

【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10月5日(2017.10.5)

【公開番号】特開2017-143833(P2017-143833A)

【公開日】平成29年8月24日(2017.8.24)

【年通号数】公開・登録公報2017-032

【出願番号】特願2017-49075(P2017-49075)

【国際特許分類】

A 01 H 5/00 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

A 01 H 5/00 Z N A A

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年8月15日(2017.8.15)

【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】

M W M V 及び Z Y M V に対する耐性を方向づける少なくとも2種の劣性遺伝的決定因子を含む、栽培されたペポカボチャ (Cucurbita pepo) 植物であって、前記少なくとも2種の劣性遺伝的決定因子が、以下、

a) 前記遺伝的決定因子マーカ遺伝子座位Z N であって、前記 Z Y M V に対する耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号1の順方向プライマーおよび配列番号2の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号7および/または配列番号8による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーカ遺伝子座位Z N 、および/または

b) 前記遺伝的決定因子マーカ遺伝子座W 1 および/またはW 2 であって、M W M V 耐性形質を伴って同時に分離し、かつ、それぞれ、オリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号3の順方向プライマーおよび配列番号4の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号9および/または配列番号10による検出において、および/または配列番号5の順方向プライマーおよび配列番号6の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号11および/または配列番号12による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーカ遺伝子座W 1 および/またはW 2 、ならびに/もしくは

c) 前記遺伝的決定因子マーカ遺伝子座位N i + であって、前記 Z Y M V に対する耐性形質を伴って同時に分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号13の順方向プライマーおよび配列番号14の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号15および/または配列番号16による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーカ遺伝子座位N i + 、

を含むリストから選択され、

前記少なくとも2種の遺伝的決定因子が、ペポカボチャ (C. pepo cv. 268 N i W ) (その代表種子は受入番号NCIMB 41727として、NCIMBに寄託されている) のゲノムから得られることを特徴とするペポカボチャ植物。

【請求項2】

M W M V 及び Z Y M V に対する耐性を方向づける 4 種の遺伝的決定因子を含む、請求項 1 に記載の植物。

【請求項 3】

前記遺伝的決定因子が、相互に独立に分離する、請求項 1 または 2 に記載の植物。

【請求項 4】

カボチャ植物である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の植物。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の植物から得られ得る植物材料であって、葉、茎、根、花もしくは花部、果実、花粉、卵細胞、接合体、種子、挿し木、細胞もしくは組織培養物、または特に植物に育成された場合に依然としてポティウイルス耐性表現型を示す前記植物のその他の部分または生成物を含み、それらに限定されないことを特徴とする植物材料。

【請求項 6】

Z Y M V および M W M V 耐性カボチャ植物を育成できることを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のカボチャ植物の種子。

【請求項 7】

Z Y M V および M W M V 耐性カボチャ植物を育成するための請求項 6 に記載の種子の使用。

【請求項 8】

Z Y M V および M W M V に対する耐性を方向づける少なくとも 2 種の劣性遺伝的決定因子を含むカボチャ植物の種子を得る方法であって、

a ) M W M V および Z Y M V に対する耐性を方向づける前記遺伝的決定因子を含む第 1 のカボチャ植物を得る工程、

b ) 前記第 1 のカボチャ植物と第 2 のカボチャ植物とを交雑する工程であって、前記第 2 のカボチャ植物が、前記遺伝的決定因子を欠いている工程、

c ) M W M V および Z Y M V に対する高い耐性を示し、かつ前記 M W M V および Z Y M V 耐性を伴って同時分離する少なくとも 1 種の D N A マーカを含む、交雑に由来する植物を同定する工程、および

d ) 前記 M W M V および Z Y M V 耐性を伴って同時分離する少なくとも 1 種の D N A マーカを含む子孫種子を前記交雑から収穫する工程、

を含み、

前記遺伝的決定因子が、以下、

i ) 前記遺伝的決定因子マーカ遺伝子座位 Z N であって、前記 Z Y M V に対する耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号 1 の順方向プライマーおよび配列番号 2 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 7 および / または配列番号 8 による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーカ遺伝子座位 Z N 、および / または

