

【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 1 年 5 月 9 日 (2019.5.9)

【公表番号】特表 2018-518948 (P2018-518948A)

【公表日】平成 30 年 7 月 19 日 (2018.7.19)

【年通号数】公開・登録公報 2018-027

【出願番号】特願 2017-557972 (P2017-557972)

【国際特許分類】

A 0 1 H 5/00 (2018.01)

A 0 1 H 6/34 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6858 (2018.01)

【F I】

A 0 1 H 5/00 Z N A A

A 0 1 H 6/34

C 1 2 Q 1/6876 Z

C 1 2 Q 1/6858 Z

【手続補正書】

【提出日】平成 31 年 3 月 27 日 (2019.3.27)

【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】

キュウリの近縁野生種に由来する遺伝子移入断片を 3 番染色体上にホモ接合型またはヘテロ接合型で含んでなる栽培 *Cucumis sativus* var. *sativus* 植物であって、前記遺伝子移入断片が、配列番号 1 の 75 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 1 と配列番号 27 の 75 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 27 との間に位置する量的形質遺伝子座 (Q T L) を含んでなり、該 Q T L がキュウリ果実収量の増加をもたらすものであり、該 Q T L が受託番号 N C I M B 4 2 3 4 6 で寄託された種子に存在する Q T L である、植物。

【請求項 2】

前記キュウリ果実収量の増加が、同一環境下で生育させた場合における、前記遺伝子移入断片を欠く遺伝的対照系列と比較して、前記遺伝子移入断片を含んでなる植物系統の有意に高い植物あたりの着果数 (F r P P) の平均、および / または同一環境下で生育させた場合における、前記遺伝子移入断片を欠く遺伝的対照系列と比較して、前記遺伝子移入断片を含んでなる植物系統の有意に高い植物あたりの果実重量 (G r P P) の平均として表現型的に表わされる、請求項 1 に記載の植物。

【請求項 3】

前記 3 番染色体上の遺伝子移入断片が、

a) 配列番号 1 の 75 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 1 の T C または T T 遺伝子型 ;

b) 配列番号 2 の 75 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 2 の T C または T T 遺伝子型 ;

c) 配列番号 3 の 75 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 3 の T C または T T 遺伝子型 ;

- d) 配列番号 4 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 4 の T C または T T 遺伝子型 ;
- e) 配列番号 5 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 5 の G A または G G 遺伝子型 ;
- f) 配列番号 6 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 6 の T C または T T 遺伝子型 ;
- g) 配列番号 7 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 7 の T C または T T 遺伝子型 ;
- h) 配列番号 8 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 8 の T C または T T 遺伝子型 ;
- i) 配列番号 9 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 9 の C T または C C 遺伝子型 ;
- j) 配列番号 1 0 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 0 の C T または C C 遺伝子型 ;
- k) 配列番号 1 1 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 1 の T G または T T 遺伝子型 ;
- l) 配列番号 1 2 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 2 の A G または A A 遺伝子型 ;
- m) 配列番号 1 3 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 3 の T C または T T 遺伝子型 ;
- n) 配列番号 1 4 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 4 の A G または A A 遺伝子型 ;
- o) 配列番号 1 5 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 5 の C T または C C 遺伝子型 ;
- p) 配列番号 1 6 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 6 の C T または C C 遺伝子型 ;
- q) 配列番号 1 7 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 7 の G A または G G 遺伝子型 ;
- r) 配列番号 1 8 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 8 の C T または C C 遺伝子型 ;
- s) 配列番号 1 9 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 9 の G A または G G 遺伝子型 ;
- t) 配列番号 2 0 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 0 の C T または C C 遺伝子型 ;
- u) 配列番号 2 1 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 1 の A C または A A 遺伝子型 ;
- v) 配列番号 2 2 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 2 の T C または T T 遺伝子型 ;
- w) 配列番号 2 3 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 3 の C T または T T 遺伝子型 ;
- x) 配列番号 2 4 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 4 の G A または G G 遺伝子型 ;
- y) 配列番号 2 5 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 5 の G A または G G 遺伝子型 ;
- z) 配列番号 2 6 の 2 5 1 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 6 の G A または G G 遺伝子型 ;
- a a) 配列番号 2 7 の 7 5 番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 7 の A G または A A 遺伝子型 ; および随意に
- b b) マーカー S N P \_\_ 0 1 と S N P \_\_ 2 7 との間の全てのキュウリ近縁野生種ゲノム特異的マーカー

からなる群より選択される少なくとも1個の、好ましくは、少なくとも2個または3個のマーカ-を検出する分子マーカ-アッセイによって検出可能である、請求項1または2に記載の植物。

