

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6278446号
(P6278446)

(45) 発行日 平成30年2月14日(2018.2.14)

(24) 登録日 平成30年1月26日(2018.1.26)

(51) Int.Cl.

F 1

C 12 N 15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	Z N A A
AO 1 H 5/00	(2018.01)	AO 1 H	5/00	A
AO 1 H 5/10	(2018.01)	AO 1 H	5/10	
AO 1 H 6/54	(2018.01)	AO 1 H	6/54	
AO 1 N 25/00	(2006.01)	AO 1 N	25/00	1 O 2

請求項の数 19 (全 109 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-544621 (P2013-544621)
 (86) (22) 出願日 平成23年12月9日 (2011.12.9)
 (65) 公表番号 特表2014-502494 (P2014-502494A)
 (43) 公表日 平成26年2月3日 (2014.2.3)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2011/064143
 (87) 國際公開番号 WO2012/082548
 (87) 國際公開日 平成24年6月21日 (2012.6.21)
 審査請求日 平成26年12月8日 (2014.12.8)
 (31) 優先権主張番号 61/423,131
 (32) 優先日 平成22年12月15日 (2010.12.15)
 (33) 優先権主張国 米国(US)
 (31) 優先権主張番号 61/467,621
 (32) 優先日 平成23年3月25日 (2011.3.25)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

微生物の受託番号 ATCC PTA-11226

(73) 特許権者 300091441
 シンジエンタ パーティシペーションズ
 アーゲー
 スイス国 4058 バーゼル、シュバールツ
 バルトアレー 215
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100123582
 弁理士 三橋 真二
 (74) 代理人 100117019
 弁理士 渡辺 陽一
 (74) 代理人 100141977
 弁理士 中島 勝
 (74) 代理人 100150810
 弁理士 武居 良太郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ダイズイペント S Y H T O H 2 及びその組成物並びにその検出方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 10 のポリヌクレオチド配列からなる単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 2】

植物又は植物部分が、請求項 1 のポリヌクレオチド分子を含む、トランスジェニックダイズ植物又はその部分。

【請求項 3】

種子、細胞、花粉、胚珠、花、新芽、根、又は葉である、請求項 2 に記載のトランスジェニックダイズ植物部分。

【請求項 4】

種子である、請求項 2 又は 3 に記載のトランスジェニックダイズ植物部分。

【請求項 5】

グリホサート、グルホシネット、ジカンバ、2,4-D、フェノキシオーキシン除草剤、PPPO除草剤、アリールオキシフェノキシプロピシン酸除草剤、イミダゾリン、スルホニル尿素、アメトリン、トリアジン除草剤及びメトリブジンからなる群から選択される 1 種以上の除草剤に対する抵抗性又は耐性を植物に賦与することができるポリペプチドをエンコードする 1 つ以上の付加領域をさらに含む、請求項 4 に記載のトランスジェニックダイズ植物の種子。

【請求項 6】

前記 1 つ以上の付加領域が、1 種以上の除草剤に対する抵抗性又は耐性を植物に賦与す

10

20

ることができるポリペプチドをエンコードし、前記ポリペプチドが、以下：グリホサート耐性 5 - エノール - ピルビルシキミ酸 - 3 - リン酸シンターゼ (E P S P S) 、グリホサート N - アセチルトランスフェラーゼ (G A T) 、除草剤耐性 4 - ヒドロキシピルビルジオキシゲナーゼ (H P P D) 、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ (P A T) 、シトクロム P 4 5 0 、グルタチオン S - トランスフェラーゼ (G S T) 、除草剤耐性アセチル - C O A - カルボキシラーゼ (A C C a s e) 、除草剤耐性アセト乳酸シンターゼ (A L S) 、除草剤耐性プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ (P P G O) 、プロモキシニルニトリラーゼ、除草剤耐性フィトエンデサチュラーゼ、アリールオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ、ホモゲンチジン酸ソラネシル転移酵素 (H S T) 及びジカンバ分解酵素からなる群から選択される、請求項 5 に記載のトランスジェニックダイズ植物の種子。 10

【請求項 7】

前記トランスジェニックダイズ植物が、以下：

- a . H P P D 阻害剤とグルホシネート、
- b . H P P D 阻害剤とグリホサート、
- c . H P P D 阻害剤とジカンバ、
- d . H P P D 阻害剤と 2 , 4 - D 、
- e . H P P D 阻害剤と A L S 阻害剤、
- f . H P P D 阻害剤、グリホサート、及びグルホシネート、
- g . H P P D 阻害剤、グリホサート、及びジカンバ、 20
- h . H P P D 阻害剤、グリホサート、及び 2 , 4 - D 、
- i . H P P D 阻害剤、グリホサート、及び A L S 阻害剤、
- j . H P P D 阻害剤、グルホシネート、及び 2 , 4 - D 、
- k . H P P D 阻害剤、グルホシネート、及びジカンバ、
- l . H P P D 阻害剤、グルホシネート、及び A L S 阻害剤、
- m . H P P D 阻害剤、グリホサート、グルホシネート、及びジカンバ、
- n . H P P D 阻害剤、グリホサート、グルホシネート、及び 2 , 4 - D 、
- o . H P P D 阻害剤、グリホサート、グルホシネート、 2 , 4 - D 、及び A L S 阻害剤、
- p . H P P D 阻害剤、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、及び A L S 阻害剤、 30
- q . H P P D 阻害剤、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、 2 , 4 - D 、
- r . H P P D 阻害剤、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、 2 , 4 - D 、及び A L S 阻害剤

からなる群から選択される除草剤の組合せに対する抵抗性を含み、前記 H P P D 阻害剤が、以下：イソキサフルトール、ビシクロビロン、メソトリオン、スルコトリオン、テンボトリオン、トプラメゾン、ピラスルファトールを含む群から選択される少なくとも 1 つのメンバーを含み、前記 A L S 阻害剤が、プロスルフロン、ブリミスルフロン、トリアスルフロン、ベンスルフロン、ニコスルフロン、リムスルフロン、ブリミスルフロン、チフェンスルフロン、フォラムスルフロン、クロルスルフロン、ハロスルフロン、イマザキン、イマザピク、イマザピル、イマゼタピル、イマザモクス、ヨードスルフロン、メトスルフロン、メソスルフロン、スルホスルフロン、トリフロキシスルフロン、トリベヌロンメチル、チアゾピル、ジクロスラム、クロランスラム - メチル、フルカルバゾン、フルメトスラム、チエンカルバゾン、クロリムロン - エチルを含む群から選択される少なくとも 1 つのメンバーを含む、請求項 6 に記載のトランスジェニックダイズ植物の種子。 40

【請求項 8】

前記 1 つ以上の付加領域が、1 種以上の除草剤に対する抵抗性又は耐性を前記植物に賦与することができるポリペプチドをエンコードし、前記ポリペプチドが、グリホサート耐性、ジカンバ耐性、A L S 耐性、グルホシネート耐性、2 , 4 - ジクロロフェノキシ酢酸に対する耐性、アリールオキシフェノキシプロピオン酸に対する耐性、イソキサフルトール耐性、及び H P P D 耐性から選択される少なくとも 1 つの除草剤耐性を賦与するポリペ 50

プチドからなる群から選択される、請求項 5 に記載のトランスジェニックダイズ植物の種子。

【請求項 9】

前記種子が、以下：

アラニカルブ、アルジカルブ、ベンジオカルブ、ベンフラカルブ、ブトカルボキシム、ブトキシカルボキシム、カルバリル、カルボフラン、カルボスルファン、エチオフェンカルブ、フェノブカルブ、ホルメタネート、フラチオカルブ、イソプロカルブ、メチオカルブ、メトミル、メトールカルブ、オキサミル、ピリミカルブ、プロポキスル、チオジカルブ、チオファノクス、トリアザマート、トリメタカルブ、XMC、キシリルカルブ；アセフェート、アザメチホス、アジンホス-エチル、アジンホス-メチル、カズサホス、クロレトキシホス、クロルフェビンホス、クロルメホス、クロルピリホス、クロルピリホス-メチル、クマホス、シアノホス、デメトン-S-メチル、ジアジノン、ジクロルボス/DDVP、ジクロトホス、ジメトエート、ジメチルビンホス、ジスルホトン、EPN、エチオン、エトプロホス、ファムフール、ファナミホス、フェニトロチオン、フェンチオン、ホスチアゼート、ヘプテノホス、イミシアホス、イソフェンホス、イソプロピルO-(メトキシアミノチオ-ホスホリル)サリチル酸塩、イソキサチオン、マラチオン、メカルバム、メタミドホス、メチダチオン、メビンホス、モノクロトホス、ナレド、オメトエート、オキシデメントン-メチル、パラチオン、パラチオン-メチル、フェントエート、ホレート、ホサロン、ホスマト、ホスファミドン、ホキシム、ピリミホス-メチル、プロフェノホス、プロペタンホス、プロチオホス、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、キナルホス、スルホテブ、テブピリンホス、テメホス、テルブホス、テトラクロルビンホス、チオメトン、トリアゾホス、トリクロルホン、バミドチオン、シクロジエンオルガノクロリン、クロルダン、エンドスルファン；エチプロール、フィプロニル、アクリナトリル、アレトリン、d-시스-トランスアレトリン、d-トランスアレトリン、ビフェントリン、ビオアレトリン、ビオアレトリンS-シクロペンテニル異性体、ビオレスメトリン、シクロプロトリン、シフルトリン、-シフルトリン、シハロトリン、-シハロトリン、-シハロトリン、シペルメトリン、-シペルメトリン、-シペルメトリン、シフェノトリン[(1R)-トランス異性体]、デルタメトリン、エンペントリン[(EZ)-(1R)異性体]、エスフェンバレート、エトフェンプロクス、フェンプロバトリン、フェンバレート、フルシトリネート、フルメトリン、-フルバリネート、ハルフェンプロクス、イミプロトリン、カデトリン、ペルメトリン、フェノトリン[(1R)-トランス異性体]、プラレトリン、ピレトリン(ジョチュウギク(pyrethrum))、レスメトリン、シラフルオフェン、テフルトリン、テトラメトリン、テトラメトリン[(1R)異性体]、トラロメトリン、トランスフルトリン；DDT；メトキシクロル、アセタミブリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロビド、ニテンピラム、チアクロブリド、チアメトキサム；ニコチン、スピネトラム、スピノサド、アバメクチン、エマメクチン安息香酸塩、レピメクチン、ミルベメクチン、ヒドロブレン、キノブレン、メトブレン；フェノキシカルブ；ピリプロキシフェン、クロロピクリン；フッ化スルフリル；ホウ砂；吐酒石、ピメトロジン；フロニカミド、クロフェンテジン、ヘキリチアゾクス、ジフロビダジン、エトキサゾール、バチルス・チューリングエンシス亜種イスラエレンシス(*Bacillus thuringiensis subspecies israelensis*)、バチルス・スファエリクス(*Bacillus sphaericus*)、バチルス・チューリングエンシス亜種アイザワイ(*Bacillus thuringiensis subspecies aizawai*)、バチルス・チューリングエンシス亜種クルスタキ(*Bacillus thuringiensis subspecies kurstaki*)、バチルス・チューリングエンシス亜種テネブリオニス(*Bacillus thuringiensis subspecies tenebrionis*)、BT穀物タンパク質:Cry1Ab、Cry1Ac、Cry1Fa、Cry2Ab、mCry3A、Cry3Ab、Cry3Bb、Cry34/35Ab1、ジアフェンチウロン、アゾシクロチン、シヘキサチン、酸化フ

10

20

30

40

50

エンプタスズ；プロパルギット、テトラジホン、クロルフェナピル、D N O C、スルフルラミド、ベンスルタブ、カルタップ塩酸塩、チオシクラム、チオスルタップ - ナトリウム、ビストリフルロン、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、フルシクロクスロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン、ルフェヌロン、ノバルロン、ノビフルムロン、テフルベズロン、トリフルムロン、ブプロフェジン、シロマジン、クロマフェノジド、ハロフェノジド、メトキシフェノジド、テブフェノジド、アミトラズ、ヒドラメチルノン；アセキノシル；フルアクリピリム、フェナザキン、フェンピロキシメート、ピリミジフェン、ピリダベン、テブフェンピラド、トルフェンピラド、ロテノン（デリス）、インドキサカルブ；メタフルミゾン、スピロジクロフェン、スピロメシフェン、スピロテトラマト、リン化アルミニウム、リン化カルシウム、ホスフィン、リン化亜鉛、シエノピラフェン、クロラントラニリプロール、フルベンジアミド、アミドフルメト、アザジラクチン、ベンクロチアズ、ベンゾキシメート、ビフェナゼート、プロモプロピレート、キノメチオナー
ト、氷晶石、シアントリニプロール（C y a z y p y r）、シフルメトフェン、ジコフォール、ジフロビダジン、フルエンスルホン、フルフェネリム、フルフィプロール、フルオピラム、フフェノジド、イミダクロチズ、イプロジオン、メペルフルトリン、ピリダリル、ピリフルキナゾン、テトラメチルフルトリン、ヨードメタン；バチルス・フィルムス（B a c i l l u s f i r m u s）をベースとする製品（限定されないが、株C N C M I - 1 5 8 2、例えば、V O T i V O（商標）、B i o N e mなど）；3 - ブロモ - N - { 2 - ブロモ - 4 - クロロ - 6 - [(1 - シクロプロピルエチル) カルバモイル] フェニル } - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - カルボキサミド（国際公開第2 0 0 5 / 0 7 7 9 3 4号パンフレットから公知である）、4 - { [(6 - ブロモピリジン - 3 - イル) メチル] (2 - フルオロエチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第W O 2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 4号パンフレットから公知である）、4 - { [(6 - フルオロピリジン - 3 - イル) メチル] (2 , 2 - ジフルオロエチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 4から公知である）、4 - { [(2 - クロロ - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル) メチル] (2 - フルオロエチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 4号パンフレットから公知である）、4 - { [(6 - クロルピリジン - 3 - イル) メチル] (2 - フルオロエチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 4号パンフレットから公知である）、フルピラジフロン、4 - { [(6 - クロル - 5 - フルオロピリジン - 3 - イル) メチル] (メチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 3号パンフレットから公知である）、4 - { [(5 , 6 - ジクロロピリジン - 3 - イル) メチル] (2 - フルオロエチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 6号パンフレットから公知である）、4 - { [(6 - クロロ - 5 - フルオロピリジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) - アミノ } - フラン - 2 (5 H) - オン（国際公開第2 0 0 7 / 1 1 5 6 4 3号パンフレットから公知である）、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) - アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（欧州特許出願公開第A - 0 5 3 9 5 8 8号明細書から公知である）、4 - { [(6 - クロルピリジン - 3 - イル) - メチル] (メチル) アミノ } フラン - 2 (5 H) - オン（欧州特許出願公開第A - 0 5 3 9 5 8 8号明細書から公知である）、{ [1 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) エチル] (メチル) オキシド - ⁴ - スルファニリデン } シアンアミド（国際公開第2 0 0 7 / 1 4 9 1 3 4号パンフレットから公知である）並びにそのジアステレオマー { [(1 R) - 1 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) エチル] (メチル) オキシド - ⁴ - スルファニリデン } シアンアミド（A）及び { [(1 S) - 1 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) エチル] (メチル) オキシド - ⁴ - スルファニリデン } シアンアミド（B）（これも、国際公開第2 0 0 7 / 1 4 9 1 3 4号パンフレットから公知である）、さらには、スルホキサフロール及びそのジアステレオマー [(R) - メチル (オキシド) { (1 R) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド（A 1）及び [(S) - メチル (オキシド) { (1 S) - 1 - [6 - (トリフルオ

10

20

30

40

50

ロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル} - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (A 2) (ジアステレオマー A 群と呼ばれる) (国際公開第 2010 / 074747 号パンフレット、国際公開第 2010 / 074751 号パンフレットから公知である)、[(R) - メチル(オキシド) { (1S) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル} - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (B1) 及び [(S) - メチル(オキシド) { (1R) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル} - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (B2) (ジアステレオマー B 群と呼ばれる) (これもまた、国際公開第 2010 / 074747 号パンフレット、国際公開第 2010 / 074751 号パンフレットから公知である)、並びに 11 - (4 - クロロ - 2, 6 - ジメチルフェニル) - 12 - ヒドロキシ - 1, 4 - ジオキサ - 9 - アザジスピロ [4. 2. 4. 2] テトラデク - 11 - エン - 10 - オン (国際公開第 2006 / 089633 号パンフレットから公知である)、3 - (4' - フルオロ - 2, 4 - ジメチルビフェニル - 3 - イル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - オキサ - 1 - アザスピロ [4. 5] デク - 3 - エン - 2 - オン (国際公開第 2008 / 067911 号パンフレットから公知である)、1 - {2 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - [(2, 2, 2 - トリフルオルエチル) スルフィニル] フェニル} - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - アミン (国際公開第 2006 / 043635 号パンフレットから公知である)、[(3S, 4aR, 12R, 12aS, 12bS) - 3 - [(シクロプロピルカルボニル) オキシ] - 6, 12 - ジヒドロキシ - 4, 12b - ジメチル - 11 - オキソ - 9 - (ピリジン - 3 - イル) - 1, 3, 4, 4a, 5, 6, 6a, 12, 12a, 12b - デカヒドロ - 2H, 11H - ベンゾ [f] - ピラノ [4, 3 - b] クロメン - 4 - イル] メチルシクロプロパンカルボキシレート (国際公開第 2008 / 066153 号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N, N - ジメチルベンゼンスルホニアミド (国際公開第 2006 / 056433 号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - メチルベンゼンスルホニアミド (国際公開第 2006 / 100288 号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチルベンゼンスルホニアミド (国際公開第 2005 / 035486 号パンフレットから公知である)、4 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチル - N - メチル - 1, 2 - ベンゾチアゾール - 3 - アミン 1, 1 - ジオキシド (国際公開第 2007 / 057407 号パンフレットから公知である)、N - [1 - (2, 3 - ジメチルフェニル) - 2 - (3, 5 - ジメチルフェニル) エチル] - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - チアゾール - 2 - アミン (

国際公開第 2008 / 104503 号パンフレットから公知である)、{1' - [(2E) - 3 - (4 - クロロフェニル) プロピ - 2 - エン - 1 - イル] - 5 - フルオロスピロ [インドール - 3, 4' - ピペリジン] - 1 (2H) - イル} (2 - クロロピリジン - 4 - イル) メタノン (国際公開第 2003 / 106457 号パンフレットから公知である)、3 - (2, 5 - ジメチルフェニル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - メトキシ - 1, 8 - ジアザスピロ [4. 5] デク - 3 - エン - 2 - オン (国際公開第 2009 / 049851 号パンフレットから公知である)、3 - (2, 5 - ジメチルフェニル) - 8 - メトキシ - 2 - オキソ - 1, 8 - ジアザスピロ [4. 5] デク - 3 - エン - 4 - イルエチル炭酸塩 (国際公開第 2009 / 049851 号パンフレットから公知である)、4 - (ブト - 2 - イン - 1 - イルオキシ) - 6 - (3, 5 - ジメチルピペリジン - 1 - イル) - 5 - フルオロピリミジン (国際公開第 2004 / 099160 号パンフレットから公知である)、(2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5 - オクタフルオロペンチル) (3, 3, 3 - トリフルオロプロピル) マロノニトリル (国際公開第 2005 / 063094 号パンフレットから公知である)、(2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5 - オクタフルオロペンチル) (3, 3, 4, 4, 4 - ペンタフルオロ - ブチル) マロノニトリル (国際公開第 2005 / 063094 号パンフレットから公知である)、8 - [2 - (シクロプロピルメトキシ) - 4 - (トリフルオロメチル) フェノキシ] - 3 - [6 - (トリフルオロメチル) - ピリダジン - 3 - イル] - 3 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン (国際公開第 2007 / 040280 号パ

ンフレットから公知である)、フロメトキン、P E 1 3 6 4 (C A S - R e g . N o . 1 2 0 4 7 7 6 - 6 0 - 2) (特開2 0 1 0 - 0 1 8 5 8 6号公報から公知である)、5 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベンゾニトリル (国際公開第2 0 0 7 / 0 7 5 4 5 9号パンフレットから公知である)、5 - [5 - (2 - クロロピリジン - 4 - イル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベンゾニトリル (国際公開第2 0 0 7 / 0 7 5 4 5 9号パンフレットから公知である)、4 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - メチル - N - { 2 - オキソ - 2 - [(2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) アミノ] - エチル } ベンズアミド (国際公開第2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6号パンフレットから公知である)、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (2 , 2 - ジフルオロエチル) - アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (エチル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (メチル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン (すべて、国際公開第2 0 1 0 / 0 0 5 6 9 2号パンフレットから公知である)、N N I - 0 7 1 1 (国際公開第2 0 0 2 / 0 9 6 8 8 2号パンフレットから公知である)、1 - アセチル - N - [4 - (1 , 1 , 1 , 3 , 3 , 3 - ヘキサフルオロ - 2 - メトキシプロパン - 2 - イル) - 3 - イソブチルフェニル] - N - イソブチリル - 3 , 5 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド (国際公開第2 0 0 2 / 0 9 6 8 8 2号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - クロロ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - エチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 1 , 2 - ジエチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) ベンゾイル] - 2 - エチルヒドラジン - カルボキシレート (国際公開第2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6号パンフレットから公知である)、(5 R S , 7 R S ; 5 R S , 7 S R) - 1 - (6 - クロロ - 3 - ピリジルメチル) - 1 , 2 , 3 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - 7 - メチル - 8 - ニトロ - 5 - プロポキシイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン (国際公開第2 0 0 7 / 1 0 1 3 6 9号パンフレットから公知である)、N - [2 - (5 - アミノ - 1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - イル) - 4 - クロロ - 6 - メチルフェニル] - 3 - プロモ - 1 - (3 - クロロ - ピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - カルボキサミド (中国特許第1 0 2 0 5 7 9 2 5号明細書から公知である)、並びにメチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) ベンゾイル] - 2 - エチル - 1 - メチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第2 0 1 1 / 0 4 9 2 3 3号パンフレットから公知である)、アルジモルフ、アザコナゾール、ビテルタノール、プロムコナゾール、シプロコナゾール、ジクロブトラ 40 50

ゾール、ジフェノコナゾール、ジニコナゾール、ジニコナゾール - M、ドデモルフ、酢酸
 ドデモルフ、エポキシコナゾール、エタコナゾール、フェナリモール、フェンブコナゾー
 ル、フェンヘキサミド、フェンプロピジン、フェンプロピモルフ、フルキノコナゾール、
 フルルプリミドール、フルシラゾール、フルトリアフォール、フルコナゾール、フルコナ
 ゾール - シス、ヘキサコナゾール、イマザリル、硫酸イマザリル、イミベンコナゾール、
 イプコナゾール、メトコナゾール、ミクロブタニル、ナフチフィン、ヌアリモール、オキ
 スポコナゾール、パクロブトラゾール、ペフラゾエート、ベンコナゾール、ピペラリン、
 プロクロラズ、プロピコナゾール、プロチオコナゾール、ピリブチカルブ、ピリフェノク
 ス、キンコナゾール、シメコナゾール、スピロキサミン、テブコナゾール、テルビナフィ
 ン、テトラコナゾール、トリアジメホン、トリアジメノール、トリデモルフ、トリフルミ
 ゾール、トリホリン、トリチコナゾール、ウニコナゾール、ウニコナゾール - p、ビニコ
 ナゾール、ボリコナゾール、1 - (4 - クロロフェニル) - 2 - (1H - 1, 2, 4 - ト
 リアゾール - 1 - イル) シクロヘプタノール、メチル1 - (2, 2 - ジメチル - 2, 3 -
 ジヒドロ - 1H - インデン - 1 - イル) - 1H - イミダゾール - 5 - カルボキシレート、
 N' - { 5 - (ジフルオロメチル) - 2 - メチル - 4 - [3 - (トリメチルシリル) プロ
 ポキシ] フェニル } - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - エチル - N - メ
 チル - N' - { 2 - メチル - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 - [3 - (トリメチルシリ
 ル) プロポキシ] フェニル } イミドホルムアミド、O - [1 - (4 - メトキシフェノキシ
) - 3, 3 - ジメチルブタン - 2 - イル] 1H - イミダゾール - 1 - カルボチオエート、
 ビキサフェン、ボスカリド、カルボキシン、ジフルメトリム、フェンフラム、フルピラム
 、フルトラニル、フルキサピロキサド、フラメトピル、フルメシクロクス、イソピラザム
 (syn - エピマーラセミ体 1RS、4SR、9RS 及び抗エピマーラセミ体 1RS、4
 SR、9SR の混合物)、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1RS、4SR、9SR の
 混合物)、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1S、4S、9S の混合物)、イソピラザム
 (抗エピマーラセミ体 1S、4R、9R の混合物)、イソピラザム (syn エピマーラセミ
 体 1RS、4SR、9RS)、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1R、4S, 9R
)、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1S、4R、9S)、メプトニル、オキシカル
 ボキシン、ペンフルフェン、ペンチオピラド、セダキサン、チフルザミド、1 - メチル
 - N - [2 - (1, 1, 2, 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 3 - (トリフル
 オロメチル) - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1
 - メチル - N - [2 - (1, 1, 2, 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 1H -
 ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4 - フルオロ - 2
 - (1, 1, 2, 3, 3 - ヘキサフルオロプロポキシ) フェニル] - 1 - メチル - 1
 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [1 - (2, 4 - ジクロロフェニル) - 1 -
 メトキシプロパン - 2 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾ
 ル - 4 - カルボキサミド、5, 8 - ジフルオロ - N - [2 - (2 - フルオロ - 4 - { [
 4 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 2 - イル] オキシ } フェニル) エチル] キナゾリ
 ン - 4 - アミン、N - [9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1
 , 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H -
 ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1S, 4R) - 9 - (ジクロロメチレン) -
 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフル
 オロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1R, 4
 S) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフ
 タレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 -
 カルボキサミド、アメトクラジン、アミスルボム、アゾキシストロビン、シアゾファミド
 、クメトキシストロビン、クモキシストロビン、ジモキシストロビン、エネストロブリン
 、ファモキサドン、フェナミドン、フェノキシストロビン、フルオキサストロビン、クレ
 ソキシム - メチル、メトミノストロビン、オリサストロビン、ピコキシストロビン、ピラ
 クロストロビン、ピラメトストロビン、ピラオキシストロビン、ピリベンカルブ、トリク
 ロピリカルブ、トリフロキシストロビン、(2E) - 2 - { [6 - (3 - クロロ - 10

2 - メチルフェノキシ) - 5 - フルオロピリミジン - 4 - イル] オキシ} フェニル) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、(2E) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチル - 2 - { 2 - { ({ (1E) - 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エチリデン} アミノ) オキシ] メチル} フェニル} エタンアミド、(2E) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチル - 2 - { 2 - [(E) - ({ 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エトキシ} イミノ) メチル} フェニル} エタンアミド、(2E) - 2 - { 2 - [({ (1E) - 1 - (3 - { [(E) - 1 - フルオロ - 2 - フェニルエテニル] オキシ} フェニル] エチリデン] アミノ} オキシ) メチル} フェニル} - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、(2E) - 2 - { 2 - [({ [(2E, 3E) - 4 - (2, 6 - ジクロロフェニル) プト - 3 - エン - 2 - イリデン] アミノ} オキシ) メチル} フェニル} - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、2 - クロロ - N - (1, 1, 3 - トリメチル - 2, 3 - ジヒドロ - 1H - インデン - 4 - イル) ピリジン - 3 - カルボキサミド、5 - メトキシ - 2 - メチル - 4 - (2 - { [({ (1E) - 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エチリデン} アミノ) オキシ] メチル} フェニル) - 2, 4 - ジヒドロ - 3H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 3 - オン、メチル(2E) - 2 - { 2 - [({ シクロプロピル [(4 - メトキシフェニル) イミノ] メチル} スルファニル) メチル} フェニル} - 3 - メトキシプロプ - 2 - エノエート、N - (3 - エチル - 3, 5, 5 - トリメチルシクロヘキシル) - 3 - (ホルミルアミノ) - 2 - ヒドロキシベンズアミド、2 - { 2 - [(2, 5 - ジメチルフェノキシ) メチル} フェニル} - 2 - メトキシ - N - メチルアセトアミド、(2R) - 2 - { 2 - [(2, 5 - ジメチルフェノキシ) メチル} フェニル} - 2 - メトキシ - N - メチルアセトアミド、ベノミル、カルベンダジム、クロルフェナゾール、ジエトフェンカルブ、エタボキサム、フルオピコリド、フベリダゾール、ペンシクロン、チアベンダゾール、チオファネートメチル、チオファネート、ゾキサミド、5 - クロロ - 7 - (4 - メチルピペリジン - 1 - イル) - 6 - (2, 4, 6 - トリフルオロフェニル) [1, 2, 4] トリアゾロ [1, 5 - a] ピリミジン、3 - クロロ - 5 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) - 6 - メチル - 4 - (2, 4, 6 - トリフルオロフェニル) ピリダジン、ボルドー液、キャプタホール、キャプタン、クロロタロニル、水酸化銅、ナフテン酸銅、酸化第一銅、塩基性塩化銅、硫酸銅(II)、ジクロフルアニド、ジチアノン、ドジン、ドジンフリーベース、フェルバム、フルオフォルペット、フォルペット、グアザチン、酢酸グアザチン、イミノクタジン、イミノクタジンアルベシル酸塩、イミノクタジン三酢酸塩、マンカッパー、マンコゼブ、マネブ、メチラム、メチラム亜鉛、オキシン銅、プロパミジン、プロピネブ、イオウ、多硫化カルシウムなどのイオウ製剤、チラム、トリルフルアニド、ジネブ、ジラム、アシベンゾラルSメチル、イソチアニル、プロベナゾール、チアジニル、アンドブリム、プラスチシジン - S、シプロジニル、カスガマイシン、カスガマイシン塩酸塩、メパニピリム、ピリメタニル、3 - (5 - フルオロ - 3, 3, 4, 4 - テトラメチル - 3, 4 - ジヒドロイソキノリン - 1 - イル) キノリン、酢酸フェンチン、塩化フェンチン、水酸化フェンチン、シルチオファム、ベンチアバリカルブ、ジメトモルフ、フルモルフ、イプロバリカルブ、マンジプロパミド、ポリオキシン、ポリオキソリム、バリダマイシンA、バリフェナレート、ビフェニル、クロロネブ、ジクロラン、エジフェンホス、エトリジアゾール、ヨードカルブ、イプロベンホス、イソプロチオラン、プロパモカルブ、プロパモカルブ塩酸塩、プロチオカルブ、ピラゾホス、キントゼン、テクナゼントルクロホス - メチル、カルプロパミド、ジクロシメト、フェノキサニル、フタリド、ピロキロン、トリシクラゾール、2, 2, 2 - トリフルオロエチル { 3 - メチル - 1 - [(4 - メチルベンゾイル) アミノ] ブタン - 2 - イル} カルバメート、ベナラキシル、ベナラキシル - M (キララキシル)、ブピリメート、クロジラコン、ジメチリモール、エチリモール、フララキシル、ヒメキサゾール、メタラキシル、メタラキシル - M (メフェノキサム)、オフラセ、オキサジキシル、オキソリン酸、クロゾリネット、フェンピクロニル、フルジオキソニル、イプロジオン、プロシミドン、キノキシフェン、ビンクロゾリル、ビナパクリル、ジノカップ、フェリムゾン、フルア 10

20

30

40

50

ジナム、メチルジノカップ、ベンチアゾール、ベトキサジン、カプシマイシン、カルボン、チノメチオナト、ピリオフェノン(クラザフェノン)、クフラネブ、シフルフェナミド、シモキサニル、シプロスルファミド、ダゾメト、デバカルブ、ジクロロフェン、ジクロメジン、ジフェンゾコート、メチル硫酸ジフェンゾコート、ジフェニルアミン、エコメート、フェンピラザミン、フルメトベル、フルオロイミド、フルスルファミド、フルチアニル、ホセチル-アルミニウム、ホセチル-カルシウム、ホセチル-ナトリウム、ヘキサクロロベンゼン、イルママイシン、メタスルホカルブ、メチルイソチオシアネート、メトラフェノン、ミルジオマイシン、ナタマイシン、ニッケルジメチルジチオカルバメート、ニトロタール-イソプロピル、オクチリノン、オキサノカルブ、オキシフェンチン、ペンタクロロフェノール及びその塩、フェノトリン、リン酸及びその塩、プロパモカルブ-ホセチレート、プロパノシン-ナトリウム、プロキナジド、ピリモルフ、(2E)-3-(4-tert-ブチルフェニル)-3-(2-クロロピリジン-4-イル)-1-(モルホリン-4-イル)プロブ-2-エン-1-オン、(2Z)-3-(4-tert-ブチルフェニル)-3-(2-クロロピリジン-4-イル)-1-(モルホリン-4-イル)プロブ-2-エン-1-オン、ピロールニトリン、テブフロキン、テクトフタラム、トルニファニド、トリアゾキシド、トリクラミド、ザリラミド、(3S,6S,7R,8R)-8-ベンジル-3-[({3-[(イソブチリルオキシ)メトキシ]-4-メトキシピリジン-2-イル}カルボニル)アミノ]-6-メチル-4,9-ジオキソ-1,5-ジオキソナン-7-イル2-メチルプロパノエート、1-(4-{4-[(5R)-5-(2,6-ジフルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)-2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]エタノン、1-(4-{4-[(5S)-5-(2,6-ジフルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)-2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]エタノン、1-(4-{4-[(5S)-5-(2,6-ジフルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)-2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]エタノン、1-(4-メトキシフェノキシ)-3,3-ジメチルブタン-2-イル1H-イミダゾール-1-カルボキシレート、2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジン、2,3-ジブチル-6-クロロチエノ[2,3-d]ピリミジン-4(3H)-オン、2,6-ジメチル-1H,5H-[1,4]ジチイノ[2,3-c:5,6-c']ジピロール-1,3,5,7(2H,6H)-テトロン、2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]-1-(4-{4-[(5S)-5-フェニル-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)エタノン、2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]-1-(4-{4-[(5S)-5-フェニル-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)エタノン、2-ブトキシ-6-ヨード-3-プロピル-4H-クロメン-4-オン、2-クロロ-5-[2-クロロ-1-(2,6-ジフルオロ-4-メトキシフェニル)-4-メチル-1H-イミダゾール-5-イル]ピリジン、2-フェニルフェノール及びその塩、3-(4,4,5-トリフルオロ-3,3-ジメチル-3,4-ジヒドロイソキノリン-1-イル)キノリン、3,4,5-トリクロロピリジン-2,6-ジカルボニトリル、3-[5-(4-クロロフェニル)-2,3-ジメチル-1,2-オキサゾリジン-3-イル]ピリジン、3-クロロ-5-(4-クロロフェニル)-4-(2,6-ジフルオロフェニル)-6-メチルピリダジン、4-(4-クロロフェニル)-5-(2,6-ジフルオロフェニル)-3,6-ジメチルピリダジン、5-アミノ-1,3,4-

チアジアゾール - 2 - チオール、5 - クロロ - N' - フェニル - N' - (プロブ - 2 - イン - 1 - イル) チオフェン - 2 - スルホノヒドラジド、5 - フルオロ - 2 - [(4 - フルオロベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、5 - フルオロ - 2 - [(4 - メチルベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、5 - メチル - 6 - オクチ [1, 2, 4] トリアゾロ [1, 5 - a] ピリミジン - 7 - アミン、エチル (2Z) - 3 - アミノ - 2 - シアノ - 3 - フェニルプロブ - 2 - エノエート、N' - (4 - { [3 - (4 - クロロベンジル) - 1, 2, 4 - チアジアゾール - 5 - イル] オキシ} - 2, 5 - ジメチルフェニル) - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - (4 - クロロベンジル) - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロブ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパンアミド、N - [(4 - クロロフェニル) (シアノ) メチル] - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロブ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパンアミド、N - [(5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) メチル] - 2, 4 - ジクロロピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) エチル] - 2, 4 - ジクロロピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) エチル] - 2 - フルオロ - 4 - ヨードピリジン - 3 - カルボキサミド、N - { (E) - [(シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6 - (ジフルオロメトキシ) - 2, 3 - ジフルオロフェニル] メチル} - 2 - フェニルアセトアミド、N - { (Z) - [(シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6 - (ジフルオロメトキシ) - 2, 3 - ジフルオロフェニル] メチル} - 2 - フェニルアセトアミド、N' - {4 - [(3 - tert - ブチル - 4 - シアノ - 1, 2 - チアゾール - 5 - イル) オキシ] - 2 - クロロ - 5 - メチルフェニル} - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル} ピペリジン - 4 - イル) - N - (1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル) - 1, 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル} ピペリジン - 4 - イル) - N - [(1R) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル] - 1, 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル} ピペリジン - 4 - イル) - N - [(1S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル] - 1, 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、ベンチル {6 - [({ [(1 - メチル - 1H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチリデン] アミノ} オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル} カルバメート、フェナジン - 1 - カルボン酸、キノリン - 8 - オル、キノリン - 8 - オル硫酸塩 (2 : 1)、tert - ブチル {6 - [({ [(1 - メチル - 1H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ} オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル} カルバメート、1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - N - [2' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (4' - クロロビフェニル - 2 - イル) - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (2', 4' - ジクロロビフェニル - 2 - イル) - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [4' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (2', 5' - ジフルオロビフェニル - 2 - イル) - 1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [4' - (プロブ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4' - (プロブ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4' - (3, 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [4' - (3

10

20

30

40

50

, 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 5 - フルオロ - 1
 , 3 - ジメチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) -
 N - (4' - エチニルビフェニル - 2 - イル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カ
 ルボキサミド、N - (4' - エチニルビフェニル - 2 - イル) - 5 - フルオロ - 1 , 3 -
 ジメチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - (4' - エチニル
 ビフェニル - 2 - イル) ピリジン - 3 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4' - (3
 , 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カル
 ボキサミド、4 - (ジフルオロメチル) - 2 - メチル - N - [4' - (トリフルオロメチ
 ル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - トリアゾール - 5 - カルボキサミド、5 - フルオ
 口 - N - [4' - (3 - ヒドロキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル
 - 2 - イル] - 1 , 3 - ジメチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ
 - N - [4' - (3 - ヒドロキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル -
 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4' - (3 -
 メトキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 - メ
 チル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5 - フルオロ - N - [4' - (3 - メト
 キシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - ジメチ
 ル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4' - (3 - メトキシ
 - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボ
 キサミド、(5 - ブロモ - 2 - メトキシ - 4 - メチルピリジン - 3 - イル) (2 , 3 , 4
 - トリメトキシ - 6 - メチルフェニル) メタノン、N - [2 - (4 - { [3 - (4 - クロ
 ロフェニル) プロピ - 2 - イン - 1 - イル] オキシ } - 3 - メトキシフェニル) エチル]
 - N 2 - (メチルスルホニル) バリンアミド、4 - オキソ - 4 - [(2 - フェニルエチル
) アミノ] ブタン酸、ブト - 3 - イン - 1 - イル { 6 - [({ [(Z) - (1 - メチル -
 1H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ } オキシ) メチル] ピリ
 ジン - 2 - イル } カルバメート

を含む一覧から選択される化学物質で処理される、請求項4～8のいずれか一項に記載のトランスジェニックダイズ植物の種子。

【請求項10】

請求項4～8のいずれか一項に記載の種子から栽培するダイズの圃場での雑草抑制を目的とする、請求項9に記載の化学物質のいずれかの使用。

【請求項11】

請求項5～8のいずれか一項に記載の種子から栽培するダイズの圃場に、2種以上の除草剤に対する抵抗性又は耐性を前記植物に賦与することができるポリペプチドをエンコードする前記領域に対応する少なくとも2種の除草剤の組合せを適用することを含む、雑草抑制の方法であって、前記除草剤の組合せが、以下：

- a . メソトリオン、グルホシネート、
- b . メソトリオン、グリホサート、
- c . メソトリオン、グリホサート、グルホシネート、
- d . メソトリオン、グリホサート、ジカンバ、
- e . メソトリオン、グリホサート、2 , 4 - D、
- f . メソトリオン、グルホシネート、グルホシネート、
- g . メソトリオン、グルホシネート、ジカンバ、
- h . メソトリオン、グルホシネート、2 , 4 - D、
- i . メソトリオン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、
- j . メソトリオン、グリホサート、グルホシネート、2 , 4 - D、
- k . メソトリオン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、2 , 4 - D、
- l . スルコトリオン、グルホシネート、
- m . スルコトリオン、グリホサート、
- n . スルコトリオン、グリホサート、グルホシネート、
- o . スルコトリオン、グリホサート、ジカンバ、

p . スルコトリオン、グリホサート、2 , 4 - D、	
q . スルコトリオン、グルホシネート、グルホシネート、	
r . スルコトリオン、グルホシネート、ジカンバ、	
s . スルコトリオン、グルホシネート、2 , 4 - D、	
t . スルコトリオン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、	
u . スルコトリオン、グリホサート、グルホシネート、2 , 4 - D、	
v . スルコトリオン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、2 , 4 - D、	
w . ビシクロピロン、グルホシネート、	
x . ビシクロピロン、グリホサート、	
y . ビシクロピロン、グリホサート、グルホシネート、	10
z . ビシクロピロン、グリホサート、ジカンバ、	
a a . ビシクロピロン、グリホサート、2 , 4 - D、	
b b . ビシクロピロン、グルホシネート、グルホシネート、	
c c . ビシクロピロン、グルホシネート、ジカンバ、	
d d . ビシクロピロン、グルホシネート、2 , 4 - D、	
e e . ビシクロピロン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、	
f f . ビシクロピロン、グリホサート、グルホシネート、2 , 4 - D、	
g g . ビシクロピロン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、2 , 4 - D、	
h h . イソキサフルトール、グルホシネート、	
i i . イソキサフルトール、グリホサート、	20
j j . イソキサフルトール、グリホサート、グルホシネート、	
k k . イソキサフルトール、グリホサート、ジカンバ、	
l l . イソキサフルトール、グリホサート、2 , 4 - D、	
m m . イソキサフルトール、グルホシネート、グルホシネート、	
n n . イソキサフルトール、グルホシネート、ジカンバ、	
o o . イソキサフルトール、グルホシネート、2 , 4 - D、	
p p . イソキサフルトール、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、	2
q q . イソキサフルトール、グリホサート、グルホシネート、2 , 4 - D、	
r r . イソキサフルトール、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、2 , 4 - D、	
s s . テンボトリオン、グルホシネート、	30
t t . テンボリオン、グリホサート、	
u u . テンボトリオン、グリホサート、グルホシネート、	
v v . テンボリオン、グリホサート、ジカンバ、	
w w . テンボリオン、グリホサート、2 , 4 - D、	
x x . テンボリオン、グルホシネート、グルホシネート、	
y y . テンボリオン、グルホシネート、ジカンバ、	
z z . テンボリオン、グルホシネート、2 , 4 - D、	
a a a . テンボリオン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、	
b b b . テンボリオン、グリホサート、グルホシネート、2 , 4 - D、	
c c c . テンボリオン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、2 , 4 - D、	40
d d d . トプラメゾン、グルホシネート、	
e e e . トプラメゾン、グリホサート、	
f f f . トプラメゾン、グリホサート、グルホシネート、	
g g g . トプラメゾン、グリホサート、ジカンバ、	
h h h . トプラメゾン、グリホサート、2 , 4 - D、	
i i i . トプラメゾン、グルホシネート、グルホシネート、	
j j j . トプラメゾン、グルホシネート、ジカンバ、	
k k k . トプラメゾン、グルホシネート、2 , 4 - D、	
l l l . トプラメゾン、グリホサート、グルホシネート、ジカンバ、	
m m m . トプラメゾン、グリホサート、グルホシネート、2 , 4 - D、	50

n n n . トプラメゾン、グリホサート、グルホシネット、ジカンバ、2 , 4 - D、
o o o . ピラスルファトール、グルホシネット、
p p p . ピラスルファトール、グリホサート、
q q q . ピラスルファトール、グリホサート、グルホシネット、
r r r . ピラスルファトール、グリホサート、ジカンバ、
s s s . ピラスルファトール、グリホサート、2 , 4 - D、
t t t . ピラスルファトール、グルホシネット、グルホシネット、
u u u . ピラスルファトール、グルホシネット、ジカンバ、
v v v . ピラスルファトール、グルホシネット、2 , 4 - D、
w w w . ピラスルファトール、グリホサート、グルホシネット、ジカンバ、
x x x . ピラスルファトール、グリホサート、グルホシネット、2 , 4 - D、
y y y . ピラスルファトール、グリホサート、グルホシネット、ジカンバ、2 , 4 - D

