



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10月20日



申请号: 202210535082.4

发文序号: 2023102001810570

申请人: 四川农业大学

发明创造名称: 一种水稻雄性育性控制基因 STS1、其编码蛋白及应用

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4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:

申请日提交的摘要附图、说明书摘要、说明书附图、说明书核苷酸和氨基酸序列表、说明书第1-62段;

2023年10月8日提交的权利要求第1-9项。

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: 蒲恒

联系电话: 028-62968591

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：2022105350824

本决定涉及的是申请号为 2022105350824 的名称为“一种水稻雄性育性控制基因 STS1、其编码蛋白及应用”的发明专利申请（下称“本申请”），申请人为四川农业大学，申请日为 2022 年 05 月 17 日。

一、案由

本申请原申请文件权利要求书包括 9 项权利要求。

应申请人于 2022 年 05 月 17 日提出的实质审查请求，审查员对本申请进行了实质审查，并于 2023 年 03 月 16 日发出了第一次审查意见通知书，指出权利要求 1-4 不具备专利法第 22 条第 2 款规定的新颖性。权利要求 1-3,5-9 不具备专利法第 22 条第 3 款规定的创造性。权利要求 1,8 不符合专利法第 26 条第 4 款的规定。通知书中引用了如下对比文件：

对比文件 1：“Oryza sativa Japonica Group cDNA clone:J023105E01, full insert sequence”，Kikuchi,S.等，genbank，ACCESSION NO.AK100572，公开日为 2008 年 12 月 04 日；

对比文件 2：CN114262699A，公开日为 2022 年 04 月 01 日。

申请人于 2023 年 07 月 24 日针对第一次审查意见通知书提交了意见陈述书，并对权利要求进行了修改；其中，权利要求的修改为：将原权利要求 1 的主题改为：“一种水稻雄性育性控制基因 STS1 突变体”，并且具体限定其核苷酸序列；删除原权利要求 3 和 4；增加新权利要求 3，主题为：“SEQ ID NO.8 或者 SEQ ID NO.9 所示的 STS1 突变体的构建方法”，限定内容来自实施例 3；新权利要求 4 限定为“权利要求 1 所述的水稻雄性育性调控基因 STS1 突变体在水稻雄性育性调控中的应用”。增加新权利要求 4 的从属权利要求对“水稻雄性育性调控”进行限定；其他权利要求的编号和引用关系做适应性修改。意见陈述概述为：本申请和对比文件 2 公开的基因都来自水稻，但属于完全不同的基因，SEQ ID NO:1 所示的基因序列和 SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9 所示的核苷酸序列也并不相同。基因 OsLDDT1 可用于调控水稻雄性发育的技术启示并不能延伸至基因 STS1 及其突变体。由对比文件 2 无法显而易见地获得本申请权利要求 1 提出的 4 种水稻雄性育性控制基因 STS1 突变体。因此，本申请具备创造性。

审查员继续审查，并于 2023 年 07 月 27 日发出第二次审查意见通知书，指出权利要求 1-9 不具备专利法第 22 条第 3 款规定的创造性。通知书没有引用新的对比文件。

针对上述审查意见通知书，申请人于 2023 年 10 月 08 日递交了意见陈述书，对权利要求进行了修改；其中，权利要求的修改为在原权利要求 1 中增加 4 个突变体序列的结构说明以及 STS1 基因核苷酸序列；意见陈述概述为：对比文件 2 公开的突变体序列与本申请的突变体序列不相同，尽管本申请和对比文件 2 公开的 OsLDDT1 基因都来自水稻，并且核苷酸序列的同源性为 99.7%，但仍然属于完全不同的基因，OsLDDT1 基因的 lddt1 突变体可用于调控水稻雄性发育的技术启示并不能延伸至 STS1 基因的突变体；在水稻中存在多种多样可以调控雄性生殖发育的基因，但这些基因哪些可以调控水稻不育性状哪些不可以调控、以及具体的调控机理只有通过实际研究才能得出结论，该研究过程势必要付出创造性劳动。对比文件 2 并未举出实质性证据来证明具有 90%以上同源性的核苷酸序列一定具有相同的功能。对比文件 2 公开了 OsLDDT1 基因突变体可以调控水稻育性，也无法显而易见地获知本申请权利要求 1 提出的 4 种水稻雄性育性控制基因 STS1 突变体也可以调控水稻育性。因此，本申请具备创造性。

审查员认为，本案事实已经清楚，因此针对申请日提交的摘要附图、说明书摘要、说明书附图、说明书核苷酸和氨基酸序列表、说明书第 1-62 段；2023 年 10 月 8 日提交的权利要求第 1-9 项作出本驳回决定。