【請求項4】

前記QTLを含んでなり、下記a)、b)、c)、またはd)：

a) 配列番号1の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_01のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号2の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_02のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号3の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_03のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号4の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_04のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号5の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_05のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号6の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_06のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号7の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_07のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号8の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_08のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号9の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_09のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号10の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_10のCTもしくはCC遺伝子型；または

b) 配列番号10の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_10のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号11の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_11のTGもしくはTT遺伝子型；配列番号12の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_12のAGもしくはAA遺伝子型；配列番号13の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_13のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号14の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_14のAGもしくはAA遺伝子型；配列番号15の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_15のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号16の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_16のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号17の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_17のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号18の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_18のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号19の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_19のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号20の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_20のCTもしくはCC遺伝子型；または

c) 配列番号20の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_20のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号21の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_21のACもしくはAA遺伝子型；配列番号22の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_22のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号23の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_23のCTもしくはTT遺伝子型；配列番号24の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_24のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号25の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_25のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号26の251番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_26のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号27の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_27のAGもしくはAA遺伝子型；または

d) 配列番号6の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_06のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号7の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_07のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号8の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_08のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号9の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_09のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号10の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカ-SNP\_\_

10のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号11の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_11のTGもしくはTT遺伝子型；配列番号12の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_12のAGもしくはAA遺伝子型；配列番号13の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_13のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号14の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_14のAGもしくはAA遺伝子型；配列番号15の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_15のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号16の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_16のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号17の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_17のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号18の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_18のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号19の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_19のGAもしくはGG遺伝子型；配列番号20の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_20のCTもしくはCC遺伝子型；配列番号21の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_21のACもしくはAA遺伝子型；配列番号22の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_22のTCもしくはTT遺伝子型；配列番号23の75番目のヌクレオチドにおける一塩基多型マーカーSNP\_\_23のCTもしくはTT遺伝子型、の群の1つから選択される少なくとも1個、2個、3個、4個、または5個のマーカーを含んでなる、請求項1～3のいずれか一項に記載の植物。

【請求項5】

前記遺伝子移入断片がヘテロ接合型で存在し、前記1つ以上のSNPマーカーがヘテロ接合性SNP遺伝子型を有する、請求項1～4のいずれか一項に記載の植物。

【請求項6】

前記遺伝子移入断片がホモ接合型で存在し、前記1つ以上のSNPマーカーがホモ接合性SNP遺伝子型を有する、請求項1～4のいずれか一項に記載の植物。

【請求項7】

前記植物が、次の型のキュウリ：スライスキュウリ、長形キュウリ、およびヨーロッパ温室キュウリの1つである、請求項1～6のいずれか一項に記載の植物。

【請求項8】

前記植物が単交雑F1雑種または近交系統である、請求項1～7のいずれか一項に記載の植物。

【請求項9】

前記植物がユーラシアキュウリ群の栽培キュウリであり、前記遺伝子移入断片が、*Cucumis sativus* var. *hardwickii*、*C. sativus* var. *sikkimensis*、または*Cucumis sativus* var. *xishuangbannesi*に由来するものである、請求項1～8のいずれか一項に記載の植物。

【請求項10】

前記植物が単為結実性である、請求項1～9のいずれか一項に記載の植物。

【請求項11】

3番染色体上の前記遺伝子移入断片が、受託番号NCIMB42346で寄託された種子から生育させた植物を別のキュウリ植物と交配することによって得られるものである、請求項1～10のいずれか一項に記載の植物。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか一項に記載の植物が生育することができる、種子。

【請求項13】

請求項1～11のいずれか一項に記載の植物から収穫される、キュウリ果実。

【請求項14】

少なくとも1つの組換え3番染色体を含んでなり、該組換え3番染色体がキュウリの近縁野生種に由来する遺伝子移入断片を含んでなり、該遺伝子移入断片が増強された果実収量をもたらすQTLを含んでなる、請求項1～13のいずれか一項に記載の植物または種

子の植物細胞培養物または組織培養物。

【請求項 15】

3 番染色体上に遺伝子移入断片を含んでなる栽培 *C. sativus* var. *sativus* 植物を同定する方法であって、該遺伝子移入断片が NCIMB 42346 に見られるものであるか、またはそれに由来するより小さい断片であり、

a) 栽培 *C. sativus* var. *sativus* 植物の集団を用意すること；

b) 前記集団を

前記 3 番染色体上の遺伝子移入断片を検出するための SNP\_\_01 ~ SNP\_\_27 からなる群より選択される少なくとも 1 つの SNP マーカーを検出する分子マーカーアッセイを用いてスクリーニングすること；

c) 下記：

i) 前記 3 番染色体上の遺伝子移入断片を検出するための前記 SNP\_\_01 ~ SNP\_\_27 の SNP マーカーのうちの少なくとも 1 個；または

ii) 前記 3 番染色体上の遺伝子移入断片を検出するための SNP\_\_01 ~ SNP\_\_27 から選択される少なくとも 2 個、3 個、もしくは 4 個の連続したマーカーを含んでなる植物を同定および / または選択することを含んでなる、方法。