の組み合わせからなる群から選択される、方法。

【請求項 12】

前記適用が、(i) タンク混合適用、(ii) 後の噴霧、(iii) 混合前適用からなる群から選択される、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

以下のステップを含む、ダイズ植物の栽培方法：

i) 請求項 4 ~ 8 のいずれか一項に記載の種子を蒔くステップ；

ii) 以下のクラスの殺虫剤、殺ダニ剤、殺センチュウ剤、又は軟体動物駆除剤として活性の成分：

アラニカルブ、アルジカルブ、ベンジオカルブ、ベンフラカルブ、ブトカルボキシム、ブトキシカルボキシム、カルバリル、カルボフラン、カルボスルファン、エチオフェンカルブ、フェノブカルブ、ホルメタネット、フラチオカルブ、イソプロカルブ、メチオカルブ、メトミル、メトールカルブ、オキサミル、ピリミカルブ、プロポキスル、チオジカルブ、チオファノクス、トリアザマート、トリメタカルブ、XMC、キシリルカルブ；アセフェート、アザメチホス、アジンホス - エチル、アジンホス - メチル、カズサホス、クロレトキシホス、クロルフェビンホス、クロルメホス、クロルピリホス、クロルピリホス - メチル、クマホス、シアノホス、デメトン - S - メチル、ジアジノン、ジクロルボス / DDVP、ジクロトホス、ジメトエート、ジメチルビンホス、ジスルホトン、EPN、エチオニン、エトプロホス、ファムフル、ファナミホス、フェニトロチオン、フェンチオン、ホスチアゼート、ヘプテノホス、イミシアホス、イソフェンホス、イソプロピルO - (メトキシアミノチオ - ホスホリル) サリチル酸塩、イソキサチオン、マラチオン、メカルバム、メタミドホス、メチダチオン、メビンホス、モノクロトホス、ナレド、オメトエート、オキシデメントン - メチル、パラチオン、パラチオン - メチル、フェントエート、ホレート、ホサロン、ホスマート、ホスファミドン、ホキシム、ピリミホス - メチル、プロフェノホス、プロペタンホス、プロチオホス、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、キナルホス、スルホテブ、テブピリンホス、テメホス、テルブホス、テトラクロルビンホス、チオメトン、トリアゾホス、トリクロルホン、バミドチオン、シクロジエンオルガノクロリン、クロルダン、エンドスルファン；エチプロール、フィプロニル、アクリナトリル、アレトリン、d - シス - トランスアレトリン、d - トランスアレトリン、ビフェントリン、ビオアレトリン、ビオアレトリン S - シクロペンテニル異性体、ビオレスメトリン、シクロプロトリン、シフルトリン、 - シフルトリン、シハロトリン、 - シハロトリン、 - シハロトリン、シハロトリン、シペルメトリン、 - シペルメトリン、シフェノトリン [(1R) - トランス異性体]、デルタメトリン、エンペントリン [(EZ) - (1R) 異性体]、エスフェンバレレート、エトフェンプロクス、フェンプロパトリル、フェンバレレート、フルシリネート、フルメトリン、 - フルバリネット、ハルフェンプロクス、イミプロトリン、カデトリン、ペルメトリン、フェノトリン [(1R) - トランス異性体]、プラレトリン、ピレトリン (ジョチュウギク (pyrethrum))、レスメトリン、シラフルオフェン、テフルトリン、

10

20

30

40

50

テトラメトリン、テトラメトリン [(1 R) 異性体)] 、トラロメトリン、トランスクルトリン；DDT；メトキシクロル、アセタミブリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロビド、ニテンピラム、チアクロブリド、チアメトキサム；ニコチン、スピネトラム、スピノサド、アバメクチン、エマメクチン安息香酸塩、レピメクチン、ミルベメクチン、ヒドロブレン、キノブレン、メトブレン；フェノキシカルブ；ピリプロキシフェン、クロロピクリン；フッ化スルフリル；ホウ砂；吐酒石、ピメトロジン；フロニカミド、クロフェンテジン、ヘキリチアゾクス、ジフロビダジン、エトキサゾール、バチルス・チューリングエンシス亜種イスラエレンシス (*Bacillus thuringiensis subspecies israelensis*)、バチルス・スファエリクス (*Bacillus sphaericus*)、バチルス・チューリングエンシス亜種アイザワイ 10 (*Bacillus thuringiensis subspecies aizawai*)、バチルス・チューリングエンシス亜種クルスタキ (*Bacillus thuringiensis subspecies kurstaki*)、バチルス・チューリングエンシス亜種テネブリオニス (*Bacillus thuringiensis subspecies tenebrionis*)、BT穀物タンパク質：Cry1Ab、Cry1Ac、Cry1Fa、Cry2Ab、mCry3A、Cry3Ab、Cry3Bb、Cry34/35Ab1、ジアフェンチウロン、アゾシクロチン、シヘキサチン、酸化フェンブタズ；プロパルギット、テトラジホン、クロルフェナピル、DNOC、スルフルラミド、ベンスルタブ、カルタップ塩酸塩、チオシクラム、チオスルタップ - ナトリウム、ビストリフルロン、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、フルシクロクスロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン、ルフェヌロン、ノバルロン、ノビフルムロン、テフルベズロン、トリフルムロン、ブプロフェジン、シロマジン、クロマフェノジド、ハロフェノジド、メトキシフェノジド、テブフェノジド、アミトラズ、ヒドラメチルノン；アセキノシル；フルアクリピリム、フェナザキン、フェンピロキシメート、ピリミジフェン、ピリダベン、テブフェンピラド、トルフェンピラド、ロテノン(デリス)、インドキサカルブ；メタフルミゾン、スピロジクロフェン、スピロメシフェン、スピロテトラマト、リン化アルミニウム、リン化カルシウム、ホスフィン、リン化亜鉛、シエノピラフェン、クロラントラニリプロール、フルベンジアミド、アミドフルメト、アザジラクチン、ベンクロチアズ、ベンゾキシメート、ビフェナゼート、プロモプロピレート、キノメチオナート、氷晶石、シアントリニプロール (Cazyppyr)、シフルメトフェン、ジコフォール、ジフロビダジン、フルエンスルホン、フルフェネリム、フルフィプロール、フルオピラム、フフェノジド、イミダクロチズ、イプロジオン、メペルフルトリン、ピリダリル、ピリフルキナゾン、テトラメチルフルトリン、ヨードメタン；バチルス・フィルムス (*Bacillus firmus*) をベースとする製品(限定されないが、株CNCM I-1582、例えば、VOTIVO(商標)、BioNemなど)；3-プロモ-N-{2-プロモ-4-クロロ-6-[(1-シクロプロピルエチル)カルバモイル]フェニル} - 1 - (3-クロロピリジン-2-イル) - 1H-ピラゾール-5-カルボキサミド(国際公開第2005/077934号パンフレットから公知である)、4-{[(6-プロモピリジン-3-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H) - オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-{[(6-フルオロピリジン-3-イル)メチル] (2,2-ジフルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H) - オン(国際公開第2007/115644から公知である)、4-{[(2-クロロ-1,3-チアゾール-5-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H) - オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-{[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H) - オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、フルピラジフロン、4-{[(6-クロル-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル] (メチル)アミノ}フラン-2(5H) - オン(国際公開第2007/115643号パンフレットから公知である)、4-{[(5,6-ジクロロピリジン-3-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H) - オン 30

40

40

40

50

(国際公開第2007/115646号パンフレットから公知である)、4 - { [(6 - クロロ - 5 - フルオロピリジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) - アミノ } - フラン - 2 (5H) - オン (国際公開第2007/115643号パンフレットから公知である)、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) - アミノ } フラン - 2 (5H) - オン (欧州特許出願公開第A - 0 539 588号明細書から公知である)、4 - { [(6 - クロルピリジン - 3 - イル) - メチル] (メチル) アミノ } フラン - 2 (5H) - オン (欧州特許出願公開第A - 0 539 588号明細書から公知である)、{ [1 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) エチル] (メチル) オキシド - ⁴ - スルファニリデン } シアンアミド (国際公開第2007/149134号パンフレットから公知である) 並びにそのジアステレオマー { [(1R) - 1 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) エチル] (メチル) オキシド - ⁴ - スルファニリデン } シアンアミド (A) 及び { [(1S) - 1 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) エチル] (メチル) オキシド - ⁴ - スルファニリデン } シアンアミド (B) (これも、国際公開第2007/149134号パンフレットから公知である)、さらには、スルホキサフロール及びそのジアステレオマー [(R) - メチル (オキシド) { (1R) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (A1) 及び [(S) - メチル (オキシド) { (1S) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (A2) (ジアステレオマーA群と呼ばれる) (国際公開第2010/074747号パンフレット、国際公開第2010/074751号パンフレットから公知である)、[(R) - メチル (オキシド) { (1S) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (B1) 及び [(S) - メチル (オキシド) { (1S) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (B2) (ジアステレオマーB群と呼ばれる) (これもまた、国際公開第2010/074747号パンフレット、国際公開第2010/074751号パンフレットから公知である)、並びに 11 - (4 - クロロ - 2, 6 - ジメチルフェニル) - 12 - ヒドロキシ - 1, 4 - ジオキサ - 9 - アザジスピロ [4.2.4.2] テトラデク - 11 - エン - 10 - オン (国際公開第2006/089633号パンフレットから公知である)、3 - (4' - フルオロ - 2, 4 - ジメチルフェニル - 3 - イル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - オキサ - 1 - アザスピロ [4.5] デク - 3 - エン - 2 - オン (国際公開第2008/067911号パンフレットから公知である)、1 - { 2 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - [(2, 2, 2 - トリフルオルエチル) スルフィニル] フェニル } - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - アミン (国際公開第2006/043635号パンフレットから公知である)、[(3S, 4aR, 12R, 12aS, 12bS) - 3 - [(シクロプロピルカルボニル) オキシ] - 6, 12 - ジヒドロキシ - 4, 12b - ジメチル - 11 - オキソ - 9 - (ピリジン - 3 - イル) - 1, 3, 4, 4a, 5, 6, 6a, 12, 12a, 12b - デカヒドロ - 2H, 11H - ベンゾ [f] - ピラノ [4, 3 - b] クロメン - 4 - イル] メチルシクロプロパンカルボキシレート (国際公開第2008/066153号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N, N - ジメチルベンゼンスルホニアミド (国際公開第2006/056433号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - メチルベンゼンスルホニアミド (国際公開第2006/100288号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチルベンゼンスルホニアミド (国際公開第2005/035486号パンフレットから公知である)、4 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチル - N - メチル - 1, 2 - ベンゾチアゾール - 3 - アミン 1, 1 - ジオキシド (国際公開第2007/057407号パンフレットから公知である)、N - [1 - (2, 3 - ジメチルフェニル) - 2 - (3, 5 - ジメチルフェニル) エチル] - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - チアゾール - 2 - アミン (国際公
開第2008/104503号パンフレットから公知である)、{ 1' - [(2E) - 3 50

- (4 - クロロフェニル) プロプ - 2 - エン - 1 - イル] - 5 - フルオロスピロ [インド
 ル - 3 , 4 ' - ピペリジン] - 1 (2 H) - イル } (2 - クロロピリジン - 4 - イル)
 メタノン (国際公開第 2003 / 106457 号パンフレットから公知である) 、 3 - (10
 2 , 5 - ジメチルフェニル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - メトキシ - 1 , 8 - ジアズスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 2 - オン (国際公開第 2009 / 049851 号パンフレット
 から公知である) 、 3 - (2 , 5 - ジメチルフェニル) - 8 - メトキシ - 2 - オキソ - 1
 , 8 - ジアズスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 4 - イルエチル炭酸塩 (国際公開第 20
 09 / 049851 号パンフレットから公知である) 、 4 - (ブト - 2 - イン - 1 - イル
 オキシ) - 6 - (3 , 5 - ジメチルピペリジン - 1 - イル) - 5 - フルオロピリミジン (20
 国際公開第 2004 / 099160 号パンフレットから公知である) 、 (2 , 2 , 3 , 3
 , 4 , 4 , 5 , 5 - オクタフルオロベンチル) (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル) マ
 ロノニトリル (国際公開第 2005 / 063094 号パンフレットから公知である) 、 (2 , 2 , 3 , 3 , 4 , 5 , 5 - オクタフルオロベンチル) (3 , 3 , 4 , 4 , 4 - ペ
 ンタフルオロ - ブチル) マロノニトリル (国際公開第 2005 / 063094 号パンフレ
 ットから公知である) 、 8 - [2 - (シクロプロピルメトキシ) - 4 - (トリフルオロメ
 チル) フェノキシ] - 3 - [6 - (トリフルオロメチル) - ピリダジン - 3 - イル] - 3
 - アザビシクロ [3 . 2 . 1] オクタン (国際公開第 2007 / 040280 号パンフレ
 ットから公知である) 、 フロメトキン、 P E 1364 (C A S - R e g . N o . 1204
 776 - 60 - 2) (特開 2010 - 018586 号公報から公知である) 、 5 - [5 - (20
 3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 ,
 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベ
 ンゾニトリル (国際公開第 2007 / 075459 号パンフレットから公知である) 、 5
 - [5 - (2 - クロロピリジン - 4 - イル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジ
 ヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール -
 1 - イル) ベンゾニトリル (国際公開第 2007 / 075459 号パンフレットから公知
 である) 、 4 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4
 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - メチル - N - { 2 - オキソ -
 2 - [(2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) アミノ] - エチル } ベンズアミド (国際公開
 第 2005 / 085216 号パンフレットから公知である) 、 4 - { [(6 - クロロピリ
 ジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (30
 5 H) - オン、 4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (2 , 2 - ジフルオ
 ロエチル) - アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、 4 - { [(6 - クロ
 ロピリジン - 3 - イル) メチル] (エチル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H)
 - オン、 4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (メチル) アミノ } - 1
 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン (すべて、 国際公開第 2010 / 005692 号
 パンフレットから公知である) 、 N N I - 0711 (国際公開第 2002 / 096882 号
 パンフレットから公知である) 、 1 - アセチル - N - [4 - (1 , 1 , 1 , 3 , 3 , 3
 - ヘキサフルオロ - 2 - メトキシプロパン - 2 - イル) - 3 - イソブチルフェニル] - N
 - イソブチリル - 3 , 5 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド (国際公開
 第 2002 / 096882 号パンフレットから公知である) 、 メチル 2 - [2 - ({ [3
 - ブロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カル
 ボニル } アミノ) - 5 - クロロ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボ
 キシレート (国際公開第 2005 / 085216 号パンフレットから公知である) 、 メチル
 2 - [2 - ({ [3 - ブロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾ
 ル - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - エ
 チルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第 2005 / 085216 号パンフレットから公知
 である) 、 メチル 2 - [2 - ({ [3 - ブロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 -
 イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } - アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メ
 チルベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第 2005 / 085
 216 号パンフレットから公知である) 、 メチル 2 - [3 , 5 - ジブロモ - 2 - ({ [3 50

- プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 1 , 2 - ジエチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第 2005 / 085216 号パンフレットから公知である) 、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) ベンゾイル] - 2 - エチルヒドラジン - カルボキシレート (国際公開第 2005 / 085216 号パンフレットから公知である) 、 (5 R S , 7 R S ; 5 R S , 7 S R) - 1 - (6 - クロロ - 3 - ピリジルメチル) - 1 , 2 , 3 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - 7 - メチル - 8 - ニトロ - 5 - プロポキシミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン (国際公開第 2007 / 101369 号パンフレットから公知である) 、 N - [2 - (5 - アミノ - 1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - イル) - 4 - クロロ - 6 - メチルフェニル] - 3 - プロモ - 1 - (3 - クロロ - ピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - カルボキサミド (中国特許第 102057925 号明細書から公知である) 、並びにメチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) ベンゾイル] - 2 - エチル - 1 - メチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第 2011 / 049233 号パンフレットから公知である)

から選択される農薬を適用するステップ ; 並びに

i i i) 以下 :

アルジモルフ、アザコナゾール、ビテルタノール、プロムコナゾール、シプロコナゾール、ジクロブトラゾール、ジフェノコナゾール、ジニコナゾール、ジニコナゾール - M 、ドデモルフ、酢酸ドデモルフ、エポキシコナゾール、エタコナゾール、フェナリモール、フェンブコナゾール、フェンヘキサミド、フェンプロピジン、フェンプロピモルフ、フルキノコナゾール、フルルプリミドール、フルシラゾール、フルトリアフォール、フルコナゾール、フルコナゾール - シス、ヘキサコナゾール、イマザリル、硫酸イマザリル、イミベンコナゾール、イブコナゾール、メトコナゾール、ミクロブタニル、ナフチフィン、ヌアリモール、オキスピコナゾール、パクロブトラゾール、ペフラゾエート、ペンコナゾール、ピペラリン、プロクロラズ、プロピコナゾール、プロチオコナゾール、ピリブチカルブ、ピリフェノクス、キンコナゾール、シメコナゾール、スピロキサミン、テブコナゾール、テルビナфин、テトラコナゾール、トリアジメホン、トリアジメノール、トリデモルフ、トリフルミゾール、トリホリン、トリチコナゾール、ウニコナゾール、ウニコナゾール - p 、ビニコナゾール、ボリコナゾール、 1 - (4 - クロロフェニル) - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) シクロヘプタノール、メチル 1 - (2 , 2 - ジメチル - 2 , 3 - ジヒドロ - 1 H - インデン - 1 - イル) - 1 H - イミダゾール - 5 - カルボキシレート、 N ' - { 5 - (ジフルオロメチル) - 2 - メチル - 4 - [3 - (トリメチルシリル) プロポキシ] フェニル } - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、 N - エチル - N - メチル - N ' - { 2 - メチル - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 - [3 - (トリメチルシリル) プロポキシ] フェニル } イミドホルムアミド、 O - [1 - (4 - メトキシフェノキシ) - 3 , 3 - ジメチルブタン - 2 - イル] 1 H - イミダゾール - 1 - カルボチオエート、ビキサフェン、ボスカリド、カルボキシン、ジフルメトリム、フェンフラム、フルピラム、フルトラニル、フルキサピロキサド、フラメトピル、フルメシクロクス、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1 R S 、 4 S R 、 9 R S 及び抗エピマーラセミ体 1 R S 、 4 S R 、 9 S R の混合物) 、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1 R S 、 4 S R 、 9 S R の混合物) 、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1 R S 、 4 S R 、 9 S R の混合物) 、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1 R S 、 4 S R 、 9 R S) 、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1 R S 、 4 S R 、 9 R S) 、メブトニル、オキシカルボキシン、ベンフルフェン、ベンチオピラド、セダキサン、チフルザミド、 1 - メチル - N - [2 - (1 , 1 , 2 , 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [2 - (1 , 1 , 2 , 2 - テトラフルオロエトキシ) フェ

10

20

30

40

50

ニル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4 - フルオロ - 2 - (1, 1, 2, 3, 3, 3 - ヘキサフルオロプロポキシ) フェニル] - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [1 - (2, 4 - ジクロロフェニル) - 1 - メトキシプロパン - 2 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5, 8 - ジフルオロ - N - [2 - (2 - フルオロ - 4 - { [4 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 2 - イル] オキシ} フェニル) エチル] キナゾリン - 4 - アミン、N - [9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1S, 4R) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1R, 4S) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、アメトクラジン、アミスルボム、アゾキシストロビン、シアゾファミド、クメトキシストロビン、クモキシストロビン、ジモキシストロビン、エネストロブリン、ファモキサドン、フェナミドン、フェノキシストロビン、フルオキサストロビン、クレソキシム - メチル、メトミノストロビン、オリサストロビン、ピコキシストロビン、ピラクロストロビン、ピラメトストロビン、ピラオキシストロビン、ピリベンカルブ、トリクロピリカルブ、トリフロキシストロビン、(2E) - 2 - (2 - { [6 - (3 - クロロ - 2 - メチルフェノキシ) - 5 - フルオロピリミジン - 4 - イル] オキシ} フェニル) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、(2E) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチル - 2 - (2 - { [({ (1E) - 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エチリデン} アミノ) オキシ] メチル} フェニル) エタンアミド、(2E) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチル - 2 - { 2 - [(E) - ({ 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エトキシ} イミノ) メチル} フェニル} エタンアミド、(2E) - 2 - { 2 - [({ (1E) - 1 - (3 - { [(E) - 1 - フルオロ - 2 - フェニルエテニル] オキシ} フェニル) エチリデン] アミノ} オキシ) メチル} フェニル} - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、(2E) - 2 - { 2 - [({ [(2E, 3E) - 4 - (2, 6 - ジクロロフェニル) ブト - 3 - エン - 2 - イリデン] アミノ} オキシ) メチル} フェニル} - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、2 - クロロ - N - (1, 1, 3 - トリメチル - 2, 3 - ジヒドロ - 1 H - インデン - 4 - イル) ピリジン - 3 - カルボキサミド、5 - メトキシ - 2 - メチル - 4 - (2 - { [({ (1E) - 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エチリデン} アミノ) オキシ] メチル} フェニル) - 2, 4 - ジヒドロ - 3H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 3 - オン、メチル(2E) - 2 - { 2 - [({ シクロプロピル [(4 - メトキシフェニル) イミノ] メチル} スルファニル) メチル} フェニル} - 3 - メトキシプロピ - 2 - エノエート、N - (3 - エチル - 3, 5, 5 - トリメチルシクロヘキシル) - 3 - (ホルミルアミノ) - 2 - ヒドロキシベンズアミド、2 - { 2 - [(2, 5 - ジメチルフェノキシ) メチル} フェニル} - 2 - メトキシ - N - メチルアセトアミド、(2R) - 2 - { 2 - [(2, 5 - ジメチルフェノキシ) メチル} フェニル} - 2 - メトキシ - N - メチルアセトアミド、ベノミル、カルベンダジム、クロルフェナゾール、ジエトフェンカルブ、エタボキサム、フルオピコリド、フベリダゾール、ベンシクロン、チアベンダゾール、チオファネートメチル、チオファネート、ゾキサミド、5 - クロロ - 7 - (4 - メチルピペリジン - 1 - イル) - 6 - (2, 4, 6 - トリフルオロフェニル) [1, 2, 4] トリアゾロ [1, 5 - a] ピリミジン、3 - クロロ - 5 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) - 6 - メチル - 4 - (2, 4, 6 - トリフルオロフェニル) ピリダジン、ボルドー液、キャプタホール、キャブタン、クロロタロニル、水酸化銅、ナフテン酸銅、酸化第一銅、塩基性塩化銅、硫酸銅(II)、ジクロフルアニド、ジチアノン、ドジン、ドジンフリーベース、フェルバム、フルオフォルペット、フォルペット、グアザチン、酢酸グアザチン、イミノクタジン、イミノクタジンアルベシル酸塩、イミノクタジン三酢酸塩、マンカッパー、マンコゼブ、マネ 50

ブ、メチラム、メチラム亜鉛、オキシン銅、プロパミジン、プロピネブ、イオウ、多硫化カルシウムなどのイオウ製剤、チラム、トリルフルアニド、ジネブ、ジラム、アシベンゾラルSメチル、イソチアニル、プロベナゾール、チアジニル、アンドブリム、プラスチシン-S、シブロジニル、カスガマイシン、カスガマイシン塩酸塩、メパニピリム、ピリメタニル、3-(5-フルオロ-3,3,4,4-テトラメチル-3,4-ジヒドロイソキノリン-1-イル)キノリン、酢酸フェンチン、塩化フェンチン、水酸化フェンチン、シルチオファム、ベンチアバリカルブ、ジメトモルフ、フルモルフ、イプロバリカルブ、マンジプロパミド、ポリオキシン、ポリオキソリム、バリダマイシンA、バリフェナレート、ビフェニル、クロロネブ、ジクロラン、エジフェンホス、エトリジアゾール、ヨードカルブ、イプロベンホス、イソプロチオラン、プロパモカルブ、プロパモカルブ塩酸塩、
10 プロチオカルブ、ピラゾホス、キントゼン、テクナゼントルクロホス-メチル、カルプロパミド、ジクロシメト、フェノキサニル、フタリド、ピロキロン、トリシクラゾール、2,2,2-トリフルオロエチル{3-メチル-1-[(4-メチルベンゾイル)アミノ]ブタン-2-イル}カルバメート、ベナラキシル、ベナラキシル-M(キララキシル)、ブピリメート、クロジラコン、ジメチリモール、エチリモール、フララキシル、ヒメキサゾール、メタラキシル、メタラキシル-M(メフェノキサム)、オフラセ、オキサジキシル、オキソリン酸、クロゾリネート、フェンピクロニル、フルジオキソニル、イプロジオン、プロシミドン、キノキシフェン、ピンクロゾリル、ビナパクリル、ジノカップ、フェリムゾン、フルアジナム、メチルジノカップ、ベンチアゾール、ベトキサジン、カブシマイシン、カルボン、チノメチオナト、ピリオフェノン(クラザフェノン)、クフラネブ、シフルフェナミド、シモキサニル、シプロスルファミド、ダゾメト、デバカルブ、ジクロロフェン、ジクロメジン、ジフェンゾコート、メチル硫酸ジフェンゾコート、ジフェニルアミン、エコメート、フェンピラザミン、フルメトベル、フルオロイミド、フルスルファミド、フルチアニル、ホセチル-アルミニウム、ホセチル-カルシウム、ホセチル-ナトリウム、ヘキサクロロベンゼン、イルママイシン、メタスルホカルブ、メチルイソチオシアネート、メトラフェノン、ミルジオマイシン、ナタマイシン、ニッケルジメチルジチオカルバメート、ニトロタール-イソプロピル、オクチリノン、オキサノカルブ、オキシフェンチン、ペンタクロロフェノール及びその塩、フェノトリン、リン酸及びその塩、
20 プロパモカルブ-ホセチレート、プロパノシン-ナトリウム、プロキナジド、ピリモルフ、(2E)-3-(4-tert-ブチルフェニル)-3-(2-クロロピリジン-4-イル)-1-(モルホリン-4-イル)プロブ-2-エン-1-オン、(2Z)-3-(4-tert-ブチルフェニル)-3-(2-クロロピリジン-4-イル)-1-(モルホリン-4-イル)プロブ-2-エン-1-オン、ピロールニトリン、テブフロキン、テクトフタラム、トルニファニド、トリアゾキシド、トリクラミド、ザリラミド、(3S,6S,7R,8R)-8-ベンジル-3-[(3-[(イソブチリルオキシ)メトキシ]-4-メトキシピリジン-2-イル)カルボニル]アミノ]-6-メチル-4,9-ジオキソ-1,5-ジオキソナン-7-イル2-メチルプロパノエート、1-(4-{4-[(5R)-5-(2,6-ジフルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)-2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]エタノン、1-(4-{4-[(5S)-5-(2,6-ジフルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)-2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]エタノン、1-(4-{4-[5-(2,6-ジフルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル]-1,3-チアゾール-2-イル}ピペリジン-1-イル)-2-[5-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]
30]エタノン、1-(4-メトキシフェノキシ)-3,3-ジメチルブタン-2-イル1H-イミダゾール-1-カルボキシレート、2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジン、2,3-ジブチル-6-クロロチエノ[2,3-d]ピリミジン
40

- 4 (3 H) - オン、2 , 6 - ジメチル - 1 H , 5 H - [1 , 4] ジチイノ [2 , 3 - c
 : 5 , 6 - c '] ジピロール - 1 , 3 , 5 , 7 (2 H , 6 H) - テトロン、2 - [5 - メ
 チル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] - 1 - (4 - { 4 -
 [(5 R) - 5 - フェニル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 1
 , 3 - チアゾール - 2 - イル } ピペリジン - 1 - イル) エタノン、2 - [5 - メチル - 3
 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] - 1 - (4 - { 4 - [(5 S)
) - 5 - フェニル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 1 , 3 - チ
 アゾール - 2 - イル } ピペリジン - 1 - イル) エタノン、2 - [5 - メチル - 3 - (トリ
 フルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] - 1 - { 4 - [4 - (5 - フェニル -
 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル] 10
] ピペリジン - 1 - イル } エタノン、2 - ブトキシ - 6 - ヨード - 3 - プロピル - 4 H -
 クロメン - 4 - オン、2 - クロロ - 5 - [2 - クロロ - 1 - (2 , 6 - ジフルオロ - 4 -
 メトキシフェニル) - 4 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] ピリジン、2 - フェ
 ニルフェノール及びその塩、3 - (4 , 4 , 5 - トリフルオロ - 3 , 3 - ジメチル - 3 ,
 4 - ジヒドロイソキノリン - 1 - イル) キノリン、3 , 4 , 5 - トリクロロピリジン - 2
 , 6 - ジカルボニトリル、3 - [5 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 - ジメチル - 1 ,
 2 - オキサゾリジン - 3 - イル] ピリジン、3 - クロロ - 5 - (4 - クロロフェニル) -
 4 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 6 - メチルピリダジン、4 - (4 - クロロフェニ
 ル) - 5 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 3 , 6 - ジメチルピリダジン、5 - アミノ
 - 1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - チオール、5 - クロロ - N ' - フェニル - N ' - (20
 プロプ - 2 - イン - 1 - イル) チオフェン - 2 - スルホノヒドラジド、5 - フルオロ - 2
 - [(4 - フルオロベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、5 - フルオロ - 2 - [
 (4 - メチルベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、5 - メチル - 6 - オクチ [1
 , 2 , 4] トリアゾロ [1 , 5 - a] ピリミジン - 7 - アミン、エチル (2 Z) - 3 - ア
 ミノ - 2 - シアノ - 3 - フェニルプロプ - 2 - エノエート、N ' - (4 - { [3 - (4 -
 クロロベンジル) - 1 , 2 , 4 - チアジアゾール - 5 - イル] オキシ } - 2 , 5 - ジメチ
 ルフェニル) - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - (4 - クロロベンジル
) - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロプ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパン
 アミド、N - [(4 - クロロフェニル) (シアノ) メチル] - 3 - [3 - メトキシ - 4
 - (プロプ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパンアミド、N - [(5 - プロ
 モ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) メチル] - 2 , 4 - ジクロロピリジン - 3 - カルボ
 キサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) エチル] - 2 , 4
 - ジクロロピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリ
 ジン - 2 - イル) エチル] - 2 - フルオロ - 4 - ヨードピリジン - 3 - カルボキサミド、
 N - { (E) - [(シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6 - (ジフルオロメトキシ) -
 2 , 3 - ジフルオロフェニル] メチル } - 2 - フェニルアセトアミド、N - { (Z) - [
 (シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6 - (ジフルオロメトキシ) - 2 , 3 - ジフルオ
 ロフェニル] メチル } - 2 - フェニルアセトアミド、N ' - { 4 - [(3 - t e r t -
 ブチル - 4 - シアノ - 1 , 2 - チアゾール - 5 - イル) オキシ] - 2 - クロロ - 5 - メチ
 ルフェニル } - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - メチル - 2 - (1 - {
 [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル }
 ピペリジン - 4 - イル) - N - (1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル)
 - 1 , 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル -
 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル } ピペリジン - 4
 - イル) - N - [(1 R) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル] - 1
 , 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル - 3 -
 (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル } ピペリジン - 4 - イ
 尔) - N - [(1 S) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル] - 1 , 3
 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、ペンチル { 6 - [({ [(1 - メチル - 1 H - テト
 ラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチリデン] アミノ } オキシ) メチル] ピリジン - 2 50

- イル } カルバメート、フェナジン - 1 - カルボン酸、キノリン - 8 - オル、キノリン - 8 - オル硫酸塩 (2 : 1)、tert - ブチル { 6 - [({ [(1 - メチル - 1 H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ } オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル } カルバメート、1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - N - [2 ' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (4 ' - クロロビフェニル - 2 - イル) - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (2 ' , 4 ' - ジクロロビフェニル - 2 - イル) - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [4 ' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (2 ' , 5 ' - ジフルオロビフェニル - 2 - イル) - 1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [4 ' - (プロブ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5 - フルオロ - 1 , 3 - ジメチル - N - [4 ' - (プロブ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (プロブ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4 ' - (3 , 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 5 - フルオロ - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - (4 ' - エチニルビフェニル - 2 - イル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (4 ' - エチニルビフェニル - 2 - イル) - 5 - フルオロ - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - (4 ' - エチニルビフェニル - 2 - イル) ピリジン - 3 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (3 , 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、4 - (ジフルオロメチル) - 2 - メチル - N - [4 ' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - トリアゾール - 5 - カルボキサミド、5 - フルオロ - N - [4 ' - (3 - ヒドロキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (3 - ヒドロキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、(5 - ブロモ - 2 - メトキシ - 4 - メチルピリジン - 3 - イル) (2 , 3 , 4 - トリメトキシ - 6 - メチルフェニル) メタノン、N - [2 - (4 - { [3 - (4 - クロロフェニル) プロブ - 2 - イン - 1 - イル] オキシ } - 3 - メトキシフェニル) エチル] - N 2 - (メチルスルホニル) バリンアミド、4 - オキソ - 4 - [(2 - フェニルエチル) アミノ] ブタン酸、ブト - 3 - イン - 1 - イル { 6 - [({ [(Z) - (1 - メチル - 1 H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ } オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル } カルバメート

から選択される殺菌剤を適用するステップ。

【請求項 14】

ダイズ製品の生産における請求項 4 ~ 8 のいずれか一項に記載の種子の使用。

【請求項 15】

前記ダイズ製品が、ミール、粉、フレーク、又は油である、請求項 14 に記載の使用。

【請求項 16】

前記ダイズ製品が、ミールである、請求項 14 又は 15 に記載の使用。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

以下：

- a) 請求項 4 ~ 8 のいずれか一項に記載の種子からダイズ植物を栽培するステップであり、この栽培ステップは、請求項 11 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法を用いた雑草管理を含み；
- b) 前記ダイズ植物からダイズを回収するステップ；及び
- c) ダイズ油を抽出することにより、ダイズ油及びダイズミールを取得するステップを含む、ダイズミール及びダイズ油の製造方法。

【請求項 18】

ダイズ油を抽出する前に、以下：

10

- (i) 前記回収したダイズを加熱して、その水分を減少させるステップ；
- (i i) 前記回収したダイズを粉碎して、その鞘部を除去するステップ；及び
- (i i i) ダイズを小さなフレークにプレスするステップ

の少なくとも 1 つを実施する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記ダイズ油を抽出するステップが、溶媒を使用して実施される、請求項 17 又は 18 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

本発明は、概して、除草剤耐性を有するトランスフェニック植物に関する。特に、本発明は、HPPD 阻害剤除草剤及びグルホシネットに対する抵抗性を賦与する、形質転換イベント SYHT0H2 を含むダイズ植物を提供する。また、形質転換イベント SYHT0H2 を検出する方法、並びに開示される植物及び植物部分を用いる方法も提供される。

【背景技術】

【0002】

植物における異種遺伝子の発現は、恐らく、クロマチン構造によるか、又は組込み部位に近い転写調節エレメントの近接性のために、植物ゲノム中の位置に影響を受けることが知られている。同時に、ゲノム中の様々な位置でのトランスジーンの存在は、植物の全体的な表現型に様々な様式で影響を及ぼす。このため、導入された目的の遺伝子の最適な発現を特徴とするイベントを同定するためには、往々にして、多数のイベントをスクリーニングする必要がある。例えば、植物及び他の生物において、イベント間で、導入された遺伝子の発現レベルに大きな差が存在しうることが観察されている。空間的又は時間的な発現パターン（これは、導入遺伝子構築物中に存在する転写調節エレメントから予想されるパターンに一致しない場合がある）の相違、例えば、各種植物組織中のトランスジーンの相対的発現における相違が生じうる。また、トランスジーンの挿入は、内在性遺伝子発現に作用しうることも観察されている。こうした理由から、数百から数千もの異なるイベントを作製し、これらのイベントを、商業的目的のために所望されるトランスジーン発現のレベル及びパターンを有する単一のイベントについて、スクリーニングすることが一般的である。トランスジーン発現の所望されるレベル及びパターンのを有するイベントは、従来の育種方法を用いた有性異系交配によって、トランスジーンを他の遺伝的背景に移入するのに有用である。このような交配の子孫は、もとの形質転換体のトランスジーン発現特性を維持している。この戦略は、局地的な生育条件に十分に適応したいくつかの変種において信頼性の高い遺伝子発現を確実にするために用いられている。

30

【0003】

有性異系交配の子孫が、目的のトランスジーンを含むか否かを決定するために、特定のイベントの存在を検出することができれば、有利であろう。さらに、特定のイベントを検出する方法は、遺伝子組換え作物に由来する食品の市販前承認及び表示を要する規定を遵守するために、あるいは、環境モニタリング、圃場での作物の特徴のモニタリング、収穫作物に由来する製品のモニタリングに用いるために、及び / 又は規制条項若しくは契約条

40

50

項の対象になる当事者の遵守を保証するのに用いるために、役立つであろう。除草剤耐性を示す植物におけるイベントの迅速な同定を可能にする方法及び組成物は、例えば、圃場で雑草を抑制するのに必要な除草剤の適用回数を減らす、圃場で雑草を抑制するのに必要な除草剤の量を低減する、作物を生産するのに必要な耕耘量を低減する、及び／又は遅延している計画を展開させる、又は除草剤抵抗性雑草の出現を予防するために、作物保護及び雑草管理に用いることも可能である。特定の除草剤の組合せの標的型使用を可能にする作物保護及び雑草管理の方法及び組成物、並びにこのようなイベントの効率的検出が引き続き求められている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0004】

この課題を解決するために、本発明は、HPPD阻害剤除草剤及びグルホシネートに対する抵抗性を賦与する、形質転換イベントSYHT0H2を含むダイズ植物を提供する。また、形質転換イベントSYHT0H2を検出するための組成物及び方法も提供される。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、植物又は植物部分が、配列番号1及び配列番号2のポリヌクレオチド配列を含み、イベントSYHT0H2に特徴的なアンプリコンを生成する、ダイズ植物又は植物部分を提供する。また、上記のダイズ植物又は植物部分から生産されるダイズ製品も提供される。

20

【0006】

本発明は、ダイズイベントSYHT0H2に特徴的な、単離された核酸、例えば、配列番号1～6及び9～10のいずれか1つ、又はそれらの特徴的なフラグメントをさらに提供する。

【0007】

生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2を同定するためのキットもさらに提供される。本発明の一態様では、このキットは、第1及び第2プライマーを含み、第1及び第2プライマーは、SYHT0H2特異的領域を含むポリヌクレオチドを増幅する。本発明の別の態様では、キットは、ストリンジエントな条件下で、SYHT0H2特異的領域にハイブリダイズする少なくとも1つの核酸プローブを含む。

30

【0008】

さらに、サンプル中のイベントSYHT0H2を同定するための方法も提供される。本発明の一態様では、この方法は、(a)サンプルを第1及び第2プライマーと接触させるステップ；及び(b)SYHT0H2特異的領域を含む核酸を増幅するステップを含む。本発明の別の態様では、本方法は、(a)ストリンジエントな条件下で、SYHT0H2特異的領域にハイブリダイズする少なくとも1つの核酸プローブと、サンプルを接触させるステップ；及び(b)少なくとも1つの核酸プローブとSYHT0H2特異的領域とのハイブリダイゼーションを検出するステップを含む。

【0009】

さらにまた、HPPD阻害剤及び／又はグルホシネートに対して抵抗性のダイズ植物を生産する方法も提供され、この方法は、ダイズ植物のゲノムにイベントSYHT0H2を導入するステップを含む。また、このような植物を用いて、ダイズ製品を生産する方法も提供される。

40

【0010】

さらにまた、ダイズ植物及び雑草を含む場所での雑草を抑制する方法も提供され、ここで、ダイズ植物は、イベントSYHT0H2を含み、この方法は、1種以上のHPPD阻害剤を含有する、雑草抑制量の除草剤組成物を上記の場所に適用するステップを含む。

【0011】

さらに、イベントSYHT0H2を用いて、ダイズ収量を改善する方法も提供される。

【0012】

50

任意の場所でボランティア S Y H T 0 H 2 作物を抑制する方法も提供され、この方法は、ダイズに有効で、しかも H P P D の阻害以外の作用機序を有する 1 種以上の除草剤を上記の場所に適用するステップを含む。

【 0 0 1 3 】

さらにまた、 S Y H T 0 H 2 作物を含む場所でのボランティアトランスジェニックイベントを抑制する方法も提供され、ここで、ボランティアイベントは、 1 種以上の除草剤に対する抵抗性を含むが、 H P P D 阻害剤に対する抵抗性は含んでおらず、この方法は、 1 種以上の H P P D 阻害剤を含有する、抑制量の除草剤組成物を上記の場所に適用するステップを含む。

【 0 0 1 4 】

さらには、任意の場所に、除草剤混合物を適用する方法も提供され、除草剤混合物は、 H P P D 阻害剤と、有害生物（雑草、病害、昆虫、センチュウ）防除の目的で、 S Y H T 0 H 2 が耐性を持たない可能性がある少なくとも 1 種の別の化学物質を含むが、 S Y H T 0 H 2 イベントが存在するために、残留 H P P D 活性から保護することによって、作付け前又は出芽前のいずれかに上記混合物の適用が可能になる。さらにまた、異種核酸の挿入のためのダイズ染色体標的部位も提供されるが、これは、イベント S Y H T 0 H 2 の挿入部位に相当する。また、イベント S Y H T 0 H 2 の染色体部位に異種核酸を含む、ダイズ植物、植物部分、及び日用製品、並びにそれらの製造方法も提供される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 5 】

【 図 1 】ダイズコドン最適化アベナ (A v e n a) H P P D 遺伝子を含有するバイナリーベクター 1 5 9 5 4 を表す図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 6 】

