

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第3部門第2区分  
 【発行日】令和3年4月8日(2021.4.8)

【公表番号】特表2020-511429(P2020-511429A)  
 【公表日】令和2年4月16日(2020.4.16)  
 【年通号数】公開・登録公報2020-015  
 【出願番号】特願2019-545243(P2019-545243)  
 【国際特許分類】

A 0 1 N 63/00 (2020.01)  
 C 1 2 N 15/113 (2010.01)  
 A 0 1 H 1/00 (2006.01)  
 A 0 1 H 5/00 (2018.01)

【F I】

A 0 1 N 63/00 Z N A C  
 C 1 2 N 15/113 Z  
 A 0 1 H 1/00 A  
 A 0 1 H 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】令和3年2月22日(2021.2.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

昆虫の適応度を低下させる方法であって、dsRNAを含む有効量のポリヌクレオチドを前記昆虫に送達することを含み、前記dsRNAは、それが投与されていない昆虫と比較して、前記昆虫における昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の発現を低減する方法。

【請求項2】

前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD(プロテインビカウダル(Protein bicaudal)D)、Cact(カクタス(cactus))、DIF(ドーサル(Dorsal)関連免疫因子)、Toll(トール(Toll)相互作用タンパク質)、グルタミントランスポータタンパク質、及びimid(免疫欠損タンパク質)からなる群から選択されるタンパク質をコードする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記遺伝子が、表5、表8、又は表9に挙げるタンパク質と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性、少なくとも95%のアミノ酸配列同一性、又は100%のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

前記dsRNAが、前記昆虫の遺伝子の10~30ヌクレオチドと相補的である、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】

前記方法が、前記昆虫の遺伝子の発現を阻害するのに有効である、請求項1~4のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記方法が、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫に常在する 1 種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝を低下させるのに有効である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記 1 種以上の微生物が、ブフネラ属種 (*Buchenera* spp.) である、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記方法は、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫の適応度を低下させるのに有効である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記ポリヌクレオチドが、昆虫に対する送達のために製剤化された組成物として送達される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記送達は、前記害虫が成長、生息、繁殖、摂餌、又は寄生する少なくとも 1 つの生息場所に前記ポリヌクレオチドを送達することを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記送達が、農作物に前記ポリヌクレオチドを噴霧することを含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記ポリヌクレオチドが、前記昆虫による摂取のために昆虫が摂食可能な組成物として送達される、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記ポリヌクレオチドが、農業的に許容可能な担体と一緒に、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル、又は気体組成物として製剤化される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 14】

前記昆虫が、アブラムシである、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 15】

昆虫への送達用に製剤化された dsRNA を含むポリヌクレオチドを含む組成物であって、前記 dsRNA が、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の 15 ~ 30 ヌクレオチドと相補的である組成物。

## 【請求項 16】

前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質 SPファミリー由来のタンパク質、BicD (プロテインピカウダル (Protein bicaudal) D)、Cact (カクタス (cactus))、DIF (ドーサル (Dorsal) 関連免疫因子)、Toll (トール (Toll) 相互作用タンパク質)、グルタミントランスポータタンパク質、及び imd (免疫欠損タンパク質) からなる群から選択されるタンパク質をコードする、請求項 15 に記載の組成物。

## 【請求項 17】

前記遺伝子が、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質と少なくとも 90% のアミノ酸配列同一性、95% のアミノ酸配列同一性、又は 100% のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、請求項 15 又は 16 に記載の組成物。

## 【請求項 18】

請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の組成物の局所塗布を含む植物。

## 【請求項 19】

そのゲノムに組換え DNA 構築物を有するトランスジェニック植物細胞であって、前記組換え DNA 構築物が、少なくとも 1 つの二本鎖 RNA 領域を含む RNA をコードする D

NAに作動可能に連結した異種プロモータを含み、その少なくとも一方の鎖は、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の15～30ヌクレオチドと相補的であるヌクレオチド配列を含むトランスジェニック植物細胞。

【請求項20】

前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRFファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD(プロテインビカウダル(Protein bicaudal)D)、Cact(カクタス(cactus))、DIF(ドーサル(Dorsal)関連免疫因子)、Toll(トール(Toll)相互作用タンパク質)、グルタミントランスポータタンパク質、及びimd(免疫欠損タンパク質)からなる群から選択されるタンパク質をコードする、請求項19に記載のトランスジェニック植物。

【請求項21】

前記遺伝子が、表5、表8、又は表9に挙げるタンパク質と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性、95%のアミノ酸配列同一性、又は100%のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、請求項19又は20に記載の組成物。

【請求項22】

昆虫の適応度を低下させる方法であって、真菌溶液が投与されていない昆虫と比較して昆虫の適応度を低下させる真菌溶液を該昆虫に送達することを含む方法。

【請求項23】

昆虫の適応度の低下は、昆虫の発育の進行の遅延、昆虫の死亡率の増加、昆虫の免疫応答の増加、および/または内共生生物の力価の減少として測定される、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

真菌溶液が噴霧または注射によって送達される、請求項22または23に記載の方法。

【請求項25】

昆虫の適応度を低下させる方法であって、ペプチド核酸(PNA)が投与されていない昆虫と比較して、昆虫における昆虫バクテリオサイト調節遺伝子または昆虫免疫調節遺伝子の発現を低下させ、昆虫の適応度を低下させるペプチド核酸(PNA)を該昆虫に送達することを含む方法。

