

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Segundo Examen de Fondo)

1. Una molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, o SEQ ID NO:10, en donde la molécula de ADN recombinante se deriva del evento de maíz MON 95379.
2. La molécula de ADN recombinante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la molécula de ADN recombinante comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2.
3. Una sonda de ADN que comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2.
4. Un par de moléculas de ADN que comprenden dos cebadores que comprenden secuencias seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16.
5. Un método para detectar la presencia de un segmento de ADN de diagnóstico de ADN del evento de maíz MON 95379 en una muestra y dicho método comprende:
 - a) poner dicha muestra en contacto con la sonda de ADN de acuerdo con la Reivindicación 3,
 - b) someter dicha muestra y dicha molécula de ADN a condiciones de hibridación rigurosas, y
 - c) detectar la hibridación de dicha molécula de ADN con dicho ADN en dicha muestra,en donde dicha detección es de diagnóstico para la presencia de dicho ADN del evento de maíz MON 95379 en dicha muestra.
6. Un método para detectar la presencia de un segmento de ADN de diagnóstico de ADN del evento de maíz MON 95379 en una muestra y dicho método comprende:
 - a) poner dicha muestra en contacto con el par de moléculas de ADN de acuerdo

con la Reivindicación 4,

- b) llevar a cabo una reacción de amplificación suficiente para producir un amplicón de ADN, y
- c) detectar la presencia de dicho amplicón de ADN en dicha reacción, en donde dicho amplicón de ADN comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:1.

7. Un producto básico que comprende la molécula de ADN recombinante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el producto básico es maíz triturado o harina de maíz.

8. Un método para determinar la cigosidad de una planta de maíz o semilla de maíz que comprende el evento MON 95379, el cual comprende:

- a) poner una muestra que comprende ADN de maíz en contacto con un par de cebadores que puede producir un amplicón de una de las secuencias de codificación de toxinas que codifica Cry1B.868 o Cry1Da_7,
- b) poner dicha muestra que comprende ADN de maíz en contacto con un par de cebadores que puede producir un amplicón de un estándar interno conocido por ser homocigoto y de copia simple en la planta de maíz,
- c) poner dicha muestra de ADN en contacto con un conjunto de sondas que contiene una primera sonda que se hibrida específicamente con una de las secuencias de codificación de toxinas que codifican Cry1B.868 o Cry1Da_7, y una segunda sonda que se hibrida específicamente con el ADN genómico estándar interno conocido por ser de copia simple y homocigoto en la planta de maíz,
- d) llevar a cabo una reacción de amplificación de ADN con PCR en tiempo real y determinar los umbrales de los ciclos (valores de Ct) del amplicón correspondiente a la secuencia de codificación de toxina y el estándar interno homocigoto de copia simple,
- e) calcular la diferencia (ΔCt) entre el valor de Ct del amplicón estándar interno homocigoto de copia simple y el valor de Ct del amplicón de secuencia de codificación de toxina, y
- f) determinar la cigosidad, en donde un ΔCt de 0 (cero) indica homocigosidad del ADN-T insertado del evento MON 95739 y un ΔCt en el rango de 0,75 a 1,25 indica

heterocigosidad del ADN-T insertado del evento MON 95379,

donde los pares de cebadores se seleccionan del grupo que consiste en SEQ ID NO: 18 combinado con SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 21 combinado con SEQ ID NO: 22; y

donde las sondas son SEQ ID NO:20 y SEQ ID NO:23; o en donde los pares de cebadores se seleccionan del grupo que consiste en SEQ ID NO: 18 combinado con SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 24 combinado con SEQ ID NO: 25; y donde las sondas son SEQ ID NO:20 y SEQ ID NO:26.

9. Un método para determinar la cigosidad de una planta de maíz o semilla de maíz que comprende el evento MON 95379, el cual comprende:

a) poner una muestra que comprende ADN de maíz en contacto con un conjunto de pares de cebadores que comprende dos pares de cebadores diferentes que pueden producir un primer amplicón de diagnóstico del evento MON 95379 y un segundo amplicón de diagnóstico de ADN genómico de maíz nativo que no comprende el evento MON 95379,

b) llevar a cabo una reacción de amplificación de ácidos nucleicos con la muestra y el conjunto de pares de cebadores, y

c) detectar en la reacción de amplificación de ácidos nucleicos el primer amplicón de diagnóstico del evento MON 95379 o el segundo amplicón de diagnóstico de ADN genómico de maíz nativo que no comprende evento MON 95379, en donde la presencia de solo el primer amplicón es de diagnóstico de una planta de maíz o semilla de maíz homocigota para el evento MON 95379, y la presencia tanto del primer amplicón como del segundo amplicón es de diagnóstico de una planta de maíz o semilla de maíz heterocigota para el evento MON 95379, o

i) poner una muestra que comprende ADN de maíz en contacto con un conjunto de sondas que contiene una primera sonda que se hibrida específicamente con ADN del evento MON 95379 y una segunda sonda que se hibrida específicamente con ADN genómico de maíz alterado por la inserción de ADN heterólogo del evento MON 95379 y que no se hibrida con ADN del evento MON 95379, e

ii) hibridar el conjunto de sondas con la muestra en condiciones de hibridación rigurosas, en donde la detección de hibridación de solo la primera sonda en condiciones de hibridación es de diagnóstico de una planta de maíz o semilla de maíz

homocigota para el evento MON 95379, y en donde la detección de hibridación tanto de la primera sonda como de la segunda sonda en condiciones de hibridación rigurosas es de diagnóstico para una planta de maíz o semilla de maíz heterocigota para el evento MON 95379,

en donde el conjunto de pares de cebadores comprende la SEQ ID NO: 15 combinado con la SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 15 combinado con SEQ ID NO: 27; y

en donde el conjunto de sondas comprende la SEQ ID NO: 17 y la SEQ ID NO: 28.
