

## 意见陈述书正文

---

尊敬的国家知识产权局：

申请人收到了国家知识产权局对申请号为 2017108240007 发出的第三次审查意见通知书。申请人首先感谢审查员对完善本专利申请所作的辛勤劳动，申请人仔细阅读了审查意见通知书正文，按通知书的要求进行了修改，请人提出以下意见，希望和审查员商榷：

### 一、修改说明：

1、将权利要求 3 中的技术特征加入到权利要求 2 中，并将“所述的 SNP 分子标记位于藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因的外显子 4 的 T29468C 位点；用于检测上述的 SNP 分子标记的试剂对能用于鉴定藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因 SNP 位点的基因型，当过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因的外显子 4 的 T29468C 位点表现为 TC 基因型时，表明个体为藏鸡”加入到权利要求 2，形成新的权利要求 1。

2、删除权利要求 1 和 3，并相应的修改其他权利要求的编号和引用关系。

以上修改没有超出原权利要求书和说明书的范围。详见修改后的权利要求书。

### 二、关于修改后的权利要求 1 的创造性

修改后的权利要求 1 与对比文件 1 的区别在于：本发明保护的是用于检测 SNP 分子标记的试剂对在鉴定藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因 SNP 位点的基因型中的应用；藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因的 SNP 分子标记，位于藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因的外显子 4 的 T29468C 位点；用于检测上述的 SNP 分子标记的试剂对能用于鉴定藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因 SNP 位点的基因型，当过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因的外显子 4 的 T29468C 位点表现为 TC 基因型时，表明个体为藏鸡。

基于上述区别技术特征，本发明用于检测上述的 SNP 分子标记的试剂对能用于鉴定藏鸡过氧化物酶体增植物激活受体  $\alpha$  基因 SNP 位点的基因型，其筛查

和检测方法，通过设计特定的引物 PCR 扩增包含 SNP 位点的基因片段，然后进行 PCR 扩增再进行琼脂糖凝胶电泳鉴定，根据结果峰图能精确检测到其单核苷酸的多态性。本发明预测结果表明外显子 4 位点 N 突变后自由能减小，*PPARα* RNA 二级结构更稳定，保证基因功能稳定性。在藏鸡群体中 C 等位基因占优势，因此我们推测 *PPARα* 外显子 4 位点 N 的突变将有利于藏鸡对高海拔环境的适应。

对比文件 1 中还公开了平原鸡的基因组序列，本申请与其的区别在于 29468 位的碱基为 C 碱基，本申请与对比文件 1 相比，技术方案完全不同。

审查员认为比文件 3 中的藏鸡群体中 *PPARα* 基因的第 29468 位点的 C 碱基和 T 碱基的总比值为 24:7，进而认为 *PPARα* 基因的第 29468 位上 C 碱基为优势碱基，首先数量多并不代表是优势碱基，更不能得出其“外显子 4 位点 N 突变后自由能减小，*PPARα* RNA 二级结构更稳定，保证基因功能稳定性”，敬请审查员给出得出此结论的依据。因此，对比文件 1 和 3 相结合对本申请不构成技术启示。

对比文件 2 公开了过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  基因在藏鸡脂代谢中具有重要作用，但是本申请相对于对比文件 2 具有“外显子 4 位点 N 突变后自由能减小，*PPARα* RNA 二级结构更稳定，保证基因功能稳定性”的技术效果，因此，对比文件 1-3 相结合也没有公开本申请的技术效果和方案，对本申请不构成技术启示，本申请文件公开的技术方案具有突出的实质性特点和显著的进步，因而具有创造性。

审查意见里指出：对比文件 3 已经客观的公开了藏鸡群体中 *PPARα* 基因的第 29468 位点的 SNP 类型为 T29468C，至于 TC 型是否为藏鸡特有不能仅以藏鸡群体和四川平原鸡以及 1 个海南平原鸡群体比较结果获得，本申请所选择平原鸡群体仅局限于四川地区以及海南地区，代表性不足。且无其它地区的高原鸡种群，因此无法确认 TC 型是否为藏鸡特有。

