

【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】令和 1 年 9 月 26 日 (2019.9.26)

【公表番号】特表 2018-523480 (P2018-523480A)

【公表日】平成 30 年 8 月 23 日 (2018.8.23)

【年通号数】公開・登録公報 2018-032

【出願番号】特願 2018-508708 (P2018-508708)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/82 (2006.01)

C 1 2 N 9/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2018.01)

A 0 1 H 5/10 (2018.01)

A 0 1 H 6/46 (2018.01)

A 0 1 H 6/54 (2018.01)

A 0 1 H 6/60 (2018.01)

A 0 1 H 6/20 (2018.01)

A 0 1 H 6/34 (2018.01)

A 0 1 H 6/82 (2018.01)

C 1 2 N 15/52 (2006.01)

C 1 2 N 5/04 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/62

C 1 2 N 15/82 Z

C 1 2 N 9/00

C 1 2 N 5/10

A 0 1 H 5/00 A

A 0 1 H 5/10

A 0 1 H 6/46

A 0 1 H 6/54

A 0 1 H 6/60

A 0 1 H 6/20

A 0 1 H 6/34

A 0 1 H 6/82

C 1 2 N 15/52 Z N A

C 1 2 N 5/04

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 8 月 16 日 (2019.8.16)

【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】

配列番号 1、配列番号 2 及び配列番号 6 のうちの 1 つのアミノ酸配列を有する長さ 73 アミノ酸未満のペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、対象とするヌクレオチド

コード配列に対してインフレームで操作可能に連結されている、キメラ核酸分子。

【請求項 2】

前記対象とするヌクレオチドコード配列は、d s m-2 コード配列、d g t-28 コード配列、B t トキシン遺伝子コード配列、y f p コード配列又は g f p コード配列である、請求項 1 記載のキメラ核酸分子。

【請求項 3】

前記ペプチドをコードする前記ヌクレオチド配列が、配列番号 9、配列番号 10 及び配列番号 14 のうちの 1 つである、請求項 1 記載のキメラ核酸分子。

【請求項 4】

前記ヌクレオチド配列が、1 つ又は複数の調節配列と作動可能に連結されている、請求項 1 記載のキメラ核酸分子。

【請求項 5】

請求項 1 記載の核酸分子によってコードされたポリペプチド。

【請求項 6】

前記対象とするヌクレオチドコード配列が生物活性ペプチドをコードするものであり、前記生物活性ペプチドが除草剤抵抗性、ウイルス抵抗性、病原性微生物抵抗性、昆虫抵抗性、線虫抵抗性、カビ抵抗性、草勢、植物収穫量、温度耐性、土壌状態耐性、低光量耐性、低水量耐性、高水量耐性、化学的環境耐性、種子色、デンプン変性、アミノ酸合成、光合成、脂肪酸合成、油脂合成、カロテノイド合成、テルペノイド合成、デンプン合成、及び除草剤抵抗性からなる群から選択されるプロセスに關与する、請求項 5 記載のポリペプチド。

【請求項 7】

前記生物活性ペプチドは、アセトラクターゼシンターゼ (A L S)、変異型 A L S、A L S 前駆体、3-エノールピルビルシキミ酸-5-リン酸シンターゼ (E P S P S)、D G T-28 E P S P S、C P 4 E P S P S、クラス I V E P S P S 及びクラス I I E P S P S からなる群から選択される、請求項 6 記載のポリペプチド。

【請求項 8】

請求項 4 に記載の核酸分子を含有する植物発現ベクター。

【請求項 9】

トランスジェニック植物材料を作製する方法であって、
請求項 1 のキメラ核酸分子を得ることと、
再生して植物を生成することができない植物細胞である植物材料を、前記核酸分子で形質転換することと
を含む、方法。

【請求項 10】

対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結された、配列番号 9、配列番号 10 又は配列番号 14 のヌクレオチド配列を含む核酸分子を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、昆虫抵抗性植物又は除草剤抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0187