配列一覧における配列の簡単な説明

10

20

【表1】

表1

配列番号	説明
1	20 bp LB2 結合部 (10 bp フランкиング配列 / 10 bp 挿入配列)
2	20 bp LB1 結合部 (3 bp 挿入配列 / 17 bp フランкиング配列)
3	40 bp LB2 結合部 (20 bp フランкиング配列 / 20 bp 挿入配列)
4	40 bp LB1 結合部 (13 bp 挿入配列 / 27 bp フランкиング配列)
5	60 bp LB2 結合部 (30 bp フランкиング配列 / 30 bp 挿入配列)
6	60 bp LB1 結合部 (23 bp 挿入配列 / 37 bp フランкиング配列)
7	LB2 フランкиング ゲノム配列 (99 bp)
8	LB1 フランкиング ゲノム配列 (462 bp)
9	完全な挿入配列
10	フランкиング ゲノム配列を付加した挿入配列
13, 16	TAQMAN [®] アッセイに用いるプローブ
11~12, 14~15, 17~21	増幅アッセイに用いるプライマー配列
22~23	TAQMAN [®] アッセイ増幅産物
24	Gm08: 9905210~9905426
25~28	配列決定に用いるプライマー配列

【0017】

トランスジェニック HPPD 阻害剤耐性ダイズ植物に関する組成物及び方法が提供される。本発明の組成物は、イベント SYHT0H2 を含むダイズ植物及び植物部分、それに由来する食品及び飼料製品、並びにこれを検出するための試薬を含む。イベント SYHT0H2 を含むダイズ植物は、実施例 1 で説明するように、アベナ (Avena) 由来の突然変異体 HPPD 遺伝子及びストレプトミセス・ビドリクロモゲネス (S. viridis ochromogenes) 由来のホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ遺伝子の挿入によって作製される。

【0018】

本明細書で用いる略語「HPPD」は、ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼを意味する。HPPD ポリヌクレオチドは、ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ酵素の酵素活性を有するポリペプチドをエンコードする。

【0019】

HPPD 阻害剤耐性を賦与するポリヌクレオチドは、ダイズゲノムにおいて特性決定された位置に挿入され、これにより、SYHT0H2 ダイズイベントを生成する。実施例 3 を参照されたい。イベント SYHT0H2 を保有するダイズ植物は、少なくとも配列番号 1 又は 2 のポリヌクレオチドを有するゲノム / トランスジーン結合部を含む。イベント SYHT0H2 のゲノム挿入部位の特性決定により、育種効率が増大すると共に、分子マーカーを用いて、育種集団へのトランスジーン挿入断片及びその子孫を追跡することができる。実施例 4 を参照されたい。本明細書では、ダイズ SYHT0H2 イベントの同定、検出、及び使用のための様々な方法及び組成物が提供される。例えば、実施例 2 を参照

10

20

30

40

50

されたい。本明細書において、核酸又はヌクレオチド配列を説明するのに用いられる「SYHT0H2特異的」という表現は、植物、植物材料、又は、限定されないが、植物材料を含む、又はこれに由来する食品若しくは飼料製品（生鮮若しくは加工済）中のベントSYHT0H2を差別的に同定する特性を指す。

【0020】

組成物はさらに、American Type Culture Collection (ATCC) 寄託番号PTA-1126として寄託された種子、並びにこれに由来する植物、植物細胞、及び種子も包含する。出願人は、2010年7月21日付で、ATCC, Manassas, VA 20110-2209 U.S.Aに、ダイズイベントSYHT0H2を含む少なくとも2500の種子を寄託した。これらの寄託物は、Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purposes of Patent Procedureの条件下で維持される。 10

【0021】

本明細書で用いる場合、用語「ダイズ」は、ダイズ(Glycine max)を意味し、ダイズを用いて育種することができるあらゆる植物変種を包含する。本明細書で用いる場合、用語「植物」は、以下を含む：植物細胞、植物器官、植物プロトプラスト、植物を再生させることができる植物細胞組織培養物、植物カルス、植物群、並びに植物においてインタクトな植物細胞、又は植物の部分、例えば、胚、花粉、胚珠、種子、葉、花、枝、果実、茎、根、根冠、薗など。穀粒は、それら種の栽培又は繁殖以外の目的のために栽培業者によって生産される成熟種子を意味するものとする。再生された植物の子孫、変異体、及び突然変異体は、これらの部分がイベントSYHT0H2を含有する限り、本発明の範囲に含まれる。 20

【0022】

本発明の組成物は、イベントSYHT0H2を含有するダイズ植物の以下の製品の1つ以上を含む、又はこれらに由来する商品、例えば、食品若しくは飼料製品も含む：レシチン、脂肪酸、グリセロール、ステロール、食用油、脱脂ダイズフレーク、脱脂及び焼き焦がしダイズミールなどのダイズミール、豆乳おから、豆腐、ダイズ粉、ダイズタンパク質濃縮物、単離されたダイズタンパク質、加水分解植物タンパク質、組織化ダイズタンパク質、及びダイズタンパク質纖維。 30

【0023】

トランスジェニック「イベント」は、異種DNA構築物を用いた植物細胞の形質転換、例えば、目的のトランスジーンを含む核酸発現力セット、植物のゲノムへのトランスジーンの挿入によって得られる植物の集団の再生、及び特定のゲノム位置への挿入によって特徴付けられる特定の植物の選択などによって作製される。イベントは、トランスジーンの発現により、表現型的に特徴付けられる。遺伝子レベルでは、イベントは、植物の遺伝子構造の一部である。用語「イベント」は、形質転換体と、異種DNAを含む別の変種との間の有性異系交配によって作製される子孫を指す。反復親との戻し交配が繰り返された後であっても、形質転換親由来の挿入DNA及びフランкиングDNAは、同じ染色体位置で、交配の子孫に存在する。用語「イベント」はまた、挿入DNAと挿入DNAに直接隣接したフランкиング配列を含む、もとの形質転換体由来のDNAを指し、このフランкиング配列は、挿入DNAを含む親株（例えば、もとの形質転換体及び自殖から生じる子孫）と、挿入DNAを含まない親株との有性交配の結果として、目的のトランスジーンを含む挿入DNAを受け取る子孫に移入されることが予想される。 40

【0024】

様々な一次植物形質転換イベントの除草剤耐性又は抵抗性レベルの平均及び分布を、いずれか所定の除草剤の様々な濃度で、植物損傷、分裂組織退色症状などに基づいて、通常の方法で評価する。これらのデータは、例えば、用量/応答曲線から得られるGR50値として表すことができ、この曲線は、x軸に「用量」をプロットし、y軸に「死滅率(%) 50

)」、「除草効果」、「出芽した緑色植物の数」などをプロットしたものであり、G R 50値の増加は、固有の阻害剤耐性のレベル増加（例えば、K_i / K_{m,HPP}値の増加）及び/又は発現HPPDポリペプチドの発現のレベル増加に相当する。

【0025】

本明細書で用いる場合、「挿入DNA」とは、植物材料を形質転換するのに用いられる発現カセット内の異種DNAを指し、また、「フランкиングDNA」は、植物などの生物中に天然に存在するゲノムDNAか、又は元の挿入DNA分子（例えば、形質転換事象に関連するフラグメント）にとっては外来性の、形質転換プロセスにより導入された外来（異種）DNAのいずれかを含みうる。本明細書で用いる「フランкиング領域」又は「フランкиング配列」とは、元の外来挿入DNA分子のすぐ上流に隣接して位置するか、又はそのすぐ下流に隣接して位置する、少なくとも20、50、100、200、300、400、1000、1500、2000、2500、若しくは5000塩基対又はこれを超える塩基対の配列を指す。イベントSYHT0H2のフランкиング領域の非制限的例としては、配列番号7及び8に示されるもの、並びにその変異体及びフラグメントがある。

【0026】

外来DNAのランダムな組込みをもたらす形質転換方法により、各形質転換体に特徴的かつ特有の異なるフランкиング領域を含む形質転換体が得られる。組換えDNAを従来の交配によって植物に導入する場合、そのフランкиング領域は、一般に変化しない。形質転換体はまた、1つの異種挿入DNAの断片とゲノムDNAとの間に、又は2つのゲノムDNAの断片間に、若しくは2つの異種DNAの断片間に、特有の結合部を含む。「結合部」とは、2つの特定のDNAフラグメントが結合する点である。例えば、結合部は、挿入DNAがフランкиングDNAと結合する箇所に存在する。2つのDNAフラグメントが、天然の生物に見出される様式から改変された様式で互いに結合する、形質転換生物に結合点が存在する。本明細書で用いる場合、「結合部DNA」とは、結合点を含むDNAを指す。前述のイベントSYHT0H2由来の結合部DNAの非制限的例としては、配列番号1~6に示されるもの、並びにその変異体及びフラグメントがある。

【0027】

イベントSYHT0H2を含む植物は、トランスジェニックSYHT0H2ダイズ植物から生育した第1親ダイズ植物と、除草剤耐性表現型が欠如した第2親ダイズと植物の最初の有性交配を実施して、これにより、複数の第1子孫植物を作製するステップ；次に、所望の除草剤耐性を呈示する第1子孫植物を選択するステップ；そして、第1子孫植物を自殖させることにより、複数の第2子孫植物を生産するステップ；及び、第2子孫植物から、所望の除草剤耐性を呈示するものを選択するステップによって、育種することができる。これらのステップは、除草剤耐性子孫植物と、第2親ダイズ植物又は第3親ダイズ植物との戻し交雑により、所望の除草剤耐性を呈示するダイズ植物を作製することをさらに含んでもよい。また、表現型について子孫をアッセイするステップは必要ないことが認識されよう。本明細書の他所で開示するように、様々な方法及び組成物を用いて、イベントSYHT0H2を検出及び/又は同定することができる。

【0028】

2つの異なるトランスジェニック植物を有性交配させて、2つの独立に分離した付加外来性遺伝子を含む子孫を作製することができる。適切な子孫の自殖により、付加された外来性遺伝子の両方について同型接合の植物を作製することができる。親植物との戻し交雫及び非トランスジェニック植物との異系交配は、栄養繁殖であることから、これらも考慮される。様々な特徴及び作物を目的として一般に用いられるその他の育種方法の記載は、複数の参照文献、例えば、Fehr, in Breeding Methods for Cultivar Development, 1987, Wilcox, J. (ed.), American Society of Agronomy, Madison, WIに見出すことができる。

【0029】

用語「生殖質」とは、ある遺伝子型を表す個体、個体群、又はクローン、変種、種若し

くは培養物、又はその遺伝物質を指す。

【0030】

「系」又は「系統」は、一般に、ある程度まで近親交配させ、概して同質遺伝子又はほぼ同質遺伝子である同じ親子関係の個体群である。

【0031】

近親交配ダイズ系は、典型的には、ダイズハイブリッドの生産に用いるため、及び新規かつ異なる近親交配ダイズ系の作出のための集団を育種する上での生殖質として使用するために開発される。近親交配ダイズ系は、従来の育種及び/又は分子移入技術による新規の特徴の移入のための標的として用いられることが多い。近親交配ダイズ系は、商業的ハイブリッドの親として有用であるために、高度に均質、同型接合で、しかも再現性である必要がある。近親交配系の同型接合性及び表現型安定性を決定するのに、様々な分析方法が利用可能である。

【0032】

「ハイブリッド植物」というフレーズは、遺伝子的に異なる個体同士の交配によって得られる植物を指す。

【0033】

本発明において、「交配した」又は「交配」という用語は、配偶子の融合、例えば、植物の場合、子孫（すなわち、細胞、種子、若しくは植物）を生産するための受粉を意味する。この用語は、有性交配（一植物の別の植物による受粉）と、自殖（自家受粉、すなわち、花粉及び胚珠が同一の植物由来である場合）の両方を包含する。

【0034】

「（遺伝子）移入」という用語は、ある遺伝的背景から別の背景への遺伝子座の所望の対立遺伝子の伝達を指す。一つの方法では、所望の対立遺伝子を2つの親同士の有性交配から移入させることができ、その際、親の少なくとも一方は、そのゲノムに所望の対立遺伝子を有する。

【0035】

本発明のある態様では、イベントSYHT0H2を賦与するポリヌクレオチドは、分子積層に作製される。別の態様では、分子積層は、第3除草剤に対する耐性を賦与する少なくとも1つの別のポリヌクレオチドをさらに含む。例えば、上記配列は、グリホサートに対する耐性を賦与することができ、この配列は、EPSPSを含んでもよい。

【0036】

本発明の別の態様では、イベントSYHT0H2は、目的とする1つ以上の別の特徴、例えば、特徴の所望の組合せを有する植物を作出するために、目的のポリヌクレオチド配列の任意の組合せを用いた積層を含むことができる。本明細書で用いる場合、「特徴（trait）」とは、特定の配列又は配列群に由来する表現型を指す。例えば、除草剤耐性ポリヌクレオチドを、有害生物防除及び/又は殺虫活性を有するポリペプチドをエンコードする任意の別のポリヌクレオチドと一緒に積層してもよく、こうしたポリペプチドとして、以下のものがある：バチルス・チューリングンシス（*Bacillus thuringiensis*）毒性タンパク質（米国特許第5,366,892号明細書；同第5,747,450号明細書；同第5,737,514号明細書；同第5,723,756号明細書；及び同第5,593,881号明細書；Geiser et al., Gene, 1986, 48:109; Lee et al., Appl. Environ. Microbiol., 2003, 69:4648-4657 (Vip3A); Galitzky et al., Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr., 2001, 57:1101-1109 (Cry3Bb1); 及びHerman et al., J. Agric. Food Chem., 2004, 52:2726-2734 (Cry1F)に記載）、レクチン（Van Damme et al., Plant Mol. Biol., 1994, 24:825、ペンチン（米国特許第5,981,722号明細書に記載）など。作製される組合せは、目的のポリヌクレオチドのいずれか1つの複数のコピーを含んでもよい。これらの組合せはまた、これらの遺伝子を含む

10

20

30

40

50

既存又は新規のイベントを用いた育種積層により作製してもよい。育種積層に用いてよい既存のイベントの例としては、限定されないが、MON87701-鱗翅類抵抗性がある。

【0037】

本発明のある態様では、さらに改善された特性を有する本発明のトランスジェニック植物を作出するために、イベントSYHT0H2を、別の除草剤耐性特徴と一緒に積層してもよい。例えば、突然変異体HPPDポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチド、又はHPPD酵素活性を保持するその変異体を、望ましい特徴を賦与するポリペプチドをエンコードするいずれか他のポリヌクレオチドと一緒に積層してもよく、こうした望ましい特徴として、限定されないが、以下のものがある：病害、昆虫、及び除草剤に対する抵抗性、熱及び干ばつに対する耐性、作物成熟までの時間短縮、工業的加工性（例えば、デンプン又はバイオマスの発酵性糖への変換）の改善、並びに農学的品質（例えば、高含油量及び高タンパク質含量）の向上。

【0038】

突然変異体HPPDポリペプチドをエンコードする本発明のポリヌクレオチド、又はHPPD酵素活性を保持するその変異体と一緒に積層することができるポリヌクレオチドの例として、有害生物／病原体、例えば、ウイルス、センチュウ、昆虫又は真菌などに対する抵抗性を賦与するポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチドがある。本発明のポリヌクレオチドと一緒に積層してよいポリヌクレオチドの例として、以下をエンコードするポリヌクレオチドがある：有害生物防除及び／又は殺虫活性を有するポリペプチド、例えば、他のバチルス・チューリングンシス(*Bacillus thuringiensis*)毒性タンパク質（米国特許第5,366,892号明細書；同第5,747,450号明細書；同第5,737,514号明細書；同第5,723,756号明細書；及び同第5,593,881号明細書；及びGeiser et al., Gene, 1986 48:109に記載）、レクチン(*Van Damme et al., Plant Mol. Biol.*, 1994, 24:825、ペンチン（米国特許第5,981,722号明細書に記載）など；病害又は除草剤抵抗性に望ましい特徴（例：フモニシン解毒遺伝子（米国特許第5,792,931号明細書）；非病原性及び病害抵抗性遺伝子（Jones et al., *Science*, 1994, 266:789；Martin et al., *Science*, 1993, 262:1432；Mindrinos et al., *Cell*, 1993, 78:1089）；S4及び／又はHra突然変異のような除草剤抵抗性（（スルホニル尿素、イミダゾリノン、トリアゾロピリミジン、ピリミジニルチオベンゾエートを含む除草剤に対する抵抗性）をもたらすアセト乳酸シナーゼ突然変異体；グリホサート抵抗性（例：5-エノール-ピロビル-シキミ酸-3-リン酸-シナーゼ（EPSPS）遺伝子、例えば、限定されないが、以下の文献に記載されているもの：米国特許同第4,940,935号明細書、同第5,188,642号明細書、同第5,633,435号明細書、同第6,566,587号明細書、同第7,674,598号明細書、並びに関連する全ての出願；又は以下の文献に記載されているグリホサートN-アセチルトランスフェラーゼ(GAT)遺伝子：Castle et al., *Science*, 2004, 304:1151~1154；及び米国特許出願公開第20070004912号明細書、同第20050246798号明細書、及び同第20050060767号明細書））；グルホシネート抵抗性（例：BAR；例えば、米国特許第5,561,236号明細書を参照）；2,4-D抵抗性（例：アリールオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ、すなわちAAD-1、AAD-2、若しくはAAD-13）、HPPD抵抗性（例：シュードモナス(*Pseudomonas*)HPPD）及びPPO抵抗性（例：ホメサフェン、アシフルオルフェン-ナトリウム、オキシフルオルフェン、ラクトフェン、フルチアセト-メチル、サフルフェナシル、フルミオキサジン、フルミクロラク-ベンチル、カルフェントラゾン-エチル、スルフェントラゾン）；中でも、HPPD阻害除草剤、PPO阻害除草剤及びALS阻害除草剤に対する除草剤抵抗性又は耐性を賦与するシトクロムP450若しくはその変異体（米国特許出願公開第2009050

10

20

30

40

50

0 1 1 9 3 6 号明細書；米国特許第 6 , 3 8 0 , 4 6 5 号明細書；同第 6 , 1 2 1 , 5 1 2 号明細書；同第 5 , 3 4 9 , 1 2 7 号明細書；同第 6 , 6 4 9 , 8 1 4 号明細書；及び同第 6 , 3 0 0 , 5 4 4 号明細書；並びに国際公開第 2 0 0 7 / 0 0 0 0 7 7 号パンフレット)；ジカンバ抵抗性(例：ジカンバモノオキシゲナーゼ)、及び製品(例えば、高油)の加工又は処理に望ましい特徴(例：米国特許第 6 , 2 3 2 , 5 2 9 号明細書)；変性油(例：脂肪酸デサチュラーゼ遺伝子(米国特許第 5 , 9 5 2 , 5 4 4 号明細書；国際公開第 9 4 / 1 1 5 1 6 号パンフレット))；変性デンプン(例：A D P G ピロホスホリラーゼ(A G P a s e)、デンプンシンターゼ(S S)、デンプン分枝酵素(S B E)、及びデンプン枝切り酵素(S D B E))；並びにポリマー若しくはバイオプラスチック(例：米国特許第 5 , 6 0 2 , 3 2 1 号明細書；-ケトチオラーゼ、ポリヒドロキシ酪酸シンターゼ、及びアセトアセチル-C o A レダクターゼ(S c h u b e r t e t a l . , J . B a c t e r i o l . , 1 9 8 8 , 1 7 0 : 5 8 3 7 - 5 8 4 7)は、ポリヒドロキシアルカノエート(P H A)の発現を促進する；上記文献の開示内容は、本明細書に参考として組み込むものとする。

【0039】

従って、本発明の一態様では、イベントS Y H T 0 H 2は、除草剤、例えば、H P P D 阻害剤、グリホサート、2 , 4 - D、ジカンバ又はグルホシネートに対する抵抗性又は耐性を賦与するポリペプチドをエンコードする1つ以上のポリヌクレオチドと一緒に積層する。

【0040】

本発明のこのような態様で用いることができるその他の除草剤耐性ポリヌクレオチドとしては、他の遺伝子又は作用機序によってH P P D 阻害剤に対する耐性を賦与するものがある。ダイズS Y H T 0 H 2 イベントと組み合わせることができるその他の特徴としては、植物に、より高レベルの5 - エノールピルビルシキミ酸 - 3 - リン酸シンターゼ(E P S P S)を生成する能力を賦与するポリヌクレオチドに由来するものがあり、これについては、例えば、以下の文献により詳しく記載されている：米国特許第 6 , 2 4 8 , 8 7 6 号明細書；同第 5 , 6 2 7 , 0 6 1 号明細書；同第 5 , 8 0 4 , 4 2 5 号明細書；同第 5 , 6 3 3 , 4 3 5 号明細書；同第 5 , 1 4 5 , 7 8 3 号明細書；同第 4 , 9 7 1 , 9 0 8 号明細書；同第 5 , 3 1 2 , 9 1 0 号明細書；同第 5 , 1 8 8 , 6 4 2 号明細書；同第 4 , 9 4 0 , 8 3 5 号明細書；同第 5 , 8 6 6 , 7 7 5 号明細書；同第 6 , 2 2 5 , 1 1 4 号明細書；同第 6 , 1 3 0 , 3 6 6 号明細書；同第 5 , 3 1 0 , 6 6 7 号明細書；同第 4 , 5 3 5 , 0 6 0 号明細書；同第 4 , 7 6 9 , 0 6 1 号明細書；同第 5 , 6 3 3 , 4 4 8 号明細書；同第 5 , 5 1 0 , 4 7 1 号明細書；同第 R E 3 6 , 4 4 9 号明細書；同第 R E 3 7 , 2 8 7 号明細書；及び同第 5 , 4 9 1 , 2 8 8 号明細書；並びに国際公開第 9 7 / 0 4 1 0 3 号パンフレット；国際公開第 0 0 / 6 6 7 4 6 号パンフレット；国際公開第 0 1 / 6 6 7 0 4 号パンフレット；及び国際公開第 0 0 / 6 6 7 4 7 号パンフレット。イベントS Y H T 0 H 2 と組み合わせができるその他の特徴としては、スルホニル尿素、イミダゾリノン、トリアゾロピリミジン、及び/又はピリミジニルチオベンゾエートに対する耐性を賦与するものがあり、これらについては、例えば、以下の文献に、より詳しく記載されている：米国特許第 5 , 6 0 5 , 0 1 1 号明細書；同第 5 , 0 1 3 , 6 5 9 号明細書；同第 5 , 1 4 1 , 8 7 0 号明細書；同第 5 , 7 6 7 , 3 6 1 号明細書；同第 5 , 7 3 1 , 1 8 0 号明細書；同第 5 , 3 0 4 , 7 3 2 号明細書；同第 4 , 7 6 1 , 3 7 3 号明細書；同第 5 , 3 3 1 , 1 0 7 号明細書；同第 5 , 9 2 8 , 9 3 7 号明細書；及び同第 5 , 3 7 8 , 8 2 4 号明細書；並びに国際公開第 9 6 / 3 3 2 7 0 号パンフレット。

【0041】

本発明のある態様では、イベントS Y H T 0 H 2は、ヒドロキシフェニルピルビン酸オキシゲナーゼと一緒に積層してもよく、これは、パラ - ヒドロキシフェニルピルビン酸(H P P)がホモゲンチジン酸に変換される反応を触媒する酵素である。この酵素を阻害し、この酵素と結合することにより、H P Pのホモゲンチジン酸への変換を阻害する分子が、除草剤として有用である。植物にこのような除草剤に対する耐性を賦与する特徴につい

10

20

30

40

50

ては、米国特許第 6,245,968 号明細書；同第 6,268,549 号明細書；及び同第 6,069,115 号明細書；並びに国際公開第 99/23886 号パンフレットに記載されている。イベント SYHT0H と一緒に積層することができる好適な除草剤耐性の特徴としては、以下のものがある：アリールオキシアルカノエートジオキシゲナーゼポリヌクレオチド（以下の文献に記載されるように、2,4-D 及びその他のフェノキシオーキシン除草剤、並びにアリールオキシフェノキシプロピオン酸除草剤に対する耐性を賦与しうる：国際公開第 2005/107437 号パンフレット、国際公開第 2007/053482 号パンフレット、及び国際公開第 2008/141154 号パンフレット、及び米国特許第 7,820,883 号明細書、並びに関連出願及び特許明細書）、ホモゲンチジン酸ソランシルトランスフェラーゼ（HST）（例えば、国際公開第 10/029311 号パンフレットに記載されている、及びジカンバ（モノオキシゲナーゼ）抵抗性ポリヌクレオチド（例えば、Herman et al., J. Biol. Chem., 2005, 280: 24759~24767 及び米国特許第 7,812,224 号明細書、並びに関連出願及び特許明細書に記載されている）。

【0042】

イベント SYHT0H2 と組み合わせることができる除草剤耐性の特徴のその他の例としては、以下の文献に記載されているように、外性ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼをエンコードするポリヌクレオチドによって賦与されるものがある：米国特許第 5,969,213 号明細書；同第 5,489,520 号明細書；同第 5,550,318 号明細書；同第 5,874,265 号明細書；同第 5,919,675 号明細書；同第 5,561,236 号明細書；同第 5,648,477 号明細書；同第 5,646,024 号明細書；同第 6,177,616 号明細書；及び同第 5,879,903 号明細書。外性ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼを含む植物は、酵素グルタミンシナーゼを阻害するグルホシネート除草剤に対する改善された耐性を呈示しうる。イベント SYHT0H2 と組み合わせることができる除草剤耐性の特徴のその他の例としては、以下の文献に記載されているように、改変されたプロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ（protox）活性を賦与するポリヌクレオチドによって賦与されるものがある：米国特許第 6,288,306 号明細書；同第 6,282,837 号明細書；及び同第 5,767,373 号明細書；並びに国際公開第 01/12825 号パンフレット。このようなポリヌクレオチドを含む植物は、protox 酵素を標的とする様々な除草剤（「protox 阻害剤」と呼ばれる）のいずれに対しても改変された耐性を呈示することができる。

【0043】

イベント SYHT0H2 と組み合わせることができる除草剤耐性の特徴のその他の例としては、ダイズ植物又はヒメムカシヨモギなどの植物における少なくとも 1 種の除草剤に対する耐性を賦与するものがある。除草剤耐性雑草は、当分野において公知であり、特定の除草剤に対してそれらの耐性は異なる。例えば、以下の文献を参照されたい：Green & Williams, "Correlation of Corn (Zea mays) Inbred Response to Nicosulfuron and Mesotrione," poster presented at the WSSA Annual Meeting in Kansas City, Missouri, February 9-12, 2004; Green (1998) Weed Technology 12: 474-477; Green & Ulrich, Weed Science 2003, 41: 508-516。これらの耐性の原因となる特徴を、育種又はその他の方法によって、イベント SYHT0H2 と組み合わせて、本発明の植物、及びその使用方法を提供することができる。

【0044】

前述した遺伝子を遺伝子改変して、イベント SYHT0H2 にしてもよいし、又は、前述した遺伝子の 1 つに耐性を賦与する新規若しくは既存のイベントを用いた育種積層により、イベント SYHT0H2 と組み合わせてもよい。育種積層に用いることが可能なイベ

10

20

30

40

50

ントとしては、限定されないが、以下のものが挙げられる：M O N 8 9 7 8 8 - グリホサート耐性（米国特許第7,632,985号明細書並びに関連出願及び特許明細書）、M O N 8 7 7 0 8 - ジカンバ耐性（米国特許出願公開第2011/0067134号明細書並びに関連出願及び特許明細書）、ドイツ国特許第356043 - 5号明細書 - グリホサート及びA L S耐性（米国特許出願公開第2010/0184079号明細書並びに関連出願及び特許明細書）、A 2 7 0 4 - 1 2 - グルホシネート耐性（米国特許出願公開第2008/0320616号明細書並びに関連出願及び特許明細書）、ドイツ国特許第305423 - 1号明細書 - A L S耐性（米国特許出願公開第2008/0312082号明細書並びに関連出願及び特許明細書）、A 5 5 4 7 - 1 2 7 - グルホシネート耐性（米国特許出願公開第2008/0196127号明細書並びに関連出願及び特許明細書）、ドイツ国特許出願第S - 4 0 2 7 8 - 9号明細書 - 2,4 - ジクロロフェノキシ酢酸及びアリールオキシフェノキシプロピオン酸に対する耐性（国際公開第2011/022469号パンフレット、国際公開第2011/022470号パンフレット、及び国際公開第2011/022471号パンフレット、並びに関連出願及び特許明細書）、1 2 7 - A L S耐性（国際公開第2010/080829号パンフレット、並びに関連出願及び特許明細書）、G T S 4 0 - 3 - 2 - グリホサート耐性、ドイツ国特許出願第S - 6 8 4 1 6 - 4号明細書 - 2,4 - ジクロロフェノキシ酢酸及びグルホシネート耐性、F G 7 2 - グリホサート及びイソキサフルトール耐性、B P S - C V 1 2 7 - 9 - A L S耐性、並びにG U 2 6 2 - グルホシネート耐性、S Y H T 0 4 R - H P P D耐性。

【0045】

イベントS Y H T 0 H 2を、少なくとも1つの他の特徴と組み合わせることにより、様々な所望の特徴の組合せをさらに含む本発明の植物を作製することができ、こうした特徴としては、限定されないが、以下のものがある：高油分など、動物飼料に望ましい特徴（例えば、米国特許第6,232,529号明細書）；バランスの取れたアミノ酸含量（例：ホルドチオニン（米国特許第5,990,389号明細書；同第5,885,801号明細書；同第5,885,802号明細書；及び同第5,703,409号明細書；米国特許第5,850,016号明細書）；わずかに高いリシン（W i l l i a m s o n e t a l . , Eur . J . B i o c h e m . , 1 9 8 7 , 1 6 5 : 9 9 - 1 0 6 ; 及び国際公開第98/20122号パンフレット）及び高メチオニンタンパク質（P e d e r s e n e t a l . , J . B i o l . C h e m . 1 9 8 6 , 2 6 1 : 6 2 7 9 ; K i r i h a r a e t a l . , G e n e , 1 9 8 8 , 7 1 : 3 5 9 ; 及びM u s u m u r a e t a l . , P l a n t M o l . B i o l . , 1 9 8 9 , 1 2 : 1 2 3 ））；消化性の増加（例：改変貯蔵タンパク質（米国特許第6,858,778号明細書）；並びにチオレドキシン（米国特許第7,009,087号明細書）；これらの文献の開示内容は、参照として本明細書に組み込むものとする。所望の特徴の組合せには、L L N C（低リノレン酸含量；例えば、D y e r e t a l . , A p p l . M i c r o b i o l . B i o t e c h n o l . , 2 0 0 2 , 5 9 : 2 2 4 - 2 3 0 を参照）及びO L C H（高オレイン酸含量；例えば、F e r n a n d e z - M o y a e t a l . , J . A g r i c . F o o d C h e m . , 2 0 0 5 , 5 3 : 5 3 2 6 - 5 3 3 0 ）が含まれる。

【0046】

イベントS Y H T 0 H 2は、以下のような他の望ましい特徴と組み合わせができる：例えば、フモニシン解毒遺伝子（米国特許第5,792,931号明細書））、非病原性及び病害抵抗性遺伝子（J o n e s e t a l . , S c i e n c e , 1 9 9 4 , 2 6 6 : 7 8 9 ; M a r t i n e t a l . , S c i e n c e , 1 9 9 3 , 2 6 2 : 1 4 3 2 ; M i n d r i n o s e t a l . , C e l l , 1 9 9 4 , 7 8 : 1 0 8 9 ）、並びに変性油のような製品の加工又は処理に望ましい特徴（例：脂肪酸デサチュラーゼ遺伝子（米国特許第5,952,544号明細書；国際公開第94/11516号パンフレット））；変性デンプン（例：A D P G ピロホスホリラーゼ（A G P a s e ）、デンプンシターゼ（S S ）、デンプン分枝酵素（S B E ），及びデンプン枝切り酵素（S D B E ））；並びにポリマー若しくはバイオプラスチック（例：米国特許第5,602,321号

明細書； - ケトチオラーゼ、ポリヒドロキシ酪酸シンターゼ、及びアセトアセチル - C o A レダクターゼ (Schubert et al . , J . Bacteriol . , 1988 , 170 : 5837 - 5847) は、ポリヒドロキシアルカノエート (PHA) の発現を促進する；尚、上記文献の開示内容は、参照として本明細書に組み込まれる。また、除草剤耐性ポリヌクレオチドを、農学的特徴を賦与するポリヌクレオチドと組み合わせることも可能であり、このような特徴として、例えば、雄性不稔 (例えば、米国特許第 5 , 583 , 210 号明細書を参照) 、茎強度、開花時期、又は形質転換技術による特徴、例えば、細胞周期調節若しくは遺伝子ターゲティング (例えば、国際公開第 99/61619 号パンフレット、同第 00/17364 号パンフレット、及び同第 99/25821 号パンフレットを参照) ；尚、上記文献の開示内容は、参照として本明細書に組み込まれる。

10

【 0047 】

本発明の別の態様では、イベント SYHT0H2 を Rcg1 配列又はその生物学的に活性の変異体若しくはフラグメントと組み合わせることができる。 Rcg1 配列は、トウモロコシにおける炭素性茎腐敗病耐性遺伝子である、例えば、米国特許出願公開第 20060225151 号明細書、同第 20060223102 号明細書、及び同第 20060225152 号明細書を参照されたい。尚、これらの文献の各々は、本明細書に参照として組み込むものとする。

【 0048 】

前述した積層組合せは、任意の方法により作出することができ、このような方法として、限定されないが、あらゆる従来の又は Top Cross 方法による植物の育種、又は遺伝子形質転換がある。植物の遺伝子形質転換により、配列を積層する場合には、目的のポリヌクレオチドを、任意の時点及び任意の順序で組み合わせることができる。形質転換力セットの任意の組合せによって提供される目的のポリヌクレオチドと一緒に、上記の特徴を共形質転換プロトコルに同時に導入することができる。例えば、2つの配列を導入する場合には、2つの配列を個別の形質転換力セットに含有させる (trans) か、又は同じ形質転換力セットに含有させる (cis) ことができる。配列の発現は、同じプロモーター又は異なるプロモーターによって駆動することができる。特定の態様では、目的のポリヌクレオチドの発現を抑制する形質転換力セットを導入することが望ましい。これを他の抑制力セット又は過剰発現力セットの任意の組合せと組み合わせて、植物中に所望の特徴の組合せを生成することもできる。さらに、部位特異的組換えシステムを用いて、ポリヌクレオチド配列を所望のゲノム位置に積層してもよいことは認識されよう。例えば、国際公開第 99/25821 号パンフレット、同第 99/25854 号パンフレット、同第 99/25840 号パンフレット、同第 99/25855 号パンフレット、及び同第 99/25853 号パンフレットを参照されたい。尚、これらの文献はすべて、本明細書に参照として組み込むものとする。

20

30

【 0049 】

本明細書で用いる場合、用語「ポリヌクレオチド」の使用は、リボヌクレオチド及び / 又はデオキシリボヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを包含し、天然に存在する分子及び合成類似体の両方を含むものとする。ポリヌクレオチドは、あらゆる形態の配列を包含し、こうした形態として、限定されないが、一本鎖形態、二本鎖形態、ヘアピン、ステム及びループ構造などがある。

40

【 0050 】

SYHT0H2 植物は、突然変異体 HPPD 遺伝子と、突然変異体 HPPD 遺伝子に機能的に連結された 5' 及び 3' 調節配列を有する発現力セットを含む。「機能的に連結された」とは、2つ以上のエレメント同士の機能性連結を意味するものとする。例えば、目的のポリヌクレオチドと調節配列 (すなわち、プロモーター) 同士の機能的連結は、目的のポリヌクレオチドの発現を可能にする機能性連結である。機能的に連結したエレメントは、連続的又は非連続的のいずれであってもよい。機能的連結による、2つのタンパク質コード領域の結合を指すのに用いる場合には、コード領域は、同じリードィングフレーム

50

内にあることが意図される。カセットは、生物に共形質転換しようとする少なくとも1つの別の遺伝子をさらに含んでいてもよい。あるいは、上記の別の遺伝子を複数の発現カセットに提供することもできる。こうした発現カセットは、調節領域の転写調節下に置こうとするポリヌクレオチドの挿入のための複数の制限部位及び/又は組換え部位を備えている。発現カセットは、選択マーカー遺伝子をさらに含んでもよい。

【0051】

発現カセットは、5'から3'の転写方向に、植物における転写及び翻訳開始領域(すなわち、プロモーター)、コード領域、並びに転写及び翻訳終結領域機能を含む。「プロモーター」とは、コード配列又は機能性RNAの発現を制御することができるヌクレオチド配列を指す。一般に、コード配列は、プロモーター配列に対して3側に位置する。プロモーター配列は、近位の上流エレメント及びより遠位の上流エレメントを含んでもよく、後者のより遠位のエレメントは、エンハンサーと呼ばれることが多い。従って、「エンハンサー」は、プロモーター活性を刺激することができるヌクレオチド配列であり、プロモーターの内在的エレメントであってもよいし、又はプロモーターのレベル又は組織特異性を増強するために挿入される異種エレメントであってもよい。プロモーターは、その全体が、天然型遺伝子に由来するものであっても、天然に存在する様々なプロモーター由来の様々なエレメントから構成されるものであってもよく、さらには、合成ヌクレオチドセグメントを含んでいてもよい。様々なプロモーターが、様々な組織型若しくは細胞型において、あるいは様々な発生段階で、又は様々な環境条件に応答して、遺伝子の発現を指令しうることが、当業者には理解される。核酸フラグメントを、ほとんどの細胞型においてほとんどの場合でも発現させるプロモーターは、一般に、「構成的プロモーター」と呼ばれている。植物細胞に有用な様々なタイプの新規プロモーターは、常に発見され続けており；多数の例を、Okamuro及びGoldbergによる編纂物、Biochemistry of Plants, 1989 15: 1-82に見出すことができる。さらに、ほとんどの場合、調節配列の正確な境界は完全には規定されていないため、様々な長さの核酸フラグメントが、同じプロモーター活性を有しうることも認識される。

【0052】

発現カセットは、5'リーダー配列を含んでもよい。このようなリーダー配列は、翻訳を促進するように作用することができる。調節配列(すなわち、プロモーター、転写調節領域、RNAプロセシング又は安定領域、イントロン、ポリアデニル化シグナル、及び翻訳終結領域)及び/又はコード領域は、宿主細胞に対して、又は互いに天然/類似若しくは異種のいずれであってもよい。

【0053】

「翻訳リーダー配列」とは、遺伝子のプロモーター配列とコード配列の間に位置するヌクレオチド配列を指す。翻訳リーダー配列は、翻訳開始配列の上流の完全にプロセシングされたmRNAに存在する。翻訳リーダー配列は、mRNAの一次転写物のプロセシング、mRNA安定性及び/又は翻訳効率など、多くのパラメーターに影響を与える。翻訳リーダー配列の例は、記載されている(Turner & Foster, Mol. Biotechnol., 1995, 3: 225-236)。「3'非コード配列」とは、コード配列の下流に位置するヌクレオチド配列を指し、ポリアデニル化認識配列、及びmRNAプロセシング又は遺伝子発現に影響を与えることができる調節シグナルをエンコードする他の配列を含む。ポリアデニル化シグナルは、通常、mRNA前駆体の3'末端へのポリアデニル酸部分の付加に影響を与えることを特徴とする。様々な3'非コード配列の使用が、Engelbrecht et al., Plant Cell, 1989, 1: 671-680によって例示されている。

【0054】

本明細書において、配列に関して用いる「異種」とは、外来種が起源であるか、又は同じ種に由来する場合には、意図的な人為的介入によって、組成及び/又はゲノム遺伝子座がその天然型から実質的に改変されている配列である。例えば、異種ポリヌクレオチドに機能的に連結されたプロモーターは、このポリヌクレオチドが由来する種とは異なる種に

10

20

30

40

50

由来するか、あるいは、同じ／類似の種に由来する場合には、一方又は両方が、その本来の型及び／若しくはゲノム遺伝子座から実質的に改変されているか、又は、このプロモーターは、機能的に連結されたポリヌクレオチドの天然のプロモーターではない。

【0055】

発現カセットの作製に際して、適正な配向の、また必要に応じて、適正なリードイングフレーム内のDNA配列を提供するように、様々なDNAフラグメントを操作することもできる。その終点に向けて、アダプター若しくはリンカーを使用して、DNAフラグメントを結合してもよいし、又は好都合な制限部位の付与、過剰なDNAの除去、制限部位の除去などのために他の操作を実施してもよい。この目的のために、in vitro突然変異誘発、プライマー修復、制限、アニーリング、再置換、例えば、トランジション及びトランスバージョンを含んでもよい。発現カセットは、形質転換細胞の選択のための選択マーカー遺伝子を含むことができる。選択マーカー遺伝子は、形質転換細胞又は組織の選択のために用いられる。

【0056】

ダイズSYHT0H2イベントの検出及び／又は同定のための様々な方法に用いることができる単離ポリヌクレオチドが提供される。「単離（された）」若しくは「精製（された）」ポリヌクレオチド、又はその生物学的に活性の部分は、それが天然に存在する環境に見出されるようなポリヌクレオチドに、通常、付随するか、又はこれと相互作用する成分を実質的に、若しくはほとんど含まない。従って、単離又は精製ポリヌクレオチドは、組換え技術で作製される場合には、他の細胞材料、若しくは培地を実質的に含まず、あるいは、化学的に合成される場合には、化学的前駆物質若しくはその他の化学物質を実質的に含まない。最適には、「単離」ポリヌクレオチドは、このポリヌクレオチドが由来する生物のゲノムDNA内のポリヌクレオチドに天然にフランкиングする配列（最適には、タンパク質コード配列）（すなわち、上記ポリヌクレオチドの5'及び3'末端に位置する配列）を含まない。例えば、本発明の様々な態様では、単離ポリヌクレオチドは、このポリヌクレオチドが由来する生物のゲノムDNA内のポリヌクレオチドに天然にフランкиングするヌクレオチド配列の約5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb、又は0.1kb未満を含みうる。誤解のないように言うと、「単離」配列は、in vitro又はin vivoのいずれでも、依然として他のDNAに関連している可能性があり、例えば、トランスジェニック細胞又は生物に存在しうる。

【0057】

本発明の特定の態様では、ポリヌクレオチドは、配列番号1～6に示される結合部DNA配列を含む。本発明の別の態様では、ポリヌクレオチドは、配列番号11～12に示されるDNA配列並びにその変異体及びフラグメントを含む。結合部DNAのフラグメント及び変異体は、イベントSYHT0H2を差別的に同定するのに好適である。本明細書の他所で述べるように、このような配列は、プライマー及び／又はプロモーターとして有用である。

【0058】

本発明の別の態様では、イベントSYHT0H2又はSYHT0H2特異的領域を検出することができるポリヌクレオチドが提供される。このような配列は、配列番号1～20に示されるあらゆるポリヌクレオチド並びにその変異体及びフラグメントを含む。本発明の特定の態様では、イベントSYHT0H2を検出するのに用いられるポリヌクレオチドは、配列番号10に示される配列、又は少なくとも20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、若しくは180ヌクレオチドを有する配列番号10のフラグメントを含む。イベントSYHT0H2又はSYHT0H2特異的領域を検出するポリヌクレオチドのフラグメント及び変異体は、イベントSYHT0H2を差別的に同定するのに好適である。本明細書の他所で述べるように、このような配列は、プライマー及び／又はプローブとして有用である。さらに、(a)配列番号11～12、14～15、及び17～21のいずれか1つに示される配列、並びに(b)配列番号10の変異体及びフラグメント若しくはその相補体を含

