



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0610654-4 A2**

(22) Data de Depósito: 26/05/2006
(43) Data da Publicação: 13/07/2010
(RPI 2062)



(51) *Int.Cl.:*
A01H 5/10
C12Q 1/68

(54) Título: **OCORRÊNCIA DE SOJA MON8978 E MÉTODOS PARA DETECÇÃO DA MESMA**

(30) Prioridade Unionista: 27/05/2005 US 60/685,584

(73) Titular(es): MONSANTO TECHNOLOGY LLC

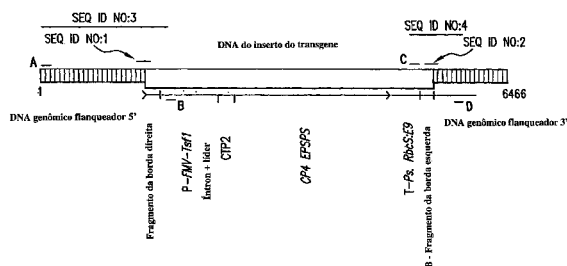
(72) Inventor(es): ELLEN DICKINSON, JENNIFER RINEHART, MARIANNE MALVEN, NANCY TAYLOR

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006020323 de 26/05/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/130436 de 07/12/2006

(57) Resumo: Patente de Invenção: OCORRÊNCIA DE SOJA MON8978 E MÉTODOS PARA DETECÇÃO DA MESMA. A presente invenção refere-se a planta e semente de soja que compreendem o evento de transformação MON89788 e moléculas de DNA únicas para esses eventos. A invenção também fornece métodos para detectar a presença dessas moléculas de DNA em uma amostra.



Pet 020070013883
Pi 0610654-4

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**OCORRÊNCIA DE SOJA MON8978 E MÉTODOS PARA DETECÇÃO DA MESMA**".

Antecedentes da Invenção

Esse pedido de patente reivindica prioridade do Pedido de patente Provisório U.S. Nº 60/685.584, depositado em 27 de maio de 2005, cuja descrição completa está incorporada aqui por referência.

1. Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a um novo e característico evento de transformação de soja transgênico, chamado MON89788, um cultivar de soja derivado dele, e partes de planta, semente e produtos desse. A invenção também refere-se a testes para detectar a presença de uma molécula de DNA específica para MON89788 em um extrato de parte de planta ou extrato de semente.

2. Descrição da Técnica Relacionada

Soja (*Glycine max*) é um cultivo importante em várias áreas do mundo. Os métodos de biotecnologia têm sido aplicados à soja para melhorar as características agronômicas e da qualidade do produto. Uma tal característica agronômica importante na produção de soja é a tolerância à herbicida, em particular, tolerância ao herbicida glifosato. Um evento de soja tolerante à herbicida seria uma característica útil para controlar plantas daninhas.

N-fosfonometilglicina, também conhecido como glifosato, é um herbicida bem-conhecido que tem atividade em um amplo espectro de espécies de planta. O glifosato é o ingrediente ativo de Roundup® (Monsanto Co., St. Louis, MO), um herbicida seguro que tem meia vida desejavelmente curta no meio ambiente. Quando aplicado à superfície de uma planta, o glifosato se move sistemicamente através da planta. O glifosato é fitotóxico devido a sua inibição da via do ácido chiquímico, que fornece um precursor para a síntese de aminoácidos aromáticos. O glifosato inibe a enzima 5-enolpiruvil-3-fosfochiquimato sintase (EPSPS) encontrada em plantas.

A tolerância ao glifosato pode ser alcançada pela expressão de variantes de EPSPS que têm menor afinidade por glifosato e portanto retêm sua atividade catalítica na presença de glifosato (Patente U.S. Nºs 5.633.435;

5.094.945; 4.535.060, e 6.040.497). Enzimas que degradam o glifosato em tecidos de planta (Patente U.S. Nº 5.463.175) também são capazes de conferir tolerância celular ao glifosato. Tais genes são usados para a produção de cultivos transgênicos que são tolerantes ao glifosato, assim permitindo que o glifosato seja usado para controle eficaz de plantas daninhas com preocupação mínima de danos ao cultivo. Por exemplo, tolerância ao glifosato foi manipulada geneticamente em milho (Patente U.S. 5.554.798), trigo (Patente U.S. 6.689.880), algodão (Patente U.S. 6.740.488), soja (WO 9200377) e canola (Pedido de Patente U.S. 20040018518). Os transgenes para tolerância ao glifosato e os transgenes para tolerância a outros herbicidas, por exemplo, o gene *bar*, (Toki *et al.*, 1992; Thompson *et al.*, 1987; fosfinotricina acetiltransferase (DeBlock *et al.*, 1987), para tolerância ao herbicida glufosinato) também são úteis como marcadores selecionáveis e marcadores classificáveis e pode fornecer um fenótipo útil para seleção de plantas ligadas com outras características agronomicamente úteis.

A expressão de genes estranhos em plantas é conhecida por ser influenciada por sua posição cromossômica, talvez devido à estrutura da cromatina (por exemplo, heterocromatina) ou a proximidade de elementos de regulação transcricional (por exemplo, intensificadores) próximos ao sítio de integração (Weising *et al.*, 1988). Por essa razão, é freqüentemente necessário rastrear um grande número de eventos a fim de identificar um evento caracterizado por expressão ótima de um gene de interesse introduzido. Por exemplo, foi observado em plantas e em outros organismos que pode haver uma grande variação nos níveis de expressão de um gene introduzido entre eventos. Também pode haver diferenças nos padrões espaciais ou temporais de expressão, por exemplo, diferenças na expressão relativa de um transgene em vários tecidos de planta, que pode não corresponder aos padrões esperados a partir de elementos regulatórios transcricionais presentes no construto gênico introduzido. Por essa razão é comum produzir centenas a milhares de eventos diferentes e rastrear esses eventos por um único evento que tenha os níveis e padrões de expressão do transgene para fins comerciais desejados. Um evento que tem os níveis ou padrões de expressão

de transgene desejados é útil para introgridir o transgene em outro perfil genético por cruzamento sexual usando métodos de reprodução convencionais. A progênie de tais cruzamentos mantém as características de expressão do transgene do transformante original. Essa estratégia é usada para
5 garantir expressão gênica confiável em diversas variedades que estão bem adaptadas às condições de crescimento locais.

Seria vantajoso ser capaz de detectar a presença de um evento particular a fim de determinar se a progênie de um cruzamento sexual contém um transgene de interesse. Além disso, um método para detectar um
10 evento particular seria útil para cumprir os regulamentos que requerem a pré-aprovação do mercado e rotulagem de alimentos derivados de plantas de cultivos transgênicos, por exemplo. É possível detectar a presença de um transgene por qualquer método de detecção de ácido polinucleico bem-conhecido tal como a reação em cadeia da polimerase (PCR) ou hibridização de DNA usando sondas de ácido polinucleico. Esses métodos de detecção
15 geralmente focam em elementos genéticos usados frequentemente, tais como promotores, terminadores, genes marcadores, etc. Como um resultado, tais métodos podem não ser úteis para discriminar entre eventos diferentes, particularmente aqueles produzidos usando o mesmo construto de DNA a menos que a sequência de DNA cromossômico ("DNA flanqueador") adjacente ao DNA do transgene inserido seja conhecida. Um teste de PCR evento-específico é discutido, por exemplo, por Windels *et al.* (1999), que identificou o evento de soja tolerante ao glifosato 40-3-2 por PCR usando um conjunto de iniciadores que ocupa a junção entre o inserto do transgene e um
20 DNA flanqueador, especificamente um iniciador que incluía a sequência do inserto e um segundo iniciador que incluía sequência do DNA flanqueador. Métodos de detecção de DNA específico de evento de planta transgênico também foram descritos nas Patentes U.S. Nos. 6.893.826; 6.825.400; 6.740.488; 6.733.974 e 6.689.880; 6.900.014 and 6.818.807, aqui incorporadas por referência nas suas totalidades.
30

A invenção refere-se ao evento de soja tolerante ao glifosato MON89788 (também referido como MON19788 ou GM_A19788) e às molé-

culas de DNA contidas nessas plantas de soja que são úteis em métodos de detecção para a planta e progênie dessa e tecidos de planta derivados de MON89788.

Sumário da Invenção

5 A presente invenção fornece um evento transgênico de soja chamado MON89788 (também referido como MON19788) e progênie desse que tem semente representante depositada com a *American Type Culture Collection* (ATCC) com N^o de acesso PTA-6708. Outro aspecto da invenção são as células de planta ou partes regeneráveis da planta e sementes do
10 evento de soja MON89788. A invenção também inclui partes de planta do evento de soja MON89788 que incluem, mas não estão limitadas a uma célula, pólen, óvulo, flores, ramos, folhas, e produtos derivados de MON89788, por exemplo, farelo, farinha e óleo de soja.

Um aspecto da invenção fornece composições e métodos para
15 detectar a presença de uma região de junção de DNA de transgene/genômico de uma planta ou semente de evento de soja MON89788 ou produtos derivados das partes de planta ou semente. São fornecidas moléculas de DNA que compreendem pelo menos uma molécula de DNA da junção transgene/ genômico selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 1 e SEQ
20 ID NO: 2, e complementos dessas, em que a molécula de junção ocupa o sítio de inserção que compreende um DNA heterólogo inserido no genoma da célula de soja e o DNA genômico da célula de soja flanqueando o sítio de inserção do evento de soja MON89788. Tais seqüências de junção podem, em um aspecto da invenção, ser definidas como compreendendo os nucleotídeos 1093-1113 ou 5396-5416 de SEQ ID NO: 9, respectivamente. Em outros aspectos da invenção, as junções podem ser definidas como incluindo porções adicionais do genoma flanqueador e do transgene, por exemplo, e podem ser definidas como compreendendo uma ou mais seqüências como
25 dadas pelos nucleotídeos 1073-1113, 1043-1113, 1093-1133, 1093-1163, 1043-1163, 5376-5416, 5346-5416, 5396-5436, 5396-5416, 5396-5466, ou
30 5346-5466 de SEQ ID NO: 9. Tais seqüências e plantas e sementes que compreendem essas seqüências formam, portanto um aspecto da invenção.

É fornecida uma nova molécula de DNA que é uma região de DNA de transgene/genômico SEQ ID NO: 3 ou o complemento dessa, do evento de soja MON89788. Uma planta de soja e semente que compreende SEQ ID NO: 3 no seu genoma é um aspecto dessa invenção. SEQ ID NO: 3
5 ainda compreende SEQ ID NO: 1 na sua totalidade.

De acordo com outro aspecto da invenção, é fornecida uma molécula de DNA que é uma região de DNA de transgene/genômico SEQ ID NO: 4, ou o complemento dessa, em que essa molécula de DNA é nova no evento de soja MON89788. Uma planta de soja e semente que compreende
10 SEQ ID NO: 4 no seu genoma é um aspecto dessa invenção. SEQ ID NO: 4 ainda compreende SEQ ID NO: 2 na sua totalidade.

De acordo com outro aspecto da invenção, duas moléculas de ácido nucleico são fornecidas para uso em um método de detecção de DNA, em que a primeira molécula de ácido nucleico compreende pelo menos 11
15 ou mais polinucleotídeos contíguos de qualquer porção da região do transgene da molécula de DNA de SEQ ID NO: 3 e o segundo ácido nucleico é uma molécula de extensão similar de qualquer porção de uma região de DNA genômico de soja flanqueadora 5' de SEQ ID NO: 3, em que essas moléculas de ácido nucleico quando usadas juntas são úteis como iniciadores
20 em um método de amplificação de DNA que produz um amplicon. O amplicon produzido usando esses iniciadores no método de amplificação de DNA é diagnóstico para o DNA do evento de soja MON89788. O amplicon produzido pelos iniciadores descritos que é homólogo ou complementar a uma porção de SEQ ID NO: 3 compreendendo SEQ ID NO: 1 é um aspecto da
25 invenção.

De acordo com outro aspecto da invenção, duas moléculas de ácido nucleico são fornecidas para uso em um método de detecção de DNA, em que a primeira molécula de ácido nucleico compreende pelo menos 11 ou mais polinucleotídeos contíguos de qualquer porção da região do trans-
30 gene da molécula de DNA de SEQ ID NO: 4 e uma segunda molécula de ácido nucleico de extensão similar de qualquer porção de um DNA genômico de soja flanqueador 3' de SEQ ID NO: 4, em que essas moléculas de ácido

nucleíco quando usadas juntas são úteis como iniciadores em um método de amplificação de DNA que produz um amplicon. O amplicon produzido usando esses iniciadores no método de amplificação de DNA é diagnóstico para o DNA do evento de soja MON89788. O amplicon produzido pelos iniciadores descritos que é homólogo ou complementar a uma porção de SEQ ID NO: 4 que compreende SEQ ID NO: 2 é um aspecto da invenção.

Qualquer par de iniciadores de ácido nucleíco derivado de SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4, ou SEQ ID NO: 9 ou os complementos desses, que quando usados em uma reação de amplificação de DNA produz um amplicon diagnóstico para tecido derivado do evento de soja MON89788 tal como um amplicon que compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 ou qualquer porção de SEQ ID NO: 9, respectivamente, é outra modalidade da invenção. Em uma modalidade particular, o par de iniciadores pode consistir em um iniciador A (SEQ ID NO: 5) e iniciador D (SEQ ID NO: 8).

Outro aspecto da invenção é uma planta de soja ou semente, ou produto derivado de uma planta ou semente que compreende o evento MON89788, no qual o DNA genômico quando isolado da planta de soja, ou semente, ou produto, produz um amplicon em um método de amplificação de DNA que compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

Ainda outro aspecto da invenção é uma planta de soja, ou semente, ou produto derivado de uma planta ou semente que compreende MON89788, no qual o DNA genômico quando isolado da planta de soja, ou semente, ou produto produz um amplicon em um método de amplificação de DNA, em que as moléculas iniciadoras de DNA SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6 são usadas no método de amplificação de DNA.

