemos y transferimos a Monsanto Technology LLC, sus sucesores y cesionarios, todos los derechos sobre dicha invención o invenciones en cualquier forma o realización y sobre dicha/s solicitud/es y sobre todas y cada una de las



130

solicitudes que se presenten en cualquier país en base a éstas, incluido el derecho a presentar solicitudes en países fuera del país de la solicitud prioritaria, en virtud de cualquier convenio internacional; además sobre todas y cada una de las mejoras, presentes o futuras, de dicha o dichas invenciones, y efectuadas por nosotros en carácter de empleados, agentes o contratistas de dicha Monsanto Technology LLC; también todos los derechos sobre todas y cada una de dichas patentes, incluidas las reválidas y prórrogas de éstas, que se obtengan en cualquier país respecto de dicha/s invenciones o mejoras, y sobre todas y cada una de las solicitudes adicionales, incluidas las solicitudes divisionales, continuaciones, y continuaciones parciales, solicitudes de sustitución y solicitudes que reivindiquen el beneficio de una solicitud provisional presentada anteriormente, que se presenten respecto de dicha invención, invenciones o mejoras en cualquier país; y

Por la presente autorizamos y solicitamos a la autoridad emisora a emitir todas y cada una de las patentes relativas a dicha solicitud o solicitudes a nombre de Monsanto Technology LLC, en su carácter de cesionaria de todos los derechos.

Acordamos además que, sin que medie pago alguno por parte de Monsanto Technology LLC aparte del reembolso de los gastos razonables en los que incurramos, comunicaremos a dicha Monsanto Technology LLC, a sus representantes legales, agentes o cesionarios sobre cualquier hecho respecto de dicha invención, invenciones o mejoras, incluso pruebas para casos de interferencia, oposición o cualquier otro procedimiento legal siempre que se nos lo solicite; prestaremos testimonio en casos de interferencia, oposición o en otros procedimientos legales, siempre que se nos lo solicite y, firmaremos y entregaremos a pedido de la cesionaria, todos aquellos documentos lícitos necesarios para hacer efectivas las cláusulas precedentes.

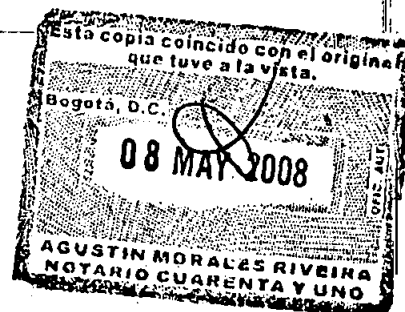
EN TESTIMONIO DE LO CUAL, firmamos al pie en las fechas indicadas junto a nuestras firmas.

(Firmado, ilegible) - Nombre: **Natalia Bogdanova** - Fecha: 15 de febrero de 2006 -

Ciudad y Estado o País de residencia: St. Louis, Missouri

Estado de Missouri, Condado de St. Louis- A saber:

El día 15 de febrero de 2006, ante mí, compareció personalmente **Natalia Bogdanova** persona de mi conocimiento, quien firmó el instrumento adjunto y declaró haberlo firmado



por su propia voluntad. En testimonio de lo cual, firmo y sello en el día indicado anteriormente.

(Firma y sello): Michelle Ludwig, Notario Público – Mi matrícula vence el 13 de julio de 2009 – Condado de St. Louis - Matrícula nro. 05550747 - Mi matrícula vence el 13 de julio de 2009.

(Firmado, ilegible) – Nombre: **David R. Corbin** - Fecha: 21 de febrero de 2006 -

Ciudad y Estado o País de residencia: Chesterfield, Missouri

Estado de Missouri, Condado de St. Louis- A saber

El día 21 de febrero de 2006, ante mí, compareció personalmente **David R. Corbin**, de mi conocimiento, quien firmó el instrumento adjunto y declaró haberlo firmado por su propia voluntad. En testimonio de lo cual, firmo y sello en el día indicado anteriormente.

(Firma y sello): Margaret J. Durham – Notario Público – Estado de Missouri – Mi mandato vence el 27 de abril de 2006 – Condado de St. Louis

Mi matrícula vence el 27 de abril de 2006

(Firmado, ilegible) – Nombre: **Thomas M. Malvar** - Fecha: 13 de febrero de 2006

Ciudad y Estado o País de residencia: North Stonington, Connecticut

Estado de Connecticut, Condado de New London - A saber

El día 13 de febrero de 2006, ante mí, compareció personalmente **Thomas M. Malvar**, de mi conocimiento, quien firmó el instrumento adjunto y declaró haberlo firmado por su propia voluntad. En testimonio de lo cual, firmo y sello en el día indicado anteriormente.

(Firma y sello, ilegibles) - Mi matrícula vence el (Ilegible)

(Firmado, ilegible) - Nombre: **Frederick J. Perlak** - Fecha: 01-03-2006

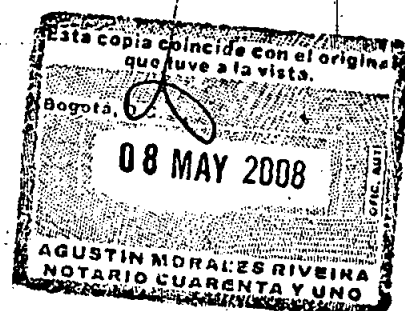
Ciudad y Estado o País de residencia: St. Louis Missouri

Estado de Missouri, Condado de St. Louis- A saber

El día 15 de marzo de 2006, ante mí, compareció personalmente **Frederick J. Perlak**, de mi conocimiento, quien firmó el instrumento adjunto y declaró haberlo firmado por su propia voluntad. En testimonio de lo cual, firmo y sello en el día indicado anteriormente.