二、驳回理由

1. 权利要求 1-9 不符合专利法第 22 条第 3 款的规定。

1.1 权利要求 1 请求保护一种水稻雄性育性控制基因 STS1 突变体。

对比文件 2（CN114262699A，公开日为 20220401）公开了水稻雄性不育基因 OsLDDT1，其 cDNA 的核苷酸序列如 SEQ ID NO:2 所示（参见说明书第[0043]段）。经序列比对，其核苷酸序列与本申请 SEQ ID NO.1 所示核苷酸序列的同源性为 99.7%，即，对比文件 2 所述水稻雄性不育基因 OsLDDT1 与本申请 SEQ ID NO.1 所示的水稻雄性育性控制基因 STS1 为序列相似度极高且功能相同的同源基因。根据本申请说明书的记



载, SEQ ID NO.6-9 任一所示的核苷酸序列为本申请 SEQ ID NO.1 所示的水稻雄性育性控制基因 STS1 突变后的基因组序列。由此可见, 权利要求 1 与对比文件 2 相比, 区别特征在于: 基因序列不同。基于以上区别特征, 权利要求 1 实际解决的技术问题是: 提供水稻雄性不育基因 OsLDDT1 的同源基因突变后的基因组序列。

对于上述区别特征, 对比文件 2 还公开了: 本发明实施例 1 中 OsLDDT1 基因第 5416bp 位碱基缺失突变后, 造成水稻基因 OsLDDT1 发生移码突变, 编码蛋白提前转录终止, 使基因 OsLDDT1 功能丧失(参见说明书第[0043]段)。本发明首次揭示了水稻基因 OsLDDT1 具有调控植物雄性育性的生物学功能。基于图位克隆和功能互补实验在水稻中验证了该基因的功能, 用 pCAMBIA1300-OsLDDT1 功能互补载体转化突变体 lddt1 后, 转基因植株雄配子育性恢复, 即 OsLDDT1 基因功能丧失型突变导致雄性部分败育而功能互补该基因育性恢复正常。本发明水稻 OsLDDT1 基因功能丧失后完全败育; lddt1 突变体绒毡层降解和花粉囊壁的分化和退化进程均发生了延迟, 最终导致其无成熟花粉和小穗完全不育; 构建并测序验证成功的 pCAMBIA1300-OsLDDT1 的载体, 转化到突变体 lddt1 后获得转基因植株, 经潮霉素鉴定为阳性的植株正常种植于大田, 于抽穗开花期取样观察发现, 转基因植株的花药转变为乳黄色, 花粉育性大于 80%。待灌浆至完全成熟, 发现其小穗育性和结实率已基本与野生型相同这些表型进一步证明 ORF4 即为控制本研究中 lddt1 突变体花药发育畸形、无花粉的雄性不育基因(参见摘要, 实施例 1-7)。可见, 对比文件 2 公开了所述基因 OsLDDT1 为水稻雄性育性调控基因, 该基因突变导致水稻雄性不育。因而, 结合上述技术信息的教导, 当需要提供水稻雄性不育基因 OsLDDT1 的同源基因突变后的基因组序列时, 本领域技术人员容易想到根据对比文件 2 所述的水稻雄性不育基因 OsLDDT1 的序列结构设计引物, 从常规水稻品种日本晴中扩增获得其同源基因, 进而突变该同源基因以获得其突变后的基因组序列(如 SEQ ID NO.6-9 任一所示的突变体)以及相应的水稻雄性不育材料, 并具备能力通过常规技术手段加以实施和验证; 进一步确定突变基因的突变位点也属于本领域的常规操作。

因此, 在对比文件 2 的基础上结合本领域的常规技术手段得到权利要求 1 请求保护的技术方案对本领域技术人员而言是显而易见的, 权利要求 1 不具有突出的实质性特点和显著的进步, 不符合专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

1.2 权利要求 2 请求保护与权利要求 1 所述的水稻雄性育性控制基因 STS1 突变体相关的生物材料。

参见前述权利要求的评述, 权利要求 1 所述基因 STS1 突变体不具备创造性。在此基础上, 获得基因 STS1 突变体的编码蛋白, 构建包含所述基因 STS1 突变体的表达盒、重组载体及其重组微生物均属于本领域的常规操作。因此, 在对比文件 2 的基础上结合本领域的常规技术手段得到权利要求 2 请求保护的技术方案对本领域技术人员而言是显而易见的, 权利要求 2 不具有突出的实质性特点和显著的进步, 不符合专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