Ainda outro aspecto da invenção é uma planta de soja, semente, produto ou mercadoria derivada da planta ou semente, que compreende MON89788, no qual o DNA genômico quando isolado da planta de soja, ou semente, ou produto produz um amplicon em um método de amplificação de DNA, em que as moléculas iniciadoras de DNA SEQ ID NO: 7 e SEQ ID NO: 8 são usadas no método de amplificação de DNA. O produto ou mercadoria pode compreender, sem limitação, um alimento ou produto alimentício que

compreende ou é derivado de um ou mais dos seguintes produtos de uma planta de soja que compreende o evento MON89788: lecitina, ácidos graxos, glicerol, estero, óleo comestível, flocos de soja desengordurados, farelos de soja incluindo farelos de soja desengordurados e tostados, coalhada de leite de soja, tofú, farinha de soja, concentrado de proteína de soja, proteína de soja isolada, proteína de soja hidrolisada, proteína de soja texturizada, e fibra de proteína de soja.

De acordo com outro aspecto da invenção, um método de detectar a presença de DNA que corresponde especificamente ao DNA do evento de soja MON89788 em uma amostra é fornecido. Tal método compreendendo: (a) colocar uma amostra compreendendo DNA em contato com um par de iniciadores de DNA (b) realizar uma reação de amplificação de ácido nucleico, assim produzindo o amplicon; e (c) detectar o amplicon, em que o dito amplicon compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2. Um kit que compreende moléculas de iniciadores de DNA que quando usadas em um método de amplificação de DNA produz um amplicon que compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 é um aspecto adicional da invenção.

De acordo com outro aspecto da invenção, um método de detectar a presença de DNA que corresponde especificamente ao DNA do evento de soja MON89788 em uma amostra é fornecido. Tal método compreendendo: (a) colocar uma amostra compreendendo DNA em contato com uma sonda que hibridiza sob condições estridentes de hibridização com um DNA de planta de soja de controle; (b) submeter a amostra e a sonda a condições de hibridização estridentes; e (c) detectar a hibridização da sonda ao DNA do evento de soja MON89788, em que a dita sonda compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2. A amostra pode compreender uma semente, planta, ou parte de planta de uma progênie que compreende o evento de soja MON89788, ou qualquer parte dos seguintes produtos derivados de uma planta que compreende MON89788: lecitina, ácidos graxos, glicerol, estero, óleo comestível, flocos de soja desengordurados, farelos de soja incluindo farelos de soja desengordurados e tostados, coalhada de leite de soja, tofú, farinha de soja, concentrado de proteína de soja, proteína de soja

isolada, proteína de soja hidrolisada, proteína de soja texturizada e fibra de proteína de soja. Um kit compreendendo uma sonda que compreende uma molécula de DNA que é homóloga ou complementar a SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 é um aspecto da invenção. Um kit que compreende uma mo-
5 lécula de DNA que compreende SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, ou SEQ ID NO: 20, ou seus complementos, também é um aspecto da invenção.

De acordo com outro aspecto da invenção, é fornecido um método de produzir uma planta de soja que tolera uma aplicação de glifosato que compreende as etapas de: (a) cruzar sexualmente uma primeira planta
10 de soja parental tolerante ao glifosato que compreende o evento MON98788, e uma segunda planta de soja parental que não tem a tolerância ao glifosato, assim produzindo uma pluralidade de plantas de progênie; (b) selecionar uma planta da progênie que tolera aplicação de glifosato. Métodos de reprodução podem compreender adicionalmente as etapas de cruzar a planta pa-
15 rental que compreende o evento de soja MON89788 a uma segunda planta de soja parental que também é tolerante ao glifosato e selecionar a progênie tolerante ao glifosato por DNA marcador molecular geneticamente ligado ao fenótipo tolerante ao glifosato encontrado em cada parente.

Outro aspecto da invenção é um método de controlar plantas
20 daninhas em um campo de plantas de soja que compreendem MON89788, em que o dito método compreende plantar um campo com semente de soja que compreende o evento MON89788 a dita semente representante depositada como Nº de acesso da ATCC PTA-6708, permitir que a dita semente germine e tratar as ditas plantas com uma dose eficaz de glifosato para con-
25 trolar o crescimento de planta daninha no dito campo.

Os aspectos anteriores e outros aspectos da invenção se tornarão mais claros a partir da seguinte descrição detalhada e desenhos anexos.

Breve Descrição dos Desenhos

Figura 1. Organização da inserção do transgene o genoma de
30 uma planta de soja que compreende o evento MON89788.

Figura 2A- 2B. Processamento de produtos de consumo de soja.

Descrição Detalhada

A presente invenção refere-se a um novo evento de transformação de soja chamado MON89788 que fornece tolerância ao glifosato, e as partes de planta e sementes e produtos produzidos a partir das plantas, partes de plantas, semente e produtos compreendendo o evento. A invenção fornece moléculas de DNA que são novas no genoma de células de soja compreendendo MON89788 e moléculas de DNA que podem ser usadas em vários métodos de detecção de DNA para identificar DNA de MON89788 em uma amostra. A invenção fornece um método para controlar plantas daninhas em um campo de plantas que contem MON89788 pelo tratamento das plantas daninhas no campo compreendendo plantas que compreendem o evento MON89788 com um herbicida de glifosato.

As seguintes definições e métodos são fornecidos para melhor definir a presente invenção e para guiar os versados na técnica na prática da presente invenção. A menos que observado de outra maneira, os termos devem ser entendidos de acordo com o uso convencional por aqueles versados na técnica relevante. Definições de termos comuns em biologia molecular também podem ser encontrados em Rieger *et al.* (1991) e Lewin (1994). A nomenclatura para bases de DNA conforme descrita em 37 CFR § 1.822 é usada.

Como usado aqui, o termo “soja” significa *Glycine Max* e inclui todas as variedades de planta que podem ser geradas com soja.

Como usado aqui, o termo “compreendendo” significa “incluindo, mas não limitado a”.

“Glifosato” refere-se a N-fosfonometilglicina e seus sais, Glifosato é o ingrediente ativo do herbicida Roundup® (Monsanto Co.). Tratamentos com o “herbicida glifosato” referem-se a tratamentos com os herbicidas Roundup®, Roundup Ultra®, Roundup Pro® ou qualquer outra formulação de herbicida contendo glifosato. Exemplos de formulações comerciais de glifosato incluem, sem restrição, aqueles comercializados por Monsanto Company como os herbicidas ROUNDUP®, ROUNDUP® ULTRA, ROUNDUP® ULTRAMAX, ROUNDUP® CT, ROUNDUP® EXTRA, ROUNDUP® BIACTIVE, ROUNDUP®

BIOFORCE, RODEO®, POLARIS®, SPARK® e ACCORD® todos os quais contêm glifosato como seu sal de isopropilamônio; ROUNDUP® WEATHERMAX (sal de potássio de glifosato), aqueles comercializados por Monsanto Company como os herbicidas ROUNDUP® DRY e RIVAL®, que contêm glifosato como seu sal de amônio; aqueles comercializados por Monsanto Company, como ROUNDUP® GEOFORCE, que contêm glifosato como seu sal de sódio; e aqueles comercializados por Syngenta Crop Protection como o herbicida TOUCHDOWN®, que contêm glifosato como seu sal de trimetilsulfônio. Tratamento de um campo compreendendo plantas de soja tolerantes ao glifosato compreendendo o evento MON89788 com qualquer uma dessas formulações de herbicida de glifosato controlará o crescimento de plantas daninhas no campo e não afetará o crescimento ou produção das plantas de soja compreendendo MON89788.

Um “evento” transgênico é produzido por transformação de células de planta com DNA heterólogo, por exemplo, um construto de ácido nucleico que inclui um transgene de interesse, regeneração de uma população de plantas que resulta da inserção do transgene no genoma da planta, e seleção de uma planta particular caracterizada pela inserção em uma localização particular do genoma. O termo “evento” refere-se ao transformante original e progênie do transformante que incluem o DNA heterólogo. O termo “evento” também refere-se a progênie produzida por um cruzamento sexual entre o transformante e outra variedade que inclui o DNA do transgene heterólogo e o DNA genômico flanqueador. O termo “evento” também refere-se ao DNA do transformante original compreendendo o DNA inserido e a sequência genômica flanqueadora imediatamente adjacente ao DNA inserido que seria esperado ser transferida para uma progênie que recebe DNA inserido incluindo o transgene de interesse como o resultado de um cruzamento sexual de uma linhagem parental que inclui o DNA inserido (por exemplo, o transformante original e a progênie que resulta do “selfing”) e uma linhagem parental que não contém o DNA inserido.

Uma planta de soja tolerante ao glifosato pode ser gerada por primeiramente cruzar sexualmente uma primeira planta de soja parental que

consiste em uma planta de soja cultivada a partir de uma planta de soja tolerante ao glifosato compreendendo MON89788 ou uma planta de soja que é uma progênie do cruzamento de tal planta que expressa o fenótipo tolerante ao glifosato, e uma segunda planta de soja parental que não tem a tolerância ao glifosato, assim produzindo uma pluralidade de plantas de primeira progênie; e então selecionar uma planta da progênie que é tolerante à aplicação do herbicida glifosato. Essas etapas podem ainda incluir o retrocruzamento da planta da progênie tolerante ao glifosato à segunda planta de soja parental ou uma terceira planta de soja parental, e então selecionar a progênie por aplicação com glifosato ou pela identificação com marcadores moleculares associados com a característica produzindo assim uma planta de soja que tolera a aplicação do herbicida glifosato. Marcadores moleculares que podem ser usados compreendem as moléculas de DNA de junção identificadas nos sítios 5' e 3' da inserção do transgene no evento MON89788.

Também deve ser entendido que duas plantas transgênicas diferentes também podem ser acasaladas para produzir descendência que contém dois transgenes exógenos de segregação independente. O retrocruzamento com uma planta parental e cruzamento com uma planta não-transgênica como descrito anteriormente também é contemplado, como é a propagação vegetativa. Descrições de outros métodos de reprodução que são comumente usados para diferentes características e cultivos podem ser encontradas em uma de várias referências, por exemplo, Fehr, (1987).

Uma "sonda" é um ácido nucleico isolado ao qual está ligado um marcador detectável convencional ou uma molécula repórter, por exemplo, um isótopo radioativo, um ligante, um agente quimioluminescente, ou uma enzima. Tal sonda é complementar a um filamento de um ácido nucleico alvo, no caso da presente invenção, a um filamento de DNA genômico de uma planta de soja que compreende o evento MON89788 seja de uma planta de soja ou semente ou de uma amostra ou extrato da planta ou semente que inclui DNA do evento. Sondas de acordo com a presente invenção incluem não apenas ácidos desoxirribonucleicos ou ribonucleicos, mas também poliamidas e outros materiais de sonda que se ligam especificamente a uma

seqüência de DNA-alvo e podem ser usados para detectar a presença de uma seqüência de DNA-alvo.

“Iniciadores” são ácidos polinucleicos isolados que são anelados a um filamento de ácido polinucleico complementar por hibridização de ácido nucleico para formar um híbrido entre o iniciador e o filamento de ácido polinucleico-alvo, então estendidos ao longo do filamento de ácido polinucleico-alvo por uma polimerase, por exemplo, DNA polimerase. Pares de iniciadores da presente invenção referem-se ao seu uso para amplificação de uma molécula de ácido polinucleico-alvo, por exemplo, pela reação em cadeia da polimerase (PCR) ou outros métodos de amplificação de ácido nucleico convencionais.

Sondas e iniciadores geralmente têm 11 polinucleotídeos ou mais de extensão, preferivelmente 18 polinucleotídeos ou mais, mais preferivelmente 24 polinucleotídeos ou mais. Tais sondas e iniciadores hibridizam especificamente a uma molécula-alvo sob condições de alta estringência de hibridização. Preferivelmente, sondas e iniciadores de acordo com a presente invenção têm identidade de seqüência completa com a molécula-alvo, embora sondas que diferem da seqüência-alvo e que retêm a habilidade de hibridizar a seqüências-alvo sob condições de alta estringência podem ser desenhadas por métodos convencionais.

Métodos para preparar e usar sondas e iniciadores são descritos, por exemplo, em Sambrook *et al.* (1989); Ausubel *et al.* (1992); e Innis *et al.* (1990). Pares de iniciadores de PCR (um conjunto de iniciadores) podem ser derivados de uma seqüência conhecida, por exemplo, pelo uso de programas planejados para esse fim tal como Primer (Versão 0.5, © 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA).

Iniciadores e sondas baseadas nas seqüências do DNA genômico flanqueador e do inserto descritas aqui (SEQ ID NOs: 1-4 e 9) podem ser usadas para confirmar e, se necessário, corrigir as seqüências descritas por métodos convencionais, por exemplo, por isolar a molécula de DNA correspondente a partir de uma depósito de semente compreendendo MON89788, e determinar a seqüência de ácido nucleico de tais moléculas. Moléculas de

DNA associadas adicionais podem ser isoladas do genoma de uma célula compreendendo MON89788 que compreende as regiões de inserto do transgene e flanqueadora genômica, e fragmentos dessas moléculas podem ser usados como iniciadores ou sondas.