(Firma y sello): Michelle Ludwig, Notario Público – Condado de St. Louis. Habilitada hasta el 13 de julio de 2009. Matrícula nro. 05550747 - Mi matrícula vence el 13 de julio de 2009

(Firmado, ilegible) Nombre: **James K. Roberts** - Fecha: 01-03-2006



Ciudad y Estado o País de residencia: Chesterfield, Missouri

Estado de Missouri, Condado de St. Louis- A saber

El día 15 de marzo de 2006, ante mí, compareció personalmente **James K. Roberts**, de mi conocimiento, quien firmó el instrumento adjunto y declaró haberlo firmado por su propia voluntad. En testimonio de lo cual, firmo y sello en el día indicado anteriormente.

(Firma y sello): Darla D. Gault – Notario Público – Estado de Missouri – Mi matrícula vence el 01/10/2007 – Matrícula nro: 03385595 - Mi matrícula vence el 01/10/2007

(Firmado, ilegible) Nombre: **Charles P. Romano** - Fecha: 15 de febrero de 2006

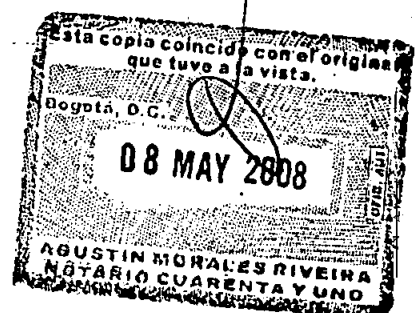
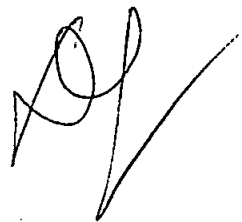
Ciudad y Estado o País de residencia: Chesterfield, Missouri

Estado de Missouri, Ciudad de St. Louis- A saber

El día 15 de febrero de 2006, ante mí, compareció personalmente **Charles P. Romano**, de mi conocimiento, quien firmó el instrumento adjunto y declaró haberlo firmado por su propia voluntad. En testimonio de lo cual, firmo y sello en el día indicado anteriormente.

(Firma y sello): Christine Y. Hogan – Notario Público – Sello Notarial - Estado de Missouri – Ciudad de St. Louis - Mi matrícula vence el 17/11/2008 – Matrícula nro: 04513239

Mi matrícula vence el 17/11/2008



APOSTILLA

(Convención de La Haya de Octubre 5, 1961)

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público

2. ha sido firmado por L. Edelen

3. actuando en su calidad de Funcionario de Certificación

4. lleva el sello de Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unidos

Certificado

5. En Washington, D. C.

6. El once de Marzo, 2008

7. por el Funcionario de Autenticación, Departamento de Estado de Estados Unidos

8. No: 08015089-1

9. Sello:

10. Firma:

(fdo) ilegible

Fernesia T. Crawford

(Sello en relieve)

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

Bogotá, D. C., Mayo 7, 2008

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2008 MAY 7 11:22
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
158816
DORA DUEÑE
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

DORA DUEÑE DE JORNAL
INTERPRETE CIVIL
RES. 2755/03 MINJUSTICIA
COLOMBIA BOGOTA D.C.

Esta copia coincide con el original
que tuvo a la vista.
Bogotá, D.C.
08 MAY 2008
AGUSTIN MORALES RIVEIRA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

VON KREISLER, SELTING, WERNER
Patentanwälte
Postfach 10 22 41
D-50462 Köln
ALLEMAGNE

Av	K	Sg	W	Da	Hi	HP	ME	TW	JH	KB
06. DEZ. 2007										
CS	K	TE								

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

03.12.2007

Applicant's or agent's file reference
062130wo JH/kw

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2006/033868

International filing date (day/month/year)
30.08.2006

Priority date (day/month/year)
31.08.2005

Applicant
MONSANTO TECHNOLOGY LLC et al

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Rauf, Anna

Tel. +49 89 2399-7548



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 062130wo JH/cw	FOR FURTHER ACTION	See Form PCT/PEA/416
International application No. PCT/US2006/033868	International filing date (day/month/year) 30.08.2006	Priority date (day/month/year) 31.08.2005
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C07K14/325		
Applicant MONSANTO TECHNOLOGY LLC et al		
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau) a total of <u>6</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).		
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand 2007-07-02	Date of completion of this report 03.12.2007	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer PUONTI-KAERLAS, J Telephone No. +49 89 2399-7888 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/US2006/033868

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):*

Description, Pages

1-23 as originally filed

Sequence listings part of the description, Pages

1-34 as originally filed

Claims, Numbers

1-36 received on 02.07.2007 with letter of 02.07.2007

- ☒ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing
3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing *(specify):*
 - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify):*
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing *(specify):*
 - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify):*

* If item 4 applies; some or all of these sheets may be marked "superseded."

