

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成22年4月22日(2010.4.22)

【公表番号】特表2009-529898(P2009-529898A)

【公表日】平成21年8月27日(2009.8.27)

【年通号数】公開・登録公報2009-034

【出願番号】特願2009-500746(P2009-500746)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 0 1 H	1/00	(2006.01)
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 0 1 H	5/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
A 0 1 H	1/00	Z N A A
C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 N	5/00	C
A 0 1 H	5/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成22年3月3日(2010.3.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

a) Nicotiana種または栽培品種の植物細胞内にキメラ遺伝子を導入してトランスジェニック植物細胞を作製することであって、該キメラ遺伝子は、以下の作動可能に連結したDNAフラグメントを含む：

i) 植物発現可能プロモーター；

i i) 下記：

(1) Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該Nicotiana種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種または栽培品種特異的X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする連續ヌクレオチドか、あるいはNicotiana X y 1 T 遺伝子もしくはNicotiana X y 1 T c DNAのヌクレオチド配列またはその相補体より選択され、該ヌクレオチド配列が、該Nicotiana種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種特異的X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連續ヌクレオチドの、ヌクレオチド配列を含む第一のセンスDNA領域；および

(2) 該第一のDNA領域の相補体に少なくとも95%の配列同一性を有する少なくとも19個の連續ヌクレオチドのヌクレオチド配列を含む第二のアンチセンスDNA領域を含む転写可能DNA領域であって、

該転写可能DNA領域から転写されたRNA分子は、少なくとも、該第一のセンスDNA領域から転写されたRNA領域と、該第二のアンチセンスDNA領域から転写されたRN

A領域との間で二本鎖RNA領域を形成することができる、転写可能DNA領域；および
i) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含むDNA領域；
b) 場合により、トランスフォーメーションされていないNicotiana植物細胞よりも低レベルの-1,2-キシロース残基をタンパク質結合N-グリカン上に有するトランスジェニックNicotiana植物細胞を同定すること；
c) 場合により、該トランスジェニックNicotiana植物細胞を再生してトランスジェニックNicotiana植物を得ること；および
d) 場合により、トランスフォーメーションされていないNicotiana植物よりも低レベルの-1,2-キシロース残基をタンパク質結合N-グリカン上に有するトランスジェニックNicotiana植物を同定すること
の工程を含む、タンパク質結合N-グリカン上に低レベルの-1,2-キシロース残基を有するNicotiana植物細胞または植物を生産する方法。

【請求項2】

Nicotiana種特異的Xy1Tアミノ酸がNicotiana benthamiana特異的Xy1Tアミノ酸であり、該Nicotiana種が好ましくはNicotiana benthamianaである、請求項1記載の方法。

【請求項3】

Nicotiana Xy1Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号12または配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

Nicotiana種特異的Xy1TヌクレオチドがNicotiana benthamiana特異的Xy1Tヌクレオチドであり、該Nicotiana種が好ましくはNicotiana benthamianaである、請求項1から3のいずれか1項記載の方法。

【請求項5】

Nicotiana Xy1T遺伝子のヌクレオチド配列が、配列番号11、配列番号13、または配列番号21のヌクレオチド配列を含む、請求項1から4のいずれか1項記載の方法。

【請求項6】

Nicotiana栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸がNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1特異的Xy1Tアミノ酸であり、該Nicotiana栽培品種が好ましくはNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1である、請求項1記載の方法。

【請求項7】

Nicotiana Xy1Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号4、配列番号6、配列番号8、または配列番号10のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項1または6記載の方法。

【請求項8】

Nicotiana栽培品種特異的Xy1TヌクレオチドがNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1特異的Xy1Tヌクレオチドであり、該Nicotiana栽培品種が好ましくはNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1である、請求項1、6または7のいずれか1項記載の方法。

【請求項9】

Nicotiana Xy1T遺伝子またはNicotiana Xy1T cDNAのヌクレオチド配列が、配列番号3、配列番号5、配列番号8、配列番号10、または配列番号17のヌクレオチド配列を含む、請求項1または6から8のいずれか1項記載の方法。