5 As sondas e iniciadores de ácido nucleíco da presente invenção hibridizam sob condições estridentes a uma seqüência de DNA-alvo. Qualquer método de hibridização ou amplificação de ácido nucleíco convencional pode ser usado para identificar a presença de DNA do evento MON89788 em uma amostra. Moléculas de ácido nucleíco ou fragmentos dessas são
10 capazes de hibridizar especificamente a outras moléculas de ácido nucleíco sob certas circunstâncias. Como usado aqui, duas moléculas de ácido nucleíco são ditas serem capazes de hibridizar especificamente uma a outra se as duas moléculas forem capazes de formar uma estrutura de ácido nucleíco de duplo filamento, antiparalelo e tiverem extensão suficiente para manter essa
15 estrutura sob condições de alta estringência. Uma molécula de ácido nucleíco é dita ser o “complemento” de outra molécula de ácido nucleíco se ela exibir complementaridade completa. Como usado aqui, moléculas são ditas exibir “complementaridade completa” quando cada nucleotídeo de uma das moléculas for complementar a um nucleotídeo da outra. Duas moléculas são
20 ditas serem “minimamente complementares” se elas puderem hibridizar uma a outra com estabilidade suficiente para permitir que elas permaneçam aneladas uma a outra sob pelo menos condições de “baixa estringência” convencionais. Similarmente, as moléculas são ditas serem “complementares” se elas puderem hibridar uma a outra com estabilidade suficiente para per-
25 mitir que elas permaneçam aneladas uma a outra sob condições de “alta estringência”. Condições de estringência convencionais são descritas por Sambrook *et al.*, 1989, e por Haymes *et al.* (1985). Desvios da complementaridade completa são portanto permissíveis, contando que tais desvios não impossibilitem completamente a capacidade das moléculas formarem uma
30 estrutura de duplo-filamento. A fim de uma molécula de ácido nucleíco servir como um iniciador ou sonda ela precisa ser suficientemente complementar em seqüência para ser capaz de formar uma estrutura de duplo-filamento

estável sob o solvente particular e as concentrações de sal empregadas.

Como usado aqui, uma seqüência substancialmente homóloga é uma seqüência de ácido nucleíco que hibridizará especificamente ao complemento da seqüência de ácido nucleíco a qual ela está sendo comparada sob condições de alta estringência. Condições de estringência apropriadas que promovem hibridização de DNA, por exemplo, 6,0 x cloreto de sódio/citrato de sódio (SSC) a cerca de 45°C, seguido por uma lavagem de 2,0 x SSC a 50°C, são conhecidas daqueles versados na técnica ou podem ser encontradas em *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Por exemplo, a concentração de sal na etapa de lavagem pode ser selecionada desde uma estringência baixa de cerca de 2,0 x SSC a 50°C até uma estringência alta de 0,2 x SSC a 50°C. Além disso, a temperatura na etapa de lavagem pode ser aumentada de condições de baixa estringência em temperatura ambiente, cerca de 22°C, para condições de alta estringência a cerca de 65°C. Tanto a temperatura como o sal podem ser variados, ou temperatura ou a concentração de sal pode ser mantida constante enquanto a outra variável é alterada. Em uma modalidade preferida, um ácido nucleíco da presente invenção hibridizará especificamente a uma ou mais das moléculas de ácido nucleíco descritas em SEQ ID NOs: 1-4, e 9 e complementos dessas ou fragmentos de qualquer uma dessas sob condições moderadamente estringentes, por exemplo a cerca de 2,0 x SSC e cerca de 65°C. Em uma modalidade particularmente preferida, um ácido nucleíco da presente invenção hibridizará especificamente a uma ou mais moléculas de ácido nucleíco descritas em SEQ ID NOs: 1-4, e 9 e complementos dessas ou fragmentos de qualquer uma dessas sob condições de alta estringência. Em um aspecto da presente invenção, uma molécula de ácido nucleíco marcadora preferida da presente invenção compreende a seqüência de ácido nucleíco descrita em SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 ou complementos dessas ou fragmentos de qualquer uma dessas. Em outro aspecto da presente invenção, uma molécula de ácido nucleíco marcadora preferida da presente invenção compartilha entre 80% e 100% ou 90% e 100% de identidade de seqüência com a seqüência de ácido nucleíco

descrita em SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 ou complementos desses ou fragmentos de qualquer uma dessas. Moléculas de DNA marcadoras moleculares que compreendem SEQ ID NO: 1, ou SEQ ID NO: 2, ou complementos dessas ou fragmentos de qualquer uma dessas podem ser usados como

5 marcadores em métodos de reprodução de plantas para identificar a progênie de cruzamentos genéticos similares aos métodos descritos para análise de marcador de DNA de repetição de seqüência simples em Cregan *et al.* (1997); todos os quais estão aqui incorporados por referência nas suas totalidades. A hibridização da sonda à molécula de DNA-alvo pode ser detecta-

10 da por qualquer número de vários métodos conhecidos daqueles versados na técnica, esses podem incluir, mas não estão limitados a, sinalizadores fluorescentes, sinalizadores radioativos, sinalizadores a base de anticorpos, e sinalizadores quimioluminescentes.

Com relação à amplificação de uma seqüência de ácido nucléi-

15 co-alvo (por exemplo, por PCR) usando um par de iniciadores de amplificação particular, “condições estridentes” são condições que permitem que o par de iniciadores hibridize apenas à seqüência de ácido nucléico-alvo a qual um iniciador que tem a seqüência selvagem correspondente (ou seu complemento) poderia se ligar e preferivelmente produzir um produto de

20 amplificação único, o amplicon, em uma reação de amplificação térmica de DNA.

O termo “específico para (para uma seqüência-alvo)” indica que uma sonda ou iniciador hibridiza sob condições de hibridização estridentes apenas à seqüência-alvo em uma amostra que compreende a seqüência-

25 alvo.

Como usado aqui, “DNA amplificado” ou “amplicon” refere-se ao produto de amplificação de ácido nucleico de uma seqüência de ácido nucle-

30 íco alvo que é parte de um molde de ácido nucleico. Por exemplo, para determinar se a planta de soja que resulta de um cruzamento sexual contém o evento transgênico MON89788 ou se uma planta de soja coletada de um campo compreende MON89788, ou um extrato de soja, tal como um farelo, farinha ou óleo compreende MON89788. DNA extraído de uma amostra de

tecido ou extrato de planta de soja pode ser submetido a um método de amplificação de ácido nucleíco usando um par de iniciadores que inclui um iniciador derivado da região genômica adjacente ao sítio de inserção do DNA do transgene heterólogo inserido, e um segundo iniciador derivado do DNA do transgene heterólogo inserido para produzir um amplicon que é diagnóstico para a presença do DNA do evento. O amplicon tem um tamanho e tem uma sequência que também é diagnóstica para o evento. O amplicon pode variar em tamanho desde o tamanho combinado dos pares de iniciadores mais um par de base de nucleotídeo, ou mais cerca de cinquenta pares de base de nucleotídeo, ou mais cerca de duzentos e cinquenta pares de base de nucleotídeo, ou mais cerca de trezentos e cinquenta pares de base de nucleotídeo ou mais.

Alternativamente, um par de iniciadores pode ser derivado da sequência genômica flanqueadora em ambos os lados do DNA inserido para produzir um amplicon que inclui toda a sequência de nucleotídeo do inserto. Um membro de um par de iniciadores derivado da sequência genômica da planta pode estar localizado a distância da molécula de DNA do transgene inserida, essa distância pode variar desde um par de base de nucleotídeo até cerca de vinte mil pares de base. O uso do termo "amplicon" exclui especificamente dímeros de iniciadores que podem ser formados na reação de amplificação térmica de DNA.

Amplificação de ácido nucleíco pode ser realizada por qualquer um dos vários métodos de amplificação de nucleíco conhecidos na técnica, incluindo a reação em cadeia da polimerase (PCR). Uma variedade de métodos de amplificação são conhecidos na técnica e são descritos, *inter alia*, nas Patentes U.S. Nos. 4.683.195 e 4.683.202 e em Innis *et al.* (1990). Métodos de amplificação por PCR foram desenvolvidos para amplificar até 22 kb de DNA genômico e até 42 kb de DNA de bacteriófago (Cheng *et al.*, 1994). Esses métodos assim como outros métodos conhecidos na técnica de amplificação de DNA podem ser usados na prática da presente invenção. A sequência do inserto de DNA heterólogo ou sequência flanqueadora do evento de soja MON89788 pode ser verificada, e corrigida, se necessário,

pela amplificação de tais moléculas a partir do genoma do evento usando iniciadores derivados das seqüências fornecidas aqui seguido por métodos de seqüenciamento de DNA padronizados aplicados ao amplicon de PCR ou ao DNA do transgene/genômico clonado isolado.

5 O amplicon produzido por esses métodos pode ser detectado por uma pluralidade de técnicas. Um de tais métodos é Genetic Bit Analysis (Nikiforov, *et al.*, 1994) onde é desenhado um oligonucleotídeo de DNA que coincide tanto com a seqüência de DNA genômico flanqueadora adjacente como com a seqüência do transgene de DNA inserida. O oligonucleotídeo é
10 imobilizado em poços de uma placa de micropoços. Após PCR da região de interesse (usando um iniciador na seqüência inserida e um na seqüência genômica flanqueadora adjacente), um produto de PCR de filamento simples pode ser hibridizado ao oligonucleotídeo imobilizado e servir como um molde para uma reação de extensão de base individual usando uma DNA polime-
15 rase e ddNTPs marcados específicos para a próxima base esperada. A leitura pode ser à base de fluorescência ou ELISA. Um sinal indica a presença da seqüência genômica do inserto/flanqueadora devido a amplificação, hibridização e extensão de base individual bem-sucedidas.

 Outro método é a técnica de piroseqüenciamento como descrito por Winge (2000). Nesse método é desenhado um oligonucleotídeo que coincide com a junção do DNA genômico adjacente e DNA do inserto. O oligonucleotídeo é hibridizado a um produto de PCR de filamento simples a partir da região de interesse (um iniciador na seqüência inserida e um na seqüência genômica flanqueadora) e incubado na presença de uma DNA
25 polimerase, ATP, sulfurilase, luciferase, apirase, adenosina 5' fosfossulfato e luciferina. DNTPs são adicionadas individualmente e a incorporação resulta em um sinal de luz que é medido. Um sinal de luz indica a presença da seqüência do inserto do transgene/flanqueadora devido a amplificação, hibridização e extensão de múltiplas bases ou de base individual bem-sucedidas.

30 Polarização de Fluorescência como descrito por Chen *et al.* (1999) é um método que pode ser usado para detectar o amplicon da presente invenção. Usando esse método é desenhado um oligonucleotídeo que

coincide com a junção de DNA inserido e genômico flaqueador. O oligonucleotídeo é hibridizado a um produto de PCR de filamento simples a partir da região de interesse (um iniciador no DNA inserido e um na sequência de DNA genômico flaqueadora) e incubado na presença de uma DNA polimerase e uma ddNTP marcada com fluorescência. Extensão de base individual resulta na incorporação da ddNTP. A incorporação pode ser medida como uma alteração na polarização usando um fluorímetro. Uma alteração na polarização indica a presença da sequência do inserto do transgene/ flaqueadora genômica devido a amplificação, hibridização e extensão de base individual bem-sucedida.

Taqman® (PE Applied Biosystems, Foster City, CA) é descrito como um método de detectar e quantificar a presença de uma sequência de DNA e é completamente entendido nas instruções fornecidas pelo fabricante. Resumidamente, é desenhada uma sonda de oligonucleotídeo FRET que coincide com a junção de DNA do inserto e flaqueadora genômica. A sonda FRET e iniciadores de PCR (um iniciador na sequência de DNA do inserto e um na sequência genômica flaqueadora) são ciclados na presença de uma polimerase termoestável e dNTPs. A hibridização da sonda FRET resulta na clivagem e liberação da porção fluorescente para longe da porção inibidora na sonda FRET. Um sinal fluorescente indica a presença da sequência genômica flaqueadora/ inserto do transgene devido a amplificação e hibridização bem-sucedidas.

“Molecular Beacons” foram descritos para uso em detecção de sequência como descrito por Tyangi *et al.* (1996). Resumidamente, é desenhada uma sonda de oligonucleotídeo FRET que coincide com a junção do DNA do inserto e genômica flaqueadora. A estrutura única da sonda FRET resulta nela conter uma estrutura secundária que mantém as porções fluorescente e inibidora em íntima proximidade. A sonda FRET e iniciadores de PCR (um iniciador na sequência do DNA do inserto e um na sequência genômica flaqueadora) são ciclados na presença de uma polimerase termoestável e dNTPs. Após amplificação por PCR bem-sucedida, a hibridização da sonda FRET à sequência-alvo resulta na remoção da estrutura secundária

da sonda e separação espacial das porções fluorescente e inibidora. Resulta um sinal fluorescente. Um sinal fluorescente indica a presença da sequência do inserto do transgene/genômica flanqueadora devido a amplificação e hibridização bem-sucedidas.

- 5 Outros métodos descritos, tais como, microfluídica (Pub. Patente U.S. 2006068398, Patente US Nº 6.544.734) fornecem métodos e aparelhos para separar e amplificar amostras de DNA. Corantes ópticos usados para detectar e quantificar moléculas de DNA específicas (WO/05017181). Aparelhos de nanotubo (WO/06024023) que compreendem um sensor eletrônico
- 10 para a detecção de moléculas de DNA ou nanoesferas que ligam-se a moléculas de DNA específicas e podem então ser detectadas são úteis para detectar moléculas de DNA da presente invenção.