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US2006/033868

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-20,23-31,34-36</u>
	No: Claims	<u>21,22,32,33</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-20,23-31,34-36</u>
	No: Claims	<u>21,22,32,33</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-36</u>
	No: Claims	-

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/US2006/033868

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report was established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☒ filed together with the international application in electronic form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination
 - ☐ received by this Authority as an amendment* on
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:
- * If item 4 in Box No. 1 applies, the listing and/or table(s) related thereto, which form part of the basis of the report, may be marked "superseded."

Re Item V

- 1.1. Present application shows that a chimeric synthetic cry1Ab protein having the amino acid sequence according to SEQ ID NO: 2 has a broad insecticidal activity range and can be expressed in transgenic plant without phytotoxic effects.
- 1.2. Reference is made to the following documents:
D1: WO 02/14517 A (MONSANTO TECHNOLOGY LLC [US]) 21 February 2002 (2002-02-21)
D6: WO 03/093484 A (BAYER BIOSCIENCE N V [BE]) 13 November 2003 (2003-11-13)
- 1.3. Document D1 discloses chimeric synthetic Cry1Ab proteins with broadened insect host range. The protein disclosed in SEQ ID NO: 34 is 98.9% identical with that having the amino acid sequence according to SEQ ID NO: 2 of the current application over the whole length. Amino acids 460-650 comprise a region which is 100% identical with amino acids 461-650 of SEQ ID NO: 2. The nucleotide sequence encoding said protein has 16 out of 19 and 19 out of 20 nucleotides identical with nucleotides 1401-1420 and nucleotides 1821-1840 of SEQ ID NO: 1 of the current application. D1 also discloses methods for detecting said polynucleotides/proteins in a sample.

Document D6 discloses a modified Cry1Ab protein having no phytotoxic effects. The overall identity of said protein with that according to SEQ ID NO: 2 of the current application is 90%, amino acids 10-466 of SEQ ID NO: 2 of the current application are 100% identical with the amino acids 11-467 of the protein disclosed in D6.

2. Novelty and inventive step
 - 2.1. Claims 21,22,33 and 32 are not new in view of document D1, thus failing to fulfil the requirements of Art. 33(2) PCT.
 - 2.2. Although the prior art presently available to the IPEA discloses various chimeric Cry proteins and segments of the claimed chimeric protein, it neither discloses nor suggests a chimeric protein having an amino acid sequence according to SEQ ID NO: 2.

Consequently, present claims 1-20, 23-31 and 34-36 meet the requirements of Art. 33(2)(3) PCT.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2006/033868

Further comments:

- 1.1. From the description it is clear that expression of the Cry protein in the transgenic plants is an essential feature required for the technical effect of insect resistance. This essential feature is not present in claims 34-36.
- 1.2. The use of the term "about" in claims 23-30 and 34 renders the scope of said claims unclear (Art. 6 PCT).

Substitute Sheet

Claims

What is claimed is:

1. An isolated polynucleotide encoding an insecticidal protein comprising an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from amino acid position 10 through amino acid position 600.
2. The isolated polynucleotide of Claim 1 selected from the group consisting of SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:3.
3. The isolated polynucleotide of Claim 2 for use in expressing said insecticidal protein in a crop plant.
4. The isolated polynucleotide of Claim 3 wherein said crop plant is selected from the group consisting of a monocotyledonous crop plant and a dicotyledonous crop plant.
5. The isolated polynucleotide of Claim 4 wherein said monocotyledonous plant is selected from the group of plants consisting of corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley.
6. The isolated polynucleotide of Claim 4 wherein said dicotyledonous plant is selected from the group of plants consisting of alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable.
7. An isolated and purified insecticidal protein comprising an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO: 2 from amino acid position 10 through amino acid position 600.

Substitute Sheet

8. A composition comprising an insecticidally effective amount of the isolated and purified protein of Claim 7.
9. An expression cassette for use in expressing an insecticidal protein having an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 in a host cell, wherein said expression cassette comprises in operable linkage a promoter sequence functional in said host cell and a polynucleotide encoding said protein.
10. The expression cassette of Claim 9 wherein said host cell is selected from the group consisting of a bacterial cell, a fungal cell, a mammalian cell, and a plant cell.
11. The expression cassette of Claim 10 wherein
 - (a) said bacterial cell is selected from the group consisting of a *Bacillus* species cell, a *Enterobacteriaceae* species cell, a *Pseudomonas* species cell, a *Clostridium* species cell, and a *Rhizobium* species cell, and a *Agrobacterium* species cell; and
 - (b) said plant cell is selected from the group of plants consisting of a dicotyledonous plant and a monocotyledonous plant, said dicotyledonous plant being further selected from the group consisting of alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable, and said monocotyledonous plant being further selected from the group consisting of corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley.
12. The expression cassette of Claim 9 wherein said host cell is a plant cell and said expression cassette further comprises in operable linkage a polynucleotide selected from the group consisting of an expression enhancer sequence, an untranslated leader sequence, an intron sequence, a chloroplast targeting peptide encoding sequence, and a transcription termination and polyadenylation sequence.
13. A vector comprising the expression cassette of any of Claims 9 through Claim 12.

