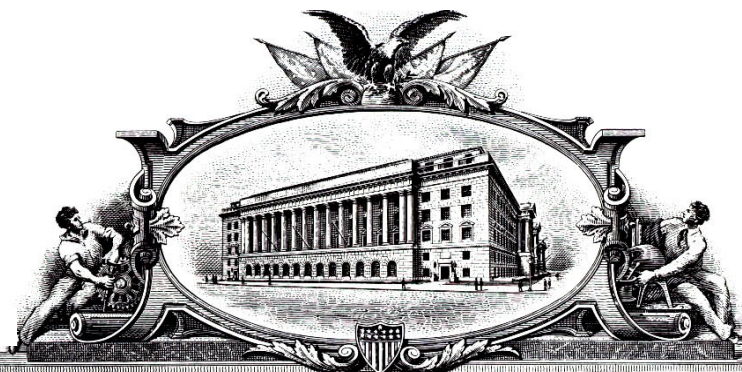


PA 7617607



ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA

A TODOS AQUELLOS A QUIENES CORRESPONDA:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

06 de Enero de 2017

EL PRESENTE DOCUMENTO ES PARA CERTIFICAR QUE ANEXA AL MISMO SE ENCUENTRA UNA COPIA VERDADERA DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA ABAJO QUE REUNE LOS REQUISITOS PARA SER CONCEDIDA UNA FECHA DE PRESENTACION BAJO 35 USC 111.

NÚMERO DE SOLICITUD: 15/135,106

FECHA DE PRESENTACIÓN: 21 de Abril de 2016

EL CODIGO DE PAIS Y EL NUMERO DE SU SOLICITUD DE PRIORIDAD, A USARSE PARA PRESENTAR EN EL EXTRANJERO BAJO LA CONVENCIÓN DE PARIS, ES US15/135,106

Por la Autoridad del
**Subsecretario de Comercio para la Propiedad
Intelectual y el Director de la Oficina de Patentes y
Marcas de los Estados Unidos**

“OFICINA DE
PATENTES Y MARCAS
DE LOS ESTADOS
UNIDOS
DEPARTAMENTO DE
COMERCIO”

(rúbrica)

M. TARVER
Funcionario que certifica

Acuse de Recibo Electrónico

EFS ID:	25560956
Número de Solicitud:	15135106
Número de Solicitud Internacional:	
Número de Confirmación:	8300
Título de la Invención:	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA
Primer Inventor Nombrado/Nombre del Solicitante	Hongxin JIANG
Número de Cliente:	81552
Presentador:	Jonathan M. Cousin
Presentador Autorizado Por:	
Número de Expediente del Abogado:	INGR-036/01US
Fecha de Recepción:	21-ABR-2016
Fecha de Presentación:	
Hora del Sello:	16:56:09
Tipo de Solicitud:	Utilidad bajo 35 USC 111(a)

Información de pago:

Presentado con Pago	sí
Tipo de Pago	Cuenta de depósitos
El Pago fue recibido exitosamente en RAM	\$1600
Número de confirmación de RAM	3667
Cuenta de Depósito	501283
Usuario autorizado	COOLEY LLP

El Director de la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos (USPTO) está autorizado por este medio de hacer el cargo de los honorarios indicados y acreditar cualquier pago en exceso como sigue:

Listado de Archivos:					
Número de Documento	Descripción del Documento	Nombre del Archivo	Tamaño del archivo (Bytes)/ Resumen del mensaje	Multi Part/.zip	Páginas (si aplica)
1	Transmisión de Nueva Solicitud	INGR03601US_Transmittal_.pdf	246519	no	1
			A890e5b743df2cf401df3d07d3d434dd458c51f1		
Avisos:					
Información:					
2	Hoja de Datos de Solicitud	INGR03601US_ADS.pdf	1452174	no	9
			Dcfb9a7f6450a52a19c27ead2dd996d7a859e6d5		
Avisos:					
Información					
Este no es un formato rellenable de ADS proporcionado por la USPTO					
3		INGR03601US_Application.pdf	1347032	sí	50
			e1aaafda987d458b72ec2374c5cab6abcfbcf19c		
	Descripción de Multipartes/Descripción de archivos PDF en .zip				
	Descripción del documento		Inicio	Fin	
	Especificación		1	35	
	Reivindicaciones		36	40	
	Resumen		41	41	
	Dibujos – sólo figuras con líneas en blanco y negro		42	50	
Avisos:					
Información:					
4	Listado de Secuencias (Archivo de Texto)	INGR-036-00US_ST25.txt	11795	no	0
Avisos:					
Información:					
5	Hoja de Cálculo de Honorarios (SB06)	fee-info.pdf	35318	no	2
			1e3dd39f7424f1da1f20ba0e83d907b19d9c1e9a		
Avisos:					
Información:					
Tamaño Total del Archivo (en bytes):			3092838		

Este Acuse de Recibo pone en evidencia la recepción en la fecha anotada por la USPTO de los documentos indicados, caracterizados por el solicitante, e incluye conteos de páginas, donde aplica. Este sirve como evidencia del acuse similar a la Tarjeta Postal, como se describe en MPEP 503.

Nuevas Solicitudes Conforme a 35 U.S.C. 111

Si una nueva solicitud se ha presentado y la solicitud incluye los componentes necesarios para una fecha de presentación (ver 37 CFR 1.53(b)-(d) y MPEP 506), se emitirá un acuse de presentación (37 CFR 1.54) en el curso debido y la fecha mostrada en este acuse de recibo establecerá la fecha de presentación de la solicitud.

Etapas Nacionales de una Solicitud Internacional conforme a 35 U.S.C. 371

Si una presentación en tiempo para entrar en la etapa nacional de una solicitud internacional cumple con las condiciones de 35 U.S.C. 371 y otros requerimientos aplicables, deberá publicarse una Forma PCT/DO/EO/903 que indique la aceptación de la solicitud como una presentación en etapa nacional bajo 35 U.S.C. 371 además de la Recepción de Presentación, en el curso debido.

Nueva Solicitud Internacional Presentada con la USPTO como Oficina Receptora

Si una nueva solicitud internacional se presenta y la solicitud internacional incluye los componentes necesarios para una fecha de presentación internacional (ver Artículo 11 PCT y MPEP 1810), se emitirá una Notificación del Número de Solicitud Internacional y de la Fecha de Presentación Internacional (Forma PCT/RO/105) en el curso debido, sujeta a las disposiciones referentes a la seguridad nacional, y la fecha mostrada en este Acuse de Recibo establecerán la fecha internacional de presentación de la solicitud.

Bajo la Ley de Reducción de Trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido.

TRANSMISIÓN DE SOLICITUD DE PATENTE DE UTILIDAD (Sólo para solicitudes no provisionales bajo 37 CFR 1.53 (b))	Exp. Del Abogado No.	INGR-036/01US
	Primer inventor nombrado	JIANG, Hongxin
	Título	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONAL NOVEDOSA
Etiqueta de correo urgente No.		

ELEMENTOS DE LA SOLICITUD <i>Ver MPEP capítulo 600 sobre los contenidos de solicitud de patente de utilidad</i>	DIRIGIR A : Comisionado de Patentes P.O. Box 1450 Alexandria, VA 22313-1450
1. ☐ Forma de Transmisión Libre (PTO/SB/17 o equivalente) 2. ☐ Estatus de pequeña entidad de las reivindicaciones del solicitante. Ver 37 CFR 1.27. 3. ☐ Estatus de micro entidad de las certificaciones del solicitante. Ver 37 CFR 1.29. El solicitante debe adjuntar el formato PTO/SB/15a o equivalente. 4. ☒ Especificación [Total de páginas: <u>41</u>] Tanto las reivindicaciones como el resumen deben empezar en una nueva página (Para información del acomodo preferido, ver MPEP 608.01(a)) 5. ☒ Dibujo(s) (35 U.S.C. 113) [Total de hojas: <u>9</u>] 6. Juramento o Declaración del Inventor [Total de hojas: <u> </u>] (Incluyendo declaraciones sustitutas bajo 37 CFR 1.64 y cesiones que sirvan como juramento o declaración bajo 37 CFR 1.63(e)) a. ☐ Recién ejecutado (original o copia) b. ☐ Una copia de una solicitud previa (37 CFR 1.63 (d)) 7. ☒ Hoja de Datos de Solicitud. *Ver Nota abajo. Ver 37 CFR 1.76 (PTO/AIA/14 o equivalente) 8. ☐ CD-ROM o CD-R por duplicado, tabla extensa o Programa de Computadora (Apéndice) ☐ Tabla de Impresión en CD 9. Secuencia de Presentación de Nucleótidos y/o Aminoácidos (si aplica, se requieren los artículos a. – c.) a. ☒ Forma Legible por Computadora (CRF) b. ☐ Especificación de la Lista de Secuencias en: i. ☐ CD-ROM o CD-R (2 copias); o ii. ☐ Papel c. ☐ Declaraciones que verifican la identidad de las copias anteriores	PARTES DE SOLICITUD DE ACOMPAÑAMIENTO 10. ☐ Papeles de Cesión (Hoja de cubierta & documento(s)) Nombre del Cesionario _____ _____
11. ☐ Declaración 37 CFR 3.73(b) ☐ Documento de Poder (cuando hay un cesionario) 12. ☐ Documento de traducción de inglés (si aplica) 13. ☐ Declaración de Divulgación de Información (PTO/SB/08 ó PTO-1449) ☐ Copias o citas adjuntas 14. ☐ Enmienda preliminar 15. ☐ Tarjeta Postal de Acuse de Recibo (MPEP 503) (Deberá estar específicamente detallado) 16. ☐ Copia Certificada de Documento(s) de Prioridad (si se reivindica prioridad extranjera) 17. ☐ Solicitud de No Publicación Bajo 35 U.S.C. 122(b)(2)(B)(i). El solicitante deberá adjuntar la forma PTO/SB/35 o equivalente. 18. ☐ Otro: _____ _____	

***NOTA:** (1) Las reivindicaciones de beneficio bajo 37 CFR 1.78 y reivindicaciones de prioridad extranjera bajo 1.55 se deben incluir en una Hoja de Datos de Solicitud (ADS).
(2) Para solicitudes presentadas bajo 35 U.S.C. 111, la solicitud debe contener una ADS que especifica el solicitante si el solicitante es un cesionario, persona a quién el inventor está obligado a ceder, o persona que de otra forma muestra interés de propiedad suficiente en el tema. Ver 37 CFR 1.46(b)

19. DIRECCIÓN DE CORRESPONDENCIA					
☒ La dirección asociada <u>81552</u> con el Número del Cliente: ☐ Dirección de correspondencia siguiente					
Nombre _____					
Dirección _____					
Ciudad	Estado	Código Postal			
País	Teléfono	Correo Electrónico			
Firma:	/Jonathan M. Cousin/			Fecha:	21 de Abril, 2016
Nombre Impresión/Tipo:	Jonathan Cousin	No. de Registro (Abogado/Agente):	66,418		

Esta recolección de información se requiere por 37 CFR 1.53(b). La información se requiere para obtener o conservar un beneficio por el público el cual es presentar (y por el USPTO procesar) una solicitud. La confidencialidad se rige por 35 U.S.C. 122 y 37 CFR 1.11 y 1.14. Esta recolección se estima que lleve 12 minutos en llenarse, incluyendo reunión, preparación, y presentación de la hoja de forma con los datos llenos de la solicitud para la USPTO. El tiempo variará dependiendo del caso individual. Cualquier comentario de la cantidad de tiempo requerido para completar esta forma y/o sugerencias para reducir esta carga, se debe enviar al Director de Información, Oficina de Patentes y Marcas de E.U., Departamento de Comercio de E.U., P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. NO ENVÍE HONORARIOS O FORMULARIOS LLENOS A ESTA DIRECCION. **ENVIAR A: Comisionado para Patentes, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.**
Si requiere asistencia para completar la forma, llamar al 1-800-PTO-9199 y seleccionar la opción 2.

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD**NOVEDOSA****REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

5 La presente solicitud es una Continuación de la Solicitud de E.U. No. 15/090,926, presentada el 5 de Abril de 2016, la descripción de la cual se incorpora a la presente por referencia en su totalidad para todo propósito.

CAMPO DE LA INVENCION

10 La presente invención se refiere a almidón de maíz derivado de plantas y granos, composiciones y métodos para producir tal almidón.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 El almidón de maíz mutante doble *waxy sugary-2* existente muestra muy buena estabilidad al congelamiento/descongelamiento. Sin embargo, la viscosidad del almidón de maíz *sugary-2* existente fue sustancialmente menor que el almidón de maíz ceroso comercial, tal como almidón AMIOCA^{MR}. Además, la temperatura de adhesión del almidón de maíz mutante doble *waxy sugary-2* existente es sustancialmente menor que el almidón AMIOCA^{MR}. Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica por producir almidón de maíz con buena estabilidad de

130416790 v3

congelación/descongelación, viscosidad incrementada, y/o temperatura más alta de adhesión.

En esta invención, los inventores desarrollaron nuevo almidón de maíz con viscosidad más alta y/o temperatura más alta de adhesión que el almidón de maíz ceroso comercial, tal como almidón AMIOCA^{MR}, mediante la introducción de baja actividad de GBSSI al maíz mutante doble *waxy sugary-2* existente.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona almidón con funcionalidad novedosa que no se ha descubierto en la naturaleza. En algunas modalidades, el almidón comprende un contenido de amilosa de aproximadamente 2% en peso a aproximadamente 20% en peso usando un kit de ensayo de amilosa/amilopectina, por ejemplo, Megazyme^{MR}. En algunas modalidades, el almidón comprende una temperatura de adhesión de almidón acuosa que es al menos aproximadamente 5% mayor que la temperatura de adhesión de almidón de un almidón como es medido usando un Analizador Rapid Visco (RVA, Newport Scientific, Sídney, Australia). En algunas modalidades, el almidón se deriva de una planta de maíz mutante doble *waxy sugary-2* que comprende al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo. En algunas modalidades, la planta de maíz mutante doble *waxy sugary-2* comprende un alelo mutante *su2* recesivo.

130416790 v3

En algunas modalidades, el almidón de la presente invención se produce de plantas que no son transgénicas (es decir, no GMO) para el genotipo que produce el almidón descrito y reclamado.

En algunas modalidades, el contenido de amilosa del almidón es de aproximadamente 8% en peso a aproximadamente 15% en peso.

En algunas modalidades, la temperatura de adhesión acuosa es de aproximadamente 5% a aproximadamente 15% mayor que aquella de un almidón de control.

En algunas modalidades, el almidón comprende además un cambio de entalpía de cristalinidad. En algunas modalidades, el cambio de entalpía de cristalinidad es al menos aproximadamente 30% mayor que un cambio de entalpía de cristalinidad de un almidón de control como es medido usando un calorímetro de barrido diferencial (DSC). En algunas modalidades, el cambio de entalpía de cristalinidad es de aproximadamente 30% a aproximadamente 200% mayor que un cambio de entalpía de cristalinidad de un almidón de control como es medido usando un DSC.

En algunas modalidades, el almidón comprende además una distribución de tamaños de gránulos de almidón, en donde la distribución de los tamaños de gránulos de almidón comprende al menos aproximadamente 40% menos gránulos menores que 5 micras comparados con una proporción de gránulos menores que 5 micras de un almidón de control como es observado usando un microscopio

130416790 v3

electrónico de barrido.

En algunas modalidades, el almidón tiene un gránulo que muestra integridad incrementada comparada con un almidón derivado de la planta de maíz de control observado usando un microscopio electrónico de barrido.

En algunas modalidades, el almidón es capaz de soportar al menos tres ciclos de congelación/descongelación. En algunas modalidades, el almidón es capaz de soportar al menos tres a al menos cinco ciclos de congelación/descongelación.

En algunas modalidades, una planta que produce el almidón de la presente invención se genera por polinización cruzada de una primera planta de maíz que tiene el genotipo de *wxwxsu2su2*, y una segunda planta de maíz que tiene el genotipo *wxSwxSsu2su2*, o el genotipo de *wxSwxsu2su2*. En algunas modalidades, el endospermo de la planta de maíz *waxy sugary-2* tiene una dosis, dos dosis, o tres dosis del alelo *wxS*, y el endospermo tiene el genotipo de *wxSwwxsu2su2su2*, *wxSwxSwxsu2su2su2*, o *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

La presente invención también proporciona métodos para producir el almidón con un perfil de adhesión mejorado. En algunas modalidades, los métodos comprenden introducir al menos un alelo *wxS* en el endospermo de una planta de maíz *waxy*.

La presente invención también proporciona plantas mutantes dobles novedosas. En algunas modalidades, las plantas son

plantas de maíz. En algunas modalidades, las plantas son homocigotas recesivas para el gen de almidón sintasa IIa (*su2*). En algunas modalidades, las plantas son ya sea homocigotas o heterocigotas para un gen de almidón de gránulos unidos mutado sintasa I (GBSSI). En algunas modalidades, el gen GBSSI mutado tiene menos actividad de GBSSI como el gen GBSSI de tipo natural (*Wx*), pero tiene mayor actividad GBSSI que el gen GBSSI de pérdida de función, recesivo (*wx*).

En algunas modalidades, el gen GBSSI mutado tiene aproximadamente 8% a aproximadamente 10% de la actividad de GBSSI del gen GBSSI de tipo natural. En algunas modalidades, el gen GBSSI mutado es el alelo *wx-Stonor* (*wxS*). En algunas modalidades, el gen GBSSI mutado es el alelo *wx-G*, el alelo *wx-B5*, o el alelo *wx-M*.

En algunas modalidades, la planta doble mutante se genera por polinización cruzada de dos plantas precursoras. En algunas modalidades, la primera planta tiene el genotipo de *wxwxsu2su2*. En algunas modalidades, la segunda planta tiene el genotipo de *wxSwxSsu2su2*, o el genotipo de *wxSwxsu2su2*.

En algunas modalidades, el endospermo de la planta tiene una dosis, dos dosis, tres dosis del alelo *wxS*. En algunas modalidades, el endospermo de la planta tiene el genotipo de *wxSwxwxsu2su2su2*, *wxSwxSwxsu2su2su2*, o *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

En algunas modalidades, el almidón producido en el endospermo de

la planta tiene una viscosidad más alta comparada con el almidón producido en el endospermo de una planta mutante recesiva *waxy sugary-2*, doble que tiene el genotipo de *wxwxwxsu2su2su2*.

En algunas modalidades, el almidón producido en el endospermo de la planta tiene una temperatura de adhesión de almidón más alta comparada con el almidón producido en el endospermo de una planta mutante recesiva *waxy sugary-2*, doble que tiene el genotipo de *wxwxwxsu2su2su2*.

La presente invención también proporciona partes de plantas, células de planta, y cultivos de tejidos de las plantas. En algunas modalidades, la parte de la planta es un endospermo, una hoja, una flor, un óvulo, un polen, un rizoma o un vástago. En algunas modalidades, la parte de la planta es una semilla de la plantas.

La presente invención también proporciona almidón extraído de plantas descritas en lo anterior.

La presente invención también proporciona métodos para producir almidón. En algunas modalidades, los métodos comprenden obtener almidón del endospermo de las plantas de la presente invención.

En algunas modalidades, los métodos para producir almidón comprenden desarrollar las plantas de la presente invención, y cosechar las semillas de las plantas.

La presente invención también proporciona métodos para

130416790 v3

producir una semilla. En algunas modalidades, los métodos comprenden cruzar una primera planta precursora con una segunda planta precursora y cosechar la semilla resultante. En algunas modalidades, la primera planta precursora y/o segunda planta precursora es una planta de la presente invención. En algunas modalidades, los métodos comprenden auto-polinizar una planta de la presente invención, y cosechar la semilla resultante.

La presente invención también proporciona métodos para propagar vegetativamente la planta. En algunas modalidades, los métodos comprenden recolectar parte de la planta y regenerar una planta de la parte.

