

【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20年6月19日(2008.6.19)

【公表番号】特表2004-500886(P2004-500886A)

【公表日】平成16年1月15日(2004.1.15)

【年通号数】公開・登録公報2004-002

【出願番号】特願2002-504658(P2002-504658)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 9/20 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 H 5/00 A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 9/20

C 1 2 N 5/00 C

【手続補正書】

【提出日】平成20年4月24日(2008.4.24)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) (i) 配列番号19のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするDNA分子；

(ii) 配列番号18のコード配列を有するDNA分子；

(iii) 上記(i)又は(ii)のDNA分子と、低い緊縮条件下でハイブリダイズするDNA分子；及び

(iv) 上記(i)又は(ii)のDNA分子のフラグメント、から成る群から選択された、老化-誘導されるリパーゼをコードするDNA分子；

(b) 前記DNA分子が、形質転換された植物細胞において発現されるように、前記DNA分子に作用可能に結合された調節配列を含んで成るが、但し配列番号2又は4のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしないことを特徴とするDNA分子。

【請求項2】 (a) (1) 請求項1記載のDNA分子の1つの鎖の対応する部分、又は(2) 前記DNA分子によりコードされるRNA配列の対応する部分に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(b) 前記アンチセンスヌクレオチド配列が、形質転換された植物細胞において発現されるよう、アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成る、植物細胞の形質転換のためのベクターであって、但し、前記DNA分子が配列番号2又は4のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしない、ことを特徴とするベクター。

【請求項3】 前記調節配列が、プロモーターを含んで成る請求項2記載のベクター。

【請求項4】 前記調節配列が、構成的又は誘導的プロモーターを含んで成る請求項

3 記載のベクター。

【請求項 5】 前記調節配列が、植物組織 - 特異的プロモーターを含んで成る請求項 3 又は 4 記載のベクター。

【請求項 6】 前記調節配列が、老化 - 誘発される植物プロモーターを含んで成る請求項 3 ~ 5 のいずれか 1 項記載のベクター。

【請求項 7】 前記調節配列が、ウィルスプロモーターを含んで成る請求項 3 又は 4 記載のベクター。

【請求項 8】 前記調節配列が、転写終結領域を含んで成る請求項 2 ~ 7 のいずれか 1 項記載のベクター。

【請求項 9】 請求項 1 記載の DNA 分子の RNA 転写体の対応する部分に対して実質的に相補的である RNA 分子をコードするアンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって、前記分子が、配列番号 18 に対して少なくとも 90% の配列類似性を有し、そして植物細胞における前記 DNA 分子によりコードされる老化 - 誘発されるリパーゼの量を低めることができ；但し前記 DNA 分子が配列番号 2 又は 4 のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしないことを特徴とする、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 10】 前記オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドが、約 6 ~ 約 100 個のヌクレオチドを含んで成る請求項 9 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 11】 前記 DNA 分子が、アラビドプシス (*Arabidopsis*) 遺伝子、トマト遺伝子又はインゲンマメ遺伝子である請求項 9 又は 10 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 12】 前記アンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドが、前記 RNA 転写体の 5' 非コード領域の対応する部分に対して実質的に相補的である請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド。

【請求項 13】 請求項 2 ~ 8 のいずれか 1 項記載のベクターにより形質転換された細菌細胞。

【請求項 14】 請求項 2 ~ 8 のいずれか 1 項記載のベクターにより形質転換された植物細胞。

【請求項 15】 前記ベクターを含んで成る、請求項 14 記載の植物細胞から生成される植物、植物部分又はその植物子孫。

【請求項 16】 請求項 14 記載の植物細胞を含んで成る請求項 15 記載の植物、植物部分又は植物子孫。

【請求項 17】 植物における内因性老化 - 誘導されるリパーゼの発現を阻害するための方法であって、

(1) (A) (i) 内因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードする、請求項 1 記載の DNA 分子の 1 つの鎖の対応する部分、又は (ii) 前記 DNA 分子によりコードされる RNA 配列の対応する部分に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(B) 前記アンチセンスヌクレオチド配列が発現されるように、アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、植物のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記アンチセンスヌクレオチド配列が転写され、そして前記 RNA 配列に結合し、それにより前記老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子の発現が阻害されることを含んで成るが、但し前記 DNA 分子が配列番号 2 又は 4 のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしない、ことを特徴とする方法。

【請求項 18】 前記アンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドが実質的に相補的である、前記 DNA のその対応する部分又は前記 RNA のその対応する部分が、5' - 非コード配列を含んで成る請求項 17 記載の方法。

【請求項 19】 前記阻害が、植物の変更された老化をもたらす請求項 17 又は 18 記載の方法。

【請求項20】 前記阻害が、環境ストレス誘発される老化に対する前記植物の高められた耐性をもたらす請求項17～19のいずれか1項記載の方法。

【請求項21】 前記阻害が、前記植物の増強されたバイオマスをもたらす請求項17～20のいずれか1項記載の方法。

【請求項22】 前記阻害が、前記植物における高められた種子収率をもたらす請求項17～21のいずれか1項記載の方法。

【請求項23】 前記調節配列が、前記植物において活性な構成プロモーターを含んで成る請求項17～22のいずれか1項記載の方法。

【請求項24】 前記調節配列が、二重35Sプロモーターを含んで成る請求項17～23のいずれか1項記載の方法。

【請求項25】 前記調節配列が、前記植物において活性な組織特異的プロモーターを含んで成る請求項17～23のいずれか1項記載の方法。

【請求項26】 前記調節配列が、前記植物において活性な老化 - 誘導されるプロモーターを含んで成る請求項17～22及び25のいずれか1項記載の方法。

【請求項27】 前記植物が、結実植物、顕花植物、野菜、農作物及び森林種から成る群から選択される請求項17～26のいずれか1項記載の方法。

【請求項28】 前記植物がトマトである請求項27記載の方法。

【請求項29】 植物細胞における内因性老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子の発現を阻害するための方法であって、