10

20

30

40

50

む、又はこれらから構成される単離DNAスクレオチドプライマー配列も提供される。

【0059】

「変異体」とは、実質的に類似した配列を意味する。ポリヌクレオチドについては、変異体は、5'及び/若しくは3'末端に欠失(すなわち切断部分)；天然のポリヌクレオチド内の1つ以上の内部部位に1つ以上のスクレオチドの欠失及び/若しくは付加；並びに/又は天然のポリヌクレオチド内の1つ以上の内部部位に1つ以上のスクレオチドの置換を有するポリヌクレオチドを含む。

【0060】

本明細書で用いる「プローブ」とは、従来の検出可能な標識又はレポーター分子、(例えば、放射性同位元素、リガンド、化学発光剤、酵素など)を結合させた、単離ポリヌクレオチドである。このようなプローブは、標的ポリヌクレオチドの鎖(本発明の場合には、ダイズ植物に由来するか、又はイベント由来のDNAを含むサンプルに由来するかにかかわらず、ダイズイベントSYHT0H2由来の単離DNAの鎖)に相補的である。プローブは、デオキシリボ核酸又はリボ核酸だけではなく、ポリアミド及び標的DNA配列の存在を特異的に検出することができる他のプローブ材料も含む。

10

【0061】

本明細書で用いる「プライマー」とは、核酸ハイブリダイゼーションによって相補的な標的DNA鎖にアニールさせて、プライマーと標的DNA鎖との間にハイブリッドを形成し、次いで、ポリメラーゼ(例えば、DNAポリメラーゼ)によって標的DNA鎖に沿って伸長される、単離ポリヌクレオチドである。プライマー対とは、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)又は他の従来の核酸増幅方法による、標的ポリヌクレオチドの増幅のためのそれらの使用を指す。「PCR」又は「ポリメラーゼ連鎖反応」は、特異的DNAセグメントの増幅に用いられる技術である(米国特許第4,683,195号明細書及び同第4,800,159号明細書を参照；尚、これらの文献は参照として本明細書に組み込まれる)。本明細書に開示するプライマーの任意の組合せを用いて、それらの対により、イベントSYHT0H2の検出を可能にことができる(例えば、配列番号11~12、14~15、及び17~21、並びに配列番号10の変異体若しくはフラグメント又はその相補体を含むプライマー)。開示される方法に有用なプライマー対の非制限的例として、以下のものが挙げられる：(a)配列番号11のポリヌクレオチド配列を含む第1プライマーと、配列番号12のポリヌクレオチド配列を含む第2プライマー(これは、ダイズゲノムDNAのLB1(左ボーダー1)結合部と、アベナ(Avena)HPPD配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる)；(b)配列番号14のポリヌクレオチド配列を含む第1プライマーと、配列番号15のポリヌクレオチド配列を含む第2プライマー(これは、ダイズゲノムDNAのLB2(左ボーダー2)結合部と、アベナ(Avena)HPPD配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる)；(c)配列番号17のポリヌクレオチド配列を含む第1プライマーと、配列番号18又は配列番号19のポリヌクレオチド配列を含む第2プライマー(これは、ダイズゲノムDNAのLB1結合部と、アベナ(Avena)HPPD配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる)；(d)配列番号17ポリヌクレオチド配列を含む第1プライマーと、配列番号20又は配列番号21のポリヌクレオチド配列を含む第2プライマー(これは、ダイズゲノムDNAのLB1結合部と、アベナ(Avena)HPPD配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる)。「LB1」は、挿入断片結合部又はフランキング配列を説明するのに用いられる場合、挿入及び隣接フランキング配列の3'末端を指し、「LB2」は、挿入断片結合部又はフランキング配列を説明するのに用いられる場合、挿入断片及び隣接フランキング配列の5'末端を指す。

20

【0062】

プローブ及びプライマーは、標的DNA配列に結合して、イベントSYHT0H2を有するポリヌクレオチドを特異的に検出及び/又は同定するのに十分なスクレオチド長さである。ハイブリダイゼーション条件又は反応条件は、操作者が、この結果を達成するよう

30

40

50

に、決定することができることは認識されよう。この長さは、選択した検出方法に役立つのに十分な任意の長さであってよい。一般に、8、11、14、16、18、20、24、26、28、30、40、50、75、100、200、300、400、500、600、700ヌクレオチド以上、又は約11～20、20～30、30～40、40～50、50～100、100～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800ヌクレオチド以上の長さを用いる。このようなプローブ及びプライマーは、高ストリンジエンシーのハイブリダイゼーション条件下で標的配列に特異的にハイブリダイズすることができる。本発明の態様に従うプローブ及びプライマーは、標的配列と隣接ヌクレオチドの完全なDNA配列同一性を有していてもよいが、標的DNA配列とは異なり、かつ標的DNA配列を特異的に検出及び/又は同定する能力を保持するプローブを、従来の方法により設計することもできる。従って、プローブ及びプライマーは、標的ポリヌクレオチド（すなわち、配列番号1～12）に対して、約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%以上の配列同一性又は相補性を共有してもよいし、標的配列（すなわち、配列番号1～12）と、1、2、3、4、5、6ヌクレオチド以上異なっていてもよい。プローブは、プライマーとして用いることができるが、一般に、標的DNA又はRNAと結合するように設計されており、増幅プロセスでは用いられない。

【0063】

特異的プライマーは、生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2を同定するための「特異的プローブ」として用いることができるか、又はそれ自体が検出されうるアンプリコンを生成するために、組込みフラグメントを増幅するのに用いることができる。あるいは、増幅イベントの検出を可能にするために、プローブをPCR反応中に用いることができる（すなわち、Taqman（登録商標）プローブ又はMGB（商標）プローブ）（いわゆるリアルタイムPCR）。プローブとサンプルとの結合を可能にする条件下で、プローブを生物学的サンプルのポリヌクレオチドとハイブリダイズする場合には、この結合は検出することができるため、生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2の存在を示すことが可能になる。このような結合プローブの同定は、当分野で記載されている。本発明の一態様では、特異的プローブは、最適化条件下で、イベントの5'又は3'フランкиング領域内の領域に特異的にハイブリダイズすると共に、この領域と隣接する外来DNAの一部を含む配列である。特異的プローブは、イベントSYHT0H2の特定の領域に対して、少なくとも80%、80%～85%、85%～90%、90%～95%、及び95～100%の同一性（又は相補性）を有する配列を含みうる。

【0064】

本明細書で用いる場合、「増幅DNA」又は「アンプリコン」は、核酸錠型の一部である標的ヌクレオチドのポリヌクレオチド増幅の産物を指す。例えば、有性交配によって得られるダイズ植物が、イベントSYHT0H2を含むか否かを決定するために、挿入された異種DNAの挿入部位に隣接するフランкиング配列に由来する第1プライマーと、挿入された異種DNAに由来する第2プライマーとを含むDNAプライマー対を用いて、ダイズ植物組織サンプルから抽出されたDNAをポリヌクレオチド増幅方法に付すことにより、イベントSYHT0H2のDNAの存在に特徴的なアンプリコンを生成する。イベントSYHT0H2に「特徴的」という表現によって、生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2の存在又は非存在を識別する任意の方法又はアッセイの使用が意図される。上記に代わり、第2プライマーは、フランкиング配列に由来するものであってよい。本発明のさらに別の態様では、プライマー対は、発現構築物の挿入ポリヌクレオチド全体と、トランスジェニック挿入断片にフランкиングする配列を含むアンプリコンを生成するよう、挿入DNAの両側のフランкиング配列に由来するものであってよい。アンプリコンは、イベントに特徴的な長さであり、かつこれに特徴的な配列を有する（すなわち、イベントSYHT0H2由来の結合部DNAを有する）。アンプリコンの長さは、プライマー対に1ヌクレオチド塩基対を加えた合計長さから、DNA増幅プロトコルにより生成可能なアンプリコンのあらゆる長さまで変動しうる。フランкиング配列に由来するプライマー対の

10

20

30

40

50

メンバーは、挿入DNA配列から、一定の距離に位置しうるが、この距離は、1ヌクレオチド塩基対から、増幅反応の限界、すなわち、約2万ヌクレオチド塩基対まで変動しうる。用語「アンプリコン」の使用は、DNA熱増幅反応で形成されうるプライマーニ量体を除外する。

【0065】

プロープ及びプライマーを作製及び使用する方法は、例えば、以下の文献に記載されている：Sambrook et al. (eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed, vol. 1-3, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, 1992, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, NY; 及び Innis et al., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, 1990, Academic Press, San Diego, CA。PCRプライマー対は、例えば、Vector NTIバージョン6 (Informatix Inc., Bethesda, MD.); PrimerSelect (DNASTAR Inc., Madison, WI.); 及び Primer (Version 0.5. COPYRGHT., 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA.) のPCRプライマー分析ツールなどの、その目的のために意図されるコンピュータープログラムを用いて、既知の配列から得ることができる。さらに、当業者には公知のガイドラインを用いて、この配列を視覚的にスキャンした後、プライマーを手動で同定することができる。

【0066】

本明細書で用いる「トランスジェニック」という用語は、その遺伝子型が、異種核酸の存在によって改変された、あらゆる細胞、細胞系、カルス、組織、植物部分、又は植物（最初にそのように改変されたこれらのトランスジェニック、及びこの最初のトランスジェニックからの有性交配又は無性増殖によって作出されたものを含む）を含むと理解すべきである。用語「トランスジェニック」は、本明細書で用いられる場合、従来の植物育種方法によるか、又は天然に存在するイベント（例えば、ランダムな交雑受精、非組み換えウイルス感染、非組み換え細菌形質転換、非組み換え転位、又は自然突然変異）による、ゲノムの改変（染色体の、又は染色体外の）改変を含まない。

【0067】

「形質転換」とは、遺伝学的に安定した遺伝をもたらす、宿主生物のゲノムへの核酸フラグメントの移入を指す。形質転換された核酸フラグメントを含む宿主生物は、「トランスジェニック」生物と呼ばれる。植物の形質転換の方法の例としては、アグロバクテリウム (Agrobacterium) 媒介の形質転換 (De Blaere et al., Meth. Enzymol., 1987, 143:277) 及び粒子加速又は「遺伝子銃」形質転換技術 (Klein et al., Nature, 1987, 327:70-73; 米国特許第4,945,050号明細書；これらの文献は、本明細書に参照として組み込まれる) が挙げられる。さらに別の形質転換方法は、以下に開示する。

【0068】

このように、単離ポリヌクレオチドは、宿主細胞中に導入可能であり、かつ宿主細胞内で複製可能な、組換え構築物（典型的には、DNA構築物）に組み込むことができる。このような構築物は、ポリペプチドのコード配列を所定の宿主細胞内で転写及び翻訳することが可能な複製系及び配列を含むベクターであってよい。植物細胞の安定なトランスフェクションに適した、又はトランスジェニック植物の構築に適したいくつかのベクターが、例えば、以下の文献に記載されている：Pouwels et al., Cloning Vectors: A Laboratory Manual, 1985; Supp. 1 987; Weissbach & Weissbach, Methods for Pl

10

20

30

40

50

ant Molecular Biology, 1989, Academic Press, New York, NY; 及び Flevin et al., Plant Molecular Biology Manual, 1990, Kluwer Academic Publishers。典型的には、植物発現ベクターは、例えば、5'及び3'調節配列の転写制御下の1つ以上のクローニング植物遺伝子、並びに優性選択マーカーを含む。こうした植物発現ベクターはまた、プロモーター調節領域（例えば、誘導性若しくは構成的発現、環境的に、若しくは発生的に調節された発現、又は細胞若しくは組織特異的な発現を制御する調節領域）、転写開始部位、リボソーム結合部位、RNAプロセシングシグナル、転写終結部位、及び/又はポリアデニル化シグナルを含んでよい。

【0069】

10

イベントSYHT0H2を同定するための様々な方法および組成物が提供される。このような方法は、あらゆる生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2を同定及び/又は検出する上で有用である。こうした方法として、例えば、種子の純度を確認する方法や、イベントSYHT0H2について種子ロット中の種子をスクリーニングする方法がある。本発明の一態様では、生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2を同定するための方法が提供され、この方法は、サンプルを第1及び第2プライマーと接触させるステップ；及びSYHT0H2特異的領域を含むポリヌクレオチドを増幅するステップを含む。

【0070】

生物学的サンプルは、イベントSYHT0H2を有するDNAが存在するか否かの決定が所望される任意のサンプルを含みうる。例えば、生物学的サンプルは、あらゆる植物材料、又は植物材料を含む、若しくはこれに由来する材料、例えば、限定されないが、食品又は飼料製品を含みうる。本明細書で用いる場合、「植物材料」は、植物若しくは植物部分から得られるか、又はこれに由来する材料を指す。本発明の特定の態様では、生物学的サンプルは、ダイズ組織を含む。

20

【0071】

本明細書に開示されるフランкиングDNA及び挿入配列に基づくプライマー及びプローブは、従来の方法によって（例えば、このような配列をクローニングして、配列決定することによって）、開示された配列を確認するために（そして、必要であれば、補正するために）用いることができる。ポリヌクレオチドプローブ及びプライマーは、標的DNA配列を特異的に検出する。サンプル中のトランスジェニックイベント由来のDNAの存在を同定するために、任意の従来の核酸ハイブリダイゼーション又は増幅方法を用いることができる。「特異的に検出する」とは、ポリヌクレオチドをプライマーとして用いて、SYHT0H2特異的領域を増幅するか、又はストリンジエントな条件下で、イベントSYHT0H2又はSYHT0H2特異的領域を有するポリヌクレオチドにハイブリダイズするプローブとして、ポリヌクレオチドを用いることを意味する。イベントSYHT0H2又はイベントSYHT0H2の特異的領域の特異的検出を可能にするハイブリダイゼーションのレベル又は程度は、SYHT0H2特異的領域を含むポリヌクレオチドを、この領域がないポリヌクレオチドから識別することによって、イベントSYHT0H2を差別的に同定することを可能にするのに十分なものである。「SYHT0H2特異的イベントの増幅を可能にするのに十分な配列同一性又は相補性を共有する」とは、配列が、SYHT0H2特異的領域を有するポリヌクレオチドのフラグメント又は完全長配列に対して、少なくとも約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%若しくは100%の同一性又は相補性を共有することを意味する。

30

【0072】

40

特定の増幅プライマー対を用いた標的ポリヌクレオチドの増幅（例えば、PCRによる）に関して、「ストリンジエントな条件」は、対応する野生型配列（又はその相補体）を有するプライマーが、DNA熱増幅反応において、SYHT0H2特異的領域を有する同定可能な増幅産物（アンプリコン）を生成する、標的ポリヌクレオチドに、プライマーが、ハイブリダイズすることを可能にする条件である。PCRアプローチでは、SYHT0

50

H 2 特異的領域を増幅する PCR 反応に用いるためのオリゴヌクレオチドプライマーを設計することができる。PCR プライマーの設計及び PCR クローニングの方法は、当分野では公知であり、以下の文献に開示されている：Sambrook et al. (eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York; Innis et al. (eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, 1990, Academic Press, New York; Innis & Gelfand (eds.), PCR Strategies, 1995, Academic Press, New York; 及び Innis & Gelfand (eds.), PCR Methods Manual, 1999, Academic Press, New York。増幅の方法については、米国特許第 4,683,195 号明細書及び同第 4,683,202 号明細書、並びに Chen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1994, 91: 5695-5699 にさらに詳しく記載されている。上記の方法及び DNA 増幅の当分野で公知の他の方法を本発明の別の態様の実施に用いてもよい。特定の PCR プロトコルにおけるいくつかのパラメーターが、具体的な実験室条件に合わせて調節を要する場合もあり、また、若干変更されうるが、それでも同様の結果の収集を可能にすることを理解されたい。これらの調節は、当業者には明らかであろう。

【0073】

10

増幅されたポリヌクレオチド（アンプリコン）は、イベント SYHT0H2 又は SYHT0H2 特異的領域の検出を可能にする、どんな長さであってもよい。例えば、アンプリコンは、約 10、50、100、200、300、400、500、700、100、2000、3000、4000、5000 ヌクレオチドの長さであってよい。

【0074】

20

本発明の特定の態様では、イベント SYHT0H2 の特異的領域を検出する。SYHT0H2 特異的領域の増幅及び / 又は検出を可能にする、任意のプライマーを本発明で用いることができる。例えば、本発明の特定の態様では、第 1 プライマーは、配列番号 1 0 のポリヌクレオチドのフラグメントを含み、ここで、第 1 又は第 2 プライマーは、SYHT0H2 特異的領域を増幅するのに、ポリヌクレオチドに対して、十分な配列同一性又は相補性を共有する。このプライマー対は、配列番号 1 1 のフラグメント及び配列番号 1 2 のフラグメントを含んでもよい。本発明のさらに別の態様では、第 1 及び第 2 プライマーは、(a) 配列番号 1 1 ~ 1 2、1 4 ~ 1 5、及び 1 7 ~ 2 1 に示される配列のいずれか 1 つ又は任意の組合せ；又は (b) 配列番号 1 0 のフラグメント又はその相補体の配列を含んでよい。プライマーは、SYHT0H2 領域を増幅するのに十分な任意の長さであってよく、例えば、少なくとも 6、7、8、9、10、15、20、15、若しくは 30、又は約 7 ~ 10、10 ~ 15、15 ~ 20、20 ~ 25、25 ~ 30、30 ~ 35、35 ~ 40、40 ~ 45 ヌクレオチド以上の長さが挙げられる。本発明のある態様では、第 1 及び第 2 プライマーは、それぞれ、配列番号 1 1 及び配列番号 1 2；それぞれ、配列番号 1 4 及び配列番号 1 5；それぞれ、配列番号 1 7 及び配列番号 1 8；それぞれ、配列番号 1 7 及び配列番号 1 9；それぞれ、配列番号 1 7 及び配列番号 2 0；それぞれ、配列番号 1 7 及び配列番号 2 1 である。例えば、有用なプライマー対として、以下のものが挙げられる：(a) 配列番号 1 1 のポリヌクレオチド配列を含む第 1 プライマーと、配列番号 1 2 のポリヌクレオチド配列を含む第 2 プライマー（これは、ダイズゲノム DNA の LB1（左ボーダー 1）結合部と、アベナ（Avena）HPPD 配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる）；(b) 配列番号 1 4 のポリヌクレオチド配列を含む第 1 プライマーと、配列番号 1 5 のポリヌクレオチド配列を含む第 2 プライマー（これは、ダイズゲノム DNA の LB2（左ボーダー 2）結合部と、アベナ（Avena）HPPD 配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる）；(c) 配列番号 1 7 のポリヌクレオチド配列を含む第 1 プライマーと、配列番号 1 8 又は配列番号

30

40

50

19のポリヌクレオチド配列を含む第2プライマー（これは、ダイズゲノムDNAのLB1結合部と、アベナ（Avena）HPPD配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる）；（d）配列番号17ポリヌクレオチド配列を含む第1プライマーと、配列番号20又は配列番号21のポリヌクレオチド配列を含む第2プライマー（これは、ダイズゲノムDNAのLB1結合部と、アベナ（Avena）HPPD配列を含む挿入異種配列とをつなぐ配列を増幅するのに用いられる）。

【0075】

本明細書の他所で述べるように、イベントSYHT0H2又は特異的領域をPCR増幅するための任意の方法を使用することができ、このような方法として、例えば、リアルタイムPCRがある。例えば、Livak et al., PCR Methods and Applications, 1995, 4: 357-362；米国特許第5,538,848号明細書及び同第5,723,591号明細書；Applied Biosystems User Bulletin No.2, "Relative Quantitation of Gene Expression," P/N 4303859；及びApplied Biosystems User Bulletin No.5, "Multiplex PCR with TAKMAN(登録商標) VIC probes," P/N 4306236を参照されたい。尚、上記の文献の各々は、参照として本明細書に組み込まれる。

【0076】

従って、本発明の特定の態様では、生物学的サンプル中のダイズイベントSYHT0H2又はその子孫の存在を検出する方法が提供される。この方法は、以下を含む：（a）生物学的サンプルからDNAサンプルを抽出するステップ；（b）一対のDNAプライマー分子（例えば、配列番号11～12、14～15、及び17～21及び/又は配列番号10の有用なフラグメント若しくはその相補体の任意の組合せであり、この組合せは、イベントSYHT0H2特異的領域を増幅する）を提供するステップであって、上記組合せには、限定されないが、（i）配列番号11及び配列番号12の配列を含むプライマー、（ii）配列番号14及び配列番号15の配列を含むプライマー、（iii）配列番号17及び配列番号18の配列を含むプライマー、（iv）配列番号17及び配列番号19の配列を含むプライマー、（v）配列番号17及び配列番号20の配列を含むプライマー；並びに（vi）配列番号17及び配列番号21の配列を含むプライマーが含まれる、ステップ；（c）DNA増幅反応条件を提供するステップ；（d）DNA増幅反応を実施することにより、DNAアンプリコン分子を生成するステップ；（e）DNAアンプリコン分子を検出するステップであって、DNA増幅反応物中のDNAアンプリコン分子が、ダイズイベントSYHT0H2の存在を示す、ステップ。核酸分子がプライマー又はプローブとして機能するためには、用いられる特定の溶媒及び塩濃度下で、安定な二本鎖構造を形成することができるよう、十分相補的な配列であることが必要とされるにすぎない。

【0077】

ハイブリダイゼーション技術では、SYHT0H2特異的イベントを有する標的ポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズするポリヌクレオチドの全部又は一部を使用する。「ストリングエントな条件」又は「ストリングエントなハイブリダイゼーション条件」とは、ポリヌクレオチドプローブについて言うとき、プローブが、他の配列より検出可能に大きな度合い（例えば、背景の少なくとも2倍）まで、その標的配列にハイブリダイズする条件を意味する。特定の増幅プライマーを用いた標的ポリヌクレオチドの増幅（例えば、PCRによる）に関して、「ストリングエントな条件」は、プライマーが、対応する野生型を有する標的ポリヌクレオチドに、プライマーがハイブリダイズすることを可能にする条件である。ストリングエントな条件は、配列依存的であり、それぞれの状況に応じて異なる。ハイブリダイゼーション及び/又は洗浄条件のストリングエンサーを制御することにより、プローブに対して100%相補的な標的配列を同定することができる（相同的プロービング）。あるいは、より低い度合いの同一性が検出されるように、配列内にある程度のミスマッチを許容するように、ストリングエンサー条件を調節することもできる（

非相同的プロービング)。一般に、プローブは、長さ約1000ヌクレオチド未満、又は長さ500ヌクレオチド未満である。

【0078】

本明細書で用いる場合、実質的に同一又は相補的配列は、高ストリンジエンシー条件下で比較される核酸分子の相補体に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドである。DNAハイブリダイゼーションを促進する適切なストリンジエンシー条件(例えば、約45で6X塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)の後、50で2XSSCによる洗浄)は、当業者には公知であり、Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, 1989, John Wiley & Sons, NY, 6.3.1-6.3.6に見出すことができる。典型的には、ハイブリダイゼーション及び検出のためのストリンジエントな条件は、塩濃度が、約1.5M Na⁺イオン未満、典型的には、pH 7.0~8.3で約0.01~1.0M Na⁺イオン濃度未満(又は他の塩)であり、温度が、短いプローブ(例えば、10~50ヌクレオチド)の場合、少なくとも約30で、長いプローブ(例えば、50ヌクレオチド超)の場合、少なくとも約60であるような条件である。ストリンジエントな条件は、ホルムアミドのような不安定化剤の添加により達成してもよい。例としての低ストリンジエンシー条件は、37の30~35%ホルムアミド、1M NaCl、1%SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)のバッファー溶液を用いたハイブリダイゼーションの後、50~55のIX~2XSSC(20XSSC=3.0M NaCl/0.3Mクエン酸三ナトリウム)中での洗浄を含む。例としての中ストリンジエンシー条件は、37の40~45%ホルムアミド、1.0M NaCl、1%SDS中でのハイブリダイゼーションの後、55~60の0.5X~IXSSC中での洗浄を含む。例としての高ストリンジエンシー条件は、37の50%ホルムアミド、1M NaCl、1%SDS中でのハイブリダイゼーションの後、60~65の0.1XSSC中での洗浄を含む。任意で、洗浄バッファーは、約0.1%~約1%SDSを含んでよい。ハイブリダイゼーションの継続時間は、一般に、約24時間未満であり、通常、約4~約12時間である。洗浄の継続時間は、少なくとも平衡に達するのに十分な時間である。

【0079】

ハイブリダイゼーション反応において、特異性は、典型的に、ハイブリダイゼーション後の洗浄の関数であり、決定的な因子は、最終洗浄溶液のイオン強度及び温度である。DNA-DNAハイブリッドについては、T_mは、以下のMeinkoth及びWahlの式(Anal. Biochem., 1984, 138:267-284)から概算することができる: $T_m = 81.5 + 16.6 (\log M) + 0.41 (\% GC) - 0.61 (\% form) - 500/L$; 式中、Mは、1価カチオンのモル濃度であり、%GCは、DNA中のグアノシンヌクレオチド及びシトシンヌクレオチドのパーセンテージであり、%formは、ハイブリダイゼーション溶液中のホルムアミドのパーセンテージであり、Lは、ハイブリッドの塩基対長さである。T_mは、相補的標的配列の50%が、完全にマッチするプローブにハイブリダイズする温度(規定されたイオン強度及びpHの下で)である。T_mは、1%のミスマッチにつき、約1ずつ低下する; 従って、T_m、ハイブリダイゼーション、及び/又は洗浄条件は、所望の同一性の配列にハイブリダイズするように調節することができる。例えば、90%を超える同一性を有する配列が求められる場合には、T_mを10低下させることができる。一般に、ストリンジエントな条件は、既定されたイオン強度及びpHでの特定の配列及びその相補体についての熱融点(T_m)よりも約5低く選択される。しかし、厳しくストリンジエントな条件は、熱融点(T_m)よりも1、2、3、又は4低いハイブリダイゼーション及び/又は洗浄を使用することができ; 中程度にストリンジエントな条件は、熱融点(T_m)よりも6、7、8、9、又は10低いハイブリダイゼーション及び/又は洗浄を使用することができ; 低ストリンジエンシー条件は、熱融点(T_m)よりも11、12、13、14、15、又は20低いハイブリダイゼーション及び/又は洗浄を使用することができる。上記の式、ハイブリダ

10

20

30

40

50

イゼーション及び洗浄組成物、並びに所望のT_mを用いて、当業者は、ハイブリダイゼーション及び／又は洗浄溶液のストリンジエンシーの変化が固有に記載されることは理解されよう。所望のミスマッチの程度によって、45（水溶液）又は32（ホルムアミド溶液）よりも低いT_mとなる場合、より高い温度を使用できるように、SSC濃度を高めることが好ましい。核酸のハイブリダイゼーションについての広範な指針は、以下の文献に見出される：Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, 1993, Part I, Chapter 2, Elsevier, NY; Ausubel et al. (eds.), Current Protocols In Molecular Biology, 1995, Chapter 2, Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY; Sambrook et al. (eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, NY)及びHaymes et al., in: Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach, 1985, IRL Press, Washington, DC。

【0080】

ポリヌクレオチドが、別のポリヌクレオチドに対する相補性を呈示する場合、このポリヌクレオチドは、別のポリヌクレオチドの「相補体」であると言う。本明細書で用いる場合、分子は、ポリヌクレオチド分子の1つのすべてのヌクレオチドが、他の分子のヌクレオチドと相補的である場合、「完全な相補性」を示すと言う。2つの分子が、少なくとも従来の「低ストリンジエンシー」条件下で、互いにアニールした状態で保持されうるのに十分な安定性で互いにハイブリダイズすることができれば、「最低限に相補的である」と言う。同様に、これらの分子が、従来の「高ストリンジエンシー」条件下で、互いにアニールした状態で保持されうるのに十分な安定性で互いにハイブリダイズすることができれば、「相補的である」と言う。

【0081】

サンプル中のイベントSYHT0H2に対応するDNAの存在を検出する方法がさらに提供される。本発明の一態様では、本方法は、(a)生物学的サンプルを、ストリンジエントなハイブリダイゼーション条件下でダイズイベントSYHT0H2由来のDNAとハイブリダイズすると共に、イベントSYHT0H2を特異的に検出するポリヌクレオチドプローブと接触するステップ；(b)サンプル及びプローブをストリンジエントなハイブリダイゼーション条件に付すステップ；(c)プローブとDNAのハイブリダイゼーションを検出するステップを含み、ここで、ハイブリダイゼーションの検出が、イベントSYHT0H2の存在を示している。本発明の一態様では、DNAは、ハイブリダイゼーションイ事象の前に予め形成した適切な酵素で消化する。

【0082】

SYHT0H2特異的領域又はそのアンブリコンを検出するのに、様々な方法を用いることができ、このような方法として、Genetic Bit Analysis (Nikitin et al., Nucleic Acid Res., 1944, 22: 4167-4175)が挙げられるが、これに限定されない。一方では、隣接するフランкиングDNA配列及び挿入DNA配列の両方と重複する、DNAオリゴヌクレオチドが設計される。本発明の別の態様では、SYHT0H2特異的アンブリコンを許容するようにDNAオリゴが設計される。オリゴヌクレオチドは、マイクロウェルプレートのウェル中に固定化される。目的の領域のPCRに統いて、一本鎖PCR産物を、固定化オリゴヌクレオチドにハイブリダイズさせることができ、これは、DNAポリメラーゼと、予想される次の塩基に特異的な標識ddNTPとを用いた一塩基伸長反応のための鉄型として役立つ。読み出しへは、蛍光であっても、又はELISAに基づくものであってもよい。シグナルは、好適な増幅、ハイブリダイゼーション、及び一塩基伸長による、挿入／フラン

キング配列の存在を示す。

【0083】

別の検出方法は、Winge, Innov. Pharma. Tech., 2000, 00: 18-24)により記載されているようなパイロシーケンシング(Pyrosequencing)技術である。この方法では、隣接DNA及び挿入DNAの結合部に重複するオリゴヌクレオチドを設計するか、又は、SYHTOH2特異的領域を増幅することができる一対のオリゴを使用する。オリゴヌクレオチドは、目的の領域に由来する一本鎖PCR産物(挿入配列中に1つのプライマー及びフランкиング配列中に1つのプライマー)にハイブリダイズさせた後、DNAポリメラーゼ、ATP、スルフリラーゼ、ルシフェラーゼ、アピラーゼ、アデノシン5'ホスホ硫酸及びルシフェリンの存在下でインキュベートする。dNTPを個別に添加した後、取込みによって光シグナルが生じるが、これを測定する。光シグナルは、好適な増幅、ハイブリダイゼーション、及び一又は多塩基伸長による、トランスジーン挿入/フランキング配列の存在を示す。

【0084】

Chen et al., Genome Res., 1999, 9: 492-498)により記載されているような蛍光偏向は、本発明のアンプリコンを検出するのに用いることができる方法である。この方法を用いて、フランキング及び挿入DNAの結合部に重複するオリゴヌクレオチドを設計するか、又は、SYHTOH2特異的領域を増幅することができる一対のオリゴを使用する。オリゴヌクレオチドは、目的の領域に由来する一本鎖PCR産物(挿入DNA中に1つのプライマー及びフランキングDNA中に1つのプライマー)にハイブリダイズさせた後、DNAポリメラーゼ、及び蛍光標識ddNTPの存在下でインキュベートする。一塩基伸長により、ddNTPの取込みが起こる。取込みは、蛍光計を用いて、偏光の変化として測定することができる。偏光の変化は、好適な増幅、ハイブリダイゼーション、及び一塩基伸長による、トランスジーン挿入/フランキング配列の存在を示す。

【0085】

TAQMAN(登録商標)(PE Applied Biosystems, Foster City, CA)は、DNA配列の存在を検出及び定量する方法として記載されており、製造者によって提供される説明書で十分に理解される。手短に言うと、フランキング及び挿入DNAの結合部に重複するFRETオリゴヌクレオチドを設計するか、又は、SYHTOH2特異的領域を増幅することができる一対のオリゴを使用する。FRETプローブ及びPCRプライマー(挿入DNA配列中に1つのプライマー及びフランキングゲノム配列中に1つのプライマー)を、耐熱性ポリメラーゼ及びdNTPの存在下でサイクルさせる。FRETプローブのハイブリダイゼーションにより、FRETプローブのクエンチング部分から、蛍光部分の切断及び遊離が起こる。蛍光シグナルは、好適な増幅及びハイブリダイゼーションによる、フランキング/トランスジーン挿入配列の存在を示す。

【0086】

分子ビーコンは、Tyangi et al., Nature Biotech., 1996, 14: 303-308)に記載のような配列検出における使用のために記載されている。手短に言うと、フランキング及び挿入DNAの結合部に重複するFRETオリゴヌクレオチドを設計するか、又は、SYHTOH2特異的領域を増幅することができる一対のオリゴを使用する。FRETプローブの特有の構造により、これは、蛍光部分及びクエンチング部分を近接した状態で保持する二次構造を含むものになる。FRETプローブ及びPCRプライマー(挿入DNA配列中に1つのプライマー及びフランキング配列中に1つのプライマー)を、耐熱性ポリメラーゼ及びdNTPの存在下でサイクルさせる。好適なPCR増幅の後、FRETプローブの標的配列へのハイブリダイゼーションにより、プローブの二次構造の除去及び蛍光部分とクエンチング部分の空間的分離が起こる。蛍光シグナルが生じる。蛍光シグナルは、好適な増幅及びハイブリダイゼーションによる、フランキング/トランスジーン挿入配列の存在を示す。

【0087】

10

20

30

40

50

アンプリコン中に見出される配列に特異的なプローブを用いたハイブリダイゼーション反応は、P C R反応によって生成されたアンプリコンを検出するために用いられる、さらに別の方法である。

【0088】

本明細書において用いる場合、「キット」とは、本発明の方法の態様（より具体的には、生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2の同定及び／又は検出）を実施するための試薬一式を指す。品質管理（例えば、種子ロットの純度）の目的、植物材料、又は植物材料を含むか若しくはそれに由来する材料（例えば、限定されないが、食品又は飼料製品）中のイベントSYHT0H2の検出の目的のために、上記キットを用いることができ、また、その構成要素を具体的に調節することができる。

10

【0089】

本発明の特定の態様では、生物学的サンプル中のイベントSYHT0H2を同定するためのキットが提供される。このキットは、第1及び第2プライマーを含み、第1及び第2プライマーは、SYHT0H2特異的領域を含むポリヌクレオチドを増幅する。本発明の別の態様では、キットは、SYHT0H2特異的領域の検出のためのポリヌクレオチドを含む。キットは、例えば、配列番号10のポリヌクレオチドのフラグメント又はその相補体を含む第1プライマーを含み、ここで、第1又は第2プライマーは、SYHT0H2特異的領域を増幅するのに、ポリヌクレオチドに対して十分な同一性又は相補性を共有する。例えば、プライマー対は、配列番号11のフラグメント及び配列番号12のフラグメントを含んでもよい。本発明のさらに別の態様では、第1及び第2プライマーは、配列番号11～12、14～15、及び17～21に示される配列のいずれか1つ又は任意の組合せを含んでよい。プライマーは、SYHT0H2領域を増幅するのに十分な任意の長さであってよく、例えば、少なくとも6、7、8、9、10、15、20、15、若しくは30、又は約7～10、10～15、15～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45ヌクレオチド以上の長さが挙げられる。本発明のある態様では、第1及び第2プライマーは、それぞれ、配列番号11及び配列番号12；それぞれ、配列番号14及び配列番号15；それぞれ、配列番号17及び配列番号18；又はそれぞれ、配列番号17及び配列番号19；又はそれぞれ、配列番号17及び配列番号20；又はそれぞれ、配列番号17及び配列番号21である。例えば、前述のプライマー対を用いて、以下のものを増幅することができる：（a）ダイズゲノムDNAのLB1（左ボーダー1）結合部と、アベナ（Avena）HPPD配列を含む異種挿入断片とをつなぐ配列（配列番号11及び12；配列番号17及び18；配列番号17及び19）；又は（b）ダイズゲノムDNAのLB2（左ボーダー2）結合部と、アベナ（Avena）HPPD配列を含む異種挿入断片とをつなぐ配列（配列番号14及び15；配列番号17及び20；配列番号17及び21）。

20

【0090】

さらに、SYHT0H2特異的領域を特異的に検出することができる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含むDNA検出キットが提供され、このポリヌクレオチドは、配列番号10に相同的又は相補的な、十分な長さの隣接したヌクレオチドからなる少なくとも1つのDNAを含む。本発明の特定の態様では、DNA検出キットは、配列番号11～12のいずれか1つのポリヌクレオチド、若しくはそのフラグメント、又は配列番号11～12のいずれか1つにハイブリダイズする配列、若しくはそのフラグメントを含む。

30

【0091】

本方法及び組成物に使用されるポリヌクレオチド並びにそのフラグメント及び変異体のいずれも、イベントSYHT0H2のトランスジーン挿入の領域、イベントSYHT0H2の結合部配列、又はイベントSYHT0H2のフランкиング配列に対して配列同一性を共有しうる。様々な配列の関係を決定する方法は公知である。本明細書で用いられる場合、「参照配列」は、配列比較のための基準として用いられる規定の配列である。参照配列は、指定された配列のサブセット又は全部であってもよく；例えば、完全長cDNA若しくは遺伝子配列のセグメント、又は完全なcDNA若しくは遺伝子配列などが挙げられる

40

50

。本明細書で用いられる場合、「比較ウィンドウ」は、ポリヌクレオチド配列の隣接及び指定セグメントに関して用いられ、比較ウィンドウ中のポリヌクレオチドは、2つのポリヌクレオチドの最適なアラインメントのために参照配列（付加又は欠失を含まない）と比較して付加又は欠失（すなわちギャップ）を含みうる。一般に、比較ウィンドウは、長さが少なくとも20の隣接ヌクレオチドであり、最適には、30、40、50、100、又はそれを超える長さであってよい。当業者であれば、ポリヌクレオチド配列中へのギャップの挿入による参照配列との高度の類似性を避けるために、ギャップペナルティーを導入して、マッチの数からこれを差し引くことは理解されよう。

【0092】

比較のための配列のアラインメントの方法は、当分野において周知である。従って、任意の2つの配列同士の同一性（%）の決定は、数学アルゴリズムを用いて、達成することができる。このような数学アルゴリズムの非制限的例としては、以下のものがある：Myers & Miller, CABIOS, 1988, 4: 11-17のアルゴリズム；Smith et al., Adv. Appl. Math., 1981, 2: 482のローカルアラインメントアルゴリズム；Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol., 1970, 48: 443-453のグローバルアラインメントアルゴリズム；Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85: 2444-2448のローカルアラインメント検索方法；Karlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1990, 87: 2264のアルゴリズム（Karlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1993, 90: 5873-5877に記載のように改変）。

10

【0093】

これらの数学アルゴリズムのコンピューター実行は、配列同一性を決定するための配列の比較に使用することができる。このような実行として、限定されないが、以下のものが挙げられる：PC/Geneプログラム（IntelliGenetics, Mountain View, CAから入手可能）のCLUSTAL；ALIGNプログラム（Version 2.0）、並びにGCG Wisconsin Genetics Software Package, Version 10（Accelrys Inc., 9685 Scranton Road, San Diego, CAから入手可能）のGAP、BESTFIT、BLAST、FASTA、及びTFASTA。これらのプログラムを用いるアラインメントは、デフォルトパラメーターを用いて実施することができる。CLUSTALプログラムは、以下によって十分に記載されている：Higgins et al., Gene, 1988, 73: 237-244；Higgins et al., CABIOS, 1989, 5: 151-153；Corpet et al., Nucleic Acids Res., 1988, 16: 10881-90；Huang et al., CABIOS, 1992, 8: 155-65；及びPearson et al., Meth. Mol. Biol., 1994, 24: 307-331。ALIGNプログラムは、Myers & Miller, CABIOS, 1988, 4: 11-17のアルゴリズムに基づいている。アミノ酸配列を比較する場合には、ALIGNプログラムと共に、PAM120重量残基表、12のギャップ長ペナルティー、及び4のギャップペナルティーを用いることができる。Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215: 403のBLASTプログラムは、Karlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1993, 90: 5873-5877に基づく。タンパク質をエンコードするヌクレオチド配列に相同意的なヌクレオチド配列を取得するためには、BLASTNプログラム、スコア=100、語長=12を用いて、BLASTヌクレオチド検索を実施することができる。タンパク質又はポリペプチドに相同意的なアミノ酸配列を取得するためには、BLASTXプログラム、スコア=50、語長=3を用いて、BLASTタンパク質検索を実施することができる。比較の目的でギャップ付きアラインメントを取得するためには、Altschul

20

30

40

50

et al., Nucleic Acids Res., 1997, 25:3389に記載されているように、Gapped BLAST (BLAST 2.0) を使用することができる。あるいは、分子同士の距離関係を検出する反復検索を実施するために、PSI-BLAST (BLAST 2.0) を用いることができる。Altschul et al., Nucleic Acids Res., 1997, 25:3389を参照。BLAST、Gapped BLAST、PSI-BLASTを使用する場合、それぞれのプログラムのデフォルトパラメーター（例えば、ヌクレオチドについては、BLASTN、タンパク質についてはBLASTX）を用いることができる。アラインメントは、検査により手動で実施してよい。

【0094】

10

別途記載のない限り、本明細書に記載する配列同一性／類似性の値は、以下のパラメーターを用いたGAP Version 10を使用して得られる値を指す：50のGAP Weight及び3のLength Weight、並びにnwsgapdna.cmpスコア付けマトリクスを用いた、ヌクレオチド配列についての同一性（%）及び類似性（%）；8のGAP Weight及び2のLength Weight、並びにBLOSUM62スコア付けマトリクスを用いた、アミノ酸配列についての同一性（%）及び類似性（%）；又はこれらの任意の同等のプログラム。「同等のプログラム」とは、問題とする任意の2つの配列について、GAP Version 10により生成される対応アラインメントと比較して、同じヌクレオチド又はアミノ酸残基マッチ及び同じ配列同一性（%）を有するアラインメントを生成するあらゆる配列比較プログラムを意味する。

20

【0095】

マッチの数を最大にすると共に、ギャップの数を最小にする2つの完全な配列のアラインメントを見出すために、GAPは、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol., 1970, 48:443-453のアルゴリズムを用いる。GAPは、あらゆる可能なアラインメント及びギャップ位置を考慮して、最大数の対合塩基及び最少のギャップを有するアラインメントを生成する。これにより、対合塩基の単位でギャップ生成ペナルティー及びギャップ伸長ペナルティーを提供することが可能になる。GAPは、それが挿入するギャップ毎にマッチのギャップ生成ペナルティーを利用しなければならない。0より大きいギャップ伸長ペナルティーが選択された場合、GAPは、挿入されるギャップ毎に、ギャップの長さとギャップ伸長ペナルティーとの積を利用しなければならない。タンパク質配列のためのGCG Wisconsin Genetics Software PackageのVersion 10におけるデフォルトギャップ生成ペナルティー値及びギャップ伸長ペナルティー値は、それぞれ8及び2である。ヌクレオチド配列については、デフォルトギャップ生成ペナルティーは50であり、デフォルトギャップ伸長ペナルティーは3である。ギャップ生成及びギャップ伸長ペナルティーは、0～200からなる整数の群から選択される整数として表すことができる。従って、例えば、ギャップ生成及びギャップ伸長ペナルティーは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、65、又はこれを超える数であってよい。