La presente invención también proporciona métodos para producir una planta derivada de las plantas de la presente invención. En algunas modalidades, los métodos comprenden auto-polinizar una planta de la presente invención al menos una vez para producir una planta progenie derivada de la planta. En algunas modalidades, los métodos comprenden cruzar una planta de la presente invención con una segunda planta para producir una progenie de planta.

La presente invención también proporciona métodos para producir una planta transgénica. En algunas modalidades, los métodos comprenden introducir un transgen de interés en una planta de la presente invención. El transgen de interés confiere uno o más fenotipos deseados en la planta.

130416790 v3

La presente invención también proporciona métodos para producir una planta con fenotipos deseados, que comprende editar los genes para producir una secuencia genética en una planta de la presente invención. La secuencia genética confiere uno o más fenotipos deseado en la planta.

La presente invención también proporciona métodos para producir una planta con fenotipos deseados, que comprende inducir una o más mutaciones en una planta de la presente invención para producir una secuencia genética. La secuencia genética confiere uno o más genotipos deseados en la planta.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIGURA 1 representa los perfiles de adhesión del almidón AMIOCA^{MR}, almidón *wxwxwxSU2su2su2*, y almidón de plantas mutantes dobles *waxy sugary-2* con cero, uno, dos o tres dosis del gen *wxS*, como es medido por un Analizador Rapid Visco (RVA) a través del tiempo durante el ciclo de calentamiento-enfriamiento.

La FIGURA 2 representa las propiedades de adhesión del almidón AMIOCA^{MR}, almidón *wxwxwxSU2su2su2*, y almidón de plantas mutantes dobles *awaxy sugary-2* con cero, uno, dos, o tres dosis del gen *wxS*, incluyendo la temperatura de adhesión, RVU pico, RVU de mantenimiento, RVU final, RVU de descomposición y RVU de retroceso.

La FIGURA 3 representa la prueba de estabilidad

130416790 v3

congelación/descongelación del almidón de las plantas mutantes
dobles *waxy sugary-2s* con uno, dos, tres, o cero dosis del gen
wxS, almidón de la semilla *Waxy Stonor*, almidón *wxwxwxSU2su2su2*,
y almidón AMIOCA^{MR}. Los almidones establecidos en lo anterior se
5 presentan en filas, y las imágenes ilustrativas de los genes de
almidón se proporcionan después de la primera congelación-
descongelación (Ciclo 1), después de la tercera
congelación/descongelación (Ciclo 3), y después de la quinta
congelación/descongelación (Ciclo 5).

10 La FIGURA 4 representa las propiedades térmicas del almidón
AMIOCA^{MR}, almidón *wxwxwxSU2su2su2* y almidón de plantas mutantes
dobles *waxy sugary-2* con cero, una, dos o tres dosis del gen
wxS.

15 La FIGURA 5 representa la distribución de tamaño del
gránulo del almidón del almidón de AMIOCA^{MR}, almidón
wxwxwxSU2su2su2, y almidón de plantas mutantes dobles *waxy
sugary-2* con cero, uno, dos o tres dosis del gen *wxS*.

20 La FIGURA 6 representa la morfología de gránulo del almidón
de plantas mutantes dobles *waxy sugary-2* con una, dos, tres o
cero dosis del gen *wxS*, almidón *wxwxwxSU2su2su2*, almidón
AMIOCA^{MR}, y almidón de la semilla *Waxy Stonor*. Se proporcionan
imágenes ilustrativas para cada uno de los almidones referidos
en lo anterior capturados usando un microscopio electrónico de
barrido.

130416790 v3

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

Como se usa en la presente, el verbo "comprende" como se usa en esta descripción y en las reivindicaciones y sus
5 conjugaciones se usan en su sentido no limitante para proponer que los artículos después de la palabra se incluyan, pero los artículos que no se mencionan específicamente no se excluyan.

La invención proporciona composiciones y métodos para producir plantas. Como se usa en la presente, el término
10 "planta" se refiere a cualquier organismo vivo Plantae (es decir, cualquier género/especie en el Reino Vegetal). En algunas modalidades, la planta es capaz de producir almidón, incluyendo pero no limitado a maíz, papa, trigo, tapioca, arroz, papa y sorgo. En algunas modalidades, la planta es una planta de maíz.

15 La invención proporciona partes de la planta. Como se usa en la presente, el término "parte de la planta" se refiere a cualquier parte de una planta incluyendo pero no limitado al embrión, endospermo, brote, raíz, tallo, semilla, estípula, hoja, pétalo, flor, óvulo, bráctea, rama, peciolo, internodo,
20 corteza, pubescencia, caña, rizoma, fronda, hoja, óvulo, polen, estambre y similares.

La invención proporciona genes que comprenden la secuencia de ácidos nucleicos aislada (por ejemplo, de tipo natural, endógena al organismo), quimérica, recombinante o sintética.

130416790 v3

Como se usa en la presente, el término "gen" se refiere a cualquier segmento de ADN asociado con una función biológica. De esta manera, los genes incluyen, pero no se limitan a, secuencia de codificación y/o las secuencias reguladoras requeridas para su expresión. Los genes también pueden incluir segmentos de ADN no expresados que, por ejemplo, forman de secuencias reconocimiento para otras proteínas. Los genes se pueden obtener de una variedad de fuentes, incluyendo clonación de una fuente de interés o sintetización de información de secuencias conocidas o predichas, y pueden incluir secuencias diseñadas para tener parámetros deseados.

La invención proporciona polinucleótidos con cambio de nucleótidos cuando se comparan con una secuencia de referencia de tipo natural. Como se usa en la presente, el término "cambio de nucleótidos" se refiere a, por ejemplo, sustitución, supresión, inserción, de nucleótidos o transposon, como es bien entendido en la técnica. Por ejemplo las mutaciones contienen alteraciones que producen sustituciones adiciones, supresiones silenciosas, o empalme alternativo, que ya sea alteran o no alteran las propiedades o actividades de la proteína codificada o como se producen las proteínas. Un cambio de nucleótidos también puede ser inserción y/o exclusión de un elemento de retrotransposon en el gen.

La invención proporciona polipéptidos con modificación de

130416790 v3

proteínas cuando se comparan con una secuencia de referencia de tipo natural. Como se usa en la presente, el término "modificación de proteína" se refiere a, por ejemplo, sustitución de aminoácidos, modificación de aminoácido, supresión, inserción, o cambio de la actividad de la proteína, como es bien entendido en la técnica.

La invención proporciona polinucleótidos y polipéptidos derivados de secuencias de referencia de tipo natural. Como se usa en la presente, el término "derivado de" se refiere al origen o fuente, y pueden incluir moléculas de origen natural, recombinantes, no purificadas o purificadas. Un ácido nucleico o un aminoácido derivado de un origen o fuente puede tener todas las clases de cambios de nucleótidos o modificación de proteína como son definidos en cualquier lugar en la presente.

La invención proporciona variantes biológicamente activas o variantes funcionales de las secuencias de ácido nucleico y secuencias de polipéptido de la presente invención. Como se usa en la presente, la frase "una variante biológicamente activa" o "variante funcional" con respecto a una proteína se refiere a una secuencia de aminoácidos que se altera por uno o más aminoácidos con respecto a una secuencia de referencia, mientras aún mantiene la actividad biológica sustancial de la secuencia de referencia. La variante puede tener cambios "conservadores", en donde un aminoácido sustituido tiene propiedades

130416790 v3

estructurales o químicas similares, por ejemplo, reemplazo de leucina con isoleucina. La siguiente tabla muestra sustituciones de aminoácidos conservadoras ejemplares. En algunas modalidades, la variante tiene una o más sustituciones de aminoácidos, en donde una o más o todas las sustituciones son aminoácido, tal como Ácido aspártico, Asparagina, Ácido glutámico, o Glutamina.

Residuo Original	Substituciones Muy Sumamente Conservadas	Sustituciones Sumamente Conservadas (de la matriz Blosum90)	Sustituciones conservadas (de la matriz Blosum65)
Ala	Ser	Gly, Ser, Thr	Cys, Gly, Ser, Thr, Val
Arg	Lys	Gln, His, Lys	Asn, Gln, Glu, His, Lys
Asn	Gln; His	Asp, Gln, His, Lys, Ser, Thr	Arg, Asp, Gln, Glu, His, Lys, Ser, Thr
Asp	Glu	Asn, Glu	Asn, Gln, Glu, Ser
Cys	Ser	None	Ala
Gln	Asn	Arg, Asn, Glu, His, Lys, Met	Arg, Asn, Asp, Glu, His, Lys, Met, Ser
Glu	Asp	Asp, Gln, Lys	Arg, Asn, Asp, Gln, His, Lys, Ser
Gly	Pro	Ala	Ala, Ser
His	Asn; Gln	Arg, Asn, Gln, Tyr	Arg, Asn, Gln, Glu, Tyr
Ile	Leu; Val	Leu, Met, Val	Leu, Met, Phe, Val
Leu	Ile; Val	Ile, Met, Phe, Val	Ile, Met, Phe, Val
Lys	Arg; Gln; Glu	Arg, Asn, Gln, Glu	Arg, Asn, Gln, Glu, Ser,
Met	Leu; Ile	Gln, Ile, Leu, Val	Gln, Ile, Leu, Phe, Val
Phe	Met; Leu; Tyr	Leu, Trp, Tyr	Ile, Leu, Met, Trp, Tyr
Ser	Thr	Ala, Asn, Thr	Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Lys, Thr
Thr	Ser	Ala, Asn, Ser	Ala, Asn, Ser, Val
Trp	Tyr	Phe, Tyr	Phe, Tyr
Tyr	Trp; Phe	His, Phe, Trp	His, Phe, Trp
Val	Ile; Leu	Ile, Leu, Met	Ala, Ile, Leu, Met, Thr

130416790 v3

Alternativamente, una variante puede tener cambios "no conservadores", por ejemplo, reemplazo de una glicina con un triptófano. Las variaciones menores análogas también pueden incluir supresión o inserción de aminoácidos, o ambos. La guía en determinar que residuos de aminoácidos se puede sustituir, insertar, o suprimir sin eliminar la actividad biológica o inmunológica se puede encontrar usando en programas de computadora bien conocidos en la técnica, por ejemplo, software DNASTAR. Para los polinucleótidos, una variante comprende un polinucleótido que tiene supresiones (es decir, truncamientos) en el extremo 5' y/o 3'; supresión y/o adición de uno o más nucleótidos en uno o más sitios internos en el polinucleótido de referencia; y/o sustitución de uno o más nucleótidos en uno o más sitios en el polinucleótido de referencia. Como se usa en la presente, un polinucleótido de "referencia" comprende una secuencia de nucleótidos producida por los métodos descritos en la presente. Los polinucleótidos variantes también incluyen polinucleótidos sintéticamente derivados, tales como aquellos generados, por ejemplo, al usar mutagénesis dirigida al sitio pero que aún comprenden actividad del elemento regulador genético. En general, las variantes de un polinucleótido particular o molécula de ácido nucleico, o polipéptido de la invención tendrán al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 91.5%, 92%, 92.5%, 93%, 93.5%, 94%, 94.5%,

130416790 v3

95%, 95.5%, 96%, 96.5%, 97%, 97.5%, 98%, 98.5%, 99%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8%, 99.9% o más de identidad de secuencia a aquellos polinucleótidos/polipéptidos particulares como es determinado por los programas de alineación de secuencia y parámetros como se describe en cualquier lugar en la presente.

Los polinucleótidos variantes también abarcan secuencia derivadas de un procedimiento mutagénico y recombinogénico tal como entrelazado de ADN. Las estrategias para el entrelazado del ADN se conocen en la técnica. Ver, por ejemplo, Stemmer (1994) *PNAS* 91:10747-10751; Stemmer (1994) *Nature* 370:389-391; Cramer y colaboradores (1997) *Nature Biotech.* 15:436-438; Moore y colaboradores (1997) *J. Mol. Biol.* 272:336-347; Zhang y colaboradores (1997) *PNAS* 94:4504-4509; Cramer y colaboradores (1998) *Nature* 391:288-291; y Patentes de E.U.A. Nos. 5,605,793 y 5,837,458. Para las amplificaciones por PCR de los polinucleótidos descritos en la presente, se pueden diseñar cebadores de oligonucleótidos para el uso en las reacciones de PCR para amplificar secuencias de ADN correspondientes del ADNc o ADN genómico extraídos de cualquier planta de interés. Los métodos para diseñar cebadores de PCR y clonación de PCR son conocidos en general en la técnica y se describen en Sambrook y colaboradores (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York).

130416790 v3

Ver también Innis y colaboradores, eds. (1990) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (Academic Press, New York); Innis and Gelfand, eds. (1995) *PCR Strategies* (Academic Press, New York); e Innis y Gelfand, eds. (1999) *PCR Methods Manual* (Academic Press, New York). Los métodos conocidos de PCR incluyen, pero no se limitan a, métodos que usan cebadores pareados, cebadores aminados, cebadores específicos individuales, cebadores degenerados, cebadores específicos de gen, cebadores específicos de vector, cebadores parcialmente no coincidentes y similares.

La invención proporciona plantas transgénicas. Como se usa en la presente, el término "transgénico" se refiere a células, cultivo celulares, organismos (por ejemplo, plantas), y progenie que han recibido un gen extraño o modificado por uno de los diversos métodos de transformación, en donde el gen extraño o modificado es de la misma especie o diferente que la especie del organismo que recibe el gen extraño o modificado.

Gen *waxy*: el gen *waxy* es el gen del almidón unido a gránulo sintasa I (GBSSI). El gen codifica una ADP-glucosa-glucosil transferasa unida a gránulo de almidón (EC 2.4.1.242) responsable para la biosíntesis de amilosa en el endospermo triploide del grano en desarrollo y en el polen haploide y el saco embrionario. "Wx" se refiere al alelo de tipo natural, y "wx" se refiere al alelo mutante de referencia, nulo. Los

130416790 v3

términos *wxS* (también conocido como *wx-Stonor*), *wx-G*, *wx-B5*, y *wx-Mrefer* se refieren a los alelos intermedios que tienen inserción de retrotransposones en el gen *waxy*, como se describe en Wessler y Varagona (PNAS, 82:4177-4181, 1985) y Varagona y colaboradores (The Plant Cell, 4:811-820, 1992), cada uno de los cuales se incorporan en la presente a manera de referencia en su totalidad. Estos alelos intermedios dan por resultado menos actividad de proteína *waxy* en plantas que tienen los alelos que la actividad de la proteína *waxy* en las plantas de tipo natural. El gen *waxy* de maíz codifica la proteína que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1.

wx-Stonor: El alelo *wx-Stonor* en la planta de maíz es provocado por una inserción de retrotransposones en el sitio donador de empalme del intrón 5 del gen *waxy*. Aunque la inserción no afecta la maquinaria de empalme, conduce a un nivel más bajo de actividad enzimática comparado con el alelo de tipo natural (por ejemplo, solo aproximadamente 9.5% de actividad de GBSSI como del tipo natural). Como resultado, las plantas que tienen el alelo *wx-Stonor* tienen un nivel de amilosa más alto que la misma planta que no tiene el alelo *wx-Stonor*.

Gen *Sugary-2*: El gen *Sugary-2* codifica la isoforma de sintasa de almidón IIa (SSIIa, EC 2.4.1.21). "*SU2*" se refiere al alelo de tipo natural, y "*su2*" se refiere al alelo mutante, recesivo. La función de la proteína *Sugary-2* en el maíz se

130416790 v3

describe por Zhang y colaboradores (Plant Molecular Biology, 54(6):865-879, 2004), que se incorpora en la presente a manera de referencia en su totalidad. El gen *SU2* de tipo natural de maíz codifica la proteína de tipo natural que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 2.

Más detalles del gen *waxy* y el gen *sugary-2* en el maíz se describen en las Patentes de E.U.A. Nos. 4428972, 5954883, 6828474, 6960703, y 7678898, cada una de las cuales se incorpora en la presente a manera de referencia en su totalidad.

Almidón AMIOCA^{MR}: el término se refiere a almidón de maíz AMIOCA^{MR} producido por National Starch and Chemical Company, ahora Ingredion Incorporated.

Almidón *wxwxwxSU2su2su2*: el término se refiere a almidón aislado del endospermo de maíz que tiene el genotipo de *wxwxwxSU2su2su2*.

Almidón de *wxwxwxsu2su2su2*: el término se refiere al almidón aislado del endospermo de maíz que tiene el genotipo de *wxwxwxsu2su2su2*, que es el endospermo del mutante recesivo doble *waxy sugary-2*. El gen *waxy* mutado contribuye a su buena estabilidad de congelación/descongelación, y el gen *sugary-2* mutado da por resultado una longitud de cadena ramificada corta. Sin embargo, el almidón tiene baja integridad de gránulos de almidón. Los gránulos se rompen fácilmente, y el almidón tiene baja viscosidad.

130416790 v3

Almidón MELOJEL^{MR}: el término se refiere al almidón de maíz MELOJEL^{MR} producido por National Starch and Chemical Company, ahora Ingredion Incorporated.

5 Planta de maíz de control: el término se refiere a una planta de verificación apropiada para comparación. En algunas modalidades, una planta de verificación puede ser una planta de tipo natural. En algunas modalidades, la planta de verificación es una planta que no tiene un gen *waxy* intermedio como se describe en la presente. En algunas modalidades, la planta de verificación es una planta de maíz que produce un almidón *wxwxwxSU2su2su2* o un almidón *wxwxwxsu2su2su2*. Por consiguiente, en algunas modalidades, la planta de maíz de control es una planta de maíz que no posee el alelo *awx-S* en el endospermo.

15 Almidón de control: los términos se refieren a un almidón de control.

wxSwwxwxsu2su2su2: el término se refiere a un endospermo de maíz con una dosis de *wxS*.

20 Almidón de *wxSwwxwxsu2su2su2*: el término se refiere a un almidón aislado del endospermo de maíz con una dosis de *wxS*, el endospermo que tiene el genotipo *wxSwwxwxsu2su2su2*.

wxSwxSwxsu2su2su2: el término se refiere a un endospermo de maíz con dos dosis de *wxS*.

Almidón de *wxSwxSwxsu2su2su2*: el término se refiere a un almidón aislado de endospermo de maíz con dos dosis de *wxS*, el

130416790 v3

endospermo tiene el genotipo *wxSwxSwxsu2su2su2*.

wxSwxSwxSsu2su2su2: el término se refiere aun endospermo de maíz con tres dosis de *wxS*.

Almidón de *wxSwxSwxSsu2su2su2*: el término se refiere a un
5 almidón aislado de endospermo de maíz con tres dosis de *wxS*, el endospermo tiene el genotipo *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

Los siguientes ejemplos ilustran varios aspectos de la invención. Los ejemplos se deben entender, por supuesto, que son simplemente ilustrativos de solo ciertas modalidades de la
10 invención y no constituyen limitaciones en el alcance de la invención.

Almidón con Funcionalidades Novedosas

En un aspecto, la descripción proporciona un almidón derivado de una planta de maíz mutante doble que comprende un
15 alelo GBSSI intermedio que tiene menos actividad de GBSSI que un gen GBSSI de tipo natural (*Wx*), pero tiene mayor actividad de GBSSI que un gen GBSSI de pérdida de función, recesivo (*wx*). En algunas modalidades, la planta de maíz mutante doble con un alelo GBSSI intermedio es una planta de maíz *waxy sugary-2* que
20 comprende al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo. En algunas modalidades, la planta de maíz *waxy sugary-2* se genera por polinización cruzada de una primera planta de maíz que tiene genotipo de *wxwxsu2su2*, y una segunda planta de maíz que tiene el genotipo de *wxSwxSsu2su2* o el genotipo de *wxSwxsu2su2*. En

130416790 v3

modalidades adicionales, el endospermo de la planta de maíz *waxy sugary-2* tiene una dosis, dos dosis, tres dosis del alelo *wxS*, y el endospermo tiene el genotipo de *wxSwxwxsu2su2su2*, *wxSwxSwxsu2su2su2*, o *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

5 En algunas modalidades, el almidón comprende, un contenido de amilosa de aproximadamente 2% en peso a aproximadamente 20% en peso como es medido usando el kit de ensayo de amilosa/amilopectina Megazyme^{MR}, y una temperatura de adhesión de almidón acuosa que es al menos aproximadamente 5% mayor que
10 la temperatura de adhesión de un almidón de control como es medido usando el análisis RVA.

