



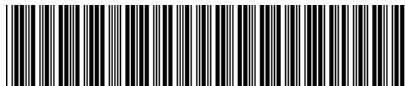
国家知识产权局

610000

成都市天府新区华阳华府大道1段1号蓝润ISC2栋1单元2008号 成都天汇致远知识产权代理事务所(普通合伙)
韩晓银(028-85961062)

发文日:

2023年03月31日



申请号: 202110878832.3

发文序号: 2023033100027510

申请人: 海南大学

发明创造名称: 实时荧光定量 PCR 检测试剂盒、判断槟榔幼苗缺锌状态的方法

驳 回 决 定

1. 根据专利法第 38 条及其实施细则第 53 条的规定, 决定驳回上述专利申请, 驳回的依据是:

- ☐ 申请不符合专利法第 2 条第 2 款的规定。
- ☐ 申请属于专利法第 5 条或者第 25 条规定的不授予专利权的范围。
- ☐ 申请不符合专利法第 9 条第 1 款的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 19 条第 1 款的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 22 条的规定。
- ☒ 申请不符合专利法第 26 条第 3 款或者第 4 款的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 26 条第 5 款或者实施细则第 26 条的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 31 条第 1 款的规定。
- ☐ 申请的修改不符合专利法第 33 条的规定。
- ☐ 申请不符合专利法实施细则第 20 条第 2 款的规定。
- ☐ 分案申请不符合专利法实施细则第 43 条第 1 款的规定。
- ☐ _____

详细的驳回理由见驳回决定正文部分(共 3 页)。

2. 本驳回决定是针对下列申请文件作出的:

- ☒ 原始申请文件。 ☐ 分案申请递交日提交的文件。 ☐ 下列申请文件:

3. 根据专利法第 41 条及实施细则第 60 条的规定, 申请人对本驳回决定不服的, 可以在收到本决定之日起 3 个月内向专利局复审和无效审理部请求复审。根据专利法实施细则第 96 条的规定, 复审费应在上述期限内缴纳, 期满未缴纳或者未缴足的, 视为未提出请求。

审 查 员: 梁欢

联系电话: 028-62968557

审查部门: 专利审查协作四川中心



210407
2022.10

纸件申请, 回函请寄: 100088 北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 国家知识产权局专利局受理处收
电子申请, 应当通过电子专利申请系统以电子文件形式提交相关文件。除另有规定外, 以纸件等其他形式提交的文件视为未提交。



驳回决定

申请号：202110878832.3

本决定涉及的是申请号为 202110878832.3 的名称为“实时荧光定量 PCR 检测试剂盒、判断槟榔幼苗缺锌状态的方法”的发明专利申请，申请人为海南大学，申请日为 2021 年 8 月 2 日。

一、案由

本申请原申请文件权利要求书包括 4 项独立权利要求 1、3、4、10 以及 6 项从属权利要求 2、5-9。

应申请人于 2021 年 8 月 2 日提出的实质审查请求，审查员对本申请进行了实质审查。审查员于 2022 年 9 月 22 日发出了第一次审查意见通知书，指出说明书不符合专利法第 26 条第 3 款的规定。

针对该审查意见通知书，申请人于 2023 年 2 月 6 日提交了意见陈述书，并未修改申请文件。其意见陈述概述如下：

(1) 本申请虽然在[0061]段记载了缺铁处理，但是本申请后续全部内容均未记载缺铁处理的幼苗或得到缺铁处理的结果，因此能够断定，本申请此处出现了笔误错误的将其他实验处理写在了此处。本申请的试验组为仅进行缺锌处理的槟榔，而对照组是未进行任何处理的正常槟榔幼苗。

(2) 本申请虽未记载实验样本的数量，但是本申请是经历了无数次实验才确定的相应基因，由于篇幅的限制并未将全部实验过程写在说明书中，而是将实验的过程进行了精简与概括，在实验数据挑选的过程中很可能出现挑选的实验数据与实验附图不是来自于同一次实验的情况，但是这仅仅是数据挑选时发生的错误，不能基于本申请在记载实验数据中出现了问题，就判断本申请的方案是不能实现的。

(3) 本申请的核心并不在于如何进行基因的筛选，而是利用某种基因进行幼苗的缺锌筛选，基因筛选过程的实验数据是否存在错误不影响本申请的技术方案的公开程度或创造性。本领域技术人员并不需要明确该基因的筛选过程也能利用本申请公开了特定基因与检测引物的试剂盒进行特定性状的幼苗的筛选，也就是说本申请已经公开了解决技术问题的全部技术方案。