- Kits de detecção de DNA podem ser desenvolvidos usando as composições descritas aqui e os métodos descritos ou conhecidos na técnica
- 15 ca de detecção de DNA. Os kits são úteis para a identificação de DNA de evento de soja em uma amostra e podem ser aplicados a métodos para reproduzir plantas de soja contendo DNA. Os kits podem conter iniciadores ou sondas de DNA que são homólogos ou complementares a SEQ ID NOs: 1-4 e 9 ou iniciadores ou sondas de DNA homólogos ou complementares ao
- 20 DNA contido nos elementos genéticos do transgene de DNA, essas sequências de DNA podem ser usadas em reações de amplificação de DNA ou como sondas em um método de hibridização de DNA. A estrutura do DNA dos elementos genéticos do transgene contidos no genoma de soja e ilustrados na figura 1 compreende uma região genômica 5' do genoma de A3244 de
- 25 soja que flanqueia o inserto do transgene, o inserto compreendendo uma porção da região da borda direita (RB) de *Agrobacterium tumefaciens*, o promotor quimérico FMV/Tsf1 e elementos ligados relacionados (Patente U.S. 6.660.911; também referido como FMV/E1F1 α) é conectado operativamente a uma sequência codificante de peptídeo de trânsito cloroplástico de
- 30 EPSPS de *Arabidopsis* (aqui referido como CTP2 ou TS-AtEPSPS CTP2, Patente US 5.633.435) operativamente conectado a uma EPSPS resistente a glifosato (aqui referida como CP4 EPSPS ou aroA:CP4, isolada da cepa

CP4 de *Agrobacterium tumefaciens* e sequência codificante modificada para expressão aumentada em células de planta, Patente U.S. 5.633.435), operativamente conectada à região de terminação 3' de ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase de ervilha (aqui referida como E9 3' ou T-Ps.RbcS:E9, Coruzzi *et al.*, (1984), uma porção da região da borda esquerda (LB) de *Agrobacterium tumefaciens*, e a região genômica 3' do genoma A3244 de soja que flanqueia o inserto de transgene. Moléculas de DNA úteis como iniciadores em métodos de amplificação de DNA podem ser derivadas das sequências dos elementos genéticos do inserto do transgene contidos no evento de soja MON89788. Essas moléculas de iniciadores podem ser usadas como parte de um conjunto de iniciadores que também inclui uma molécula de iniciador de DNA derivada do genoma de soja que flanqueia do inserto do transgene. O evento de soja MON89788 foi produzido por transformação da linhagem de soja A3244 (Patente US 5.659.114) por um método mediado por *Agrobacterium*, por exemplo, métodos descritos nas Patentes U.S. 6.384.301 e 7.002.058 (aqui incorporados por referência nas suas totalidades).

Os inventores da presente invenção descobriram que uma linhagem de soja que compreende a região genômica tipo-T de MON89788 (tipo-T é combinação de um transgene e a região de haplótipo associada de um genoma de planta) no seu genoma tem um rendimento melhorado em relação a uma linhagem que compreende a região genômica tipo-T de 40-3-2 anterior. Isso foi demonstrado em testes de campo replicados que incluem dados de rendimento coletados de múltiplas localidades nos Estados Unidos (pedido de patente U.S. 60/685584).

Os seguintes exemplos estão incluídos para demonstrar exemplos de certas modalidades preferidas da invenção. Deve ser observado por aqueles versados na técnica que certas técnicas descritas nos exemplos que seguem representam abordagens que os inventores descobriram que funcionam bem na prática da invenção, e assim podem ser considerados por constituir exemplos de modos preferidos para sua prática. Entretanto, aqueles versados na técnica, em vista da presente descrição, observam que várias alterações podem ser feitas nas modalidades específicas que são des-

critas e ainda obtêm um resultado semelhante ou similar sem desconsiderar o espírito e escopo da invenção.

Exemplos

Exemplo 1

5 Produção de Amplicon Diagnóstico para DNA Genômico de MON89788

DNA de evento de soja transgênico MON89788 é extraído de tecido compreendendo sementes de soja, tecido vegetativo, ou farelo. O DNA é isolado do tecido usando o kit Qiagen's DNeasy Plant Miniprep de acordo com as instruções do fabricante (Qiagen Corp. Valencia, CA).

10 É produzido um produto de PCR que compreende uma porção do DNA genômico que flanqueia a terminação 5' da inserção de T-DNA (DNA de transferência que compreende o transgene) no genoma de uma planta compreendendo MON89788. Esse produto de DNA compreende SEQ ID NO: 3. A PCR pode ser realizada usando um iniciador desenhado para hibridizar às seqüências de DNA genômico que flanqueiam a terminação 5' do inserto do transgene (iniciador de DNA A, SEQ ID NO: 5; veja figura 1) pareado com um segundo iniciador (iniciador de DNA B, SEQ ID NO: 6) localizado na região promotora do transgene (Patente US 6.660.911, SEQ ID NO: 28, aqui incorporada por referência e encontrada dentro de SEQ ID NO: 9).

20 Um produto de PCR é produzido a partir da terminação 3' do inserto do transgene que compreende uma porção do DNA genômico que flanqueia a terminação 3' da inserção de T-DNA no genoma de uma planta que compreende MON89788. Esse produto de DNA compreende SEQ ID NO: 4. PCR pode ser realizada usando um iniciador desenhado para hibridizar às seqüências de DNA genômico que flanqueiam a terminação 3' do inserto de cada evento (iniciador de DNA D, SEQ ID NO: 8) e pareado com um segundo iniciador (iniciador de DNA C, SEQ ID NO: 7) localizado na seqüência de terminação de transcrição T-Ps.RbcS:E9 3' na terminação 3' do inserto.

30 O molde de PCR inclui ~50 ng de DNA genômico. Como um controle negativo ~50 ng de DNA genômico DNA do cultivar de soja não transgênico é utilizado. Cada reação de PCR contém 5 µl de Tampão 10 X

para Mistura de REDAccuTaq® LA DNA Polimerase (Sigma-Aldrich, St Louis, MO), 200 µM de cada dNTP (Sigma-Aldrich), 0,4 µM de cada iniciador, e 2,5 unidades de JumpStart® REDTaq® DNA Polimerase (Sigma-Aldrich) em um volume total de reação de 50 µl. As reações de PCR são realizadas sob as
5 seguintes condições de ciclagem: 1 ciclo a 94°C por 3 minutos (min); 32 ou 35 ciclos a 94°C por 30 segundos (s), 58°C por 30 s, 72°C por 30 s ou 1 min; 1 ciclo a 72°C por 10 min.

Os pares de iniciadores do evento de DNA são usados para produzir um amplicon diagnóstico para DNA genômico de MON89788. Esses
10 pares de iniciadores do evento incluem, mas não estão limitados aos iniciadores A e B (SEQ ID NO: 5 e 6) e pares de iniciadores de evento C e D (SEQ ID NO: 7 e 8), que são usados no método de amplificação de DNA descrito. Além desses pares de iniciadores, qualquer par de iniciadores derivado de SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4, ou os complementos dessas, que
15 quando usados em uma reação de amplificação de DNA produz um amplicon compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 diagnóstico para tecido derivado de evento MON89788 de soja, respectivamente, pode ser utilizado. Condições de amplificação de DNA ilustradas na Tabela 1 e Tabela 2 podem ser usadas para produzir um amplicon diagnóstico para MON89788 usando
20 os pares de iniciadores de evento apropriados. Qualquer modificação desses métodos usados para produzir um amplicon diagnóstico para MON89788 está dentro da habilidade da técnica. Um extrato supostamente contendo DNA de uma planta ou semente de soja compreendendo MON89788, ou um produto derivado de uma planta compreendendo MON89788 que quando
25 testado em um método de amplificação DNA produz um amplicon diagnóstico para o evento de soja MON89788 pode ser utilizado como um molde para amplificação para determinar se MON89788 está presente.

O amplicon é produzido pelo uso de pelo menos uma sequência de iniciador derivada de SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4 que quando usada
30 em um método de PCR produz um amplicon diagnóstico para o evento MON89788. Por exemplo, a produção dos amplicons de MON89788 pode ser realizada usando um termociclador Stratagene Robocycler, MJ Engine,

Perkin-Elmer 9700, ou Eppendorf Mastercycler Gradient como mostrado na Tabela 2, ou por métodos e aparelhos conhecidos daqueles versados na técnica.

- 5 Tabela 1. Procedimento de PCR e condições de mistura de reação para a identificação da região de junção do inserto de transgene/genômica 5'de MON89788.

Etapa	Reagente	Quantidade	Comentários
1	Água livre de nuclease	Adicionar para um volume final de 20 μ l	-
2	Tampão de reação 10X (com $MgCl_2$)	2,0 μ l	Concentração final de tampão 1X, concentração final de $MgCl_2$ 1,5 mM
3	10 mM de solução de dATP, dCTP, dGTP, e dTTP	0,4 μ l	Concentração final de cada dNTP 200 μ M
4	Iniciador de evento A (SEQ ID NO: 5 ressuspensão em tampão TE 1X ou água livre de nuclease para uma concentração de 10 μ M)	0,2 μ l	Concentração final 0,1 μ M
5	Iniciador de evento B (SEQ ID NO: 6 ressuspensão em tampão TE 1X ou água livre de nuclease para uma concentração de 10 μ M)	0,2 μ l	Concentração final 0,1 μ M
6	RNase, livre de DNase (500 μ g/ml)	0,1 μ l	50 ng/reação
7	<i>REDTaq</i> DNA polimerase (1 unidade/ μ l)	1,0 μ l (recomendado trocar pipetas antes da próxima etapa)	1 unidade/reação

Etapa	Reagente	Quantidade	Comentários
8	DNA extraído (molde): • Amostras a serem analisadas: *Folhas individuais *Folhas agrupadas (Máximo de 10 folhas/grupo) • Controle negativo • Controle negativo • Controle positivo	• 10-200 ng de DNA genômico • 200 ng de DNA genômico • 50 ng de DNA genômico de soja não transgênico. • Nenhum molde de DNA (solução na qual o DNA foi ressuspenso) • 50 ng de DNA genômico de soja compreendendo MON89788	-

Misture gentilmente, e se necessário (não houver tampa aquecida no termociclador), adicione 1-2 gotas de óleo mineral sobre cada reação. Prossiga com a PCR em um termociclador Stratagene Robocycler (Stratagene, La Jolla, CA), MJ Engine (MJR-Biorad, Hercules, CA), Perkin-Elmer 9700 (Perkin Elmer, Boston, MA), ou Eppendorf Mastercycler Gradient (Eppendorf, Hamburg, Alemanha) usando os seguintes parâmetros de ciclagem (Tabela 2). O termociclador MJ Engine ou Eppendorf Mastercycler Gradient deve ser executado no modo calculado. Execute o termociclador Perkin-Elmer 9700 com a velocidade da rampa ajustada no máximo.

10 Tabela 2. Condições do termociclador

Ciclo Nº	Ajustes: Stratagene Robocycler	
1	94°C	3 minutos
34	94°C	1 minuto
	64°C	1 minuto
	72°C	1 minuto e 30 segundos
1	72°C	10 minutos

Ciclo Nº	Ajustes: MJ Engine ou Perkin-Elmer 9700	
1	94°C	3 minutos
34	94°C	30 segundos
	64°C	30 segundos
	72°C	1 minuto
1	72°C	10 minutos

Ciclo Nº	Ajustes: Eppendorf Mastercycler Gradient	
1	94°C	3 minutos
34	94°C	15 segundos
	64°C	15 segundos
	72°C	1 minuto
1	72°C	10 minutos

Exemplo 2

Determinação da seqüência da região transgene/genômica e Análise de Southern

- 5 Seqüenciamento de DNA dos produtos de PCR fornece DNA que pode ser usados para desenhar moléculas de DNA adicionais como iniciadores e sondas para a identificação de plantas ou semente de soja compreendendo MON89788. Produtos de PCR dos tamanhos esperados representando as seqüências transgene/genômica 5' e 3' foram isolados por separação dos produtos de PCR em um gel de agarose 2,0% por eletroforese. Os produtos de PCR que são isolados incluem as regiões de DNA 5' e 3' que ocupam a junção do inserto entre a inserção do transgene dentro do genoma de soja. Os produtos de PCR 5' e 3' para MON89788 são purificados por eletroforese em gel de agarose seguido pelo isolamento da matriz de agarose usando o kit QIAquick Gel Extraction (nº catálogo 28704, Qiagen Inc., Valência, CA). Os produtos de PCR purificados são então seqüenciados (por exemplo, ABI Prism® 377, PE Biosystems, Foster City, CA) e analisados (por exemplo programa de análise de seqüência DNASTAR, DNASTAR Inc., Madison, WI).

- 20 Uma seqüência de DNA foi determinada para o segmento de par

de base de nucleotídeo que representa a região transgene/genômica do evento MON89788 como ilustrado na FIG 1 e identificado como SEQ ID NO: 9. Os elementos de transgene e genômico que estão contidos em SEQ ID NO: 9 são descritos na Tabela 3. As regiões flanqueadoras 5' e 3' estão incluídas em SEQ ID NO: 9 e dadas em SEQ ID NOs: 21 e 22.

As seqüências de junção são moléculas de polinucleotídeo relativamente curtas que são novas seqüências de DNA e são diagnósticas para DNA de MON89788 quando detectadas em um teste de detecção de ácido polinucleico. As seqüências de junção em SEQ ID NO: 1 e SEQ ID NO: 2 representam 10 polinucleotídeos em cada lado de um sitio de inserção do fragmento do transgene e DNA genômico de soja em MON89788. Seqüências de junção de polinucleotídeo mais longas ou mais curtas podem ser selecionadas a partir de SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4. As moléculas de junção (região de junção 5' SEQ ID NO: 1, e região de junção 3' SEQ ID NO: 2) são úteis como sondas de DNA ou como moléculas iniciadoras de DNA em métodos para detecção de DNA.

Iniciadores e sondas usados em um método Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc., Pleasanton, CA) para detecção de uma molécula de DNA evento-específica foram desenvolvidos para o evento MON89788. As moléculas de iniciadores são referidas como SQ2824 (SEQ ID NO: 10), SQ2826 (SEQ ID NO: 11), SQ1141 (SEQ ID NO: 12), SQ1142 (SEQ ID NO: 13), SQ5543 (SEQ ID NO: 14) e as moléculas de sonda são referidas como PB871-6FAM (SEQ ID NO: 15), PB2191-VIC (SEQ ID NO: 16), e PB57-VIC (SEQ ID NO: 17). Os iniciadores e sondas foram usados no método Taqman® de acordo com as instruções do fabricante para fornecer DNA compreendendo MON89788. Tecidos de soja incluindo produtos processados, por exemplo, farelo, são fontes úteis de DNA para esse método. Iniciadores adicionais usados para produzir um amplicon de farelo de soja incluem SEQ ID NOs: 18-20.