(1) (A) 外因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードする、請求項1記載のDNA分子；及び

(B) それによりコードされる前記外因性老化 - 誘導されるリパーゼが発現されるように、前記DNA分子に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、前記植物の少なくとも1つの細胞のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記DNA分子が過剰発現され、そして前記内因性老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子が外因性老化 - 誘導されるリパーゼにより阻害されることを含んで成るが、但し前記DNA分子が配列番号2又は4のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしないことを特徴とする方法。

【請求項30】 前記調節配列が、構成的プロモーターを含んで成る請求項29記載の方法。

【請求項31】 植物における年齢 - 関連の老化及び環境ストレス - 関連の老化を変更するための方法であって、

(1) (A) (i) 内因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードする、請求項1記載のDNA分子の1つの鎖の対応する部分、又は(ii) 前記DNA分子によりコードされるRNA配列の少なくとも一部に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(B) 前記アンチセンスヌクレオチド配列が発現されるように、アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、植物のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記アンチセンスヌクレオチド配列が転写され、そして前記RNA配列に結合し、それにより前記老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子の発現が阻害されることを含んで成るが、但し前記DNA分子が配列番号2又は4のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしないことを特徴とする方法。

【請求項32】 原核宿主において機能的な複製系、及び請求項9～12のいずれか1項記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドを含んで成るプラスミド。

【請求項33】 前記複製系が、アグロバクテリウム (Agrobacterium) において機能的である請求項32記載のプラスミド。

【請求項34】 請求項2～8のいずれか1項記載のベクターを含んで成る、老化 - 誘導されるリパーゼの阻害された又は低められた発現を有する細胞に由来する、前記ベクターを含んで成る植物又はその子孫。

【請求項35】 老化 - 誘導されたりパーゼの阻害された又は低められた発現を有する細胞に由来する、植物又はその子孫であって、前記細胞が、

(1)(A)(i) 内因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードする、請求項1記載のDNA分子の1つの鎖の対応する部分、又は(ii)前記DNA分子によりコードされるRNA配列の対応する部分に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(B) 前記アンチセンスヌクレオチド配列が発現されるように、アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、前記細胞のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記アンチセンスヌクレオチド配列が転写され、そして前記RNA配列に結合し、それにより前記老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子の発現が阻害されることにより生成され、そして前記植物又はその子孫が前記ベクターを含んで成り；但し前記DNA分子が配列番号2又は4のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしない、ことを特徴とする植物又はその子孫。

【請求項36】 前記植物トマトである請求項34又は35記載の植物又はその子孫。

【請求項37】 種子の老化を阻害するための方法であって、

(1)(A)(i) 内因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードする、請求項1記載のDNA分子の1つの鎖の対応する部分、又は(ii)前記DNA分子によりコードされるRNA配列の対応する部分に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(B) アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、植物のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記アンチセンスヌクレオチド配列が転写され、そして前記RNA配列に結合し、そして前記エイジング - 誘導されたりパーゼ遺伝子の発現が阻害されるが、但し前記DNA分子が配列番号2又は4のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードしないことを特徴とする方法。

【請求項38】 植物からの種子の収率を高めるための方法であって、

(1)(A)(i) 内因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードするDNA分子の1つの鎖の対応する部分；前記DNA分子は、

(a) 配列番号19のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードするDNA分子；

(b) 配列番号18のコード配列を含んで成るDNA分子；

(c) 又は(b)のDNA分子と、低い緊縮条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含んで成るDNA分子；

(d) 上記(a)又は(b)のDNA分子のフラグメントを含んで成るDNA分子；

(e) 上記(a)又は(b)のDNA分子と少なくとも70%同一であるヌクレオチド配列を含んで成るDNA分子；及び

(f) 上記(a)又は(b)のDNA分子によりコードされるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードするDNA分子、から成る群から選択される；又は

(ii) 前記DNA分子によりコードされるRNA配列の対応する部分に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(B) アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、植物のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記アンチセンスヌクレオチド配列が転写され、そして前記RNA配列に結合し、そして前記老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子の発現が阻害される、ことを特徴とする方法。

【請求項39】 植物のバイオマスを増強するための方法であって、

(1)(A)(i) 内因性老化 - 誘導されるリパーゼをコードするDNA分子の1つの鎖の対応する部分；前記DNA分子は、

(a) 配列番号19のアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードするDNA分子；

(b) 配列番号18のコード配列を含んで成るDNA分子；

(c) 上記(a)又は(b)のDNA分子と、低い緊縮条件下でハイブリダイズするヌ

クレオチド配列を含んで成るDNA分子；

(d) 上記(a)又は(b)のDNA分子のフラグメントを含んで成るDNA分子；

(e) 上記(a)又は(b)のDNA分子と少なくとも70%同一であるヌクレオチド配列を含んで成るDNA分子；及び

(f) 上記(a)又は(b)のDNA分子によりコードされるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含んで成るポリペプチドをコードするDNA分子、から成る群から選択される；又は

(ii) 前記DNA分子によりコードされるRNA配列の対応する部分に対して実質的に相補的なアンチセンスヌクレオチド配列；及び

(B) アンチセンスヌクレオチド配列に作用可能に結合された調節配列を含んで成るベクターを、植物のゲノム中に組み込み；そして

(2) 前記植物を成長せしめ、それにより前記アンチセンスヌクレオチド配列が転写され、そして前記RNA配列に結合し、そして前記老化 - 誘導されるリパーゼ遺伝子の発現が阻害されることを特徴とする方法。