

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成30年2月8日 (2018.2.8)

【公表番号】特表2017-500875(P2017-500875A)

【公表日】平成29年1月12日 (2017.1.12)

【年通号数】公開・登録公報2017-002

【出願番号】特願2016-543695(P2016-543695)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2018.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 5/10

A 0 1 H 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月22日 (2017.12.22)

【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】

導入遺伝子に作動可能に連結されているプロモーターを含む遺伝子発現カセットであって、前記プロモーターが、配列番号 2 に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリヌクレオチドを含み、

前記遺伝子発現カセットが任意的に以下の少なくとも 1 つ：

i) 前記プロモーターが、配列番号 2 の相補体に対する少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリヌクレオチドプローブに厳密な条件下でハイブリダイズする、

i i) 前記作動可能に連結された導入遺伝子がポリペプチドまたは小分子 RNA をコードする、

i i i) 前記導入遺伝子が、殺虫剤抵抗性導入遺伝子、除草剤耐性導入遺伝子、窒素利用効率導入遺伝子、水利用効率導入遺伝子、栄養品質導入遺伝子、DNA 結合導入遺伝子、および選択可能マーカー導入遺伝子からなる群から選択される、

i v) 前記発現カセットが 3' - 非翻訳領域をさらに含む
を満たす、遺伝子発現カセット。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の遺伝子発現カセットを含む組換えベクターであって、
任意的に、プラスミド、コスミド、細菌人工染色体、ウイルス、およびバクテリオファージからなる群から選択される、ベクター。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の遺伝子発現カセットを含むトランスジェニック細胞であって、
任意的に、トランスジェニック植物細胞である、トランスジェニック細胞。

【請求項 4】

請求項 3 に記載のトランスジェニック植物細胞を含むトランスジェニック植物であって、
任意的に、単子葉または双子葉植物であり、

任意的に、前記単子葉植物が、トウモロコシ植物、イネ植物、およびコムギ植物からなる群から選択される、トランスジェニック植物。

【請求項 5】

配列番号 2 に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する合成ポリヌクレオチドを含むトランスジェニック細胞であって、任意的に、以下の少なくとも 1 つ：

i) 前記合成ポリヌクレオチドが、配列番号 2 の相補体に対する少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリヌクレオチドプローブに厳密な条件下でハイブリダイズする、

ii) トランスジェニック植物細胞であり、任意的に、前記トランスジェニック植物細胞が植物形質転換法により生産され、任意的に、前記植物形質転換法が、アグロバクテリウム (Agrobacterium) 媒介形質転換法、微粒子銃形質転換法、炭化珪素形質転換法、プロトプラスト形質転換法、およびリボソーム形質転換法からなる群から選択される、を満たす、トランスジェニック細胞。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の遺伝子発現カセットを含む組換えベクターであって、

任意的に、プラスミド、コスミド、細菌人工染色体、ウイルス、およびバクテリオファージからなる群から選択される、組換えベクター。

【請求項 7】

トランスジェニック植物において異種コード配列を発現させるための方法であって、

a) 3' - 非翻訳領域に作動可能に連結されている、前記異種コード配列に作動可能に連結されている配列番号 2 を含むポリヌクレオチド配列を含む遺伝子発現カセットで植物細胞を形質転換すること、

b) 前記遺伝子発現カセットを含む前記形質転換された植物細胞を単離すること、

c) 前記形質転換された植物細胞をトランスジェニック植物に再生させること、および

d) 配列番号 2 を含む前記ポリヌクレオチド配列を含む前記遺伝子発現カセットを含む前記トランスジェニック植物を得ることを含み、

任意的に、以下の少なくとも 1 つを含む方法：

i) 前記異種コード配列が、殺虫剤抵抗性コード配列、除草剤耐性コード配列、窒素利用効率コード配列、水利用効率コード配列、栄養品質コード配列、DNA 結合コード配列、および選択可能マーカーコード配列からなる群から選択される、

ii) 植物細胞を形質転換することが植物形質転換法であり、任意的に、前記植物形質転換法が、アグロバクテリウム (Agrobacterium) 媒介形質転換法、微粒子銃形質転換法、炭化珪素形質転換法、プロトプラスト形質転換法、およびリボソーム形質転換法からなる群から選択される、

iii) 前記トランスジェニック植物が単子葉または双子葉トランスジェニック植物であり、任意的に、前記単子葉トランスジェニック植物が、トウモロコシ植物、コムギ植物、およびイネ植物からなる群から選択される、

iv) 前記異種コード配列がトランスジェニック植物組織において発現される

v) 前記トランスジェニック植物組織が、トランスジェニック植物根、苗条、茎、または花粉組織である。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のトランスジェニック植物由来のトランスジェニック種子。

