

【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23年6月30日 (2011.6.30)

【公表番号】特表2003-514585(P2003-514585A)
 【公表日】平成15年4月22日 (2003.4.22)
 【出願番号】特願2001-540262(P2001-540262)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 H 1/00 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 H 1/00 A

A 0 1 K 67/027

【誤訳訂正書】
 【提出日】平成23年5月6日 (2011.5.6)
 【誤訳訂正 1】
 【訂正対象書類名】明細書
 【訂正対象項目名】特許請求の範囲
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【特許請求の範囲】
 【請求項 1】

植物においてターゲットヌクレオチド配列からの増強された発現を達成する方法であって、前記植物に、転写後遺伝子サイレンシング (P T G S) サプレッサータンパクと共に、プロモーターに機能的に結合したターゲットヌクレオチド配列を含むターゲット核酸構築物を、一過的発現のために導入する工程を含み、前記構築物は伝染性でないか又は可動性であり、前記サプレッサータンパクが前記植物中の前記構築物からの発現を増強する、方法。

【請求項 2】
 構築物が複製の起点を含まない、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】
 サプレッサータンパクがウイルス由来のものである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】
 ターゲット構築物が、(a) 所望のヌクレオチド配列を植物細胞ゲノムに転移させる境界配列；(b) プロモーターに機能的に結合したターゲットヌクレオチド配列を含む発現カセットを含む所望のヌクレオチド配列を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】
 サプレッサータンパクが、そのサプレッサータンパクをコードするヌクレオチド配列を含む核酸から発現されることによって細胞に導入される、請求項 1 ないし 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】
 ターゲットヌクレオチド配列を含む第一 (ターゲット) 核酸が、サプレッサータンパクをコードする第二 (サプレッサー) 核酸と共に用いられる、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】
 植物の組織に、ターゲットヌクレオチド配列を含む第一核酸と P T G S サプレッサータンパクをコードする第二核酸とを導入する工程を含み、前記第一および第二核酸が、単一のバイナリーベクター構築物内に含まれるか、あるいは、前記第一および第二核酸配列が

、それぞれ第一バイナリーベクターおよび第二バイナリーベクター構築物内に含まれる、植物においてターゲットヌクレオチド配列の増強された発現を達成するための、請求項6記載の方法。

【請求項 8】

以下の工程：

(i) 植物の組織に、一過的発現のための、ターゲットヌクレオチド配列を含む第一核酸および異種 P T G S サプレッサータンパクをコードする第二核酸を導入する工程であって、いずれもプロモーターに機能的に結合されており、
それぞれの核酸が、植物に共導入される別個のバイナリーベクター構築物中に存在するか、又は核酸が、単一のバイナリーベクター構築物中に存在する、工程、

(ii) 一定の期間にわたって、サプレッサーおよびターゲットタンパクを核酸から発現させる工程であって、ここで前記サプレッサーがターゲットタンパクをコードする mRNA の分解を阻害する工程、

(iii) 少なくとも、ターゲットタンパクが発現された組織を回収する工程を含む、ターゲットタンパクを生成する方法。

【請求項 9】

第一核酸が、二以上のターゲットヌクレオチド配列を含む、請求項6ないし8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

第二核酸配列が、二以上の異なるサプレッサーをコードする、請求項6ないし9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

以下の工程：

(i) 植物の組織に、一過的発現のための、それぞれ少なくとも一つのターゲットヌクレオチド配列を含む二以上のターゲット核酸、および異種 P T G S サプレッサータンパクをコードするさらなる核酸を導入する工程であって、いずれもプロモーターに機能的に結合されており、
それぞれの核酸が、植物に共導入される別個のバイナリーベクター構築物中に存在するか、又は核酸が、単一のバイナリーベクター構築物中に存在する、工程、

(ii) サプレッサーおよび第一ターゲットタンパクを核酸から発現させる工程、

(iii) 次いで、一定の期間、さらなるターゲットタンパクを、ゲノムに組み込んでいない

さらなるターゲット核酸から発現させる工程、

(iv) 少なくとも、最終的なターゲットタンパクが発現された組織を回収する工程を含む、所定の順序で生物に二以上のターゲットタンパクを生成する方法。

【請求項 12】

二以上のターゲットタンパクが、代謝または異化経路の全てまたは一部を構成する、あるいは少なくとも一つのターゲットタンパクが、さらなるターゲットタンパクの基質である、請求項 11記載の方法。

【請求項 13】

前記一定の期間が、3 から 15 日、さらに好ましくは 3 から 10 日、さらに好ましくは 4 から 7 日の間である、請求項8、11または12記載の方法。

【請求項 14】

植物組織が、一枚の葉または数枚の葉である、請求項8ないし13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

サプレッサータンパクが、ポテトウイルス X (pvx) p 25 タンパク；アフリカキャッサバモザイクウイルス (acmv) A C 2 タンパク；イネ黄斑ウイルス (rymv) P 1 タンパク；トマトブッシュ発育阻害ウイルス (tbsv) 19 K タンパク；r g s C A M、またはこれらと少なくとも 95 % の配列同一性を有するこれらのいずれか一つのバリエーションからなるリストから選択される、請求項 1 ないし14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

