

เอกสารนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาเพื่อให้คนไทย ได้เรียนรู้และเข้าใจเทคโนโลยีในเอกสารสิทธิบัตรนานาชาติ
และโดยเฉพาะตัวอย่างการเขียนข้อสิทธิ เพื่อความเข้าใจประเด็นการประดิษฐ์
และการลำดับชั้นของการต่อยอดจากข้อสิทธิหลัก
และข้อสิทธิรอง (ข้อที่อ้างถึงอิงข้อสิทธิข้ออื่น)

ผู้จัดทำไม่รับรองความถูกต้องของการแปล การนำไปใช้อ้างอิงให้อ้างอิงจากเอกสารสิทธิบัตรต้นฉบับเท่านั้น

แปลและคิดต่อยอดโดย นักศึกษา BIOTEC มหาวิทยาลัยมหิดล
ตรวจสอบปรับปรุงโดย ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ & ทีมงาน Toryod.com

แปลและคิดต่อโดย Sarinya Buranajitpakorn นักศึกษา BIOTEC มหาวิทยาลัยมหิดล

ตรวจสอบปรับปรุงโดย ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ & ทีมงาน Toryod.com

US 6,759,573

July 6, 2004

Method to enhance *Agrobacterium*-mediated transformation of plants

แนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ *Agrobacterium* ในการถ่ายยีนของพืช

Inventors: Olhofs; Paula (Roseville, MN), Somers; David A. (Roseville, MN)

Assignee: Regents of the University of Minnesota (Minneapolis, MN)

Appl. No.: 09/738,398

Filed: December 15, 2000

Abstract

The invention provides a method to enhance *Agrobacterium*-mediated transformation of plant cells, parts and tissues, thereby enhancing the production of transgenic plants.

การประดิษฐ์นี้จัดเตรียมวิธีการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ *Agrobacterium* ในการเป็นตัวกลางที่จะถ่ายยีนของเซลล์และเนื้อเยื่อบางส่วนของพืช ด้วยวิธีการเพิ่มผลผลิตของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรม

What is claimed is:

1. A method for stable transformation of leguminous plant tissue or cells, comprising: a) contacting leguminous plant tissue or cells with an *Agrobacterium* comprising a recombinant DNA and one or more sulfhydryl-containing agents which one or more agents are present in solid media in an amount effective to enhance the stable transformation of the leguminous plant tissue or cells relative to corresponding plant tissue or cells contacted with the *Agrobacterium* in the absence of the one or more agents, wherein the plant tissue or cells are embryogenic somatic cells, immature embryo,

meristem, or a cotyledon explant, and wherein the stable transformation is enhanced by at least 0.5%; and b) identifying stably transformed plant tissue or cells.

วิธีการเพื่อการถ่ายยีนของเนื้อเยื่อ หรือเซลล์พืชตระกูลถั่ว ประกอบด้วย a) การติดต่อกันของเนื้อเยื่อ หรือของเซลล์ของพืชตระกูลถั่วกับ *Agrobacterium* ที่มีการดัดแปลง DNA และมีสารที่มีส่วนของ sulfhydryl ที่มีอยู่ใน solid media ในปริมาณที่เพียงพอที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายยีนของเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพืชตระกูลถั่ว ที่เกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชกับ *Agrobacterium* ในภาวะที่ขาดสารประกอบเหล่านี้อย่างน้อยหนึ่งสารหรือมากกว่า ซึ่งเซลล์และเนื้อเยื่อของพืชเหล่านี้เป็น somatic cells ในระยะ embryo, immature embryo, meristem และระยะที่มี cotyledon ซึ่งการถ่ายยีนนี้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้อย่างน้อย 0.5% และ b) การจำแนกเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพืช

2. The method of claim 1 wherein the stable transformation is enhanced by at least 10%.

วิธีการตามข้อที่ 1 ที่ซึ่ง การถ่ายยีนได้คงที่มีเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 10%