【請求項 9】

配列番号 2 に対する少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を単離するための方法であって、

a) 配列番号に対する少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を同定すること、

b) 配列番号に対する少なくとも 90 % の配列同一性を有する前記ポリヌクレオチド配列に結合する複数のオリゴヌクレオチドプライマー配列を作製すること、

c) 前記複数のオリゴヌクレオチドプライマー配列から選択されるオリゴヌクレオチドプライマー配列を用いて、DNA 試料から配列番号に対する少なくとも 90 % の配列同一

性を含む前記ポリヌクレオチド配列を増幅させること、および

d) 配列番号に対する少なくとも90%の配列同一性を含む前記ポリヌクレオチド配列を単離することを含み、

任意的に、配列番号2に対する少なくとも90%の配列同一性を含む前記単離されたポリヌクレオチド配列が導入遺伝子に作動可能に連結されており、

任意的に、前記作動可能に連結された導入遺伝子がポリペプチドまたは小分子RNAをコードする、方法。

【請求項10】

導入遺伝子の発現を促進する、配列番号2に対する少なくとも90%の配列同一性を含む精製されたポリヌクレオチド配列であって、任意的に、以下の少なくとも1つを満たす、精製されたポリヌクレオチド配列：

i) 配列番号2の相補体に対する少なくとも90%の配列同一性を含むポリヌクレオチドプローブ配列が、前記精製されたポリヌクレオチド配列に厳密な条件下でハイブリダイズする、

ii) 導入遺伝子に作動可能に連結されており、任意的に、ポリペプチドをコードする。

【請求項11】

3'-非翻訳領域に作動可能に連結されている、請求項10に記載の導入遺伝子に作動可能に連結されている精製されたポリヌクレオチド配列を含む遺伝子発現カセットであって、任意的に、前記導入遺伝子が、殺虫剤抵抗性導入遺伝子、除草剤耐性導入遺伝子、窒素利用効率導入遺伝子、水利用効率導入遺伝子、栄養品質導入遺伝子、DNA結合導入遺伝子、および選択可能マーカー導入遺伝子からなる群から選択される、遺伝子発現カセット。

【請求項12】

請求項11に記載の遺伝子発現カセットを含む組換えベクターであって、任意的に、プラスミドベクター、コスミドベクター、およびBACベクターからなる群から選択される、組換えベクター。

【請求項13】

請求項10に記載の精製されたポリヌクレオチド配列を含むトランスジェニック細胞であって、任意的に、トランスジェニック植物細胞である、トランスジェニック細胞。

【請求項14】

請求項5または13のいずれか一項に記載のトランスジェニック植物細胞を含むトランスジェニック植物であって、任意的に、単子葉植物であり、任意的に、前記単子葉植物が、トウモロコシ植物、コムギ植物、およびイネ植物からなる群から選択される、トランスジェニック植物。

【請求項15】

請求項4または14のいずれか一項に記載のトランスジェニック植物由来のトランスジェニック種子。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

本発明は以下を提供する。

[1] 導入遺伝子に作動可能に連結されているプロモーターを含む遺伝子発現カセットであって、上記プロモーターが、配列番号2に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリヌクレオチドを含む、遺伝子発現カセット。

[2] 上記プロモーターが、配列番号2の相補体に対する少なくとも90%の配列同一性

を含むポリヌクレオチドプローブに厳密な条件下でハイブリダイズする、上記〔１〕に記載の遺伝子発現カセット。

〔３〕上記作動可能に連結された導入遺伝子がポリペプチドまたは小分子RNAをコードする、上記〔１〕に記載の遺伝子発現カセット。

〔４〕上記導入遺伝子が、殺虫剤抵抗性導入遺伝子、除草剤耐性導入遺伝子、窒素利用効率導入遺伝子、水利用効率導入遺伝子、栄養品質導入遺伝子、DNA結合導入遺伝子、および選択可能マーカー導入遺伝子からなる群から選択される、上記〔１〕に記載の遺伝子発現カセット。