【請求項26】

昆虫の適応度の低下が、昆虫の繁殖力の低下、昆虫の死亡率の増加、昆虫の発育の進行の遅延、および/または内共生力価の増加として測定される、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

PNAが注射によって送達される、請求項25または26に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0627

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0627】

他の実施形態

前述の本発明は、理解を明確にするために説明及び例として幾らか詳細に記載されているが、そうした記載及び例が本発明の範囲を限定するものと解釈されてはならない。本明細書に引用される全ての特許及び科学文献の開示は、全体として参照により明示的に援用される。本開示は以下の実施形態を包含する。

[1] 昆虫の適応度を低下させる方法であって、dsRNAを含む有効量のポリヌクレオチドを前記昆虫に送達することを含み、前記dsRNAは、それが投与されていない昆虫と比較して、前記昆虫における昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の発現を低減する方法。

[2] 前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRF

ァミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD (プロテインピカウダル (Protein bicaudal) D)、Cact (カクタス (cactus))、DIF (ドーサル (Dorsal) 関連免疫因子)、Toll (トール (Toll) 相互作用タンパク質)、又はimd (免疫欠損タンパク質) からなる群から選択されるタンパク質をコードする、実施形態1に記載の方法。

[3] 前記遺伝子が、表5、表8、又は表9に挙げるタンパク質と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性、少なくとも95%のアミノ酸配列同一性、又は100%のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、実施形態1又は2に記載の方法。

[4] 前記dsRNAが、前記昆虫の遺伝子の10~30ヌクレオチドと相補的である、実施形態1~3のいずれかに記載の方法。

[5] 前記方法が、前記昆虫の遺伝子の発現を阻害するのに有効である、実施形態1~4のいずれかに記載の方法。

[6] 前記方法が、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝を低下させるのに有効である、実施形態1~5のいずれかに記載の方法。

[7] 前記1種以上の微生物が、ブフネラ属種 (Buchenera spp.) である、実施形態6に記載の方法。

[8] 前記方法は、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫の適応度を低下させるのに有効である、実施形態1~7のいずれかに記載の方法。

[9] 前記ポリヌクレオチドが、昆虫に対する送達のために製剤化された組成物として送達される、実施形態1~8のいずれかに記載の方法。

[10] 前記送達は、前記害虫が成長、生息、繁殖、摂餌、又は寄生する少なくとも1つの生息場所に前記ポリヌクレオチドを送達することを含む、実施形態1~9のいずれかに記載の方法。

[11] 前記送達が、農作物に前記ポリヌクレオチドを噴霧することを含む、実施形態1~10のいずれかに記載の方法。

[12] 前記ポリヌクレオチドが、前記昆虫による摂取のために昆虫が摂食可能な組成物として送達される、実施形態1~11のいずれかに記載の方法。

[13] 前記ポリヌクレオチドが、農業的に許容可能な担体と一緒に、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル、又は気体組成物として製剤化される、実施形態1~12のいずれかに記載の方法。

[14] 前記昆虫が、アブラムシである、実施形態1~13のいずれかに記載の方法。

[15] 昆虫への送達用に製剤化されたdsRNAを含むポリヌクレオチドを含む組成物であって、前記dsRNAが、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の15~30ヌクレオチドと相補的である組成物。

[16] 前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD (プロテインピカウダル (Protein bicaudal) D)、Cact (カクタス (cactus))、DIF (ドーサル (Dorsal) 関連免疫因子)、Toll (トール (Toll) 相互作用タンパク質)、及びimd (免疫欠損タンパク質) からなる群から選択されるタンパク質をコードする、実施形態15に記載の組成物。

[17] 前記遺伝子が、表5、表8、又は表9に挙げるタンパク質と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性、95%のアミノ酸配列同一性、又は100%のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、実施形態15又は16に記載の組成物。

[18] 実施形態15~17のいずれかに記載の組成物の局所塗布を含む植物。

[19] そのゲノムに組換えDNA構築物を有するトランスジェニック植物細胞であって、前記組換えDNA構築物が、少なくとも1つの二本鎖RNA領域を含むRNAをコードするDNAに作動可能に連結した異種プロモータを含み、その少なくとも一方の鎖は、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の15~30ヌクレオチドと相補

的であるヌクレオチド配列を含むトランスジェニック植物細胞。\_\_\_\_\_

[ 2 0 ] 前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 B C R ファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質 S P ファミリー由来のタンパク質、 B i c D (プロテインビカウダル ( P r o t e i n b i c a u d a l ) D)、C a c t (カクタス ( c a c t u s ))、D I F (ドーサル ( D o r s a l ) 関連免疫因子)、T o l l (トール ( T o l l ) 相互作用タンパク質)、及び i m d (免疫欠損タンパク質) からなる群から選択されるタンパク質をコードする、実施形態 1 9 に記載のトランスジェニック植物。\_\_\_\_\_

[ 2 1 ] 前記遺伝子が、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質と少なくとも 9 0 % のアミノ酸配列同一性、9 5 % のアミノ酸配列同一性、又は 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、実施形態 1 9 又は 2 0 に記載の組成物。\_\_\_\_\_