Contenido de Amilosa. El almidón está comprendido de amilosa y amilopectina. La amilosa es un polímero helicoidal fabricado de unidades de α -D-glucosa, conectados a través de
15 ligaciones glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$. La amilopectina es un polímero sumamente ramificado de glucosa que comprende ligaciones glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ y $\alpha(1\rightarrow6)$. La ramificación se lleva a cabo con las ligaciones $\alpha(1\rightarrow6)$, que se presenta en aproximadamente cada 24 a 30 unidades de glucosa. En algunas modalidades, el
20 contenido de amilosa en el almidón se puede medir usando un kit de ensayo de amilosa/amilopectina, tal como el kit de ensayo de amilosa/amilopectina fabricado por Megazyme^{MR}, como se expone en la sección de Ejemplos.

Una mutación intermedia del gen GBSSI en la planta de maíz
130416790 v3

mutante doble se observó que incrementa el contenido de amilosa en el almidón derivado de la misma con respecto a una planta de maíz de control con el gen GBSSI de alelo nulo. Por ejemplo, el contenido de amilosa de un almidón derivado de una planta de maíz *waxy sugary-2* que comprende al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo se observó que se incrementa con respecto a una planta de maíz de control. En algunas modalidades, el almidón derivado de una planta de maíz con al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo tiene un contenido de amilosa de aproximadamente 2% en peso a aproximadamente 20% en peso, de aproximadamente 4% en peso a aproximadamente 18% en peso, de aproximadamente 5% en peso a aproximadamente 15% en peso, o aproximadamente 8% en peso a aproximadamente 15% en peso, incluyendo todos los valores y su intervalo entre los mismos. En otras modalidades, el contenido de amilosa es de aproximadamente 5% en peso, aproximadamente 6% en peso, aproximadamente 7% en peso, aproximadamente 8% en peso, aproximadamente 9% en peso, aproximadamente 10% en peso, aproximadamente 11% en peso, aproximadamente 12% en peso, aproximadamente 13% en peso, aproximadamente 14% en peso, aproximadamente 15% en peso, aproximadamente 16% en peso, aproximadamente 17% en peso, o aproximadamente 18% en peso, incluyendo todos los valores entre los mismos.

Sin que se limite por la teoría, un incremento en el
130416790 v3

contenido de amilosa se esperaría que disminuya el contenido de amilopectina en el almidón, disminuyendo de esta manera el número total de unidades de glucosa y los grupos de ligación a hidrógeno disponibles para interactuar con un medio acuoso. Tal
5 disminución en la ligación de hidrogeno debe corresponder a una disminución total en la resistencia de la interacción del almidón con el medio acuoso y disminuir las propiedades de adhesión del almidón. Sin embargo, una mejora inesperada en el perfil de adhesión se observó cuando el contenido de amilosa se incrementó
10 en el almidón descrito en la presente. Sin que se desee ser limitado por la teoría, este resultado inesperado se puede atribuir a un incremento en la longitud de cadena ramificada observada en una planta de maíz *waxy sugary-2* que comprende al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo. Las cadenas
15 ramificadas más largas en el almidón presentan más unidades de glucosa, que incrementan el número de interacciones de ligación a hidrógeno con el medio acuoso comparado con las longitudes de cadena ramificadas más cortas.

El perfil de adhesión de un almidón se puede medir por
20 métodos conocidos, tal como usando un Analizador Rapid Visco (RVA) (Newport Scientific, Sídney, Australia). Por ejemplo, el RVA puede medir la temperatura de adhesión (°C), viscosidad pico (RVU), viscosidad de retención (RVU), viscosidad final (RVU), viscosidad de rompimiento (RVU), y viscosidad de retroceso
130416790 v3

(RVU). En algunas modalidades, el perfil de adhesión mejorado permite que se presente la gelatinización, *inter alia*, en una menor cantidad efectiva del almidón y/o en una temperatura de adhesión más alta comparada con un almidón de control. La gelatinización del almidón se refiere a un proceso para romper las ligaciones intermoleculares de las moléculas de almidón en presencia de agua y calor, permitiendo que los sitios de ligación a hidrógeno (por ejemplo, grupos hidroxilo) liguen más agua. Para medir un perfil de adhesión de almidón, una cantidad efectiva de un almidón se puede agregar a una solución acuosa en pH neutro. Por ejemplo, el almidón se puede agregar a una solución acuosa en 8% p/p del nivel de sólidos.

Temperatura de Adhesión. La temperatura de adhesión, como se usa en la presente, se propone para ser medida como se expone en la sección de ejemplos. La temperatura de adhesión del almidón es la temperatura en la cual el hinchamiento inicial de los gránulos de almidón se lleva a cabo cuando se suspende en agua. En algunas modalidades, el almidón descrito en la presente tiene una temperatura de adhesión acuosa que es al menos aproximadamente 5% mayor que la temperatura de adhesión de un almidón de control, como es medido usando el análisis RVA. En algunas modalidades, la temperatura de adhesión acuosa se incrementa por aproximadamente 1% a aproximadamente 100%, aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, aproximadamente 5% a

130416790 v3

aproximadamente 50%, aproximadamente 5% a 40%, aproximadamente 5% a aproximadamente 30%, aproximadamente 5% a aproximadamente 25%, aproximadamente 5% a aproximadamente 20% o aproximadamente 5% a aproximadamente 14%, incluyendo todos los valores y subintervalos entre los mismos. En una modalidad particular, la temperatura de adhesión acuosa es de aproximadamente 5% a aproximadamente 14% mayor que aquella de una planta de maíz de control, tal como una planta de maíz *waxy sugary-2* mutante doble.

En otras modalidades, la temperatura de adhesión acuosa se incrementa por al menos aproximadamente 2%, al menos aproximadamente 3%, al menos aproximadamente 4%, al menos aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 6%, al menos aproximadamente 7%, al menos aproximadamente 8%, al menos aproximadamente 9%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 11%, al menos aproximadamente 12%, al menos aproximadamente 13%, al menos aproximadamente 14%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 16%, al menos aproximadamente 17%, al menos aproximadamente 18%, al menos aproximadamente 19%, o al menos aproximadamente 20% mayor comparada con una temperatura de adhesión de un almidón de control incluyendo todos los valores entre los mismos.

En aún otras modalidades, la temperatura de adhesión acuosa

130416790 v3

se incrementa por 1°C a aproximadamente 20°C, o aproximadamente 5°C a aproximadamente 10°C, incluyendo todos los valores subintervalos entre los mismos. En otras modalidades, la temperatura de adhesión acuosa se incrementa al menos

5 aproximadamente 4°C, al menos aproximadamente 5°C, al menos aproximadamente 6°C, al menos aproximadamente 7°C, al menos aproximadamente 8°C, al menos aproximadamente 9°C, al menos aproximadamente 10°C, al menos aproximadamente 11°C, al menos aproximadamente 12°C, al menos aproximadamente 13°C, al menos

10 aproximadamente 14°C, o en o aproximadamente 15°C comparada con una temperatura de adhesión de un almidón de control.

En aún otras modalidades, el almidón descrito en la presente tiene una temperatura de adhesión acuosa de al menos aproximadamente 50°C, al menos aproximadamente 55°C, al menos

15 aproximadamente 60°C, al menos aproximadamente 65°C, al menos aproximadamente 70°C, al menos aproximadamente 75°C, al menos aproximadamente 80°C, al menos aproximadamente 85°C, al menos aproximadamente 90°C, al menos aproximadamente 95°C, o al menos aproximadamente 100°C. En modalidades particulares, el almidón

20 derivado de una planta de maíz *waxy sugary-2* que comprende al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo tiene una temperatura de adhesión acuosa de aproximadamente 55°C a aproximadamente 68 °C, o de aproximadamente 59°C a aproximadamente 65°C, incluyendo todos los valores subintervalos

130416790 v3

entre los mismos. En todavía otras modalidades, la temperatura de adhesión acuosa es aproximadamente 59°C, aproximadamente 60°C, aproximadamente 61°C, aproximadamente 62°C, aproximadamente 63°C, aproximadamente 64°C, aproximadamente 65°C, aproximadamente 66°C, aproximadamente 67°C, o aproximadamente 68°C, incluyendo todos los valores entre los mismos.

Cambio de Entalpía de la Cristalinidad. El cambio de entalpía de la cristalinidad, como se usa en la presente, se propone para ser medido como se expone en la sección de ejemplos. La cristalización se refiere a procesos de formar cristales sólidos de una solución por precipitación. En algunas modalidades, la introducción de al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo de una planta de maíz mutante doble *waxy sugary-2* se observó que incrementa el cambio de entalpía de cristalinidad con respecto a un almidón de una planta de maíz de control. El cambio de entalpía se puede medir usando, por ejemplo, calorimetría de barrido diferencial (DSC). En algunas modalidades, el cambio de entalpía de cristalinidad se incrementa por aproximadamente 10% a aproximadamente 300%, aproximadamente 10% a aproximadamente 200%, aproximadamente 10% a aproximadamente 150%, aproximadamente 10% a aproximadamente 100%, o aproximadamente 10% a aproximadamente 50%, incluyendo todos los valores y subintervalos entre los mismos. En una de

130416790 v3

tal modalidad, el cambio de entalpía de cristalinidad es de aproximadamente 70% a aproximadamente 200% mayor que un cambio de entalpía de cristalinidad de un almidón de control, como es medido usando a DSC.

5 En algunas modalidades, el cambio de entalpía de cristalinidad se incrementa por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al
10 menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 100%, al menos aproximadamente 110%, al menos aproximadamente 120%, al menos aproximadamente 130%, al menos aproximadamente 140%, al menos aproximadamente 150%, al menos aproximadamente 160%, al menos aproximadamente 170%, al
15 menos aproximadamente 180%, al menos aproximadamente 190%, o al menos aproximadamente 200%, incluyendo todos los valores entre los mismos.

 En algunas modalidades, el cambio de entalpía de cristalinidad es de aproximadamente 1J/g a aproximadamente 20
20 J/g, aproximadamente 5 J/g a aproximadamente 15 J/g, aproximadamente 6 J/g a aproximadamente 13 J/g, incluyendo todos los valores y subintervalos entre los mismos. En otras modalidades, el cambio de entalpía de cristalinidad de 8% p/p es de aproximadamente 4 J/g, aproximadamente 5 J/g, aproximadamente
130416790 v3

6 J/g, aproximadamente 7 J/g, aproximadamente 8 J/g,
aproximadamente 9 J/g, aproximadamente 10 J/g, aproximadamente
11 J/g, aproximadamente 12 J/g, aproximadamente 13 J/g,
incluyendo todos los valores entre los mismos. En una modalidad
5 particular, la planta de maíz comprende un alelo wxS en el
endospermo, y el cambio de entalpía de cristalinidad es al menos
aproximadamente 150% mayor que aquella de un almidón derivado de
una planta de control con el genotipo de endospermo de
wxwxwxsu2su2su2. En otra modalidad particular, la planta de maíz
10 comprende dos alelos wxS en el endospermo, y el cambio de
entalpía de cristalinidad es al menos aproximadamente 30% mayor
que aquel de un almidón derivado de una planta de control con el
genotipo de endospermo de wxwxwxsu2su2su2. En todavía otra
modalidad particular, la planta de maíz comprende tres alelos
15 wxS en el endospermo, y el cambio de entalpía de cristalinidad
es al menos aproximadamente 75% mayor que aquel de un almidón
derivado de una planta de control con el genotipo de endospermo
de wxwxwxsu2su2su2.

Estabilidad de Congelación-Descongelación. La estabilidad
20 de congelación-descongelación, como se usa en la presente, se
propone para ser medida como se expone en la sección de
ejemplos. En algunas modalidades, el almidón descrito en la
presente muestra características de congelación/descongelación
deseables, por ejemplo, estabilidad de
130416790 v3

congelación/descongelación mejorada. La estabilidad de congelación/descongelación se puede medir al agregar una cantidad efectiva de un almidón al agua para formar una suspensión, que después se cuece y la sinéresis se mide después de ciclos de congelación/enfriamiento. En algunas modalidades, la introducción de al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo de una planta de maíz no redujo la estabilidad de congelación/descongelación del almidón derivado de la misma comparado con un almidón de control. En otras modalidades, la introducción de al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo de una planta de maíz mejoró la estabilidad de congelación/descongelación del almidón. En tal modalidad, el almidón es capaz de soportar un total de al menos tres a al menos cinco ciclos de congelación/descongelación.

Distribución e Integridad de los Gránulos. La distribución e integridad de los gránulos, como se usa en la presente, se propone para ser medida como se expone en la sección de Ejemplos.

En algunas modalidades, la introducción de al menos un alelo *wx-Stonor* (*wxS*) en el endospermo de una planta de maíz se observó que altera la distribución de los tamaños de los gránulos de almidón con respecto a un almidón de control. En algunas modalidades, la distribución de los tamaños de los gránulos de almidón de un almidón descrito en la presente

comprende al menos aproximadamente 40% menos gránulos menores que 5 micras comparadas con una proporción de gránulos menores que 5 micras de un almidón de control, como es observado usando un microscopio electrónico de barrido.

5 Integridad de los gránulos, como se usa en la presente, se refiere a la capacidad del almidón de permanecer como un gránulo intacto después de la disolución en un medio acuoso. En algunas modalidades, el almidón descrito en la presente es un gránulo que muestra integridad incrementada comparado con un almidón
10 derivado de la planta de maíz de control como es observado usando un microscopio electrónico de barrido.

Viscosidad. La viscosidad, como se usa en la presente, se propone que se mida como se expone en la sección de ejemplos. En algunas modalidades, el almidón descrito en la presente tiene
15 una viscosidad pico acuosa que es al menos aproximadamente 10% mayor que la viscosidad pico acuosa de un almidón de control como es medido usando el análisis RVA. En algunas modalidades, la viscosidad pico acuosa se incrementó por aproximadamente 10% a aproximadamente 300%, aproximadamente 10% a aproximadamente
20 250%, aproximadamente 10% a aproximadamente 200%, aproximadamente 10% a aproximadamente 150%, aproximadamente 10% a aproximadamente 100%, o aproximadamente 10% a aproximadamente 50%, incluyendo todos los valores y subintervalos entre los mismos. En algunas modalidades, la viscosidad pico acuosa se

130416790 v3

incrementó por al menos aproximadamente 10%, al menos
aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos
aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos
aproximadamente 60% al menos aproximadamente 70%, al menos
5 aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos
aproximadamente 100%, al menos aproximadamente 110%, al menos
aproximadamente 120%, al menos aproximadamente 130%, al menos
aproximadamente 140%, al menos aproximadamente 150%, al menos
aproximadamente 160%, al menos aproximadamente 170%, al menos
10 aproximadamente 180%, al menos aproximadamente 190%, o al menos
aproximadamente 200%, incluyendo todos los valores entre los
mismos.

En algunas modalidades, la viscosidad pico acuosa del
almidón a 8% p/p de sólidos es de aproximadamente 100 RVU a
15 aproximadamente 500 RVU, aproximadamente 100 RVU a
aproximadamente 400 RVU, aproximadamente 100 RVU a
aproximadamente 300 RVU, aproximadamente 100 RVU a
aproximadamente 200 RVU, o aproximadamente 100 RVU a
aproximadamente 150 RVU, incluyendo todos los valores
20 subintervalos entre los mismos. En algunas modalidades, la
viscosidad pico acuosa es de aproximadamente 150 RVU,
aproximadamente 155 RVU, aproximadamente 160 RVU,
aproximadamente 165 RVU, aproximadamente 170 RVU,
aproximadamente 175 RVU, aproximadamente 180 RVU,

130416790 v3

	aproximadamente	185	RVU,	aproximadamente	190	RVU,
	aproximadamente	195	RVU,	aproximadamente	200	RVU,
	aproximadamente	205	RVU,	aproximadamente	210	RVU,
	aproximadamente	215	RVU,	aproximadamente	220	RVU,
5	aproximadamente	225	RVU,	aproximadamente	230	RVU,
	aproximadamente	235	RVU,	aproximadamente	240	RVU,
	aproximadamente	245	RVU,	aproximadamente	250	RVU,
	aproximadamente	255	RVU,	aproximadamente	260	RVU,
	aproximadamente	265	RVU,	aproximadamente	270	RVU,
10	aproximadamente	275	RVU,	aproximadamente	280	RVU,
	aproximadamente	285	RVU,	aproximadamente	290	RVU,
	aproximadamente	295	RVU,	aproximadamente	300	RVU,
	aproximadamente	305	RVU,	aproximadamente	310	RVU,
	aproximadamente	315	RVU,	aproximadamente	320	RVU,
15	aproximadamente	325	RVU,	aproximadamente	330	RVU,
	aproximadamente	335	RVU,	aproximadamente	340	RVU,
	aproximadamente	345	RVU,	aproximadamente	350	RVU,
	aproximadamente	355	RVU,	aproximadamente	360	RVU,
	aproximadamente	365	RVU,	aproximadamente	370	RVU,
20	aproximadamente	375	RVU,	aproximadamente	380	RVU,
	aproximadamente	385	RVU,	aproximadamente	390	RVU,

aproximadamente 395 RVU, o aproximadamente 400RVU, incluyendo todos los valores entre los mismos.

En una modalidad particular, la planta de maíz *waxy sugary-130416790 v3*

2 comprende un alelo *wx-Stonor(wxS)* en el endospermo, y el almidón tiene una viscosidad pico de aproximadamente 110% mayor que aquella de una planta de control con el genotipo de endospermo de *wxwxwxsu2su2su2*. En otra modalidad particular, la

5 planta de maíz *waxy sugary-2* comprende dos alelos *wx-Stonor(wxS)* en el endospermo, y el almidón tiene una viscosidad pico de aproximadamente 30% mayor que aquella de una planta de control con el genotipo de endospermo de *wxwxwxsu2su2su2*. En

10 todavía otra modalidad particular, la planta de maíz *waxy sugary-2* comprende tres alelos *wx-Stonor(wxS)* en el endospermo, y el almidón tiene una viscosidad pico de aproximadamente 40% mayor que aquella de una planta de control con el genotipo de endospermo de *wxwxwxsu2su2su2*. En aún otra modalidad particular,

15 la planta de maíz *waxy sugary-2* comprende dos alelos *wx-Stonor(wxS)* en el endospermo, y el almidón tiene una viscosidad pico de aproximadamente 20% mayor que aquella de una planta de control con el genotipo de endospermo de *wxwxwxSU2su2su2*. En aún otra modalidad particular, la planta de maíz *waxy sugary-2* comprende dos alelos *wx-Stonor(wxS)* en el endospermo, y el

20 almidón tiene una viscosidad pico que es al menos aproximadamente 30 % mayor que aquella de una planta de control con el genotipo de endospermo de *wxwxwxSU2su2su2*.

Extracción. La extracción del almidón de las plantas de la presente invención se puede llevar a cabo en una manera estándar

130416790 v3

por el proceso de molienda en húmedo o molienda en seco bien conocido en la técnica, pero no se limita a tales métodos. En un proceso de molienda en húmedo típico, la planta se limpia por fuertes corrientes de aire, tamices y electroimanes para remover el material indeseado. Después se empapó en agua caliente que contiene una pequeña cantidad de dióxido de azufre. El agua empapada se extrae y los granos ablandados se hacen correr a través de molinos de desgaste para separarlos. El germen se remueve y la mezcla restante se muele, se lava y se criba como una suspensión. El almidón se separa del gluten por centrifugación, y el almidón formado en3 suspensión restante después se filtra, se lava, se vuelve a suspender y se vuelve a filtrar.

