

REIVINDICACIONES

1. Un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia reguladora del ADN que comprende:

- a. una secuencia con al menos un 80% de identidad de secuencia con respecto a cualquiera de los SEQ ID NO:1-15;
- b. una secuencia que comprenda cualquiera de los SEQ ID NO: 1-15; y
- c. un fragmento de (i) cualquiera de los SEQ ID NO:1-15 o (ii) cualquier secuencia con al menos un 80% de identidad de secuencia a cualquiera de los SEQ ID NO:1-15, donde el fragmento tiene actividad reguladora de genes;

donde dicha secuencia reguladora de ADN está vinculada operativamente a una secuencia de ADN transcribible heteróloga que codifica una recombinasa sitio-específica.

2. El constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque:

- a. dicha secuencia reguladora de ADN tiene al menos un 90 por ciento de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de ADN de cualquiera de los SEQ ID NO:1-15;
- b. dicha secuencia reguladora de ADN tiene al menos un 95 por ciento de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de ADN de cualquiera de los SEQ ID NO: 1-15;
- c. dicha secuencia reguladora del ADN tiene actividad reguladora de genes;
- d. dicha recombinasa sitio-específica se selecciona del grupo formado por una Cre-recombinasa, una Flp-recombinasa, una R-recombinasa y una Gin-Recombinasa;
- e. dicha recombinasa sitio-específica es una Cre-recombinasa;
- f. el constructo de ADN recombinante comprende además uno o ambos de los siguientes casetes de expresión: un transgén marcador seleccionable; y/or un transgén de interés agronómico;
- g. el constructo de ADN recombinante comprende además un par de secuencias de sitio de recombinación sitio-específicas que flanquean una o ambas secuencias de ADN transcribibles que codifican la recombinasa sitio-específica y/o el transgén marcador

seleccionable, donde los sitios de recombinación sitio-específica del pueden ser escindidos por la recombinasa sitio-específica; o

- h. el constructo de ADN recombinante comprende además uno o ambos de los siguientes: un casete de expresión que codifica un ARN guía; y/o un casete de expresión que codifica una nucleasa sitio-específica.

3. El constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizada porque:

- a. dicho par de secuencias de sitios de recombinación sitio- específica están orientadas con una disposición de cabeza-a-cola;
- b. dicho transgén marcador seleccionable confiere resistencia a un herbicida o antibiótico;
- c. dicho par de secuencias de sitios de recombinación sitio- específica se seleccionan del grupo que consiste en LoxP, FRT, RS y GIX;
- d. dicho par de secuencias de sitios de recombinación sitio- específica son cada uno un LoxP;
- e. dicho par de secuencias de sitios de recombinación sitio- específica comprenden cada una el SEQ ID NO: 20;
- f. dicho transgén de interés agronómico confiere tolerancia herbicida en plantas;
- g. dicho transgén de interés agronómico confiere resistencia a plagas o enfermedades en las plantas;
- h. dicho transgén de interés agronómico confiere un aumento del rendimiento o tolerancia al estrés en plantas;
- i. dicho transgén de interés agronómico codifica un ARN_{bc}, un miARN o un ARN interferente;
- j. el constructo de ADN recombinante comprende además un par de secuencias de sitios de recombinación sitio-específica del que flanquean una o más de las secuencias de ADN transcribibles que codifican la recombinasa sitio-específica, el transgén marcador seleccionable, el casete de expresión que codifica el ARN guía y/o el casete de expresión que codifica la nucleasa sitio-específica, donde los sitios iónicos recombinantes sitio-específicos pueden ser escindidos por la recombinasa sitio-específica;

