

【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 11 月 14 日 (2019.11.14)

【公表番号】特表 2018-530323 (P2018-530323A)

【公表日】平成 30 年 10 月 18 日 (2018.10.18)

【年通号数】公開・登録公報 2018-040

【出願番号】特願 2018-515803 (P2018-515803)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/29 (2006.01)

C 0 7 K 14/415 (2006.01)

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/82 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2018.01)

A 0 1 H 5/10 (2018.01)

A 0 1 H 1/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/29

C 0 7 K 14/415 Z N A

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/82 Z

A 0 1 H 5/00 A

A 0 1 H 5/10

A 0 1 H 1/02 Z

C 1 2 N 5/10

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 10 月 2 日 (2019.10.2)

【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】

機能喪失型変異を含む、植物起源の M s i 2 タンパク質であって、  
好ましくは、前記変異が、W D 4 0 リピート及び / 又は C A F 1 C ドメイン中に存在する、M s i 2 タンパク質。

【請求項 2】

機能喪失型変異を有する、植物 M s i 2 タンパク質をコードするポリヌクレオチドによりコードされ、前記タンパク質は、その内在性 M s i 2 タンパク質の非存在下で植物中に存在する場合、前記植物が野生型植物と交配されるときに、いくつかの半数体後代又は異常な倍数性を有する後代の生成を可能とする、請求項 1 に記載の M s i 2 タンパク質。

【請求項 3】

配列番号 1、2、3 若しくは 10 のアミノ酸配列、又は配列番号 1、2、3 若しくは 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性を有するその変異体を含むポリペプチドに由来し、前記タンパク質は、機能喪失型変異を有する、植物 M s i 2 タンパク質をコードするポリヌクレオチドによりコードされ、前記タンパク質は、その内在性 M s i 2 タンパク質の非存在下で植物中に存在する場合、前記植物が野生型植物と交配される

ときに、いくつかの半数体後代又は異常な倍数性を有する後代の生成を可能とする、請求項 1 又は 2 に記載の M s i 2 タンパク質。

【請求項 4】

前記機能喪失型変異が、前記タンパク質の切断を引き起こす未成熟な終止コドンを導入し、好ましくは、配列番号 2、3 若しくは 10 の 1 2 5 位のアミノ酸残基の後で、又は配列番号 1 の 1 2 3 位のアミノ酸残基の後で、前記タンパク質が切断されている、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の M s i 2 タンパク質。

【請求項 5】

配列番号 6 のアミノ酸配列からなるか、又は配列番号 4 若しくは 9 の核酸配列を含む核酸分子によりコードされている、M s i 2 タンパク質。

【請求項 6】

M s i 2 遺伝子を含む核酸分子であって、前記 M s i 2 遺伝子が、配列番号 5、7 若しくは 8 の核酸配列、又は配列番号 5、7 若しくは 8 の核酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性を有するその変異体を含み、前記遺伝子が機能喪失型変異を含む、核酸分子。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の M s i 2 タンパク質をコードする核酸分子であって、

好ましくは、前記核酸分子が、配列番号 5、7 若しくは 8 の核酸配列、又は配列番号 5、7 若しくは 8 の核酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性を有するその変異体を含み、

配列番号 5、7 若しくは 8 の核酸配列の 1 つ又は複数のヌクレオチドが、機能喪失型変異を有する M s i 2 タンパク質をコードするか、又は

1 つ又は複数のヌクレオチドが、未成熟の終止コドンが導入され、前記核酸分子が切断型 M s i 2 タンパク質をコードするように修飾されており、

好ましくは、配列番号 5 若しくは 7 の核酸配列の 3 7 6、3 7 7 及び / 若しくは 3 7 8 位における 1 つ又は複数のヌクレオチド、又は配列番号 8 の核酸配列の 6 8 5、6 8 6 及び / 若しくは 6 8 7 位における 1 つ又は複数のヌクレオチドが、終止コドンが導入され、前記核酸分子が、配列番号 2 又は 3 の 1 2 5 位に対応するアミノ酸残基の後で切断されているアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするように修飾されている、核酸分子。