La extracción de la harina o variantes de la misma de la planta se puede lograr por un proceso de molienda en seco. En un procedimiento típico que es adecuado en la presente pero no exclusivo de otros procedimientos, el grano obtenido de una planta de la presente invención primero se limpia completamente y se hace pasar a través de una esponja y después se temple y se acondiciona y se hace pasar a través de un desgerminador. La solución madre del desgerminador se seca y después se enfría, se hace pasar a través de un separador de maíz machacado y aspirador, se muele, y finalmente se tamiza de acuerdo con si se desean fracciones enteras o separadas.

130416790 v3

Modificación. Se puede entender que algunas modificaciones en cualquiera de los procesos de extracción anteriores tales como, por ejemplo, usando una temperatura de agua densa por abajo de aquella que es comúnmente empleada, puede ser deseable y será fácilmente reconocido por un profesional del almidón.

El almidón en la presente se puede modificar, si se desea, por procedimientos conocidos en la técnica, tal como por derivación para formar éteres o ésteres tales como éteres de hidroxipropilo, acetatos, fosfatos, succinatos, por ejemplo, succinato de octenilo, éteres de aminas terciarias y cuaternarias, etc., o por cualquiera de otras técnicas de modificación que produzcan un almidón que tenga las características definidas en la presente. Los grupos sustituyentes preferidos en la presente son grupos hidroxipropilo, fosfato o acetato.

Para propósitos comerciales, una modificación del almidón en la presente es reticulación a fortalecimiento de los gránulos contra las condiciones de manejo y procesamiento frecuentemente encontradas en las operaciones de producción y de proporcionar un almidón capaz de impartir propiedades reológicas deseables a los sistemas alimenticios. Cualquier agente reticulador conocido en la técnica se puede emplear para este propósito, incluyendo pero no limitado a epiclorohidrina, anhídridos de ácido dicarboxílico lineales, acroleína de ácido cítrico, oxicloruro

130416790 v3

de fósforo, anhídridos de ácido mezclados adípicos/acéticos, y sales de trimetafosfato para sistemas alimenticios y para epiclorohidrina, anhídridos de ácido dicarboxílico lineales, acroleína de ácido cítrico, oxicloruro de fósforo, anhídridos de ácidos mezclados adípicos/acéticos, sales de trimetafosfato, formaldehído, cloruro cianúrico, diisocianatos, y sulfonas de divinilo en los sistemas no alimenticios. La reacción de reticulación se lleva a cabo usando técnica conocidas en el campo, aquellas descritas en las Patentes de E.U.A. Nos. 2,328,537 y 2,801,242. Los procedimientos para modificar almidones se describen en el capítulo "Starch and Its Modification" por M. W. Rutenberg, páginas 22-26 a 22-47, Handbook of Water Soluble Gums and Resins, R. L. Davidson, Editor (McGraw-Hill, Inc., New York, N.Y. 1980).

La cantidad de agente reticulador necesario para proporcionar un producto adecuado variarán dependiendo, por ejemplo, en el tipo de agente reticulador empleado, la concentración de reticulación, las condiciones de reacción, y la necesidad por tener un almidón reticulado que se encuentra dentro del intervalo de viscosidad deseado. El profesional reconocerá cuales cantidades se pueden emplear, ya que están bien conocidas en el campo. Típicamente, esta cantidad variará de tan bajo como aproximadamente 0.001%, en peso del almidón, a tan alto como se considere aceptable para el uso alimenticio.

130416790 v3

Los presentes almidones también se pueden modificar físicamente, tal como por inhibición térmica descrita en WO 95/04082 (publicada el 9 de Febrero de 1995).

Procesamiento. Los almidones también se pueden pre-
5 gelatinizar. Los procesos ejemplares para preparar almidones pre-gelatinizados se describen en la Patente de E.U.A. No. 4,280,851 (Pitchon, y colaboradores), Patente de E.U.A. No. 4,465,702 (Eastman, y colaboradores), Patente de E.U.A. No. 5,037,929 (Rajagopalan), Patente de E.U.A. No. 5,131,953
10 (Kasica, y colaboradores), y Patente de E.U.A. No. 5,149,799 (Rubens). Los procedimientos convencionales para pre-gelatinizar el almidón son bien conocidos por aquellas personas expertas en la técnica y se describen en tales artículos como Capítulo XXII--
--"Production and Use of Pre-gelatinized Starch", Starch:
15 Chemistry and Technology, Vol. III--Industrial Aspects, R. L. Whistler and E. F. Paschall, Editors, Academic Press, New York 1967.

Los presentes almidones se pueden purificar por cualquier método conocido en la técnica para remover resabios y colores
20 que son nativos al almidón y creados durante los procesos de modificación de almidón. Los procesos de purificación preferidos para tratar los presentes almidones se describen en U.S. Ser. No. 07/832,838 presentada el 7 de Febrero de 1992, por Kasica, y colaboradores. Las técnicas de lavado alcalino para los
130416790 v3

almidones propuestos para el uso en ya sea forma granular o pre-gelatinizada, también son útiles se describen en la familia de patentes representadas por la Patente de E.U.A. No. 5,187,272 (Bertalan, y colaboradores).

5 Los productos de conversión derivados de los presentes almidones, incluyendo pero no limitados a fluidez o almidones cocidos preparados por oxidación, conversión de enzimas particularmente por α -amilasa, hidrólisis ácida, calor y/o dextrinización ácida, productos térmicos y divididos también son
10 útiles en la presente.

Plantas que Producen Almidón

La presente invención proporciona plantas que producen almidón descritas en lo anterior. Las plantas productoras de almidón incluyen, pero no se limitan a maíz, papa, trigo,
15 tapioca, arroz, yuca y sorgo.

El almidón de la presente invención se puede extraer de plantas de maíz, tales como del endospermo de la plantas de maíz. Las plantas de maíz que producen el almidón de la presente invención son plantas mutantes dobles del genotipo *waxy/sugry-2*.
20 El gen *waxy* se sitúa en el Cromosoma 9 del maíz mientras que el gen *sugary-2* se sitúa en el Cromosoma 6. (Ver M. G. Nueffer, L. Jones, and M. Zuber, "The Mutants of Maize" (Crop Science Society of America, Madison, WI, 1968), páginas 72 y 73.).

Las plantas de la presente invención son homocigotas
130416790 v3

recesivas para el gen de almidón sintasa IIa (*su2*), y ya sea homocigotas o heterocigotas para un gen de almidón sintasa I ligado a gránulo mutado (*GBSSI*). El gen *GBSSI* mutado tiene menos actividad de *GBSSI* que el gen *GBSSI* de tipo natural (*Wx*), pero
5 tiene actividad de *GBSSI* más alta que el gen *GBSSI* de pérdida de función, recesivo (*wx*). Como se usa en la presente, tal gen mutante *waxy* es llamado un mutante intermedio. En algunas modalidades, el mutante *waxy* intermedio tiene menor que 30%, menor que 25%, menor que 20%, menor que 15%, menor que 10%, o
10 menor que 5% de la expresión del gen *GBSSI* de tipo natural. En algunas modalidades, el mutante *waxy* intermedio tiene aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 11%, aproximadamente 12%, aproximadamente 13%,
15 aproximadamente 14%, o aproximadamente 15% de la expresión del gen *GBSSI* de tipo natural.

Un gen *GBSSI* intermedio que tiene menos actividad de *GBSSI* que el gen *GBSSI* de tipo natural pero mayor actividad de *GBSSI* que el gen *GBSSI* de pérdida de función, recesivo puede ser
20 cualquiera de aquellos previamente conocidos en el campo, o se puede crear por cualquier método de mutagénesis adecuado.

Los alelos mutantes tales como *wxS* (también conocido como *wx-Stonor*), *wx-G*, *wx-B5*, y *wx-M* tienen actividad de *GBSSI* intermedia. Estos alelos mutantes son debido a la inserción de
130416790 v3

retrotransposones en el gen GBSSI, como se describe en Wessler y Varagona (PNAS, 82:4177-4181, 1985) y Varagona y colaboradores (The Plant Cell, 4:811-820, 1992). Estos alelos intermedios dan por resultado una proteína waxy que tiene menos actividad que la proteína waxy de tipo natural.

Los alelos mutantes adicionales que tienen actividad de GBSSI intermedia se pueden crear por métodos adecuados. Por ejemplo, la mutagénesis de retrotransposones se puede usar para generar una población para clasificar plantas de maíz que tengan un gen GBSSI mutado que tenga la actividad de GBSSI intermedia. En algunas modalidades, wxS (también conocido como wx-Stonor), wx-G, wx-B5, y wx-Mcan se pueden usar como materiales de partida para producir alelos mutantes adicionales.

Otros métodos de mutagénesis que se pueden usar para producir alelos mutantes que tienen actividad de GBSSI intermedia incluyen, pero no se limitan a, mutagénesis química, mutagénesis por radiación, mutagénesis de transposones, mutagénesis de inserción, mutagénesis orientada a firma, mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis natural.

Aún en algunas modalidades, el ARN antisentido, ribozima, ARNids, interferencia de ARN (ARNi) se pueden usar para producir alelos mutantes que tienen actividad de GBSSI intermedia. La tecnología de ARN antisentido implica expresar en, o introducir en, una célula una molécula de ARN (o derivado de ARN) que es

130416790 v3

complementario a, o antisentido a, secuencias encontradas en un ARN particular en una célula. Mediante la asociación con el ARNm el ARN antisentido puede inhibir la traducción del producto génico codificado. El uso de la tecnología antisentido para reducir o inhibir la expresión de los genes de plantas
5 específicos se han descrito, por ejemplo en la Publicación de Patente Europea No. 271988, Smith y colaboradores, Nature, 334:724-726 (1988); Smith y colaboradores, Plant Mol. Biol., 14:369-379 (1990)). Una ribozima es un ARN que tiene tanto un dominio catalítico como una secuencia que es complementaria a un
10 ARN particular. La ribozima funciona al asociarse con el ARNm (a través del dominio complementario de la ribozima) y después al escindir (degradar) el mensaje usando el dominio catalítico. La interferencia de ARN (ARNi) es el proceso del silenciamiento
15 génico pos-transcripcional, específico de secuencia pos-silenciamiento génico transcripcional en animales y plantas, iniciado por el ARN de doble hebra (ARNds) que es homólogo en secuencia al gen silenciado. La técnica de ADN_i se plante, por ejemplo, en Elbashir, y colaboradores, Methods Enzymol. 26:199
20 (2002); McManus & Sharp, Nature Rev. Genetics 3:737 (2002); Solicitud de PCT WO 01/75164; Martinez y colaboradores, Cell 110:563 (2002); Elbashir y colaboradores, supra; Lagos-Quintana y colaboradores, Curr. Biol. 12:735 (2002); Tuschl y colaboradores, Nature Biotechnol. 20:446 (2002); Tuschl, 130416790 v3

ChemBiochem. 2:239 (2001); Harborth y colaboradores, J. Cell Sci. 114:4557 (2001); y colaboradores, EMBO J. 20:6877 (2001); Lagos-Quintana y colaboradores, Science 294:8538 (2001); Hutvagner y colaboradores, loc cit, 834; Elbashir y
5 colaboradores, Nature 411:494 (2001).

También dentro del alcance de esta invención es el almidón resultante de los mutantes en donde el mutante wx y/o los alelos su2alleles se han movido a otra porción del genoma de la planta mediante translocación, inversión, o cualquier otro de los
10 métodos de modificación de cromosomas. Además, el almidón extraído de una planta desarrollada de mutaciones artificiales y variaciones de la composición genética anterior que se pueden producir por métodos estándares conocidos de reproducción de mutantes también es aplicable en la presente.

15 También dentro del alcance de esta invención es el almidón producido de plantas diferentes a las plantas de maíz, siempre y cuando las plantas productoras de maíz tengan un ortólogo mutante del gen GBSSI de maíz que tenga actividad de GBSSI intermedia, y un ortólogo mutante recesivo del gen SSIIa de
20 maíz. En algunas modalidades, las plantas pueden ser trigo, tapioca, arroz, yuca, sagú, papa o sorgo.

En algunas modalidades, el gen GBSSI ortólogo en las plantas diferentes al maíz codifica una proteína que tiene al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos
130416790 v3

84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o más de identidad a SEQ ID NO: 1, y

5 tienen la actividad de GBSSI. En algunas modalidades, el ortólogo tiene la secuencia del número de entrada UniProt O82627 (*Antirrhinum majus* (Boca de dragón de jardín)), P12615 (*Avena sativa* (Avena)), Q42968 (*Oryza glaberrima* (Arroz Africano)), Q43784 (*Manihot esculenta* (Casava)), P0C585 (*Oryza*

10 *sativa* (Arroz)), Q00775 (*Solanum tuberosum* (Papa)), P27736 (*Triticum aestivum* (Trigo)), Q43134 (*Sorghum bicolor* (Sorgo)), Q43092 (*Pisum sativum* (Guisante)), P84766 (*Aegilops tauschii* subsp. *strangulata* (Caprino)), Q0DEV5 (*Oryza sativa* subsp. *japonica* (Arroz)), Q42857 (*Ipomoea batatas* (Camote)), P84633

15 (*Fagopyrum esculentum* (Alforfón común)), P84765 (*Secale cereale* (Centeno)), Q9MAQ0 (*Arabidopsis thaliana*), P09842 (*Hordeum vulgare* (Cebada), o A2Y8X2 (*Oryza sativa* subsp. *indica* (Arroz)), cada uno de los cuales se incorpora en la presente a manera de referencia en su totalidad.

20 En algunas modalidades, el gen SSIIa ortólogo en plantas diferentes al maíz codifica una proteína que tiene al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos

130416790 v3

94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o más de identidad a SEQ ID NO: 2, y tiene la actividad SSIIa. En algunas modalidades, el ortólogo tiene la secuencia del número de entrada UniProt V6BPG5 (*Triticum urartu* (Escanda salvaje roja)), V6BPN2 (*Triticum monococcum* subsp. Monococcum), C3W8L4 (*Hordeum vulgare* var. distichum (Cebada domesticada)), E2GHR4 (*Oryza sativa* subsp. indica (Arroz)), o E2GHR6 (*Oryza sativa* subsp. japonica (Arroz)), cada uno de los cuales se incorpora en la presente a manera de referencia en su totalidad.

En algunas modalidades, para producir las plantas mutantes dobles que tienen el mutante wx intermedio y el mutante su2 recesivo, se puede hacer una polinización cruzada entre una planta que tiene el mutante wx intermedio y una planta que tiene el mutante su2 recesivo.

Por ejemplo, se puede hacer una polinización cruzada entre un mutante wxS homocigoto (wxSwxSSU2SU2) o un mutante wxS heterocigoto (wxSWxSU2SU2) y un mutante homozygouswaxy su2 homocigoto (wxwxsu2su2) o un mutante waxy su2 heterocigoto (wxWxsu2su2 o wxwxSU2su2). Después de la cruce, se puede usar autopolinización de la generación F1 que tiene el genotipo dewxSwxSU2su2 para generar las plantas F2. Las plantas que tienen ya sea cero, uno, dos o tres dosis del gen wxS en el endospermo, y tres dosis del gen su2 recesivo se pueden aislar

130416790 v3

por consiguiente (por ejemplo, el endospermo que tiene el genotipo de $wxwxwxsu2su2su2$, $wxSwxwxsu2su2su2$, $wxSwxSwxsu2su2su2$, o $wxSwxSwSsu2su2su2$). Esto es solo un ejemplo del método de reproducción, y se pueden usar otros esquemas de reproducción, y están dentro del alcance de la presente invención.

En algunas modalidades, la producción en el campo de plantas con endospermos que tiene al menos una dosis del alelo *waxy* intermedio y el alelo *sugary-2* recesivo se lleva a cabo al cruzar plantas de maíz femeninas con plantas de maíz masculinas. Un arreglo de planta típico es una fila masculino a varias filas femeninas. Las filas femeninas ya sea se les elimina los apéndices o se vuelven masculinos estériles a través de varios otros medios conocidos en la técnica tales como medios citoplásmicos o genéticos.

El almidón utilizado en esta invención se puede obtener de líneas endógamas, o el almidón se puede obtener de híbridos derivados de endógamos que contienen el mutante doble *waxy* intermedio/*su2* recesivo. Mientras que el maíz es la planta ejemplar en la presente para la fuente del almidón ceroso, la invención también se aplica a otras especies de plantas tales como, por ejemplo, arroz ceroso, cebada cerosa y sorgo ceroso, con la condición de que tengan un gen *waxy* intermedio y un gen *su2* recesivo.

130416790 v3

Métodos de Reproducción

Para producir las plantas de la presente invención, se pueden usar métodos de reproducción y selección adecuados. Los métodos de selección populares incluyen comúnmente selección de linaje, selección de linaje modificado, selección de masa, selección recurrente y reproducción de retrocruzamiento.

Poblaciones de Polinización Abierta. La mejora de las poblaciones de polinización abierta de tales cultivos como centeno, muchos maíces y remolachas azucareras, pastos hierbas, leguminosas tales como alfalfa y trébol, y cultivos de árboles tropicales tales como cacao, coco, palma de aceite y algunos de caucho dependen esencialmente en el cambio de las frecuencias génicas hacia la fijación de los alelos favorables mientras que se mantiene un alto grado (pero por mucho del máximo) de heterocigosidad. La uniformidad en tales poblaciones es imposible y la veracidad al tipo en una variedad de polinización abierta es una característica estadística de la población en conjunto, no una característica de las plantas individuales. De esta manera, la heterogeneidad de las poblaciones de polinización abierta contrasta con la homogeneidad (o virtualmente de esta manera) de las líneas endógamas, clones e híbridos.

Los métodos de mejora de la población se encuentran naturalmente en dos grupos, aquellos basados en selección

puramente fenotípica, normalmente llamada selección de masa, y aquellos basados en la selección con la prueba de progenie. La mejora interpoblación utiliza el concepto de poblaciones de reproducción abierta; permitiendo que los genes fluyan de una población a otra. Las plantas en una población (cultivar, cepa, ecotipo, o cualquier fuente de germoplasma) se cruzan ya sea naturalmente (por ejemplo, por el viento) o a mano o por abejas (comúnmente *Apis mellifera* L. or *Megachile rotundata* F.) con plantas de otras poblaciones. La selección se aplica para mejorar una población(es) (o algunas veces ambas) al aislar las plantas con atributos deseables de ambas fuentes.

Existen básicamente dos métodos primarios de mejora de población de polinización abierta. Primero, existe la situación en la cual una población se cambia en masa por el procedimiento de selección elegido. El resultado es una población mejorada que es indefinidamente propagable por acoplamiento aleatorio dentro de sí misma en aislamiento. Segundo, la variedad sintética logra el mismo resultado final como la mejora de la población pero en sí mismo no es propagable como tal; tiene que ser reconstruido de líneas o clones parenterales. Estos procedimientos de reproducción de plantas para mejorar las poblaciones de polinización abiertas son bien conocidos por aquellas personas expertas en la técnica y revistas comprensivas de procedimientos de reproducción rutinariamente utilizados para mejorar las

130416790 v3

plantas de polinización cruzada se proporcionan en numerosos textos y artículos, incluyendo: Allard, *Principles of Plant Breeding*, John Wiley & Sons, Inc. (1960); Simmonds, *Principles of Crop Improvement*, Longman Group Limited (1979); Hallauer and
5 Miranda, *Quantitative Genetics in Maize Breeding*, Iowa State University Press (1981); and, Jensen, *Plant Breeding Methodology*, John Wiley & Sons, Inc. (1988).

Selección de Masa. En la selección de masa, las plantas individuales deseables se eligen, se cosechan, y las semillas se
10 componen sin prueba de progenie para producir la siguiente generación. Puesto que la selección se basa en el precursor materno solamente, y no existe un control sobre la polinización, la selección de masas representa una forma de acoplamiento aleatorio con la selección. Como se establece en la presente, el
15 propósito de la selección de masa es incrementar la proporción de los genotipos superiores en la población.