30

【0096】

40

GAPは、最良のアラインメントのファミリーの1メンバーを提示する。このファミリーの多数のメンバーが存在しうるが、より優れた品質を有するメンバーは他にない。GAPは、アラインメントの4つの性能指数：品質、比、同一性、及び類似性を表示する。品質は、配列をアラインメントするために最大化される測定基準である。比は、品質を短いセグメント内の塩基の数で割った商である。同一性（%）は、実際にマッチする記号（symbol）のパーセントである。類似性（%）は、類似する記号（symbol）のパーセントである。ギャップを隔てた記号は無視する。一対の記号についてのスコア付けマトリクス値が、類似性閾値である0.50以上であれば、類似性をスコア付けする。GCG Wisconsin Genetics Software PackageのVersion 10で用いられるスコア付けマトリクスは、BLOSUM62である（He

50

n i k o f f & H e n i k o f f , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U . S . A . , 1 9 8 9 , 8 9 : 1 0 9 1 5 を参照)。

【0097】

本明細書において用いられる場合、2つのポリヌクレオチド又はポリペプチド配列に関する、「配列同一性」又は「同一性」は、指定の比較ウィンドウにわたって最大限に一致するようにアラインメントされたとき、同一である2つの配列中の残基に関して述べるものである。配列同一性(%)がタンパク質に関して用いられる場合には、同一ではない残基位置は、往々にして保存的アミノ酸置換により異なることが認識されている。こうしたアミノ酸置換では、アミノ酸残基が、類似の化学的特性(例えば、電荷又は疎水性)を有する他のアミノ酸残基で置換されるため、分子の機能的特性を変化させない。配列が、保存的置換において異なる場合、配列同一性(%)は、置換の保存的性質について補正するように上方に調節してもよい。このような保存的置換によって異なる配列は、「配列類似性」又は「類似性」を有すると言う。この調節を行うための手段は、当業者には周知である。典型的には、これは、完全なミスマッチではなく、部分的なものとして保存的置換をスコア付けすることを含み、これによって、配列同一性(%)を増加する。従って、例えば、同一のアミノ酸が、1のスコアを与えられ、非保存的置換が0のスコアを与えられる場合、保存的置換には、0~1のスコアが与えられる。保存的置換のスコア付けは、例えば、プログラム P C / G E N E (I n t e l l i g e n e t i c s , M o u n t a i n V i e w , C A) で実行されるように計算される。

【0098】

本明細書で用いられる「配列同一性のパーセンテージ」とは、比較ウィンドウにわたって最適にアラインメントされた2つの配列を比較することによって決定される値を意味し、ここで、比較ウィンドウ内のポリヌクレオチドの部分は、2つの配列の最適なアラインメントのために、参照配列(これは付加又は欠失を含まない)と比較して、付加又は欠失(すなわち、ギャップ)を含みうる。パーセンテージは、両配列に同一の核酸塩基又はアミノ酸残基が存在する位置の数を決定して、マッチ位置の数を取得し、このマッチ位置の数を比較ウィンドウ内の位置の総数で割り、その結果に100をかけて配列同一性のパーセンテージを得ることによって、計算される。

【0099】

本発明はまた、作物及び雑草を含む場所(すなわち、栽培地)での雑草を選択的に抑制する方法も提供し、ここで、作物は、S Y H T 0 H 2 を含み、本方法は、上記の場所に、1種以上のH P P D 阻害除草剤を含む、雑草抑制量の除草剤組成物を適用することを含む。

【0100】

用語「抑制(する)」、及びその派生形、例えば、「雑草を抑制する」とは、雑草の成長、発芽、再生、及び/又は繁殖を阻害する;及び/又は雑草を死滅させる、除去する、破壊する、あるいは、その発生及び/又は活性を低減させることの1つ以上を指す。

【0101】

本明細書で用いられる場合、「栽培地」又は「場所」は、植物を生育することが所望されるあらゆる区域を含む。このような栽培地としては、植物が栽培される圃場(例えば、作物畠、芝生地、植林地、管理された森林、果実及び野菜栽培のための畠など)、温室、生育箱などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0102】

本方法は、ダイズS Y H T 0 H 2 種子又は植物を栽培地に作付けすることを含み、本発明の特定の態様では、作物、種子、雑草又はその栽培地に、雑草抑制量の目的の除草剤を適用することを含む。除草剤は、作物を栽培地に作付けする前又は後のいずれに適用してもよいことは認識されている。このような除草剤の適用は、H P P D 阻害剤の適用を含みうるが、これは、単独、又は作物によって許容されるその他の除草剤との組合せのいずれで行ってもよい。当業者であれば、雑草抑制量は、例えば、除草剤の種類及び適用の時期に応じて変動しうるが、作物に対する損傷はあったとしてもほとんど引き起こさずに、望

10

20

30

40

50

ましいレベルの雑草抑制を達成する量に等しいことは理解されよう。HPPD阻害除草剤の場合には、その量は、典型的に、15~500gai/haである。

【0103】

本発明の別の態様では、除草剤組成物は、少なくとも2種のHPPD阻害剤を含む。HPPD阻害剤は、雑草を選択的に抑制し、しかも作物を有意に損傷しない任意の有効比率で適用することができる。

【0104】

本発明の特定の態様では、HPPD阻害剤は、以下からなる群から選択される：ベンゾビシクロン、ビシクロピロン、メソトリオン、スルコトリオン、テフリルトリオン、テンボトリオン、ケトスピラドックス若しくはその遊離酸、ベンゾフェナブ、ピラスルホトル、ピラゾリネット、ピラゾキシフェン、トプラメゾン、[2-クロロ-3-(2-メトキシエトキシ)-4-(メチルスルホニル)フェニル](1-エチル-5-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル)メタノン、(2,3-ジヒドロ-3,3,4-トリメチル-1,1-ジオキシドベンゾ[b]チエン-5-イル)(5-ヒドロキシ-1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-メタノン、イソキサクロルトール、イソキサフルトール、-(シクロプロピルカルボニル)-2-(メチルスルホニル)-2-オキソ-4-クロロ-ベンゼンプロパンニトリル、及び-(シクロプロピルカルボニル)-2-(メチルスルホニル)-2-オキソ-4-(トリフルオロメチル)-ベンゼンプロパンニトリル、又はこれらの農業的に許容される塩。特に好ましい実施形態では、HPPD阻害剤は、メソトリオンである。特に好ましい実施形態では、HPPD阻害剤は、テンボトリオンである。特に好ましい実施形態では、HPPD阻害剤は、ビシクロピロンである。特に好ましい実施形態では、HPPD阻害剤は、イソキサフルトールである。特に好ましい実施形態では、HPPD阻害剤は、ピラスルファトールである。特に好ましい実施形態では、HPPD阻害剤は、トプラメゾンである。

【0105】

イベントSYHT0H2を含むダイズ植物は、さらに、1種以上の別の除草剤、昆虫、真菌、細菌及び/又はウイルス感染に対する耐性を賦与するポリペプチドをエンコードする1つ以上の別のポリヌクレオチド領域を含んでもよい。除草剤に対する耐性を賦与するポリペプチドの例として、例えば、以下のものが挙げられ：グリホサート耐性5-エノール-ピルビルシキミ酸-3-リン酸シンターゼ(EPSPS)(例えば、米国特許第5,804,425号明細書及び同第6,566,587号明細書に開示の通り)、グリホサートN-アセチルトランスフェラーゼ(GAT)(例えば、国際公開第02/036782号パンフレットに開示の通り)、除草剤耐性4-ヒドロキシピルビルジオキシゲナーゼ(HPPD)(例えば、国際公開第02/46387号パンフレットに開示の通り)、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT)(例えば、米国特許第5,273,894号明細書に開示の通り)、シトクロムP450(例えば、国際公開第07/103567号パンフレットに開示の通り)、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)(例えば、国際公開第01/21770号パンフレットに開示の通り)、除草剤耐性アセチル-COA-カルボキシラーゼ(ACCase)、除草剤耐性アセト乳酸シンターゼ(ALS)(例えば、米国特許第5,013,659号明細書に開示の通り)、除草剤耐性プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ(PPGO)(例えば、国際公開第95/34659号パンフレットに開示の通り)、プロモキシニルニトリラーゼ(例えば、国際公開第89/00193号パンフレットに開示の通り)、除草剤耐性フィトエンデサチュラーゼ(例えば、欧州特許出願公開第0393690号明細書に開示の通り)、アリールオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ(例えば、国際公開第2005/107437号パンフレット及び同第2007/053482号パンフレットに開示の通り)並びにジカンバ分解酵素(例えば、国際公開第98/45424号パンフレットに開示の通り)；これらのペプチドの既知の突然変異誘発又は改変された変異体も含まれる。

【0106】

従って、前述の場所に適用される除草剤組成物は、イベントSYTH0H2を含むダイ

10

20

30

40

50

ズ植物が耐性である1種以上の別の農薬、例えば、殺センチュウ剤、殺虫剤、殺菌剤及び/又は除草剤をさらに含んでもよい。好適な農薬の例は、その一覧が、Tomlin, C. D. S. (ed.), The Pesticide Manual, 14th ed., 2006に記載されている。

【0107】

例えば、農薬は、以下のクラスの殺虫剤、殺センチュウ剤、又は軟体動物駆除剤として活性の成分から選択される1種以上の農薬であってよい：

アラニカルブ、アルジカルブ、ベンジオカルブ、ベンフラカルブ、ブトカルボキシム、ブトキシカルボキシム、カルバリル、カルボフラン、カルボスルファン、エチオフェンカルブ、フェノブカルブ、ホルメタネット、フラチオカルブ、イソプロカルブ、メチオカルブ、メトミル、メトールカルブ、オキサミル、ピリミカルブ、プロポキスル、チオジカルブ、チオファノクス、トリアザマート、トリメタカルブ、XMC、キシリルカルブ；アセフェート、アザメチホス、アジンホス-エチル、アジンホス-メチル、カズサホス、クロレトキシホス、クロルフェビンホス、クロルメホス、クロルピリホス、クロルピリホス-メチル、クマホス、シアノホス、デメトン-S-メチル、ジアジノン、ジクロルボス/DDVP、ジクロトホス、ジメトエート、ジメチルビンホス、ジスルホトン、EPN、エチオン、エトプロホス、ファムフール、ファナミホス、フェニトロチオン、フェンチオン、ホスチアゼート、ヘブテノホス、イミシアホス、イソフェンホス、イソプロピルO-(メトキシアミノチオ-ホスホリル)サリチル酸塩、イソキサチオン、マラチオン、メカルバム、メタミドホス、メチダチオン、メビンホス、モノクロトホス、ナレド、オメトエート、オキシデメントン-メチル、パラチオン、パラチオン-メチル、フェントエート、ホレート、ホサロン、ホスマト、ホスファミドン、ホキシム、ピリミホス-メチル、プロフェノホス、プロペタンホス、プロチオホス、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、キナルホス、スルホテブ、テブピリンホス、テメホス、テルブホス、テトラクロルビンホス、チオメトン、トリアゾホス、トリクロルホン、バミドチオン、シクロジエンオルガノクロリン、クロルダン、エンドスルファン；エチプロール、フィプロニル、アクリナトリン、アレトリン、d-시스-トランスアレトリン、d-トランスアレトリン、ビフェントリン、ビオアレトリン、ビオアレトリンS-シクロペンテニル異性体、ビオレスメトリン、シクロプロトリン、シフルトリン、-シフルトリン、シハロトリン、-シハロトリン、-シハロトリン、シペルメトリン、-シペルメトリン、-シペルメトリン、-シペルメトリン、シフェノトリン[(1R)-トランス異性体]、デルタメトリン、エンペントリン[(EZ)-(1R)異性体]、エスフェンバレート、エトフェンプロクス、フェンプロパトリル、フェンバレート、フルシトリネート、フルメトリン、-フルバリネート、ハルフェンプロクス、イミプロトリル、カデトリル、ペルメトリン、フェノトリル[(1R)-トランス異性体]、プラレトリン、ピレトリル(ジョチュウギク(pyrethrum))、レスメトリン、シラフルオフェン、テフルトリル、テトラメトリン、テトラメトリン[(1R)異性体]、トラロメトリン、トランスフルトリル；DDT；メトキシクロル、アセタミブリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロビド、ニテンピラム、チアクロブリド、チアメトキサム；ニコチン、スピネトラム、スピノサド、アバメクチン、エマメクチン安息香酸塩、レピメクチン、ミルベメクチン、ヒドロブレン、キノブレン、メトブレン；フェノキシカルブ；ピリプロキシフェン、クロロピクリン；フッ化スルフリル；ホウ砂；吐酒石、ピメトロジン；フロニカミド、クロフェンテジン、ヘキリチアゾクス、ジフロビダジン、エトキサゾール。バチルス・チューリングエンシス亜種イスラエレンシス(*Bacillus thuringiensis subspecies israelensis*)、バチルス・スファエリクス(*Bacillus sphaericus*)、バチルス・チューリングエンシス亜種アイザワイ(*Bacillus thuringiensis subspecies aizawai*)、バチルス・チューリングエンシス亜種クルスタキ(*Bacillus thuringiensis subspecies kurstaki*)、バチルス・チューリングエンシス亜種テネブリオニス(*Bacillus thuringiensis sub* 50

species tenebrionis)、BT穀類タンパク質: Cry1Ab、Cry1Ac、Cry1Fa、Cry2Ab、mCry3A、Cry3Ab、Cry3Bb、Cry34/35Ab1、ジアフェンチウロン、アゾシクロチン、シヘキサチン、酸化フェンブタスズ；プロパルギット、テトラジホン、クロルフェナピル、DNOC、スルフルラミド、ベンスルタブ、カルタップ塩酸塩、チオシクラム、チオスルタップ-ナトリウム、ビストリフルロン、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、フルシクロクスロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン、ルフェヌロン、ノバルロン、ノビフルムロン、テフルベズロン、トリフルムロン、ブプロフェジン、シロマジン、クロマフェノジド、ハロフェノジド、メトキシフェノジド、テブフェノジド、アミトラズ、ヒドラメチルノン；アセキノシル；フルアクリピリム、フェナザキン、フェンピロキシメート、ピリミジフェン、ピリダベン、テブフェンピラド、トルフェンピラド、ロテノン(デリス)、インドキサカルブ；メタフルミゾン、スピロジクロフェン、スピロメシフェン、スピロテトラマト、リン化アルミニウム、リン化カルシウム、ホスフィン、リン化亜鉛、シエノピラフェン、クロラントラニリプロール、フルベンジアミド、アミドフルメト、アザジラクチン、ベンクロチアズ、ベンゾキシメート、ビフェナゼート、プロモプロピレート、キノメチオナート、氷晶石、シアントリニプロール(Cyazypyrr)、シフルメトフェン、ジコフォール、ジフロビダジン、フルエンスルホン、フルフェネリム、フルフィプロール、フルオピラム、フフェノジド、イミダクロチズ、イプロジオン、メペルフルトリン、ピリダリル、ピリフルキナゾン、テトラメチルフルトリン、ヨードメタン；バチルス・フィルムス(Bacillus firmus)をベースとする製品(限定されないが、株CNCM I-1582、例えば、VOTIVO(商標)、BioNemなど)；3-ブロモ-N-{2-ブロモ-4-クロロ-6-[[(1-シクロプロピルエチル)カルバモイル]フェニル]-1-(3-クロロピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-5-カルボキサミド(国際公開第2005/077934号パンフレットから公知である)、4-{[(6-ブロモピリジン-3-イル)メチル](2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-{[(6-フルオロピリジン-3-イル)メチル](2,2-ジフルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-{[(2-クロロ-1,3-チアゾール-5-イル)メチル](2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-{[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル](2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-{[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル](メチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115643号パンフレットから公知である)、4-{[(5,6-ジクロロピリジン-3-イル)メチル](2-フルオロエチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115646号パンフレットから公知である)、4-{[(6-クロロ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル]-(シクロプロピル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(国際公開第2007/115643号パンフレットから公知である)、4-{[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル]-(シクロプロピル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(欧州特許出願公開第A-0539588号明細書から公知である)、4-{[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル]-(メチル)アミノ}フラン-2(5H)-オン(欧州特許出願公開第A-0539588号明細書から公知である)、{[1-(6-クロロピリジン-3-イル)エチル](メチル)オキシド-⁴-スルファニリデン}シアノアミド(国際公開第2007/149134号パンフレットから公知である)並びにそのジアステレオマー{[(1R)-1-(6-クロロピリジン-3-イル)エチル](メチル)オキシド-⁴-スルファニリデン}シアノアミド(A)及び{[(1S)-1-(6-クロロピリジン-3-イル)エチル](メチル)オキシド-⁴-スルファニリデン}シアノアミド(B)(これも、国際公開第2007/149134号パンフレットから公知である)、さらには、ス

ルホキサフロール及びそのジアステレオマー [(R) - メチル (オキシド) { (1 R) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (A 1) 及び [(S) - メチル (オキシド) { (1 S) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] - シアンアミド (A 2) (ジアステレオマー A 群と呼ばれる) (國際公開第 2010 / 074747 号パンフレットから公知である) 、 [(R) - メチル (オキシド) { (1 S) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (B 1) 及び [(S) - メチル (オキシド) { (1 R) - 1 - [6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル] エチル } - ⁴ - スルファニリデン] シアンアミド (B 2) (ジアステレオマー B 群と呼ばれる) (これもまた、國際公開第 2010 / 074747 号パンフレット、國際公開第 2010 / 074751 号パンフレットから公知である) 、並びに 11 - (4 - クロロ - 2 , 6 - ジメチルフェニル) - 12 - ヒドロキシ - 1 , 4 - ジオキサ - 9 - アザジスピロ [4 . 2 . 4 . 2] テトラデク - 11 - エン - 10 - オン (國際公開第 2006 / 089633 号パンフレットから公知である) 、 3 - (4 ' - フルオロ - 2 , 4 - ジメチルビフェニル - 3 - イル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - オキサ - 1 - アザスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 2 - オン (國際公開第 2008 / 067911 号パンフレットから公知である) 、 1 - { 2 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - [(2 , 2 , 2 - トリフルオルエチル) スルフィニル] フェニル } - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - アミン (國際公開第 2006 / 043635 号パンフレットから公知である) 、 [(3 S , 4 a R , 12 R , 12 a S , 12 b S) - 3 - [(シクロプロピルカルボニル) オキシ] - 6 , 12 - ジヒドロキシ - 4 , 12 b - ジメチル - 11 - オキソ - 9 - (ピリジン - 3 - イル) - 1 , 3 , 4 , 4 a , 5 , 6 , 6 a , 12 , 12 a , 12 b - デカヒドロ - 2H , 11H - ベンゾ [f] - ピラノ [4 , 3 - b] クロメン - 4 - イル] メチルシクロプロパンカルボキシレート (國際公開第 2008 / 066153 号パンフレットから公知である) 、 2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N , N - ジメチルベンゼン - スルホンアミド (國際公開第 2006 / 056433 号パンフレットから公知である) 、 2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - メチルベンゼン - スルホンアミド (國際公開第 2006 / 100288 号パンフレットから公知である) 、 2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチルベンゼンスルホンアミド (國際公開第 2005 / 035486 号パンフレットから公知である) 、 4 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチル - N - メチル - 1 , 2 - ベンゾチアゾール - 3 - アミン 1 , 1 - ジオキシド (國際公開第 2007 / 057407 号パンフレットから公知である) 、 N - [1 - (2 , 3 - ジメチルフェニル) - 2 - (3 , 5 - ジメチルフェニル) エチル] - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 3 - チアゾール - 2 - アミン (國際公開第 2008 / 104503 号パンフレットから公知である) 、 { 1 ' - [(2 E) - 3 - (4 - クロロフェニル) プロブ - 2 - エン - 1 - イル] - 5 - フルオロスピロ [インドール - 3 , 4 ' - ピペリジン] - 1 (2H) - イル } (2 - クロロ - ピリジン - 4 - イル) - メタノン (國際公開第 2003 / 106457 号パンフレットから公知である) 、 3 - (2 , 5 - ジメチルフェニル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - メトキシ - 1 , 8 - ジアザスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 2 - オン (國際公開第 2009 / 049851 号パンフレットから公知である) 、 3 - (2 , 5 - ジメチルフェニル) - 8 - メトキシ - 2 - オキソ - 1 , 8 - ジアザスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 4 - イルエチル炭酸塩 (國際公開第 2009 / 049851 号パンフレットから公知である) 、 4 - (ブト - 2 - イン - 1 - イルオキシ) - 6 - (3 , 5 - ジメチルピペリジン - 1 - イル) - 5 - フルオロピリミジン (國際公開第 2004 / 099160 号パンフレットから公知である) 、 (2 , 2 , 3 , 3 , 4 , 4 , 5 , 5 - オクタフルオロベンチル) (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル) マロノニトリル (國際公開第 2005 / 063094 号パンフレットから公知である) 、 (2 , 2 , 3 , 3 , 4 , 4 , 5 , 5 - オクタフルオロベンチル) (3 , 3 , 4 , 4 , 4 - ペンタフルオロ - ブチル) マロノニトリル (國際公開第 2005 / 50

0 6 3 0 9 4 号パンフレットから公知である)、8 - [2 - (シクロプロピルメトキシ) - 4 - (トリフルオロ-メチル) フェノキシ] - 3 - [6 - (トリフルオロメチル) - ピリダジン - 3 - イル] - 3 - アザビシクロ [3 . 2 . 1] オクタン (國際公開第 2 0 0 7 / 0 4 0 2 8 0 号パンフレットから公知である)、フロメトキン、P F 1 3 6 4 (C A S - R e g . N o . 1 2 0 4 7 7 6 - 6 0 - 2) (特開 2 0 1 0 - 0 1 8 5 8 6 号公報から公知である)、5 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベンゾニトリル (國際公開第 2 0 0 7 / 0 7 5 4 5 9 号明細書から公知である)、5 - [5 - (2 - クロロピリジン - 4 - イル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベンゾニトリル (國際公開第 2 0 0 7 / 0 7 5 4 5 9 号パンフレットから公知である)、4 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - メチル - N - { 2 - オキソ - 2 - [(2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) アミノ] - エチル } ベンズアミド (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] - (シクロプロピル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (2 , 2 - ジフルオロエチル) - アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (エチル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル) メチル] (メチル) アミノ } - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5 H) - オン (すべて、國際公開第 2 0 1 0 / 0 0 5 6 9 2 号パンフレットから公知である)、N N I - 0 7 1 1 (國際公開第 2 0 0 2 / 0 9 6 8 8 2 号パンフレットから公知である)、1 - アセチル - N - [4 - (1 , 1 , 1 , 3 , 3 , 3 - ヘキサフルオロ - 2 - メトキシプロパン - 2 - イル) - 3 - イソブチルフェニル] - N - イソブチリル - 3 , 5 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド (國際公開第 2 0 0 2 / 0 9 6 8 8 2 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - クロロ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - ベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } - アミノ) - ベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 2 - エチルヒドラジンカルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } - アミノ) - ベンゾイル] - 2 - メチルヒドラジンカルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) - 5 - シアノ - 3 - メチルベンゾイル] - 1 , 2 - ジエチルヒドラジンカルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、メチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } アミノ) ベンゾイル] - 2 - エチルヒドラジン - カルボキシレート (國際公開第 2 0 0 5 / 0 8 5 2 1 6 号パンフレットから公知である)、(5 R S , 7 R S ; 5 R S , 7 S R) - 1 - (6 - クロロ - 3 - ピリジルメチル) - 1 , 2 , 3 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - 7 - メチル - 8 - ニトロ - 5 - プロポキシイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン (國際公開第 2 0 0 7 / 1 0 1 3 6 9 号パンフレットから公知である)、N - [2 - (5 - アミノ - 1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - イル) - 4 - クロロ - 6 - メチルフェニル] - 3 - プロモ - 1 - (3 - クロロ - ピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - カルボキサミド (C N 1 0 2 0 5 7 9 2 5 から公知である)、並びにメチル 2 - [3 , 5 - ジプロモ - 2 - ({ [3 - プロモ - 1 - (3 - クロロピリジン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル] カルボニル } - アミノ) - ベン

ゾイル] - 2 - エチル - 1 - メチルヒドラジンカルボキシレート (国際公開第 2011 / 049233 号パンフレットから公知である)。

【0108】

さらに、殺菌剤の例としては、限定されないが、以下から選択される 1 種以上の殺菌剤が挙げられる: アルジモルフ、アザコナゾール、ビテルタノール、ブロムコナゾール、シプロコナゾール、ジクロブトラゾール、ジフェノコナゾール、ジニコナゾール、ジニコナゾール - M、ドデモルフ、酢酸ドデモルフ、エポキシコナゾール、エタコナゾール、フェナリモール、フェンブコナゾール、フェンヘキサミド、フェンプロピジン、フェンプロピモルフ、フルキノコナゾール、フルルブリミドール、フルシラゾール、フルトリアフォール、フルコナゾール、フルコナゾール - SIS、ヘキサコナゾール、イマザリル、硫酸イマザリル、イミベンコナゾール、イブコナゾール、メトコナゾール、ミクロブタニル、ナフチフィン、ヌアリモール、オキスピコナゾール、パクロブトラゾール、ペフラゾエート、ベンコナゾール、ピペラリン、プロクロラズ、プロピコナゾール、プロチオコナゾール、ピリブチカルブ、ピリフェノクス、キンコナゾール、シメコナゾール、スピロキサミン、テブコナゾール、テルビナフィン、テトラコナゾール、トリアジメホン、トリアジメノール、トリデモルフ、トリフルミゾール、トリホリン、トリチコナゾール、ウニコナゾール、ウニコナゾール - p、ビニコナゾール、ボリコナゾール、1 - (4 - クロロフェニル) - 2 - (1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 1 - イル) シクロヘプタノール、メチル 1 - (2, 2 - ジメチル - 2, 3 - ジヒドロ - 1H - インデン - 1 - イル) - 1H - イミダゾール - 5 - カルボキシレート、N' - { 5 - (ジフルオロメチル) - 2 - メチル - 4 - [3 - (トリメチルシリル) プロポキシ] フェニル } - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - エチル - N - メチル - N' - { 2 - メチル - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 - [3 - (トリメチルシリル) プロポキシ] フェニル } イミドホルムアミド、O - [1 - (4 - メトキシフェノキシ) - 3, 3 - ジメチルブタン - 2 - イル] 1H - イミダゾール - 1 - カルボチオエート、ビキサフェン、ボスカリド、カルボキシン、ジフルメトリム、フェンフラム、フルピラム、フルトラニル、フルキサピロキサド、フラメトピル、フルメシクロクス、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1RS、4SR、9RS 及び抗エピマーラセミ体 1RS、4SR、9SR の混合物)、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1RS、4SR、9SR の混合物)、イソピラザム (抗エピマー鏡像体 1R、4S、9S の混合物)、イソピラザム (抗エピマー鏡像体 1S、4R、9R の混合物)、イソピラザム (syn エピマーラセミ体 1RS、4SR、9RS)、イソピラザム (syn - エピマー鏡像体 1R、4S、9R)、イソピラザム (syn - エピマー鏡像体 1S、4R、9S)、メブトニル、オキシカルボキシン、ペンフルフェン、ペンチオピラド、セダキサン、チフルザミド、1 - メチル - N - [2 - (1, 1, 2, 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [2 - (1, 1, 2, 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4 - フルオロ - 2 - (1, 1, 2, 3, 3, 3 - ヘキサフルオロプロポキシ) フェニル] - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [1 - (2, 4 - ジクロロフェニル) - 1 - メトキシプロパン - 2 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5, 8 - ジフルオロ - N - [2 - (2 - フルオロ - 4 - { [4 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 2 - イル] オキシ } フェニル) エチル] キナゾリン - 4 - アミン、N - [9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1S, 4R) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1R, 4S) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1, 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、アメトクラジン、アミスルボム、アゾキ 50

シストロビン、シアゾファミド、クメトキシストロビン、クモキシストロビン、ジモキシストロビン、エネストロブリン、ファモキサドン、フェナミドン、フェノキシストロビン、フルオキサストロビン、クレソキシム-メチル、メトミノストロビン、オリサストロビン、ピコキシストロビン、ピラクロストロビン、ピラメトストロビン、ピラオキシストロビン、ピリベンカルブ、トリクロピリカルブ、トリフロキシストロビン、(2E)-2-(2-{[6-(3-クロロ-2-メチルフェノキシ)-5-フルオロピリミジン-4-イル]オキシ}フェニル)-2-(メトキシイミノ)-N-メチルエタンアミド、(2E)-2-(メトキシイミノ)-N-メチル-2-(2-{[(1E)-1-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]エチリデン}アミノ]オキシ]メチル}フェニル)エタンアミド、(2E)-2-(メトキシイミノ)-N-メチル-2-{2-[{(E)-1-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]エトキシ}イミノ]メチル}フェニル}エタンアミド、(2E)-2-{2-[{(1E)-1-(3-{[(E)-1-フルオロ-2-フェニルエテニル]オキシ}フェニル)エチリデン]アミノ}オキシ]メチル}フェニル}-2-(メトキシイミノ)-N-メチルエタンアミド、(2E)-2-{2-[{(2E,3E)-4-(2,6-ジクロロフェニル)ブト-3-エン-2-イリデン]アミノ}オキシ]メチル}フェニル}-2-(メトキシイミノ)-N-メチルエタンアミド、2-クロロ-N-(1,1,3-トリメチル-2,3-ジヒドロ-1H-インデン-4-イル)ピリジン-3-カルボキサミド、5-メトキシ-2-メチル-4-{2-{[(1E)-1-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]エチリデン}アミノ]オキシ]メチル}フェニル}-2,4-ジヒドロ-3H-1,2,4-トリアゾール-3-オン、メチル(2E)-2-{2-[{(シクロプロピル[(4-メトキシフェニル)イミノ]メチル}スルファニル]メチル}フェニル}-3-メトキシプロブ-2-エノエート、N-(3-エチル-3,5,5-トリメチルシクロヘキシル)-3-(ホルミルアミノ)-2-ヒドロキシベンズアミド、2-{2-[{(2,5-ジメチルフェノキシ)メチル}フェニル]-2-メトキシ-N-メチルアセトアミド、(2R)-2-{2-[{(2,5-ジメチルフェノキシ)メチル}フェニル]-2-メトキシ-N-メチルアセトアミド、ベノミル、カルベンダジム、クロルフェナゾール、ジエトフェンカルブ、エタボキサム、フルオピコリド、フベリダゾール、ベンシクリン、チアベンダゾール、チオファネートメチル、チオファネート、ゾキサミド、5-クロロ-7-(4-メチルピペリジン-1-イル)-6-(2,4,6-トリフルオロフェニル)[1,2,4]トリアゾロ[1,5-a]ピリミジン、3-クロロ-5-(6-クロロピリジン-3-イル)-6-メチル-4-(2,4,6-トリフルオロフェニル)ピリダジン、ボルドー液、キャブタホール、キャブタン、クロロタロニル、水酸化銅、ナフテン酸銅、酸化第一銅、塩基性塩化銅、硫酸銅(II)、ジクロフルアニド、ジチアノン、ドジン、ドジンフリー-ベース、フェルバム、フルオフォルペット、フォルペット、グアザチン、酢酸グアザチン、イミノクタジン、イミノクタジンアルベシル酸塩、イミノクタジン三酢酸塩、マンカッパー、マンコゼブ、マネブ、メチラム、メチラム亜鉛、オキシン銅、プロパミジン、プロピネブ、イオウ、多硫化カルシウムなどのイオウ製剤、チラム、トリルフルアニド、ジネブ、ジラム、アシベンゾラルSメチル、イソチアニル、プロベナゾール、チアジニル、アンドブリム、プラスチシジン-S、シプロジニル、カスガマイシン、カスガマイシン塩酸塩、メパニピリム、ピリメタニル、3-(5-フルオロ-3,3,4,4-テトラメチル-3,4-ジヒドロイソキノリン-1-イル)キノリン、酢酸フェンチン、塩化フェンチン、水酸化フェンチン、シルチオファム、ベンチアバリカルブ、ジメトモルフ、フルモルフ、イブロバリカルブ、マンジプロパミド、ポリオキシン、ポリオキソリム、バリダマイシンA、バリフェナレート、ビフェニル、クロロネブ、ジクロラン、エジフェンホス、エトリジアゾール、ヨードカルブ、イプロベンホス、イソプロチオラン、プロパモカルブ、プロパモカルブ塩酸塩、プロチオカルブ、ピラゾホス、キントゼン、テクナゼントルクロホス-メチル、カルプロパミド、ジクロシメト、フェノキサニル、フタリド、ピロキロン、トリシクラゾール、2,2,2-トリフルオロエチル{3-メチル-1-[(4-メチルベンゾイル)アミノ]ブタン-2-イル}カルバメート、ベナラキシル、ベナラキシル-M(キ 10
20
30
40
50

ジメチル - 3 , 4 - ジヒドロイソキノリン - 1 - イル) キノリン、3 , 4 , 5 - トリクロロピリジン - 2 , 6 - ジカルボニトリル、3 - [5 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 - ジメチル - 1 , 2 - オキサゾリジン - 3 - イル] ピリジン、3 - クロロ - 5 - (4 - クロロフェニル) - 4 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 6 - メチルピリダジン、4 - (4 - クロロフェニル) - 5 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 3 , 6 - ジメチルピリダジン、5 - アミノ - 1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - チオール、5 - クロロ - N ' - フェニル - N ' - (プロプ - 2 - イン - 1 - イル) チオフェン - 2 - スルホノヒドラジド、5 - フルオロ - 2 - [(4 - フルオロベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、5 - フルオロ - 2 - [(4 - メチルベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、5 - メチル - 6 - オクチ [1 , 2 , 4] トリアゾロ [1 , 5 - a] ピリミジン - 7 - アミン、エチル (2Z) - 3 - アミノ - 2 - シアノ - 3 - フェニルプロプ - 2 - エノエート、N ' - (4 - { [3 - (4 - クロロベンジル) - 1 , 2 , 4 - チアジアゾール - 5 - イル] オキシ } - 2 , 5 - ジメチルフェニル) - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - (4 - クロロベンジル) - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロプ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパンアミド、N - [(4 - クロロフェニル) (シアノ) メチル] - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロプ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパンアミド、N - [(5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) メチル] - 2 , 4 - ジクロロピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) エチル] - 2 , 4 - ジクロロ - ピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) エチル] - 2 - フルオロ - 4 - ヨードピリジン - 3 - カルボキサミド、N - { (E) - [(シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6 - (ジフルオロメトキシ) - 2 , 3 - ジフルオロフェニル] メチル } - 2 - フェニルアセトアミド、N - { (Z) - [(シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6 - (ジフルオロメトキシ) - 2 , 3 - ジフルオロフェニル] メチル } - 2 - フェニルアセトアミド、N ' - { 4 - [(3 - t e r t - ブチル - 4 - シアノ - 1 , 2 - チアゾール - 5 - イル) オキシ] - 2 - クロロ - 5 - メチルフェニル } - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル } ピペリジン - 4 - イル) - N - (1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、N - メチル - 2 - (1 - { [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] アセチル } ピペリジン - 4 - イル) - N - [(1S) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロナフタレン - 1 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 4 - カルボキサミド、ベンチル { 6 - [({ [(1 - メチル - 1H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチリデン] アミノ } オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル } カルバメート、フェナジン - 1 - カルボン酸、キノリン - 8 - オル、キノリン - 8 - オル硫酸塩 (2 : 1)、t e r t - ブチル { 6 - [({ [(1 - メチル - 1H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ } オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル } カルバメート、1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - N - [2 ' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (4 ' - クロロビフェニル - 2 - イル) - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (2 ' , 4 ' - ジクロロビフェニル - 2 - イル) - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [4 ' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (2 ' , 5 ' - ジフルオロビフェニル - 2 - イル) - 1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [4 ' - (プロプ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5 - フルオロ - 1 , 3 - ジメチル - N - [4 ' - (プロプ - 1 - イン 10 - 50)

- 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (プロブ - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4 ' - (3 , 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [4 ' - (3 , 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 5 - フルオロ - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - (4 ' - エチニルビフェニル - 2 - イル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - (4 ' - エチニルビフェニル - 2 - イル) - 5 - フルオロ - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - (4 ' - エチニルビフェニル - 2 - イル) ピリジン - 3 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (3 , 3 - ジメチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、4 - (ジフルオロメチル) - 2 - メチル - N - [4 ' - (トリフルオロメチル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - トリアゾール - 5 - カルボキサミド、5 - フルオロ - N - [4 ' - (3 - ヒドロキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (3 - ヒドロキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5 - フルオロ - N - [4 ' - (3 - メトキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (3 - メトキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ビフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、(5 - プロモ - 2 - メトキシ - 4 - メチルピリジン - 3 - イル) (2 , 3 , 4 - トリメトキシ - 6 - メチルフェニル) メタノン、N - [2 - (4 - { [3 - (4 - クロロフェニル) プロブ - 2 - イン - 1 - イル] オキシ } - 3 - メトキシフェニル) エチル] - N 2 - (メチルスルホニル) バリンアミド、4 - オキソ - 4 - [(2 - フェニルエチル) アミノ] ブタン酸、ブト - 3 - イン - 1 - イル { 6 - [({ [(Z) - (1 - メチル - 1 H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ} オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル } カルバメート。

【0109】

さらなる例として、別の農薬は、以下からなる群から選択される1種以上の除草剤であつてよい：アセトクロル、アシフルオルフェン、アシフルオルフェン - ナトリウム、アクロニフェン、アラクロル、アリドクロル、アロキシジム、アロキシジム - ナトリウム、アメトリン、アミカルバゾン、アミドクロル、アミドスルフロン、アミノシクロピラクロル、アミノシクロピラクロル - カリウム、アミノシクロピラクロル - メチル、アミノピラリド、アミトロール、スルファミド酸アンモニウム、アニロホス、アスラム、アトラジン、アザフェニジン、アジンスルフロン、ベフルブタミド、ベナゾリン、ベナゾリン - エチル、ベンフルラリン、ベンフレセート、ベンスルフロン、ベンスルフロン - メチル、ベンスリド、ベンタゾン、ベンゾビシクロロン、ベンゾフェナブ、ビシクロピロン、ビフェノクス、ビラナホス、ビラナホス - ナトリウム、ビスピリバク、ビスピリバク - ナトリウム、ブロマシル、ブロモブチド、ブロモフェノキシム、ブロモキシニル、ブロモキシニル - 酪酸塩、- カリウム、- ヘプタン酸塩及び - オクタン酸塩、ブソキシノン、ブタクロル、ブタフェナシル、ブタミホス、ブテナクロル、ブトラリン、ブトロキシジム、ブチレート、カフェンストロール、カルベタミド、カルフェントラゾン、カルフェントラゾン - エチル、クロランベン、クロルプロムロン、クロルフェナク、クロルフェナク - ナトリウム、クロルフェンプロブ、クロルフルレノール、クロルフルレノール - メチル、クロリダゾン、クロリムロン、クロリムロン - エチル、クロロフタリム、クロロトルロン、クロルタール - ジメチル、クロルスルフロン、シニドン、シニドン - エチル、シンメチリン、シノスルフロン、クレトジム、クロジナホブ、クロジナホブ - プロパルギル、クロマゾン、クロメブロブ、クロピラリド、クロランスラム、クロランスラム - メチル、クミルロン、シアニア 40

ミド、シアナジン、シクロエート、シクロスルファムロン、シクロキシジム、シハロホブ、シハロホブ - ブチル、シプラジン、2,4-D、2,4-D - ブトチル、-ブチル、-ジメチルアンモニウム、-ジオールアミン、-エチル、2-エチルヘキシル、ダゾメト、-イソブチル、-イソオクチル、-イソプロピルアンモニウム、-カリウム、-トライソプロパノールアンモニウム及び-トロールアミン、2,4-DB、2,4-DB - ブチル、-ジメチルアンモニウム、イソオクチル、-カリウム及び-ナトリウム、ダイムロン (dymron)、ダラポン、n-デカノール、デスマジファム、デトシル-ピラゾレート (DTP)、ジカンバ、ジクロベニル、ジクロルプロブ、ジクロルプロブ - P、ジクロホブ、ジクロホブ - メチル、ジクロホブ - P - メチル、ジクロスラム、ジフェンゾコート、ジフルフェニカン、ジフルフェンゾピル、ジフルフェンゾピル - ナトリウム、ジメフロン、ジメピペラート、ジメタクロル、ジメタメトリン、ジメテナミド、ジメテナミド - P、ジメトラスルフロン、ジニトラミン、ジノテルブ、ジフェナミド、ジコート、ジコート - ジプロミド、ジチオピル、ジウロン、DNO C、エドタール、EPTC、エスプロカルブ、エタルフルラリン、エタメトスルフロン、エタメトスルフロン - メチル、エチオジン、エトフメセート、エトキシフェン、エトキシフェン - エチル、エトキシスルフロン、エトベンザニド、F-5231、すなわち、N-{2-クロロ-4-フルオロ-5-[4-(3-フルオロプロピル)-5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1H-テトラゾール-1-イル]フェニル}エタンスルホンアミド、F-7967、すなわち、3-[7-クロロ-5-フルオロ-2-(トリフルオロメチル)-1H-ベンズイミダゾール-4-イル]-1-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリミジン-2,4(1H,3H)-ジオン、フェノキサプロブ、フェノキサプロブ - P、フェノキサプロブ - エチル、フェノキサプロブ - P - エチル、フェノキサスルホン、フェントラザミド、フランプロブ、フランプロブ - M - イソプロピル、フランプロブ - M - メチル、フラザスルフロン、フロラスラム、フルアジホブ、フルアジホブ - P、フルアジホブ - ブチル、フルアジホブ - P - ブチル、フルカルバゾン、フルカルバゾン - ナトリウム、フルセトスルフロン、フルクロラリン、フルフェナセト (チアフルアミド)、フルフェンピル、フルフェンピル - エチル、フルメトスラム、フルミクロラク、フルミクロラク - ペンチル、フルミオキサジン、フルメツロン、フルレノール、フルレノール - ブチル、-ジメチルアンモニウム及び - メチル、フルオログリコフェン、フルオログリコフェン - エチル、フルプロバネート、フルビルスルフロン、フルビルスルフロン - メチル - ナトリウム、フルリドン、フルロクロリドン、フルロキシピル、フルロキシピル - メブチル、フルルタモン、フルチアセト、フルチアセト - メチル、フルチアミド、ホメサフェン、ホメサフェン - ナトリウム、ホラムスルフロン、ホサミン、グルホシネート、グルホシネート - アンモニウム、グルホシネート - P - ナトリウム、グルホシネート - P - アンモニウム、グルホシネート - P - ナトリウム、グリホサート、グリホサート - アンモニウム、-イソプロピルアンモニウム、-ジアンモニウム、-ジメチルアンモニウム、-カリウム、-ナトリウム、及び - トリメシウム、H-9201、すなわち、O-(2,4-ジメチル-6-ニトロフェニル)O-エチル - イソプロピルホスホルアミドチオエート、ハロサフェン、ハロスルフロン、ハロスルフロン - メチル、ハロキシホブ、ハロキシホブ - P、ハロキシホブ - エトキシエチル、ハロキシホブ - P - エトキシエチル、ハロキシホブ - メチル、ハロキシホブ - P - メチル、ヘキサジノン、HW-02、すなわち、1-(ジメトキシホスホリル) - エチル - (2,4-ジクロロフェノキシ)酢酸塩、イマザメタベンズ、イマザメタベンズ - メチル、イマザモクス、イマザモクス - アンモニウム、イマザピク、イマザピク - アンモニウム、イマザビル、イマザビル - イソプロピルアンモニウム、イマザキン、イマザキン - アンモニウム、イマゼタビル、イマゼタビル - インモニウム、イマゾスルフロン、インダノファン、インダジフラム、ヨードスルフロン、ヨードスルフロン - メチル - ナトリウム、イオキシニル、イオキシニル - オクタン酸塩、-カリウム、及び - ナトリウム、イプフェンカルバゾン、イソプロツロン、イソウロン、イソキサベン、イソキサフルトール、カルブチレート、KUH-043、すなわち、3-[{[5-(ジフルオロメチル)-1-メチル-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-イル]メチル}スルホニル] - 5,5-ジメチル - 4,10