Tabela 3. Anotação do genoma e elemento genético do fragmento de DNA de transgene/genômico (SEQ ID NO: 9) contido no genoma de soja compreendendo MON89788.

Elemento Genético ¹	Localização em sequência ²	Função (Referência)
Seqüência que flanqueia a terminação 5' do inserto	1-1103	DNA GENÔMICO DE SOJA
Região de junção 5'	1093-1113	Região de DNA que ocupa a inserção do transgene
B³ - Borda direita	1104-1145	Região de DNA de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> contendo a seqüência de borda direita usada para transferência do T-DNA (Depicker <i>et al.</i> , 1982)
Seqüência interveniente	1146-1215	Seqüências usadas em clonagem de DNA
P⁴-FMV/Tsf1	1216-2255	Promotor quimérico que consiste em seqüências intensificadoras do promotor 35S do vírus do Mosaico da Escrofulária (Richins <i>et al.</i> , 1987) e o promotor do gene <i>Tsf1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> (que codifica o fator de alongamento EF-1alfa (Axelos, <i>et al.</i> , 1989))
L⁵-Tsf1	2256-2301	Líder não traduzida 5' (exon 1) do gene <i>Tsf1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica o fator de alongamento EF-1 alfa (Axelos <i>et al.</i> , 1989)
I⁶-Tsf1	2302-2923	Íntron do gene <i>Tsf1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica o fator de alongamento EF-1 alfa (Axelos <i>et al.</i> , 1989)
Seqüência interveniente	2924-2932	SEQÜÊNCIAS USADAS EM CLONAGEM DE DNA
TS⁷-CTP2	2933-3160	Seqüências que codificam o peptídeo de trânsito cloroplástico do gene <i>ShkG</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica EPSPS (Klee <i>et al.</i> , 1987)

Elemento Genético ¹	Localização em sequência ²	Função (Referência)
CS⁸-cp4 epsps	3161-4528	Seqüência codificante códon otimizada do gene <i>aroA</i> da cepa CP4 de <i>Agrobacterium sp.</i> que codifica a proteína EPSPS de CP4 (Padgett <i>et al.</i> , 1996; Barry <i>et al.</i> , 1997)
Seqüência interveniente	4529-4570	Seqüências usadas em clonagem de DNA
T⁹-E9	4571-5213	Seqüência 3' não traduzida do gene <i>RbcS2</i> de <i>Pisum sativum</i> que codifica a subunidade pequena de Rubisco (Coruzzi <i>et al.</i> , 1984)
Seqüência interveniente	5214-5256	Seqüências usadas em clonagem de DNA
B-Borda esquerda	5257-5406	Região de DNA de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> que contém a seqüência de borda esquerda usada para transferência do T-DNA (Barker <i>et al.</i> , 1983)
Região de junção 3'	5396-5416	Região de DNA que ocupa a inserção do transgene
Seqüência que flankeia a terminação 3' do inserto	5407-6466	DNA genômico de soja

Análise de Southern Blot

- 5 DNA genômico de uma planta compreendendo MON89788 e DNA genômico de soja de controle (~15µg de cada) é digerido com várias enzimas de restrição (140U) em um volume total de 150 µl incluindo 15µl do tampão do fabricante correspondente (NEB, Beverly, MA). Endonucleases de restrição, por exemplo Bgl11, BamH1, Nco1, Hind111, e Bcl1, são usadas na análise de Southern de MON89788. Digestões de endonuclease são realizadas em uma temperatura apropriada por pelo menos 6 horas. Após incubação, o DNA é precipitado com acetato de sódio 3M e 2,5 volumes de eta-

nol. Subseqüentemente, o DNA é lavado com etanol 70%, seco, e ressuspenso em 40µl de TBE. Tampão de aplicação (0,2X) é adicionado às amostras e então submetido a eletroforese em géis de agarose (0,8%) por 16-18 horas a 30 volts. Os géis são corados com brometo de etídeo, e então tratados com uma solução de depurinação (HCL 0,125N) por 10 minutos, com uma solução desnaturante (hidróxido de sódio 0,5M, cloreto de sódio 1,5M) por 30 minutos, e finalmente com uma solução neutralizante (Trizma base 0,5M, cloreto de sódio 1,5M) por 30 minutos. O DNA é transferido para membrana Hybond-N (Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra) usando um Turboblotter (Schleicher & Schuell, Dassel, Alemanha) por 4-6 horas e então fixado à membrana usando luz UV.

As membranas são pré-hibridizadas com 20 ml de solução DIG Easy Hyb (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN; nº cat. 1603558) por 2-4 horas a 45°C. Sondas de DNA radioativo (³²P dCTP) homólogas ou complementares a SEQ ID NO: 1, ou SEQ ID NO: 2, ou SEQ ID NO: 3, ou SEQ ID NO: 4, ou uma porção dessas são feitas usando kit Radprime DNA Labeling (Invitrogen, Carlsbad, CA; nº cat. 18428-011). Nucleotídeos não incorporados são removidos usando colunas SEPHADEX G-50 (Invitrogen). A solução de pré-hibridização é substituída com 10 ml de solução DIG Easy Hyb pré-aquecida contendo a sonda desnaturada para uma concentração final de 1 milhão por ml. Os blots são hibridizados a 45°C por 16-18 horas.

Os blots são lavados com uma solução de baixa estringência (SSC 5X, SDS 0,1X) a 45°C e então lavados repetidamente com uma solução de estringência maior (SSC 0,1X, SDS 0,1%) a 65°C. Os blots são expostos a uma tela de fósforo (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) por >2 horas e a exposição lida usando uma máquina Data Storm 860 (Amersham Biosciences). Esses métodos e condições exemplificados podem ser modificados por aqueles versados na técnica de detectar DA em uma amostra.

30 Exemplo 3

Controle de Plantas Daninhas

Controlar o crescimento de plantas daninhas em um campo de

sojas compreendendo MON89788. Um campo é plantado com sementes de soja compreendendo MON89788, as sementes são deixadas germinar em plantas e o campo de plantas é tratado com uma formulação de herbicida contendo glifosato. Uma dose eficaz de uma formulação de glifosato em taxas de tratamento de cerca de 0,11 kg (0,25 lb) ae/A (libras de equivalente de ácido de glifosato /acre) até 1,36 kg ar/A (3 lb ou mais) é aplicada ao campo. As taxas geralmente aplicadas variam de cerca de 0,34 kg (0,75 lb) ae/A até 0,68 kg (1,5 lb) ae/A em uma frequência de um ou mais tratamentos durante a época de crescimento conforme necessário para controlar o crescimento de plantas daninhas em um campo. As sementes das plantas compreendendo MON89788 são colhidas das plantas tratadas.

Um depósito da Monsanto Technology LLC, semente de soja de representativa do evento MON89788 descrito aqui acima e referido nas reivindicações foi feito sob o Tratado de Budapeste com a American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110. O número de acesso da ATCC para o depósito compreendendo o evento MON89788 (também conhecido como MON19788 ou GM_A19788) é PTA-6708, depositado em 11 de maio de 2005. O depósito será mantido no depositário por um período de 30 anos, ou 5 anos após a última solicitação, ou pela vida eficaz da patente, seja qual for maior, e será substituído conforme necessário durante esse período.

Tendo ilustrado e descrito os princípios da presente invenção, deve ser claro para pessoas versadas na técnica que a invenção pode ser modificada em combinação e detalhe sem desconsiderar tais princípios. Reivindicam-se todas as modificações que estão dentro do espírito e escopo das reivindicações anexas.

Todas as publicações e documentos de patente publicados citados nesse relatório descritivo estão incorporados aqui por referência na mesma extensão que se cada publicação ou pedido de patente individual fosse especificamente e individualmente indicado por ser incorporado por referência.

Listagem de Referências

As seguintes referências, na medida em que elas fornecem procedimentos exemplares ou outros detalhes adicionais àqueles descritos aqui, estão especificamente incorporados por referência.

- 5 Patente U.S. 4.535.060
 Patente U.S. 4.683.195
 Patente U.S. 4.683.202
 Patente U.S. 5.094.945
 Patente U.S. 5.463.175
- 10 Patente U.S. 5.554.798
 Patente U.S. 5.633.435
 Patente U.S. 5.633.435
 Patente U.S. 5.659.114
 Patente U.S. 6.040.497
- 15 Patente U.S. 6.384.301
 Patente U.S. 6.544.734
 Patente U.S. 6.660.911
 Patente U.S. 6.660.911
 Patente U.S. 6.689.880
- 20 Patente U.S. 6.689.880
 Patente U.S. 6.733.974
 Patente U.S. 6.740.488
 Patente U.S. 6.740.488
 Patente U.S. 6.818.807
- 25 Patente U.S. 6.825.400
 Patente U.S. 6.893.826
 Patente U.S. 6.900.014
 Patente U.S. 7.002.058
 Pedido U.S. 60/685584
- 30 Public. U.S. 20040018518
 Public. U.S. 2006068398

Ausubel *et al.*, *In: Current Protocols in Molecular Biology*, John, Wiley &

- Sons, Inc, Nova Iorque, 1992.
- Chen *et al.*, *Genome Res.*, 9:492-498, 1999.
- Cheng *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:5695-5699, 1994.
- Coruzzi *et al.*, *EMBO J.*, 3:1671-1679, 1984.
- 5 Cregan *et al.*, In: *DNA markers: Protocols, applications, and overviews*, Wiley-Liss NY, 173-185, 1997.
- DeBlock *et al.*, *EMBO J.*, 6:2513-2522, 1987.
- Fehr, In: *Breeding Methods for Cultivar Development*, Wilcox (Ed.), Amer. Soc. of Agronomy, Madison WI, 1987.
- 10 Haymes *et al.*, In: *Nucleic acid hybridization, a practical approach*, IRL Press, Washington, DC, 1985.
- Innis, *et al.*, In: *PCR Protocols. A guide to Methods and Application*, Academic Press, Inc. San Diego, 1990.
- Lewin, In: *Genes V*, Oxford University Press, NY, 1994.
- 15 Nikiforov, *et al. Nucleic Acid Res.*, 22:4167-4175, 1994.
- Pedido PCT WO 9200377
- Pedido PCT WO/05017181
- Rieger *et al.*, In: *Glossary of Genetics: Classical and Molecular*, 5th Ed., Springer-Verlag: NY, 1991.
- 20 Sambrook *et al.*, In: *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.
- Thompson *et al.*, *EMBO J.* 6:2519-2523, 1987.
- Toki *et al.*, *Plant Physiol.*, 100:1503-1507, 1992.
- Tyangi *et al.*, *Nature Biotech.*, 14:303-308, 1996.
- 25 Weising *et al.*, *Ann. Rev. Genet.*, 22:421-477, 1988.
- Windels *et al.*, *Med. Fac. Landbouww.*, 64/5b:459-462, 1999.
- Wingem, *Innov. Pharma. Tech.*, 00:18-24, 2000.

Listagem de Seqüência

```

<110>      Malven, Marianne
            Rinehart, Jennifer
            Taylor, Nancy
            Dickinson, Ellen

<120>      EVENTO DE SOJA MON89788 E MÉTODOS PARA DETECÇÃO DESSE

<130>      MONS:113WO

<140>      DESCONHECIDO
<141>      2006-05-26

<150>      60/685,584
<150>      2005-05-27

<160>      22

<170>      3.3

<210>      1
<211>      20
<212>      DNA
<213>      Seqüência Artificial

<220>
<221>      descrição_misc
<222>      (1) .. (20)
<223>      Molécula quimerica de genomas de soja e transgene

<400>      1
tatcaagctc caaacactga                                     20

<210>      2
<211>      20
<212>      DNA
<213>      Seqüência Artificial

<220>
<221>      descrição_misc
<222>      (1) .. (20)
<223>      Seqüência de molécula quimerica de genomas de soja e transgene

<400>      2
taataacgct cagactctag                                     20

<210>      3
<211>      1222
<212>      DNA
<213>      Seqüência Artificial

<220>
<221>      descrição_misc
<222>      (1) .. (1222)
<223>      Molécula quimerica de DNA genômico de soja e transgene inserido

<400>      3
cctgtacttc ccaaaacttc gcttcctga cccatcatat ccaggactgg acgattggct 60

```

```

tgattgatac cagatgggtg agtcgagtc accctcggtag cggcatttat ggcaacgatt 120
gcagccacgt tgacctccat cattttttct catgctcatc atggcctcca tcatggtggt 180
catttgggtct ttcattggcct ccatgtcggc cttcatctgc tcttgaactt catctatctc 240
actcatgatt cttagccttg cactgtgttg gtaagggtac cgtaaagcgc gttogttctt 300
ttttattact atgattacat tttgacgatg atgatgattg taggaaagaa tgaaatgagt 360
aatgaaacaa ctaaataaac gtgaatgcat gacaatgata agttgctgaa gtattataaa 420
tttacatagg acattcagtg gaacgtaggg tcgaatcaaa tcctatttca ttaaaaacaa 480
tattgttcat cttgacagag ccaaagcata actagaaata caacatggac acatcagcga 540
ttcctaatta tgtgggtcat tagttcgacc atgtgttggc agtaacttga aagactatga 600
acttcacggg gagcagagta tgtgtcagtc accgccttgg ctctggctaa caaccttggg 660
atctcttggc totcatttag agtaagagca aatttgtcca tccatttcat ggcttcttta 720
tgcaataact ctatcacccc ttctcttgc tccctttcaa cctgcaaggc cgacactttt 780
gcctgttcgt cttctagcct tcgcccatag cttagcagta ggttcacctt ctcttcatat 840
tggtcaatga ttatcaacat attttctttt gttttgctca actgttctct caaacttctc 900
ttcgatctct gacaactctt taacttatcc tctaacatca ggttttccat acttgatttg 960
tccctcttgg cttttctaag tttgagctcg ttactgctgc cccacaaagc cctcgaaac 1020
ttgttcttgc tccactcttc cttttgggt tttttgtttc ccgctctagc gcttcaatcg 1080
tggttatcaa gctccaaaca ctgatagttt aaactgaagg cgggaaacga caatctgac 1140
cccatcaagc tctagctaga gcggccgctg tatcaagctt ctgcaggctc tgctcgagt 1200
gaagctaatt ctcagtccaa ag 1222