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0187】

表 2 ある範囲の出芽後散布グリホサート量に応答する、d g t-28 で形質転換した T₁ アラビドプシス (Arabidopsis) の非形質転換対照との比較。視認できる損傷のパーセンテージ (%) を、グリホサート散布後 14 日間記録した。

【表 2】

TraP26:: dgt-28 (pDAB114286)	損傷範囲%(複製数)			損傷分析%		
散布量	<20%	20-40%	>40%	平均	標準偏差:	範囲(%)
グリホサート 0 g ae/ha	4	0	0	0.0	0.0	0
グリホサート 420 g ae/ha	4	0	0	0.0	0.0	0
グリホサート 840 g ae/ha	4	0	0	0.0	0.0	0
グリホサート 1680 g ae/ha	4	0	0	10.0	0.0	10
グリホサート 3360 g ae/ha	3	1	0	16.3	2.5	15-20
TraP27:: dgt-28 (pDAB114287)	損傷範囲%(複製数)			損傷分析%		
散布量	<20%	20-40%	>40%	平均	標準偏差:	範囲(%)
グリホサート 0 g ae/ha	4	0	0	0.0	0.0	0
グリホサート 420 g ae/ha	3	1	0	19.0	8.2	10-30
グリホサート 840 g ae/ha	3	1	0	15.8	4.3	10-20
グリホサート 1680 g ae/ha	1	3	0	18.8	2.5	15-20
グリホサート 3360 g ae/ha	0	4	0	25.0	0.0	25
WT(非形質転換対照)	損傷範囲%(複製数)			損傷分析%		
散布量	<20%	20-40%	>40%	平均	標準偏差:	範囲(%)
グリホサート 0 g ae/ha	4	0	0	0.0	0.0	0
グリホサート 420 g ae/ha	0	0	4	100.0	0.0	100
グリホサート 840 g ae/ha	0	0	4	100.0	0.0	100
グリホサート 1680 g ae/ha	0	0	4	100.0	0.0	100
グリホサート 3360 g ae/ha	0	0	4	100.0	0.0	100

本出願に係る発明の例として以下のものが挙げられる。

【1】 長さ73アミノ酸未満のペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、配列番号1、配列番号2及び配列番号6のうちの1つと少なくとも80%同一である前記ペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結されている、キメラ核酸分子。

【2】 前記ペプチドが配列番号1と少なくとも95%同一である、【1】記載のキメラ核酸分子。

【3】 前記ペプチドが配列番号2と少なくとも95%同一である、【1】記載のキメラ核酸分子。

[4] 前記ペプチドが、配列番号6と少なくとも95%同一である、[1]記載のキメラ核酸分子。

[5] 前記ペプチドが、配列番号1である、[1]記載のキメラ核酸分子。

[6] 前記ペプチドが、配列番号2である、[1]記載のキメラ核酸分子。

[7] 前記ペプチドが、配列番号6である、[1]記載のキメラ核酸分子。

[8] 前記対象とするヌクレオチドコード配列は、d s m-2コード配列、d g t-28コード配列、B t トキシシン遺伝子コード配列、y f pコード配列又はg f pコード配列である、[1]記載のキメラ核酸分子。

[9] 前記ペプチドをコードする前記ヌクレオチド配列が、配列番号9、配列番号10及び配列番号14のうちの1つに、特異的にハイブリダイズ可能である、[1]記載のキメラ核酸分子。

[10] 前記ヌクレオチド配列が、1つ又は複数の調節配列と作動可能に連結されている、[1]記載のキメラ核酸分子。

[11] [1]記載の核酸分子によってコードされたポリペプチド。

[12] 色素体含有細胞中の色素体に対して標的化された、[11]記載のポリペプチド。

[13] 前記色素体に対して標的化されたときに除去される葉緑体輸送ペプチドを含む、[12]記載のポリペプチド。

[14] 前記葉緑体輸送ペプチドが除去されたときに残る葉緑体標的化ペプチドを含むものであって、前記葉緑体標的化ペプチドは、前記対象とするヌクレオチドコード配列によってコードされる、[13]記載のポリペプチド。