5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール、ケトスピラドクス、ラクトフェン、ケナシル、キヌロン、M C P A、M C P A - プトチル、-ジメチルアンモニウム、-2 - エチルヘキシリル、-イソプロピルアンモニウム、-カリウム、及び - ナトリウム、M C P B、M C P B - メチル、-エチル及び - ナトリウム、メコプロブ、メコプロブ - ナトリウム、及び - ブトチル、メコプロブ - P、メコプロブ - P - ブトチル、ジメチルアンモニウム、-2 - エチルヘキシリル及び - カリウム、メフェナセト、メフルイジド、メソスルフロン、メソスルフロン - メチル、メソトリオン、メタベンズチアズロン、メタム、メタミホブ、メタミトロン、メタザクロル、メタゾスルフロン、メタベンズチアズロン、メチオピルスルフロン、メチオゾリン、メチルイソチオシアネート、メトプロムロン、メトラクロル、S - メトラクロル、メトスラム、メトクスロン、メトリブジン、メトスルフロン、メトスルフロン - メチル、モリナト、モノリヌロン、モノスルフロン、モノスルフロン - エステル、M T - 128、すなわち、6 - クロロ - N - [(2 E) - 3 - クロロプロブ - 2 - エン - 1 - イル] - 5 - メチル - N - フェニルピリダシン - 3 - アミン、M T - 5950、すなわち、N - (3 - クロロ - 4 - イソプロピルフェニル) - 2 - メチルペンタンアミド、N G G C - 011、ナプロパミド、N C - 310、すなわち、[5 - (ベンズイルオキシ) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル] (2 , 4 - ジクロロフェニル) メタノン、ネブロン、ニコスルフロン、ノナン酸 (ペラルグ酸)、ノルフルラゾン、オレイン酸 (脂肪酸)、オルベンカルブ、オルトスルファムロン、オリザリン、オキサジアルギル、オキサジアゾン、オキサスルフロン、オキサジクロメホン、オキシフルオルフェン、パラコート、パラコートジクロリド、ペブレート、ベンジメタリン、ペノクススラム、ペンタクロルフェノール、ペントキサゾン、ペトキサミド、石油、フェンメジファム、ピクロラム、ピコリナフェン、ピノキサデン、ピペロホス、ブレチラクロル、ブリミスルフロン、ブリミスルフロン - メチル、プロジェクトアミン、ブリフルラリン、プロポホキシジム、プロメトン、プロメトリン、プロパクロル、プロパニル、プロパキザホブ、プロパジン、プロファム、プロピソクロル、プロポキシカルバゾン、プロポキシカルバゾン - ナトリウム、プロピリスルフロン、プロピザミド、プロスルホカルブ、プロスルフロン、ピラクロニル、ピラフルフェン、ピラフルフェン - エチル、ピラスルホトール、ピラゾリナート (ピラゾレート)、ピラゾスルフロン、ピラゾスルフロン - エチル、ピラゾキシフェン、ピリバムベンズ - イソプロピル、ピリバムベンズ - プロピル、ピリベンゾキシム、ピリブチカルブ、ピリダフォル、ピリデート、ピリフタリド、ピリミノバク、ピリミノバク - メチル、ピリミスルファン、ピリチオバク、ピリチオバク - ナトリウム、ピロキサスルホン、ピロクススラム、キンクロラク、キンメラク、キノクラミン、キザロホブ、キザロホブ - エチル、キザロホブ - P、キザロホブ - P - エチル、キザロホブ - P - テフリル、リムスルフロン、サフルフェナシル、セトキシジム、シズロン、シマジン、シメトリル、スルコトリオン、スルフェントラゾン、スルホメツロン、スルホメツロン - メチル、スルホスルフロン、S W - 065、S Y N - 523、S Y P - 249、すなわち、1 - エトキシ - 3 - メチル - 1 - オキソブト - 3 - エン - 2 - イル5 - [2 - クロロ - 4 - (トリフルオロメチル) フェノキシ] - 2 - ニトロベンゾエート、S Y P - 300、すなわち、1 - [7 - フルオロ - 3 - オキソ - 4 - (プロブ - 2 - イン - 1 - イル) - 3 , 4 - ジヒドロ - 2 H - 1 , 4 - ベンゾキサジン - 6 - イル] - 3 - プロビル - 2 - チオキソイミダゾリジン - 4 , 5 - ジオン、2 , 3 , 6 - T B A、T C A (トリクロロ酢酸)、T C A - ナトリウム、テブチウロソ、テフリルトリオン、テンボトリオン、テプラロキシジム、テルバシル、テルブカルブ、テルブメトン、テルブチラジン、テルブトリン、テニルクロル、チアゾビル、チエンカルバゾン、チエンカルバゾン - メチル、チフェンスルフロン、チフェンスルフロン - メチル、チオベンカルブ、トプラメゾン、トラルコキシジム、トリアフォモン、トリ - アレート、トリアスルフロン、トリアジフラム、トリベヌロン、トリベヌロン - メチル、トリクロピル、トリエタジン、トリフロキシスルフロン、トリフロキシスルフロン - ナトリウム、トリフラリン、トリフルスルフロン、トリフルスルフロン - メチル、トリトルスルフロン、尿素硫酸塩、ベルノレート、Z J - 0862、すなわち、3 , 4 - ジクロロ - N - { 2 - [(4 , 6 - ジメトキシピリミジン - 2 - イル) オキシ] ベンジル } アニリン ; 又は以

10

20

30

40

50

下からなる群から選択される植物成長調節剤：アシベンゾラル、アシベンゾラル - S - メチル、5 - アミノレブリン酸、アンシミドール、6 - ベンジルアミノブリン、ブラシノリド、カテキン、クロルメコートクロリド、クロプロブ、シクラニリド、3 - (シクロプロブ - 1 - エニル) プロピオン酸、ダミノジド、ダゾメト、n - デカノール、ジケグラク、ジケグラク - ナトリウム、エンドタール、エンドタール - ジカリウム、- ジナトリウム、及びモノ (N, N - ジメチルアルキルアンモニウム) 、エテホン、フルメトラリン、フルレノール、フルレノール - ブチル、フルルブリミドール、ホルクロルフェヌロン、ジベレリン酸、イナベンフィド、インドール - 3 - 酢酸 (IAA) 、4 - インドール - 3 イル醋酸

、イソプロチオラン、プロベナゾール、ジャスモン酸、マレイン酸ヒドラジド、メピコートクロリド、1 - メチルシクロプロパン、ジャスモン酸メチル、2 - (1 - ナフチル) アセトアミド、1 - ナフチル酢酸、2 - ナフチルオキシ酢酸、ニトロフェノレート - 混合物、パクロブトラゾール、N - (2 - フェニルエチル) - - アラニン、N - フェニルタルアミド酸、プロヘキサジオン、プロヘキサジオン - カルシウム、プロヒドロジャスモン、サリチル酸、ストリゴラクトン、テクナゼン、チジアズロン、トリネキサパク、トリネキサパク - エチル、チトデフ、ウニコナゾール、ウニコナゾール - P ; 又はこれらの農学的に好ましい塩若しくはその他の形態。

【0110】

本発明の好ましい実施形態では、前記の場所に適用される除草剤組成物は、グリホサート及び / 又はグルホシネートをさらに含む。

【0111】

従って、除草剤組成物中の除草剤の性質に応じて、この組成物は、作付け前、出芽前及び / 又は出芽後に前記場所に適用することができる。「作付け前」とは、作物を前記場所に作付けする前に、除草剤組成物を適用することを意味し、「出芽前」とは、発芽した作物の種子が前記場所の表面から出現する前に、除草剤組成物を適用することを意味し、また「出芽後」とは、作物が前記場所上に見えるようになった後に、除草剤組成物を適用することを意味する。これらの個別の使用パターンは、単独又は任意の組合せで前記場所に適用することができる。例えば、使用パターンは、作付け前の適用に続いて、出芽後の適用を含んでもよい。

【0112】

本明細書に記載する除草剤組成物によって様々な雑草種を抑制する（すなわち、死滅又は損傷させる）ことができる。従って、本発明は、これらの植物種が不要である（すなわち、雑草である）場合に、これらを抑制する上で有用である。これらの植物種には、作物並びに一般に考慮される雑草が含まれ、限定されないが、以下の種が挙げられる：スズメノテッポウ (*Al opecurus myosuroides*) 、エノコログサ (アキノエノコログサ (*Setaria faberii*)) 、オニメヒシバ (*Digitaria sanguinalis*) 、スリナムグラス (*Brachiaria decumbens*) 、カラスムギ (*Avena fatua*) 、オナモミ (*Xanthium pensylvanicum*) 、シロザ (*Chenopodium album*) 、アサガオ (アサガオ類 (*Ipomoea spp.*)) 及び多数の他のイボモエア種、例えば、ヘデラケア (*hederacea*) 、グランジフォリア (*grangifolia*) など) 、アカザ (アマランサス (*Amaranthus spp.*)) 、ビロード葉 (イチビ (*Abutilion theophrasti*)) 、イヌビエ (*Echinocloa crus-galli*) 、バミューダグラス (ギョウシバ (*Cynodon dactylon*)) 、ヒゲナガチャヒキ (ウマノチャヒキ (*Bromus tectorum*)) 、オヒシバ (*Eleusine indica*) 、ネコジャラシ (エノコログサ (*Setaria viridis*)) 、イタリアンライグラス (ネズミムギ (*Lolium multiflorum*)) 、ジョンソングラス (セイバンモロコシ (*Sorghum halepense*)) 、小形種のカナリーグラス (ヒメカナリーグラス (*Phalaris minor*)) 、セイヨウヌカボ (*Apera spica-venti*) 、ウーリ

10

20

30

40

50

ーカップグラス(ナルコビエ(*Erichloa villosa*))、ショクヨウガヤツリ(*Cyperus esculentus*)、ハコベ(*Stellaria media*)、一般的ブタクサ、オオブタクサ(*Ambrosia trifida*) (ブタクサ(*Ambrosia artemisiifolia*))、ホウキギ(*Kochia scoparia*)、ヒメムカシヨモギ(*Conyza canadensis*)、ボウムギ(*Lolium rigidum*)、オヒシバ(*Eleusine indica*)、アレチノギク(*Conyza bonariensis*)、ヘラオオバコ(*Plantago lanceolata*)、マルバツユクサ(*Commelina benghalensis*)、セイヨウヒルガオ(*Convolvulus arvensis*)、ハマスゲ(*Cyperus rotundus*)、レッドバイン(*Brunnichia ovata*)、アメリカツノクサネム(*Sesbania exaltata*)、エビスグサ(*Senna obtusifolia*)、テキサスブリーウィード(*Helianthus ciliaris*)、オオクサキビ(*Panicum dichotomiflorum*)、テキサスキビ(*Panicum texanum*)、メリケンニクキビ((ビロードキビ)*Brachiaria*)、及びデビルズクロウ(ツノゴマ(*Proboscidea louisianica*))。本発明の別の態様では、雑草は、除草剤抵抗性ライグラス、例えば、グリホサート抵抗性ライグラス、パラコート抵抗性ライグラス、ACCase阻害剤抵抗性ライグラス、及び非選択的除草剤抵抗性ライグラスを含む。

【0113】

本発明の別の態様では、前記場所でボランティアSYHT0H2作物を抑制する方法が提供され、この方法は、ダイズに有効で、しかも、HPPDの阻害以外の作用機序を有する1種以上の除草剤を前記場所に適用するステップを含む。

【0114】

本発明の別の態様では、SYHT0H2作物を含む場所で、ボランティアトランシジェニックイベントを抑制する方法が提供され、このボランティアイベントは、1種以上の除草剤に対する抵抗性を含むが、HPPD除草剤に対する抵抗性は含んでおらず、本方法は、1種以上のHPPD除草剤を含む、抑制量の除草剤組成物を前記場所に適用するステップを含む。

【0115】

本発明の別の態様では、ある場所に、除草剤混合物を適用する方法が提供され、除草剤混合物は、HPPD阻害剤と、有害生物(雑草、病害、昆虫、センチュウ)防除の目的で、SYHT0H2が耐性を持たない可能性がある少なくとも1種の別の化学物質を含むが、ここで、SYHT0H2イベントが存在するため、残留HPPD活性から保護することにより、作付け前又は出芽前のいずれかに上記混合物の適用が可能になる。例えば、一態様では、パラコートのような典型的なバーンダウン型除草剤をHPPD阻害剤と組み合わせて、出芽前又は作付け前バーンダウン式適用で、上記の場所に適用する。

【0116】

本発明の一態様では、収量を改善するためにSYHT0H2植物を用いる。例えば、ダイズイベントSYHT0H2は、非噴霧の場合と比較して、出芽前又は早期の栄養成長期に、メソトリオンを噴霧すると、収量増加を示す。例えば、出芽前又は栄養成長期に、メソトリオンの2X噴霧を受けるダイズイベントSYHT0H2は、非噴霧の場合より高い収率を示しうる。従って、イベントSYHT0H2を含むダイズに、成長促進量のHPPD阻害剤を適用して、雑草圧力から独立した収量を改善することにより、植物収量を改善する方法が提供される。HPPD阻害剤は、メソトリオン又はその他のHPPD阻害剤であってよい。本明細書で用いる場合、成長促進量とは、HPPD阻害剤除草剤を噴霧されていないSYHT0H2植物と比較して、少なくとも約2倍、例えば、少なくとも約5倍、少なくとも約10、少なくとも約20倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍以上、植物収量を増加するのに十分なHPPD阻害剤除草剤の量を意味する。成長促進量はまた、HPPD阻害剤除草剤を噴霧されていないSYHT0H2植物と比較して、少なくとも約5%、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30

10

20

30

40

50

%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約100%以上、植物収量を増加するのに十分なHPPD阻害剤除草剤の量も意味する。

【0117】

本発明のある態様では、本方法は、本発明の植物及び/又は目的の区域（例えば、圃場又は栽培地）及び/又は雑草を1種だけの除草剤若しくは他の化学物質、例えば、HPPD阻害剤で処理することを含む。

【0118】

上記の方法はまた、複数のクラスの除草剤の同時及び/又は逐次的適用からなる使用も含む。特に、アベナ（Avena）HPPD配列を含む異種挿入断片は、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ（PAT）配列も含み、これは、グルホシネート（ホスフィノトリシンとも呼ばれる）のようなグルタミンシンテーゼ阻害剤に対する抵抗性を賦与する。ホスフィノトリシン（PTC、2-アミノ-4-メチルホスフィノ酪酸）は、ストレプトマイセス・ビリドクロモゲネス（*Streptomyces viridochromogenes*）Tu 494 (DSM 40736, DSM 4112) 株によって生産される抗生物質ホスフィノトリシルアラニル-アラニンの構造単位である。この抗生物質は、グラム陽性及びグラム陰性菌、並びに真菌ボトリシス・シネレア（*Botrytis cinerea*）に対して活性である。PTCはまた、有効な除草剤としても作用する。従って、イベントSYHT0H2は、グルホシネートのようなグルタミンシンテーゼ阻害剤と組み合わせて用いてもよい。代表的なグルホシネート除草剤は、BASTA（登録商標）、LIBERTY（登録商標）、RELY（登録商標）、CHALLENGE（登録商標）、IGNITE（登録商標）、及びFINAL（登録商標）として市販されている。

10

20

30

【0119】

除草剤のような様々な化学物質は、異なる「残留」効果、すなわち、化学物質又は除草剤による処理が、処理区域で生育する植物に対する効果を持続する異なる時間量を有する。このような効果は、処理区域（例えば、圃場又は栽培地）の所望する将来の目的に応じて、望ましいものもあれば、望ましくないものもある。従って、各作物に用いようとする処理からの残留効果、及び同じ区域で後に栽培しようとする作物に対するその影響に基づいて、輪作計画を選択することができる。当業者であれば、除草剤の残留効果を評価するのに用いることができる技術に精通している；例えば、一般に、グリホサートは、土壤残留活性が極めて少ないか全くないが、HPPDを阻害する作用を有する除草剤は、その残留活性レベルはまちまちである。各種除草剤の残留活性は、当分野では公知であり、様々な環境因子、例えば、土壤水分レベル、温度、pH、及び土壤組成（組織及び有機物質）によって変動することがわかっている。SYHT0H2ダイズ植物は、除草剤の残留活性に対する耐性の改善が有益である作物を栽培する方法において特に有用である。

【0120】

例えば、本発明の一態様では、前の作物に用いたHPPD除草剤の残留効果からの薬害の危険性を低減するために、例えば、前の作付けで、ビシクロピロン及びトプラメゾンをトウモロコシ作物に用いた場合、SYHT0H2ダイズ植物を作付けする。

40

【0121】

例えば、本発明の一態様では、SYHT0H2ダイズ植物は、個別に適用されると、HPPD阻害剤化学に対する改善された耐性を有するため、除草剤の組合せに対する改善された耐性をさらに提供する。さらには、本明細書に開示されるトランスジェニック植物は、除草剤処理と一緒に、作物に一般に用いられる化学物質、例えば、薬害軽減剤、補助剤、例えば、非イオン界面活性剤、イオン界面活性剤、硫酸アンモニウム及び作物油濃縮物などを含む処理に対する、改善された耐性を提供する。

【0122】

用語「薬害軽減剤」とは、除草剤組成物に添加されて、作物種子又は土壤に適用されると、特定の作物に対する除草剤の植物毒素作用を除去又は軽減する物質を指す。当業者で

50

あれば、薬害軽減剤の選択が、部分的に、目的の作物、及び相乗作用的除草剤の組成物に含まれる具体的除草剤又は除草剤の組合せによって変わることは理解されよう。本明細書に開示される除草剤組成物と一緒に用いるのに好適な薬害軽減剤の例としては、限定されないが、以下の文献に開示されているものが挙げられる：米国特許第4,808,208号明細書；同第5,502,025号明細書；同第6,124,240号明細書及び米国特許出願第2006/0148647号明細書；同第2006/0030485号明細書；同第2005/0233904号明細書；同第2005/0049145号明細書；同第2004/0224849号明細書；同第2004/0224848号明細書；同第2004/0224844号明細書；同第2004/0157737号明細書；同第2004/0018940号明細書；同第2003/0171220号明細書；同第2003/0130120号明細書；同第2003/0078167号明細書。尚、これらの文献の開示内容は、その全文を参照として本明細書に組み込むものとする、本方法は、作物の安全性を高めるために、以下の除草剤薬害軽減剤と組み合わせた除草剤の使用を含んでよい：例えば、ペノキサコル、BCS(1-プロモ-4-[クロロメチル]スルホニル)ベンゼン)、クロキントセト-メキシル、シトメトリニル、ジクロルミド、2-(ジクロロメチル)-2-メチル-1,3-ジオキソラン(MG 191)、フェンクロラゾール-エチル、フェンクロリム、フルラゾール、フルキソフェニム、フリラゾール、イソキサジフェン-エチル、メフェンピル-ジエチル、メトキシフェノン((4-メトキシ-3-メチルフェニル)(3-メチルフェニル)-メタノン)、ナフタル酸無水物(1,8-ナフタール酸無水物)、シプロスルファミド、N-(2-メトキシベンゾイル)-4-[メチルアミノカルボニル]アミノ]ベンゼンスルファミド、及びオキサベトリニル。解毒剤として有効な量の除草剤薬害軽減剤を化合物と同時に適用するか、又は種子処理剤として、若しくは土壤に適用することができる。従って、本発明の一態様は、HPPD阻害剤除草剤、少なくとも一種の他の除草剤、及び解毒剤として有効な量の除草剤薬害軽減剤を含む混合物の使用に関する。

【0123】

除草剤薬害軽減剤による種子の処理は、作物に対する解毒剤作用を物理的に制限することから、選択的雑草抑制のために特に有用である。従って、本発明の別の有用な態様は、圃場における雑草の成長を選択的に抑制する方法であり、この方法は、作物の種子を、雑草を抑制するのに有効な量の除草剤で処理するステップを含む。解毒剤として有効な量の薬害軽減剤は、当業者によって簡単な実験から決定することができる。解毒剤として有効な量の薬害軽減剤は、薬害軽減剤で処理しなかった植物に対する除草剤の効果と比較して、植物に対する除草剤の効果が低下するように、所望の植物を薬害軽減剤で処理する場合に存在し；一般に、解毒剤として有効な量の薬害軽減剤は、薬害軽減剤で処理した植物に対する薬害若しくは深刻な薬害を防止する。当業者は、薬害軽減剤の使用が適切であるか否かを決定して、作物に薬害軽減剤を投与すべき用量を決定することができる。

【0124】

一実施形態では、SYHT0H2イベントを含む種子を処理する。考えられる種子処理剤の例として、以下の化学物質が挙げられるが、これらに限定されない：アラニカルブ、アルジカルブ、ベンジオカルブ、ベンフラカルブ、ブトカルボキシム、ブトキシカルボキシム、カルバリル、カルボフラン、カルボスルファン、エチオフェンカルブ、フェノブカルブ、ホルメタネート、フラチオカルブ、イソプロカルブ、メチオカルブ、メトミル、メトールカルブ、オキサミル、ピリミカルブ、プロポキスル、チオジカルブ、チオファノクス、トリアザマート、トリメタカルブ、XMC、キシリルカルブ；アセフェート、アザメチホス、アジンホス-エチル、アジンホス-メチル、カズサホス、クロレトキシホス、クロルフェビンホス、クロルメホス、クロルピリホス、クロルピリホス-メチル、クマホス、シアノホス、デメトン-S-メチル、ジアジノン、ジクロルボス/DDVP、ジクロトホス、ジメトエート、ジメチルビンホス、ジスルホトン、EPN、エチオン、エトプロホス、ファムフル、ファナミホス、フェニトロチオン、フェンチオン、ホスチアゼート、ヘプテノホス、イミシアホス、イソフェンホス、イソプロピルO-(メトキシアミノ)チオ

- ホスホリル) サリチル酸塩、イソキサチオン、マラチオン、メカルバム、メタミドホス、メチダチオン、メビンホス、モノクロトホス、ナレド、オメトエート、オキシデメントン - メチル、パラチオン、パラチオン - メチル、フェントエート、ホレート、ホサロン、ホスメト、ホスファミドン、ホキシム、ピリミホス - メチル、プロフェノホス、プロペタノホス、プロチオホス、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、キナルホス、スルホテブ、テブピリンホス、テメホス、テルブホス、テトラクロルビンホス、チオメトン、トリアゾホス、トリクロルホン、バミドチオン、シクロジエンオルガノクロリン、クロルダン、エンドスルファン；エチプロール、フィプロニル、アクリナトリル、アレトリン、d - シス - トランスアレトリン、d - トランスアレトリン、ビフェントリン、ビオアレトリン、ビオアレトリン S - シクロペンテニル異性体、ビオレスメトリン、シクロプロトリン、シフルトリン、- シフルトリン、シハロトリン、- シハロトリン、- シハロトリン、シペルメトリン、- シペルメトリン、- シペルメトリン、- シペルメトリン、- シペルメトリン、シフェノトリン [(1R) - トランス異性体]、デルタメトリン、エンペントリン [(EZ) - (1R) 異性体]、エスフェンバレート、エトフェンプロクス、フェンプロパトリン、フェンバレート、フルシリネート、フルメトリン、- フルバリネート、ハルフェンプロクス、イミプロトリン、カデトリン、ペルメトリン、フェノトリン [(1R) - トランス異性体]、プラレトリン、ピレトリン (ジョチュウギク (pyrethrum))、レスメトリン、シラフルオフェン、テフルトリン、テトラメトリン、テトラメトリン [(1R) 異性体]、トラロメトリン、トランスフルトリン；DDT；メトキシクロル、アセタミブリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロビド、ニテンピラム、チアクロブリド、チアメトキサム；ニコチン、スピネトラム、スピノサド、アバメクチン、エマメクチン安息香酸塩、レピメクチン、ミルベメクチン、ヒドロブレン、キノブレン、メトブレン；フェノキシカルブ；ビリプロキシフェン、クロロピクリン；フッ化スルフリル；ホウ砂；吐酒石、ピメトロジン；フロニカミド、クロフェンテジン、ヘキリチアゾクス、ジフロビダジン、エトキサゾール、バチルス・チューリングエンシス亜種イスラエレンシス (*Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis*)、バチルス・スファエリクス (*Bacillus sphaericus*)、バチルス・チューリングエンシス亜種アイザワイ (*Bacillus thuringiensis* subspecies *aizawai*)、バチルス・チューリングエンシス亜種クルスタキ (*Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki*)、バチルス・チューリングエンシス亜種テネブリオニス (*Bacillus thuringiensis* subspecies *tenebrionis*)、BT 穀類タンパク質 : Cry1Ab、Cry1Ac、Cry1Fa、Cry2Ab、mCry3A、Cry3Ab、Cry3Bb、Cry34/35Ab1、ジアフェンチウロン、アゾシクロチン、シヘキサチニン、酸化フェンブタスズ；プロパルギット、テトラジホン、クロルフェナピル、DNOC、スルフルラミド、ベンスルタブ、カルタップ塩酸塩、チオシクラム、チオスルタップ - ナトリウム、ビストリフルロン、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、フルシクロクスロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン、ルフェヌロン、ノバルロン、ノビフルムロン、テフルベズロン、トリフルムロン、ブプロフェジン、シロマジン、クロマフェノジド、ハロフェノジド、メトキシフェノジド、テブフェノジド、アミトラズ、ヒドラメチルノン；アセキノシル；フルアクリピリム、フェナザキン、フェンピロキシメート、ピリミジフェン、ピリダベン、テブフェンピラド、トルフェンピラド、ロテノン (デリス)、インドキサカルブ；メタフルミゾン、スピロジクロフェン、スピロメシフェン、スピロテトラマト、リン化アルミニウム、リン化カルシウム、ホスフィン、リン化亜鉛、シエノピラフェン、クロラントラニリプロール、フルベンジアミド、アミドフルメト、アザジラクチン、ベンクロチアズ、ベンゾキシメート、ビフェナゼート、ブロモプロピレート、キノメチオナート、氷晶石、シアントリニプロール (Cazyopyr)、シフルメトフェン、ジコフォール、ジフロビダジン、フルエンスルホン、フルフェネリム、フルフィプロール、フルオピラム、フフェノジド、イミダクロチズ、イプロジオン、メペルフルトリン、ピリダリル、ピリフルキナ

ゾン、テトラメチルフルトリン、ヨードメタン；バチルス・フィルムス (Bacillus firmus) をベースとする製品 (限定されないが、株CNCM I-1582、例えば、VOTIVO (商標)、BioNemなど)；3-プロモ-N-[2-プロモ-4-クロロ-6-[(1-シクロプロピルエチル)カルバモイル]フェニル]-1-(3-クロロピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-5-カルボキサミド (国際公開第2005/077934号パンフレットから公知である)、4-[[(6-プロモピリジン-3-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第WO2007/115644号パンフレットから公知である)、4-[[(6-フルオロピリジン-3-イル)メチル] (2,2-ジフルオロエチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-[[(2-クロロ-1,3-チアゾール-5-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、4-[[(6-クロルピリジン-3-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第2007/115644号パンフレットから公知である)、フルピラジフロン、4-[[(6-クロル-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル] (メチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第2007/115643号パンフレットから公知である)、4-[[(5,6-ジクロロピリジン-3-イル)メチル] (2-フルオロエチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第2007/115646号パンフレットから公知である)、4-[[(6-クロロ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル] - (シクロプロピル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (国際公開第2007/115643号パンフレットから公知である)、4-[[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル] - (シクロプロピル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (欧州特許出願公開第A-0539588号明細書から公知である)、4-[[(6-クロルピリジン-3-イル)-メチル] (メチル)アミノ] フラン-2(5H)-オン (欧州特許出願公開第A-0539588号明細書から公知である)、{[1-(6-クロロピリジン-3-イル)エチル] (メチル)オキシド-⁴-スルファニリデン} シアンアミド (国際公開第2007/149134号パンフレットから公知である) 並びにそのジアステレオマー {[(1R)-1-(6-クロロピリジン-3-イル)エチル] (メチル)オキシド-⁴-スルファニリデン} シアンアミド (A) 及び {[(1S)-1-(6-クロロピリジン-3-イル)エチル] (メチル)オキシド-⁴-スルファニリデン} シアンアミド (B) (これも、国際公開第2007/149134号パンフレットから公知である)、さらには、スルホキサフロール及びそのジアステレオマー [(R)-メチル(オキシド) {[(1R)-1-[6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]エチル} - ⁴-スルファニリデン] シアンアミド (A1) 及び [(S)-メチル(オキシド) {[(1S)-1-[6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]エチル} - ⁴-スルファニリデン] シアンアミド (A2) (ジアステレオマーA群と呼ばれる) (国際公開第2010/074747号パンフレット、国際公開第2010/074751号パンフレットから公知である)、[(R)-メチル(オキシド) {[(1S)-1-[6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]エチル} - ⁴-スルファニリデン] シアンアミド (B1) 及び [(S)-メチル(オキシド) {[(1S)-1-[6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]エチル} - ⁴-スルファニリデン] シアンアミド (B2) (ジアステレオマーB群と呼ばれる) (これもまた、国際公開第2010/074747号パンフレット、国際公開第2010/074751号パンフレットから公知である)、並びに 11-(4-クロロ-2,6-ジメチルフェニル)-12-ヒドロキシ-1,4-ジオキサ-9-アザジスピロ [4.2.4.2] テトラデク-11-エン-10-オン (国際公開第2006/089633号パンフレットから公知である)、3-(4'-フルオロ-2,4-ジメチルビフェニル-3-イル)-4-ヒドロキシ-8-オキサ-1-アザスピロ [4.5] デク-3-エン-2-オン (国際公開第2008/067911号パンフレットから公知である)、1-{2-フルオロ-4-メチル-5-[(2,2,2-トリフルオルエチル)スルフィニル]フェニル}

10

20

30

40

50

- 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - アミン (国際公開第2006/043635号パンフレットから公知である)、[(3S, 4aR, 12R, 12aS, 12bS) - 3 - [(シクロプロピルカルボニル)オキシ] - 6 , 12 - ジヒドロキシ - 4 , 12b - ジメチル - 11 - オキソ - 9 - (ピリジン - 3 - イル) - 1 , 3 , 4 , 4a , 5 , 6 , 6a , 12 , 12a , 12b - デカヒドロ - 2H , 11H - ベンゾ [f] - ピラノ [4 , 3 - b] クロメン - 4 - イル] メチルシクロプロパンカルボキシレート (国際公開第2008/066153号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N , N - ジメチルベンゼン-スルホンアミド (国際公開第2006/056433号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - メチルベンゼン-スルホンアミド (国際公開第2006/100288号パンフレットから公知である)、2 - シアノ - 3 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチルベンゼン-スルホンアミド (国際公開第2005/035486号パンフレットから公知である)、4 - (ジフルオロメトキシ) - N - エチル - N - メチル - 1 , 2 - ベンゾチアゾール - 3 - アミン 1 , 1 - ジオキシド (国際公開第2007/057407号パンフレットから公知である)、N - [1 - (2 , 3 - ジメチルフェニル) - 2 - (3 , 5 - ジメチルフェニル)エチル] - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 3 - チアゾール - 2 - アミン (国際公開第2008/104503号パンフレットから公知である)、{ 1 ' - [(2E) - 3 - (4 - クロロフェニル)プロブ - 2 - エン - 1 - イル] - 5 - フルオロスピロ [インドール - 3 , 4 ' - ピペリジン] - 1 (2H) - イル} (2 - クロロ-ピリジン - 4 - イル) - メタノン (国際公開第2003/106457号パンフレットから公知である)、3 - (2 , 5 - ジメチルフェニル) - 4 - ヒドロキシ - 8 - メトキシ - 1 , 8 - ジアザスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 2 - オン (国際公開第2009/049851号パンフレットから公知である)、3 - (2 , 5 - ジメチルフェニル) - 8 - メトキシ - 2 - オキソ - 1 , 8 - ジアザスピロ [4 . 5] デク - 3 - エン - 4 - イルエチル炭酸塩 (国際公開第2009/049851号パンフレットから公知である)、4 - (ブト - 2 - イン - 1 - イルオキシ) - 6 - (3 , 5 - ジメチルピペリジン - 1 - イル) - 5 - フルオロピリミジン (国際公開第2004/099160号パンフレットから公知である)、(2 , 2 , 3 , 3 , 4 , 4 , 5 , 5 - オクタフルオロベンチル) (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル) マロノニトリル (国際公開第2005/063094号パンフレットから公知である)、(2 , 2 , 3 , 3 , 4 , 4 , 5 , 5 - オクタフルオロベンチル) (3 , 3 , 4 , 4 , 4 - ペンタフルオロ-ブチル) マロノニトリル (国際公開第2005/063094号パンフレットから公知である)、8 - [2 - (シクロプロピルメトキシ) - 4 - (トリフルオロ-メチル)フェノキシ] - 3 - [6 - (トリフルオロメチル) - ピリダジン - 3 - イル] - 3 - アザビシクロ [3 . 2 . 1] オクタン (国際公開第2007/040280号パンフレットから公知である)、フロメトキン、P E 1 3 6 4 (C A S - R e g . N o . 1 2 0 4 7 7 6 - 6 0 - 2) (特開2010-018586号公報から公知である)、5 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベンゾニトリル (国際公開第2007/075459号パンフレットから公知である)、5 - [5 - (2 - クロロピリジン - 4 - イル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - (1H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ベンゾニトリル (国際公開第2007/075459号パンフレットから公知である)、4 - [5 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - 5 - (トリフルオロメチル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 2 - メチル - N - { 2 - オキソ - 2 - [(2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル)アミノ] - エチル} ベンズアミド (国際公開第2005/085216号パンフレットから公知である)、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル)メチル] - (シクロプロピル)アミノ} - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5H) - オン、4 - { [(6 - クロロピリジン - 3 - イル)メチル] (2 , 2 - ジフルオロエチル) - アミノ} - 1 , 3 - オキサゾール - 2 (5H) - オン、4 - { [(6 - クロロ

ルイミドホルムアミド、N - エチル - N - メチル - N' - { 2 - メチル - 5 - (トリフルオロ-メチル) - 4 - [3 - (トリメチルシリル) プロポキシ] フェニル } イミドホルムアミド、O - [1 - (4 - メトキシフェノキシ) - 3 , 3 - ジメチルブタン - 2 - イル] 1 H - イミダゾール - 1 - カルボチオエート、ビキサフェン、ボスカリド、カルボキシン、ジフルメトリム、フェンフラム、フルピラム、フルトラニル、フルキサピロキサド、フラメトピル、フルメシクロクス、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1 RS、4 SR、9 RS 及び抗エピマーラセミ体 1 RS、4 SR、9 SR の混合物)、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1 RS、4 SR、9 SR の混合物)、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1 R、4 S、9 S の混合物)、イソピラザム (抗エピマーラセミ体 1 S、4 R、9 R の混合物)、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1 RS、4 SR、9 RS)、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1 R、4 S、9 R)、イソピラザム (syn - エピマーラセミ体 1 S、4 R、9 S)、メプトニル、オキシカルボキシン、ペンフルフェン、ペンチオピラド、セダキサン、チフルザミド、1 - メチル - N - [2 - (1 , 1 , 2 , 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - N - [2 - (1 , 1 , 2 , 2 - テトラフルオロエトキシ) フェニル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、3 - (ジフルオロメチル) - N - [4 - フルオロ - 2 - (1 , 1 , 2 , 3 , 3 , 3 - ヘキサフルオロプロポキシ) フェニル] - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [1 - (2 , 4 - ジクロロフェニル) - 1 - メトキシプロパン - 2 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、5 , 8 - ジフルオロ - N - [2 - (2 - フルオロ - 4 - { [4 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 2 - イル] オキシ } フェニル) エチル] キナゾリン - 4 - アミン、N - [9 - (ジクロロメチレン) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロ - 1 , 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1 S , 4 R) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロ - 1 , 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、N - [(1 R , 4 S) - 9 - (ジクロロメチレン) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロ - 1 , 4 - メタノナフタレン - 5 - イル] - 3 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、アメトクラジン、アミスルボム、アゾキシストロビン、シアゾファミド、クメトキシストロビン、クモキシストロビン、ジモキシストロビン、エネストロブリン、ファモキサドン、フェナミドン、フェノキシストロビン、フルオキサストロビン、クレソキシム - メチル、メトミノストロビン、オリサストロビン、ピコキシストロビン、ピラクロストロビン、ピラメトストロビン、ピラオキシストロビン、ピリベンカルブ、トリクロビリカルブ、トリフロキシストロビン、(2 E) - 2 - (2 - { [6 - (3 - クロロ - 2 - メチルフェノキシ) - 5 - フルオロピリミジン - 4 - イル] オキシ } フェニル) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、(2 E) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチル - 2 - (2 - { [((1 E) - 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エチリデン } アミノ) オキシ] メチル } フェニル) エタンアミド、(2 E) - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチル - 2 - { 2 - [(E) - ({ 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エトキシ } イミノ) メチル } フェニル } エタンアミド、(2 E) - 2 - { 2 - [({ [(1 E) - 1 - (3 - { [(E) - 1 - フルオロ - 2 - フェニルエテニル] オキシ } フェニル) エチリデン] アミノ } オキシ) メチル } フェニル } - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、(2 E) - 2 - { 2 - [({ [(2 E , 3 E) - 4 - (2 , 6 - ジクロロフェニル) ブト - 3 - エン - 2 - イリデン] アミノ } オキシ) メチル } フェニル } - 2 - (メトキシイミノ) - N - メチルエタンアミド、2 - クロロ - N - (1 , 1 , 3 - トリメチル - 2 , 3 - ジヒドロ - 1 H - インデン - 4 - イル) ピリジン - 3 - カルボキサミド、5 - メトキシ - 2 - メチル - 4 - (2 - { [({ (1 E) - 1 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] エチリデン } アミノ) オキシ] メチル } フェニル) - 2 , 4 - ジヒドロ - 3 H - 1 , 2 , 4 - トリ

アゾール - 3 - オン、メチル (2 E) - 2 - { 2 - [({ シクロプロピル [(4 - メトキシフェニル) イミノ] メチル } スルファニル) メチル] フェニル } - 3 - メトキシプロブ - 2 - エノエート、N - (3 - エチル - 3 , 5 , 5 - トリメチルシクロヘキシル) - 3 - (ホルミルアミノ) - 2 - ヒドロキシベンズアミド、2 - { 2 - [(2 , 5 - ジメチルフェノキシ) メチル] フェニル } - 2 - メトキシ - N - メチルアセトアミド、(2 R) - 2 - { 2 - [(2 , 5 - ジメチルフェノキシ) メチル] フェニル } - 2 - メトキシ - N - メチルアセトアミド、ベノミル、カルベンダジム、クロルフェナゾール、ジエトフェンカルブ、エタボキサム、フルオピコリド、フベリダゾール、ベンシクロン、チアベンダゾール、チオファネートメチル、チオファネート、ゾキサミド、5 - クロロ - 7 - (4 - メチルピペリジン - 1 - イル) - 6 - (2 , 4 , 6 - トリフルオロフェニル) [1 , 2 , 4] 10 リアゾロ [1 , 5 - a] ピリミジン、3 - クロロ - 5 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) - 6 - メチル - 4 - (2 , 4 , 6 - トリフルオロフェニル) ピリダジン、ボルドー液、キャプタホール、キャプタン、クロロタロニル、水酸化銅、ナフテン酸銅、酸化第一銅、塩基性塩化銅、硫酸銅 (I I) 、ジクロフルアニド、ジチアノン、ドジン、ドジンフリー 20 ベース、フェルバム、フルオフォルペット、フォルペット、グアザチン、酢酸グアザチン、イミノクタジン、イミノクタジンアルベシル酸塩、イミノクタジン三酢酸塩、マンカッパー、マンコゼブ、マネブ、メチラム、メチラム亜鉛、オキシン銅、プロパミジン、プロピネブ、イオウ、多硫化カルシウムなどのイオウ製剤、チラム、トリルフルアニド、ジネブ、ジラム、アシベンゾラル S メチル、イソチアニル、プロベナゾール、チアジニル、アンドプリム、プラスチシジン - S 、シプロジニル、カスガマイシン、カスガマイシン塩酸 20 塩、メパニピリム、ピリメタニル、3 - (5 - フルオロ - 3 , 3 , 4 , 4 - テトラメチル - 3 , 4 - ジヒドロイソキノリン - 1 - イル) キノリン、酢酸フェンチン、塩化フェンチン、水酸化フェンチン、シルチオファム、ベンチアバリカルブ、ジメトモルフ、フルモルフ、イプロバリカルブ、マンジプロパミド、ポリオキシン、ポリオキソリム、バリダマイシン A 、バリフェナレート、ビフェニル、クロロネブ、ジクロラン、エジフェンホス、エトリジアゾール、ヨードカルブ、イプロベンホス、イソプロチオラン、プロパモカルブ、プロパモカルブ塩酸塩、プロチオカルブ、ピラゾホス、キントゼン、テクナゼントルクロホス - メチル、カルプロパミド、ジクロシメト、フェノキサニル、フタリド、ピロキロン、トリシクラゾール、2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル { 3 - メチル - 1 - [(4 - メチルベンゾイル) アミノ] ブタン - 2 - イル } カルバメート、ベナラキシル、ベナラキシル - M (キララキシル) 、ブピリメート、クロジラコン、ジメチリモール、エチリモール、フララキシル、ヒメキサゾール、メタラキシル、メタラキシル - M (メフェノキサム) 、オフラセ、オキサジキシル、オキソリン酸、クロゾリネット、フェンピクロニル、フルジオキソニル、イプロジオン、プロシミドン、キノキシフェン、ピンクロゾリル、ビナパクリル、ジノカップ、フェリムゾン、フルアジナム、メプチルジノカップ、ベンチアゾール、ベトキサジン、カブシマイシン、カルボン、チノメチオナト、ピリオフェノン (クラザフェノン) 、クフラネブ、シフルフェナミド、シモキサニル、シプロスルファミド、ダゾメト、デバカルブ、ジクロロフェン、ジクロメジン、ジフェンゾコート、メチル硫酸ジフェンゾコート、ジフェニルアミン、エコメート、フェンピラザミン、フルメトベル、フルオロイミド、フルスルファミド、フルチアニル、ホセチル - アルミニウム、ホセチル - カルシウム、ホセチル - ナトリウム、ヘキサクロロベンゼン、イルママイシン、メタスルホカルブ、メチルイソチオシアネート、メトラフェノン、ミルジオマイシン、ナタマイシン、ニッケルジメチルジチオカルバメート、ニトロタール - イソプロピル、オクチリノン、オキサノカルブ、オキシフェンチン、ベンタクロロフェノール及びその塩、フェノトリン、リン酸及びその塩、プロパモカルブ - ホセチレート、プロパノシン - ナトリウム、プロキナジド、ピリモルフ、(2 E) - 3 - (4 - t e r t - ブチルフェニル) - 3 - (2 - クロロピリジン - 4 - イル) - 1 - (モルホリン - 4 - イル) プロブ - 2 - エン - 1 - オン、(2 Z) - 3 - (4 - t e r t - ブチルフェニル) - 3 - (2 - クロロピリジン - 4 - イル) - 1 - (モルホリン - 4 - イル) プロブ - 2 - エン - 1 - オン、ピロールニトリ 40 ン、テブフロキン、テクトフタラム、トルニファニド、トリアゾキシド、トリクラミド、

