

【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 29 年 7 月 13 日 (2017.7.13)

【公開番号】特開 2017-93450 (P2017-93450A)
 【公開日】平成 29 年 6 月 1 日 (2017.6.1)
 【年通号数】公開・登録公報 2017-020
 【出願番号】特願 2016-251528 (P2016-251528)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

A 0 1 H 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 29 年 5 月 12 日 (2017.5.12)

【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】

ダイズ品種における S C N 耐性の決定因子を含む植物を同定するための方法であって、
 ダイズ品種における S C N 耐性表現型と連鎖したマーカーに関して植物から単離核酸分子をスクリーニングするステップとを含み、マーカーが配列番号 10 の 61 位のアデニンヌクレオチドで定義される一塩基多型 (S N P)、配列番号 11 の 98 位のチミンヌクレオチドで定義される S N P からなる群から選択されるマーカーと遺伝的に連鎖しており、および、前記マーカーの存在がダイズ品種における S C N 耐性の決定因子を示す、方法。

【請求項 2】

ダイズ品種がダイズ品種 98860-71 である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記マーカーに関してスクリーニングするステップが、前記単離核酸分子に対するオリゴヌクレオチドプローブの安定的かつ特異的な結合を決定するステップを含み、

オリゴヌクレオチドプローブの安定的かつ特異的な結合がマーカーの存在を示し、および、

前記オリゴヌクレオチドプローブが配列番号 10 の 61 位のアデニン (A) ヌクレオチドを含む配列番号 10 のポリヌクレオチドに安定的かつ特異的に結合し、前記オリゴヌクレオチドプローブが配列番号 10 の 61 位のシトシン (C) ヌクレオチドを含む配列番号 10 に安定的に結合しない場合、前記オリゴヌクレオチドプローブの結合が特異的である、または

前記オリゴヌクレオチドプローブが、配列番号 11 のヌクレオチド 98 位のチミン (T) ヌクレオチドを含む配列番号 11 のポリヌクレオチドと安定的かつ特異的に結合し、前記オリゴヌクレオチドプローブが配列番号 11 の 98 位のシトシン (C) ヌクレオチドを含む配列番号 11 に安定的に結合しない場合、前記オリゴヌクレオチドプローブの結合が特異的である、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

ダイズ品種における S C N 耐性表現型と連鎖したマーカーに関して単離核酸分子をスクリーニングするステップを、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して実施する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

ダイズ品種における S C N 耐性表現型と連鎖したマーカーが配列番号 10 の 61 位のアデニンヌクレオチドで定義される S N P である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記マーカーに関してスクリーニングするステップが、単離核酸分子に対するオリゴヌクレオチドプローブの安定的かつ特異的な結合を決定するステップを含み、

オリゴヌクレオチドプローブの安定的かつ特異的な結合がマーカーの存在を示し、そして、前記オリゴヌクレオチドプローブは配列番号 10 の 61 位のアデニン (A) ヌクレオチドを含む配列番号 10 のポリヌクレオチドと安定的かつ特異的に結合し、前記オリゴヌクレオチドプローブが配列番号 10 の 61 位のシトシン (C) ヌクレオチドを含む配列番号 10 に安定的に結合しない場合、前記オリゴヌクレオチドプローブの結合が特異的であるとする、

請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

ダイズ品種における S C N 耐性表現型と連鎖したマーカーに関して単離核酸分子をスクリーニングするステップが、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して実施される、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

ダイズ品種における S C N 耐性表現型と連鎖したマーカーに関する植物の遺伝子型を決定するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記核酸分子は、S C N 耐性の形質を有するダイズ植物と S C N 耐性の形質を有しない対象のダイズ品種からのダイズ植物との交配により生産された、F₁ ダイズ植物から単離され、そして、前記同定した F₁ ダイズ植物は、対象のダイズ品種の任意の望ましい形質および / またはアレルを有し、前記方法がさらに、

同定した F₁ ダイズ植物を繁殖させ、それによって S C N 耐性ダイズ植物を生産するステップとを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

S C N 耐性が S C N レース 3 に対する耐性である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

S C N 耐性の形質を有するダイズ植物が品種 98860 - 71 のダイズ植物である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記オリゴヌクレオチドプローブが、

第 11 染色体上の塩基対 1,674,511 にチミンヌクレオチドを含む W i l l i a m s 82 ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチまたは、

第 11 染色体上の塩基対 1,663,671 にアデニンヌクレオチドを含む W i l l i a m s 82 ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチ

と特異的にハイブリダイズ可能である、請求項 3、4 および 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記オリゴヌクレオチドプローブが、配列番号 4 または配列番号 7 のヌクレオチド配列を含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記ダイズ品種における S C N 耐性表現型と連鎖したマーカーが、配列番号 10 の 61