〔５〕３′-非翻訳領域をさらに含む、上記〔１〕に記載の遺伝子発現カセット。

〔６〕上記〔１〕に記載の遺伝子発現カセットを含む組換えベクター。

〔７〕プラスミド、コスミド、細菌人工染色体、ウイルス、およびバクテリオファージからなる群から選択される、上記〔６〕に記載の組換えベクター。

〔８〕上記〔１〕に記載の遺伝子発現カセットを含むトランスジェニック細胞。

〔９〕トランスジェニック植物細胞である、上記〔８〕に記載のトランスジェニック細胞。

〔１０〕上記〔９〕に記載のトランスジェニック植物細胞を含むトランスジェニック植物。

〔１１〕単子葉または双子葉植物である、上記〔１０〕に記載のトランスジェニック植物。

〔１２〕上記単子葉植物が、トウモロコシ植物、イネ植物、およびコムギ植物からなる群から選択される、上記〔１１〕に記載のトランスジェニック植物。

〔１３〕上記〔１０〕に記載のトランスジェニック植物由来のトランスジェニック種子。

〔１４〕配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性を有する合成ポリヌクレオチドを含むトランスジェニック細胞。

〔１５〕上記合成ポリヌクレオチドが、配列番号２の相補体に対する少なくとも９０％の配列同一性を含むポリヌクレオチドプローブに厳密な条件下でハイブリダイズする、上記〔１４〕に記載のトランスジェニック細胞。

〔１６〕トランスジェニック植物細胞である、上記〔１４〕に記載のトランスジェニック細胞。

〔１７〕上記トランスジェニック植物細胞が植物形質転換法により生産される、上記〔１６〕に記載のトランスジェニック細胞。

〔１８〕上記植物形質転換法が、アグロバクテリウム（Agrobacterium）媒介形質転換法、微粒子銃形質転換法、炭化珪素形質転換法、プロトプラスト形質転換法、およびリボソーム形質転換法からなる群から選択される、上記〔１７〕に記載のトランスジェニック細胞。

〔１９〕上記〔１４〕に記載のトランスジェニック植物細胞を含むトランスジェニック植物。

〔２０〕単子葉植物である、上記〔１９〕に記載のトランスジェニック植物。

〔２１〕上記単子葉植物が、トウモロコシ植物、イネ植物、およびコムギ植物からなる群から選択される、上記〔２０〕に記載のトランスジェニック植物。

〔２２〕上記〔２１〕に記載のトランスジェニック植物由来のトランスジェニック種子。

〔２３〕上記〔１４〕に記載の遺伝子発現カセットを含む組換えベクター。

〔２４〕プラスミド、コスミド、細菌人工染色体、ウイルス、およびバクテリオファージからなる群から選択される、上記〔２３〕に記載の組換えベクター。

〔２５〕トランスジェニック植物において異種コード配列を発現させるための方法であって、

a) ３′-非翻訳領域に作動可能に連結されている、上記異種コード配列に作動可能に連結されている配列番号２を含むポリヌクレオチド配列を含む遺伝子発現カセットで植物細胞を形質転換すること、

b) 上記遺伝子発現カセットを含む上記形質転換された植物細胞を単離すること、

c) 上記形質転換された植物細胞をトランスジェニック植物に再生させること、および
d) 配列番号 2 を含む上記ポリヌクレオチド配列を含む上記遺伝子発現カセットを含む上
記トランスジェニック植物を得ることを含む方法。

[2 6] 上記異種コード配列が、殺虫剤抵抗性コード配列、除草剤耐性コード配列、窒素
利用効率コード配列、水利用効率コード配列、栄養品質コード配列、DNA 結合コード配
列、および選択可能マーカーコード配列からなる群から選択される、上記 [2 5] に記載
の方法。

[2 7] 植物細胞を形質転換することが植物形質転換法である、上記 [2 5] に記載の方
法。

[2 8] 上記植物形質転換法が、アグロバクテリウム (Agrobacterium) 媒介形質転換法
、微粒子銃形質転換法、炭化珪素形質転換法、プロトプラスト形質転換法、およびリボソ
ーム形質転換法からなる群から選択される、上記 [2 7] に記載の方法。