申请人并不这样认为，申请人认为：我们对藏鸡以及平原鸡的样品采集具

有足够的丰富性和代表性，这点是其他的对比文件均不具备的。从下表我们可以看出，我们的采样规则是按照海拔来进行的，平原鸡的采样海拔从低到高，从海拔 10 米到海拔 1800 米，具有明显的平原鸡代表性。同时藏鸡的采样海拔也是由高原的海拔 2700 米采样至 3900 米。对 *PPAR $\alpha$*  基因的 SNP 位点研究主要是针对其脂质代谢的功能性研究，对比的是藏鸡和平原鸡品种在垂直海拔上的基因型区别，而非水平区域内的不同品种间的比较。而从不同的海拔和品种上可以看出，我们的样品采集完全具备合理性和代表性。

	品种	采样地点	样本数量 (只)	海拔 (米)	经度 (E)	纬度 (N)
藏鸡	日喀则 (RKZ)	日喀则, 西藏	11	3900	89.6 °	28.92 °
	山南(SN)	山南, 西藏	24	3700	90.03 °	28.27 °
	拉萨 (LS)	拉萨, 西藏	28	3650	91.01 °	29.26 °
	甘孜 (GZ)	甘孜, 四川	7	3390	99.22 °	28.34 °
	阿坝州 (AB)	阿坝州, 四川	25	3300	102.33 °	31.27 °
	迪庆 (DQ)	迪庆, 云南	19	3280	99.53 °	28.08 °
	玉树(YS)	玉树, 青海	52	2700	96.6 °	33.2 °
平原鸡	峨眉黑鸡(EM)	峨眉, 四川	9	1800	103.41 °	29.49 °
	米易鸡 (MY)	攀枝花, 四川	21	1400	101.45 °	26.45 °
	石棉 草科鸡(SM)	雅安, 四川	27	1120	102.13 °	29.4 °
	旧院黑鸡(JY)	万源, 四川	15	900	108.21 °	31.84 °
	彭县黄鸡 (PX)	雅安, 四川	30	600	102.98 °	29.98 °
	沐川乌骨鸡 (MC)	沐川, 四川	16	540	103.9 °	29.02 °
	文昌鸡(WC)	文昌, 海南	20	10	110.87 °	19.72 °

同时，本申请人作为本领域的技术人员，在申请本专利前并不知晓其他地区的平原鸡群体与本申请的藏鸡群体的 TC 型相同，因此，本申请人无法通过证明现有技术中没有的理论，审查员在审查本申请时，其自身所知晓的背景技术应当会比本申请的现有技术更宽、更新，从某种意义上来讲，审查员并不能完全等同于本领域的技术人员，这就容易误导审查员以主观判断代替客观事实，犯“事后诸葛亮”的错误，如果审查员认为 TC 型不是藏鸡特有，还请审查员更

多的以事实证据为依据，更多的采用举证的方式来评价本申请的上述区别技术特征对创造性的贡献，而尽量避免主观臆断。

审查意见里指出：“外显子 4 位点 N 突变后自由能减小，RNA 二级结构更稳定，保证基因功能稳定性”仅仅是预测的功能，其并不能作为本领域技术人员鉴定 SNP 的唯一动因，也对 SNP 基因型无任何限制作用。

申请人并不这样认为，申请人认为：目前的藏鸡对高海拔环境的适应的研究是通过对鸡品种/系的 SNP 基因型进行了检测和基因频率分析而得到的，若 RNA 二级结构结果显示突变后的 *PPARα* 二级结构更加稳定，那么则证明这样更有利于藏鸡对高海拔环境的适应。如果审查员认为这个不能作为本领域技术人员鉴定 SNP 的唯一动因，也对 SNP 基因型无任何限制作用，那么作为在本领域做技术研究近 20 年的发明人还需要烦请审查员给出具体需要什么样的实验结果才能证明这一结果。