- k. dicho ARN guía comprende una secuencia dirigida que tiene por objetivo una secuencia en el genoma de una célula eucariota para la edición del genoma o la integración sitio-específica;
 - l. el constructo de ADN recombinante comprende dos o más casetes de expresión que codifican dos o más ARN guía;
 - m. el constructo del ADN recombinante comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez casetes de expresión diferentes que codifican el ARN guía;
 - n. dicha nucleasa sitio-específica es una endonucleasa guiada por ARN;
 - o. dicha endonucleasa guiada por ARN se selecciona del grupo formado por Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9, Cas10, Cas12a, Cys1, Cys2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm 6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, CasX y CasY.
4. El constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizada porque:
- a. dicha célula eucariota es una célula vegetal; o
 - b. dicha endonucleasa guiada por ARN es Cas9 o Cas12a.
5. Una molécula de ADN, vector de ADN o vector de transformación de ADN que comprende:
- a. dicho constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 1; o
 - b. dicho constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 1 y un segmento de ADN-T delimitado por un borde izquierdo y un borde derecho.
6. El vector de transformación de ADN de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque dicha secuencia de ADN transcribible que codifica la recombinasa sitio-específica se encuentra entre el borde izquierdo y el borde derecho del segmento de ADN-T.

7. Un vector de transformación de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 2, y un segmento de ADN-T con un borde izquierdo y un borde derecho, caracterizado porque:
- una o más de las secuencias de ADN transcribibles que codifican la recombinasa sitio-específica, el transgen marcador seleccionable y/o el transgén de interés agronómico se encuentran entre el borde izquierdo y el borde derecho del segmento de ADN-T, o
 - una o más de las secuencias de ADN transcribibles que codifican la recombinasa sitio-específica, el marcador seleccionable transgénico, el transgén de interés agronómico, el casete de expresión que codifica el ARN guía y/o el casete de expresión que codifica la nucleasa sitio-específica se encuentran entre el borde izquierdo y el borde derecho del segmento de ADN-T.
8. Una planta, parte de una planta o célula vegetal transgénica, o una célula bacteriana que comprende dicha constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 1.
9. La planta, parte de una planta o célula vegetal transgénica de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizada porque:
- dicho constructo de ADN recombinante se transforma de manera estable en el genoma de la planta, parte de la planta o célula vegetal transgénica; o
 - dicha planta, parte de la planta o célula vegetal transgénica es una planta, parte de una planta o célula vegetal de maíz, soja, algodón o canola.
10. Un método para producir una planta transgénica o parte de una planta, que comprende:
- transformar una célula vegetal de un explante con una molécula o vector de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 1 para producir una o más células vegetales transformadas que comprenden el constructo de ADN recombinante transformadas de manera estable en el genoma de una o más células vegetales transformadas; y
 - regenerar o desarrollar una planta transgénica a partir del explante, caracterizado porque la planta transgénica comprende el constructo de ADN recombinante transformado de manera estable en el genoma de una o más células de la planta transgénica.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado porque:
 - a. dicha célula vegetal se transforma a través de la transformación mediada por *Agrobacterium* o la transformación mediada por *Rhizobium*;
 - b. dicha célula vegetal se transforma mediante transformación mediada por microproyectiles o formación de partículas mediada por bombardeo;
 - c. dicha planta transgénica y célula vegetal son una planta de maíz, soja, algodón o canola y una célula vegetal, respectivamente; o
 - d. el método comprende además: separar o cosechar una parte de la planta transgénica.
12. Un método para extirpar un casete de extracción del genoma de una planta transgénica, que comprende:
 - a. transformar una célula vegetal con una molécula o vector de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 2 para producir una o más células vegetales transformadas que comprendan el constructo de ADN recombinante transformado en forma estable en el genoma de una o más células vegetales transformadas;
 - b. regenerar o desarrollar una planta transgénica, al menos en parte, a partir de una o más células vegetales transformadas de forma estable;
 - c. cruzar la planta transgénica consigo misma o con otra planta; y
 - d. seleccionar una o más plantas de progenie en las que una o ambas secuencias de ADN transcribibles que codifican la recombinasa sitio-específica y/o el transgén marcador seleccionable entre el par de secuencias del sitio de la recombinación sitio-específica del constructo de ADN recombinante se extirpen y ya no estén presentes en el genoma de las plantas de la progenie.
13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado porque:
 - a. dicho constructo de ADN recombinante comprende además uno o ambos de los siguientes casetes de expresión entre el par de secuencias de sitios de recombinación sitio-específica del ADN del constructo de ADN recombinante: un casete de expresión que codifica un ARN guía y/o un casete de expresión que codifica una nucleasa sitio-

específica, y donde se seleccionan una o más plantas de progenie en las que una o más de las secuencias de ADN transcribible que codifica la recombinasa sitio-específica, el transgén marcador seleccionable, el casete de expresión que codifica el ARN guía y/o el casete de expresión que codifica la nucleasa sitio-específica de dicho constructo de ADN recombinante son extirpados y ya no están presentes en el genoma de las plantas de la progenie;