[2 9] 上記トランスジェニック植物が単子葉または双子葉トランスジェニック植物であ
る、上記 [2 5] に記載の方法。

[3 0] 上記単子葉トランスジェニック植物が、トウモロコシ植物、コムギ植物、および
イネ植物からなる群から選択される、上記 [2 9] に記載の方法。

[3 1] 上記 [2 5] に記載のトランスジェニック植物由来のトランスジェニック種子。

[3 2] 上記異種コード配列がトランスジェニック植物組織において発現される、上記 [
2 5] に記載の方法。

[3 3] 上記トランスジェニック植物組織が、トランスジェニック植物根、苗条、茎、ま
たは花粉組織である、上記 [2 5] に記載の方法。

[3 4] 配列番号 2 に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性を含むポリヌクレオチド配列
を単離するための方法であって、

a) 配列番号に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性を含むポリヌクレオチド配列を同定
すること、

b) 配列番号に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性を含む上記ポリヌクレオチド配列に
結合する複数のオリゴヌクレオチドプライマー配列を作製すること、

c) 上記複数のオリゴヌクレオチドプライマー配列から選択されるオリゴヌクレオチドプ
ライマー配列を用いて、DNA 試料から配列番号に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性
を含む上記ポリヌクレオチド配列を増幅させること、および

d) 配列番号に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性を含む上記ポリヌクレオチド配列を
単離することを含む方法。

[3 5] 配列番号 2 に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性を含む上記単離されたポリヌ
クレオチド配列が導入遺伝子に作動可能に連結されている、上記 [3 4] に記載の方法。

[3 6] 上記作動可能に連結された導入遺伝子がポリペプチドまたは小分子 RNA をコード
する、上記 [3 5] に記載の方法。

[3 7] 導入遺伝子の発現を促進する、配列番号 2 に対する少なくとも 9 0 % の配列同一
性を含む精製されたポリヌクレオチド配列。

[3 8] 配列番号 2 の相補体に対する少なくとも 9 0 % の配列同一性を含むポリヌクレオ
チドプローブ配列が、上記 [3 7] に記載の精製されたポリヌクレオチド配列に厳密な条
件下でハイブリダイズする、上記 [3 7] に記載の精製されたポリヌクレオチド配列。

[3 9] 導入遺伝子に作動可能に連結されている、上記 [3 7] に記載の精製されたポリ
ヌクレオチド配列。

[4 0] ポリペプチドをコードする、上記 [3 9] に記載の作動可能に連結されている導入
遺伝子。

[4 1] 3' - 非翻訳領域に作動可能に連結されている、上記 [3 7] に記載の導入遺伝
子に作動可能に連結されている精製されたポリヌクレオチド配列を含む遺伝子発現カセ
ット。

[4 2] 上記導入遺伝子が、殺虫剤抵抗性導入遺伝子、除草剤耐性導入遺伝子、窒素利用
効率導入遺伝子、水利用効率導入遺伝子、栄養品質導入遺伝子、DNA 結合導入遺伝子、

および選択可能マーカー導入遺伝子からなる群から選択される、上記 [4 1] に記載の遺伝子発現カセット。

[4 3] 上記 [4 1] に記載の遺伝子発現カセットを含む組換えベクター。

[4 4] プラスミドベクター、コスミドベクター、および B A C ベクターからなる群から選択される、上記 [4 3] に記載の組換えベクター。

[4 5] 上記 [3 7] に記載の精製されたポリヌクレオチド配列を含むトランスジェニック細胞。

[4 6] トランスジェニック植物細胞である、上記 [4 5] に記載のトランスジェニック細胞。

[4 7] 上記 [4 6] に記載のトランスジェニック植物細胞を含むトランスジェニック植物。

[4 8] 単子葉植物である、上記 [4 7] に記載のトランスジェニック植物。

[4 9] 上記単子葉植物が、トウモロコシ植物、コムギ植物、およびイネ植物からなる群から選択される、上記 [4 8] に記載のトランスジェニック植物。

[5 0] 上記 [4 9] に記載のトランスジェニック植物由来のトランスジェニック種子。

植物細胞および / または植物組織において導入遺伝子を発現させるためのプロモーター、構築物、および方法が本明細書で開示される。一実施形態では、導入遺伝子の発現はプロモーターの使用を含む。一実施形態では、プロモーターはポリヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、プロモーターポリヌクレオチド配列は上流プロモーター、5' - 非翻訳領域 (5' - U T R) またはリーダー配列、およびイントロンを含む。一実施形態では、プロモーターポリヌクレオチド配列はユビキチン - 1 遺伝子 (U b i - 1) を含む。一実施形態では、プロモーターポリヌクレオチド配列はトウモロコシ (Zea mays、Z. mays) の U b i - 1 遺伝子を含む。