【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和5年1月10日(2023.1.10)

【国際公開番号】WO2021/210688
【出願番号】特願2022-515456(P2022-515456)
【国際特許分類】
Ａ０１Ｈ　6/82(2018.01)
Ａ０１Ｈ　5/12(2018.01)
Ａ０１Ｈ　5/00(2018.01)
Ａ２４Ｂ 15/10(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/29(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/09(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/10(2006.01)
【ＦＩ】
Ａ０１Ｈ　6/82　　ＺＮＡ
Ａ０１Ｈ　5/12
Ａ０１Ｈ　5/00　　Ａ
Ａ２４Ｂ 15/10
Ｃ１２Ｎ 15/29
Ｃ１２Ｎ 15/09　１００
Ｃ１２Ｎ 15/10　２００Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和4年10月13日(2022.10.13)
【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】
（ａ）配列番号２または配列番号５に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子、および
（ｂ）配列番号６に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子の少なくとも一方の機能抑制を特異的に引き起こす変異がゲノム中の当該内在性遺伝子に導入されて<u>おり、</u>
<u>（ｃ）配列番号６２または配列番号６３に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子、および
（ｄ）配列番号６４に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子が機能抑制されていない</u>、タバコ属植物体。
【請求項２】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記内在性遺伝子から生成されたｍＲＮＡの存在量の減少である、請求項１に記載のタバコ属植物体。
【請求項３】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記内在性遺伝子から生成されたｍＲＮ

Ａの分解の促進である、請求項２に記載のタバコ属植物体。
【請求項４】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記内在性遺伝子からのｍＲＮＡの転写量の減少である、請求項２に記載のタバコ属植物体。
【請求項５】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記ポリペプチドの存在量の減少である、請求項１～４のいずれか１項に記載のタバコ属植物体。
【請求項６】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記ポリペプチドの翻訳量の減少である、請求項５に記載のタバコ属植物体。
【請求項７】
上記変異は、変異原処理、ゲノム編集または遺伝子ノックアウトによって導入されている、請求項１～６のいずれか１項に記載のタバコ属植物体。
【請求項８】
ニコチアナ・タバカム、ニコチアナ・シルベストリスまたはニコチアナ・ルスチカに属する、請求項１～７のいずれか１項に記載のタバコ属植物体。
【請求項９】
タバコ属植物体の製造方法であって、
（ａ）配列番号２または配列番号５に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子、および
（ｂ）配列番号６に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子の少なくとも一方の機能抑制を特異的に引き起こす変異を、タバコ属植物体のゲノムに導入する工程を含み、
上記導入する工程が、上記内在性遺伝子に上記変異を導入することを含み、
（ｃ）配列番号６２または配列番号６３に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子、および
（ｄ）配列番号６４に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子が機能抑制されないことを、さらに含んでいる、タバコ属植物体の製造方法。
【請求項１０】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記内在性遺伝子から生成されたｍＲＮＡの存在量の減少である、請求項９に記載の製造方法。
【請求項１１】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記内在性遺伝子から生成されたｍＲＮＡの分解の促進である、請求項１０に記載の製造方法。
【請求項１２】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記内在性遺伝子からのｍＲＮＡの転写量の減少である、請求項１０に記載の製造方法。
【請求項１３】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記ポリペプチドの存在量の減少である、請求項９～１２のいずれか１項に記載の製造方法。
【請求項１４】
上記機能抑制は、野生型植物と比べたときの、上記ポリペプチドの翻訳量の減少である、請求項１３に記載の製造方法。
【請求項１５】
上記導入する工程が、変異原処理、遺伝子の組換え、ゲノム編集または遺伝子ノックアウトによって実施される、請求項９～１４のいずれか１項に記載の製造方法。