- b. dicha planta transgénica y célula vegetal son una planta de maíz, soja, algodón o canola y una célula vegetal, respectivamente;
- c. el método comprende además: separar o cosechar una parte de una o más plantas de la progenie; o
- d. el método comprende además: cruzar una o más de las plantas de la progenie consigo misma o con otra planta.

14. Un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN seleccionada del grupo formado por:

a. una secuencia con al menos un 85 por ciento de identidad con respecto a cualquiera de los SEQ ID NO: 8, 10, 11, 12 y 14;

b. una secuencia que comprenda cualquiera de los SEQ ID NO:8, 10, 11, 12 y 14;

y

c. un fragmento de cualquiera de los SEQ ID NO:8, 10, 11, 12 y 14, donde el fragmento tiene actividad reguladora de genes;

donde dicha secuencia está vinculada operativamente a una molécula de ADN transcribible heteróloga.

14. El constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 14, caracterizada porque:

- a. dicha secuencia tiene al menos un 90 por ciento de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de ADN de los SEQ ID NO: 8, 10, 11, 12 y 14;
- b. dicha secuencia tiene al menos un 95 por ciento de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de ADN de los SEQ ID NO: 8, 10, 11, 12 y 14;

- c. la secuencia de ADN comprende la actividad reguladora de genes;
- d. la molécula de ADN transcribible heteróloga comprende un gen de interés agronómico, o
- e. la molécula de ADN transcribible heteróloga codifica un ARNbc, un miARN o un ARN interferente.

16. El constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizada porque:

- a. el gen de interés agronómico confiere tolerancia a herbicidas en las plantas; o
- b. El gen de interés agronómico confiere resistencia a plagas en las plantas.

17. Una célula vegetal transgénica que comprende un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia seleccionada del grupo formado por:

- a. una secuencia con al menos un 85 por ciento de identidad de secuencia con respecto a cualquiera de los SEQ ID NO: 8, 10, 11, 12 y 14;
- b. una secuencia que comprende cualquiera de los SEQ ID NO: 8, 10, 11, 12 y 14; y
- c. un fragmento de cualquiera de los SEQ ID NO: 8, 10, 11, 12 y 14, donde el fragmento tiene actividad reguladora de genes;

donde dicha secuencia está vinculada operativamente a un módulo heterólogo transcribible de ADN.

18. La célula vegetal transgénica de acuerdo con la reivindicación 17, caracterizada porque:

- a. dicha célula vegetal transgénica es una célula vegetal monocotiledónea; o
- b. dicha célula vegetal transgénica es una célula vegetal dicotiledónea.

19. Una planta transgénica o parte de una planta, semilla de planta transgénica, o planta progenie o parte de una planta, que comprende el constructo de ADN recombinante de acuerdo con la reivindicación 14.

20. Un método de producción de un commodity que comprende la obtención de una planta transgénica o parte de ella de acuerdo con la reivindicación 19.

21. El método de acuerdo con la reivindicación 20, caracterizado porque la commodity consiste en semillas, semillas procesadas, concentrado de proteína, aislado de proteína, almidón, granos, partes de plantas, aceite de semilla, biomasa, harina y sémola.

22. Un método de expresar un constructo de ADN transcribible que comprende la obtención de una planta transgénica de acuerdo con la reivindicación 19 y el cultivo de dicha planta, caracterizado porque se expresa el ADN transcripto.

23. Una secuencia codificante Cre-recombinasa, dicha secuencia tiene:

- a. al menos el 90% de la identidad de secuencia con respecto al SEQ ID NO:17.
- b. al menos el 95% de la identidad de secuencia con respecto al SEQ ID NO:17; o
- c. al menos el 99% de la identidad de secuencia con respecto al SEQ ID NO:17.