【請求項 16】

栽培キュウリ植物が、3 番染色体上に、果実収量の増加をもたらす QTL を含んでなる遺伝子移入断片を含んでなるか否かを検出する方法であって、

a) 栽培キュウリまたは植物部位を用意すること、

b) 前記植物もしくは前記植物部位または前記植物もしくは植物部位から得られる DNA を、SNP\_\_01 ~ SNP\_\_27 および / またはマーカー SNP\_\_01 と SNP\_\_27 との間の全てのキュウリ近縁野生種ゲノム特異的マーカーからなる群より選択される少なくとも 1 個の SNP マーカーを検出する分子マーカーアッセイを用いてスクリーニングすること

を含んでなる、方法。

【請求項 17】

3 番染色体上に収量 QTL を含んでなるキュウリの近縁野生種を同定する方法であって、

A) キュウリの近縁野生種系統または幾つかの系統を用意すること；

B) 前記系統を、SNP\_\_01 ~ SNP\_\_27 からなる群より選択される少なくとも 1 個の SNP マーカーを検出する分子マーカーアッセイを用いてスクリーニングすること；

C) 以下のマーカー：

a) 配列番号 1 または配列番号 1 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_01 の TC または TT 遺伝子型；

b) 配列番号 2 または配列番号 2 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_02 の TC または TT 遺伝子型；

c) 配列番号 3 または配列番号 3 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_03 の TC または TT 遺伝子型；

d) 配列番号 4 または配列番号 4 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_04 の TC または TT 遺伝子型；

e) 配列番号 5 または配列番号 5 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_05 の GA または GG 遺伝子型；

f) 配列番号 6 または配列番号 6 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_06 の TC または TT 遺伝子型；

g) 配列番号 7 または配列番号 7 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー SNP\_\_07 の TC または TT 遺伝子型；

h) 配列番号 8 または配列番号 8 と少なくとも 85 % の配列同一性を含んでなる

るそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 8 の T C または T T 遺伝子型；

i ) 配列番号 9 または配列番号 9 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 0 9 の C T または C C 遺伝子型；

j ) 配列番号 1 0 または配列番号 1 0 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 0 の C T または C C 遺伝子型；

k ) 配列番号 1 1 または配列番号 1 1 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 1 の T G または T T 遺伝子型；

l ) 配列番号 1 2 または配列番号 1 2 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 2 の A G または A A 遺伝子型；

m ) 配列番号 1 3 または配列番号 1 3 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 3 の T C または T T 遺伝子型；

n ) 配列番号 1 4 または配列番号 1 4 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 4 の A G または A A 遺伝子型；

o ) 配列番号 1 5 または配列番号 1 5 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 5 の C T または C C 遺伝子型；

p ) 配列番号 1 6 または配列番号 1 6 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 6 の C T または C C 遺伝子型；

q ) 配列番号 1 7 または配列番号 1 7 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 7 の G A または G G 遺伝子型；

r ) 配列番号 1 8 または配列番号 1 8 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 8 の C T または C C 遺伝子型；

s ) 配列番号 1 9 または配列番号 1 9 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 1 9 の G A または G G 遺伝子型；

t ) 配列番号 2 0 または配列番号 2 0 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 0 の C T または C C 遺伝子型；

u ) 配列番号 2 1 または配列番号 2 1 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 1 の A C または A A 遺伝子型；

v ) 配列番号 2 2 または配列番号 2 2 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 2 の T C または T T 遺伝子型；

w ) 配列番号 2 3 または配列番号 2 3 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 3 の C T または T T 遺伝子型；

x ) 配列番号 2 4 または配列番号 2 4 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 4 の G A または G G 遺伝子型；

y ) 配列番号 2 5 または配列番号 2 5 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 5 の G A または G G 遺伝子型；

z ) 配列番号 2 6 または配列番号 2 6 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 6 の G A または G G 遺伝子型；

a a ) 配列番号 2 7 または配列番号 2 7 と少なくとも 8 5 % の配列同一性を含んでなるそのバリエーションの一塩基多型マーカー S N P \_\_ 2 7 の A G または A A 遺伝子型；

b b ) マーカー S N P \_\_ 0 1 と S N P \_\_ 2 7 との間の全てのキュウリ近縁野生種ゲノム特異的マーカー

の少なくとも 1 個または複数を含んでなる b ) からの系統を同定および / または選択すること

を含んでなる、方法。