Sintético. Se produce una variedad sintética por el intercruzamiento de un número de genotipos seleccionados por buena capacidad de combinación y en todas las combinaciones
20 híbridas posibles, con el mantenimiento subsecuente de la variedad por polinización abierta. Si los precursores son (más o menos endógamos) las líneas propagadas de semillas, como en algunas remolachas azucareras y frijoles (Vicia) o clones, como en los pastos hierbas, tréboles y alfalfa, no hace diferencia en
130416790 v3

principio. Los precursores se seleccionan en general combinando la capacidad, algunas veces por cruzas de prueba o cruzas superiores, más en general por poli-cruzas. Las líneas de semillas precursoras pueden ser deliberadamente endogámicas (por ejemplo, por autofecundación o cruzado sib). Sin embargo, aún si los precursores no son deliberadamente endógamos, la selección dentro de las líneas durante el mantenimiento de la línea asegurará que se presente alguna endogamia. Los precursores clonales, por supuesto, permanecerán sin cambio y serán sumamente heterocigotos.

Si un producto sintético puede ir directamente desde la parcela de producción de semillas precursora hasta el granjero o debe primero someterse a uno o dos ciclos de multiplicación dependen de la producción de semillas y la escala de demanda. En la práctica, los pastos y tréboles se multiplican en general una vez o dos veces y de esta manera se remueven considerablemente del producto sintético original.

Aunque la selección de masas se usa algunas veces, la prueba de progenie es en general preferida para las policruzas, debido a su simplicidad operacional y relevancia obvia al objetivo, particularmente explotación de la capacidad de combinación general en un producto sintético.

El número de líneas precursoras o clones que entran a un producto sintético varían ampliamente. En la práctica, los

130416790 v3

números de líneas parentales varían de 10 a varios cientos, con 100-200 que es el promedio. Los productos sintéticos basados amplios formados de 100 o más clones se pueden esperar que sean más estables durante la multiplicación de semillas que los
5 productos sintéticos basados estrechos.

Variedades de Linaje. Una variedad de linaje es un genotipo superior desarrollado de la selección de plantas individuales de una población de segregación seguida por la propagación de incremento de semillas de la descendencia de autopolinización y
10 prueba cuidadosa de genotipos sobre varias varias generaciones. Esto es un método de polinización abierto que funciona bien con las especies de autopolinización naturales. Este método se puede usar en combinación con la selección de masa en el desarrollo de la variedad. Las variaciones en el linaje y la selección de masa
15 en combinación son los métodos más comunes para generar variedades en los cultivos de autopolinización.

Híbridos. Un híbrido es una planta individual que resulta de una cruce entre precursores de diferentes genotipos. Los híbridos comerciales ahora se usan extensivamente en muchos
20 cultivos, incluyendo maíz (mazorca), sorgo, remolacha azucarera, girasol y brócoli. Los híbridos se pueden formar en una variedad de diferentes, incluyendo al cruzar dos precursores directamente (híbridos de cruce individuales), al cruzar un híbrido de cruce individual con otro precursor (tres híbridos de tres formas o
130416790 v3

cruza triple), o al cruzar dos híbridos diferentes (híbridos de cuatro vías o cuatro cruzas dobles).

Selección de Linaje. La reproducción de linaje se usa comúnmente para la mejora de cultivos de autopolinización o líneas endógamas de cultivos de polinización cruzada. Los 5 precursores que poseen atributos complementarios, favorables se cruzan para producir un F_1 . Una población F_2 se produce mediante fecundación de uno o varios F_1 s o por intercruzamiento de dos F_1 s (acoplamiento sib). El método de reproducción dihaploide u 10 otras técnicas de reproducción ploidés también se podrían usar. La selección de los mejores individuos es usualmente comenzando en la población F_2 ; después, comenzando en el F_3 , los mejores individuos en las mejores familias son seleccionados. La prueba replicada de las familias, o combinaciones híbridas que implican 15 individuos de estas familias, sigue frecuentemente en la generación F_4 para mejorar la efectividad de la selección para los atributos con baja capacidad de herencia. En una etapa avanzada de endogamia (es decir, F_6 y F_7), las mejores líneas o mezclas de líneas fenotípicamente similares son sometidas a 20 prueba para la liberación potencial de nuevos cultivares. Similarmente, el desarrollo de nuevos cultivares a través del sistema dihaploide requiere la selección de cultivares seguido por dos a cinco años de prueba en las parcelas replicadas.

Reproducción por Retrocruzamiento. La reproducción por 130416790 v3

retrocruzamiento se ha usado para transferir genes para un atributo sumamente heredable, simplemente heredado en un cultivar homocigoto deseable o línea endógama que es el precursor recurrente. La fuente del atributo que se transfiere es llamada el precursor donador. La planta resultante se espera que tenga los atributos del precursor recurrente (por ejemplo, cultivar) y el atributo deseable transferido del precursor donador. Después de la cruce inicial, los individuos que poseen el fenotipo del precursor donador se seleccionan y se cruzan repetidamente (se retrocruzan) con el precursor recurrente. La planta resultante se espera que tenga los atributos del precursor recurrente (por ejemplo, cultivar) y el atributo deseable transferido del precursor donador.

Análisis de segregación de Volumen (BSA). BSA, también conocido como análisis de segregación de volumen, o análisis segregante de volumen, es un método descrito por Michelmore y colaboradores (Michelmore y colaboradores, 1991, Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 99:9828-9832) and Quarrie y colaboradores (Quarrie y colaboradores, 1999, *Journal of Experimental Botany*, 50(337):1299-1306).

Para el BSA de un atributo de interés, las líneas

130416790 v3

precursoras con ciertos fenotipos diferentes se eligen y se cruzan para generar poblaciones endógamas haploides o recombinantes duplicada, F2, con análisis QTL. La población después se genotipifica para identificar plantas individuales o líneas que tienen expresión alta o baja del tributo. Se preparan dos volúmenes de ADN, uno de los individuos que tienen un fenotipo (por ejemplo, resistente a virus), y el otro de los individuos que tienen fenotipo inverso e (por ejemplo, susceptible a virus), y se analizan la para la frecuencia de alelos con marcadores moleculares. Solo algunos individuos son requeridos en cada volumen (por ejemplo, 10 plantas cada uno) si los marcadores son dominantes (por ejemplo, RAPDs). Más individuos son necesarios cuando los marcadores son co-dominantes (por ejemplo, RFLPs). Los marcadores ligados al fenotipo se pueden identificar y usar para reproducción o mapeo QTL.

Lesiones Locales Inducidas por Orientación en los Genomas (TILLING^{MR}). Los esquemas de reproducción de la presente solicitud puede incluir cruza con cultivares de plantas TILLING^{MR}. El TILLING^{MR} es un método en la biología molecular que permite la identificación dirigida de mutaciones un gen específico. El TILLING^{MR} se introdujo en el 2000, usando la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. El TILLING^{MR} se ha usado desde entonces como un método genético inverso en otros

130416790 v3

organismos tales como pez cebra, maíz, trigo, arroz, soja, tomate y Brassica rapa var. nipposinica.

El método combina una técnica estándar y eficiente de mutagénesis con un mutágeno químico (por ejemplo, Metanosulfonato de etilo (EMS)) con una técnica de clasificación de ADN sensible que identifica mutaciones base individuales (también llamadas mutaciones puntuales). En un gen objetivo. El EcoTILLING es un método que usa técnicas TILLING^{MR} para buscar mutaciones naturales en individuos, usualmente para análisis genético de población (ver Comai, y colaboradores, 2003 The Plant Journal 37, 778-786; Gilchrist y colaboradores 2006 Mol. Ecol. 15, 1367-1378; Mejlhede y colaboradores 2006 Plant Breeding 125, 461-467; Nieto y colaboradores 2007 BMC Plant Biology 7, 34-42, cada una de las cuales se incorpora a manera de referencia en la presente para todos los propósitos). El DEcoTILLING es una modificación de TILLING^{MR} y EcoTILLING que usa un método económico para identificar fragmentos (Garvin y colaboradores, 2007, DEco-TILLING: An inexpensive method for SNP discovery that reduces ascertainment bias. Molecular Ecology Notes 7, 735-746).

El método TILLING^{MR} depende de la formación de heterodúplex que se forman cuando múltiples alelos (que podrían ser un heterocigoto o un grupo de homocigotos múltiples y heterocigotos) se amplifican en una PCR, se calientan, y después

130416790 v3

se enfrían lentamente. Se forma una "burbuja" en la coincidencia errónea de las dos hebras de ADN (la mutación inducida en TILLING^{MR} o la mutación natural SNP en EcoTILLING), que después se escinde por las nucleasas de hebra individual. Los productos
5 después se separan por tamaño en varias plataformas diferentes.

Una descripción más detallada en los métodos y composiciones en TILLING^{MR} se puede encontrar en US 5994075, US 2004/0053236 A1, WO 2005/055704, y WO 2005/048692, cada una de las cuales se incorpora a manera de referencia en la presente
10 para todos los propósitos.

De esta manera en algunas modalidades, los métodos de reproducción de la presente descripción incluyen reproducción con una o más líneas de plantas TILLING^{MR} con una o más mutaciones identificadas.

15 Reproducción por Mutación. La reproducción por mutación es otro método para introducir nuevos atributos en las plantas. Las mutaciones que se presentan espontáneamente o se inducen artificialmente pueden ser fuentes útiles de variabilidad para un reproductor de plantas. El objetivo de la mutagénesis
20 artificial es incrementar la tasa de mutación para la característica deseada. Las tasas de mutaciones se pueden incrementar por muchos medios diferentes o agentes de mutación incluyendo temperatura, almacenamiento de semillas a largo plazo, condiciones de cultivo de tejido, radiación (tales como
130416790 v3

rayos X, rayos Gamma, neutrones, radiaciones Beta, o radiación ultravioleta), mutágenos químicos (tales como análogos bases similares a 5-bromo-uracilo), antibióticas, agentes alquilantes (tales como mostazas de azufre, mostazas de nitrógeno, epóxidos, etileniminas, sulfatos, sulfonatos, o sulfonas o lactonas), azida, hidroxilamina, ácido nitroso o acridinas. Una vez que un atributo deseado se observar a través de la mutagénesis el atributo después se puede incorporar en el germoplasma existente por técnicas de reproducción tradicionales. Los detalles de la reproducción por mutación se pueden encontrar en W. R. Fehr, 1993, Principles of Cultivar Development, Macmillan Publishing Co. Las nuevas técnicas de reproducción tales como las que implican en los usos de nucleasas de Dedo de Zinc o mutagénesis dirigida a oligonucleótidos también se deben usar para generar variabilidad genética e introducir nuevos atributos en las variabilidades.

En algunas modalidades, la reproducción por mutación comprende una conversión de sitio individual. Un sitio individual puede contener varios genes y/o transgenes tales como un transgen para resistencia a enfermedades que, en el mismo vector de expresión, también contiene un transgen para resistencia a herbicidas. El gen para resistencia a herbicidas se puede usar como un marcador seleccionable y/o como un atributo fenotípico. Una conversión de sitio individual del

sistema de integración específico de sitio permite la integración de múltiples genes en el sitio convertido. Una conversión de sitio individual también permite hacer uno o más cambios específicos de sitio al genoma de la planta. En algunas modalidades, la conversión de individual se lleva a cabo por la edición de genoma, también conocido como edición de genoma con nucleasas modificadas (GEEN). En algunas modalidades, la edición del genoma comprende usar una o más nucleasas modificadas. En algunas modalidades, las nucleasas modificadas incluyen, pero no se limitan a nucleasas de Dedo de Zinc (ZFNs), Nucleasas Efectoras Similares a Activador de Transcripción (TALENs), el sistema CRISPR/Cas, y la meganucleasa modificada, endonucleasas mensajera re-modificadas. En algunas modalidades, la conversión de sitio individual cambia uno o varios ácidos nucleicos del genoma de la planta.

Haploides Dobles y Duplicado de Cromosoma. Una forma para obtener plantas homocigotas sin la necesidad de cruzar dos líneas precursoras seguido por una selección larga de la progenie segregadora, y/o múltiples retrocruzamientos es producir haploides y después duplicar los cromosomas para formar haploides duplicados. Las plantas haploides pueden presentarse espontáneamente o se pueden inducir artificialmente a través de tratamientos químicos o al cruzar plantas con líneas inductoras (Seymour y colaboradores 2012, PNAS vol 109, pg 4227-4232; Zhang 130416790 v3

y colaboradores, 2008 Plant Cell Rep. Dec 27(12) 1851-60). La producción de la progenie haploide puede presentarse a través de una variedad de mecanismos que pueden afectar la distribución de cromosomas durante la formación de gametos. Los complementos de cromosomas de los haploides algunas veces se duplican espontáneamente para producir haploides duplicados homocigotos (DHs). Los mixoploides, que son plantas que contienen células que tienen diferentes haploides, algunas veces pueden surgir y pueden representar plantas que están sometiéndose al duplicado de cromosomas para producir espontáneamente tejidos haploides duplicados, órganos, brotes, partes florales o plantas. Otra técnica común es inducir la formación de plantas haploides duplicadas con un tratamiento de duplicado de cromosoma tal como colquicina (El-Hennawy y colaboradores, 2011 Vol 56, issue 2 páginas 63-72; Doubled Haploid Production in Crop Plants 2003 editado por Maluszynski ISBN 1-4020-1544-5). La producción de plantas haploides duplicadas produce cultivares sumamente uniformes y es específicamente deseable como una alternativa para la endogamia sexual de cultivos de generación más larga. Al producir progenie haploide duplicada, el número de posibles combinaciones génicas para los atributos heredados es más manejable. De esta manera, una tecnología haploide duplicada eficiente puede reducir significativamente el tiempo y el costo de desarrollo de endógamos y cultivares.

130416790 v3

Fusión de Protoplastos. En otro método para reproducir plantas, la fusión de protoplastos también se puede usar para transferencia del material genómico que confiere el atributo de una planta donadora a una planta recipiente. La fusión de protoplastos es una unión inducida o espontánea, tal como una hibridación somática, entre dos o más protoplastos (células de las cuales las paredes celulares se remueven por tratamiento enzimático) para producir una célula bi- o multi-nucleada individual. La célula fusionada que aún se puede obtener con las especies de plantas que no se pueden cruzar en naturaleza es tejido cultivado en una planta híbrida que muestra la combinación deseable de atributos.

Cultivo de Tejido. Como se usa en la presente, el término "cultivo de tejido" indica una composición que comprende células aisladas del mismo tipo o diferente o una recolección de tales células organizadas en partes de una planta. Los tipos ejemplares de cultivos de tejidos son protoplastos, callo, grupos de plantas, y células de planta que pueden generar cultivo de tejido que son intactos en las plantas o partes de las plantas, tales como embriones, polen, flores, semillas, hojas, tallos, raíces, puntas de la raíz, anteras, pistilos, células meristemáticas, botones axilares, ovarios, recubrimiento de la semilla, endospermo, hipocotilos, cotiledones y similares. Los medios para preparar y mantener el cultivo de tejido vegetal

130416790 v3

son bien conocidos en la técnica. Por medio de ejemplo, un cultivo de tejido que comprende órganos se ha usado para producir plantas regeneradas. Las Patentes de E.U.A. Nos. 5,959,185, 5,973,234, y 5,977,445 describen ciertas técnicas, las descripciones de las cuales se incorporan en la presente a manera de referencia.

Esta invención se ilustra adicionalmente por los siguientes ejemplos, que no se deben considerar como limitantes. Los contenidos de todas las referencias, patentes y solicitudes de patente publicadas citadas por toda esta solicitud, así como las figuras y el listado de secuencias, se incorpora en la presente a manera de referencia.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Generación de granos con 1, 2, o 3 dosis del alelo wxS

Debido a la naturaleza triploide del endospermo de maíz, en donde dos núcleos polares del precursor materno se fertilizan por una célula de esperma del precursor parental, son posibles tres combinaciones genotípicas. Usando una planta wxSwxSsu2su2 como un femenino, polinizado por un masculino wxwxsu2su2 da por resultado "dosis-2" o grano wxSwxSwxsu2su2su2. Usando el wxSwxSsu2su2 como un masculino, la polinización de un femenino wxwxsu2su2 da por resultado "dosis 1" o grano wxSwwxsu2su2su2.

130416790 v3

La autopolinización de *wxSwxSsu2su2* da por resultado "dosis-3" o grano *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

Dosificación de <i>wxS</i>	Genotipo de Endospermo
(1 <i>wxS</i>)	<i>wxSwxwxsu2su2su2</i>
(2 <i>wxS</i>)	<i>wxSwxSwxsu2su2su2</i>
(3 <i>wxS</i>)	<i>wxSwxSwxSsu2su2su2</i>
almidón de <i>wxwxwxsu2su2su2</i> <i>wxwxwxsu2su2su2</i> seed (0 <i>wxS</i>)	
almidón AMIOCA™ (0 <i>wxS</i>)	<i>wxwxwxSU2SU2SU2</i>
almidón de <i>wxwxwxSU2su2su2</i> <i>wxwxwxSU2su2su2</i> (0 <i>wxS</i>)	

EJEMPLO 2

Viscosidad del Almidón Usando un Amilógrafo Rapid Visco (RVA)

La viscosidad del almidón de maíz derivado de las plantas que contienen las dosis 0, 1, 2, y 3 del alelo *wxS* en las plantas mutantes *sugary-2* recesivas se determinó usando un Amilógrafo Rapid Visco (Newport Scientific, Eden Prairie, Minn.). El almidón AMIOCA^{MR} y el almidón *wxwxwxSU2su2su2* se incluyen como verificaciones. El genotipo de los endospermos de los cuales el almidón se aisló se resume en la siguiente tabla. El contenido de amilosa se midió usando el kit de amilosa Megazyme^{MR}. El contenido de amilosa del almidón se incrementa con el incremento de la actividad de GBSSI. Los contenidos de amilosa del almidón *wxwxwxsu2su2su2* (7.4%), almidón AMIOCA^{MR}

(7.1%), y el almidón *wxwxwxSU2su2su2* (6.1%) fueron menores que el *Waxy Stonor* (12.8%) y almidón *wxwxwxsu2su2su2* con 1 a 3 de dosis del gen *wxS* en el endospermo (8.2-14.6%). El contenido de amilosa del almidón *wxwxwxsu2su2su2* (7.4%, 8.2%, 13.8%, y 14.6%) se incrementó con el incremento de la dosificación *wxS* (0, 1, 2, y 3 dosis de *wxS*, respectivamente). los resultados sugirieron que la introducción del gen *wxS* a *wxwxwxsu2su2su2* incrementó ligeramente el contenido de amilosa del almidón.

Muestra	Amilosa (%)
Q3017a (1 <i>wxS</i>)	8.2±0.1
Q8412a (2 <i>wxS</i>)	13.8±0.0
Q7738a (3 <i>wxS</i>)	14.6±0.1
almidón <i>wxwxwxsu2su2su2</i> (0 <i>wxS</i>)	7.4±0.1
K5594a (<i>Waxy Stonor</i>)	12.8±0.1
almidón AMIOCA™	7.1±0.0
almidón <i>wxwxwxSU2su2su2</i>	6.1±0.1

La propiedad de adhesión del almidón de maíz *waxy* se analizó usando un analizador Rapid Visco (RVA, Newport Scientific, Sídney, Australia) usando el método de perfil "Estándar 2". Una suspensión (28.0 g) que contiene 8% de almidón (p/p, base de almidón seco, dsb) se equilibró a 50°C durante 1 minuto, se calentó a 95°C en una velocidad de 6°C/minuto se mantuvo a 95°C durante 5 minutos, y después se enfrió a 50°C en una velocidad de 6°C/minuto. La velocidad giratoria para la paleta fue 160 rpm excepto que el 960 rpm se usó para los

primeros 10 segundos. Los resultados se muestran en la FIGURA 1 y FIGURA 2. El almidón *wxwxwxsu2su2su2* existente tuvo la temperatura de adhesión más baja, viscosidad pico, y viscosidad final. Después de la introducción del gen *wxS* al almidón *wxwxwxsu2su2su2*, las muestras de almidón (Q3017a[1 *wxS*], Q8412a[2 *wxS*], y Q7738a [3 *wxS*]) mostraron un viscosidad pico incrementado comprado con el almidón *wxwxwxsu2su2su2* existente (0 *wxS*). Sin embargo, solo el almidón *wxSwxwxsu2su2su2* con una dosis del gen *wxS* mostró la viscosidad pico mucho más alta que el *Waxy Stonor*, almidón AMIOCA^{MR}, y almidón *wxwxwxSU2su2su2*.