ポテトウイルス X (pvx) p 2 5 タンパク ; アフリカキャッサバモザイクウイルス (acmv) A C 2 タンパク ; イネ黄斑ウイルス (rymv) P 1 タンパク ; トマトブッシー発育阻害ウイルス (tbsv) 1 9 K タンパク ; またはこれらと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するこれらのいずれか一つのバリエーションからなるリストから選択される単離されたサプレッサータンパクを、植物細胞に導入する工程を含む、P T G S を受けるターゲット遺伝子の植物細胞における発現を増強する方法。

【請求項 17】

ターゲット遺伝子が、細胞ゲノムに存在する内因性遺伝子またはトランスジーン ; 裸の D N A として存在する異種遺伝子 ; 発現ベクターに存在する異種遺伝子から選択される、請求項 1 6 記載の方法。

【請求項 18】

ターゲット遺伝子が、細胞ゲノムに存在する内因性遺伝子またはトランスジーンであり、サプレッサータンパクが p v x p 2 5 またはそれと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するバリエーションである、請求項 1 7 記載の方法。

【請求項 19】

ターゲット遺伝子が、細胞質で複製する構築物またはウイルスベクターである発現ベクターに存在する異種遺伝子であり、かつ、サプレッサータンパクが、acmv A C 2 ; rymv P 1 ; tbsv 1 9 K またはこれらと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するこれらのいずれか一つのバリエーションから選択される、請求項 1 7 記載の方法。

【請求項 20】

ターゲット遺伝子が葉脈において発現され、サプレッサータンパクが T B S V 1 9 K またはそれと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するバリエーションである、請求項 1 7 記載の方法。

【請求項 21】

単離されたサプレッサータンパクが、当該サプレッサータンパクをコードするヌクレオチド配列を含む核酸からの発現により細胞内に導入される、請求項 1 6 ないし 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

サプレッサータンパクが、細胞のゲノムに安定に取り込まれたトランスジーンからの発現により細胞内に導入される、請求項 5 または 2 1 に記載の方法。

【請求項 23】

サプレッサータンパクが、当該サプレッサータンパクをコードするヌクレオチド配列を含むサプレッサー核酸構築物として、細胞またはその先祖に導入され、前記構築物は、前記サプレッサータンパクが誘導されたウイルスに由来するさらなるタンパクをコードせず、かつ、前記細胞は、前記構築物と植物細胞ゲノムとの間の組み換えを引き起こしまたは可能にして、本発明にかかる核酸をゲノムに導入することにより、前記構築物でトランスフォームされる植物細胞である、請求項 2 2 記載の方法。

【請求項 24】

トランスフォームされた植物細胞から植物を再生する工程をさらに含む、請求項 2 3 記載の方法。

【請求項 25】

サプレッサータンパクを、当該サプレッサータンパクをコードするサプレッサーヌクレオチド配列を含むサプレッサー核酸構築物として細胞内に導入し、かつ、ここで前記構築物が、R N A 分子の植物細胞における転写のために、サプレッサーヌクレオチド配列を含む (i i) D N A に機能的に結合した (i) プロモーターを含み、さらに転写後に細胞の細胞質において複製できる能力を前記 R N A 分子に付与する植物ウイルス配列を含む、請求項 2 2 記載の方法。

【請求項 26】

プロモーターが誘導性プロモーターである、請求項 1 ないし 2 5 のいずれか一項に記載

の方法。

【請求項 27】

発現が、少なくとも 25 - 50 %、50 - 100 %、5、10、15 または 20 倍以上増強される、請求項 1 ないし 7 または 15 ないし 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

ターゲット遺伝子またはヌクレオチド配列が、昆虫耐性タンパク；疾患耐性タンパク；除草剤耐性タンパク；哺乳動物タンパクであるターゲットタンパクをコードする、請求項 1 ないし 25 のいずれか一項に記載の方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0027

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0027】

“ベクター(vector)”は、とりわけ、あらゆるプラスミド、コスミド、ファージ、ウイルスまたはアグロバクテリウムバイナリーベクターを含むと定義され、これは、二本鎖または一本鎖の線形または環状形態であり、伝染性または可動性であってもなくてもよく、細胞ゲノムへの組み込みまたは染色体外に存在することにより原核性または真核性宿主をトランスフォームすることができるものである（例えば、複製起点を有する自己複製プラスミド）。特に含まれるものは、シャトルベクターであり、これは、自然にまたは計画的に、放線菌および関連種、細菌および真核生物（例えば、高等植物、哺乳動物、酵母または真菌細胞）から選択される、二つの異なる宿主生物で複製可能な DNA ビークルを意味する。本発明に係るベクターは、特に、そのベクターが、ゲノムへの組み込みのために細胞に核酸を導入するために用いられる場合、プロモーターまたは他の調節配列を含む必要はない。