【請求項 8】

配列番号 4 又は 9 の核酸配列を含む、核酸分子。

【請求項 9】

請求項 7 又は 8 に記載の核酸分子を含む、キメラ遺伝子又はベクター。

【請求項 10】

請求項 7 若しくは 8 に記載の核酸分子、請求項 9 に記載のキメラ遺伝子若しくはベクターを含み、好ましくは、植物細胞であり、好ましくは、トマト植物細胞である、宿主細胞。

【請求項 11】

内在性 M s i 2 タンパク質の発現が低減又はノックアウトされており、

好ましくは、請求項 7 若しくは 8 に記載の核酸分子、請求項 9 に記載のキメラ遺伝子若しくはベクターを含み、

好ましくは、ナス属植物、種子若しくは植物細胞、より好ましくはトマト植物、種子若しくは植物細胞である、植物、種子又は植物細胞。

【請求項 12】

請求項 11 に記載の植物、種子又は植物細胞を作製するための方法であって、

a) 植物内の内在性 M s i 2 遺伝子を改変して、変異した、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の M s i 2 タンパク質をコードする M s i 2 遺伝子を得るか、又は植物細胞内の内在性 M s i 2 タンパク質の発現をノックアウト若しくは低減させるために、植物細胞内の内在性 M s i 2 遺伝子を改変するステップと；

b) 変異した M s i 2 遺伝子を含む植物細胞、又は前記内在性 M s i 2 タンパク質の発現がノックアウト又は低減されている植物細胞を選択するステップと；

c) 任意選択で、前記植物細胞から植物を再生するステップとを含む、方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 に記載の植物、種子又は植物細胞を作製するための方法であって、

a) 請求項 7 若しくは 8 に記載の核酸分子、請求項 9 に記載のキメラ遺伝子若しくはベクターを使用して植物細胞を形質転換するか、又は内在性 M s i 2 タンパク質の発現をノックアウト又は低減させるために、核酸分子を使用して植物細胞を形質転換するステップと；

b) 任意選択で、前記植物細胞内の内在性 M s i 2 タンパク質の発現をノックアウト又は低減させるために、追加的に植物細胞内の内在性 M s i 2 遺伝子を改変するステップと；

c) 請求項 7 若しくは 8 に記載の核酸分子、請求項 9 に記載のキメラ遺伝子若しくはベクターを含む植物細胞、及び / 又は内在性 M s i 2 タンパク質の発現がノックアウト若しくは低減されている植物細胞を選択するステップと；

d) 任意選択で、前記植物細胞から植物を再生するステップとを含む、方法。

【請求項 1 4】

半数体植物、異常な倍数性を有する植物、又は倍加半数体植物を生成する方法であって、

a) 内在性 M s i 2 タンパク質を発現する植物を請求項 1 1 に記載の植物に交配するステップであって、請求項 1 1 に記載の植物は、少なくともその生殖部分において及び / 又は胚発生の間は内在性 M s i 2 タンパク質の発現を欠く、ステップと；

b) 種子を収集するステップと；

c) 前記種子から、少なくとも 1 つの実生、小植物又は植物を生育させるステップと；

d) 半数体の実生、小植物若しくは植物、異常な倍数性を有する実生、小植物若しくは植物、又は倍加半数体の実生、小植物若しくは植物を選択するステップとを含む、方法。

【請求項 1 5】

倍加半数体植物を生成する方法であって、

a) 内在性 M s i 2 タンパク質を発現する植物を請求項 1 1 に記載の植物に交配するステップであって、請求項 1 1 に記載の植物は、少なくともその生殖部分において及び / 又は胚発生の間は内在性 M s i 2 タンパク質の発現を欠く、ステップと；

b) 半数体植物を選択するステップと；

c) 前記半数体植物を倍加半数体植物に転換するステップであって、好ましくは、前記転換はコルヒチンによる処理によって実施されるステップとを含む、方法。

【請求項 1 6】

半数体インデューサー系統を生産するための、請求項 7 又は 8 に記載の核酸分子の使用。

【請求項 1 7】

半数体植物を生産するための、請求項 1 1 に記載の植物の使用。

【請求項 1 8】

倍加半数体植物を生産するための、請求項 1 1 に記載の植物の使用。

【請求項 1 9】

前記植物が、少なくともその生殖部分において及び / 又は胚発生の間は内在性 M s i 2 タンパク質の発現を欠く、請求項 1 7 又は 1 8 に記載の方法。