Los resultados indican que la mejora en la temperatura de adhesión permitirá la extracción del almidón a través del proceso de molienda en húmedo.

EJEMPLO 3

Estabilidad de Congelación/descongelación del Almidón

El almidón de maíz derivado de las plantas que contienen 0, 1, 2, y 3 dosis del alelo *wxS* en las plantas mutantes *sugary-2* recesivas se sometió a prueba para la estabilidad de congelación/descongelación. El almidón AMIOCA^{MR} y el almidón *wxwxwxSU2su2su2* se incluyeron como verificaciones. 8% de sólidos de las muestras de almidón se cocieron en un baño de agua a 95°C durante 20 minutos. La suspensión de almidón se mezcló con una barra de vidrio durante tres minutos seguido por calentamiento en reposo durante 17 minutos durante la cocción. La estabilidad

130416790 v3

de congelación/descongelación del gel de almidón (8%, p/p) en pH neutro se analizó usando un congelador de ciclado Caron durante cinco ciclos de congelación/descongelación. En cada ciclo, la muestra se congeló durante 6 horas y se descongeló durante 6 horas con 2 ciclos / día. Las muestras se inspeccionaron visualmente para sinéresis, ambos en la superficie y cuando se prensaron, así como para cambios de opacidad y gelificación. Este sitio de congelación/descongelación se repitió. Los resultados se muestran en la FIGURA 3. Después del primer ciclo de congelación/descongelación, solo el gen del almidón *Waxy Stonor* mostró alta opacidad, indicando alto grado de retrogradación del almidón. La opacidad del gel de almidón se incrementó con el incremento de los ciclos de congelación/descongelación. En el tercer ciclo de congelación/descongelación, los geles de almidón del almidón AMIOCA^{MR}, almidón *wxwxwxSU2su2su2*, y el *Waxy Stonor* se volvieron muy opacos, mientras que los genes de almidón de Q3017a(1 wxS), Q8412a(2 wxS), Q7738a(3 wxS), y el almidón *wxwxwxsu2su2su2* existente no fueron opacos. Después de cinco ciclos de congelación/descongelación, Q3017a(1 wxS), Q8412a(2 wxS), Q7738a(3 wxS), y el almidón *wxwxwxsu2su2su2* existente se volvieron ligeramente opacos.

Los resultados sugieren que el ligero incremento de la amilosa en las muestras de almidón tuvo poco efecto en la

estabilidad de congelación/descongelación. Los almidones Q3017a (1 wxS), Q8412a (2 wxS), Q7738a (3 wxS) tuvieron estabilidad de congelación/descongelación mejor que el almidón *thanwxwxwxSU2su2su2* y el almidón AMIOCA^{MR}.

5 EJEMPLO 4

Prueba de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)

Las propiedades térmicas del almidón de maíz derivado de plantas que contienen 0, 1, 2, y 3 dosis del alelo wxS en las plantas mutantes *sugary-2* recesivas se determinaron usando la Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC). El almidón AMIOCA^{MR} y el almidón *wxwxwxSU2su2su2* se incluyeron como verificaciones. Las mediciones de la Calorimetría de barrido diferencial (DSC) se absorbieron con calor o se administraron por una muestra en una atmósfera controlada en temperaturas especificadas. La DSC proporciona información acerca de un calor específico y calor latente de las muestras conforme se eleva la temperatura, lo cual indica cambios en las estructuras amorfas y cristalinas. Los datos se registran en términos de flujo de calor, y se presentan en julios/gramos (J/g) (Cassel, 2002). En el análisis del almidón, se recolectaron los parámetros de gelatinización del almidón tales como inicio de pico, temperatura pico, final de pico, e información del cambio de la entalpía de la gelatinización. Los resultados se muestran en la FIGURA 4. El almidón *wxSwwxwsu2su2su2* almidón (Q3017a), *wxSwxSwxsu2su2su2*

130416790 v3

(Q8412a), wxSwxSwxSsu2su2starch (Q7738a), y almidón wxwxwxsu2su2su2 (0 wxS) mostraron temperaturas de gelatinización más bajas que del almidón AMIOCA^{MR}, Waxy Stonor, y almidón wxwxwxSU2su2su2, que es consistente con la mejor estabilidad de congelación/descongelación del almidón aislado del endospermo de maíz con una, dos, y tres dosis de wxS. El almidón wxSwxwxsu2su2su2 con una dosis de wxS (Q3017a) tuvo una temperatura de gelatinización de inicio ligeramente más alta que los otros híbridos (Q8412a [2 wxS], Q7738a [3 wxS], y el almidón wxwxwxsu2su2su2), indicando que el Q3017a tuvo mejores características de molienda en húmedo que los otros híbridos.

EJEMPLO 5

Gránulos de Almidón

El tamaño de partícula promedio del almidón de maíz waxy derivado de plantas que contienen 1, 2, y 3 dosis del alelo wxS en las plantas mutantes sugary-2 recesivas se midió por dispersión de luz láser. El almidón AMIOCA^{MR} y el almidón wxwxwxSU2su2su2 se incluyeron como verificaciones. Los resultados se muestran en la FIGURA 5. Además, la micrografía de electrones de barrido de cada muestra se proporciona en la FIGURA para mostrar la morfología del gránulo. Los tamaños de gránulo de almidón promedio de Q3017a (11.4µm), Q8412a (11.4µm), y Q7738a (10.9µm) fueron más grandes que el almidón wxwxwxsu2su2su2 existente (10.4 µm), sugiriendo que la

introducción del gen *wxS* a *Waxy* VO incrementó el tamaño del gránulo del almidón. El resultado fue persistente con las imágenes SEM (Figura 5) que muestran que la introducción del gen *wxS* al almidón *wxwxwxsu2su2su2* incrementó la integridad del gránulo de almidón.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos y científicos en la presente tienen el mismo significado como es entendido comúnmente por una persona de experiencia ordinaria en la técnica a la cual esta invención pertenece. Aunque cualquiera de los métodos y materiales, similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente, se pueden usar en la práctica o probar de la presente descripción, los métodos y materiales preferidos se describen en la presente. Todas las publicaciones, patentes, y solicitudes de patentes citadas se incorporan a manera de referencia en la presente y su totalidad para todos los propósitos.

Las publicaciones planteadas en la presente se proporcionan solamente para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en la presente se va a considerar como una admisión de que la presente descripción no tiene derecho ante fechar tal publicación en virtud de la invención anterior.

La invención se ha descrito en relación con las modalidades específicas de la misma, se entenderá que es capaz de

130416790 v3

modificaciones adicionales y esta solicitud se propone para
cubrir cualquiera de las variaciones, usos, o adaptaciones de la
invención siguiendo, en general los principios de la invención
incluyendo tales desviaciones de la presente descripción como
5 vienen dentro de la práctica conocida o acostumbrada dentro de
la técnica a la cual la invención pertenece y como se puede
aplicar a las características esenciales expuestas anteriormente
y como sigue en el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

10

15

20

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito la presente invención, se considera como novedad, y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

5

REIVINDICACIONES

1. Un almidón, caracterizado porque comprende:

un contenido de amilosa de aproximadamente 2% en peso a aproximadamente 20% en peso como es medido usando un kit de ensayo de amilosa/amilopectina; y

10

una temperatura de adhesión de almidón acuosa que es menos aproximadamente 5% mayor que la temperatura de adhesión de almidón de un almidón de control como es medido usando el análisis RVA,

15

en donde, el almidón se deriva de una planta de maíz *waxy-sugary-2* que comprende al menos un alelo *wxS* en el endospermo.

2. El almidón de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de amilosa es de aproximadamente 8% en peso a aproximadamente 15% en peso.

20

3. El almidón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque la temperatura de adhesión acuosa es de aproximadamente 5% a aproximadamente 14% mayor que aquella del almidón de control.

4. El almidón de conformidad con cualquiera de las

130416790 v3

reivindicaciones 1-3, caracterizado porque además comprende un cambio de entalpía de cristalinidad de al menos aproximadamente 30% mayor que un cambio de entalpía de cristalinidad del almidón de control como es medido usando el análisis RVA.

5 5. El almidón de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el cambio de entalpía de la cristalinidad es de aproximadamente 70% a aproximadamente 200% mayor que un cambio de entalpía de cristalinidad del almidón de control como es medido usando un calorímetro de barrido diferencial (DSC).

10 6. El almidón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado además porque comprende una distribución de tamaños de gránulos de almidón, en donde la distribución de los tamaños de granulo de almidón comprende al menos aproximadamente 40% menos gránulos menores que 5 micras
15 comparado con una proporción de gránulos menores que 5 micras del almidón de control como es observado usando un microscopio electrónico de barrido.

20 7. El almidón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque el almidón es un gránulo que muestra integridad incrementada comparada con el almidón de control como es observado usando un microscopio electrónico de barrido.

8. El almidón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, caracterizado porque el almidón es capaz
130416790 v3

de soportar al menos tres ciclos de congelación/descongelación.

9. El almidón de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque el almidón es capaz de soportar al menos tres a al menos cinco ciclos de congelación/descongelación.

5 10. El almidón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, caracterizado porque la planta de maíz *waxy-sugary-2* se genera por polinización cruzada de una primera planta de maíz que tiene el genotipo de *wxwxsu2su2*, y una segunda planta de maíz que tiene el genotipo de *wxSwxSsu2su2*, o
10 el genotipo de *wxSwxsu2su2*.

11. El almidón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, caracterizado porque el endospermo de la planta de maíz *waxy-sugary-2* tiene una dosis, dos dosis, tres dosis del alelo *wxS*, y el endospermo tiene el genotipo de
15 *wxSwxwxsu2su2su2*, *wxSwxSwxsu2su2su2*, o *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

12. Un método para mejorar al menos una característica en un perfil de adhesión de un almidón, caracterizado porque comprende introducir al menos un alelo *wxS* en el endospermo de una planta de maíz *waxy*, en donde el almidón resultante derivado
20 de la planta de maíz *waxy* que comprende al menos un alelo *wxS* en el endospermo comprende una temperatura de adhesión de almidón acuosa que es al menos aproximadamente 5% mayor que la temperatura de adhesión de almidón de un almidón de control como es medido usando el análisis RVA, mejorando de esta manera al
130416790 v3

menos una característica del perfil de adhesión del almidón comparado con el almidón de control.

13. Una planta de maíz mutante doble, caracterizada porque la planta de maíz es homocigota recesiva para el gen de almidón sintasa IIa (*su2*), y es ya sea homocigoto o heterocigoto para un gen de almidón sintasa I ligada a gránulos mutado (GBSSI), en donde el gen GBSSI mutado tiene menos actividad de GBSSI que el gen GBSSI de tipo natural (*Wx*), pero tiene mayor actividad de GBSSI que el gen GBSSI de pérdida de función, recesivo (*wx*).

14. La planta de maíz mutante doble de conformidad con la reivindicación 13, caracterizada porque el gen GBSSI mutado es el alelo *wx-Stonor* (*wxS*).

15. La planta de maíz mutante doble de conformidad con la reivindicación 14, caracterizada porque la planta se genera por polinización cruzada de una primera planta de maíz que tiene el genotipo de *wxwxsu2su2*, y una segunda planta de maíz que tiene el genotipo de *wxSwxSsu2su2*, o el genotipo de *wxSwxsu2su2*.

16. La planta de maíz mutante doble de conformidad con la reivindicación 15, caracterizada porque el endospermo de la planta de maíz tiene una dosis, dos dosis, o tres dosis del alelo *wxS*, en donde el endospermo tiene el genotipo de *wxSwxwxsu2su2su2*, *wxSwxSwxsu2su2su2*, o *wxSwxSwxSsu2su2su2*.

17. La planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-16, caracterizada porque

130416790 v3

el almidón producido en el endospermo de la planta de maíz tiene una temperatura de adhesión más alta comparado con el almidón producido en el endospermo de una planta de maíz mutante recesiva *waxy-sugary-2* doble que tiene el genotipo de *wxwxwxsu2su2su2*.

18. Una semilla, caracterizada porque es de la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

19. Una parte de la planta, célula de la planta, o cultivo de tejido de la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-18.

20. La parte de la planta de conformidad con la reivindicación 19, caracterizada porque la parte de la planta se selecciona del grupo que consiste de un endospermo, una hoja, una flor, un óvulo, un polen, un rizoma y un vástago.

21. Un método para producir almidón, caracterizado porque comprende obtener almidón del endospermo de la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-20.

22. Un método para producir almidón, caracterizado porque comprende desarrollar la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-21, y cosechar las semillas de la planta de maíz mutante doble.

23. Un método para producir una semilla de maíz,

130416790 v3

caracterizado porque comprende cruzar una primera planta de maíz precursora con una segunda planta de maíz precursora y cosechar la semilla de maíz resultante, en donde la primera planta de maíz precursora, y/o la segunda a planta de maíz precursora es la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-22.

24. Un método para producir una semilla de maíz, caracterizado porque comprende auto-polinizar la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-23, y cosechar la semilla de maíz resultante.

25. Un método para propagar de manera vegetativa la planta de maíz de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-24, el método caracterizado porque comprende recolectar parte de la planta de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y regenerar una planta de la parte.

26. Un método para producir una planta de maíz derivada de la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-17, el método caracterizado porque comprende auto-polinizar la planta mutante doble de cualquiera de las reivindicaciones 13-17 al menos una vez para producir una planta progenie derivada de la planta mutante doble de cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

27. Un método para producir una planta de maíz derivada de

130416790 v3

la planta mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, el método caracterizado porque comprende cruzar la planta mutante doble de cualquiera de las reivindicaciones 13-17 con una segunda planta de maíz para producir una planta progenie de la planta mutante doble de cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

28. Un método para producir una planta de maíz, caracterizado porque comprende introducir un transgen en una planta de maíz, en donde el transgen confiere el fenotipo deseado de la planta mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

29. Un método para producir una planta de maíz, caracterizado porque comprende editar el gen para producir una secuencia genética para conferir el fenotipo deseado de la planta mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

30. Un método para producir una planta de maíz, caracterizado porque comprende introducir una mutación para producir una secuencia genética para conferir el fenotipo deseado de la planta mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

31. Un almidón, caracterizado porque se extrae de la planta de maíz mutante doble de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-17.

130416790 v3

32. Un almidón, caracterizado porque se extrae de la planta de maíz mutante doble de conformidad con la reivindicación 15.

33. Un almidón, caracterizado porque se extrae del endospermo de la planta de maíz mutante doble de conformidad con la reivindicación 16.

10

15

20

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta descripción de la invención se refiere a almidón de maíz novedoso. El almidón se puede producir del maíz mutante doble *waxy-sugary-2* recientemente desarrollado que tiene baja actividad de la Almidón Sintasa I Ligada a Gránulo (GBSSI), que da por resultado bajo nivel de amilosa. El almidón del mutante doble *waxy-sugary-2* recientemente desarrollado es estable en congelación/descongelación y tiene alta viscosidad. En comparación con el almidón del maíz mutante doble *waxy-sugary-2* existente, el nuevo almidón de maíz mutante doble *waxy-sugary-2* mostró, *inter alia*, un perfil de adhesión mejorado, integridad de gránulos de almidón, tamaño de gránulo de almidón más grande y viscosidad más alta.

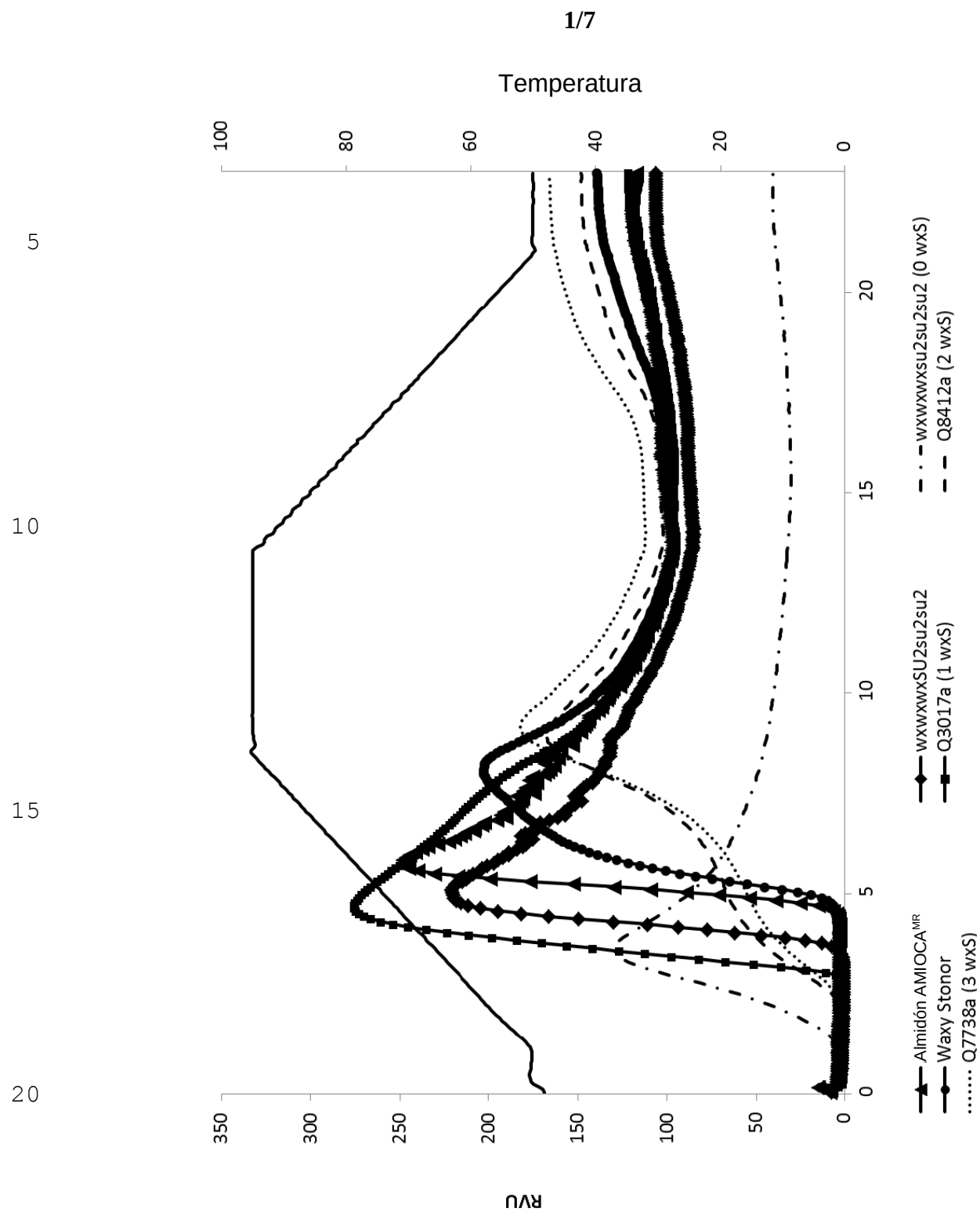


Figura 1

5

10

15

20

Muestra	Temp. de adhesión (°C)	Pico (RVU)	Mantenimiento (RVU)	Final (RVU)	Rompimiento (RVU)	Regresión: (RVU)
Q3017a (1 wxS)	62.0	275.7	95.3	121.3	180.4	26.0
Q8412a (2 wxS)	59.1	167.8	102.1	148.0	65.7	45.9
Q7738a (3 wxS)	59.5	182.2	111.9	165.6	70.2	53.7
wxwxwxsu2su2su2 (0 wxS)	54.4	129.3	30.3	40.9	99.0	10.6
K5994a (waxy Stonor)	73.8	202.6	96.3	139.0	106.3	42.7
Almidón AMIOCA ^{MR}	72.2	248.2	96.3	116.8	151.9	20.5
Almidón wxwxwxwxSU2su2su2	67.5	220.9	84.9	106.1	136.0	21.2