1.3 权利要求 3 请求保护 SEQ ID NO.8 或者 SEQ ID NO.9 所示的 STS1 突变体的构建方法。

参见前述权利要求的评述, SEQ ID NO.8 或者 SEQ ID NO.9 所示的 STS1 突变体不具备创造性, 基于相同的事实和理由, 在对比文件 2 给出了所述基因 OsLDDT1 为水稻雄性育性调控基因, 该基因突变导致水稻雄性不育的技术教导下, 本领域技术人员容易想到采用常规的 CRISPR/Cas9 基因编辑手段突变其同源基因以抑制其编码蛋白的表达, 且具备能力依据靶基因编码框的序列信息设计基因编辑的前导序列, 根据实际的实施条件和需要选择 CRISPR/Cas9 基因编辑载体和水稻受体品种, 并通过常规技术手段加以实施和验证, 以获得该同源基因的突变体。而借鉴现有技术已知的基因编辑和转化培养手段形成基因突变体的构建方法, 属于本领域的常规操作。

因此, 在对比文件 2 的基础上结合本领域的常规技术手段得到权利要求 3 请求保护的技术方案对本领域技术人员而言是显而易见的, 权利要求 3 不具有突出的实质性特点和显著的进步, 不符合专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

1.4 权利要求 4 请求保护权利要求 1 所述的水稻雄性育性调控基因 STS1 突变体在水稻雄性育性调控中的应用, 权利要求 5 对引用的权利要求 4 作了进一步限定。

参见前述权利要求的评述, 权利要求 1 所述的水稻雄性育性调控基因 STS1 突变体不具备创造性。同时, 对比文件 2 还公开了: 本发明首次揭示了水稻基因 OsLDDT1 具有调控植物雄性育性的生物学功能。基于图



位克隆和功能互补实验在水稻中验证了该基因的功能，用 pCAMBIA1300-OsLDDT1 功能互补载体转化突变体 lddt1 后，转基因植株雄配子育性恢复，即 OsLDDT1 基因功能丧失型突变导致雄性部分败育而功能互补该基因育性恢复正常。本发明水稻 OsLDDT1 基因功能丧失后完全败育；lddt1 突变体绒毡层降解和花粉囊壁的分化和退化进程均发生了延迟，最终导致其无成熟花粉和小穗完全不育；构建并测序验证成功的 pCAMBIA1300-OsLDDT1 的载体，转化到突变体 lddt1 后获得转基因植株，经潮霉素鉴定为阳性的植株正常种植于大田，于抽穗开花期取样观察发现，转基因植株的花药转变为乳黄色，花粉育性大于 80%。待灌浆至完全成熟，发现其小穗育性和结实率已基本与野生型相同这些表型进一步证明 ORF4 即为控制本研究中 lddt1 突变体花药发育畸形、无花粉的雄性不育基因。可见，对比文件 2 公开了所述基因 OsLDDT1 为水稻雄性育性调控基因，该基因突变导致水稻雄性不育，而功能互补该基因育性恢复正常。因而，在上述技术信息的教导下，本领域技术人员容易想到通过突变对比文件 2 所述的水稻雄性不育基因 OsLDDT1 的水稻同源基因获得水稻雄性不育材料，或将包含该同源基因的基因组序列通过基因工程技术导入到水稻雄性不育株系以获得雄性不育株系育性恢复的转基因水稻，并具备能力通过常规技术手段加以实施和验证。

因此，在对比文件 2 的基础上结合本领域的常规技术手段得到权利要求 4-5 请求保护的技术方案对本领域技术人员而言是显而易见的，权利要求 4-5 不具有突出的实质性特点和显著的进步，不符合专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

1.5 权利要求 6-8 分别请求保护一种水稻雄性不育材料的应用。

参见前述权利要求的评述，权利要求 4 或 5 所述应用不具备创造性，在此基础上，由该应用获得相应的雄性不育材料对本领域技术人员而言是显而易见的，而进一步将获得的雄性不育材料分别与其他材料进行杂交和回交，以获得不能产生正常花粉的不同背景的稳定遗传雄性不育株系，或利用基因工程技术（包括利用“SPT”技术）将获得的雄性不育材料改造形成衍生不育系，或将上述不育系材料作为杂交水稻不育系母本应用于杂交水稻制种，均属于本领域的操作，本领域技术人员可根据实际需要进行选择。

因此，在对比文件 2 的基础上结合本领域的常规技术手段得到权利要求 6-8 请求保护的技术方案对本领域技术人员而言是显而易见的，权利要求 6-8 不具有突出的实质性特点和显著的进步，不符合专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