```

```

<210>      4
<211>      675
<212>      DNA
<213>      Sequência Artificial

<220>
<221>      descrição_misc
<222>      (1) .. (675)
<223>      Molécula de DNA quimérico de DNA genômico de soja e transgene

```

```

<400>      4

gccaatgat tgacaacatg catcaatcga cctgcagcca ctgaaaggc ccgcatcgat 60
cgtgaagttt ctcacttaag ccccatcttg gacgtgaatg tagacacgtc gaaataaaga 120
tttccgaatt agaataattt gtttattgct ttgcctata aatacgacgg atcgtaattt 180
gtcgttttat caaatgtac tttcatttta taataacgct cagactctag tgactaccac 240
cttcaactct ctcaagcatt tcagcctctt ccccgctcag actccttagc tttgggagcc 300
aaattatccc ttacgttctc gacttcaacc atatgtgata gctgcctatg ataccatggc 360

```

tacttcccct tagttcttta tctttccttt ccgctttatt ccatgcctta ccgatccctct 420
gaagtgtctt tgcattagct tcattgaaac ctcacgcgat gaaagggtgtg atggctctct 480
ccgatggcgc acttctcata gggtaaccta attgtcttac gaccaacata ggattataat 540
taatacaacc cctcgtccct ataaaaggga catttggaat tccttcacat aagcataaca 600
ctctacccc tctttcttcc cactgtggga accaactaat ggacgctcct atcatgcctg 660
ccaagagttc ttccc 675

<210> 5
<211> 21
<212> DNA
<213> Glycine max

<400> 5
cctgtacttc ccaaaacttc g 21

<210> 6
<211> 22
<212> DNA
<213> Vírus do mosaico da família Scrophulariaceae

<400> 6
ctttccactg agaattagct cc 22

<210> 7
<211> 24
<212> DNA
<213> Petunia hybrida

<400> 7
gccattgat tgacaacatg catc 24

<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> Glycine max

<400> 8
gggaagaact cttggcaggc 20

<210> 9
<211> 6466
<212> DNA
<213> Sequência Artificial

<220> descrição_misc
<221> (1) .. (6466)
<223> Molécula de DNA quimérico de DNA genômico de soja e transgene

<400> 9

tgggggctgc ctgtacttcc caaaaacttcg cttccctgac ccatcatatc caggactgga 60
 cgattggcctt gattgatacc agatgggtga gtcgagtcca cctcggtagc ggcattttatg 120
 gcaacgattg cagccacgtt gacctocac cttttttctc atgctcatca tggcctccat 180
 catggtggtc atttgggtct tcatggcctc catgtcggcc ttcattctgct cttgaacttc 240
 atctatctca ctcatgattc tagccttggc acgtgtttgg taagggtacc gtaaagcgcg 300
 ttctgtcttt tttattacta tgattacatt ttgacgatga tgatgattgt aggaaagaat 360
 gaaatgagta atgaaacaac taaataaacg tgaatgcatg acaatgataa gttgctgaag 420
 tattataaat ttacatagga cattcagtgg aacgtagggt cgaatcaaat cctattttcat 480
 taaaaacaat attgttcac c ttgacagagc caaagcataa ctagaaatac aacatggaca 540
 catcagcgat tctaattat gtgggtcatt agttcgacca tgtgttggca gtaacttgaa 600
 agactatgaa cttcatcggg agcagagtat gtgtcagtca ccgccttggc tctggctaac 660
 aaccttggga tctcttggct ctcatctaga gtaagagcaa atttgtccat ccattttcatg 720
 gcttctttat gcaataactc tatcaccctt tctcttggct ccttttcaac ctgcaaggtc 780
 gacacttttg cctgttcgtc ttctagcctt cgcccatgac tagcagctag gttcaccttc 840
 tcttcatatt ggtcaatgat tatcaacata ttttcttttg ttttgctcaa ctgttctctc 900
 aaacttctct tcgatctctg acaactcttt aacttactct ctaacatcag gttttccata 960
 cttgatttgt cctcttggc ttttctaagt ttgagctgt tactgctgcc ccacaaagcc 1020
 cctcgaaaact tgttctgtct ccaactcttc ttttgggctt ttttgtttc cgtctagcg 1080
 cttcaatcgt ggttatcaag ctocaaacac tgatagtta aactgaaggc gggaaacgac 1140
 aatctgatcc ccatcaagct ctgctagag cggccgctt atcaagcttc tgcaggctct 1200
 gctcgagtgg aagctaattc tcagtccaaa gcctcaaaa ggtcagggtta cagagtctcc 1260
 aaaccattag ccaaaagcta caggagatca atgaagaatc ttcaatcaaa gtaaactact 1320
 gttccagcac atgcatcatg gtcagtaagt ttcagaaaaa gacatccacc gaagacttaa 1380
 agttagtggg catctttgaa agtaatcttg tcaacatcga gcagctggct tgtggggacc 1440
 agacaaaaaa ggaatggtgc agaattgtta ggcgaccta ccaaaagcat ctttgccctt 1500
 attgcaaaga taaagcagat tcctctagta caagtgggga acaaaataac gtggaaaaga 1560
 gctgtcctga cagccactc actaatgcgt atgacgaacg cagtgcagc cacaaaagaa 1620
 ttagcttgag ctgaggattt agcagcattc cagattgggt tcaatcaaca aggtacgagc 1680
 catatcactt tattcaaatt ggtatcgcca aaaccaagaa ggaactccca tcctcaaagg 1740
 tttgtaagga agaattcgat atcaagcttg atatcggaag tttctctctt gagggagggt 1800
 gctcgtggaa tgggacacat atggttggtta taataacca tttcatttgt catgagattt 1860
 tgaggttaat atatacttta cttgttcatt attttatttg gtgtttgaat aaatgatata 1920
 aatggctctt gataatctgc attcattgag atatcaaata tttactctag agaagagtgt 1980

catatagatt gatggtccac aatcaatgaa atttttggga gacgaacatg tataaccatt 2040
 tgcttgaata accttaatta aaaggtgtga ttaaagtatg tttgtaacat gtagtactaa 2100
 acattcataa aacacaacca acccaagagg tattgagtat tcacggctaa acaggggcat 2160
 aatggtaatt taaagaatga tattatttta tgtaaaccoc taacattggt ttoggattca 2220
 acgtataaaa taaaaccact ctggttgctg attccattta tggttcttat tgacctagc 2280
 cgctacacac ttttctgcga tatctctgag gtaagcgta acgtaccctt agatogttct 2340
 ttttcttttt cgtctgctga tgggtgctca tattatttcg atgattggtg gattcgatgc 2400
 tctttgttga ttgatcgttc tgaaaattct gatctggtgt ttagatttta tggattgta 2460
 atatcaacgt ttcactgctt ctaaacgata atttattcat gaaactattt tccattctg 2520
 atogatcttg ttttgagatt ttaatttggt cgattgattg ttggttggtg gatctatata 2580
 cgagtgaact tggtagtttg cgtatttaag atgtatgtcg atttgaattg tgattgggta 2640
 attctggagt agcataacaa atccagtgtt ccctttttct aagggttaatt ctoggattgt 2700
 ttgctttata tctcttgaaa ttgocgattt gattgaattt agctcgctta gctcagatga 2760
 tagagcacca caatttttgt ggtagaaatc gggttgactc cgatagcggc tttttaotat 2820
 gattgttttg tgtaaagat gattttcata atgggtatat atgtctactg tttttattga 2880
 ttcaatattt gattgttctt ttttttcag atttggtgac cagagatcta ccatggcgca 2940
 agttagcaga atctgcaatg gtgtgcagaa cccatctctt atctccaatc tctcgaaatc 3000
 cagtoaacgc aaatctccct tatcggtttc tctgaagaag cagcagcatc cagagctta 3060
 tccgatttcg tgcctgtggg gattgaagaa gaggggatg acgttaattg gctctgagct 3120
 tgcctctctt aagggtcatg cttctgtttc cacggcgtgc atgcttcacg gtgcaagcag 3180
 ccgtccagca actgctcgta agtctctggt tctttctgga accgtccgta ttccagggtga 3240
 caagtctatc tccacaggt ccttcattgt tggagggtct gctagcggtg aaactcgtat 3300
 caccggctct ttggaagggt aagatgttat caacactggt aaggctatgc aagctatggg 3360
 tgccagaatc cgtaaggag gtgatacttg gatcattgat ggtgttggtg acgggtggact 3420
 ccttgctctc gaggctctc tggatttcgg taacgctgca actggttgcc gtttgactat 3480
 gggctcttgt ggtgtttacg atttcgatag cactttcatt ggtgacgctt ctctcactaa 3540
 gcgtccaatg ggtcgtgtgt tgaaccact tcgcgaaatg ggtgtgcagg tgaagtctga 3600
 agacggtgat cgtcttccag ttaccttgcg tggaccaaaag actccaacgc caatcaccta 3660
 cagggtacct atggcttccg ctcaagtga gtccgctgtt ctgcttgctg gtctcaacac 3720
 ccagggtatc accactgtta tcgagccaat catgactcgt gaccacactg aaaagatgct 3780
 tcaaggtttt ggtgctaacc ttaccgttga gactgatgct gacgggtgtc gtaccatccg 3840
 tcttgaagggt cgtggtaagc tcaccggtca agtgattgat gttccagggt atccatcctc 3900
 tactgctttc ccattggttg ctgccttgct tgttccagggt tccgacgtca ccattcctaa 3960

cgttttgatg aacccaaccc gtactggtct catcttgact ctgcaggaaa tgggtgcca 4020
 catcgaagtg atcaaccac gtcttgctgg tggagaagac gtggctgact tgcgtgttcg 4080
 ttcttctact ttgaagggtg ttactgttcc agaagaccgt gtccttcta tgatcgacga 4140
 gtatccaatt ctgctgttg cagctgcatt cgctgaaggt gctaccgtta tgaacggttt 4200
 ggaagaactc cgtgtaagg aaagcgaccg tctttctgct gtgcgaaacg gtctcaagct 4260
 caacgggtgtt gattgogatg aagggtgagac ttctctcgtc gtgcgtggtc gtcctgacgg 4320
 taagggtctc ggtaacgctt ctggagcagc tgcgctacc caactcgatc accgtatcgc 4380
 tatgagcttc ctggttatgg gtctcgtttc tgaaaaccct gttactgttg atgatgctac 4440
 tatgatcgtc actagcttcc cagagttcat ggatttgatg gctggctctg gagctaagat 4500
 cgaactctcc gacactaagg ctgcttgatg agctcaagaa ttcgagctcg gtaccggatc 4560
 ctctagctag agctttcgtt cgtatcatcg gtttcgacaa cgttcgtcaa gttcaatgca 4620
 tcagtttcat tgcgcacaca ccagaatcct actgagtttg agtattatgg cattgggaaa 4680
 actgtttttc ttgtaccatt tgttggtgctt gtaatttact gtgtttttta ttccggttttc 4740
 gctatcgaac tgtgaaatgg aaatggatgg agaagagtta atgaatgata tggtcctttt 4800
 gttcattctc aaattaatat tatttgtttt ttctcttatt tgttggtgtg tgaatttgaa 4860
 attataagag atatgcaaac attttgtttt gagtaaaaat gtgtcaaacg gtggcctcta 4920
 atgaccgaag ttaatatgag gagtaaaaca cttgtagttg taccattatg cttattcact 4980
 aggcaacaaa tatattttca gacctagaaa agctgcaaat gttactgaat acaagtatgt 5040
 cctcttggtg tttagacatt tatgaacttt cctttatgta attttcaga atccttgta 5100
 gattctaatac attgctttat aattatagtt atactcatgg atttgtagtt gagtatgaaa 5160
 atatttttta atgcatttta tgacttgcca attgattgac aacatgcac aatcgacctg 5220
 cagccactcg aagcgccgc atcgatcgtg aagtttctca totaagcccc catttgagcg 5280
 tgaatgtaga cacgtcgaaa taaagatttc cgaattagaa taatttgttt attgctttcg 5340
 cctataaata cgacggatcg taatttgctg ttttatcaaa atgtactttc attttataat 5400
 aacgctcaga ctctagtac taccaccttc actctctca agcatttcag cctcttcccc 5460
 gctcagactc cttagctttg ggagccaaat tatcccttac gttctcgact tcaaccatat 5520
 gtgatagctg cctatgatac catggctact tccccttagt tctttatctt tctttccgc 5580
 tttattccat gccttaccga tctctgaag tgtcttgca ttagcttcat tgaacctca 5640
 cgcgatgaaa ggtgtgatgg tctctccga tggcgcaatt ctcatagggg aacctaattg 5700
 tcttacgacc aacataggat tataattaat acaaccttc gtccctataa aagggacatt 5760
 tggaaatcct tcacataagc ataactcc taccctctt tctttccact gtgggaacca 5820
 actaatggac gtcctatca tgctgcaa gagttcttc caatttgct cgtcctttcc 5880
 tgagcacatg cgatgacctt gtatgggga gacagatcta ctttcatgat tgaagacgtg 5940

ggataccaac cacacataaa gagcaggcgc acaacagaaa atcctcgtag tgctcttctt 6000
 gcatcttaag tcaaatgtat catacactta tgctaaaaca acaatgatcg ggctttcctt 6060
 gctatggtga taagcaagaa aagcatcgat tgctactaga tccaccaact cgtctacatt 6120
 cgaaaatagt actatcccaa acactagcag tgctaatacg tcgatgaatg atgcccactc 6180
 tccttggtcg gccagagttt ccgccttctc ctccaatcac ttccttggtg ttccccctac 6240
 cctattccta ctttgcttca ctcagtetaa ttctcatttc gagatcttga caactcctgc 6300
 tattctcgcc atagaaggat agtaccaga aaaaaggat ggcttccttc ctctatcgg 6360
 gcatcctaag atcccttcga actcctctat ggttggtgct aactgaaagt ccccaaaagt 6420
 gaagcatctg agtgattggt catagtattg ggtgagagat gcgatg 6466