Figura 2

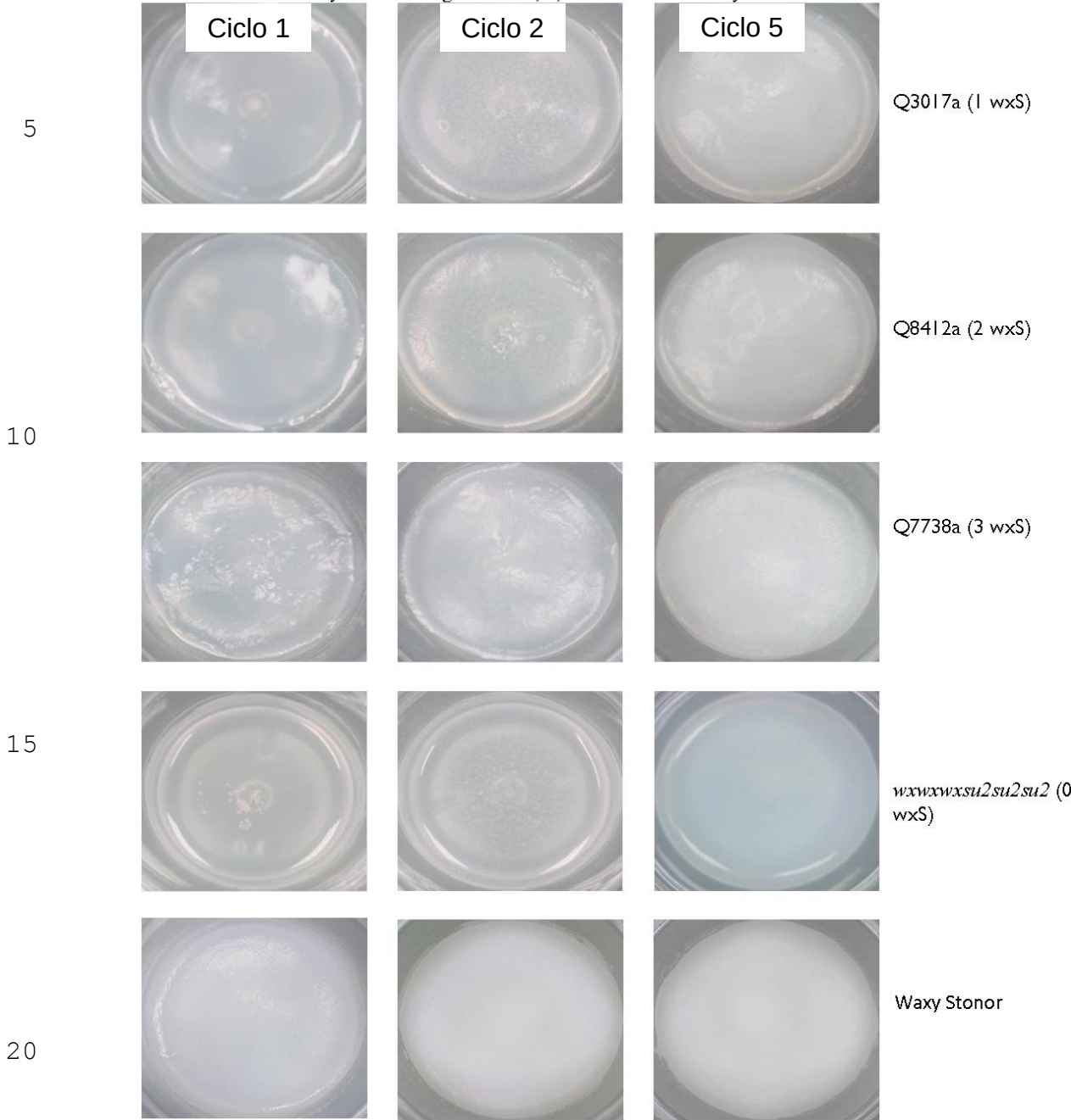


Figura 3

4/7

5



wxwxwxS
U2su2su2

10



AMIoca™
starch

Ciclo 1

Ciclo 3

Ciclo 5

15

Figura 3 (continuación)

20

Muestra	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
Q3017a (1 wxS)	57.2±0.0	62.5±0.3	69.3±0.2	12.9±0.0
Q8412a (2 wxS)	51.2±0.1	58.0±0.1	65.7±0.4	6.0±0.1
Q7738a (3 wxS)	51.7±0.2	58.2±0.4	66.8±0.3	8.0±0.1
wxwxwxsu2su2su2	52.2±0.2	58.1±0.2	65.6±0.0	4.5±0.0
K5994a (Waxy Stonor)	68.1	74.6	81.3	14.9
Almidón AMIOCA ^{MR}	66.7±0.5	73.5±0.3	80.6±0.6	16.6±0.2
Almidón wxwxwxSU2su2su2	60.8±0.1	67.8±0.1	77.6±0.2	15.4±0.0

Figura 4

6/7

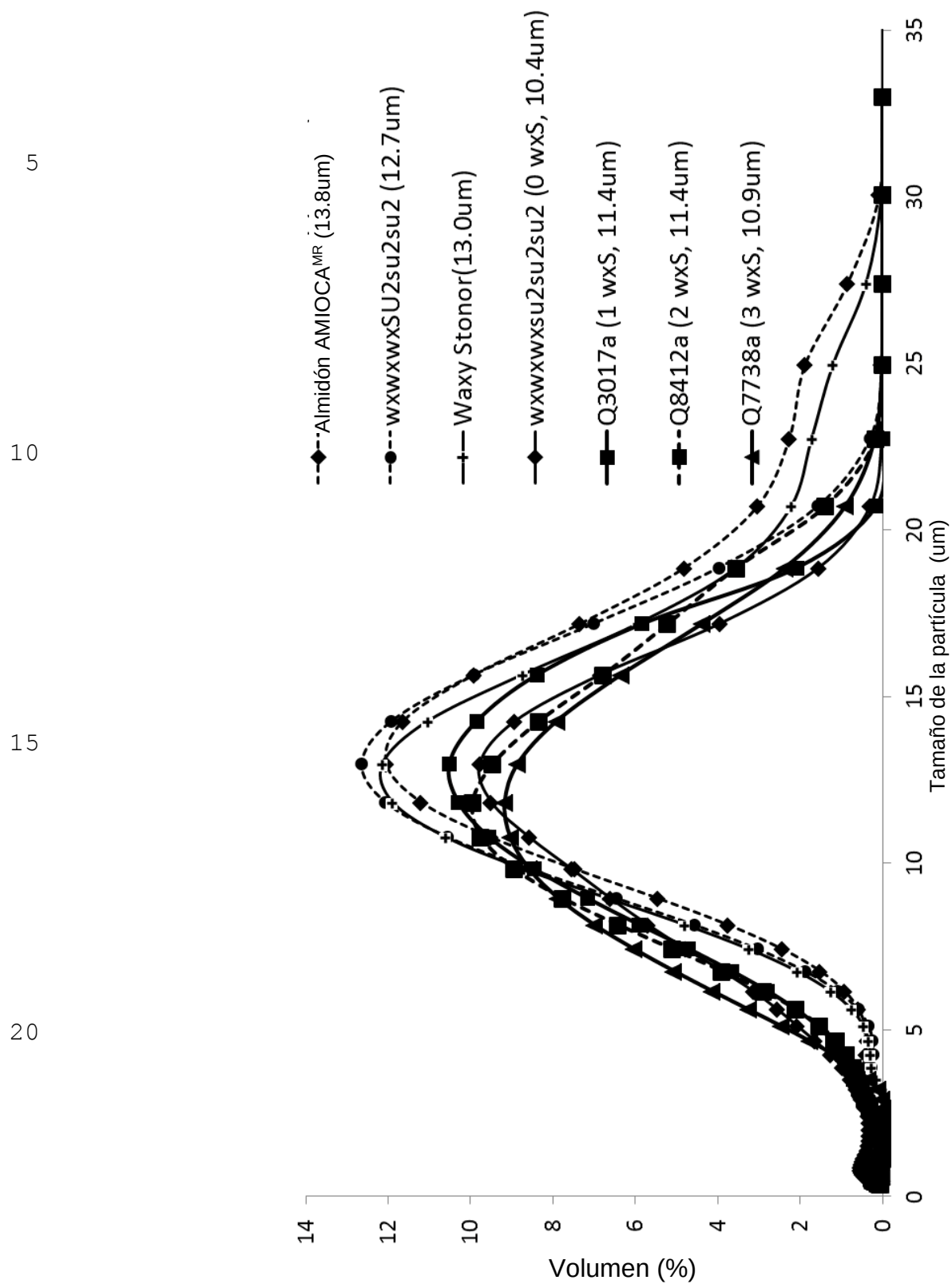


Figura 5

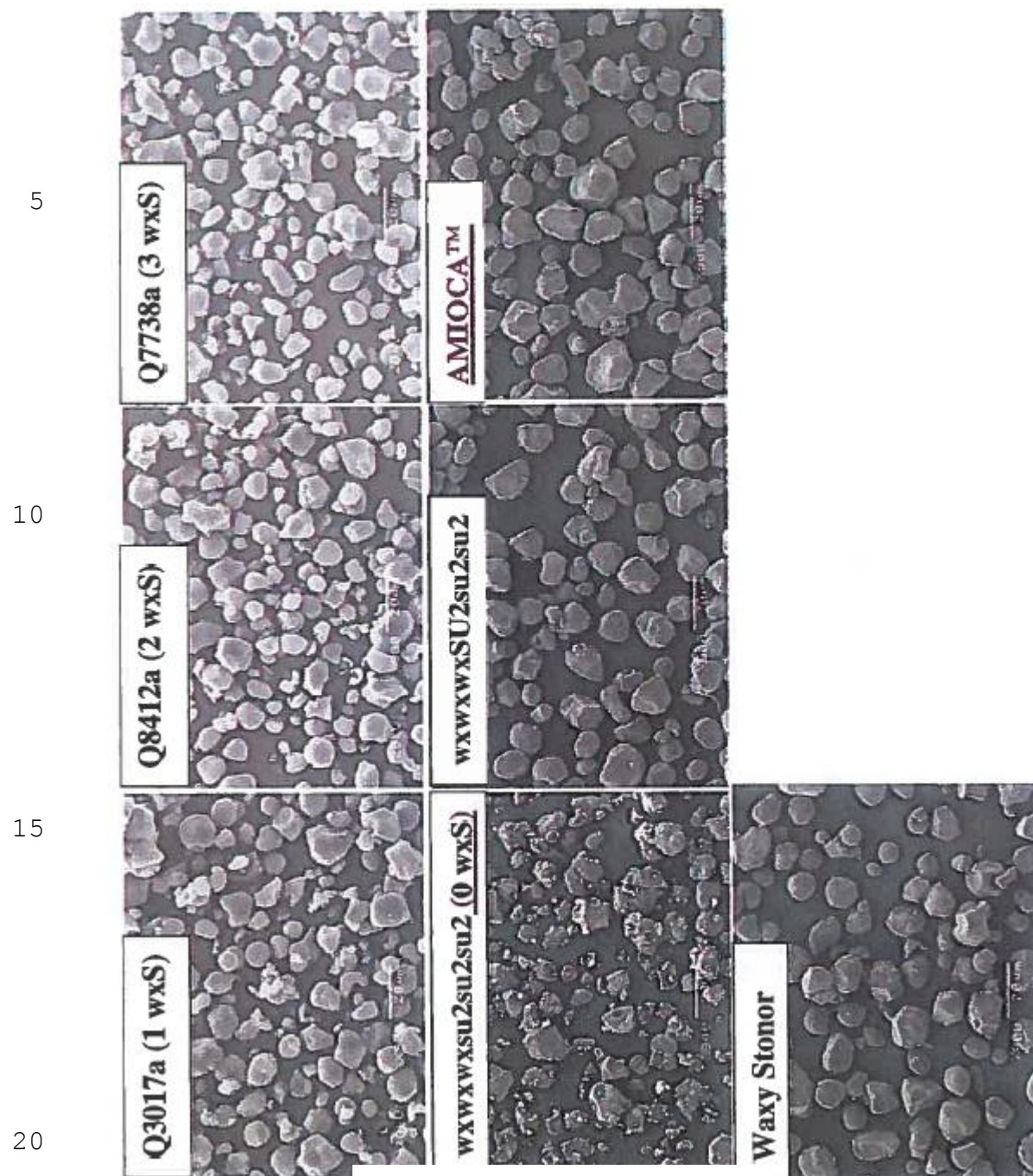


Figura 6

Listado de Secuencias

SEQ ID NO: 1 Proteína Waxy en maíz

10	20	30	40	50
MAALATSQLV	ATRAGLGVPD	ASTFRRGAAQ	GLRGARASAA	ADTLSMRTSA
60	70	80	90	100
RAAPRHQQQA	RRGGRFPSLV	VCASAGMNVV	FVGAEMAPWS	KTGGLGDVLG
110	120	130	140	150
GLPPAMAANG	HRVMVVSPLY	DQYKDAWDS	VVSEIKMGDG	YETVRFFHCY
160	170	180	190	200
KRGVDRVFVD	HPLFLERVWG	KTEEKIYGPV	AGTDYRDNL	RFSLLCQAAL
210	220	230	240	250
EAPRILSLNN	NPYFSGPYGE	DVVFVCNDWH	TGPLSCYLKS	NYQSHGIYRD
260	270	280	290	300
AKTAFCIHNI	SYQGRFAFSD	YPELNLPERF	KSSFDFIDGY	EKPVEGRKIN
310	320	330	340	350
WMKAGILEAD	RVLTVSPYYA	EELISGIARG	CELONIMRLT	GITGIVNGMD
360	370	380	390	400
VSEWDPSRDK	YIAVKYDVST	AVEAKALNKE	ALQAEVGLPV	DRNIPLVAFI
410	420	430	440	450
GRLEEQKQPD	VMAAAIPQLM	EMVEDVQIVL	LGTGKKKFER	MLMSAEEKFP
460	470	480	490	500
GKVRVVKFN	AALAHHIMAG	ADVLAVTSRF	EPCGLIQLQG	MRYGTPCACA
510	520	530	540	550
STGGLVDITII	EGKTGFHMGR	LSVDCNVVEP	ADVKKVATTI	QRAIKVVGTP
560	570	580	590	600
AYEEMVRNCM	IQDLSWKGPA	KNWENVLLSL	GVAGGEPGVE	GEEIAPLAKE

NVAAP

SEQ ID NO: 2 Proteína Sugary 2 en maíz

10	20	30	40	50
MSSAAVSSSS	STFFLALASA	SPGGRRRARV	GSSPFHTGAS	LSFAFWAPPS
60	70	80	90	100
PPRAPRDAAL	VRAEAEAGGK	DAPPERSGDA	ARLPRARRNA	VSKRRDPLQP
110	120	130	140	150
VGRYGSATGN	TARTGAASCQ	NAALADVEIK	SIVAAPPTSI	VKFPAPGYRM
160	170	180	190	200
ILPSGDIAP	TVLPAPKPLH	ESPAVDGDSN	GIAPPTVEPL	VQEATWDFKK
210	220	230	240	250
YIGFDEPDEA	KDDSRVGADD	AGSFEHYGDN	DSGPLAGENV	MNVIVVAAEC
260	270	280	290	300
SPWCKTGGLG	DVVGALPKAL	ARRGHRVMVV	VPRYGDYVEA	FDMGIRKYYK
310	320	330	340	350
AAGPVNYFHA	FIDGVDFVFI	DAPLFRHRQD	DIYGGSRQEI	MKRMILFCKV
360	370	380	390	400
AVEVPWHVPC	GGVCYDGNL	VFIANDWHTA	LLPVYLKAYY	RDHGLMQYTR
410	420	430	440	450
SVLVIHNIH	QGRGPVDEFP	YMDLPEHYLQ	HFELYDPVGG	EHANIFAAGL
460	470	480	490	500
KMADRVTVS	RGYLWELKTV	EGGWGLHDII	RSNDWKINGI	VNGIDHQEWN
510	520	530	540	550
PKVDVHLRSD	GYTNYSLETI	DAGKRQCKAA	LQRELGLEVR	DDVPLLGFIF
560	570	580	590	600

RLDGQKGVDI	IGDAMPWIAG	QDVQLVMLGT	GRADLERMLQ	HLEREHPNKV
610	620	630	640	650
RGWVGFSVPM	AHRITAGADV	LVMPSTRFEP	GLNQLYAMAY	GTVPVVHAVG
660	670	680	690	700
GLRDTVAPFD	PFSDAGLGWT	FDRAEANKLI	EALRHCLDTY	RNYEESWKS
710	720			
QARGMSQDLS	WDHAAELYED	VLVKAKYQW		

5

10

15

20

Bajo la Ley de Reducción de trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76		Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US
		Número de Solicitud	
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA		
La hoja de datos de solicitud es parte de la solicitud provisional o no provisional para la cual se esta presentando. La forma siguiente contiene los datos bibliograficos organizados en un formato especificado por la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos como se resume en 37 CFR 1.76. Este documento se terminará electrónicamente y presentará a la Oficina en formato electrónico usando el Sistema de Presentación Electrónica (EFS por sus siglas en ingles) o el documento se puede imprimir e incluir en una solicitud presentada en papel.			

Orden de Confidencialidad 37 CFR 5.2

☐ Partes o toda la solicitud asociada con esta Hoja de Datos de Solicitud pueden caer bajo una Orden de Confidencialidad de conformidad con 37 CFR 5.2 (Archivadores de papel solamente. Las solicitudes que caen bajo la Orden de Confidencialidad no se pueden presentar electrónicamente).
--

Información del Solicitante:

Inventor 1					Eliminar
Nombre Legal					
Pref.	Nombre de Pila	Segundo Nombre	Apellido	Sufij.	
	Hongxin		JIANG		
Información de Residencia (Seleccionar Una) ☒ Residencia en E.U.A. ☐ No Residencia en E.U.A. ☐ Servicio Militar en E.U.A. Activo					
Ciudad	Bridgewater	Estado/Provincia	NJ	País de Residencia	E.U.A.
Dirección Postal del Inventor:					
Dirección 1		10 Findeme Ave, Bridgewater, NJ 08807 EUA			
Dirección 2					
Ciudad	Bridgewater	Estado/Provincia	NJ		
Código Postal	08807	Paísⁱ		E.U.A.	
Inventor 2					Eliminar
Nombre Legal					
Pref.	Nombre de Pila	Segundo Nombre	Apellido	Sufij.	
	Brad		OSTRANDER		
Información de Residencia (Seleccionar Una) ☒ Residencia en E.U.A. ☐ No Residencia en E.U.A. ☐ Servicio Militar en E.U.A. Activo					
Ciudad	Zionsville	Estado/Provincia	IN	País de Residencia	E.U.A.
Dirección Postal del Inventor:					
Dirección 1		5521 W. 74th St.			
Dirección 2					
Ciudad	Indianapolis	Estado/Provincia	IN		
Código Postal	43268	Paísⁱ		E.U.A.	
Inventor 3					Eliminar
Nombre Legal					
Pref.	Nombre de Pila	Segundo Nombre	Apellido	Sufij.	
	Chris		LANE		

Bajo la Ley de Reducción de trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76		Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US	
		Número de Solicitud		
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA			
Información de Residencia (Seleccionar Una) ☒ Residencia en E.U.A. ☐ No Residencia en E.U.A. ☐ Servicio Militar en E.U.A. Activo				
Ciudad	Bridgewater	Estado/Provincia	NJ	País de Residencia
		E.U.A.		
Dirección Postal del Inventor:				
Dirección 1		10 Finderne Ave, Bridgewater, NJ 08807 EUA		
Dirección 2				
Ciudad	Bridgewater	Estado/Provincia	NJ	
Código Postal	08807	País ⁱ	E.U.A.	
Todos los Inventores se deben Enlistar – Bloques de Información Adicional del Inventor se pueden generar dentro de este formato al seleccionar el botón Agregar .				Agregar

Información de Correspondencia:

Introducir ya sea el Número de Cliente o completar la Información de Correspondencia de la sección abajo. Para información adicional ver 37 CFR 1.33(a).