[15] 前記対象とするヌクレオチドコード配列が生物活性ペプチドをコードする、[11]記載のポリペプチド。

[16] 前記対象とするヌクレオチドコード配列が蛍光ペプチドをコードする、[11]記載のポリペプチド。

[17] 前記生物活性ペプチドが酵素である、[15]記載のポリペプチド。

[18] 前記生物活性ペプチドは、該ペプチドが天然で発現されている細胞の色素体中で正常に発現されている、[15]記載のポリペプチド。

[19] 前記生物活性ペプチドは、除草剤抵抗性、ウイルス抵抗性、病原性微生物抵抗性、昆虫抵抗性、線虫抵抗性、カビ抵抗性、草勢、植物収穫量、温度耐性、土壤状態耐性、低光量耐性、低水量耐性、高水量耐性、化学的環境耐性、種子色、デンプン変性、アミノ酸合成、光合成、脂肪酸合成、油脂合成、カロテノイド合成、テルペノイド合成、デンプン合成、除草剤抵抗性からなる群から選択されるプロセスに参与する、[15]記載のポリペプチド。

[20] 前記生物活性ペプチドは、ゼアキサンチンエポキシダーゼ、コリンモノオキシゲナーゼ、フェロケラターゼ、 ω 3脂肪酸デサチュラーゼ、グルタミンシンセターゼ、プロビタミンA、ホルモン、B t トキシシタンパク質、及び対象とする形質を含む植物を特定するのに有用なマーカーからなる群から選択される、[15]記載のポリペプチド。

[21] 前記生物活性ペプチドが除草剤抵抗性に参与している、[19]記載のポリペプチド。

[22] 前記生物活性ペプチドは、アセトラクターゼシンターゼ (A L S)、変異型 A L S、A L S 前駆体、3-エノールピルビルシキミ酸-5-リン酸シンターゼ (E P S P S)、D G T-28 E P S P S、C P 4 E P S P S、クラス I V E P S P S 及びクラス I I I E P S P S からなる群から選択される、[21]記載のポリペプチド。

[23] 前記生物活性ペプチドが昆虫抵抗性に参与している、[19]記載のポリペプチド。

[24] [10]に記載の核酸分子を含有する植物発現ベクター。

[25] [1]に記載のキメラ核酸分子を含有する植物材料。

[26] 前記植物材料が、植物細胞、植物組織、植物組織培養物、カルス培養物、植物の一部及び植物全体からなる群から選択される、[25]記載の植物材料。

[27] 前記ペプチドを含むポリペプチドをさらに含む、[26]記載の植物材料。

[28] 前記対象とするヌクレオチドコード配列は、前記植物材料の細胞中の色素体に対して標的化された前記ポリペプチドの一部をコードしている、[27]記載の植物材料。

[29] 前記核酸分子が前記植物材料からの細胞のゲノムに安定的に組み込まれている、[25]記載の植物材料。

[30] 前記植物材料が植物全体である、[25]記載の植物材料。

[31] 前記植物材料は、アラビドプシス(Arabidopsis)、アルファルファ、アブラナ属(Brassica)、豆類、ブロッコリー、キャベツ、ニンジン、カリフラワー、セロリ、ハクサイ、綿花、キュウリ、ナス、レタス、メロン、エンドウ、コショウ、ピーナッツ、ジャガイモ、カボチャ(pumpkin)、ダイコン、ナタネ、ハウレンソウ、ダイズ、カボチャ(squash)、テンサイ、ヒマワリ、タバコ、トマト、スイカ、コーン、タマネギ、イネ、ソルガム、小麦、ライ麦、キビ、サトウキビ、燕麦、ライ小麦、スイッチグラス及び芝草からなる群から選択される植物由来のものである、[25]記載の植物材料。