50

ザリラミド、(3S, 6S, 7R, 8R) - 8 - ベンジル - 3 - [({ 3 - [(イソブチ
 リルオキシ) メトキシ] - 4 - メトキシピリジン - 2 - イル } カルボニル) アミノ] - 6
 - メチル - 4 , 9 - ジオキソ - 1 , 5 - ジオキソナン - 7 - イル 2 - メチルプロパノエー
 ト、1 - (4 - { 4 - [(5R) - 5 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 4 , 5 - ジヒ
 ドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル } ピペリジン
 - 1 - イル) - 2 - [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1
 - イル] エタノン、1 - (4 - { 4 - [(5S) - 5 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル)
 - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イ
 ル } ピペリジン - 1 - イル) - 2 - [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H -
 ピラゾール - 1 - イル] エタノン、1 - (4 - { 4 - [5 - (2 , 6 - ジフルオロフェニ
 ル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 2
 - イル } ピペリジン - 1 - イル) - 2 - [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1
 H - ピラゾール - 1 - イル] エタノン、1 - (4 - メトキシフェノキシ) - 3 , 3 - ジメ
 チルブタン - 2 - イル 1H - イミダゾール - 1 - カルボキシレート、2 , 3 , 5 , 6 - テ
 トラクロロ - 4 - (メチルスルホニル) ピリジン、2 , 3 - ジブチル - 6 - クロロチエノ
 [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 (3H) - オン、2 , 6 - ジメチル - 1H , 5H - [1 ,
 4] ジチイノ [2 , 3 - c : 5 , 6 - c '] ジピロール - 1 , 3 , 5 , 7 (2H , 6H)
 - テトロン、2 - [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 -
 イル] - 1 - (4 - { 4 - [(5R) - 5 - フェニル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキ
 サゾール - 3 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル } ピペリジン - 1 - イル) エタノ
 ン、2 - [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] -
 1 - (4 - { 4 - [(5S) - 5 - フェニル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール
 - 3 - イル] - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル } ピペリジン - 1 - イル) エタノン、2 -
 [5 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1H - ピラゾール - 1 - イル] - 1 - { 4
 - [4 - (5 - フェニル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール - 3 - イル) - 1 ,
 3 - チアゾール - 2 - イル] ピペリジン - 1 - イル } エタノン、2 - ブトキシ - 6 - ヨー
 ド - 3 - プロピル - 4H - クロメン - 4 - オン、2 - クロロ - 5 - [2 - クロロ - 1 - (
 2 , 6 - ジフルオロ - 4 - メトキシフェニル) - 4 - メチル - 1H - イミダゾール - 5 -
 イル] ピリジン、2 - フェニルフェノール及びその塩、3 - (4 , 4 , 5 - トリフルオロ
 - 3 , 3 - ジメチル - 3 , 4 - ジヒドロイソキノリン - 1 - イル) キノリン、3 , 4 , 5
 - トリクロロピリジン - 2 , 6 - ジカルボニトリル、3 - [5 - (4 - クロロフェニル)
 - 2 , 3 - ジメチル - 1 , 2 - オキサゾリジン - 3 - イル] ピリジン、3 - クロロ - 5 -
 (4 - クロロフェニル) - 4 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 6 - メチルピリダジン
 、4 - (4 - クロロフェニル) - 5 - (2 , 6 - ジフルオロフェニル) - 3 , 6 - ジメ
 チルピリダジン、5 - アミノ - 1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - チオール、5 - クロロ
 - N ' - フェニル - N ' - (プロプ - 2 - イン - 1 - イル) チオフェン - 2 - スルホノヒ
 ドラジド、5 - フルオロ - 2 - [(4 - フルオロベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - ア
 ミン、5 - フルオロ - 2 - [(4 - メチルベンジル) オキシ] ピリミジン - 4 - アミン、
 5 - メチル - 6 - オクチ [1 , 2 , 4] トリアゾロ [1 , 5 - a] ピリミジン - 7 - アミ
 ン、エチル (2Z) - 3 - アミノ - 2 - シアノ - 3 - フェニルプロプ - 2 - エノエート、
 N ' - (4 - { [3 - (4 - クロロベンジル) - 1 , 2 , 4 - チアジアゾール - 5 - イル
] オキシ } - 2 , 5 - ジメチルフェニル) - N - エチル - N - メチルイミドホルムアミド
 、N - (4 - クロロベンジル) - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロプ - 2 - イン - 1 - イ
 ルオキシ) フェニル] プロパンアミド、N - [(4 - クロロフェニル) (シアノ) メチル
] - 3 - [3 - メトキシ - 4 - (プロプ - 2 - イン - 1 - イルオキシ) フェニル] プロパ
 ンアミド、N - [(5 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) メチル] - 2 , 4 - ジ
 クロロピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5 - プロモ - 3 - クロロピリジン -
 2 - イル) エチル] - 2 , 4 - ジクロロ-ピリジン - 3 - カルボキサミド、N - [1 - (5
 - プロモ - 3 - クロロピリジン - 2 - イル) エチル] - 2 - フルオロ - 4 - ヨードピリ
 ジン - 3 - カルボキサミド、N - { (E) - [(シクロプロピルメトキシ) イミノ] [6
 10
 20
 30
 40
 50

ル) ピフェニル - 2 - イル] - 1 , 3 - ジメチル - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミド、2 - クロロ - N - [4 ' - (3 - メトキシ - 3 - メチルブト - 1 - イン - 1 - イル) ピフェニル - 2 - イル] ピリジン - 3 - カルボキサミド、(5 - プロモ - 2 - メトキシ - 4 - メチルピリジン - 3 - イル) (2 , 3 , 4 - トリメトキシ - 6 - メチルフェニル) メタノン、N - [2 - (4 - { [3 - (4 - クロロフェニル) プロブ - 2 - イン - 1 - イル] オキシ} - 3 - メトキシフェニル) エチル] - N 2 - (メチルスルホニル) バリンアミド、4 - オキソ - 4 - [(2 - フェニルエチル) アミノ] ブタン酸、ブト - 3 - イン - 1 - イル { 6 - [({ (Z) - (1 - メチル - 1 H - テトラゾール - 5 - イル) (フェニル) メチレン] アミノ} オキシ) メチル] ピリジン - 2 - イル} カルバメート。

【0125】

10

本発明の別の態様では、SYHT0H2植物に適用される除草剤又は除草剤の組合せは、薬害軽減剤として作用する。例えば、第1除草剤又は除草剤混合物は、解毒剤として有効な量で、植物に適用する。例えば、本方法は、植物において活性のプロモーターに機能的に連結した、HPPD阻害剤除草剤に対する耐性を賦与しうるポリペプチドをエンコードする第1ポリヌクレオチドと；植物において活性のプロモーターに機能的に連結した、除草剤耐性を賦与するポリペプチドをエンコードする第2ポリヌクレオチドとを含む作物種子又は植物を栽培地に作付けするステップを含むことができる。少なくとも有効量の第1及び第2除草剤を含む除草剤の組合せを、作物、作物部分、雑草、又は栽培地に適用する。有効量の除草剤組合せが、雑草を抑制するが；有効量の第1除草剤は、第1除草剤に暴露されていない対照作物と比較して、単独で適用されると、この除草剤に対し作物は耐性ではなく；有効量の第2除草剤は、薬害軽減効果を生み出すのに十分なものあり、その薬害軽減効果により、第1除草剤が単独で適用された場合の作物耐性と比較して、第1及び第2除草剤を適用すると、作物耐性が増大する。

【0126】

20

本発明の特定の態様では、薬害軽減除草剤の組合せは、第1HPPD阻害剤及び第2HPPD阻害剤を含む。本発明の別の態様では、薬害軽減効果は、有効量のHPPD阻害剤及び少なくとも1種の別の除草剤の組合せを適用することによって達成される。このような混合物は、作物耐性の増大（すなわち、除草剤による損傷の低減）をもたらす。この方法によって、処理後又は処理前の化学作用の適用速度の増加が可能になる。

【0127】

30

本発明の別の態様では、エンバク (Avena sativa) HPPD以外の異種核酸の標的挿入のための部位 (SYHT0H2と同じ部位である) が提供される。実施例5及び6を参照されたい。

【0128】

本発明のさらに別の態様では、イベントSYHT0H2を含むダイズ植物の種子及びそのダイズ植物の様々な部分をヒト用の食品、家畜用飼料、並びに工業用原材料に使用することができる。ダイズ種子を粉碎して、又はダイズ種子の成分を抽出して、食品又は飼料製品に含有させることもできる。

【0129】

40

ダイズは、世界の主要な植物油及びタンパク質ミール供給源である。ダイズから抽出された油は、料理油、マーガリン、及びサラダドレッシングに用いられる。ダイズ油は、飽和、モノ不飽和及び高不飽和脂肪酸から構成される。これは、含有率11%パルミチン脂肪酸、4%ステアリン脂肪酸、25%オレイン脂肪酸、50%リノール脂肪酸及び9%リノレン脂肪酸の典型的組成を有する ("Economic Implications of Modified Soybean Traits Summary Report", Iowa Soybean Promotion Board and American Soybean Association Special Report 92S, May 1990)。酸化安定性及び栄養の改善のために、脂肪酸組成の改変が絶えず求められている。さらなる加工に付されるダイズ油の工業用途としては、塗料、プラスチック、繊維、洗剤、化粧品、潤滑剤及びバイオディーゼル燃料の成分がある。ダイ

50

ズ油は、分解、エステル交換、イオウ処理、エポキシ化、重合、エトキシル化、又は開裂されうる。改善された機能性及び油脂化学を有するダイズ油誘導体の設計及び生産は急速に成長している分野である。トリグリセリドの典型的混合物は、通常、分解して、純粋な脂肪酸に分離した後、石油由来のアルコール若しくは酸、窒素、スルホン酸塩、塩素、又は脂肪及び油由来の脂肪アルコールと組み合わせる。

【0130】

ダイズはまた、動物及びヒトの両方の食料源としても用いられている。ダイズは、家禽、ブタ及び畜牛のタンパク源として広く用いられている。全ダイズの加工時に、纖維質の外皮が除去され、油が抽出される。残ったダイズミールは、炭水化物と約50%のタンパク質の組合せである。

10

【0131】

ヒトの消費のために、ダイズミールは、ダイズ粉に製造された後、食肉増量剤又は専用ペットフードに用いられるタンパク質濃縮物に加工される。ダイズからの食用タンパク質材料の生産により、食肉及び乳製品中の動物タンパク質に対する、より健康的で、より安価な代替品が提供される。

【0132】

上記の製品の生産工程は、例えば、以下のように実施される：(i) ダイズが含有する水分がわずか9%になるまで、ダイズを82まで加熱し；(ii) バレル中に24~72時間静置し；(iii) ダイズを粉碎して、鞘部を除去することにより、残留物が、もとのダイズの1/4~1/8になるようにし；(iv) 吸気により鞘部を除去し；(v) 残留物を71で20~30分加熱し；(vi) 残留物をプレスして、厚さが1.2~1.6ミリメートルの小さなフレークにし；(vii) 機械圧力及び蒸気を用いて処理することにより「コレット」を形成し；(viii) ヘキサンで洗浄することにより、脂肪を希釈し；(ix) 100で20分加熱することにより、脂肪を蒸発させ（回収した脂肪から、ダイズ油を生産する）；(x) さらに加熱して、ヘキサンを除去し；(xi) コレットを2~4ミリメートルに分けてプレスすることにより、ダイズミールを生産するか、又は飼料用ダイズ粕にプレスする。

20

【0133】

本発明の態様を以下の実施例においてさらに説明する。これらの実施例が、あくまで例示として与えられることは理解すべきである。前述の記載及びこれらの実施例から、当業者であれば、本発明の本質的な特徴を確認し、また、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、本発明の態様の様々な変更及び改変を行って、様々な用法及び条件に本発明を適合させることができるであろう。従って、本明細書に説明し、記載したものに加えて、本発明の態様の様々な改変が、前述の記載から当業者には明らかであろう。このような改変も添付の特許請求の範囲に含まれるものとする。

30

【0134】

組合せ及び適用

以下の表は、以下を含むSYHT0H2と交配させることが考えられる育種積層の例(i)既知のトランスジェニックイベント(表2参照)、(ii)SYHT0H2に遺伝子的に組み込むことができる特徴の可能な組合せ又は(iii)新規のトランスジェニックイベントに遺伝子的に組み込んだ後、SYHT0H2と交配させたもの(表3参照)、並びにこのような積層への使用が考えられる除草剤の組合せを示す。(表2および3を参照)

40

【0135】

この組合せのいずれについても、以下のことが常に可能である：(i) HPPD阻害剤のみ(例えば、25~500g/haのスルコトリオン、25~250g/haのメソトリオン、25~250g/haのビシクロピロン、25~250g/haのイソキサフルトール、25~250g/haのテンボトリオン、5~250g/haのトプラメゾン)、5~250g/haのピラスルファトールを使用すること、(ii)タンク混合の形態の組合せを用いること、及び/又は(iii)後の適用の形態で適用を実施すること。こ

50

の意味で、以下の表に示す「+」は、植物の同じ圃場に対する表示除草剤の任意の適用を意味する。これには、混合物及び後の適用の両方が含まれるが、適用の時間及び順序は変わりうる。

【0136】

【表2】

表2

SYT0H2 以外に以下を含む育種積層:	以下を含む除草剤組成物:
グリホサート抵抗性、 例えば、EPSPS (例: GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5)	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート c. 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート
グルホシネット抵抗性、 例えば、pat / bar (例: A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262)	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット c. 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット
2,4-D 耐性 (例: DAS-68416-4, DAS-40278-9)	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D c. 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D
ジカンバ 耐性 (例: MON87708)	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ c. 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ

【0137】

10

20

30

【表3】

【 0 1 3 8 】

【表4】

	<p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン+ (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラムーメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール+ (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラムーメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル</p>	10
グリホサート 抵抗性, 例えれば, EPSPS (例: GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5) 及び グルホシネット 抵抗性, 例えれば, pat / bar (例: A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262)	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>c. 25~250 g/ha ビシクロピロン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>d. 25~250 g/ha イソキサフルトール+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p>	20
グリホサート 抵抗性, 例えれば, EPSPS (例: GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5) 及び グルホシネット 抵抗性, 例えれば, pat / bar (例: A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262) 及び ジカンバ 耐性 (例: MON87708)	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>c. 25~250 g/ha ビシクロピロン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>d. 25~250 g/ha イソキサフルトール+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール+ (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット+ (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート+ (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p>	30

【表5】

グリホサート抵抗性、 例えば、EPSPS(例: GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5)及びグ ルホシネット抵抗性、 例えば、pat / bar(例: A2704-12, DAS- 68416-4, A5547-127, GU262)及び2,4-D耐 性(例:DAS-68416-4, DAS-40278-9))	<ol style="list-style-type: none"> 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D
---	--

【0140】

【表6】

表3

さらに以下を含む分子 積層:	以下を含む除草剤組成物:
グリホサート抵抗性、 例えば、EPSPS, GAT, GOX	<ol style="list-style-type: none"> 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート

【0141】

【表7】

グルホシネット抵抗性、 例えば、PAT, BAR	<ol style="list-style-type: none"> 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット
2,4-D耐性、例えば、 tfDA, AAD-1, AAD- 12, AAD-13	<ol style="list-style-type: none"> 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D
ジカンバ耐性、例えば、 ジカンバモノオキシゲナ ーゼ(DMO)	<ol style="list-style-type: none"> 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ 25~250 g/ha ビシクロピロン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ

10

20

30

40

50

【0142】

【表8】

ALS 耐性, 例えば, S4 及び Hra	a.	25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル	10
	b.	25~250 g/ha メトリオントリオノン + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル	20
	c.	25~250 g/ha ピシクロピロン + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル	20
	d.	25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル	30
	e.	25~250 g/ha テンボトリオントリオノン + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル	

【0143】

40

【表9】

	<p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル</p>	10
グリホサート抵抗性, 例えば, EPSPS, GAT, GOX 及び グルホシネート抵抗性, 例えば, PAT, BAR	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>c. 25~250 g/ha ピシクロビロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート</p>	20
グリホサート抵抗性, 例えば, EPSPS, GAT, GOX 及び 2,4-D 耐性, 例えば, tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>c. 25~250 g/ha ピシクロビロン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p>	30

【表 10】

グルホシネット 抵抗性、 例えば、PAT, BAR 及び 2,4-D 耐性、例え ば、tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D c. 25~250 g/ha ビシクロビロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D
グリホサート 抵抗性、例 えば、EPSPS, GAT, GOX 及び ジカンバ 耐性、例 えば、DMO	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任 意で) 50~2000 g/ha ジカンバ c. 25~250 g/ha ビシクロビロン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ
グルホシネット 抵抗性、 例えば、PAT, BAR 及び ジカンバ 耐性、例 えば、DMO	a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ c. 25~250 g/ha ビシクロビロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ

【0145】

【表 1 1】

グリホサート抵抗性、 例えば、EPSPS, GAT, GOX 及び グルホシネート抵抗性、 例えば、PAT, BAR 及びジカンバ耐性、 例えば、DMO	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>c. 25~250 g/ha ビシクロビロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ</p>	10
グリホサート抵抗性、 例えば、EPSPS, GAT, GOX 及び グルホシネート抵抗性、 例えば、PAT, BAR 及 び 2,4-D 耐性、 例えば、 tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>c. 25~250 g/ha ビシクロビロン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>d. 25~250 g/ha イソキサフルトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p>	20
グリホサート抵抗性、 例えば、EPSPS, GAT, GOX 及び グルホシネート抵抗性、 例えば、PAT, BAR 及 び ALS 阻害剤耐性、 例えば、Sr4, Hra	<p>a. 25~500 g/ha スルコトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマムメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロンエチル</p> <p>b. 25~250 g/ha メソトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネート + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマムメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロンエチル</p>	30

【0146】

【表12】

【表13】

(0 1 4 8)

【表14】

- e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザビク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラムーメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロンーエチル + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ
- f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザビク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラムーメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロンーエチル + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ
- g. 5~250 g/ha ピラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, プリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, プリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザビク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスラム, クロランスラムーメチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロンーエチル + (任意で) 50~2000 g/ha ジカンバ

【 0 1 4 9 】

【表15】

(0 1 5 0)

【表 16】

	<p>e. 25~250 g/ha テンボトリオン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, ブリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, ブリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>f. 5~250 g/ha トプラメゾン + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, ブリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, ブリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p> <p>g. 5~250 g/ha ビラスルファトール + (任意で) 200~1500 g/ha グルホシネット + (任意で) 350~2000 g/ha グリホサート + (任意で) 以下からなる群から選択される任意の除草剤又は除草剤の組合せ 5~500 g/ha: プロスルフロン, ブリミスルフロン, トリアスルフロン, ベンスルフロン, ニコスルフロン, リムスルフロン, ブリミスルフロン, チフェンスルフロン, ホラムスルフロン, クロルスルフロン, ハロスルフロン, イマザキン, イマザピク, イマザビル, イマゼタビル, イマザモクス, ヨードスルフロン, メトスルフロン, メソスルフロン, スルホスルフロン, トリフロキシスルフロン, トリベヌロンメチル, チアゾビル, ジクロスマム, クロランスマム-メチル, フルカバゾン, フルメツラム, チエンカルバゾン, クロリムロン-エチル + (任意で) 100~2000 g/ha 2,4-D</p>
--	---

【0151】

表は、例として記載するに過ぎない。SYHT0H2と一緒に、又はSYHT0H2に遺伝子的に組み込んだ育種積層に含ませることが考えられる特徴としては、限定されないが、以下をエンコードする特徴が挙げられ：グリホサート耐性（例えば、抵抗性植物又は細菌E P S P S、G O X、G A T）、グルホシネット抵抗性（例えば、P A T、B A R）、アセトラクテートシンターゼ（A L S）阻害除草剤抵抗性（例えば、イミダゾリノン〔イマゼタビルなど〕、スルホニル尿素、トリアゾロピリミジンスルホナニリド、ピリルミジニルチオベンゾエート、及びその他の化学物質）、プロモキシニル抵抗性（例えば、B x n）、H P P D（例えば、シュードモナス（Pseudomonas）、エンバク（A v e n a s a t i v a）由来の4-ヒドロキシルフェニル-ピルビン酸-ジオキシゲナーゼ）酵素の阻害剤に対する抵抗性、フィトエンデサチュラーゼの阻害剤に対する抵抗性（P D S）、光学系I I 阻害除草剤（例えば、p s b A）に対する抵抗性、光学系I 阻害除草剤に対する抵抗性、プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼI X（P P O）阻害除草剤（例えば、ホメサフェン、アシリフルオフェン-ナトリウム、オキシフルオルフェン、ラクトフェン、フルチアセト-メチル、サフルフェナシル、フルミオキサジン、フルミクロラク-ベンチル、カルフェントラゾン-エチル、スルフェントラゾン）に対する抵抗性、フェニル尿素除草剤（例えば、C Y P 7 6 B 1）に対する抵抗性、2, 4 - D 抵抗性（例えば、アリールオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ又はt f d A、A A D - 1、A A D - 1 2、又はA A D - 1 3）、ホモゲンチジン酸ソランシルトランスフェラーゼ（例えば、H S T）ジカンバ分解酵素（例えば、D M O）、またさらに、上記以外のものを単独で、又は複数の組合せで、積層することにより、雑草シフトを有効に抑制又は予防する能力及び/又は前述したクラスのあらゆる除草剤に対する抵抗性を賦与することができる。

10

20

30

40

50

【0152】

上に個別に挙げた除草剤組成物は、以下からなる群から選択される1種以上のダイズ選択的除草剤をさらに含んでもよい：アセトクロル、アシフルオルフェン、アシフルオルフェン-ナトリウム、アクロニフェン、アラクロル、アリドクロル、アロキシジム、アロキシジム-ナトリウム、アメトリン、アミカルバゾン、アミドクロル、アミドスルフロン、アミノシクロピラクロル、アミノシクロピラクロル-カリウム、アミノシクロピラクロル-メチル、アミノピラリド、アミトロール、スルファミド酸アンモニウム、アニロホス、アスラム、アトラジン、アザフェニジン、アジンスルフロン、ベフルブタミド、ベナゾリン、ベナゾリン-エチル、ベンフルラリン、ベンフレセート、ベンスルフロン、ベンスルフロン-メチル、ベンスリド、ベンタゾン、ベンゾビシクロロン、ベンゾフェナブ、ビシクロピロン、ビフェノクス、ビラナホス、ビラナホス-ナトリウム、ビスピリバク、ビスピリバク-ナトリウム、ブロマシル、ブロモブチド、ブロモフェノキシム、ブロモキシニル、ブロモキシニル-酪酸塩、-カリウム、-ヘプタン酸塩及び-オクタン酸塩、ブソキシノン、ブタクロル、ブタフェナシル、ブタミホス、ブテナクロル、ブトラリン、ブトロキシジム、ブチレート、カフェンストロール、カルベタミド、カルフェントラゾン、カルフェントラゾン-エチル、クロランベン、クロルプロムロン、クロルフェナク、クロルフェナク-ナトリウム、クロルフェンプロブ、クロルフルレノール、クロルフルレノール-メチル、クロリダゾン、クロリムロン、クロリムロン-エチル、クロロフタリム、クロロトルロン、クロルタール-ジメチル、クロルスルフロン、シニドン、シニドン-エチル、シンメチリン、シノスルフロン、クレトジム、クロジナホブ、クロジナホブ-プロパルギル、クロマゾン、クロメプロブ、クロピラリド、クロランスラム、クロランスラム-メチル、クミルロン、シアニアミド、シアナジン、シクロエート、シクロスルファムロン、シクロキシジム、シハロホブ、シハロホブ-ブチル、シプラジン、2,4-D、2,4-D-ブトチル、-ブチル、-ジメチルアンモニウム、-ジオールアミン、-エチル、2-エチルヘキシル、ダゾメト、-イソブチル、-イソオクチル、-イソプロピルアンモニウム、-カリウム、-トライソプロパノールアンモニウム及び-トロールアミン、2,4-DB、2,4-DB-ブチル-ジメチルアンモニウム、イソオクチル、-カリウム及び-ナトリウム、ダイムロン(dyuron)、ダラポン、n-デカノール、デスマジファム、デトシル-ピラゾレート(DTP)、ジカンバ、ジクロベニル、ジクロルプロブ、ジクロルプロブ-P、ジクロホブ、ジクロホブ-メチル、ジクロホブ-P-メチル、ジクロスラム、ジフェンゾコート、ジフルフェニカン、ジフルフェンゾピル、ジフルフェンゾピル-ナトリウム、ジメフロン、ジメピペラート、ジメタクロル、ジメタメトリン、ジメテナミド、ジメテナミド-P、ジメトラスルフロン、ジニトラミン、ジノテルブ、ジフェナミド、ジコート、ジコート-ジブロミド、ジチオビル、ジウロン、DNOC、エドタール、EPIC、エスプロカルブ、エタルフルラリン、エタメトスルフロン、エタメトスルフロン-メチル、エチオジン、エトフメセート、エトキシフェン、エトキシフェン-エチル、エトキシスルフロン、エトベンザニド、F-5231、すなわち、N-[2-クロロ-4-フルオロ-5-[4-(3-フルオロプロピル)-5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1H-テトラゾール-1-イル]フェニル]エタンスルホンアミド、F-7967、すなわち、3-[7-クロロ-5-フルオロ-2-(トリフルオロメチル)-1H-ベンズイミダゾール-4-イル]-1-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリミジン-2,4(1H,3H)-ジオン、フェノキサプロブ、フェノキサプロブ-P、フェノキサプロブ-エチル、フェノキサプロブ-P-エチル、フェノキサスルホン、フェントラザミド、フランプロブ、フランプロブ-M-イソプロピル、フランプロブ-M-メチル、フラザスルフロン、フロラスラム、フルアジホブ、フルアジホブ-P、フルアジホブ-ブチル、フルアジホブ-P-ブチル、フルカルバゾン、フルカルバゾン-ナトリウム、フルセトスルフロン、フルクロラリン、フルフェナセト(チアフルアミド)、フルフェンピル、フルフェンピル-エチル、フルメトスラム、フルミクロラク、フルミクロラク-ベンチル、フルミオキサジン、フルメツロン、フルレノール、フルレノール-ブチル、-ジメチルアンモニウム及び-メチル、フルオログリコフェン、フルオログリコフェン-エチル、フルプロパネット

10

20

30

40

50

、フルピルスルフロン、フルピルスルフロン - メチル - ナトリウム、フルリドン、フルロクロリドン、フルロキシピル、フルロキシピル - メチル、フルルタモン、フルチアセト、フルチアセト - メチル、フルチアミド、ホメサフェン、ホメサフェン - ナトリウム、ホラムスルフロン、ホサミン、グルホシネート、グルホシネート - アンモニウム、グルホシネート - P - ナトリウム、グルホシネート - P - アンモニウム、グルホシネート - P - ナトリウム、グリホサート、グリホサート - アンモニウム、- イソプロピルアンモニウム、- ジアンモニウム、- ジメチルアンモニウム、- カリウム、- ナトリウム、及び - トリメシウム、H - 9 2 0 1、すなわち、O - (2 , 4 - ジメチル - 6 - ニトロフェニル) O - エチル - イソプロピルホスホルアミドチオエート、ハロサフェン、ハロスルフロン、ハロスルフロン - メチル、ハロキシホプ、ハロキシホプ - P、ハロキシホプ - エトキシエチル、ハロキシホプ - P - エトキシエチル、ハロキシホプ - メチル、ハロキシホプ - P - メチル、ヘキサジノン、HW - 0 2、すなわち、1 - (ジメトキシホスホリル) - エチル - (2 , 4 - ジクロロフェノキシ) 酢酸塩、イマザメタベンズ、イマザメタベンズ - メチル、イマザモクス、イマザモクス - アンモニウム、イマザピク、イマザピク - アンモニウム、イマザピル、イマザピル - イソプロピルアンモニウム、イマザキン、イマザキン - アンモニウム、イマゼタピル、イマゼタピル - インモニウム、イマゾスルフロン、インダノファン、インダジフラム、ヨードスルフロン、ヨードスルフロン - メチル - ナトリウム、イオキシニル、イオキシニル - オクタン酸塩、- カリウム、及び - ナトリウム、イプフェンカルバゾン、イソプロツロン、イソウロン、イソキサベン、イソキサフルトール、カルブチレート、K U H - 0 4 3、すなわち、3 - ({ [5 - (ジフルオロメチル) - 1 - メチル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 4 - イル] メチル } スルホニル) - 5 , 5 - ジメチル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 2 - オキサゾール、ケトスピラドクス、ラクトフェン、ケナシル、キヌロン、M C P A、M C P A - ブトチル、- ジメチルアンモニウム、- 2 - エチルヘキシル、- イソプロピルアンモニウム、- カリウム、及び - ナトリウム、M C P B、M C P B - メチル、- エチル及び - ナトリウム、メコプロブ、メコプロブ - ナトリウム、及び - ブトチル、メコプロブ - P、メコプロブ - P - ブトチル、ジメチルアンモニウム、- 2 - エチルヘキシル及び - カリウム、メフェナセト、メフルイジド、メソスルフロン、メソスルフロン - メチル、メソトリオン、メタベンズチアズロン、メタム、メタミホブ、メタミトロン、メタザクロル、メタゾスルフロン、メタベンズチアズロン、メチオピルスルフロン、メチオゾリン、メチルイソチオシアネート、メトブロムロン、メトラクロル、S - メトラクロル、メトラム、メトクスロン、メトリブジン、メトスルフロン、メトスルフロン - メチル、モリナト、モノリヌロン、モノスルフロン、モノスルフロン - エステル、M T - 1 2 8、すなわち、6 - クロロ - N - [(2 E) - 3 - クロロプロブ - 2 - エン - 1 - イル] - 5 - メチル - N - フェニルピリダシン - 3 - アミン、M T - 5 9 5 0、すなわち、N - (3 - クロロ - 4 - イソプロピルフェニル) - 2 - メチルペニタンアミド、N G G C - 0 1 1、ナプロパミド、N C - 3 1 0、すなわち、[5 - (ベンズイルオキシ) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル] (2 , 4 - ジクロロフェニル) メタノン、ネブロン、ニコスルフロン、ノナン酸 (ペラルグ酸)、ノルフルラゾン、オレイン酸 (脂肪酸)、オルベンカルブ、オルトスルファムロン、オリザリン、オキサジアルギル、オキサジアゾン、オキサスルフロン、オキサジクロメホン、オキシフルオルフェン、パラコート、パラコートジクロリド、ペブレート、ベンジメタリン、ペノクススラム、ペンタクロルフェノール、ペントキサゾン、ペトキサミド、石油、フェンメジファム、ピクロラム、ピコリナフェン、ピノキサデン、ピペロホス、プレチラクロル、ブリミスルフロン、ブリミスルフロン - メチル、プロジェクトアミン、ブリフルラリン、ブロボホキシジム、プロメトン、プロメトリン、プロパクロル、プロパニル、プロパキザホブ、プロパジン、プロファム、プロピソクロル、プロポキシカルバゾン、プロポキシカルバゾン - ナトリウム、プロピリスルフロン、プロピザミド、プロスルホカルブ、プロスルフロン、ピラクロニル、ピラフルフェン、ピラフルフェン - エチル、ピラスルホトール、ピラゾリナート (ピラゾレート)、ピラゾスルフロン、ピラゾスルフロン - エチル、ピラゾキシフェン、ピリバムベンズ - イソプロピル、ピリバムベンズ - プロピル、ピリベンゾキシム、
10
20
30
40
50

ピリブチカルブ、ピリダフォル、ピリデート、ピリフタリド、ピリミノバク、ピリミノバク - メチル、ピリミスルファン、ピリチオバク、ピリチオバク - ナトリウム、ピロキサスルホン、ピロクススラム、キンクロラク、キンメラク、キノクラミン、キザロホブ、キザロホブ - エチル、キザロホブ - P、キザロホブ - P - エチル、キザロホブ - P - テフリル、リムスルフロン、サフルフェナシル、セトキシジム、シズロン、シマジン、シメトリン、スルコトリオン、スルフェントラゾン、スルホメツロン、スルホメツロン - メチル、スルホスルフロン、SW - 065、SYN - 523、SYP - 249、すなわち、1 - エトキシ - 3 - メチル - 1 - オキソブト - 3 - エン - 2 - イル5 - [2 - クロロ - 4 - (トリフルオロメチル) フェノキシ] - 2 - ニトロベンゾエート、SYP - 300、すなわち、1 - [7 - フルオロ - 3 - オキソ - 4 - (プロブ - 2 - イン - 1 - イル) - 3,4 - ジヒドロ - 2H - 1,4 - ベンゾキサジン - 6 - イル] - 3 - プロピル - 2 - チオキソイミダゾリジン - 4,5 - ジオン、2,3,6 - TBA、TCA (トリクロロ酢酸)、TCA - ナトリウム、テブチウロン、テフリルトリオン、テンボトリオン、テプラロキシジム、テルバシル、テルブカルブ、テルブメトン、テルブチラジン、テルブトリン、テニルクロル、チアゾピル、チエンカルバゾン、チエンカルバゾン - メチル、チフェンスルフロン、チフェンスルフロン - メチル、チオベンカルブ、トプラメゾン、トラルコキシジム、トリアフォモン、トリ - アレート、トリアスルフロン、トリアジフラム、トリベヌロン、トリベヌロン - メチル、トリクロピル、トリエタジン、トリフロキシスルフロン、トリフロキシスルフロン - ナトリウム、トリフラリン、トリフルスルフロン、トリフルスルフロン - メチル、トリトルスルフロン、尿素硫酸塩、ベルノレート、ZJ - 0862、すなわち、3,4 - ジクロロ - N - { 2 - [(4,6 - ジメトキシピリミジン - 2 - イル) オキシ] ベンジル } アニリン ; 又は以下からなる群から選択される植物成長調節剤 : アシベンゾラル、アシベンゾラル - S - メチル、5 - アミノレブリン酸、アンシミドール、6 - ベンジルアミノブリン、ブラシノリド、カテキン、クロルメコートクロリド、クロプロブ、シクラニリド、3 - (シクロプロブ - 1 - エニル) プロピオン酸、ダミノジド、ダゾメト、n - デカノール、ジケグラク、ジケグラク - ナトリウム、エンドタール、エンドタール - ジカリウム、 - ジナトリウム、及びモノ (N,N - ジメチルアルキルアンモニウム) 、エテホン、フルメトラリン、フルレノール、フルレノール - ブチル、フルルブリミドール、ホルクロルフェヌロン、ジベレリン酸、イナベンフィド、インドール - 3 - 酢酸 (IAA) 、4 -

10

インドール - 3 イル酷酸、イソプロチオラン、プロベナゾール、ジャスモン酸、マレイン酸ヒドラジド、メピコートクロリド、1 - メチルシクロプロベン、ジャスモン酸メチル、2 - (1 - ナフチル) アセトアミド、1 - ナフチル酢酸、2 - ナフチルオキシ酢酸、ニトロフェノレート - 混合物、パクロブトラゾール、N - (2 - フェニルエチル) - - アラニン、N - フェニルフタルアミド酸、プロヘキサジオン、プロヘキサジオン - カルシウム、プロヒドロジャスモン、サリチル酸、ストリゴラクトン、テクナゼン、チジアズロン、トリネキサバク、トリネキサバク - エチル、チトデフ、ウニコナゾール、ウニコナゾール - P ; 又はこれらの農学的に好ましい塩若しくはその他の形態。例えば、SYHT0H2 の他に、グリホサート抵抗性、例えば、EPSPS (例 : GTS40 - 3 - 2, MON89788、FG72、DP - 356043 - 5) を含有する育種積層を含むダイズ植物に、グリホサート、メソトリオン及び S - メトラクロルの組合せを適用してもよい。

20

30

40

【 0153 】

上に個別に挙げた除草剤組成物はまた、2、3、4、5、6 又は 7 種以下の HPPD 阻害剤除草剤を含む別の HPPD 除草剤をさらに含んでもよい。HPPD 阻害剤除草剤の 2 種組合せの例を以下に挙げる : メソトリオン + スルコトリオン、メソトリオン + テンボトリオン、メソトリオン + ビシクロピロン、メソトリオン + トプラメゾン、メソトリオン + イソキサフルトール、メソトリオン + ピラスルファトール、スルコトリオン + テンボトリオン、スルコトリオン + ビシクロピロン、スルコトリオン + ピラスルファトール、テンボトリオン + ビシクロピロン、テンボトリオン + トプラメゾン、テンボトリオン + イソキサフルトール、テ

50

ンボトリオン + ピラスルファトール、ビシクロピロン + トプラメゾン、ビシクロピロン + イソキサフルトール、ビシクロピロン + ピラスルファトール、トプラメゾン + イソキサフルトール、トプラメゾン + ピラスルファトール、イソキサフルトール + ピラスルファトール。HPPD阻害剤除草剤の3種組合せの例を以下に挙げる：メソトリオン + スルコトリオン + テンボトリオン、メソトリオン + スルコトリオン + トプラメゾン、メソトリオン + スルコトリオン + ビシクロピロン、メソトリオン + スルコトリオン + イソキサフルトール、メソトリオン + スルコトリオン + ピラスルファトール、メソトリオン + テンボトリオン + トプラメゾン、メソトリオン + テンボトリオン + ビシクロピロン、メソトリオン + テンボトリオン + ピラスルファトール、メソトリオン + ビシクロピロン + トプラメゾン、メソトリオン + ビシクロピロン + イソキサフルトール、メソトリオン + ビシクロピロン + ピラスルファトール、メソトリオン + トプラメゾン + イソキサフルトール、メソトリオン + トプラメゾン + ピラスルファトール、メソトリオン + イソキサフルトール + ピラスルファトール、スルコトリオン + テンボトリオン + ビシクロピロン、スルコトリオン + テンボトリオン + トプラメゾン、スルコトリオン + テンボトリオン + イソキサフルトール、スルコトリオン + テンボトリオン + ピラスルファトール、スルコトリオン + トプラメゾン + ビシクロピロン、スルコトリオン + トプラメゾン + ピラスルファトール、スルコトリオン + ビシクロピロン + イソキサフルトール、スルコトリオン + ビシクロピロン + ピラスルファトール、スルコトリオン + ピラスルファトール、スルコトリオン + イソキサフルトール + ピラスルファトール、テンボトリオン + ビシクロピロン + トプラメゾン、テンボトリオン + ビシクロピロン + イソキサフルトール、テンボトリオン + ビシクロピロン + ピラスルファトール、テンボトリオン + トプラメゾン + イソキサフルトール、テンボトリオン + トプラメゾン + ピラスルファトール、ビシクロピロン + トプラメゾン + イソキサフルトール、ビシクロピロン + トプラメゾン + ピラスルファトール、トプラメゾン + イソキサフルトール + ピラスルファトール。10

メソトリオン + ビシクロピロン + イソキサフルトール、メソトリオン + テンボトリオン + トプラメゾン + イソキサフルトール、メソトリオン + トプラメゾン + ピラスルファトール、メソトリオン + イソキサフルトール + ピラスルファトール、スルコトリオン + テンボトリオン + ビシクロピロン、スルコトリオン + テンボトリオン + トプラメゾン、スルコトリオン + テンボトリオン + イソキサフルトール、スルコトリオン + テンボトリオン + ピラスルファトール、スルコトリオン + トプラメゾン + ビシクロピロン、スルコトリオン + トプラメゾン + ピラスルファトール、スルコトリオン + ビシクロピロン + イソキサフルトール、スルコトリオン + ビシクロピロン + ピラスルファトール、スルコトリオン + ピラスルファトール、スルコトリオン + イソキサフルトール + ピラスルファトール、テンボトリオン + ビシクロピロン + トプラメゾン、テンボトリオン + ビシクロピロン + イソキサフルトール、テンボトリオン + ビシクロピロン + ピラスルファトール、テンボトリオン + トプラメゾン + イソキサフルトール、テンボトリオン + トプラメゾン + ピラスルファトール、ビシクロピロン + トプラメゾン + イソキサフルトール、ビシクロピロン + トプラメゾン + ピラスルファトール、トプラメゾン + イソキサフルトール + ピラスルファトール。20

【実施例】

【0154】

実施例1. ダイズイベントSYHT0H2の作製及び特性決定

ダイズ形質転換のためのバイナリーベクターを、プロモーター、例えば、CaMV 35S及びFMV転写エンハンサーを含む合成プロモーターと、NOS遺伝子3'ターミネーターが続くHPPDコード配列の発現を駆動する合成TATAボックスを用いて構築した。HPPD遺伝子コード領域の推定アミノ酸配列に基づくダイズ発現のために、アベナ(Avena)HPPD由来の突然変異体HPPD遺伝子をコドン最適化した。突然変異体HPPD酵素は、天然のエンバク(Avena sativa)HPPD酵素の位置109~111内に單一アララン残基の欠失を含む。米国特許出願第20100197503号明細書を参照されたい。バイナリーベクター15954は、選択マーカー遺伝子と一緒に突然変異体HPPD遺伝子を発現するための発現カセットを含むように構築した。図1を参照方。このベクターは、当分野では公知の方法(例えば、オーバーラップPCR、DNA合成、制限フラグメントサブクローニング及び連結など)の組合せを用いて構築した。30

。

【0155】

図1(ベクター15954)で用いる略語は、以下のように定義される：

cAvHPPD-03

開始点：1036、終点：2355

配列番号14をエンコードするダイズコドン最適化Oat HPPD遺伝子

cPAT-03-01

開始点：3178、終点：3729

PAT Hoescht AO2774合成ストレプトミセス・ビリドクロモゲネス(S. viridochromogenes)、植物コドン：Q57146ホスフィノトリシンと同一