☐ Se proporciona una dirección para la información de correspondencia de esta solicitud.			
Número de Cliente	81552		
Dirección de Email	ZPATDCDOCKETING@COOLEY.COM	Agregar Email	Eliminar Email

Información de Solicitud:

Título de la Invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA		
Número de Expediente del Abogado	INGR-036/01US	Estado de Entidad Pequeña Reclamado ☐	
Tipo de Solicitud	No provisional		
Materia Objeto	Utilidad		
Número Total de Hojas de Dibujos (si procede)	7	Figura Sugerida para Publicación (si procede)	1
Presentación por Referencia:			
Sólo complete esta sección cuando se presenta una solicitud por referencia bajo 35 U.S.C. 111(c) y 37 CFR 1.57(a). No complete esta sección si los papeles de solicitud incluyendo una especificación y cualquier figura están siendo presentadas. Cualquier información de prioridad extranjera o de beneficio doméstico debe proporcionarse en la(s) sección(es) apropiadas a continuación (es decir, "Información en la Etapa Nacional/Beneficio Doméstico" y "Información de Prioridad Extranjera"). Para propósitos de una fecha de presentación bajo 37 CFR 1.53(b), la descripción y cualquiera de las figuras de la presente solicitud son remplazadas por esta referencia a la solicitud previamente presentada, sujeta a condiciones y requerimientos de 37 CFR 1.57(a).			
Número de solicitud de la solicitud previamente presentada	Fecha de presentación (YYYY-MM-DD)	Autoridad o País de Propiedad Intelectual	

Bajo la Ley de Reducción de trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76		Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US
		Número de Solicitud	
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA		

Información de Publicación:

☐ Solicitud de Publicación Temprana (Pago requerido en tiempo de Solicitud 37 CFR 1.219)
Petición de no Publicar. Solicito por la presente que la solicitud anexa no se publicará bajo la 35 U.S.C. 122(b) y
☐ certificar que la invención descrita en la solicitud anexa no ha sido y no será objeto de una solicitud presentada en otro país, o bajo un acuerdo multilateral, que requiera de publicación a los dieciocho meses después de presentar.

Información del Representante:

La información de representante se debe proporcionar para todos los profesionales que tienen un poder de abogado en la solicitud. Proporcionar esta información en la Hoja de Datos de Solicitud no constituye un poder de abogado en la solicitud (ver 37 CFR 1.32). Introducir ya sea Número de Cliente o completar el Nombre del Representante de la sección abajo. Si ambas secciones se llenan, el Número de Cliente se usará para la información del representante durante el procesamiento.

Por favor seleccionar una:	☒ Número de Cliente	☐ Profesional de Patentes E.U.A.	☐ Reconocimiento Limitado (37 CFR 11.9)
Número de Cliente	81552		

Información de Beneficio Doméstico/Etapa Nacional:

Esta sección permite al solicitante reclamar el beneficio bajo 35 U.S.C. 119(e), 120, 121, o 365(c) o indicar la entrada de Etapa Nacional desde una solicitud de PCT. Proporcionar esta información en la hoja de datos de solicitud constituye la referencia específica requerida por 35 U.S.C. 119(e) o 120, y 37 CFR 1.78(a)(2) o CFR 1.78(a)(4), y no necesita de otra manera ser parte de la especificación.

Estado de Solicitud Anterior		Eliminar	
Número de Solicitud	Tipo de Continuidad	Número de Solicitud anterior	Fecha de Presentación (DÍA-MES-AÑO)
	Continuación de	15090926	05-04-2016

Datos Adicionales de Prioridad Nacional se pueden generar dentro de esta forma al seleccionar el botón Agregar

Información de Prioridad Extranjera:

Esta sección permite que el solicitante reivindique prioridad a una solicitud extranjera. Proporcionando esta información en la hoja de datos de la solicitud constituye el reclamo de prioridad como se requiere por 34 U.S.C. 119 (b) y 37 CFR 1.55. Cuando se reivindica prioridad a una solicitud extranjera que es elegible bajo el programa de intercambio de documentos de prioridad (PDX) la información se usará por la Oficina para intentar automáticamente la recuperación de conformidad con 37 CFR 1.55 (i)(1) y (2). Bajo el programa PDX, el solicitante lleva la responsabilidad definitiva de asegurarse que una copia de la solicitud extranjera se recibe por la Oficina de parte de la oficina de propiedad intelectual extranjera participante, o una copia certificada de una solicitud de prioridad extranjera se presenta, dentro del periodo de tiempo especificado en 37 CFR 1.55(g)(1).

Eliminar			
Número de Solicitud	País ⁱ	Fecha de Presentación de matriz (DÍA-MES-AÑO)	Código de Acceso (si aplica)
Datos Adicionales de Prioridad Extranjera se pueden generar dentro de esta forma al seleccionar el botón Agregar			Agregar

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76	Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US
	Número de Solicitud	
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA	

**Declaración bajo 37 CFR 1.55 o 1.78 para Solicitudes de Transición del AIA
(Primer Inventor en Presentar)**

☐	Esta solicitud (1) reivindica prioridad a o el beneficio de una solicitud presentada antes del 16 de Marzo de 2013 y (2) también contiene, o contuvo en algún momento, una reivindicación a una invención reivindicada que tiene una fecha de presentación efectiva en o después del 16 de Marzo de 2013. NOTA: Al proporcionar esta declaración bajo 37 CFR 1.55 o 1.78, esta solicitud, con una fecha de presentación en o después del 16 de Marzo de 2013, se examinará bajo el primer inventor en presentar las provisiones del AIA.
--------------------------	--

Bajo la Ley de Reducción de trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76		Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US
		Número de Solicitud	
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA		

Autorización o Excusión Voluntaria de Autorización para Permitir Acceso:

Cuando esta Hoja de Datos de la Solicitud se firme y presente apropiadamente con la solicitud, el solicitante ha proporcionado autoridad escrita para permitir que una oficina de propiedad intelectual (IP) extranjera participante acceda a la solicitud como se presento instantánea (ver párrafo A en sub-sección 1 a continuación) y acceso a la Oficina Europea de Patentes (EPO) para cualquier resultado de búsqueda de la solicitud instantánea (ver párrafo B en la sub-sección 1 a continuación).

En caso de que el solicitante elija no proporcionar una autorización identificada en la sub-sección 1 a continuación, el solicitante debe elegir salirse de la autorización al llenar el recuadro correspondiente A o B ambos en la sub-sección 2 a continuación.

NOTA: Esta sección de la Hoja de Datos de la Solicitud es SOLAMENTE revisada y procesada con la presentación INICIAL de una solicitud. Después de la presentación inicial de una solicitud, una Hoja de Datos de la Solicitud no puede usarse para proporcionar o rescindir autorización para acceso por una oficina(s) de IP extranjera(s). En vez, PTO/SB/39 o PTO/SB/69 deben usarse según lo apropiado.

1. Autorización para Permitir Acceso por una Oficina(s) de Propiedad Intelectual Extranjera(s)

A. Intercambio de Documentos de Prioridad (PDX) – A menos que el recuadro A en la sub-sección 2 (salida de la autorización) se llene, el abajo firmante por medio de la presente **otorga la autoridad de USPTO** para proporcionar a la Oficina Europea de Patentes (EPO), la Oficina Japonesa de Patentes (JPO), la Organización Coreana de Propiedad Intelectual (KIPO), la Oficina del Estado de Propiedad Intelectual de la República Popular de China (SIPO), la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (WIPO), y cualquier otra oficina de propiedad intelectual extranjera participando con la USPTO en un acuerdo de intercambio de documentos de prioridad bilateral o multilateral en la que una solicitud extranjera que reivindica prioridad a la solicitud de patente instantánea se presenta, acceso a: (1) solicitud tal como se presentó de la patente instantánea y sus datos bibliográficos relacionados, (2) cualquier solicitud domestica o extranjera a la que se reclama prioridad o beneficio por la solicitud instantánea y sus datos bibliográficos relacionados, y (3) la fecha de presentación de esta Autorización. Ver 37 CFR 1.14(h)(1).

B. Resultados de Búsqueda de Solicitud de E.U.A. a EPO – A menos que el recuadro B en la sub-sección 2 (salida de autorización) esté rellena, el abajo firmante por medio de la presente **otorga la autoridad de USPTO** para proporcionar el acceso de EPO a los datos bibliográficos y resultados de búsqueda de la solicitud de patente instantánea donde una solicitud de patente Europea que reivindica prioridad a la solicitud de patente instantánea se presenta. Ver 37 CFR 1.14(h)(2).

Se le recuerda al solicitante que la Regla del EPO 141(1) EPC (Convención de Patentes Europeas) requiere que los solicitantes presenten una copia de los resultados de búsqueda de la solicitud instantánea sin retraso en una solicitud de patente Europea que reivindique prioridad a la solicitud instantánea.

2. Exclusión voluntaria de Autorizaciones para Permitir el Acceso por una Oficina(s) de Propiedad Intelectual Extranjera(s)

- | | |
|-------------------------------------|---|
| ☒ | A. El Solicitante NO autoriza al USPTO permitir que una oficina de IP extranjera participante acceda a la solicitud instantánea como se presentó. Si este recuadro está relleno, la USPTO no proporcionará a la oficina de IP extranjera participante con ningún documento e información identificada en la sub-sección 1A en lo anterior. |
| ☒ | B. El Solicitante NO autoriza al USPTO transmitir a la EPO ningún resultado de búsqueda de la solicitud de patente instantánea. Si este recuadro está relleno, la USPTO no proporcionará a la EPO con los resultados de búsqueda de la solicitud instantánea. |

NOTA: Una vez que la solicitud se ha publicado o que de otra forma se haya hecho disponible de forma pública, la USPTO puede proporcionar acceso a la solicitud de acuerdo con 37 CFR 1.14.

Bajo la Ley de Reducción de trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76		Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US
		Número de Solicitud	
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA		

Información del Solicitante:

Proporcionar esta información en la hoja de datos de la solicitud no sustituye el cumplimiento con ningún requisito de la parte 3 del Título 37 de la CFR para tener una cesión registrada en la Oficina.

Solicitante 1			Eliminar
Si el Solicitante es el Inventor (o el coinventor o inventores restantes bajo 37 CFR 1.45), ésta sección no se debe completar. La información que será proporcionada en esta sección es el nombre y dirección del representante legal quien es el solicitante bajo 37 CFR 1.43; o nombre y dirección del cesionario, persona con la que el inventor tiene una obligación de ceder la invención, o persona quien es el solicitante que de otra forma muestra interés de propiedad suficiente en la materia bajo 37 CFR 1.46. Si el solicitante es un solicitante bajo 37 CFR 1.46 (cesionario, persona a la cual el inventor está obligado ceder, o persona que de otra forma muestra interés de propiedad suficiente) junto con uno o más coinventores, entonces el coinventor o coinventores quienes también son el solicitante también deben ser identificados en esta sección.			
Borrar			
☐ Cesionario	☐ Representante Legal bajo 35 U.S.C. 117	☐ Coinventor	
☒ Persona a la que el inventor tiene la obligación de ceder		☐ Persona que muestra intereses de propiedad suficiente	
Si el Solicitante es el Representante Legal, indicar la autoridad de presentar la solicitud de patente, el inventor es:			
Nombre del inventor fallecido o legalmente incapacitado:			
Si el Cesionario es una Organización marque aquí. ☒ [X]			
Nombre de la Organización		Com Products Development, Inc.	
Información de Dirección Postal:			
Dirección 1		Av. Do Cafe, 277 Torre B, 2 andar, Jabaquara	
Dirección 2			
Ciudad		Sao Paulo	Estado/Provincia
País	BR	Código Postal	04311-000SP
Número Telefónico			Número de Fax
Dirección de Email			
Los Datos Adicionales del Cesionario se pueden generar dentro de esta forma al seleccionar botón de Agregar			Agregar

Información del Cesionario incluyendo Información del Cesionario no Solicitante:

Proporcionar información de cesión en esta sección no sustituye para el cumplimiento de ningún requerimiento de la parte 3 del Título 37 de CFR para tener una cesión registrada por la Oficina.

Cesionario 1
Complete esta sección si la información del cesionario, incluyendo la información del cesionario no solicitante, se desea incluir en la publicación de solicitud de patente. Un cesionario-solicitante identificado en la sección "Información del Solicitante" aparecerá en la publicación de la solicitud de patente como un solicitante. Para un cesionario-solicitante, complete esta sección sólo si se desea la identificación de un cesionario en la publicación de solicitud de patente.
Si el Cesionario es una Organización marcar aquí ☐

Bajo la Ley de Reducción de trámites de 1995, ninguna persona está obligada a responder a una solicitud de información a menos que se muestre número de control OMB válido

Hoja de Datos de Solicitud 37 CFR 1.76		Número de Expediente de Abogado	INGR-036/01US
		Número de Solicitud	
Título de la invención	COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA PRODUCIR ALMIDÓN CON FUNCIONALIDAD NOVEDOSA		

Prefijo	Nombre de Pila	Segundo Nombre	Apellido	Sufijo

Información de Dirección Postal:

Dirección 1			
Dirección 2			
Ciudad		Estado/Provincia	
País		Código Postal	
Número Telefónico		Número de Fax	
Dirección de Email			

Los Datos Adicionales del Cesionario se pueden generar dentro de esta forma al seleccionar botón de **Agregar**

Agregar

Firma:

Eliminar

NOTA: Esta Hoja de Datos de Solicitud debe firmarse de conformidad con 37 CFR 1.33(b). Sin embargo, si esta Hoja de Datos de Solicitud se presenta con la presentación INICIAL de la solicitud y cualquiera de los recuadros A o B no se encuentran rellenos en la sub-sección 2 de la sección "Autorización o Salida de Autorización para Permitir Acceso", entonces este formato puede también firmarse de conformidad con 37 CFR 1.14(c).

Esta Hoja de Datos de Solicitud **debe** firmarse por un practicante de patentes si uno o más de los solicitantes es una entidad jurídica (por ejemplo, corporación o asociación). Si el solicitante es dos o más co-inventores, este formato debe firmarse por un practicante de patentes, todos los coinventores quienes son el solicitante, o uno o más de los solicitantes-coinventores a los que se ha dado poder de abogado (por ejemplo, ver la forma USPTO PTO/AIA/81) en nombre de todos los solicitantes-coinventores.

Firma	/Jonathan M. Cousin/			Fecha (DIA-MES-AÑO)	21-04-2016
Primer Nombre	Jonathan	Apellido	Cousin	Número de Registro	66418

Firmas Adicionales se pueden generar dentro de esta forma al seleccionar el botón **Agregar**

Agregar

Esta recolección de información se requiere por 37 CFR 1.76. La información se requiere para obtener o conservar un beneficio por el público el cual es presentar (y por el USPTO procesar) una solicitud. La confidencialidad se rige por 35 U.S.C. 122 y 37 CFR 1.14. Esta recolección se estima que lleve 23 minutos en llenarse, incluyendo reunión, preparación, y presentación de la hoja de forma con los datos llenos de la solicitud para la USPTO. El tiempo variará dependiendo del caso individual. Cualquier comentario de la cantidad de tiempo requerido para completar esta forma y/o sugerencias para reducir esta carga, se debe enviar al Director de Información, Oficina de Patentes y Marcas de E.U., Departamento de Comercio de E.U., P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. NO ENVÍE HONORARIOS O FORMULARIOS LLENOS A ESTA DIRECCION. **ENVIAR A: Comisionado para Patentes, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.**

Declaración de la Ley de Privacidad

La Ley de Privacidad de 1974 (P.L. 93-579) requiere que se le proporcione cierta información en relación con su presentación de la forma adjunta en relación con una solicitud de patente o patente. En consecuencia, de conformidad con los requisitos de la Ley, por favor tenga en cuenta que: (1) la autoridad general para la recolección de esta información es 35 U.S.C. 2(b)(2); (2) el suministro de la información solicitada es voluntaria; y (3) el propósito principal para el cual la información se usa por la Oficina de Patentes y Marcas de E.U.A. es para procesar y/o examinar su presentación relacionada a una solicitud de patente o patente. Si no se le suministra información, la Oficina de Patentes y Marcas de E.U.A. no podría procesar y/o examinar su presentación, que puede resultar en el fin del procedimiento o abandono de la solicitud o vencimiento de la patente.

La información proporcionada por usted en este formulario estará sujeta a los siguientes usos de rutina:

1. La información en esta forma se tratará confidencialmente en la medida permitida bajo la Ley de Libertad de Información (5 U.S.C. 552) y la Ley de Privacidad (5 U.S.C. 552a). Los registros de este sistema de registros se pueden describir por el Departamento de Justicia para determinar si la descripción de estos registros se requiere por la Ley de Libertad de Información.
2. Un registro de este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, en el curso de presentación de pruebas ante un tribunal, magistrado, o tribunal administrativo, que incluye revelaciones a los abogados en el curso de las negociaciones de acuerdos.
3. Un registro en este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, de un Miembro del Congreso que presente una solicitud relativa a una persona, a quien corresponde el registro, cuando la persona ha solicitado la asistencia del Diputado con respecto a la materia objeto del registro.
4. Un registro en este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, de un contratista de la Agencia que necesita de la información con objeto de realizar un contrato. Los destinatarios de esta información estarán obligados a cumplir con los requisitos de la Ley de Privacidad de 1974, según se enmienda, de conformidad con 5 U.S.C. 552a(m).
5. Un registro relacionado con una Solicitud Internacional presentado bajo el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes en este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, de la Oficina Internacional de la Organización Mundial de Propiedad Intelectual, de acuerdo con el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes.
6. Un registro en este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, de otra agencia federal para propósitos de revisión Nacional de Seguridad (35 U.S.C. 181) y en virtud del recurso en materia de la Ley de Energía Atómica (42 U.S.C. 218(c)).
7. Un registro de este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, al Administrador, Servicios Generales, o su designado, durante una inspección de registros conducida por GSA como parte de la agencia de responsabilidad para recomendar mejoras en los registros de las prácticas de gestión y programas, bajo la autoridad de 44 U.S.C. 2904 y 2906. Tal descripción se hará de acuerdo con las regulaciones de GSA que rigen la inspección de registros para este propósito, y cualquier otra directiva (esto es, GSA o Comercio) correspondiente. Tal descripción no se utilizará para hacer determinaciones acerca de individuos.
8. Un registro de este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, al público después de ya sea publicación de la solicitud conforme con 35 U.S.C. 122(b) o emisión de una patente conforme a 35 U.S.C. 151. Además, un registro se puede describir, con sujeción a las limitaciones de 37 CFR 1.14, como un uso de rutina, al público si el registro se presentó en una solicitud que acabó abandonada o en la cual los procedimientos se terminaron y cuya solicitud se refiere por cualquiera de una solicitud publicada, una solicitud abierta a la inspección pública o una patente expedida.
9. Un registro de este sistema de registros se puede describir, como un uso de rutina, a una agencia Federal, Estatal, o local de cumplimiento de la ley, si el USPTO tenga cumplimiento de una violación o violación potencial de ley o regulación.