94

Substitute Sheet

14. A transgenic plant or plant cell resistant to lepidopteran insect infestation comprising a polynucleotide encoding a protein exhibiting an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from amino acid position 10 through amino acid position 600, wherein said protein exhibits insecticidal activity when expressed in said plant or plant cell.
15. The transgenic plant or plant cell of claim 14 wherein said transgenic plant is selected from the group consisting of a dicotyledonous plant and a monocotyledonous plant, said dicotyledonous plant being further selected from the group consisting of alfalfa, apple, apricot, asparagus, bean, berry, blackberry, blueberry, canola, carrot, cauliflower, celery, cherry, chickpea, citrus tree, cotton, cowpea, cranberry, cucumber, cucurbit, egg plant, fruit tree, grape, lemon, lettuce, linseed, melon, mustard, nut bearing tree, okra, orange, pea, peach, peanut, pear, plum, potato, soybeans, squash, strawberry, sugar beet, sunflower, sweet potato, tobacco, tomato, turnip, and vegetable, and said monocotyledonous plant being further selected from the group consisting of corn, wheat, oat, rice, sorghum, milo, buckwheat, rye, grass (fescue, timothy, brome, orchard, St. Augustine, Bermuda, bentgrass), and barley.
16. The transgenic plant or plant cell of claim 15 resistant to lepidopteran insect infestation, wherein said lepidopteran insect is selected from the group consisting of a leaf roller, a cutworm, an armyworm, a borer, a bagworm, and a forage feeder.
17. The transgenic plant or plant cell of claim 16, wherein said lepidopteran insect is further selected from the group consisting of a fall armyworm, a European corn borer, a corn earworm or cotton bollworm, a southwestern corn borer, and a black cutworm.
18. Progeny or seed of the transgenic plant or plant cell of claim 15, wherein said progeny or seed comprise said polynucleotide.
19. A method for controlling lepidopteran insect infestation of a plant by providing in the diet of the insect one or more plant cells transformed with a nucleic acid comprising in operable linkage a plant functional promoter and a polynucleotide encoding a protein that exhibits an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from amino acid position 10 through amino acid position 600 exhibiting lepidopteran insecticidal activity.

Substitute Sheet

20. The expression cassette of claim 12 comprising a polynucleotide selected from the group consisting of SEQ ID NO:5 and SEQ ID NO:7.
21. A method of identifying in a biological sample a polynucleotide encoding a Cry1A.105 protein exhibiting an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from about amino acid position 10 through about amino acid position 600, said method comprising contacting said sample with a polynucleotide probe that hybridizes to the polynucleotide under stringent hybridization conditions and detecting the binding of said polynucleotide probe to said polynucleotide, wherein said binding is diagnostic for the presence of said polynucleotide in said sample.
22. A method of identifying in a sample a Cry1A.105 protein exhibiting an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from about amino acid position 10 through about amino acid position 600, said method comprising contacting said sample with an antibody that binds specifically to said protein, and detecting the binding, wherein said binding is diagnostic for the presence of said protein in said sample.
23. An isolated polynucleotide encoding an insecticidal protein exhibiting an amino acid sequence as set forth at SEQ ID NO:2 from about amino acid 1 through about amino acid 612.
24. An isolated polynucleotide encoding an insecticidal protein as set forth at SEQ ID NO:2 from about amino acid 1 through about amino acid 610.
25. The isolated polynucleotide of Claim 23 exhibiting at least about 90% identity to the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:1.
26. The isolated polynucleotide of Claim 23 exhibiting at least about 90% identity to the nucleotide sequence as set forth at SEQ ID NO:3.
27. A hybrid insecticidal protein comprising an amino acid segment comprising from about 500 to about 600 contiguous amino acids selected from the amino acid segment as set forth at SEQ ID NO:2 from about amino acid position 10 through about amino acid position 600.

196

Substitute Sheet

28. A composition comprising an insecticidally effective amount of a CryIA.105 protein exhibiting an amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 from about amino acid position 10 through about amino acid position 600, wherein said composition is selected from the group consisting of a plant cell, a bacterial cell, a fungal cell, a colloid, an emulsion, a seed coating, a bait, and a powder.
29. The composition of claim 28 wherein said CryIA.105 protein is present in an amount from about 0.5 to about 200 parts per million (PPM).
30. The composition of claim 29 wherein said CryIA.105 protein is present in an amount from about 0.5 to about 20 PPM.
31. The composition of claim 29 wherein said composition is a plant cell or a group of plant cells.
32. The composition of claim 31 wherein the polynucleotide encoding the insecticidally effective amount of said CryIA.105 protein is present in an amount detectable using a probe that is or is complementary to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:1 from nucleotide position 1401-1420 and SEQ ID NO:1 from nucleotide position 1821-1840.
33. The composition of claim 31 wherein said insecticidally effective amount of said protein is sufficient to control a lepidopteran genus plant pest when provided in the diet of said pest, said pest being selected from the group consisting of *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia*, and *Armigera*.
34. A method for protecting a crop in a field from lepidopteran insect infestation comprising growing a transgenic crop plant comprising an insecticidally effective amount of a CryIA.105 protein insecticidal agent in the diet of the lepidopteran insect to inhibit the insect from surviving on said transgenic crop plant, wherein said insecticidal agent comprises an amino acid sequence from about amino acid position 10 through about amino acid position 600 as set forth in SEQ ID NO:2.
35. The method of claim 34, wherein said transgenic crop plant further comprises an additional insecticidal agent toxic to the same insect species as the CryIA.105 and is selected from the group consisting of a *Bacillus* toxin, a *Xenorhabdus* toxin, a *Photorhabdus* toxin, and a dsRNA specific for suppression of one or more essential genes in said insect species.