针对审查员所述的：对比文 3 关联文章第 766 页实验方法部分关于样品信息已详细说明样品取自 8 个鸡群体，包括 4 个高原群体，高原群体有 3 个来自西藏，分别为 T-LZ、T-LS、T-NC，对应对比文件 3 中的 SRR3145349、SRR3145348、SRR3145350，同时对比文件 3 关联文章第 766 页试验方法部分关于测序和组装部分说明每个样本中合并 10 个个体的 DNA 来构建 200bp 的测序文库。可见对比文件 3 公开的 3 个样本分别为群体样品，在群体样品中 C 碱基和 T 碱基的总比值为 24: 7，因此藏鸡群体中 *PPARα* 基因的第 29468 位上 C 碱基为优势碱基对本领域技术人员而言是显而易见的。其次，“外显子 4 位点 N 突变后自由能减小，*PPARα* RNA 二级结构更稳定，保证基因功能稳定性”是属于对 SNP 导致的效果预测，对 SNP 位点本身无限制作用，同时也不能作为本领域技术人员鉴定 SNP 的唯一动机。最后，对比文件 2 已明确公开了藏鸡 *PPARα* 的 CDS 序列，且公开了过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因在藏鸡脂代谢中具有重要作用，且通过常规的比对可知对比文件 2 公开的 CDS 序列和平原鸡参考基因组（见对比

文件 1)具有包括在 CDS 第 684 位为碱基 T>C 在内的多个碱基位点的变异,出于育种需求,即有足够的动机去验证这些位点是否为稳定的 SNP 位点,而利用已公开的不同品种、群体来源的鸡重测序数据(例如对比文件 3 公开了的重测序数据)来验证 SNP 位点属于本领域的常规技术。

申请人并不认同这一观点,申请人认为:相比较于对比文件 3,对比文件中样本量和本研究具有极大的区别,首先对比文件 3 中的高、低海拔群体为各 3 个,每个群体样本含量 10 只,而本专利申请的高低海拔群体和每个群体的样本量均远大于对比文件 3,同时,对比文件 3 中的低海拔群体样本所涉及的海拔为 50 米-500 米,而本申请的低海拔群体样本所涉及的海拔从 0 米-1800 米成梯度呈现,具有更为丰富的广度与梯度,样本群体更具代表性。同时,藏鸡群体中 *PPAR $\alpha$*  基因的第 29468 位上 C 碱基为优势碱基与该 SNP 位点表现为 TC 型时,表明个体为藏鸡并不存在矛盾和冲突之处。最后,对比文件 2 公开了过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  基因在藏鸡脂代谢中具有重要作用,但是本申请相对于对比文件 2 具有“外显子 4 位点 N 突变后自由能减小, *PPAR $\alpha$*  RNA 二级结构更稳定,保证基因功能稳定性”的技术效果,因此,对比文件 1-3 相结合也没有公开本申请的技术效果和方案,对本申请不构成技术启示,本申请文件公开的技术方案具有突出的实质性特点和显著的进步,因而具有创造性。

针对审查员所述的:对比文件 2 已经说明 *PPAR $\alpha$*  基因和脂代谢相关,因此本领域技术人员容易想到该基因 SNP 选择不仅受海拔影响,其它能够与脂肪代谢相关的环境或人为选择因素均会对该基因的 SNP 位点的选择产生影响。例如纬度差别、肉鸡和蛋鸡以及斗鸡品种之间的差别等因素。其次,本申请实验设计中所取样品虽然具有海拔差异,但是本领域技术人员可明显看出对于平原鸡的取样仅包含海南和四川群体,不包含其它低纬度群体;审查员仅是针对本申请的实验设计合理质疑,如审查员前述的理由,SNP 位点不仅仅受海拔影响,这对本领域技术人员而言是容易想到的。正因为申请人不知晓其他地区的平原

鸡群体的具体基因型，才应该且完全可以在实验设计时通过更具代表性的取向来是数据更具说服力，而不是在不知晓其他平原鸡基因型的情况判断 TC 型是藏鸡特有的。因此审查员并没有对 TC 型是否为藏鸡特有做出任何判断，即没有用主观判断代替客观事实，更没有犯“事后诸葛亮”的错误。为了进一步表明审查员的合理质疑，审查员通过检索获得现有技术文献(^Positive selection rather than relaxation of functional constraint drives the evolution of vision during chicken domestication”，Ming-Shan Wang 等，Cell Research,第 26 卷第 5 期，第 556-573 页，20160401)公开了一组鸡的重测序数据，其中代表红原鸡的个体重测序原始数据 SRR1217528 在 NCBI SRA 数据库中的公开日期为 2015 年 02 月 05 日，通过常规的序列比对可知该红原鸡基因组中 *PPAR $\alpha$*  基因的第 29468 位上碱基为 C/T 杂合型