【請求項10】

第一および第二のDNA領域が、少なくとも50個の連続ヌクレオチドを含む、請求項1から9のいずれか1項記載の方法。

【請求項11】

第一および第二のDNA領域が、少なくとも200個の連続ヌクレオチドを含む、請求

項 1 から 9 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 2】

タンパク質結合 N - グリカン上に低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基を有する Nicotiana 植物細胞または植物を生産する方法であって、以下：

a) Nicotiana 種または栽培品種の植物細胞または植物に一つまたは複数の二本鎖 RNA 分子を提供することであって、該二本鎖 RNA 分子が二つの RNA 鎖を含み、一つの RNA 鎖が 実質的に Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 から 21 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 から 21 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、Nicotiana 種または栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする連続ヌクレオチドか、あるいは Nicotiana X y 1 T 遺伝子もしくは Nicotiana X y 1 T c DNA のヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 から 21 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 から 21 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、Nicotiana 種または栽培品種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連続ヌクレオチドの RNA ヌクレオチドからなる、提供；および

b) 該一つまたは複数の二本鎖 RNA 分子を含まない、同じ Nicotiana 植物細胞または植物に比べて低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基をタンパク質結合 N - グリカン上に有する、該一つまたは複数の二本鎖 RNA 分子を含む Nicotiana 植物細胞または植物を同定すること

の工程を含む方法。

【請求項 1 3】

該二本鎖 RNA が、Nicotiana 種または栽培品種の植物細胞のゲノムにキメラ遺伝子を組み込むことによって該植物細胞または植物に提供され、トランスジェニック植物細胞を作製し、場合により、該植物細胞を再生してトランスジェニック植物を得る方法であって、該キメラ遺伝子が、以下の作動可能に連結した DNA フラグメント：

a) 植物発現可能プロモーター；
 b) Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、Nicotiana 種または栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする連続ヌクレオチドか、あるいは Nicotiana X y 1 T 遺伝子もしくは Nicotiana X y 1 T c DNA のヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、Nicotiana 種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連続ヌクレオチドを含む、アンチセンス方向の、DNA 領域；および

c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含む DNA 領域を含む、請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 1 4】

二本鎖 RNA が、植物細胞のゲノムにキメラ遺伝子を組み込むことによって該植物細胞または植物に提供され、トランスジェニック植物細胞を作製し、場合により、該植物細胞を再生してトランスジェニック植物を得る方法であって、該キメラ遺伝子が、以下の作動可能に連結した DNA フラグメント：

a) 植物発現可能プロモーター；
 b) Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ことができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、それが相補する Nicotiana 種特異的または栽培品種特異

的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする連続ヌクレオチドか、あるいは Nicotiana X y 1 T 遺伝子もしくは Nicotiana X y 1 T c DNA のヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連続ヌクレオチドを含む、センス方向の、DNA 領域；および c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含む DNA 領域を含む、請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 1 5】

二本鎖 RNA が、植物細胞のゲノムにキメラ遺伝子を組むことによって該植物細胞または植物に提供され、トランスジェニック植物細胞を作製し、場合により、該植物細胞を再生してトランスジェニック植物を得る方法であって、該キメラ遺伝子が、以下の作動可能に連結した DNA フラグメント：

a) 植物発現可能プロモーター；

b) 下記：

i) Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種または栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする連続ヌクレオチドか、あるいは Nicotiana X y 1 T 遺伝子もしくは Nicotiana X y 1 T c DNA のヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連続ヌクレオチドを含む、アンチセンス方向の、第一の DNA 領域；

i i) Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ることができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種または栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする連続ヌクレオチドか、あるいは Nicotiana X y 1 T 遺伝子もしくは Nicotiana X y 1 T c DNA のヌクレオチド配列またはその相補体より選択され、該ヌクレオチド配列が、該 Nicotiana 種または栽培品種から好ましくは得ことができ、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連続ヌクレオチドを含む、センス方向の、第二の DNA 領域を含む転写可能 DNA 領域であって、該転写可能 DNA 領域の転写により生成する RNA 分子が、少なくとも該第一の DNA 領域に対応する RNA 領域と、該第二の RNA 領域に対応する RNA 領域との間で塩基対形成することによって二本鎖 RNA 領域を形成することができる転写可能 DNA 領域；および

c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含む DNA 領域を含む、請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 1 6】

Nicotiana 種特異的 X y 1 T アミノ酸が、 Nicotiana benthamiana 特異的 X y 1 T アミノ酸であり、該 Nicotiana 種が、好ましくは Nicotiana benthamiana である、請求項 1 2 から 1 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 7】

Nicotiana X y 1 T タンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号 1 2 または配列番号 1 4 のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 2 から 1 6 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 8】