ii ) 前記遺伝的決定因子マーカ遺伝子座 W 1 および / または W 2 であって、M W M V 耐性形質を伴って同時分離し、かつ、それぞれ、オリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号 3 の順方向プライマーおよび配列番号 4 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 9 および / または配列番号 10 による検出において、および / または配列番号 5 の順方向プライマーおよび配列番号 6 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 11 および / または配列番号 12 による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーカ遺伝子座 W 1 および / または W 2 、ならびに / もしくは

iii ) 前記遺伝的決定因子マーカ遺伝子座位 N i + であって、前記 Z Y M V に対する耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号 13 の順方向プライマーおよび配列番号 14 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 15 および / または配列番号 16 による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーカ遺伝子座位 N i + 、

を含むリストから選択されることを特徴とする方法。

**【請求項 9】**

M W M V および Z Y M V に対する耐性を示すカボチャ植物の生産方法であって、

a ) M W M V および Z Y M V に対する耐性を方向づける少なくとも 2 種の劣性遺伝的決定因子を含むカボチャ植物を選抜する工程であって、前記遺伝的決定因子が、ペポカボチャ ( C . p e p o c v . 2 6 8 N i W ) ( その代表種子は受入番号 N C I M B 4 1 7 2 7 として、N C I M B に寄託されている ) のゲノムから入手され、

前記遺伝的決定因子が、以下、

i ) 前記遺伝的決定因子マーク遺伝子座位 Z N であって、前記 Z Y M V に対する耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号 1 の順方向プライマーおよび配列番号 2 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 7 および / または配列番号 8 による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーク遺伝子座位 Z N 、および / または

ii ) 前記遺伝的決定因子マーク遺伝子座 W 1 および / または W 2 であって、M W M V 耐性形質を伴って同時に分離し、かつ、それぞれ、オリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号 3 の順方向プライマーおよび配列番号 4 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 9 および / または配列番号 10 による検出において、および / または配列番号 5 の順方向プライマーおよび配列番号 6 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 11 および / または配列番号 12 による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーク遺伝子座 W 1 および / または W 2 、ならびに / もしくは

iii ) 前記遺伝的決定因子マーク遺伝子座位 N i + であって、前記 Z Y M V に対する耐性形質を伴って同時に分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号 13 の順方向プライマーおよび配列番号 14 の逆方向プライマー、による D N A 断片の増幅による P C R 、続いて、配列番号 15 および / または配列番号 16 による検出において、前記植物の前記ゲノム中に同定可能であるマーク遺伝子座位 N i + 、

を含むリストから選択される工程、

b ) 工程 a ) の前記植物と、M W M V および Z Y M V に対して感受性であるか、または、M W M V および Z Y M V に対して中レベルの耐性を示すカボチャ植物とを交雑させる工程；ならびに

c ) M W M V および Z Y M V に対する耐性表現型を示す子孫を前記交雑から選抜する工程であって、前記耐性表現型は、工程 a ) の前記 1 種のマーク遺伝子座を伴って分離する工程、

を含むことを特徴とする方法。

**【請求項 10】**

M W M V および Z Y M V に対して耐性であるカボチャのハイブリッド種子を產生する方法であって、

a . 雄性不稔性雌植物および雄性稔性植物を植える工程であって、前記雄性不稔性雌植物または雄性稔性植物の一方が請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の植物である工程、

b . 両方の系統間で他家受粉させる工程、

c . 前記植物を実どまりするまで育成する工程、

d . 前記果実を採取する工程、および

e . 前記ハイブリッド種子を得る工程、

を含むことを特徴とする方法。

**【請求項 11】**

M W M V および Z Y M V 耐性カボチャ植物を得る方法であって、

a . 請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の植物と他の植物との交雑に由来する生育不能な種間胚芽を提供する工程、

b . 前記胚芽を救出する工程、

c . 工程 b ) の前記胚芽から植物を再生する工程、および

d) MWMV および ZYMV に対して耐性である工程 c) の植物を選抜する工程、を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 2】