<210> 10
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (22)
 <223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 10

ccttttgggc ttttttggtt cc 22

<210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (20)
 <223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 11

cgtttccgc cttcagttta 20

<210> 12
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (20)
 <223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 12

tgtgtggtgt gaccattgg 20

<210> 13
 <211> 25

<212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (25)
 <223> Molécula de iniciador sintético

 <400> 13
 cctcaattgg gagatactgc actta 25

 <210> 14
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (29)
 <223> Molécula de iniciador sintético

 <400> 14
 gtagtcacta gggtcagtaa agaattgtga 29

 <210> 15
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (18)
 <223> Molécula de iniciador sintético

 <400> 15
 ttatcaagct ccaaacac 18

 <210> 16
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (22)
 <223> Molécula de iniciador sintético

 <400> 16
 tgagctcaaa gatatcaaca tg 22

 <210> 17
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (22)

<223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 17
 agttaaatca tagttaataa tc 22

 <210> 18
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (20)
 <223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 18
 tccccgtcta gcgcttcaat 20

 <210> 19
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (19)
 <223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 19
 tcgagcagga cctgcagaa 19

 <210> 20
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <221> descrição_misc
 <222> (1) .. (24)
 <223> Molécula de iniciador sintético
 <400> 20
 ctgaaggcgg gaaacgacaa tctg 24

 <210> 21
 <211> 1103
 <212> DNA
 <213> Glycine max

 <400> 21
 tgggggctgc ctgtacttcc caaaacttgc cttccctgac ccatcatatc caggactgga 60
 cgattggctt gattgatacc agatgggtga gtcgagtcca cctcggtagc ggcatttatg 120
 gcaacgattg cagccacgtt gacctccatc attttttctc atgctcatca tggcctccat 180

```

catggtggtc atttggctct tcattggcctc catgtcggcc ttcattctgct cttgaacttc 240
atctatctca ctcatgattc tagccttggc acgtgttttg taagggtacc gtaaagcgcg 300
ttcgttcttt tttattacta tgattacatt ttgacgatga tgatgattgt aggaaagaat 360
gaaatgagta atgaaacaac taaataaacg tgaatgcatt acaatgataa gttgctgaag 420
tattataaat ttacatagga cattcagtggt aacgtagggt cgaatcaaat cctatttcat 480
taaaaaaat attgttcac ttgacagagc caaagcataa ctagaataac aacatggaca 540
catcagcgat tcctaattat gtgggtcatt agttcgacca tgtgttgga gtaacttgaa 600
agactatgaa cttcatcggg agcagagtat gtgtcagtc cgccttggc tctggctaac 660
aaccttggga tctcttggct ctcatctaga gtaagagcaa atttgtccat ccatttcatg 720
gcttctttat gcaataactc tatcaccctc tctcttggct ccctttcaac ctgcaaggtc 780
gacacttttg cctgttcgct ttctagcctt cgcccatgac tagcagctag gttcaccttc 840
tcttcatatt ggtcaatgat tatcaacata ttttcttttg ttttgctcaa ctgttctctc 900
aaacttctct tcgatctctg acaactcttt aacttatcct ctaacatcag gttttccata 960
cttgatttgt ccctcttggc ttttctaagt ttgagctcgt tactgctgcc ccacaaagcc 1020
cctcgaaact tgttctctgt ccactcttcc ttttgggctt tttgtttcc cgctctagcg 1080
cttcaatcgt gggtatcaag etc 1103

```

<210> 22

<211> 1060

<212> DNA

<213> Glycine max

<400> 22

```

cagactctag tgactaccac cttcactctc ctcaagcatt tcagcctctt ccccgctcag 60
actccttagc tttgggagcc aaattatccc ttacgttctc gacttcaacc atatgtgata 120
gctgcctatg ataccatggc tacttccctc tagttcttta tctttccttt ccgctttatt 180
ccatgcctta ccgatcctct gaagtgtctt tgcattagct tcattgaaac ctacgcgat 240
gaaagggtgt atggtctcct ccgatggcgc acttctcata gggtaacctt attgtcttac 300
gaccaacata ggattataat taatacaacc cctcgtccct ataaaagggg catttggaag 360
tccttcacat aagcataaca ctccatcccc tctttctttc cactgtggga accaactaat 420
ggacgctcct atcatgcctg ccaagagttc ttcccaattt gcctcgtcct ttcctgagca 480
catgcgatga ccttgatagg ggtagacaga tctactttca tgattgaaga cgtgggatac 540
caaccacaca taaagagcag gcgcacaaca gaaaatcctc gtagtgctct tcttgcatct 600
taagtcaaat gtatcataca cttatgctaa aacaacaatg atcgggcttt ccttgctatg 660
gtgataagca agaaaagcat cgattgctac tagatccacc aactcgtcta cattcgaaaa 720
tagtactatc ccaaactact gcagtgtctt tacgtcgatg aatgatgcc actctccttg 780
gctggccaga gtttccgctc tctctccaa tcaacttctt ggtattcccc ctaccctatt 840
cctactttgc ttactcagt ctaattctca tttcgagatc ttgacaactc ctgctattct 900
cgccatagaa ggatagtacc cagaaaaaag gtatggcttc cttctccta tcgggcatcc 960
taagatccct tcgaactcct ctatggtttg tgtaactga aagtcoccaa aagtgaagca 1020
tctgagtgat tggatcatg attgggtgag agatgcgatg 1060

```

REIVINDICAÇÕES

1. Seqüência de ácido nucléico que compreende a seqüência de SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

2. Planta de soja ou parte dessa que compreende o evento MON89788, em que uma semente de soja representativa compreendendo o evento MON89788 foi depositada sob o número de acesso da ATCC PTA-6708.

3. Semente da planta como definida na reivindicação 2, em que a semente compreende o evento MON89788.

4. Produto primário de soja produzido a partir da semente como definida na reivindicação 3.

5. Produto primário de soja como de acordo com a reivindicação 5, ainda definido como alimento, farinha, flocos, ou óleo.

6. Parte de planta de soja de acordo com a reivindicação 2, definida como uma célula, pólen, óvulo, flor, broto, raiz, ou folha.

7. Planta de soja de acordo com a reivindicação 2, ainda definida como uma planta de progênie de qualquer geração de uma planta de soja que compreende o dito evento MON89788.

8. Planta de soja de acordo com a reivindicação 2, em que o genoma da dita planta compreende pelo menos uma molécula de DNA selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22.

9. Planta de soja de acordo com a reivindicação 2, em que o genoma da dita planta produz um amplicon diagnóstico para o evento MON89788 quando testado em um método de amplificação de DNA, o dito método compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

10. Semente de acordo com a reivindicação 3, em que o DNA da semente produz um amplicon diagnóstico para o evento MON89788 quando testado em um método de amplificação de DNA, o dito amplicon compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

11. Alimento, farinha, flocos, ou óleo de acordo com a reivindicação 5, ainda definidos como compreendendo um ácido nucléico que produz

um amplicon diagnóstico para o evento MON89788 quando testado em um método de amplificação de DNA, o dito amplicon compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

5 12. Molécula iniciadora de polinucleotídeo de DNA que compreende pelo menos 11 nucleotídeos contíguos de SEQ ID NO: 3, ou seu complemento, que é útil em um método de amplificação de DNA para produzir um amplicon diagnóstico para o evento MON89788.

10 13. Molécula iniciadora de polinucleotídeo de DNA isolada que compreende pelo menos 11 nucleotídeos contíguos de SEQ ID NO: 4, ou seu complemento, que é útil em um método de amplificação de DNA para produzir um amplicon diagnóstico para o evento MON89788.

15 14. Kit de detecção de DNA específico para o evento MON89788 que compreende pelo menos um ácido nucléico que compreende 11 ou mais nucleotídeos contíguos homólogos ou complementares a SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4.

15 15. Método de produzir uma planta de soja tolerante ao herbicida glifosato que compreende introduzir no genoma da dita planta o evento MON89788.

20 16. Método de acordo com a reivindicação 15, definido como compreendendo as etapas de:

(a) cruzar uma primeira planta de soja que compreende o evento MON89788 com uma segunda planta de soja que não tem o evento MON89788 para produzir plantas de progênie; e

25 (b) selecionar pelo menos uma planta de primeira progênie que compreende o dito evento MON89788 e é tolerante ao glifosato.

17. Método de acordo com a reivindicação 16, ainda compreendendo autocruzar a dita planta de primeira progênie para produzir plantas de progênie de segunda geração e selecionar pelo menos uma primeira planta homozigótica para o dito evento MON89788.

30 18. Método de detectar a presença de DNA que corresponde ao evento de soja MON89788 em uma amostra, o método compreendendo:

(a) colocar uma amostra que compreende DNA de soja em contato

com um conjunto de iniciadores, que quando usados em uma reação de amplificação de ácido nucléico com DNA genômico do evento de soja MON89788, produz um amplicon de diagnóstico para o evento de soja MON89788; e

(b) realizar uma reação de amplificação de ácido nucléico, assim
5 produzindo o amplicon de diagnóstico; e

(c) detectar o amplicon de diagnóstico.

19. Método de detectar a presença de um ácido nucléico que corresponde ao evento MON89788 em uma amostra, o método compreendendo:

10 (a) obter uma amostra de DNA de soja; e

(b) testar a amostra para a presença de uma sequência de DNA do evento MON89788.

20. Método de acordo com a reivindicação 19, em que testar a amostra de DNA compreende detectar a presença da sequência de ácido nucléico de pelo menos um de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, ou complementos dessas.

21. Planta de soja que compreende uma característica tolerante ao glifosato que está ligada geneticamente a uma molécula de ácido nucléico que compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

20 22. Método de produzir um produto primário de soja que compreende,

(a) obter a planta de soja ou parte dessa de acordo com a reivindicação 2; e

(b) produzir um produto primário de soja a partir da planta de
25 soja ou parte dessa.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, em que o produto primário de soja é definido como alimento, farinha, flocos, isolado de proteína, ou óleo.

24. Método para controlar o crescimento de ervas daninhas em
30 um campo que compreende plantas de soja que compreendem o evento MON89788, o método compreendendo tratar o campo com uma quantidade de glifosato eficaz para controlar o crescimento de ervas daninhas, em que

as plantas de soja exibem tolerância ao glifosato.

25. Método de acordo com a reivindicação 24, em que o tratamento do campo é realizado do estágio de crescimento V1 ao R4.