Nicotiana 種特異的 X y 1 T ヌクレオチドが Nicotiana benthamiana 特異的 X y 1 T ヌク

レオチドであり、該Nicotiana種が好ましくはNicotiana benthamianaである、請求項12から17のいずれか1項記載の方法。

【請求項19】

Nicotiana X y 1 T 遺伝子のヌクレオチド配列が、配列番号11、配列番号13、または配列番号21のヌクレオチド配列を含む、請求項12から18のいずれか1項記載の方法。

【請求項20】

Nicotiana栽培品種特異的X y 1 Tアミノ酸がNicotiana tabacum cv. Petite Havana S R1特異的X y 1 Tアミノ酸であり、該Nicotiana栽培品種が好ましくはNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1である、請求項12から15のいずれか1項記載の方法。

【請求項21】

Nicotiana X y 1 Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号4、配列番号6、配列番号8、または配列番号10のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項12から15または20のいずれか1項記載の方法。

【請求項22】

Nicotiana栽培品種特異的X y 1 TヌクレオチドがNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1特異的X y 1 Tヌクレオチドであり、該Nicotiana栽培品種が好ましくはNicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1である、請求項12から15、20または21のいずれか1項記載の方法。

【請求項23】

Nicotiana X y 1 T遺伝子またはNicotiana X y 1 T c D N Aのヌクレオチド配列が、配列番号3、配列番号5、配列番号8、配列番号10、または配列番号17のヌクレオチド配列を含む、請求項12から15、または20から22のいずれか1項記載の方法。

【請求項24】

タンパク質結合N-グリカン上に低レベルの-1, 2-キシロース残基を有するNicotiana植物細胞または植物を生産する方法であって、以下：

a) 以下：

i) 配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、または配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、D N A フラグメント；

i i) 配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、または配列番号21のいずれか一つのヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、D N A フラグメント；

i i i) 配列番号4もしくは配列番号6のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から1513個の間の連続ヌクレオチドからなるヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、D N A フラグメントもしくはオリゴヌクレオチド；
i v) 配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から3574個の間の連続ヌクレオチドからなるヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、D N A フラグメントもしくはオリゴヌクレオチド；

v) 配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のいずれか一つのヌクレオチド配列より選択される20から3574個の間の連続ヌクレオチドからなるヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するためのD N A フラグメントもしくはオリゴヌクレオチド；

v i) 配列番号4もしくは配列番号6のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から200個の間の連続ヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を有する、P C R 反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド配列；

v i i) 配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から200個の間の連続ヌクレオチ

ドを含むヌクレオチド配列を有する、P C R 反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド配列；

v i i i) 配列番号 3 、配列番号 5 、配列番号 7 、配列番号 9 、配列番号 11 、配列番号 13 、配列番号 17 、もしくは配列番号 21 のいずれか一つのヌクレオチド配列より選択される 20 から 200 個の間の連続ヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を有する、P C R 反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド配列；または i x) 配列番号 1 、配列番号 2 、配列番号 15 、配列番号 16 、配列番号 19 、もしくは配列番号 20 のいずれか一つのヌクレオチド配列を有する、P C R 反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド；

の群より選択される手段を用いて、第一の Nicotiana 種または栽培品種から得ることができる D N A 配列をコードする X y 1 T タンパク質のフラグメントを同定すること；

b) 該第一または第二の Nicotiana 種または栽培品種の植物細胞または植物に一つまたは複数の二本鎖 R N A 分子を提供することであって、該二本鎖 R N A 分子が二つの R N A 鎖を含み、一つの R N A 鎖が実質的に、該 X y 1 T タンパク質をコードする D N A フラグメントのヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 から 21 個の連続ヌクレオチドの R N A ヌクレオチド配列からなり、該 20 から 21 個の連続ヌクレオチドが、それぞれ Nicotiana 種もしくは栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードするか、または該 20 から 21 個の連続ヌクレオチドが、それぞれ Nicotiana 種もしくは栽培品種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む、提供；および

c) 該一つまたは複数の二本鎖 R N A 分子を含まない同じ Nicotiana 植物細胞または植物よりも低レベルの -1 , 2 - キシロース残基をタンパク質結合 N - グリカン上有する、該一つまたは複数の二本鎖 R N A 分子を含む Nicotiana 植物細胞または植物を同定すること