147

Substitute Sheet

36. The method of claim 34 or 35 wherein the yield of said crop is improved compared to the yield of an isogenic crop lacking said insecticidal agent or agents.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De: LA ADMINISTRACIÓN DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL

Destinatario: VON KREISLER, SELTING, WERNER Patentanwälte Postfach 10 22 41 D-50462 Colonia ALEMANIA		PCT NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD (Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes) (Regla 71.1 del PCT)	
		Fecha de expedición: 03/12/2007	
Referencia del expediente del solicitante o del mandatario 062130wo JH/cw		NOTIFICACIÓN IMPORTANTE	
Solicitud internacional N° PCT/US2006/033868	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 30 de agosto de 2006 (30.08.2006)	Fecha de prioridad (día/mes/año) 31 de agosto de 2005 (31.08.2005)	
Solicitante MONSANTO TECHNOLOGY LLC & al			
1. Se notifica al solicitante que la Administración encargada del examen preliminar internacional ha emitido el informe de examen preliminar internacional para la solicitud internacional y se lo transmite adjunto, acompañado, si procede, de sus anexos. 2. Se transmite una copia del presente informe y, si procede, de sus anexos, a la Oficina Internacional para comunicación a todas las Oficinas elegidas. 3. Si alguna Oficina elegida lo exige, la Oficina Internacional realizará una traducción en inglés del informe (con exclusión de sus anexos) y la transmitirá a las Oficinas interesadas. 4. RECORDATORIO Para iniciar la fase nacional ante cada Oficina elegida, el solicitante debe cumplir ciertos actos (presentación de traducción y pago de las tasas nacionales) en el plazo de 30 meses desde la fecha de prioridad (o más tarde por lo que respecta a ciertas Oficinas) (Artículo 39.1)) (véase también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional en el formulario PCT/IB/301). Cuando deba entregarse una traducción de la solicitud internacional a una Oficina elegida, se incluirá la traducción de cualquier anexo del informe de examen preliminar internacional. Corresponde al solicitante preparar la traducción en cuestión y entregarla directamente a cada Oficina elegida interesada. Para más amplios detalles en lo relativo a los plazos aplicables y las exigencias de las Oficinas elegidas, véase el Volumen II de la Guía del Solicitante PCT. Se llama la atención del solicitante sobre el Artículo 33.5 que prevé que los criterios de novedad, actividad inventiva y de aplicación industrial definidos en el Artículo 33.2 a 4 sólo servirán a los efectos del examen preliminar internacional, y que "todo Estado contratante puede aplicar criterios adicionales o diferentes al objeto de decidir, en ese Estado, si la invención es patentable o no" (véase también el Artículo 27.5). Tales criterios adicionales pueden afectar, por ejemplo, a las excepciones de patentabilidad, requisitos específicos relativos a la divulgación, la claridad de las reivindicaciones o sobre la cuestión de si las reivindicaciones se fundan en la descripción.			
Nombre y dirección postal de la Administración encargada del examen preliminar internacional Oficina Europea de Patentes D-80298 Munich Tel: +49 89 2399 - o Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Funcionario autorizado (Firmado, legible), Rauf, Anna Tel: +49 89 2399-7548	

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes)

(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Referencia del expediente del solicitante

Número del mandatorio 002130 WO 314/CW		PARA CONTINUAR LA TRAMITACIÓN		Véase formulario PCT/IPEA/416	
Solicitud internacional Nº		Fecha de presentación internacional			
PCT/US2006/033868		(día/mes/año) 30/08/2006		Fecha de prioridad (día/mes/año) (31/08/2005)	
Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o a la vez clasificación nacional y CIP					
INV. C07K14/325					
Solicitante MONSANTO TECHNOLOGY LLC et al					

1. El presente informe preliminar internacional sobre patentabilidad, se establece por esta Administración encargada del examen preliminar internacional según el Artículo 35 y se transmite al solicitante conforme al Artículo 36.

2. Este INFORME comprende 6 hojas, incluida la presente primera hoja.

3. Este informe también contiene ANEXOS, que comprenden:

a. (remitido al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de 6 hojas descritas a continuación:

hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos que han sido modificadas y que sirven de base al presente informe, y/o de hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Administración (véase la Regla 70.16 y la Instrucción Administrativa 607 del PCT).

hojas que reemplazan a otras hojas anteriores, pero que esta Administración considera que contienen modificaciones que se extienden más allá de la divulgación de la invención tal como fue originalmente presentada, según se indica en el punto 4 del Recuadro I y en el Recuadro Suplementario.

b. (remitido únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de soporte(s) electrónico(s)) , que contiene una lista de secuencias y/o tabla(s) relativas(s), solo en formato electrónico, como se indica en el Recuadro Suplementario relativo a listas de secuencias (ver Instrucción Administrativa 802).