3. The method of claim 1 wherein the stable transformation is enhanced by at least 5-fold.

วิธีการตามข้อที่ 1 ที่ซึ่ง การถ่ายยีนได้คงที่มีเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 10%

4. The method of claim 1 wherein the transformed tissue or cells are identified by selection.

วิธีการตามข้อที่ 1 ที่ซึ่ง การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อหรือเซลล์สามารถจำแนกได้โดยการคัดเลือก

5. The method of claim 4 wherein the transformed tissue or cells are selected for with hygromycin.

วิธีการตามข้อที่ 4 ที่ซึ่ง การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อหรือเซลล์ถูกเลือกโดย hygromycin

6. The method of claim 1 wherein a cotyledon explant is contacted with the *Agrobacterium*.

วิธีการตามข้อที่ 1 ที่ซึ่ง พืชในระยะงอกใบเลี้ยง contacted ด้วย *Agrobacterium*

7. The method of claim 6 wherein the cotyledon is wounded in or near the axillary bud or cotyledonary node prior to contacting.

วิธีการตามข้อที่ 6 ที่ซึ่ง พืชมีแผลที่บริเวณ axillary bud หรือ cotyledonary node ก่อนที่จะเกิดการสัมผัส

8. The method of claim 6 wherein the cotyledon explant is from a legume seedling.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 6 ที่ซึ่ง ใบเลี้ยงที่งอกจากพีช เป็นการงอกจากเมล็ดพีชมีฝักตระกูลถั่ว

9. The method of claim 1 further comprising regenerating a differentiated transformed plant from the stably transformed plant tissue or cells.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 รวมถึงเกิดการเกิดพีชที่มีความแตกต่างที่เกิดจากเนื้อเยื่อพีชจากการถ่ายยีนหรือเซลล์ขึ้นใหม่

10. The method of claim 1 wherein one agent is cysteine.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง หนึ่งในสารเคมีคือ cysteine.

11. The method of claim 10 wherein cysteine is present at 50 mg/L to 2000 mg/L.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 10 ที่ซึ่งมี cysteine 50 mg/L ถึง 2000 mg/L.

12. The method of claim 1 wherein one agent is glutathione, sodium thiosulfate, or dithiothreitol.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง หนึ่งในสารเคมีคือ glutathione, sodium thiosulfate, หรือ dithiothreitol.

13. The method of claim 12 wherein glutathione is present at 0.4 g/L or 0.001 to 1 mM, sodium thiosulfate is present at 0.1 to 20 mM, or dithiothreitol is present at 1 g/L or 0.75 to 2 mM.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง มี glutathione 0.4 g/L หรือ 0.001 ถึง 1 mM, sodium thiosulfate 0.1 ถึง 20 mM หรือ dithiothreitol 1 g/L หรือ 0.75 ถึง 2 mM.

14. The method of claim 1 wherein the plant tissue or cells are from soybean.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง เนื้อเยื่อหรือเซลล์พีชมาจากต้นถั่วเหลือง

15. The method of claim 1 wherein the recombinant DNA comprises a selectable marker.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง recombinant DNA มี selectable marker.

16. The method of claim 1 wherein the recombinant DNA comprises a detectable marker.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง recombinant DNA มี detectable marker.

17. The method of claim 1 wherein the recombinant DNA comprises a promoter operably linked to an open reading frame of interest.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง recombinant DNA มีการควบคุม promoter ที่สัมพันธ์กับ open reading frame ที่สนใจ.

ต่อยอดความคิด จากสิทธิบัตรนี้

1. The method of claim 1 wherein the plant tissue or cells are from mung bean.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง เนื้อเยื่อหรือเซลล์พืชมาจากต้นถั่วเขียว.

2. The method of claim 1 wherein the recombinant DNA comprises a reporter gene.

วิธีการตามข้อถ้อยสิทธิ 1 ที่ซึ่ง recombinant DNA มี reporter gene.

Sarinya Buranajitpakorn

ID.4937330

Faculty of science/ Biotechnology

Mahidol University.