审查员认为，本案事实已经清楚，因此针对申请日提交的说明书、权利要求第 1-10 项、说明书摘要、摘要附图、说明书附图、说明书核苷酸和氨基酸序列表作出本驳回决定。

二、驳回理由

(一) 本申请说明书公开不充分，不符合专利法第 26 条第 3 款的规定。

根据本申请说明书的记载，本申请想要解决的技术问题是检测槟榔是缺铁还是缺锌、判断槟榔幼苗的缺锌状态，其采用的技术手段是利用 ZIP1 和 ZIP2 的检测引物 (SEQ ID NO.1、2) 和内参引物 (SEQ ID NO.3) 检测待测槟榔新叶和根中的 ZIP1 (SEQ ID NO.4) 和 ZIP2 (SEQ ID NO.5) 的表达情况，若 ZIP1 在新叶中表达量没有显著变化，在根中表达量显著增加，ZIP2 在新叶中表达量显著上调，在根中没有显著变化，说明植株受到缺锌胁迫。

然而，根据本申请说明书的记载，其试验设计时，①对槟榔进行缺锌处理的方法为：“在实验基地以 Hoagland 为配方，采用水培的方法对一叶期进行适应性培养后的槟榔幼苗进行缺铁和缺锌的处理，每隔一周时间进行培养液的更换，直到槟榔幼苗出现明显的表型。缺锌的槟榔幼苗的新叶呈网格状的黄化现象”(参见说明书第[0061]段)，其中未清楚记载是对试验组的槟榔幼苗同时进行缺铁和缺锌处理，还是分为两个组，一个组进行缺锌处理一个组进行缺铁处理；②在样品采集时仅“对出现黄化现象的槟榔幼苗的叶片以及主根进行收集”，提取样品 RNA，反转录得到 cDNA，以其为模板进行 qPCR 反应，其文字记载的反应结果如下：“每个 qPCR 反应重复三次。记录 qPCR 反应体系的 Ct 值。根据 $2^{-(\Delta \Delta Ct)}$ 计算基因在不同处理下的相对表达



量,可以看出 ZIP1 在叶片中几乎不表达,在缺锌的根中表达量显著增加, ZIP1 在新叶中表达量没有显著变化,在根中表达量显著增加, ZIP2 在新叶中表达量显著上调,在根中没有显著变化”;由于本申请中并未记载对照组具体为何,也未清除记载对槟榔进行缺铁处理的方法,本领域技术人员甚至不能确定本申请中的对照组(CKL1、CKR)是正常培养的槟榔,还是仅进行了缺铁处理的槟榔,试验组(-ZnL1、-ZnR)是同时进行了缺铁、缺锌处理的槟榔还是仅进行了缺锌处理的槟榔;而且本申请中并未记载其样本量大小,本领域技术人员可以合理预期,当其样本量过小时(例如试验组和对照组槟榔各一株),其检测结果可能存在个体差异,并不具备统计学意义;③本申请中文字记载的试验结果,与说明书第[0098]段的表格和附图 3 中呈现的结果并不一致,从表格以及附图 3 中能够明显看出, ZIP2 在缺锌的根中表达量上调,而非如文字所述的没有显著变化。即使不考虑本申请的样本量问题,且无论本领域技术人员是以第[0098]段的表格和附图 3 呈现的结果为准,还是以说明书第[0097]段文字记载的结果为准,由于本申请对其对照组和试验组并未清楚划分,也将导致本领域技术人员不能确定其试验组呈现的变化是相对于何种对照组产生的。具体地,如果对照组为正常培养,并未进行任何缺铁、缺锌处理,试验组同时进行了缺铁和缺锌处理且表现出明显的缺锌症状,则本领域技术人员无法确定槟榔叶片和根中 ZIP1、ZIP2 表达量的差异具体是由缺铁还是缺锌引起的,进而无法达到通过检测槟榔叶片和根中 ZIP1、ZIP2 的表达量来判断槟榔是否缺锌的技术效果。如果对照组为缺铁处理的槟榔幼苗,试验组为缺锌处理且有明显缺锌表型的槟榔幼苗,则本申请中缺少正常对照,且缺铁的槟榔幼苗对照无法确认是何状态,不能确认待测槟榔幼苗的检测数据应该与何种对照组进行比较,即实际应用时,无法判断槟榔叶片和根中的 ZIP1、ZIP2 基因的表达量是上调还是下调还是无显著变化,进而无法基于本申请的判断标准判断槟榔是否缺锌。