4. El presente informe contiene indicaciones relativas a los puntos siguientes:

X

Recuadro I Base de este informe

Recuadro II Prioridad

Recuadro III No formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial

Recuadro IV Falta de unidad de invención

X

Recuadro V Declaración motivada según el Artículo 35.2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Recuadro VI Ciertos documentos citados

Recuadro VII Defectos en la solicitud internacional

Recuadro VIII Observaciones relativas a la solicitud internacional

Fecha de presentación de la solicitud de examen preliminar internacional	Fecha de finalización del presente informe
02 de julio de 2007 (02.07.2007)	03 de diciembre de 2007 (03.12.2007)
Nombre y dirección postal de la Administración encargada del examen preliminar internacional	Funcionario autorizado
Oficina Europea de Patentes D-80298 Munich Tel: +49 89 2399 – o Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	(Firmado, ilegible), PUONTI-KAERLAS, J Tel: +49 89 2399-7888

Formulario PCT/IPEA/409 (primera hoja) (Abril 2005)

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE
PATENTABILIDAD

Solicitud internacional N°
PCT/US2006/033868

Recuadro I.	Base de este informe
1. Por lo que respecta al idioma, este informe se ha establecido sobre la base: de la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó de una traducción del idioma original al siguiente idioma _____, que es el de una traducción proporcionada a los fines de: búsqueda internacional (según Reglas 12.3.a) y 23.1.b)) publicación de la solicitud internacional (según Regla 12.4.a)) examen preliminar internacional (según Reglas 55.2 y/o 55.3.a)) 2. Por lo que respecta a los elementos de la solicitud internacional, esta opinión se ha establecido sobre la base de (las hojas de reemplazo que hayan sido enviadas a la Oficina Receptora en respuesta a un requerimiento según el Artículo 14 se las denomina en este informe como "inicialmente presentadas" y nose anexan al informe): la solicitud internacional tal y como fue inicialmente presentada/enviada la descripción: páginas <u>1-23</u> tal como se presentaron/enviaron inicialmente el listado de secuencias que forma parte de la descripción páginas <u>1-34</u> tal como se presentaron/enviaron inicialmente las reivindicaciones: páginas <u>1-36</u> recibidas el 02/07/2007 por carta del 02/07/2007 una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s) - ver Recuadro Suplementario relativo a listas de secuencias 3. Las modificaciones han ocasionado la anulación de: la descripción, hojas NINGUNA _____ las reivindicaciones, Nos. NINGUNA _____ los dibujos, hojas/fig. NINGUNA _____ la lista de secuencias (precisar): NINGUNA _____ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (precisar): NINGUNA _____ 4. El presente informe ha sido establecido como si no se hubiesen presentado (algunas de) las modificaciones anexas a este informe y listadas abajo, ya que se ha considerado que iban más allá de la divulgación de la invención tal como fue presentada, como se indica en el Recuadro Suplementario (Regla 70.2.c)). la descripción, hojas _____ las reivindicaciones, Nos. _____ los dibujos, hojas/fig. _____ la lista de secuencias (precisar): _____ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (precisar): _____ • Si se utiliza el punto 4, algunas o todas estas páginas pueden llevar el sello de "sustituida"	
Formulario PCT/ISA/400 (Abril 2005)	

2011

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD		Solicitud internacional N° PCT/US2006/033868
Recuadro V. Declaración motivada según el Artículo 35.2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración		
1. Declaración		
Novedad	Reivindicaciones: 1-20,23-31,34-36	SI
	Reivindicaciones: 21,22,32,33	NO
Actividad inventiva	Reivindicaciones: 1-20,23-31,34-36	SI
	Reivindicaciones: 21,22,32,33	NO
Aplicación industrial	Reivindicaciones: 1-36	SI
	Reivindicaciones: NINGUNA	NO
2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)		
<u>Ver hoja anexa.</u>		

903

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N°

SOBRE PATENTABILIDAD

PCT/US2006/033868

(HOJA SEPARADA)

Re Artículo V

1.1. La presente solicitud muestra que una proteína cry1 Ab quimérica sintética que tiene la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID N°:2 tiene un amplio rango de actividad insecticida y se puede expresar en una planta transgénica sin efectos fitotóxicos.

1.2. Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: WO 02114517 A (MONSANTO TECHNOLOGY LLC [US]) 21 de febrero de 2002 (2002-02-21)

D6: WO 03/093484 A (BAYER BIOSCIENCE N V [BE]) 13 de noviembre de 2003 (2003-11-13)

1.3. El Documento D1 revela proteínas quiméricas sintéticas Cry1Ab con un rango de huéspedes de insectos ampliado. La proteína revelada en la SEQ ID N°:34 es 98,9% idéntica a la que tiene la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID N°:2 de la presente solicitud sobre la longitud completa. Los aminoácidos 460-650 comprenden una región que es 100% idéntica a los aminoácidos 461-650 de la SEQ ID N°: 2. La secuencia de nucleótidos que codifica dicha proteína tiene 16 de 19 y 19 de 20 nucleótidos idénticos a los nucleótidos 1401-1420 y los nucleótidos 1821-1840 de la SEQ ID N°: 1 de la presente solicitud. D1 también revela métodos para detectar dichos polinucleótidos/proteínas en una muestra.

El Documento D6 revela una proteína Cry1 Ab modificada sin efectos fitotóxicos. La identidad general de dicha proteína con la de la SEQ ID N°: 2 de la presente solicitud es del 90%, los aminoácidos 10-466 de la SEQ ID N°: 2 de la presente solicitud son un 100% idénticos a los aminoácidos 11-467 de la proteína revelada en D6.