申请人并不认同这一观点，申请人认为：首先审查员认为我们研究采样的代表性问题，在以 *PPAR $\alpha$*  基因与海拔和脂质代谢的研究中，申请人的材料完全具备了足够的代表性，我们所考虑的是样本丰富性和海拔的代表性，平原鸡的样本从海拔 10 米到海拔 1800 米成阶梯式分布，藏鸡的样本从海拔 2700 米到 3900 米成阶梯式分布，均具有足够的样本代表性。同时，针对审查员所质疑的通过文献查找所发现了红色原鸡的该位点的 TC 杂合基因型，从而质疑 TC 型是否为藏鸡特有的观点，申请人并不这样认为，科学研究均是基于大胆的猜想+丰富的样本+详实的数据而形成，同时，由于基因的突变性和多样性，基于基因的品种鉴定或基因型鉴定，都不会达到 100%的准确性，而是符合我们的置信区间，及差异显著/极显著，单个红色原鸡的杂合型并不能说明本申请的结果错误或不准确，本申请的技术方案中的 14 个不同区域和海拔的样本所采集的 243 个个体的研究结果表明，TC 型的基因型在藏鸡和平原鸡中确实存在差异极显著的情况，本着以数据说话的科研精神，本申请人认为该结果是确实、可信的。

针对审查员所述的：审查员并没有否认通过对鸡品种/系的 SNP 基因型进行

了检测和基因频率分析而得到的，若 RNA 二级结构结果显示突变后的 *PPARα* 二级结构更加稳定，那么则证明这样更有利于藏鸡对高海拔环境的适应。审查员也不否认发明人作为在本领域做技术研究近 20 年的科研人员的研究意义。但是申请人所述 *PPARα* 二级结构更加稳定，那么则证明这样更有利于藏鸡对高海拔环境的适应仅是对其对 SNP 突变后的效果解释，而这一解释并不能作为研究该位点的唯一动机。正如审查员前面所述，对比文件 2 已明确公开了藏鸡 *PPARα* 的 CDS 序列，且公开了过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因在藏鸡脂代谢中具有重要作用，且通过常规的比对可知对比文件 2 公开的 CDS 序列和平原鸡参考基因组（见对比文件 1）具有包括在 CDS 第 684 位为碱基 T>C 在内的多个碱基位点的变异，出于育种需求，即有足够的动机去验证这些位点是否为稳定的 SNP 位点，而利用已公开的不同品种、群体来源的鸡重测序数据（例如对比文件 3 以及上述答复意见中补充的背景技术文件公开的重测序数据）来验证 SNP 位点属于本领域的常规技术。

申请人并不认同这一观点，申请人认为：对比文件 2 公开了过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因在藏鸡脂代谢中具有重要作用，但是本申请相对于对比文件 2 具有“外显子 4 位点 N 突变后自由能减小，*PPARα* RNA 二级结构更稳定，保证基因功能稳定性”的技术效果，所有的科学研究都有其对应的前序研究，我们不能仅仅看见前人的研究就认为其后续的研究属于前人研究的常规技术，而应该看见后续研究的独创性和特殊性。该研究无论从样本的数量、样本群体的多少、样本的海拔分布，以及研究所发现的突变位点自由能变化及其对脂质代谢以及高海拔环境的适应性，对比文件没有公开本申请的技术效果和方案，对本申请不构成技术启示，本申请文件公开的技术方案具有突出的实质性特点和显著的进步，因而具有创造性。

因此，修改后的权利要求 1 相对于对比文件 1-3 具有突出的实质性特点和显著的进步，因而具有创造性。

#### 四、关于修改后权利要求 2-7 的创造性

基于相同理由，在修改后的权利要求 1 具有创造性的前提下，修改后权利要求 2-7 也必然具有创造性。

综上所述，本申请文件公开的技术方案具有突出的实质性特点和显著的进步，因而具有创造性。如有问题，望及时联系申请人或代理人，给予再次答复的机会,联系电话：13551134124。

请审查员继续审查。

致礼

申请人：四川农业大学

2021 年 03 月 18 日