综上,本申请所提供的实验数据并不能充分证明槟榔新叶和根中的 ZIP1 (SEQ ID NO.4) 和 ZIP2 (SEQ ID NO.5) 的表达情况能够用于判断槟榔是缺铁还是缺锌、判断槟榔幼苗的缺锌状态。因此,本领域技术人员根据申请文件记载的内容,无法实施本发明的技术方案以解决其技术问题。即本领域技术人员根据说明书中公开的内容不能实现本发明以解决其技术问题,因此,本申请说明书公开不充分,不符合专利法第 26 条第 3 款的规定。

(二) 申请人的意见陈述不具有说服力,理由如下:

(1) 本申请并不仅仅在[0061]段中记载了缺铁处理,而是在全文多出记载与缺铁相关的内容,包括权利要求 3 的主题为“一种如权利要求 1 所述 ZIP 基因的实时荧光定量 PCR 检测试剂盒在检测槟榔是缺铁还是缺锌中的应用”,权 10 的主题为“如权利要求 1 所述 ZIP 基因的实时荧光定量 PCR 检测试剂盒在检测槟榔是缺铁还是缺锌中的应用”,且说明书摘要、说明书第[0017]、[0035]、[0040]、[0056]、[0061]、[0102]段中均涉及槟榔“缺铁”相关内容。因此,本领域技术人员不能认可申请人所述的第[0061]段中的缺铁处理为笔误,参见上文的记载,也不能认可本申请的试验组为仅进行了缺锌处理的槟榔,而对照组是未进行任何处理的正常槟榔幼苗。

退一步来说,即使考虑本申请的试验组为仅进行了缺锌处理的槟榔,而对照组是未进行任何处理的正常槟榔幼苗;同时,不考虑本申请样本量的问题,也不考虑本申请说明书中文字和图表实验结果不一致的问题;则通过本申请的实验数据可以看出,本申请中也仅包括通过缺锌处理后,试验组中槟榔根和叶片相对对照组中槟榔根和叶片中 ZIP1、ZIP2 基因的表达变化情况,基于该变化情况也不足以证明其能够判断槟榔缺锌状态,理由如下:本领域技术人员知晓植物锌铁转运蛋白 ZIP 基因能够转运多种离子,如锌、铁、钙、锰等,并且植物中的信号通路、基因表达情况都极为复杂,当对槟榔进行锌胁迫时,本领域技术人员可以合理预期,其中可能有多种信号通路、基因表达都发生了变化,而且不同的植物状态可能跟相同的通路相关,也可能引起相同的基因表达变化,当本申请中仅证明了缺锌时,槟榔叶和根中 ZIP1、ZIP2 基因的表达变化情况,缺少相



应的验证试验时（即验证当出现槟榔叶和根中 ZIP1、ZIP2 基因变化情况与本申请一致时，槟榔是否缺锌），本领域技术人员不能认可基于槟榔叶片 ZIP1、ZIP2 的基因表达变化能够判断槟榔的缺锌状态。

（2）由于申请文件中并未记载试验采用的样本量，本领域技术人员无法确定其采用的样本量具体为何，不能直接认可申请人所述的进行了大量实验，参见上文，当样本量过小时（极端情况下，例如试验组和对照组槟榔各一株），其试验组和对照组的槟榔 ZIP1、ZIP2 基因表达量可能存在个体差异，并不具备统计学意义。申请人在数据挑选时发生的错误，将直接导致该实验数据不能证明其达到的技术效果。即使不考虑样本量的问题，参见上文，本发明仍然不能解决其检测槟榔幼苗缺锌状态的技术问题。

（3）虽然本申请中记载了特定基因与检测引物的试剂盒进行特定性状的幼苗筛选的技术方案，但是参见上文，本申请中并未证明该特定基因确实能够用于判断槟榔幼苗的缺锌状态，因此，利用包含该基因检测引物的试剂盒也无法达到筛选特定性状的幼苗的技术效果。

综上，申请人的意见陈述不具有说服力。

三、决定

综上所述，本发明专利申请不符合专利法第 26 条第 3 款的规定，属于专利法实施细则第 53 条第（2）项的情况，因此根据专利法第 38 条予以驳回。

根据专利法第 41 条第 1 款的规定，申请人如果对本驳回决定不服，可以在收到本驳回决定之日起 3 个月内，向专利局复审和无效审理部请求复审。

审查员姓名:梁欢
审查员代码:30140985