【請求項１６】
請求項１～８のいずれか１項に記載のタバコ属植物体、または請求項９～１５のいずれか１項に記載の製造方法によって得られたタバコ属植物体の、子孫または当該タバコ属植物体の交配によって得られた育種後代。
【請求項１７】
（ａ）配列番号２または配列番号５に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドをコード領域として含んでいる、ゲノム上の内在性遺伝子に、当該内在性遺伝子の機能を抑制する変異を有しており、および／または
（ｂ）配列番号６に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドをコード領域として含んでいる、ゲノム上の内在性遺伝子に、当該内在性遺伝子の機能を抑制する変異を有しており、
野生型タバコ属植物体から収穫された葉たばこと比べて、低いアルカロイド含量を示し、
（ｃ）配列番号６２または配列番号６３に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子、および
（ｄ）配列番号６４に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子が機能抑制されていない、葉たばこ。
【請求項１８】
（ａ）配列番号２または配列番号５に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドをコード領域として含んでいる、ゲノム上の内在性遺伝子に、当該内在性遺伝子の機能を抑制する変異を有しており、および／または
（ｂ）配列番号６に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドをコード領域として含んでいる、ゲノム上の内在性遺伝子に、当該内在性遺伝子の機能を抑制する変異を有しており、
野生型タバコ属植物体から収穫された葉たばこから生成された乾燥葉と比べて、低いアルカロイド含量を示し、
（ｃ）配列番号６２または配列番号６３に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子、および
（ｄ）配列番号６４に示されるアミノ酸配列に対する９５％以上の配列同一性を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドを、コード領域として含んでいる内在性遺伝子が機能抑制されていない、乾燥葉。
【請求項１９】
請求項１８に記載の乾燥葉を含んでいる、たばこ製品。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６３】
配列番号１は、ＮｓＡＯ２遺伝子のＣＤＳ配列（配列番号２に示されるアミノ酸をコードする）を示す。配列番号３５は、配列番号１に示される塩基配列をコード領域に含む、ＮｓＡＯ２遺伝子のゲノムＤＮＡ配列である。配列番号３は、ＮｔＡＯ２－Ｓ遺伝子のＣＤＳ配列（配列番号５に示されるアミノ酸をコードする）を示す。配列番号３６は、配列番号３に示される塩基配列をコード領域に含む、ＮｔＡＯ２－Ｓ遺伝子のゲノムＤＮＡ配列である。配列番号４は、ＮｔＡＯ２－Ｔ遺伝子のＣＤＳ配列（配列番号６に示されるア

ミノ酸をコードする）を示す。配列番号３７は、配列番号４に示される塩基配列をコード領域に含む、ＮｔＡＯ２－Ｔ遺伝子のゲノムＤＮＡ配列である。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６６】
配列番号６２は、ニコチアナ・シルベストリスのＡＯ１（ＮｓＡＯ１）のアミノ酸配列を示す。配列番号６５は、ＮｓＡＯ１遺伝子のＣＤＳ配列（配列番号６２に示されるアミノ酸をコードする）を示す。配列番号６８は、配列番号６５に示される塩基配列をコード領域に含む、ＮｓＡＯ１遺伝子のゲノムＤＮＡ配列である。配列番号６３は、ニコチアナ・タバカムのＳゲノムにコードされるＡＯ１（ＮｔＡＯ１－Ｓ）のアミノ酸配列を示す。配列番号６６は、ＮｔＡＯ１－Ｓ遺伝子のＣＤＳ配列（配列番号６３に示されるアミノ酸をコードする）を示す。配列番号６９は、配列番号６６に示される塩基配列をコード領域に含む、ＮｔＡＯ１－Ｓ遺伝子のゲノムＤＮＡ配列である。配列番号６４は、ニコチアナ・タバカムのＴゲノムにコードされるＡＯ１（ＮｔＡＯ１－Ｔ）のアミノ酸配列を示す。配列番号６７は、ＮｔＡＯ１－Ｔ遺伝子のＣＤＳ配列（配列番号６４に示されるアミノ酸をコードする）を示す。配列番号７０は、配列番号６７に示される塩基配列をコード領域に含む、ＮｔＡＯ１－Ｔ遺伝子のゲノムＤＮＡ配列である。