の工程を含む方法。

【請求項 25】

一つまたは複数の二本鎖 R N A 分子の提供が、該 X y 1 T タンパク質をコードする D N A フラグメントのヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドの第一のヌクレオチド配列であって、該 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種もしくは栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードするか、または該 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドが、 Nicotiana 種もしくは栽培品種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む第一のヌクレオチド配列、および該第一のヌクレオチド配列の相補体である第二のヌクレオチド配列を含む、一つまたは複数の二本鎖 R N A 分子を、植物細胞または植物に提供することによって達成される、請求項 24 記載の方法。

【請求項 26】

二本鎖 R N A 分子が、植物細胞のゲノムにキメラ D N A を組み込むことによって該植物細胞または植物に提供され、トランスジェニック植物細胞を作製し、場合により該植物細胞を再生してトランスジェニック植物を得る方法であって、該キメラ D N A が、以下の作動可能に連結した D N A フラグメント：

a) 植物発現可能プロモーター；

b) 以下：

i) X y 1 T タンパク質をコードする D N A フラグメントのヌクレオチド配列またはその相補体より選択される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドのヌクレオチド配列を含む第一のセンス D N A 領域であって、該 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドが、それぞれ Nicotiana 種もしくは栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードするか、または該 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドが、それぞれ Nicotiana 種もしくは栽培品種特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む、第一のセンス D N A 領域；

i i) 該第一の D N A 領域の相補体と少なくとも 95% の配列同一性を有する少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドのヌクレオチド配列を含む第二のアンチセンス D N A 領域

を含む転写可能DNA領域であって、

該転写可能領域から転写されたRNA分子が、少なくとも該第一のセンスDNA領域から転写されたRNA領域と、該第二のアンチセンスDNA領域から転写されたRNA領域との間で二本鎖RNA領域を形成することができる転写可能DNA領域；および
c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含むDNA領域を含む、請求項24記載の方法。

【請求項27】

タンパク質結合N-グリカン上に低レベルの-1,2-キシロース残基を有するNicotiana植物を、別のNicotiana植物と交配して、タンパク質結合N-グリカン上に低レベルの-1,2-キシロース残基を有するNicotiana子孫植物を得る工程をさらに含む、請求項1から26のいずれか1項記載の方法。

【請求項28】

Nicotiana XylT DNAフラグメントを同定する方法であって、以下：
a) Nicotiana種または栽培品種から得ることができるゲノムDNAまたはcDNAを提供すること；
b) 以下の群：
i) 配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、DNAフラグメント；
ii) 配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のいずれか一つのヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、DNAフラグメント；
iii) 配列番号4もしくは配列番号6のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から1513個の間の連続ヌクレオチドからなるヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、DNAフラグメントもしくはオリゴヌクレオチド；
iv) 配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から3574個の間の連続ヌクレオチドからなるヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、DNAフラグメントもしくはオリゴヌクレオチド；
v) 配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のいずれか一つのヌクレオチド配列より選択される20から3574個の間の連続ヌクレオチドからなるヌクレオチド配列を含む、プローブとして使用するための、DNAフラグメントもしくはオリゴヌクレオチド；
vi) 配列番号4もしくは配列番号6のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から200個の間の連続ヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を有する、PCR反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド配列；
vii) 配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列より選択される20から200個の間の連続ヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を有する、PCR反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド配列；
viii) 配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のいずれか一つのヌクレオチド配列より選択される20から200個の間の連続ヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を有する、PCR反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド配列；または
ix) 配列番号1、配列番号2、配列番号15、配列番号16、配列番号19、もしくは配列番号20のいずれか一つのヌクレオチド配列を有する、PCR反応におけるプライマーとして使用するための、オリゴヌクレオチド；
から手段を選択すること；
c) 該ゲノムDNAもしくは該cDNA、および該プライマーを用いてPCRを行うことによって、または該ゲノムDNAもしくは該cDNA、および該プローブを用いてハイブ

リダイゼーションを行うことによって、該Nicotiana種または栽培品種から X y 1 T DNA フラグメントを同定することの工程を含む方法。

【請求項 29】

Nicotiana X y 1 T DNA フラグメントを単離する方法であって、以下：
a) 請求項 28 記載の方法により該Nicotiana X y 1 T DNA フラグメントを同定すること、および
b) 該Nicotiana X y 1 T DNA フラグメントを単離することの工程を含む方法。

【請求項 30】

タンパク質結合 N - グリカン上の低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基と相関する Nicotiana X y 1 T アレルを同定する方法であって、以下：