40

50

アセチルトランスフェラーゼタンパク質。	
c P A T - 0 3 - 0 2	
開始点：4 7 6 1、終点：5 3 1 2	
P A T Q 5 7 1 4 6 ストレプトミセス・ビリドクロモゲネス (<i>S. viridochromogenes</i>) ホスフィノトリシン アセチルトランスフェラーゼタンパク質、	
c P A T - 0 3 - 0 1 D N A だが、B a m H 1 、 B g 1 2 部位を突然変異させる。	
c S p e c - 0 3	
開始点：6 0 5 4、終点：6 8 3 3	
ストレプトマイシンアデニルトランスフェラーゼ；T n 7 (a a d A) 由来	
c V i r G - 0 1	10
開始点：7 1 3 3、終点：7 8 5 8	
アグロバクテリウム・ツメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) 由来の病原性G遺伝子 (T T G コドンを含む v i r G N 5 4 D) 。 v i r G N 5 4 D は、H a n s e n e t a l . 1 9 9 4 , P R O C . N A T L . A C A D . S C I . U . S . A 9 1 : 7 6 0 3 - 7 6 0 7 に記載の p A D 1 2 8 9 由来のものである。	
c R e p A - 0 1	
開始点：7 8 8、終点：8 9 6 1	
R e p A 、 n t 7 3 5 で A から G への変更を含む p V S 1 複製	
e T M V - 0 2	20
開始点：9 6 5、終点：1 0 3 2 (相補性)	
タバコモザイクウイルス (<i>Tobacco mosaic virus</i>) (発現を増強すると考えられる T M V _ O m e g a 5 ' U T R リーダー配列。	
E M B L : T O T M V 6	
e 3 5 S - 0 5	
開始点：6 0 8、終点：9 0 0 (相補性)	
C から T 及び C から A への b p 変更を有する、カリフラワーモザイクウイルス (C a u l i f l o w e r m o s a i c v i r u s) 3 5 S エンハンサー領域	
e F M V - 0 3	
開始点：4 0 8、終点：6 0 1 (相補性)	30
フィグウォルトモザイクウイルスエンハンサー	
b N R B - 0 5	
開始点：4 、終点：2 5 9 (相補性)	
アグロバクテリウム・ツメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) ノパリン T i プラスミドの T - D N A の右境界領域	
b N R B - 0 1 - 0 1	
開始点：1 0 1、終点：1 2 5 (相補性)	
アグロバクテリウム・ツメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) ノパリン T i プラスミドの T - D N A の右境界反復配列	
b N L B - 0 3	40
開始点：5 6 3 6、終点：5 7 6 5 (相補性)	
アグロバクテリウム・ツメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) ノパリン T i プラスミドの T - D N A の左境界領域 (Z a m b r y s k i e t a l . 1 9 8 0 , S c i e n c e , 2 0 9 : 1 3 8 5 - 1 3 9 1) E M B L 番号：J 0 1 8 2 5 。	
b N L B - 0 1 - 0 1	
開始点：5 6 7 1、終点：5 6 9 5 (相補性)	
アグロバクテリウム・ツメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) ノパリン T i プラスミドの T - D N A の 2 5 b p 左境界領域	
p r 3 5 S - 0 4 - 0 1	50

開始点：2633、終点：3153

35Sプロモーター；地図上で本来長さ641bpとして規定されたプロモーター；厳密なマッチは文献に見出されていない（LF 2004年7月）。

p r C M P - 0 6

開始点：4024、終点：4677

ケストルム・イエローリーフカーリングウイルス（*Cestrum Yellow leaf curl virus*）プロモーター及びリーダー配列。完全長転写物プロモーターではない。塩基対528をGからCに変更することにより、中部RsrII部位を除去した。

o V S 1 - 0 2

10

開始点：9004、終点：9408

シュードモナス（*Pseudomonas*）のプラスミドpVS1由来の複製起点及び分配領域（Itoh et al. 1984, Plasmid 11: 206-220）；GenBankアクセション番号U10487に類似；アグロバクテリウム・ツメファシエンス（*Agrobacterium tumefaciens*）宿主における複製起点として機能する。

o C O L E - 0 6

開始点：10086、終点：10892（相補性）

大腸菌（*E. coli*）において機能性のCOLE1複製起点

t N O S - 0 5 - 0 1

20

開始点：2372、終点：2624（相補性）

NOSターミネーター：ノパリンシンターゼ遺伝子の3'UTR

t N O S - 0 5 - 0 1

開始点：3763、終点：4015

NOSターミネーター：ノパリンシンターゼ遺伝子の3'UTR

t N O S - 0 5 - 0 1

開始点：5341、終点：5593

NOSターミネーター：ノパリンシンターゼ遺伝子の3'UTR

【0156】

当業者には公知の多くの方法によって、ダイズ植物材料を好適に形質転換し、稔性植物を再生させることができる。例えば、稔性の、形態学的に正常なトランスジェニックダイズ植物が、以下によって得られる：1) 例えば、未熟な子葉、胚軸若しくは他の好適な組織からの体細胞胚形成組織の生成；2) 微粒子銃又はアグロバクテリウム（*Agrobacterium*）への感染；及び3) 植物の再生。一例では、米国特許第5,024,944号明細書に記載されているように、任意で胚軸を除去したダイズの未熟胚から、子葉組織を切除して、ホルモン含有培地で培養することにより、体細胞胚形成植物材料を形成する。この材料は、例えば、直接DNA方法、DNAコーティング微粒子銃又はアグロバクテリウム（*Agrobacterium*）への感染を用いて、形質転換し、好適な選択培地で培養した後、任意で、選択因子の継続的存在下で、稔性トランスジェニックダイズ植物に再生させる。選択因子は、カナマイシン、ヒグロマイシンのような抗生物質、又はHPPD阻害剤、ホスフィノトリシン、若しくはグリホサートのような除草剤であってもよいし、あるいは、選択は、GUSのような視覚化可能なマーカー遺伝子の発現に基づくものでもよい。形質転換の標的組織には、分裂組織、体細胞繁殖系組織、及び花又は花形成組織などがある。ダイズ形質転換の他の例としては、物理的DNA送達方法、例えば、微粒子銃（例えば、Finer & McMullen, In Vitro Cell Dev. Biol., 1991, 27P: 175-182; McCabe et al., Biotechnology, 1998, 6: 923-926を参照）、ウィスカ（Khalaifalla et al., African J. of Biotechnology, 2006, 5: 1594-1599）、エアロゾルビームインジェクション（米国特許第7,001,754号明細書）、又はアグロバクテリウム（*Agrobac*

30

40

40

50

terium) 媒介送達方法 (Hinchee et al., Bio/Technol ogy, 1988, 6: 915-922; 米国特許第7,002,058号明細書; 米国特許出願第20040034889号明細書及び同第20080229447号明細書; Paz et al., Plant Cell Report, 2006, 25: 206-213) が挙げられる。

【0157】

ダイズトランスジェニック植物は、任意の利用可能な形質転換方法を用いて、突然変異体HPPD遺伝子を含む前述のバイナリーベクターで作製することができる。任意で、HPPD遺伝子は、トランスジェニック組織の選択及び同定の手段を提供することができる。例えば、ベクターを用いて、前述したように未熟種子標的を形質転換することにより、選択因子としてメソトリオンのようなHPPD遺伝子を直接用いて、トランスジェニックHPPDダイズ植物を作製した(米国特許出願第20080229447号明細書を参照)。任意で、HPPD遺伝子は、形質転換された組織の選択/同定の別の手段を提供する他の配列、例えば、カナマイシン、ヒグロマイシン、ホスフィノトリシン、ブタフェナシル、若しくはグリホサートに対する抵抗性を提供する既知の遺伝子と一緒に、ポリヌクレオチド内に存在してもよい。例えば、PAT又はEPSPS選択マーカー遺伝子を含有する細胞バイナリーベクターが当分野では公知である(例えば、米国特許出願第20080229447号明細書を参照)。あるいは、選択マーカー配列は、個別のポリヌクレオチドに存在してもよく、その際、例えば、共形質転換及び共選択の方法を使用する。GU.Sのようなスコア付け可能なマーカー遺伝子を用いて、形質転換された組織を同定することも可能である。

【0158】

T0植物を組織培養物から取り出して温室に移し、そこで、2インチ平方の鉢内の5~10g/galの1%顆粒状MARATHON(登録商標)(Olympic Horticultural Products, Co., Mainland, PA)と混合した水飽和土壌(REDI-EARTH(登録商標)Plug and Seedling Mix, Sun Gro Horticulture, Bellevue, WA、又はFafard Germinating Mix)に移植した。植物を欲しくカバーで覆い、以下の環境条件でConvironチャンバー(Pembina, ND)内に配置した:日中24;夜間20;16~23時間照明-1~8時間暗闇の光周期;80%相対湿度。

【0159】

植物が、土壌に根付き、新芽が出現した(約1~2週)後、植物をサンプリングし、HPPD遺伝子に適したプローブ、又はプロモーター(例えば、prCMP)について適切なプローブを用いたTAQMAN(登録商標)分析により所望のトランスジーンの存在について試験した。陽性植物を、Fafard #3土壌を含む4インチ平方の鉢に移植した。Sierra 17-6-12徐放性肥料を推奨される比率で土壌に混ぜた。次に、植物を標準的温室に移して、順化させた(約1週間)。環境条件は、以下の通りであった:日中27;夜間21;14時間光周期(補助照明を用いて);周囲湿度。順化(約1週間)の後、植物をサンプリングし、挿入したトランスジーンの存在及びコピー数について詳しく試験した。トランスジェニックダイズ植物をT1種子生産のために成熟まで生育させた。T1植物が生育して、TAQMAN(登録商標)分析の後、同型接合植物を種子生産のために生育させた。トランスジェニック種子及び子孫植物を用いて、それらの除草剤耐性性能及び分子特徴をさらに評価した。約90の形質転換体の集団について、イベントSYHT0H2は、高レベルのメソトリオン耐性を示した。

【0160】

イベントSYHT0H2挿入配列及びフランкиング配列を以下の2つの方法の組合せによって取得した:ライプラリー作製及びGENOMEWALKER(商標)(Clone tech)。DNA配列決定のSanger方法を用いて、イベントSYHT0H2の配列決定を実施した。配列分析は、配列分析プログラムSEQUENCHER(登録商標)

10

20

30

40

50

(Gene Codes Corporation)を用いて、実施した。ライプラリーを作製する目的で、ゲノムDNAを単離した後、制限酵素供給者(NEB)により記載されているように、制限酵素BamHI又はEcoRI及びKpnIで、完了まで制限消化することにより、ダイズイベントSYHT0H2からゲノムDNAを単離した。ゲノムDNAの部分的消化物は、37、0.15U/μgDNAのBfuCIを用いて完了した。酵素の添加から2、4、6、8、及び10分後、サンプルを取り出した。サンプルをゲルローディングのためにプールした。消化サンプルを1%アガロースTAEゲル中にロードし、20Vで一晩泳動させた。各消化物について、画分を分離した：BfuCI；2～4kb、BamHI；0.7～3.5kb及びEcoRI-KpnI；3～6kb。供給者(Qiagen)により記載されているように、QIAQUICK(登録商標)10 Gel Extractionキットを用いて、DNAをゲルから回収した。単離した画分を、BamHI又はEcoRI-KpnIのいずれかで切断したLambda Zap Expressベクター(Stratagene)に連結させた。連結は、6で一晩インキュベートした、200Uリガーゼを含む10μlの容量中、ベクター1000ng：挿入配列100ngの比を用いて、セットアップした。

【0161】

供給者(Epicentre)に記載されているようにMaxplaqを用いて、ライプラリーをパッケージングした。XL-1MRA(Stratagene)細胞を用いて、ライプラリーを滴定した。0.2%マルトースを添加したNZYプロスにおいて細胞を37で6時間増殖させた。細胞を4Kで遠心分離した後、SMバッファー(Stratagene)中に再懸濁させた。ファージをSMバッファーで1/100に希釈し、10μlを100μlの細胞と混合して、35で15分インキュベートし、3.5mlのNZY Topアガロース(50)を添加し、反転により混合してから、L-寒天プレートに塗布した後、37で一晩インキュベートした。

【0162】

異種挿入配列を含む個々のクローンについて、ライプラリーをスクリーニングした。ライプラリーを平板培養するのに用いた細菌細胞は、Stratageneから購入したXL-1MRAであった。XL-1MRA細胞は、使用前に、0.2%マルトースを添加したNZYプロス中で6時間増殖させた。使用前に37に予熱しておいた25×150mmプレートにL-寒天を流し込むことにより調製したL-寒天プレート上で、感染した細菌細胞を平板培養した。細菌細胞を4Kでの遠心分離により回収して、SMバッファー(Stratagene)中に再懸濁させた。300μlの細菌細胞と50,000ファージを15ml試験管(Fisher Scientific)中で混ぜ合わせ、37で15分インキュベートした。9mlのNZY Topアガロースを添加し、反転によって混合した後、得られた混合物を大きなプレートの表面全体に塗布することにより、滑らかな表面を維持した。ライプラリー別にスクリーニングした合計500,000ファージについて、ライプラリー当たり10プレートを構築した。接種したプレートを37で一晩インキュベートした。翌日、プレートを取り出して、4で少なくとも1時間静置した。

【0163】

Hybond NX(GE Amersham)膜をプレートの表面に配置することにより、接種プレートに形成されたブラークをこの膜に移した。膜が均一に湿潤状態になった後、2分インキュベートさせた。針とIndicaインクを用いて、3つの異なるスポットで、膜及び寒天にインク付きの針を刺すことにより、プレートの配向をマーキングした。マーキングした膜をプレートから取り出し、0.5M NaOHに浸漬したWhatman紙に、ファージ側を上にして5分載せた(Bio-Rad方法)後、2X SSCに浸したWhatman紙に移し、空気乾燥させてから、160mLのStratalinker(Stratagene)を用いて、DNAと膜を架橋させた。

【0164】

異種挿入DNAを含むファージクローンを同定するために、上で得たフィルターを以下のようにプロービングした：7%SDS、250mMリノ酸ナトリウムpH7.0、1

% B S A 中で 6 2 にて 4 時間、フィルターをプレハイブリダイズさせた。プレハイブリダイゼーション溶液を新鮮なハイブリダイゼーション溶液と交換した後、放射性プローブを添加した。

【 0 1 6 5 】

プローブは、鋳型として p S Y N 1 5 7 6 4 を使用するプライマー M T _ S O Y _ F 2 及び M T _ S O Y _ R 3 を用いた P C R によって作製した：

P _ M T S O Y _ F 2

T T T T G T G G T C G T C A C T G C G T T (配列番号 2 5)

P _ M T S O Y _ R 3

C A G G A T A T A T T G T G G T G T A A A C A A A T T G A C G C T T A G A 10

C A A (配列番号 2 6)

【 0 1 6 6 】

反応条件は以下の通りである： 5 0 μ l の反応容量中、 1 X Expand バッファー、 2 0 0 μ M d N T P 、 5 0 n g 鋳型、 1 0 p M プライマー、 1 . 5 U Expand DNA Polymerase (Roche) 。

【 0 1 6 7 】

サイクル条件は、 [9 4 、 3 0 秒； 5 5 、 3 0 秒、 7 2 、 2 分] で 3 5 サイクルであった。

【 0 1 6 8 】

増幅したフラグメントを 1 % アガロース - T A E ゲル上で単離した。 Q I A Q U I C K 20 G e l 抽出キット (Q I A G E N) を用いて、 D N A をアガロースから精製した。放射性 d C T ³² P を含む R E D I P R I M E (商標) I I キット (G E A m e r s h a m) を用いて、プローブをランダムプライムにより標識した。 G E A m e r s h a m G - 5 0 スピンカラムを用いて、非取込み標識から、プローブを分離した。プローブを 9 5 で 5 分加熱した後、ハイブリダイゼーションバッファーに添加した。ハイブリダイゼーションは、 6 2 で一晩進行させた。まず、 6 2 で 2 X S S C 、 0 . 5 % S D S により 3 0 分、次に、 6 2 で 0 . 2 X S S C 、 0 . 2 % S D S により 3 0 分、フィルターを洗浄した。フィルターをプラスチック製ラップで包んだ後、増感スクリーンを用いて、 K o d a k B i o m a x X A R フィルムに - 8 0 で 1 6 ~ 2 4 時間暴露した。

【 0 1 6 9 】

陽性スポットを直径 8 m m のプラグで詰め、 2 5 μ l のクロロホルムを含む 5 0 0 μ l の S M バッファー中に導入し、 6 で一晩溶離させた。第 2 ラウンドスクリーニングのために、ファージを S M バッファーで 1 / 7 5 0 0 に希釈した。合計 1 0 0 0 p f u (プラーカ形成単位) を第 2 ラウンドでスクリーニングした。第 2 ラウンドスクリーンでは、一次スクリーンについて用いた工程を繰り返した。これは、一次スクリーンにおいて同定された各陽性クローンについて行う。この工程は、単一の陽性プラーカが単離されるまで繰り返すことができる。

【 0 1 7 0 】

Z a p E x p r e s s V e c t o r K i t マニュアル (S t r a t a g e n e) に記載されているプロトコルを用いて、ファージをプラスミドに変換した。単離したプラスミドを配列決定した後、プログラム S E Q U E N C H E R (登録商標) (G e n e C o d e s C o r p o r a t i o n) を用いて、配列をアセンブリングした。 40

【 0 1 7 1 】

前述した配列決定方法の他に、 B D G E N O M E W A L K E R (商標) U n i v e r s a l K i t を用いて、ダイズイベント S Y H T 0 H 2 の異種挿入ポリヌクレオチド配列の挿入部位も配列決定した。 G E N O M E W A L K E R (商標) キットを用いて、 S Y H T 0 H 2 イベントについての左境界 1 (L B 1) フランкиング配列を回収した。キット説明書に概説されているように、ダイズイベント S Y H T 0 H 2 からゲノム D N A を単離して、滅菌マイクロ遠心チューブ中で、 8 μ l D N A (約 1 0 n g / μ l) 、 1 μ l 1 0 X E c o R V バッファー、及び 1 μ l E c o R V を混合することにより、上記 D N 50

Aを完全に消化した後、37℃で一晩インキュベートした。

【0172】

EcoRV消化DNAを、BD GENOMEWALKER（商標）Adaptorに、製造者の指示書の記載に従って連結させた。ダイズイベントSYHT0H2の異種挿入ポリヌクレオチド配列を含むDNAを増幅するために、15954形質転換ベクター配列の左境界領域の配列に基づいて、2つの遺伝子特異的プライマー（GSP1及びGSP2）を消化した。GSP2は、GPS1の増幅により生成されるPCR産物中でネスト化され、BD GENOMEWALKER（商標）Adaptorの配列に基づき設計されたプライマーである。

【0173】

【表17】

10

表4

プライマー名称	プライマー配列
GSP1/FlkSeq0027	GAGTCCCGCAATTATACATTAAATACGCGATAGAA 配列番号: 27
GSP2/FlkSeq0005	GGCCAGCATGGCCGTATCCGCAATGTGTT 配列番号: 28

【0174】

製造者の指示に従い、一次PCR及び二次（ネスティッド）PCRからなる2つのステップで、PCRアンプリコンを生成した。二次PCRのPCR産物を配列決定した。

20

【0175】

ライプラリー配列及びGENOMEWALKER（商標）配列決定の両方から得られる配列情報を総合して、ダイズイベントSYHT0H2の挿入部位配列を作製した。完全な挿入断片のヌクレオチド配列は配列番号9として示され、ゲノムDNAがフランкиングする挿入断片のヌクレオチド配列は、配列番号10として示される。挿入断片と、フランкиングゲノムDNAのLB2及びLB1結合部を表す別のヌクレオチド配列は、配列番号1~6として示される（表1、第3頁を参照）。

【0176】

実施例2. イベント特異的PCR分析

30

表5に示すプライマー対及び表6に示すサイクル条件を用いるTaqman（登録商標）アッセイでのPCR分析の鑄型として、ダイズ（Glyine max）形質転換体由来のゲノムDNAを用いた。典型的反応混合物は、総量10μl中に、1X JUMPS TART（商標）READYMIX（商標）、300nmのプライマー1, 300nmのプライマー2, 100nmのプローブ、及び約30ngの鑄型DNAを含む。アッセイA1720の場合、プライマーP10325は、挿入配列中に存在し、T-DNA挿入配列のLB1を増幅するために用いられるのに対し、プライマーP12721は、ゲノム中の挿入部位に存在する。アッセイA1720により、長さ66bpのPCR産物が生成される：

CGGGCGGCCAGCATGGCCGTATCCGCAATGTTATTAGTTGTCTAAACCTAAACCAATGGCAC (配列番号24)

40

アッセイA1721については、プライマーP10043が、挿入配列中に存在して、T-DNA挿入配列のLB2を検出するために用いられるのに対し、プライマーP12723は、ゲノム中の挿入部位に存在する）。アッセイA1721により、長さ70bpのPCR産物が生成される：

GGATGAAGAGATGAGAGAACCATCACAGAATTGACGCTTAGACAACTTAATAACACATTGCGGATACGGC (配列番号25)

【0177】

【表18】

表5

アッセイID	プライマー/ プローブID	配列(5'-から-3')
A1720	P10325 (プライマー)	CGGGCGGCCAGCAT (配列番号11)
	P12721 (プライマー)	GTGCCATTGGTTAGGGTTAGAC (配列番号12)
	P12722 (プローブ)	FAM-ATCCGCAATGTGTTATTAA-MGB* (配列番号13)
アッセイID	プライマー/ プローブID	配列(5'-から-3')
A1721	P10043 (プライマー)	GCCGTATCCGCAATGTGTTA (配列番号14)
	P12723 (プライマー)	GGATGAAGAGATGAGAGAACCATCA (配列番号15)
	P12724 (プローブ)	FAM-TAAGTTGTCTAACCGTCAATT-MGB* (配列番号16)

FAM, 6-カルボキシフルオレセイン

MGB, ジヒドロシクロピロロインドールトリペプチド小溝結合剤

*BGB-標識プローブを用いてもよい

10

【0178】

【表19】

表6

サイクル	ステップ	温度(°C)	時間	反復サイクル
A	1	95	10分	--
B	1	95	15秒	40
B	2	60	1分	40

20

【0179】

あるいは、表7に示すプライマー対及び表8に示すサイクル条件を用いるゲルベースのアッセイの鑄型として、ダイズ(Glycine max)形質転換体由来のゲノムDNAを用いた。典型的反応混合物は、総量20μl中に、1X JUMP START(商標)READYMIX(商標)、10μMのプライマー1、10μMのプライマー2、1μLの10ng/μLゲノム鑄型DNAを含んだ。

【0180】

30

【表20】

表7

標的	プライマー1 (T-DNA)	プライマー2(ゲノム)
SYHT0H2_LBFS_1	FE0845 (配列番号17)	FE3427 (配列番号18)
SYHT0H2_LBFS_1	FE0845 (配列番号17)	FE3443 (配列番号19)
SYHT0H2_LBFS_2	FE0845 (配列番号17)	FE3429 (配列番号20)
SYHT0H2_LBFS_2	FE0845 (配列番号17)	FE3442 (配列番号21)

10

【0181】

【表21】

表8

サイクル	ステップ	温度(°C)	時間	反復サイクル
A	1	94	3分	--
B	1	94	30秒	35
B	2	58	30秒	35
B	3	68	1分	35
C	1	68	7分	--
D	1	4	10分	--

20

30

【0182】

実施例3.イベントSYHT0H2の実地での効果

米国の5か所で、イベントSYHT0H2ダイズ植物をメソトリオンに対する効果について試験した。非トランスジェニックダイズ系Jackを対照として用いた。ダイズ植物は、SYHT0H2及びJackのいずれも、V2/V3期に、210g ai/haのメソトリオンで処理し、次に、処理から4~7日後(DAT)、13~17DAT、及び25~33DATに、損傷を示す葉のパーセンテージについて評価した。表9に示す結果から、対照系と比較して、メソトリオンに対するOH2の効果が明らかである。

【0183】

【表22】

40

表9

遺伝子型	損傷(%)		
	4.7 DAT	13-17 DAT	25-33 DAT
Jack	46.5	81	62.4
SYHT0H2	13.2	4.7	0

50

【0184】

米国の8か所で、SYHT0H2ダイズ植物をグルホシネットに対する効果について試験した。非トランスジェニックダイズ系Jackを対照として用いた。ダイズ植物は、SYHT0H2及びJackのいずれも、V2/V3期、次にV5~6期に、900g/haのグルホシネットで処理した。次いで、これらを処理から4~8日後(DAT)、13~20DAT、及び26~35DATに、損傷を示す葉のパーセンテージについて評価した。表10に示す結果から、対照系と比較して、グルホシネットに対するSYHT0H2の効果が明らかである。

【0185】

【表23】

10

表10

遺伝子型	損傷(%)		
	4-8 DAT	13-20 DAT	26-35 DAT
Jack	100	100	100
SYHT0H2	9	5	0

【0186】

実施例4. マッピング及び育種選択のためのマーカー

20

挿入SYHT0H2のLB2からのランキング配列(配列番号7)又はLB1のランキング配列(配列番号8)は、8X Soybean Genome Database(すなわち、ワールドワイドウェブで入手可能な、Joint Genome Institute and the Center for Integrative Genomicsにより運営される“Phytozome”;また、Schmutz et al.(2010) Nature 463:178-183も参照されたい)に対して、Basic Local Alignment Search Tool(BLAST; Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215:403-410; Altschul et al., Nucleic Acids Res., 1997, 25:3389-3402)(これもインターネットで入手可能である)を用いて、アラインメントした。LB2は、ヌクレオチド9,905,212から9,905,310までの第8染色体(連鎖群A2)とアラインメントした。LB1は、ヌクレオチド9,905,326から9,905,788までの第8染色体(連鎖群A2)とアラインメントした。次に、物理的位置を、Soybean Consensus Map 4.0(Hyten et al. Crop Sci., 2010, 50:960-968)に一覧が記載されているマーカーの位置と比較した。最も近いマーカーのセンチモルガン(centiMorgan)位置を見出し、10センチモルガン以内の全マーカーの一覧を表9に記載する。このデータから、イベントSYHT0H2への異種ポリヌクレオチド配列の挿入が、ダイズの第8染色体において、塩基対9,905,310~9,905,326の位置(配列番号24のヌクレオチド99~116の配列に相当する)で起こったことがわかる。HPPD配列を含む異種配列を挿入すると、ゲノム配列の16塩基対が欠失するが、これは、配列番号24のヌクレオチド100~115に相当する。

30

40

【0187】

表11に同定した一般に入手可能なマーカーの1つ以上を用いて、従来の育種技術により、ダイズ植物にイベントSYHT0H2を導入する。イベントSYHT0H2は、分子マーカーBARC-65571-19573に最も近く、分子マーカーBARC-65571-19573とBARC-43119-08535の間に位置する。育種アプローチ及び技術は、当分野では公知である。例えば、以下の文献を参照されたい: Fehr, in Breeding Methods for Cultivar Development, 1987, Wilcos, J. (ed.), American Society

50

of Agronomy, Madison, WI; Welsh J. R., Fundamentals of Plant Genetics and Breeding, John Wiley & Sons, NY (1981); Wood D. R. (Ed.), Crop Breeding, American Society of Agronomy Madison, Wis. (1983); Mayo O., The Theory of Plant Breeding, Second Edition, Clarendon Press, Oxford (1987); Singh, D. P., Breeding for Resistance to Diseases and Insect Pests, Springer-Verlag, NY (1986); 及びWricke and Weber, Quantitative Genetics and Selection Plant Breeding, Walter de Gruyter and Co., Berlin (1986). 10

【0188】

【表24】

表11

市販のマーカー名称	LG	cM	型
Sat_400	A2	43.8	SSR
BARC-032503-08989	A2	44.5	SNP
BARC-045047-08867	A2	45.6	SNP
BARC-028361-05839	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05840	A2	45.7	SNP

【0189】

【表 25】

BARC-028361-05841	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05842	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05843	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05844	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05845	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05846	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05847	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05848	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05849	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05850	A2	45.7	SNP
BARC-028361-05851	A2	45.7	SNP
BARC-018419-02910	A2	46.0	SNP
BARC-018419-02911	A2	46.0	SNP
BARC-018419-02912	A2	46.0	SNP
BARC-016861-02355	A2	46.1	SNP
Satt632	A2	46.3	SSR
Sat_157	A2	46.4	SSR
BARC-021329-04038	A2	46.4	SNP
BARC-021329-04039	A2	46.4	SNP
BARC-016685-03321	A2	46.4	SNP
Sat_162	A2	46.6	SSR
BARC-018023-02498	A2	46.7	SNP
BARC-018023-02499	A2	46.7	SNP
BARC-028309-05824	A2	46.8	SNP
BARC-028309-05825	A2	46.8	SNP
BARC-028309-05826	A2	46.8	SNP
BARC-040339-07714	A2	47.0	SNP
BARC-040339-07715	A2	47.0	SNP
BARC-030485-06876	A2	47.2	SNP
BARC-050171-09440	A2	47.3	SNP
BARC-012193-01743	A2	47.6	SNP
BARC-010097-00518	A2	47.6	SNP
Sat_215	A2	47.9	SSR
BARC-059853-16139	A2	48.0	SNP
BARC-015419-01822	A2	48.2	SNP
BARC-027690-06633	A2	49.0	SNP
BARC-021831-04219	A2	49.0	SNP
BARC-021831-04220	A2	49.0	SNP
BARC-027726-06646	A2	49.3	SNP
BARC-057257-14650	A2	49.3	SNP
Satt187	A2	49.9	SSR
BARC-027618-06620	A2	50.0	SNP
BARC-027618-06621	A2	50.0	SNP
BARC-027618-06622	A2	50.0	SNP

10

20

30

40

【表 2 6】

BARC-027618-06623	A2	50.0	SNP
BARC-027618-06624	A2	50.0	SNP
BARC-026091-05255	A2	50.4	SNP
Sat_212	A2	50.7	SSR
BARC-065571-19573	A2	51.3	SNP
BARC-040029-07638	A2	52.2	SNP
BARC-040029-07639	A2	52.2	SNP
BARC-040029-07640	A2	52.2	SNP
BARC-043119-08535	A2	52.3	SNP
BARC-038631-07266	A2	52.4	SNP
BARC-053809-12037	A2	52.4	SNP
BARC-018083-02511	A2	52.5	SNP
BARC-018083-02512	A2	52.5	SNP
BARC-013857-01257	A2	52.6	SNP
BARC-013857-01258	A2	52.6	SNP
BARC-017983-02492	A2	53.0	SNP
BARC-039145-07456	A2	53.1	SNP
BARC-039145-07457	A2	53.1	SNP
BARC-029007-06050	A2	53.4	SNP
Satt424	A2	53.6	SSR
BARC-020307-04547	A2	55.1	SNP
BARC-020307-04548	A2	55.1	SNP
BARC-020307-04549	A2	55.1	SNP
BARC-020307-04550	A2	55.1	SNP
BARC-020307-04551	A2	55.1	SNP
BARC-045081-08872	A2	55.1	SNP
BARC-019749-04349	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04350	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04351	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04352	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04353	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04354	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04355	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04356	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04357	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04358	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04359	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04360	A2	56.4	SNP
BARC-019749-04361	A2	56.4	SNP
BARC-013587-01167	A2	56.6	SNP
BARC-013587-01169	A2	56.6	SNP
BARC-013587-01170	A2	56.6	SNP
BARC-029671-06301	A2	56.7	SNP
BARC-029671-06302	A2	56.7	SNP

10

20

30

40

【表 2 7】

BARC-029671-06303	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06304	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06305	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06306	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06307	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06308	A2	56.7	SNP	10
BARC-029671-06309	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06310	A2	56.7	SNP	
BARC-029671-06311	A2	56.7	SNP	
BARC-039393-07313	A2	56.7	SNP	
BARC-027614-06615	A2	56.9	SNP	
BARC-027614-06616	A2	56.9	SNP	
BARC-027614-06617	A2	56.9	SNP	
BARC-027614-06618	A2	56.9	SNP	
BARC-027614-06619	A2	56.9	SNP	
BARC-016661-02162	A2	57.2	SNP	
BARC-016661-02163	A2	57.2	SNP	20
BARC-044327-08668	A2	58.2	SNP	
BARC-044869-08827	A2	58.9	SNP	
BARC-044869-08828	A2	58.9	SNP	
BARC-018941-03041	A2	59.3	SNP	
BARC-018941-03042	A2	59.3	SNP	
BARC-030759-06940	A2	60.1	SNP	
BARC-030759-06941	A2	60.1	SNP	
BARC-030759-06942	A2	60.1	SNP	
BARC-014665-01611	A2	61.1	SNP	30
BARC-014665-01612	A2	61.1	SNP	
BARC-014665-01613	A2	61.1	SNP	
BARC-014665-01614	A2	61.1	SNP	
BARC-014665-01615	A2	61.1	SNP	
BARC-014665-01616	A2	61.1	SNP	
BARC-014665-01617	A2	61.1	SNP	
BARC-014665-01618	A2	61.1	SNP	
BARC-029865-06449	A2	61.5	SNP	
BARC-044217-08646	A2	61.9	SNP	
BARC-013567-01162	A2	62.2	SNP	40
BARC-013567-01163	A2	62.2	SNP	

【 0 1 9 2 】

実施例 5 . ダイズへの標的組込みのためのイベント S Y H T 0 H 2 挿入部位の使用

配列番号 7 及び配列番号 8 に開示されるイベント S Y H T 0 H 2 フランキング配列を用いて、ダイズゲノムデータベースを検索する。両側のフランキング配列との同一マッチを B A C クローンに見出し、その位置での分子マーカーを同定する。別のマーカーを作製して、挿入部位の精密なマッピングに用いる。

【 0 1 9 3 】

実地条件下で、数世代にわたってイベント S Y H T 0 H 2 のトランスジーンの農学的性

能は一貫しており、イベントSYHT0H2の組込み部位は、イベントSYHT0H2の突然変異体HPPD酵素以外の目的のトランスジーンの組込みに有用なゲノム遺伝子座をもたらす。このような標的型組込みにより、いわゆる「位置効果」、及び宿主へのトランスジーンの組込み時に、ゲノム内に突然変異を発生する危険性に伴う問題が解消される。このような標的型組込みのさらなる利点として、限定されないが、宿主ゲノムにおける重要な遺伝子座へのトランスジーンの不注意な組込みによって起こる異常を示すことなく、多数の形質転換イベントを減少することが挙げられるが、これらの形質転換イベントは、所望のレベルのトランスジーン発現を呈示するトランスジェニック植物を取得する前に、スクリーニングし、試験しなければならない。さらには、このような標的型組込みによって、両遺伝子を含む選択植物系の育種をより効率的にするトランスジーンの積層が可能になる。

10

【0194】

上に開示した教示内容を用いて、当業者は、当分野で公知の方法により、SYHT0H2中のものと同じ挿入部位に、又はSYHT0H2中の挿入部位に近接する部位にトランスジーンをターゲティングすることができる。このような方法の1つが、米国特許出願第20060253918号明細書（その全文を本明細書に参照として組み込む）に開示されている。手短に言いえば、挿入部位に5'側でフランкиングする20Kb以下のゲノム配列（例えば、配列番号7、配列番号7を含むゲノム配列、及び配列番号7に相同意向的なゲノム配列）と、挿入部位に3'側でフランкиングする20Kb以下のゲノム配列（例えば、配列番号8、配列番号8を含むゲノム配列、及び配列番号8に相同意向的なゲノム配列）とを用いて、目的の遺伝子（1つ又は複数）にフランкиングさせるが、この目的の遺伝子は、相同意向組換えによって挿入することが意図され、その組込み部位は、イベントSYHT0H2の部位又はその付近である。これらの配列は、さらに、T-DNA境界反復配列、例えば、左境界（LB）及び右境界（RB）反復配列、又はT-DNA送達効率を増大するための他のブースター配列によってフランкиングさせることもできる。目的の遺伝子は、SYHT0H2組込み部位と厳密に同じ位置に配置してもよいし、植物に有害な作用を及ぼすことなく、一定レベルのトランスジーン発現を賦与するように、SYHT0H2組込み部位周囲20Kb領域以内のどこに配置してもよい。目的の遺伝子及びフランкиング配列を含むDNAベクターは、当業者には公知の複数の方法（限定されないが、アグロバクテリウム（Agrobacterium）媒介形質転換など）の1つによって、植物細胞に送達することができる。SYHT0H2標的部位へのDNAベクターの挿入は、複数の方法の1つによりさらに増強することができ、こうした方法としては、限定されないが、遺伝子を増強する共発現若しくは組換えの上方制御、又は内在性組換え抑制遺伝子の下方制御が挙げられる。さらに、ゲノム中の特定の配列の切断を用いて、相同意向組換え頻度、従って、SYHT0H2挿入部位への挿入を増加することができ、また、これらの配列を切断するための天然又は設計された配列特異的エンドヌクレアーゼの発現により、そのフランкиング配列を増強できることは公知である。

20

【0195】

実施例7. 遺伝子発現の安定化のためのイベントSYHT0H2挿入部位及びフランкиング配列の使用

30

また、SYHT0H2挿入部位にフランкиングするゲノム配列を用いて、目的とする別の遺伝子が、ダイズ並びにその他の作物において、SYHT0H2の組込み部位以外のゲノム位置に、トランスジーンとして挿入された場合、その発現を安定化することもできる。具体的には、挿入部位に5'側でフランкиングする20Kb以下のゲノム配列（例えば、配列番号7、配列番号7を含むゲノム配列、及び配列番号7に相同意向的なゲノム配列）と、挿入部位に3'側でフランкиングする20Kb以下のゲノム配列（例えば、配列番号8、配列番号8を含むゲノム配列、及び配列番号8に相同意向的なゲノム配列）とを用いて、植物のゲノムに挿入しようとする目的の遺伝子（1つ又は複数）とフランкиングさせる。これらの配列は、さらに、T-DNA境界反復配列、例えば、左境界（LB）及び右境界（RB）反復配列、並びにT-DNA送達効率を高めるための他のブースター配列によって

40

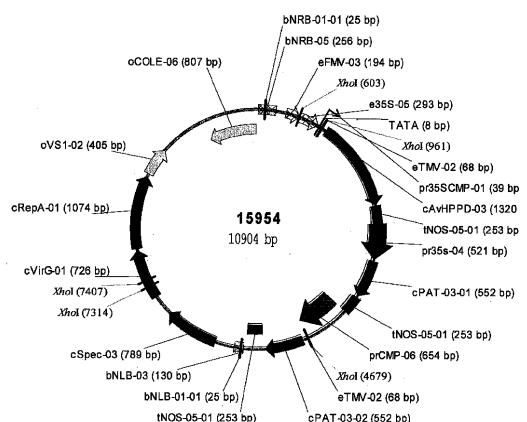
50

ランキングさせることもできる。目的の遺伝子は、S Y H T 0 H 2 組込み部位と厳密に同じ位置に配置してもよいし、一定レベルのトランスジーン発現を賦与するように、S Y H T 0 H 2 挿入部位のいずれかの側で、20 K b 領域以内のどこに配置してもよい。目的の遺伝子及びS Y H T 0 H 2 挿入部位ランキング配列を含むDNAベクターは、当業者には公知の複数の方法（限定されないが、プロトプラス形質転換、微粒子銃照射及びアグロバクテリウム（*Agrobacterium*）媒介形質転換など）の1つによって、植物細胞に送達することができる。送達されたDNAは、植物ゲノムにランダムに組み込んでよいし、又は独立に分離する遺伝子単位、例えば、人工染色体若しくはミニ染色体の一部として存在させることもできる。目的の遺伝子及びS Y H T 0 H 2 挿入部位ランキング配列を含むDNAベクターは、植物細胞に送達することができる。従って、目的の遺伝子の周囲を、S Y H T 0 H 2 挿入部位とランキングするゲノム配列で取り囲むことにより、このような遺伝子の発現が、トランスジェニック宿主植物（単子葉及び双子葉植物の両方を含む）において安定化される。

10

【図1】

FIG. 1



【配列表】

0006278446000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 0 1 N	41/10	(2006.01)	A 0 1 N	41/10 A
A 0 1 N	57/20	(2006.01)	A 0 1 N	57/20 G
A 0 1 N	37/40	(2006.01)	A 0 1 N	57/20 L
A 0 1 N	39/04	(2006.01)	A 0 1 N	37/40
A 0 1 N	43/40	(2006.01)	A 0 1 N	39/04 A
A 0 1 N	43/80	(2006.01)	A 0 1 N	43/40 1 0 1 B
A 0 1 P	13/00	(2006.01)	A 0 1 N	43/80 1 0 1
A 2 3 L	11/00	(2016.01)	A 0 1 P	13/00
A 2 3 D	9/00	(2006.01)	A 2 3 L	11/00 A
A 0 1 H	1/00	(2006.01)	A 2 3 D	9/00 5 0 6
			A 0 1 H	1/00 A

前置審査

- (74)代理人 100138210
弁理士 池田 達則
- (74)代理人 100094569
弁理士 田中 伸一郎
- (74)代理人 100088694
弁理士 弟子丸 健
- (74)代理人 100084663
弁理士 箱田 篤
- (74)代理人 100093300
弁理士 浅井 賢治
- (74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫
- (74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき
- (74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信
- (74)代理人 100136249
弁理士 星野 貴光
- (73)特許権者 500584309
シンジェンタ パーティシペーションズ アクチエンゲゼルシャフト
スイス国, ツェーハー - 4 0 5 8 バーゼル, シュバルツバルトアレー 2 1 5
- (72)発明者 ジョン ヒプスキンド
アメリカ合衆国, ノースカロライナ 2 7 7 0 9, リサーチ トライアングル パーク, イースト
コーンウォリス ロード 3 0 5 4
- (72)発明者 クリストイーナ バーゲン
アメリカ合衆国, ノースカロライナ 2 7 7 0 9, リサーチ トライアングル パーク, イースト
コーンウォリス ロード 3 0 5 4
- (72)発明者 ラケシュ ジャイン
アメリカ合衆国, フロリダ 3 2 9 6 7, ベロ ビーチ, フィフティーエイス アベニュー 7 1 4
5
- (72)発明者 キャロライン ターブストラ
アメリカ合衆国, イリノイ 6 2 2 4 9, ハイランド, ウルトラウェイ ドライブ 3
- (72)発明者 マリーナ シガレバ

アメリカ合衆国, マサチューセッツ 01776, サドベリー, グッドマンズ ヒル ロード 1
40

(72)発明者 アニック ドゥフラモン

アメリカ合衆国, ノースカロライナ 27709, リサーチ トライアングル パーク, イースト
コーンウォリス ロード 3054

(72)発明者 ベッキー ブレイティンガー

アメリカ合衆国, ノースカロライナ 27709, リサーチ トライアングル パーク, イースト
コーンウォリス ロード 3054

(72)発明者 パンス クラマー

アメリカ合衆国, ノースカロライナ 27709, リサーチ トライアングル パーク, イースト
コーンウォリス ロード 3054

(72)発明者 グ ウェイニン

アメリカ合衆国, ノースカロライナ 27709, リサーチ トライアングル パーク, イースト
コーンウォリス ロード 3054

審査官 藤澤 雅樹

(56)参考文献 米国特許出願公開第2010/0197503(US, A1)

特表2009-538153(JP, A)

特表2009-525748(JP, A)

特開2004-027091(JP, A)

生物工学会誌(2007)第85巻、第2号、第57-62頁

丹生谷博, 遺伝子組換え食品の安全性評価と品質表示基準, 技術士, 2009年 3月, 第16-19頁, 2015年12月9日検索, URL, http://www.engineer.or.jp/c_dpt/bio/topics/001/attached/attach_1915_1.pdf

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00

A01H 5/00

GenBank / EMBL / DDBJ / GeneSeq

Capplus / BIOSIS / MEDLINE / WPI-IDS / WPI-X (STN)

Capplus / REGISTRY (STN)

PubMed

Google