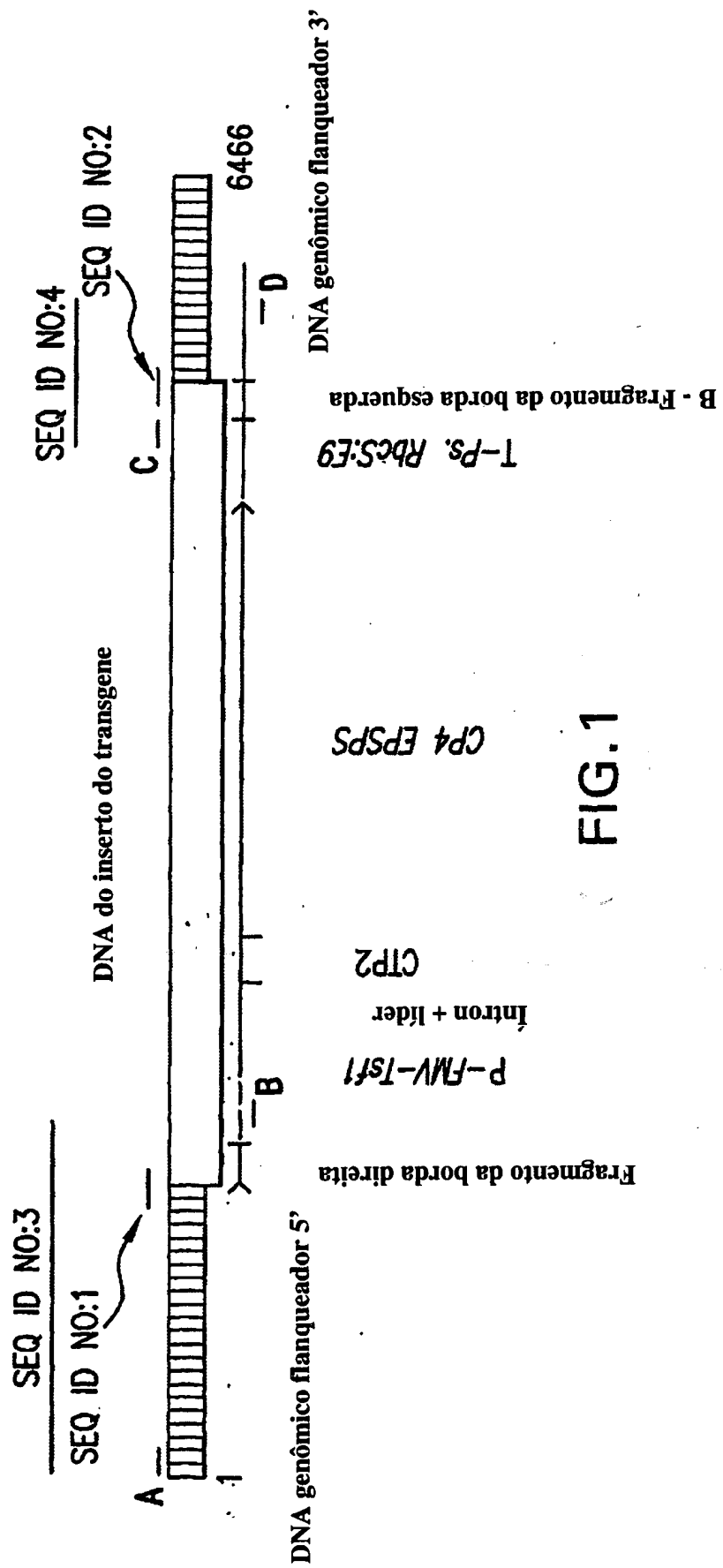


FIG.1

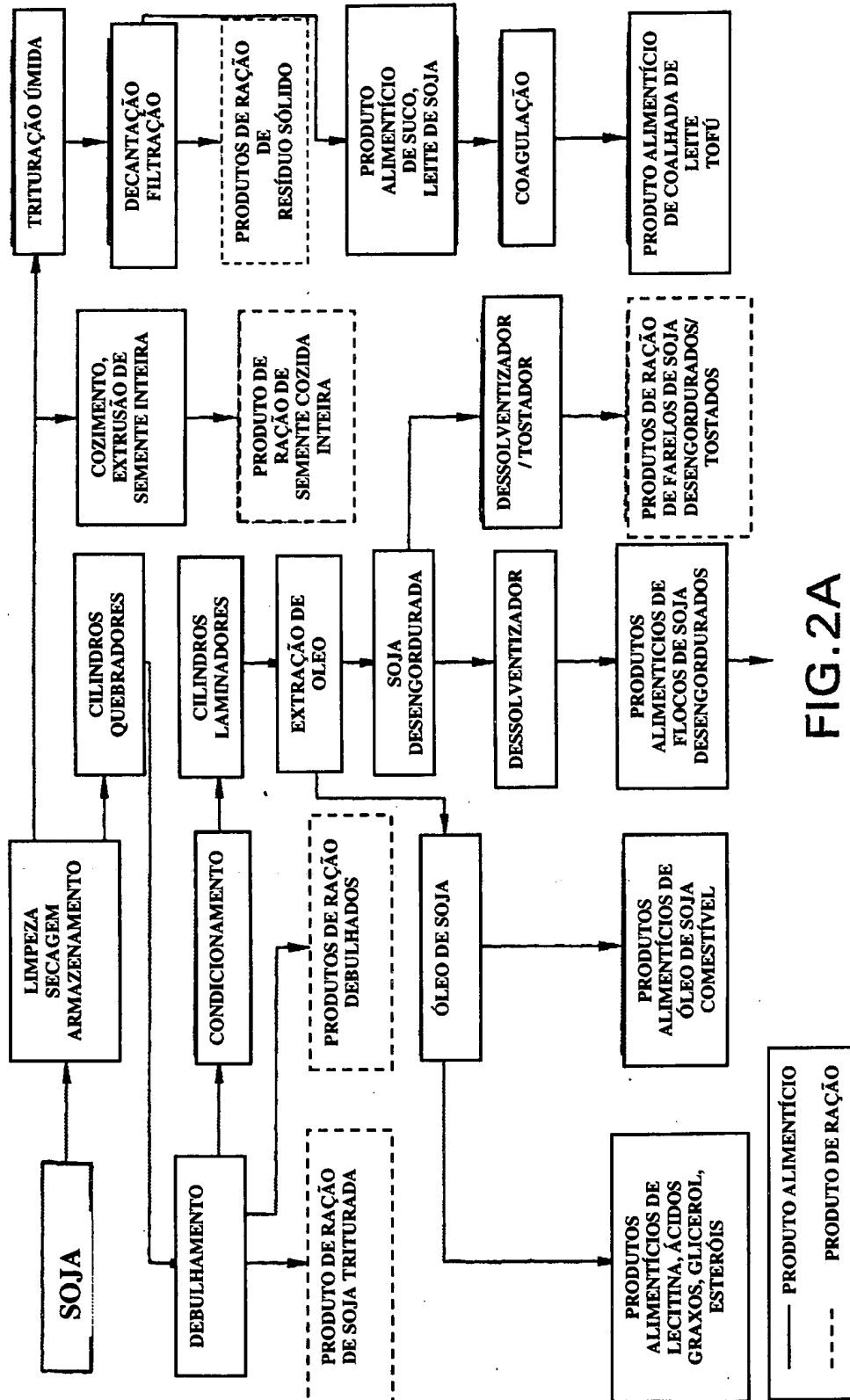


FIG. 2A

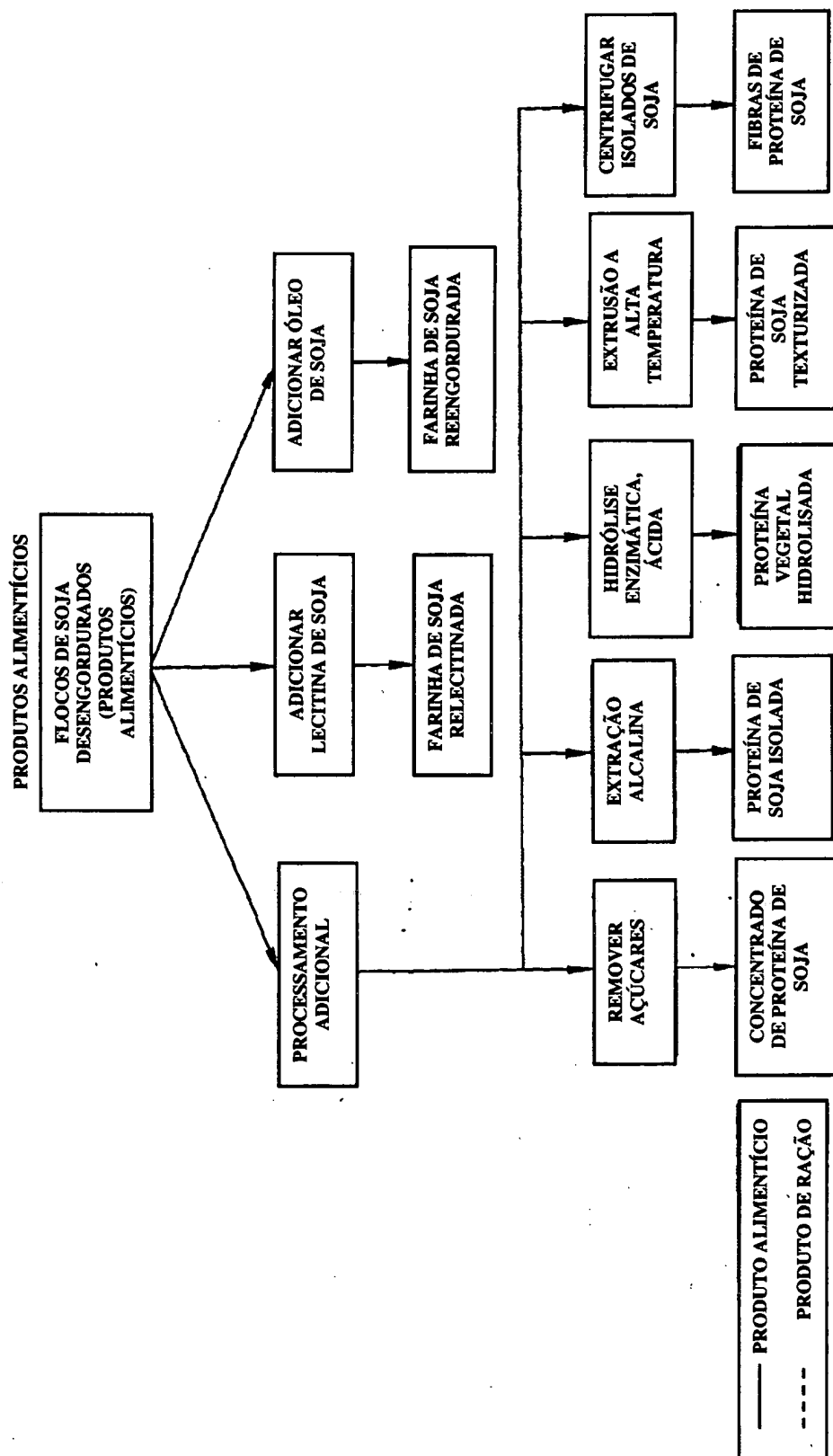


FIG.2B

RESUMO

Patente de Invenção: "OCORRÊNCIA DE SOJA MON8978 E MÉTODOS PARA DETECÇÃO DA MESMA".

5 A presente invenção refere-se a planta e semente de soja que compreendem o evento de transformação MON89788 e moléculas de DNA únicas para esses eventos. A invenção também fornece métodos para detectar a presença dessas moléculas de DNA em uma amostra.

REIVINDICAÇÕES

1. Seqüência de ácido nucléico, caracterizada pelo fato de que compreende a seqüência de SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

2. Planta de soja ou parte dessa, caracterizada pelo fato de que
5 compreende o evento MON89788, em que uma semente de soja representativa compreendendo o evento MON89788 foi depositada sob o número de acesso da ATCC PTA-6708.

3. Semente, caracterizada pelo fato de que é a semente da planta como definida na reivindicação 2, em que a semente compreende o evento
10 MON89788.

4. Produto primário de soja, caracterizado pelo fato de que é produzido a partir da semente como definida na reivindicação 3.

5. Produto primário de soja de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que ainda definido como alimento, farinha, flocos,
15 ou óleo.

6. Parte de planta de soja de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que é definida como uma célula, pólen, óvulo, flor, broto, raiz, ou folha.

7. Planta de soja de acordo com a reivindicação 2, caracterizada
20 pelo fato de que é ainda definida como uma planta de progênie de qualquer geração de uma planta de soja que compreende o dito evento MON89788.

8. Planta de soja de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que o genoma da dita planta compreende pelo menos uma molécula de DNA selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 1,
25 SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22.

9. Planta de soja de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que o genoma da dita planta produz um amplicon diagnóstico para o evento MON89788 quando testado em um método de amplificação de DNA, o dito método compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

30 10. Semente de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o DNA da semente produz um amplicon diagnóstico para o evento MON89788 quando testado em um método de amplificação de DNA,

o dito amplicon compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

11. Alimento, farinha, flocos ou óleo como definido na reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que compreende um ácido nucléico que produz um amplicon diagnóstico para o evento MON89788 quando testado em um método de amplificação de DNA, o dito amplicon compreendendo SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

12. Molécula iniciadora de polinucleotídeo de DNA, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos 11 nucleotídeos contíguos de SEQ ID NO: 3, ou seu complemento, que é útil em um método de amplificação de DNA para produzir um amplicon diagnóstico para o evento MON89788.

13. Molécula iniciadora de polinucleotídeo de DNA isolada, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos 11 nucleotídeos contíguos de SEQ ID NO: 4, ou seu complemento, que é útil em um método de amplificação de DNA para produzir um amplicon diagnóstico para o evento MON89788.

14. Kit de detecção de DNA específico para o evento MON89788, caracterizado pelo fato de que compreende pelo menos um ácido nucléico que compreende 11 ou mais nucleotídeos contíguos homólogos ou complementares a SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4.

15. Método para produzir uma planta de soja tolerante ao herbicida glifosato, caracterizado pelo fato de que compreende introduzir no genoma da dita planta o evento MON89788.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

(a) cruzar uma primeira planta de soja que compreende o evento MON89788 com uma segunda planta de soja que não tem o evento MON89788 para produzir plantas de progênie; e

(b) selecionar pelo menos uma planta de primeira progênie que compreende o dito evento MON89788 e é tolerante ao glifosato.

17. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que compreende ainda autocruzar a dita planta de primeira progê-

nie para produzir plantas de progênie de segunda geração e selecionar pelo menos uma primeira planta homozigótica para o dito evento MON89788.

18. Método para detectar a presença de DNA que corresponde ao evento de soja MON89788 em uma amostra, caracterizado pelo fato de
5 que compreende:

(a) colocar uma amostra que compreende DNA de soja em contato com um conjunto de iniciadores, que quando usados em uma reação de amplificação de ácido nucléico com DNA genômico do evento de soja MON89788, produz um amplicon de diagnóstico para o evento de soja MON89788; e

10 (b) realizar uma reação de amplificação de ácido nucléico, assim produzindo o amplicon de diagnóstico; e

(c) detectar o amplicon de diagnóstico.

19. Método para detectar a presença de um ácido nucléico que corresponde ao evento MON89788 em uma amostra, caracterizado pelo fato
15 de que compreende:

(a) obter uma amostra de DNA de soja; e

(b) testar a amostra para a presença de uma seqüência de DNA do evento MON89788.

20. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que testar a amostra de DNA compreende detectar a presença da
20 seqüência de ácido nucléico de pelo menos um de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, ou complementos dessas.

21. Planta de soja, caracterizada pelo fato de que compreende uma característica tolerante ao glifosato que está ligada geneticamente a
25 uma molécula de ácido nucléico que compreende SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2.

22. Método para produzir um produto primário de soja, caracterizado pelo fato de que compreende:

30 (a) obter a planta de soja ou parte dessa como definida na reivindicação 2; e

(b) produzir um produto primário de soja a partir da planta de soja ou parte dessa.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o produto primário de soja é definido como alimento, farinha, flocos, isolado de proteína, ou óleo.

5 24. Método para controlar o crescimento de ervas daninhas em um campo que compreende plantas de soja que compreendem o evento MON89788, caracterizado pelo fato de que compreende tratar o campo com uma quantidade de glifosato eficaz para controlar o crescimento de ervas daninhas, em que as plantas de soja exibem tolerância ao glifosato.

10 25. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o tratamento do campo é realizado do estágio de crescimento V1 ao R4.