(a) 異なる植物系統の Nicotiana 種または栽培品種の集団、場合により突然変異を誘発された集団を提供すること；
(b) 請求項 28 記載の方法により、該集団の各植物系統において Nicotiana X y 1 T アレルを同定すること；
(c) 該集団の各植物系統のタンパク質結合 N - グリカン上の - 1 , 2 - キシロース残基のレベルを分析し、他の植物系統よりも低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基をタンパク質結合 N - グリカン上有する植物系統を同定すること；
(d) 植物系統におけるタンパク質結合 N - グリカン上の該低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基を、特異的 Nicotiana X y 1 T アレルの存在と相関づけることの工程を含む方法。

【請求項 31】

タンパク質結合 N - グリカン上に低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基を有する Nicotiana 植物細胞または植物を得る方法であって、以下：

a) 請求項 30 記載の方法によりタンパク質結合 N - グリカン上の低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基と相関する Nicotiana X y 1 T アレルを同定すること；および
b) 選択した Nicotiana 植物系統に該 Nicotiana X y 1 T アレルを導入することの工程を含む方法。

【請求項 32】

配列番号 12 もしくは配列番号 14 のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする単離された DNA フラグメント、または Nicotiana benthamiana 特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードするその任意の部分。

【請求項 33】

配列番号 11 、配列番号 13 、もしくは配列番号 21 のヌクレオチド配列を含む、請求項 32 記載の単離された DNA フラグメント、または Nicotiana benthamiana 特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含むその任意の部分。

【請求項 34】

配列番号 4 、配列番号 6 、配列番号 8 、もしくは配列番号 10 のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする単離された DNA フラグメント、または Nicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1 特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードするその任意の部分。

【請求項 35】

配列番号 3 、配列番号 5 、配列番号 7 、配列番号 9 、もしくは配列番号 17 のヌクレオチド配列を含む、請求項 34 記載の単離された DNA フラグメント、または Nicotiana tabacum cv. Petite Havana SR1 特異的 X y 1 T ヌクレオチドを少なくとも一つ含むその任意の部分。

【請求項 36】

Nicotiana 種または Nicotiana 栽培品種特異的 X y 1 T アミノ酸を少なくとも一つコードする、請求項 28 記載の方法により得ることができる単離された DNA フラグメント。

【請求項 37】

Nicotiana種またはNicotiana栽培品種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含む、請求項36記載の単離されたDNAフラグメント。

【請求項38】

以下の作動可能に連結したDNAフラグメント：

- a) 植物発現可能プロモーター；
- b) 以下：

i) Nicotiana Xy1Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードする連續ヌクレオチドか、あるいはNicotiana Xy1T遺伝子もしくはNicotiana Xy1T cDNAのヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含む連續ヌクレオチドを含む、アンチセンス方向の、第一のDNA領域；および
ii) Nicotiana Xy1Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードする連續ヌクレオチドか、あるいはNicotiana Xy1T遺伝子もしくはNicotiana Xy1T cDNAのヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含む連續ヌクレオチドを含む、センス方向の、第二のDNA領域

を含む転写可能DNA領域であって、

該転写可能DNA領域の転写により生成するRNA分子が、少なくとも該第一のDNA領域に対応するRNA領域と、該第二のRNA領域に対応するRNA領域との間で塩基対形成することによって二本鎖RNA領域を形成することができる転写可能DNA領域；および

c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含むDNA領域を含むキメラ遺伝子。

【請求項39】

以下の作動可能に連結したDNAフラグメント：

- a) 植物発現可能プロモーター；

b) Nicotiana Xy1Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードする連續ヌクレオチドか、あるいはNicotiana Xy1T遺伝子もしくはNicotiana Xy1T cDNAのヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含む連續ヌクレオチドを含む、センス方向の、DNA領域；および

c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含むDNA領域を含むキメラ遺伝子。

【請求項40】

以下の作動可能に連結したDNAフラグメント：

- a) 植物発現可能プロモーター；

b) Nicotiana Xy1Tタンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその相補体より選択される20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドであって、該20個のうち19個の連續ヌクレオチドが、Nicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードする連續ヌクレオチドか、あるいはNicotiana Xy1T遺伝子もしくはNicotiana Xy1T cDNAのヌクレオチド配列またはその相補体より選択

される 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドであって、該 20 個のうち 19 個の連続ヌクレオチドが、*Nicotiana* 種特異的 Xy1T ヌクレオチドを少なくとも一つ含む連続ヌクレオチドを含む、アンチセンス方向の、DNA 領域；および c) 植物において機能する転写終結ポリアデニル化シグナルを含む DNA 領域を含むキメラ遺伝子。