2. Novedad y paso inventivo

2.1. Las reivindicaciones 21, 22, 33 y 32 no son nuevas en vista del documento D1, por lo cual no cumple con los requerimientos de la Sección 33(2) de PCT.

2.2. Aunque la técnica anterior disponible actualmente en IPEA revela diversas proteínas Cry quiméricas y segmentos de la proteína quimérica reivindicada, no revela ni sugiere una proteína quimérica con la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID N°: 2.

En consecuencia, las reivindicaciones de la presente 1-20, 23-31 y 34-36 cumplen con los requerimientos de la Sección 33(2)(3) de PCT.

Comentarios adicionales:

1.1. A partir de la descripción resulta claro que la expresión de la proteína Cry en las plantas transgénicas constituye una característica esencial requerida para el efecto técnico de resistencia a insectos. Esta característica esencial no está presente en las reivindicaciones 34-36.

1.2. El alcance de dichas reivindicaciones se vuelve poco claro (Sección 6 de PCT) debido al uso del término "aproximadamente" en las reivindicaciones 23-30 y 34 .

REIVINDICACIONES:

1. Una secuencia de nucleótidos aislada que codifica una proteína insecticida que comprende una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600.
2. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 1, seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 1 y SEQ ID N° 3.
3. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 2, para usar en la expresión de dicha proteína insecticida en una planta de cultivo.
4. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 3, donde dicha planta de cultivo se selecciona del grupo que consiste en una planta de cultivo monocotiledónea y una planta de cultivo dicotiledónea.
5. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 4, donde dicha planta monocotiledónea se selecciona del grupo de plantas que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.
6. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 4, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona del grupo de plantas que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras.
7. Una proteína insecticida aislada y purificada que comprende una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600.

8. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de la proteína aislada y purificada de la reivindicación 7.
9. Un cassette de expresión para usar en la expresión de una proteína insecticida como se indica en SEQ ID N° 2 en una célula huésped, donde dicho cassette de expresión comprende, unidos operativamente, una secuencia promotora funcional en dicha célula huésped y una secuencia de nucleótidos que codifica dicha proteína.
10. El cassette de expresión de la reivindicación 9, donde dicha célula huésped se selecciona del grupo que consiste en una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de mamífero y una célula vegetal.
11. El cassette de expresión de la reivindicación 10, donde
 - (a) 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*, y
 - (b) dicha célula vegetal se selecciona del grupo de plantas que consiste en una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, bromo, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.

12. El cassette de expresión de la reivindicación 9, 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.
13. Un vector que comprende el cassette de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.
14. Una planta o una célula vegetal transgénica resistente a la infestación por parte de insectos lepidópteros, que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, donde dicha secuencia de aminoácidos presenta actividad insecticida.
15. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 14, donde dicha planta transgénica se selecciona del grupo que consiste en una planta dicotiledónea y una planta monocotiledónea, donde dicha planta dicotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en alfalfa, manzana, albaricoque, espárrago, poroto, baya, zarzamora, arándano, canola, zanahoria, coliflor, apio, cereza, garbanzo, pomelo, algodón, habichuela, grosella, pepino, cucúrbitas, berenjena, árboles frutales, uva, limón, lechuga, semilla de lino, melón, mostaza, nogales, okra, naranja, arveja, durazno, maní, pera, ciruela, papa, soja, frutilla, remolacha, girasol, batata, tabaco, tomate, nabo y verduras, y dicha planta monocotiledónea se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, sorgo, mijo, trigo sarraceno, centeno, pasto (festuca, Timothy, broma, vergel, St. Augustine, Bermuda, pasto quilla) y cebada.

16. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 15, resistente a una infestación por parte de insectos lepidópteros, donde dicho insecto lepidóptero se selecciona del grupo que consiste en un rizador de hojas, una oruga cortadora, una oruga marchadora, un taladro, una oruga de bolsón y un insecto forrajeador.
17. La planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 16, donde dicho insecto lepidóptero se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en una oruga marchadora de otoño, un taladro del maíz europeo, una oruga de la mazorca del maíz (igual a una oruga de los copos de algodón), un taladro del maíz sudoccidental y una oruga cortadora negra
18. Progenie o semillas de la planta o la célula vegetal transgénica de la reivindicación 15, donde dicha progenie o dichas semillas comprenden dicha secuencia de nucleótidos.
19. Un método para controlar una infestación de una planta por parte de insectos lepidópteros, que comprende colocar en la dieta del insecto una o más células vegetales transformadas con una secuencia de ácido nucleico, que comprende, unidos operativamente, un promotor funcional en plantas y una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID N° 2, entre el aminoácido en la posición 10 y el aminoácido en la posición 600, que presenta actividad insecticida contra lepidópteros.
20. El cassette de expresión de la reivindicación 12, que comprende una secuencia de polinucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 5 y SEQ ID N° 7.
21. Un método para identificar una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos Cry1A.105 en una muestra biológica, donde dicho método comprende poner en contacto dicha muestra con un polinucleótido que hibridiza con la secuencia de nucleótidos bajo condiciones de hibridización severas, y detectar la unión de dicho