位のアデニンヌクレオチドにより決定されるSNPである、請求項9に記載の方法。

【請求項15】

前記マーカに関してスクリーニングするステップが、単離核酸分子に対するオリゴヌクレオチドプローブの安定的かつ特異的な結合を決定するステップを含み、

オリゴヌクレオチドプローブの安定的かつ特異的な結合がマーカ存在を示し、そして、前記オリゴヌクレオチドプローブは配列番号10の61位のアデニン(A)ヌクレオチドを含む配列番号10のポリヌクレオチドと安定的かつ特異的に結合し、前記オリゴヌクレオチドプローブが配列番号10の61位のシトシン(C)ヌクレオチドを含む配列番号10に安定的に結合しない場合、前記オリゴヌクレオチドプローブの結合が特異的であるとする、

請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記オリゴヌクレオチドプローブが、

第11染色体上の塩基対1,663,671にアデニンヌクレオチドを含むWilliams82ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチと特異的にハイブリダイズ可能である、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記オリゴヌクレオチドプローブが配列番号4のヌクレオチド配列を含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

第11染色体上の塩基対1,674,511にチミンヌクレオチドを含むWilliams82ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチまたは、

第11染色体上の塩基対1,663,671にアデニンヌクレオチドを含むWilliams82ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチ

と特異的にハイブリダイズ可能である、オリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項19】

第11染色体上の塩基対1,663,671にアデニンヌクレオチドを含むWilliams82ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチと特異的にハイブリダイズ可能である、請求項18に記載のオリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項20】

ダイズ品種におけるSCN耐性の決定因子を移動させるための方法であって、

(a) 請求項18に記載のオリゴヌクレオチドプローブで、ドナーの遺伝子型を有する第1の植物のゲノムDNAおよびレシピエントの遺伝子型を有する第2の植物のDNAを分析するステップであって、前記第1の植物のゲノムDNAが、前記プローブと安定的かつ特異的に結合するステップ、

(b) 2つの親植物遺伝子型を有性交配して子孫集団を得るステップと、

(c) 子孫集団の個体から単離したゲノムDNAを前記プローブと安定的かつ特異的に結合するか分析するステップと、

(d) 前記プローブと安定的かつ特異的に結合するゲノムDNAを含む子孫集団由来の個体をレシピエントの遺伝子型と戻し交配させて、次世代集団を生成するステップと、

(e) 次世代集団のメンバーが、前記プローブと安定的かつ特異的に結合するゲノムDNAおよびレシピエントの遺伝子型由来の望ましい形質を含むかどうか決定するステップと、

(f) 次世代集団のメンバーが、前記プローブと安定的かつ特異的に結合するゲノムDNAおよびレシピエントの遺伝子型由来の望ましい形質を含まない場合、前記プローブと安定的かつ特異的に結合するゲノムDNAおよびレシピエントの遺伝子型由来の望ましい形質を含む個体が同定されるまでステップ(d)および(e)を繰り返すステップを含む方法。

【請求項21】

前記各交配および戻し交配ステップにおいて得られる個々の子孫から単離されたゲノム

DNA が、前記プローブに安定的かつ特異的に結合するか分析される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記プローブが、第 11 染色体上の塩基対 1, 663, 671 にアデニンヌクレオチドを含む Williams 82 ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチと特異的にハイブリダイズ可能である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 23】

前記オリゴヌクレオチドプローブと安定的かつ特異的に結合するゲノム DNA のセグメントを前記同定された植物から単離するステップと、

宿主生物中にゲノム DNA の単離セグメントを導入するステップと、および、

前記オリゴヌクレオチドプローブで宿主生物のゲノム DNA を分析して、宿主生物中のダイズ品種における SCN 耐性の決定因子を同定するステップとをさらに含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 24】

DNA の単離セグメントを宿主生物のゲノムに安定的に組み込む、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

宿主生物がマメ科植物である、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

宿主生物がダイズ、緑英インゲン、サヤインゲン、ドライビーンズ、赤インゲン豆、ライマメ、リョクトウ、ツルナシインゲンマメ、アズキマメ、サヤエンドウ、およびササゲからなる群から選択される、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

ダイズ植物に SCN 耐性を導入するための方法であって、ダイズ品種 98860-71 における SCN 耐性表現型と連鎖したマーカーを SCN 感受性ダイズ植物中に導入するステップを含み、前記マーカーが配列番号 10 およびこれらと連鎖したマーカーからなる群から選択される方法。

【請求項 28】

ダイズ品種 98860-71 における SCN 耐性表現型と連鎖したマーカーが配列番号 10 である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

第 18 染色体上の塩基対 1, 674, 511 を含む Williams 82 ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチと特異的にハイブリダイズ可能である核酸プローブ。

【請求項 30】

第 18 染色体上の塩基対 1, 663, 671 を含む Williams 82 ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチと特異的にハイブリダイズ可能である核酸プローブ。

【請求項 31】

第 18 染色体上の塩基対 1, 714, 741 を含む Williams 82 ダイズゲノム中の連続ヌクレオチドのストレッチと特異的にハイブリダイズ可能である核酸プローブ。