MWMV および ZYMV に対する耐性を方向づける劣性遺伝的決定因子であって、前記遺伝的決定因子が、ペポカボチャ (C. pepo cv. 268 NiW) (その代表種子は受入番号NCIMB 41727でNCIMBに寄託されている)の前記ゲノムから入手され、

a) 前記遺伝的決定因子が、ペポカボチャ (C. pepo cv. 268 NiW) (その代表種子は受入番号NCIMB 41727でNCIMBに寄託されている)に存在する対応する遺伝的決定因子に対して相補性であり、前記対応する遺伝的決定因子が、マーカ遺伝子座位ZN であって、前記ZYMV に対する耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号1の順方向プライマーおよび配列番号2の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号7および/または配列番号8による検出において、同定可能であり、および/または

b) 前記遺伝的決定因子が、ペポカボチャ (C. pepo cv. 268 NiW) (その代表種子は受入番号NCIMB 41727でNCIMBに寄託されている)に存在する対応する遺伝的決定因子に対して相補性であり、前記対応する遺伝的決定因子が、マーカ遺伝子座W2 であって、MWMV 耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号5の順方向プライマーおよび配列番号6の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号11および/または配列番号12による検出において、同定可能であり、ならびに/または

c) 前記遺伝的決定因子が、ペポカボチャ (C. pepo cv. 268 NiW) (その代表種子は受入番号NCIMB 41727でNCIMBに寄託されている)に存在する対応する遺伝的決定因子に対して相補性であり、前記対応する遺伝的決定因子が、マーカ遺伝子座位Ni+ であって、前記ZYMV に対する耐性形質を伴って同時分離し、かつオリゴヌクレオチドプライマー対、配列番号13の順方向プライマーおよび配列番号14の逆方向プライマー、によるDNA断片の増幅によるPCR、続いて、配列番号15および/または配列番号16による検出において、同定可能である、  
ことを特徴とする劣性遺伝的決定因子。

【請求項 1 3】

MWMV および ZYMV に対する耐性を方向づける少なくとも 2 種の劣性遺伝的決定因子を含むカボチャ植物の同定方法であって、前記遺伝的決定因子が、ペポカボチャ (C. pepo cv. 268 NiW) (その代表種子は受入番号NCIMB 41727でNCIMBに寄託されている)のゲノムから入手され、前記MWMV および ZYMV 耐性表現型の少なくとも 1 種を伴って同時分離し、かつ、以下、

i) もしマーカ遺伝子座位が、ZN である場合には、配列番号7および/または配列番号8による検出を伴う、配列番号1の順方向プライマーおよび配列番号2の逆方向プライマー、および/または

ii) もしマーカ遺伝子座位が、W1 である場合には、配列番号9および/または配列番号10による検出を伴う、配列番号3の順方向プライマーおよび配列番号4の逆方向プライマー、および/または

iii) マーカ遺伝子座が、W2 である場合には、配列番号11および/または配列番号12による検出を伴う、配列番号5の順方向プライマーおよび配列番号6の逆方向プライマー、および/または

iv) マーカ遺伝子座がNi+ である場合には、配列番号15および/または配列番号16による検出を伴う、配列番号13の順方向プライマーおよび配列番号14の逆方向プライマー、

を含む少なくとも 1 対の PCR オリゴヌクレオチドプライマーによって PCRにおいて同定できることを特徴とする方法。

【請求項 1 4】

MWMV および ZYMV に対し耐性であるカボチャ果実を得る方法であって、

a ) 請求項 6 に記載の植物の種子を播種する工程、および

b ) 前記植物を育種して、果実を生産し、かつ前記植物によって生産された前記果実を  
収穫する工程、

を含むことを特徴とする方法。