- polinucleótido a dicha secuencia de nucleótidos, donde dicha unión sirve como diagnóstico para dicha secuencia de nucleótidos en dicha muestra.
22. Un método para identificar una proteína Cry1A.105 en una muestra, donde dicho método comprende poner en contacto dicha muestra con un anticuerpo que se une específicamente a dicha proteína, y detectar la unión, donde dicha unión sirve como diagnóstico para la presencia de dicha proteína en dicha muestra.
 23. Una secuencia de nucleótidos aislada que codifica una proteína insecticida indicada en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 612.
 24. Una secuencia de nucleótidos aislada que codifica una proteína insecticida indicada en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido 1 y aproximadamente el aminoácido 610.
 25. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 23, que presenta al menos aproximadamente 90% de identidad con la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1.
 26. La secuencia de nucleótidos aislada de la reivindicación 23, que presenta al menos aproximadamente 90% de identidad con la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 3.
 27. Una proteína insecticida híbrida que comprende un segmento de aminoácidos, que comprende entre aproximadamente 500 y aproximadamente 600 aminoácidos contiguos seleccionados entre el segmento de aminoácidos indicado en SEQ ID N° 2, entre aproximadamente el aminoácido en la posición 10 y aproximadamente el aminoácido en la posición 600.
 28. Una composición que comprende una cantidad efectiva como insecticida de una proteína Cry1A.105, donde dicha composición se selecciona del grupo que consiste en una cantidad vegetal, una célula bacteriana, una célula

fúngica, un coloide, una emulsión, un recubrimiento para semillas, una carnada y un polvo.

29. La composición de la reivindicación 28, donde dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 200 partes por millón (PPM).
30. La composición de la reivindicación 29, donde dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 20 PPM.
31. La composición de la reivindicación 29, donde dicha composición es una célula vegetal o un grupo de células vegetales.
32. La composición de la reivindicación 31, donde la secuencia de nucleótidos que codifica la cantidad efectiva como insecticida de dicha proteína Cry1A.105 está presente en una cantidad que puede detectarse usando una sonda que es idéntica o complementaria con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1401-1420, y SEQ ID N° 1, incluyendo los nucleótidos entre las posiciones 1821-1840.
33. La composición de la reivindicación 31, donde dicha cantidad efectiva como insecticida de dicha proteína es suficiente para controlar una plaga de plantas perteneciente a un género de lepidópteros cuando se la incluye en la dieta de dicha plaga, donde dicha plaga se selecciona del grupo que consiste en *Anticarsia*, *Pseudoplusia*, *Rachiplusia*, *Heliothis*, *Helicoverpa*, *Spodoptera*, *Epinotia* y *Armigera*.
34. Un método para proteger un cultivo en un campo de una infestación de insectos lepidópteros, que comprende cultivar una planta de cultivo transgénica que comprende una cantidad efectiva como insecticida de un agente proteico insecticida Cry1A.105 en la dieta del insecto lepidóptero, a partir de las plantas de cultivo transgénicas sobrevivientes.

35. El método de la reivindicación 34, donde dicha planta de cultivo transgénica comprende 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.
36. El método de la reivindicación 34 ó 35, 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.

212

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 212

BO
Bogotá D.C.,

Autor(a)
MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO
Acreditado(a) y/o Representante de
INSANTO TECHNOLOGY LLC

REFERENCIA	Radicación No.	8 19688
	Solicitud internacional	PCT/US2006/033868
	Fecha inicio fase nacional	31/03/2008
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No.	8345
	Folios	1

Habiendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el procedimiento indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Se cumplase
Hecho en Bogotá DC,

10 5 JUN. 2009

EX CARMENZA CESPEDES DE VÉRGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

bernand

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

213

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-019688- -00003-0000

Fecha: 2010-02-05 14:56:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 538 PETICION Folios: 2

Señor

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. 08.019.688

Solicitud del examen de patentabilidad correspondiente a la Patente PCT Entrada en Fase Nacional, para:

"SECUENCIAS DE NUCLEOTIDOS QUE CODIFICAN PROTEINAS INSECTICIDAS"

Solicitante: **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

SOLICITUD EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pié de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante, atentamente me permito solicitar a Ud. que se realice el examen de patentabilidad de la patente PCT Entrada en Fase Nacional arriba citada, para lo cual anexo el comprobante de pago No. 10- 8.772 de Febrero 4 de 2010, correspondiente a la tasa establecida para dicha solicitud.

En consecuencia, atentamente solicito a Ud. se anexe este memorial junto con el comprobante de pago al expediente correspondiente a esta solicitud de Patente PCT Entrada en Fase Nacional, y se continúe con su tramitación.

Señor Jefe,


Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. 39.779.654 de Usaquén
T.P.A. No. 70.819 del C. S. J.
Calle 94 A No. 7 A-09 - Bogotá, D.C.
Teléfono (PBX): 7560770

Bogotá,
MCA/gcb/P1577

05 FEB. 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

OFICIAL DE CAJA : 10 - 8,772
: FEBRERO 4 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-019688- -00003-0000

Fecha: 2010-02-05 14:56:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 379 FASENACIONALII
Act. 538 PETICION Folios: 2

***** CONSIGNACION *****

TANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175518232	04/02/2010	11,514,610.00

***** CONCEPTO *****

RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
50005-01-01 SOLICITUDES	114 PTC CAP-II EXAMEN DE PATENTIBILID	470,000.00
	TOTAL :	\$ 470,000.00

CUATROCIENTOS SETENTA MIL PESOS

ISABLE :

DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____