【請求項 4 1】

Nicotiana 種特異的 Xy1T アミノ酸が、*Nicotiana benthamiana* 特異的 Xy1T アミノ酸である、請求項 38 ~ 40 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 2】

Nicotiana Xy1T タンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号 12 または配列番号 14 のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 38 ~ 41 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 3】

Nicotiana 種特異的 Xy1T ヌクレオチドが *Nicotiana benthamiana* 特異的 Xy1T ヌクレオチドである、請求項 38 ~ 42 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 4】

Nicotiana Xy1T 遺伝子のヌクレオチド配列が、配列番号 11、配列番号 13、または配列番号 21 のヌクレオチド配列を含む、請求項 38 ~ 43 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 5】

Nicotiana 栽培品種特異的 Xy1T アミノ酸が、*Nicotiana tabacum* cv. Petite Havana SR1 特異的 Xy1T アミノ酸である、請求項 38 ~ 40 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 6】

Nicotiana Xy1T タンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、または配列番号 10 のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 38 ~ 40、または 45 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 7】

Nicotiana 栽培品種特異的 Xy1T ヌクレオチドが、*Nicotiana tabacum* cv. Petite Havana SR1 特異的 Xy1T ヌクレオチドである、請求項 38 ~ 40、45、または 46 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 8】

Nicotiana Xy1T 遺伝子または *Nicotiana* Xy1T cDNA のヌクレオチド配列が、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 8、配列番号 10、または配列番号 17 のヌクレオチド配列を含む、請求項 38 ~ 40 または 45 ~ 47 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子。

【請求項 4 9】

請求項 38 ~ 48 のいずれか 1 項記載のキメラ遺伝子を含む、*Nicotiana* 植物細胞。

【請求項 5 0】

請求項 49 記載の *Nicotiana* 植物細胞から実質的になる *Nicotiana* 植物。

【請求項 5 1】

請求項 31 記載の方法により得られる *Nicotiana* 植物細胞または植物。

【請求項 5 2】

請求項 50 または請求項 51 記載の *Nicotiana* 植物の種子。

【請求項 5 3】

Nicotiana 植物におけるタンパク質結合 N - グリカン上の -1, 2 - キシロース残基のレベルを減少させるための、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 10、配列番号 12、もしくは配列番号 14 のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードするヌクレオチド配列の、または *Nicotiana* 種もしくは栽培品種特異的 Xy1T アミノ酸を少なくとも一つコードする 20 個のうち少なくとも 19 個の連続ヌクレオチドを含む、その任意の

部分の使用。

【請求項 5 4】

Nicotiana植物におけるタンパク質結合N-グリカン上の - 1 , 2 - キシロース残基のレベルを減少させるための、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含む20個のうち少なくとも19個の連續ヌクレオチドを含むその任意の部分の使用。

【請求項 5 5】

Nicotiana種または栽培品種におけるXy1T遺伝子またはXy1T cDNAを同定するための、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードするヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードするその任意の部分の使用。

【請求項 5 6】

Nicotiana種または栽培品種におけるXy1T遺伝子またはXy1T cDNAを同定するための、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含むその任意の部分の使用。

【請求項 5 7】

Nicotiana種または栽培品種におけるタンパク質結合N-グリカン上の低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基と関連するXy1T遺伝子のアレルを同定するための、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードするヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードするその任意の部分の使用。

【請求項 5 8】

Nicotiana種または栽培品種におけるタンパク質結合N-グリカン上の低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基と関連するXy1T遺伝子のアレルを同定するための、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含むその任意の部分の使用。

【請求項 5 9】

Nicotiana種または栽培品種におけるタンパク質結合N-グリカン上の低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基に関連するXy1T遺伝子のアレルを導入するための、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、もしくは配列番号14のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードするヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tアミノ酸を少なくとも一つコードするその任意の部分の使用。

【請求項 6 0】

Nicotiana種または栽培品種におけるタンパク質結合N-グリカン上の低レベルの - 1 , 2 - キシロース残基に関連するXy1T遺伝子のアレルを導入するための、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号17、もしくは配列番号21のヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列の、またはNicotiana種もしくは栽培品種特異的Xy1Tヌクレオチドを少なくとも一つ含むその任意の部分の使用。