[32] トランスジェニック植物材料を作製する方法であって、
[1]のキメラ核酸分子を得ることと、

該核酸分子で植物材料を形質転換することを含む、方法。

[33] 前記植物材料が、植物細胞、植物組織、植物組織培養物、カルス培養物、植物の一部および植物全体からなる群から選択される、[32]記載の方法。

[34] 前記植物材料が植物全体でない、[33]記載の方法。

[35] [32]記載の方法により作製される、トランスジェニック植物材料。

[36] [34]記載の方法により作製される、トランスジェニック植物材料。

[37] [36]記載の植物材料より再生される、トランスジェニック植物。

[38] [35]記載の植物材料より作製される、トランスジェニック植物商品生産物。

[39] 前記対象とするヌクレオチドコード配列が生物活性ペプチドをコードする、[35]記載のトランスジェニック植物材料。

[40] 前記生物活性ペプチドは、除草剤抵抗性、ウイルス抵抗性、病原性微生物抵抗性、昆虫抵抗性、線虫抵抗性、カビ抵抗性、草勢、植物収穫量、温度耐性、土壌状態耐性、低光量耐性、低水量耐性、高水量耐性、化学的環境耐性、種子色、デンプン変性、アミノ酸合成、光合成、脂肪酸合成、油脂合成、カロテノイド合成、テルペノイド合成、デンプン合成、除草剤抵抗性からなる群から選択されるプロセスに参与する、[39]記載のトランスジェニック植物材料。

[41] 前記生物活性ペプチドは、ゼアキサンチンエポキシダーゼ、コリンモノオキシゲナーゼ、フェロケラターゼ、 ω 3脂肪酸デサチュラーゼ、グルタミンシンセターゼ、プロビタミンA、ホルモン、B7トキシタンパク質及び対象とする形質を含む植物を特定するのに有用なマーカーからなる群から選択される、[39]記載のトランスジェニック植物材料。

[42] 前記生物活性ペプチドが除草剤抵抗性に参与する、[40]記載のトランスジェニック植物材料。

[43] 前記生物活性ペプチドは、アセトラクターゼシンターゼ(ALS)、変異型ALS、ALS前駆体、3-エノールピルビルシキミ酸-5-リン酸シンターゼ(EPSPS)、CP4-EPSPS及びクラスII-EPSPSからなる群から選択される、[42]記載のトランスジェニック植物材料。

[44] 前記植物材料は、同じ種の野生型植物材料と比較した場合に、高い除草剤抵抗性又は除草剤耐性を示す、[42]記載のトランスジェニック植物材料。

[45] 前記生物活性ペプチドが除草剤抵抗性に参与する、[40]記載のトランスジェニック植物材料。

[46] 前記植物材料が、再生して植物を生成できない植物細胞である、[26]記載の植物材料。

[47] 前記植物材料が、再生して植物を生成できない植物細胞である、[32]記載の植物材料。

[48] 対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結され

た配列番号 9 を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、昆虫抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

[4 9] 対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結された配列番号 9 を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、昆虫抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

[5 0] 前記トランスジェニック植物種子は、トウモロコシ、大豆及び綿花からなる群から選択される植物由来であることを特徴とする、[4 8]又は[4 9]に記載の使用。

[5 1] 対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結された配列番号 1 0 を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、昆虫抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

[5 2] 対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結された配列番号 1 0 を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、除草剤抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

[5 3] 前記トランスジェニック植物種子が、トウモロコシ、大豆及び綿花からなる群から選択される植物由来であることを特徴とする、[5 1]又は[5 2]に記載の使用。

[5 4] 対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結された配列番号 1 4 を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、昆虫抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

[5 5] 対象とするヌクレオチドコード配列に対してインフレームで操作可能に連結された配列番号 1 4 を含むトランスジェニック植物種子の使用であって、除草剤抵抗性植物の圃場を配置することを特徴とする、使用。

[5 6] 前記トランスジェニック植物種子が、トウモロコシ、大豆及び綿花からなる群から選択される植物からのものであることを特徴とする、[5 4]又は[5 5]に記載の使用。