1.6 权利要求 9 请求保护一种水稻雄性不育株系育性恢复的方法。

参见前述权利要求的评述，对比文件 2 公开了（参见摘要，实施例 6）：本发明首次揭示了水稻基因 OsLDDT1 具有调控植物雄性育性的生物学功能。基于图位克隆和功能互补实验在水稻中验证了该基因的功能，用 pCAMBIA1300-OsLDDT1 功能互补载体转化突变体 lddt1 后，转基因植株雄配子育性恢复，即 OsLDDT1 基因功能丧失型突变导致雄性部分败育而功能互补该基因育性恢复正常。pCAMBIA1300 载体构建：根据预测的候选基因序列设计引物，以 ZH8015 基因组 DNA 为模板，扩增了 LDDT1 全基因组 DNA 片段，该片段包括 2369bp 上游序列，全长编码区以及 862bp 下游序列。采用 In-Fusion(Takara)同源重组试剂盒将该片段连接到经 EcoR I 和 Pst I 线性化的载体 pCAMBIA1300 上。转化大肠杆菌，经菌液测序挑选 pLDDT1：：LDDT1- α 质粒阳性克隆。采用农杆菌介导的转化 lddt1 突变体幼穗诱导的愈伤组织。构建并测序验证成功的 pCAMBIA1300-OsLDDT1 的载体，转化到突变体 lddt1 后获得转基因植株，经潮霉素鉴定为阳性的植株正常种植于大田，于抽穗开花期取样观察发现，转基因植株的花药转变为乳黄色，花粉育性大于 80%。待灌浆至完全成熟，发现其小穗育性和结实率已基本与野生型相同这些表型进一步证明 ORF4 即为控制本研究中 lddt1 突变体花药发育畸形、无花粉的雄性不育基因。可见，对比文件 2 公开了将包含所述水稻雄性育性调控基因 OsLDDT1 的基因组序列转化到突变体 lddt1 后，获得功能互补的雄性不育株系育性恢复转基因水稻。因而，在上述技术信息的教导下，本领域技术人员容易想到将包含从正常育性的常规水稻品种中获得的对比文件 2 所述基因的同源基因及其上游序列组成的基因组序列通过基因工程技术导入到水稻雄性不育株系，筛选获得雄性不育株系育性恢复的转基因水稻，并具备能力通过常规技术手段加以实施和验证。

因此，在对比文件 2 的基础上结合本领域的常规技术手段得到权利要求 9 请求保护的技术方案对本领域技术人员而言是显而易见的，权利要求 9 不具有突出的实质性特点和显著的进步，不符合专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

2. 针对申请人的意见陈述，审查员认为：



参见前述驳回理由，结合对比文件 2 给出的所述基因 OsLDDT1 突变导致水稻雄性不育，而将包含基因 OsLDDT1 的基因组序列转化雄性不育突变体 lddt1 能够实现水稻雄性不育株系育性恢复的技术教导，本领域技术人员基于同一物种同源基因通常具有相同功能的普通技术知识，容易想到对比文件 2 所述基因 OsLDDT1 的水稻同源基因具有与之相同的功能，并具备能力通过常规技术手段从水稻品种日本晴中获得其同源基因，以及验证其是否具有上述相同的生物学功能，包括利用 CRISPR/Cas9 基因编辑手段突变该同源基因以抑制其编码蛋白的表达，获得同源基因突变体及其对应的水稻雄性不育材料等，这并不需要付出创造性的劳动，也不存在难以逾越的技术障碍，且其技术效果也并未超出本领域技术人员的合理预期。

对比文件 2 公开了所述基因 OsLDDT1 为水稻雄性育性调控基因，该基因突变导致水稻雄性不育，且基因 OsLDDT1 的核苷酸序列与本申请 SEQ ID NO.1 所示核苷酸序列的同源性为 99.7%，即，对比文件 2 所述水稻基因 OsLDDT1 与本申请 SEQ ID NO.1 所示水稻基因 STS1 为具有 99% 以上核苷酸序列同源一致性且具有相同的水稻雄性育性调控功能的水稻同源基因，由此可见，这与本领域所公知的同一物种同源基因通常具有相同功能的普通技术知识完全相符，并未超出本领域技术人员的合理预期。

因此，本申请相比于对比文件 2 和常规技术手段的结合是显而易见的，不具有突出的实质性特点和显著的进步。

综上所述，申请人的意见陈述不具说服力。

三、决定

综上所述，本发明专利申请不符合专利法第 22 条第 3 款的规定，属于专利法实施细则第五十三条第二项的情况，因此根据专利法第三十八条予以驳回。

根据专利法第四十一条第一款的规定，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三个月内，向专利局复审和无效审理部请求复审。

审查员姓名:蒲恒
审查员代码:30140972