

REIVINDICACIONES

1. Una pluralidad de secuencias de nucleótidos, que comprende:
 - una primera secuencia de nucleótidos que codifica una primera inteína fusionada a al menos una porción de un primer efector tipo activador de transcripción (TALE);
 - una segunda secuencia de nucleótidos que codifica la primera inteína fusionada a al menos una porción de un segundo TALE; y
 - una tercera secuencia de nucleótidos que codifica una segunda inteína fusionada a al menos una porción de una nucleasa de corte raro.
2. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 1, en la que la primera secuencia de nucleótidos codifica la primera inteína fusionada al primer TALE y la segunda secuencia de nucleótidos codifica la primera inteína fusionada al segundo TALE.
3. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 2, en la que la tercera secuencia de nucleótidos codifica la segunda inteína fusionada a la nucleasa de corte raro.
4. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 1, en la que la primera secuencia de nucleótidos codifica la primera inteína fusionada a una primera porción de la nucleasa de corte raro y el primer TALE, y la segunda secuencia de nucleótidos codifica la primera inteína fusionada a la primera porción de la nucleasa de corte raro y el segundo TALE.
5. La pluralidad de la secuencia de nucleótidos según la reivindicación 4, en la que la tercera secuencia de nucleótidos codifica la segunda inteína fusionada a una segunda porción de la nucleasa de corte raro, en la que la primera porción y la segunda porción de la nucleasa de corte raro forman la nucleasa de corte raro.
6. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 1, en la que la pluralidad de secuencias de nucleótidos cada una incluye un vector separado y/o están en un constructo de expresión único.

7. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 1, en la que la primera inteína y la segunda inteína están configuradas para auto-empalmarse cuando están en contacto y, en respuesta, para formar una primera mitad de las nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALEN) que incluye el primer TALE unido a la nucleasa de corte raro.
8. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 7, en la que la primera inteína y la segunda inteína están configuradas para auto-empalmarse cuando están en contacto y, en respuesta, formar una segunda mitad de las TALEN que incluye el segundo TALE unido a la nucleasa de corte raro.
9. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 1, en la que la primera inteína y la segunda inteína están configuradas para auto-empalmarse cuando están en contacto y formar una proteína empalmada que incluye la primera inteína unida a la segunda inteína.
10. La pluralidad de secuencias de nucleótidos según la reivindicación 1, en la que cada una de la pluralidad de secuencias de nucleótidos también codifica un promotor y un terminador.
11. Un procedimiento, que comprende:
poner en contacto una célula con:
una primera secuencia de nucleótidos que codifica una primera inteína fusionada a al menos una porción de un primer efector tipo activador de transcripción (TALE);
una segunda secuencia de nucleótidos que codifica la primera inteína fusionada a al menos una porción de un segundo TALE; y
una tercera secuencia de nucleótidos que codifica una segunda inteína fusionada a al menos una porción de una nucleasa de corte raro; y
en respuesta al contacto con la célula, empalmar el primer TALE, el segundo TALE, y la nucleasa de corte raro mediante la primera inteína y la segunda inteína para formar:

un primera mitad de las nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALEN) que incluye el primer TALE y la nucleasa de corte raro; y

una segunda mitad de las TALEN que incluye el segundo TALE y la nucleasa de corte raro.

12. El procedimiento según la reivindicación 11, que además incluye traducir la primera secuencia de nucleótidos, la segunda secuencia de nucleótidos, y la tercera secuencia de nucleótidos para formar la primera inteína fusionada al primer TALE, la primera inteína fusionada al segundo TALE, y la segunda inteína fusionada a la nucleasa de corte raro.

13. El procedimiento según la reivindicación 11, que además incluye transformar la célula usando la primera mitad de las TALEN y la segunda mitad de las TALEN.

14. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que la primera secuencia de nucleótidos codifica una inteína N-terminal fusionada a un C-terminal del primer TALE, la segunda secuencia de nucleótidos codifica la inteína N-terminal fusionada a un C-terminal del segundo TALE, y la tercera secuencia de nucleótidos codifica una inteína C-terminal fusionada a un N-terminal de la nucleasa de corte raro o la inteína C-terminal fusionada entre las porciones de la nucleasa de corte raro.

15. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que la primera secuencia de nucleótidos codifica una inteína C-terminal fusionada a un N-terminal del primer TALE, la segunda secuencia de nucleótidos codifica la inteína C-terminal fusionada a un N-terminal del segundo TALE, y la tercera secuencia de nucleótidos codifica una inteína N-terminal fusionada a un C-terminal de la nucleasa de corte raro o la inteína N-terminal fusionada entre las porciones de la nucleasa de corte raro.

16. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el empalme incluye la unión de la primera inteína con la segunda inteína para formar:

un primer intermediario que incluye la primera inteína unida a la segunda inteína, en el que la primera inteína está fusionada al primer TALE y la segunda inteína está fusionada a la nucleasa de corte raro; y

un segundo intermediario que incluye la primera inteína unida a la segunda inteína, en el que la primera inteína está fusionada al segundo TALE y la segunda inteína está fusionada a la nucleasa de corte raro.

17. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el empalme incluye:
unir la primera inteína a la segunda inteína;
cortar sitios de empalme asociados con la primera inteína y la segunda inteína; y
unir el primer TALE a la nucleasa de corte raro y unir el segundo TALE a la nucleasa de corte raro para formar la primera mitad de las TALEN y la segunda mitad de las TALEN.

18. El procedimiento según la reivindicación 17, en el que los sitios de empalme están entre:
la primera inteína y el primer TALE;
la primera inteína y el segundo TALE; y
la segunda inteína y la nucleasa de corte raro o porciones de estas.

19. Un constructo de expresión, que comprende:
una primera secuencia de nucleótidos que codifica una primera inteína fusionada a al menos un primer efector tipo activador de transcripción (TALE);
una segunda secuencia de nucleótidos que codifica la primera inteína fusionada a al menos un segundo TALE; y
una tercera secuencia de nucleótidos que codifica una segunda inteína fusionada a al menos una porción de una nucleasa de corte raro.

20. El constructo de expresión según la reivindicación 19, en el que la primera secuencia de nucleótidos codifica una inteína N-terminal fusionada a un C-terminal del primer TALE, la segunda secuencia de nucleótidos codifica la inteína N-terminal fusionada a un C-terminal del segundo TALE, y la tercera secuencia de nucleótidos codifica una inteína C-terminal fusionada a un N-terminal de la nucleasa de corte raro o fusionada entre las porciones de la nucleasa de corte raro.

21. El constructo de expresión según la reivindicación 19, en el que la primera secuencia de nucleótidos codifica una inteína C-terminal fusionada a un N-terminal del primer TALE, la segunda secuencia de nucleótidos codifica la inteína C-terminal fusionada a un N-terminal del segundo TALE, y la tercera secuencia de nucleótidos codifica una inteína N-terminal fusionada a un C-terminal de la nucleasa de corte raro o fusionada entre las porciones de la nucleasa de corte raro.

22. El constructo de expresión según la reivindicación 19, en el que en respuesta a la traducción de la primera secuencia de nucleótidos, la segunda secuencia de nucleótidos, y la tercera secuencia de nucleótidos mediante una célula, la primera inteína y segunda inteína están configuradas para unirse entre sí y autoempalmarse para formar:

una primera mitad de las nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALEN) que incluye el primer TALE unido a la nucleasa de corte raro;

una segunda mitad de las TALEN que incluye el segundo TALE unido a la nucleasa de corte raro; y

una proteína empalmada que incluye la primera inteína unida a la segunda inteína.

23. El constructo de expresión según la reivindicación 19, en el que la primera secuencia de nucleótidos, la segunda secuencia de nucleótidos, y la tercera secuencia de nucleótidos incluyen vectores separados o están en un constructo de expresión único.

24. El constructo de expresión según la reivindicación 19, en el que:

el primer TALE que incluye una primera pluralidad de secuencias de repetición de TALE que, en combinación, se unen a una primera secuencia de nucleótidos en una secuencia de ADN diana; y

el segundo TALE que incluye una segunda pluralidad de secuencias de repetición de TALE que, en combinación, se unen a una segunda secuencia de nucleótidos en la secuencia de ADN diana.

25. El constructo de expresión según la reivindicación 19, en el que cada una de la primera secuencia de nucleótidos, la segunda secuencia de nucleótidos, y la tercera secuencia de nucleótidos además codifican un promotor y un terminador.

26. Una planta, parte de planta o células de plantas transformadas mediante una pluralidad de secuencias de nucleótidos, comprendiendo la pluralidad de secuencias de nucleótidos:

una primera secuencia de nucleótidos que codifica una primera inteína fusionada a al menos una porción de un primer efector tipo activador de transcripción (TALE);

una segunda secuencia de nucleótidos que codifica la primera inteína fusionada a al menos una porción de un segundo TALE; y

una tercera secuencia de nucleótidos que codifica una segunda inteína fusionada a al menos una porción de una nucleasa de corte raro, y

en la que la planta, parte de planta o células de plantas transformadas expresan la primera inteína fusionada al primer TALE, la primera inteína fusionada al segundo TALE, y la segunda inteína fusionada a la nucleasa de corte raro.

27. La planta, parte de planta o células de plantas según la reivindicación 26, en la que la primera inteína y segunda inteína expresadas, de la primera inteína fusionada al primer TALE, la primera inteína fusionada al segundo TALE, y la segunda inteína fusionada a la nucleasa de corte raro, se auto-empalman para formar:

una primera mitad de las nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALEN) que incluye el primer TALE unido a la nucleasa de corte raro;

una segunda mitad de las TALEN que incluye el segundo TALE unido a la nucleasa de corte raro; y

una proteína empalmada que incluye la primera inteína unida a la segunda inteína.

28. La planta, parte de planta o células de plantas según la reivindicación 26, en la que la planta, parte de planta o células de plantas transformadas exhiben:

una primera mitad de las nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALEN) que incluye el primer TALE unido a la nucleasa de corte raro;

una segunda mitad de las TALEN que incluye el segundo TALE unido a la nucleasa de corte raro; y

una proteína empalmada que incluye la primera inteína unida a la segunda inteína.