

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un producto de tabaco con niveles reducidos de nitrosamina específica del tabaco (TSNA) generado a partir de una planta de tabaco modificada que comprende:
una enzima nitrato reductasa desregulada que tiene la secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 4 o fragmentos de la misma, la cual comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 523 de dicha secuencia,
en donde la posición 523 de la secuencia SEQ ID NO: 4 se sustituye por ácido aspártico.
2. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 1, en donde la enzima nitrato reductasa desregulada es una enzima nitrato reductasa que está activa constitutivamente.
3. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el polinucleótido que codifica la enzima nitrato reductasa desregulada es un polinucleótido heterólogo que codifica un polipéptido de nitrato reductasa modificada.
4. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 3, en donde el polinucleótido heterólogo está enlazado a un promotor que no está asociado de manera natural con un gen de nitrato reductasa endógena.
5. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 4, en donde el promotor es el promotor del virus del mosaico del coliflor 35S.
6. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el polinucleótido que codifica una enzima nitrato reductasa desregulada comprende una secuencia de polinucleótido SED ID NO. 5.
7. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que tiene niveles reducidos de nitrosamina específica del tabaco (TSNA) en comparación con un producto de tabaco derivado de una planta de tabaco de control en la que la enzima nitrato reductasa no se desreguló.

8. El producto de tabaco de la Reivindicación 7, en donde el nivel de al menos una TSNA en el producto de tabaco es menor en comparación con un nivel de control para al menos una TSNA, donde al menos una TSNA se selecciona del grupo que consiste en N-nitrosornicotina (NNN), 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), N-nitrosoanabasina (NAB), N-nitrosoanatabina (NAT) y combinaciones de estas.
9. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 7 a 8, en donde los niveles totales de TSNA se reducen en al menos 50%.
10. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 8 a 9, en donde el nivel de NNN se reduce en 90%
11. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 8 a 10, en donde el nivel de NNK se reduce en 66%.
12. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 8 a 11, en donde el nivel de NAB se reduce en 92%.
13. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 8 a 12, en donde el nivel de NAT se reduce en 88%.
14. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la planta de tabaco comprende además un gen de la vía de nor nicotina modificado.
15. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 14, en donde el gen de la vía de nor nicotina modificado comprende un gen de nicotina desmetilasa modificado o un gen citocromo P450.
16. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 14 o 15, en donde la planta de tabaco comprende un gen CYP82E4 modificado o un gen CYP82E10 modificado.
17. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 16, en donde el gen CYP82E4 modificado o gen CYP82E10 modificado están inactivados.
18. Un método para producir un producto de tabaco donde los niveles de TSNA medidos en el humo obtenido de la combustión de hojas de una planta de tabaco modificada

se reducen en comparación con los niveles de TSNA medidos en el humo obtenido de la combustión de una planta de tabaco no modificada, que comprende:

(a) modificar una planta de tabaco para que comprenda:

una enzima nitrato reductasa desregulada que tiene la secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 4 o fragmentos de la misma, la cual comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 523 de dicha secuencia,

en donde la posición 523 de la secuencia SEQ ID NO: 4 se sustituye por ácido aspártico.

(b) cosechar hojas de tabaco de dicha planta de tabaco modificada; y

(c) producir un producto de tabaco a partir de las hojas cosechadas.

19. El método de acuerdo con la Reivindicación 18, en donde la enzima nitrato reductasa desregulada es un gen nitrato reductasa endógeno que ha sido modificado por un sistema de edición de genomas o por un mutagen.
20. El método de acuerdo con la Reivindicación 18, en donde el sistema de edición de genomas comprende un sistema basado en CRISPR/Cas diseñado, una nucleasa efectora similar al activador de la transcripción diseñada, una nucleasa de dedos de zinc diseñada o una meganucleasa diseñada.
21. El método de acuerdo con la Reivindicación 20, donde los niveles de TSNA se miden en el humo obtenido de la combustión de hojas de la planta de tabaco.
22. El método de acuerdo con la Reivindicación 21, donde los niveles totales de TSNA se reducen en al menos 70%.