

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015 年 7 月 2 日(02.07.2015)



(10) 国際公開番号

WO 2015/099042 A1

- (51) 国際特許分類:
A01H 5/00 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/084316
- (22) 国際出願日: 2014 年 12 月 25 日(25.12.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2013-273128 2013 年 12 月 27 日(27.12.2013) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): トヨタ自動車株式会社 (TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町 1 番地 Aichi (JP). 国立大学法人東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP). 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 (INCORPORATED ADMINISTRATIVE AGENCY NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION) [JP/JP]; 〒3058517 茨城県つくば市観音台 3-1-1 Ibaraki (JP).
- (72) 発明者; および
- (71) 出願人(米国についてののみ): 大音 徳(OHTO Chikara) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町 1 番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP). 米倉 円佳(YONEKURA Madoka) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町 1 番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP). 青木 直大(AOKI Naohiro) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番

1 号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 大杉立(OHSUGI Ryu) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 廣瀬 竜郎(HIROSE Tatsuro) [JP/JP]; 〒9430193 新潟県上越市稲田 1-2-1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター 北陸研究センター内 Niigata (JP).

(74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI Yusuke et al.); 〒1056232 東京都港区愛宕 2 丁目 5 番 1 号 愛宕グリーンヒルズMORIタワー 3 2 階 Tokyo (JP).

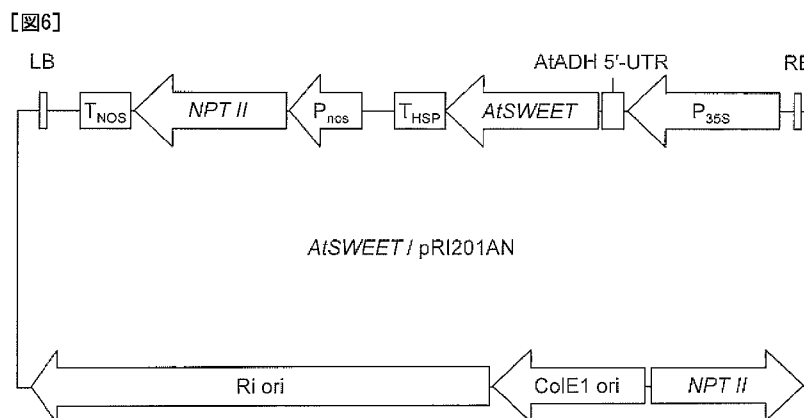
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[続葉有]

(54) Title: TRANSGENIC PLANT AND METHOD FOR PRODUCING SUGAR-CONTAINING EXUDATE BY USING TRANSGENIC PLANT

(54) 発明の名称: 形質転換植物、形質転換植物を用いた糖含有滲出物の製造方法



(57) Abstract: In order to produce an exudate including a high concentration of sugar from a plant, this invention: introduces a nucleic acid encoding a transporter that is related to sugar transportation and that has a predetermined consensus sequence derived from an amino acid sequence of a SWEET protein classified as clade III; and/or enhances the expression of said protein.

(57) 要約: 植物から高濃度の糖を含む滲出物を産生する。クレード III に分類された SWEET タンパク質のアミノ酸配列から導かれる所定のコンセンサス配列を有する糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を導入するか及び/又は当該タンパク質の発現を強化する。



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

形質転換植物、形質転換植物を用いた糖含有滲出物の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、所定の遺伝子を導入することで優れた特性を獲得した形質転換植物及び当該形質転換植物を用いた糖含有滲出物の製造方法に関する。

背景技術

[0002] バイオ燃料やバイオプラスチックの安定的生産には、原料糖の安価且つ安定的供給が望まれる。最も代表的な原料糖は、サトウキビが蓄積する糖である。サトウキビより糖を取り出すには、一般に、所定の収穫時期にサトウキビを伐採し、破碎加工、圧搾、濃縮、精製といった処理が必要となる。また、収穫後の畑地では、新たな栽培のための畑地整備、植え付け、除草剤や防虫剤の散布等の管理作業が必要となる。このように、従来、サトウキビといった植物を用いた原料糖の製造には、製造工程のコストや栽培コストといった多大なコストを要していた。

[0003] 特許文献1には、異種遺伝子を発現可能に導入した植物を使用して当該異種遺伝子によりコードされる異種タンパク質を回収する方法が開示されている。特許文献1に開示された方法では、異種遺伝子を発現可能に導入した植物から滲出物を採取し、採取された滲出物から異種タンパク質を回収する。特許文献1において滲出物としては、根茎の滲出物及び葉の排水組織（hydathode）を介した滲出物として植物から滲出している溢液（guttation）が例示されている。

[0004] 一方、特許文献2及び非特許文献1には、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)やイネ (*Oryza sativa*) について、植物体内の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質が開示されている。特許文献2及び非特許文献1に開示されたトランスポータータンパク質は、GLUEタンパク質又はSWEETタンパク質として知られている。特許文献2及び非特許文献1に開示するトランス

ポータータンパク質をコードする核酸を植物に導入することで、根に対する糖輸送量が向上するとある。

- [0005] また、非特許文献2には、細胞膜小分子トランスポーターを人工的に小胞体 (endoplasmic reticulum; ER) に局在させ、ERでの小分子トランスポーター活性を測定することで細胞膜トランスポーターの機能の確認をしている。特にグルコーストランスポーターGLUTs、SGLTsについて、ERに局在させFRET (Forster resonance energy transferまたはfluorescence resonance energy transfer) 法を用いてそれらのもとの機能を類推している。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特表2002-501755号公報
特許文献2：特表2012-525845号公報

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：Nature (2010) 468, 527-534
非特許文献2：FASEB J. (2010) 24, 2849-2858

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 以上のように、植物を用いて糖を製造するにはコストの増大が非常に大きな問題としてあるが、植物由来の滲出物に糖を高濃度で含ませることができれば、滲出物を採取することで上述の問題を解決できる。特許文献1には異種タンパク質を滲出物から回収することが開示されるものの、滲出物から糖を回収する技術を開示するものではない。特許文献2及び非特許文献1には、糖輸送に関与するSWEETと名付けられたトランスポータータンパク質及びそれらをコードする核酸が開示されるものの、これらトランスポータータンパク質やそれらをコードする核酸と滲出物における糖含量との関係を開示するものではない。

- [0009] そこで、本発明は、上述した実情に鑑み、高濃度の糖を含む滲出物を産生

する形質転換植物及び当該形質転換植物を用いた糖の製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0010] 上述した目的を達成するために本発明者らが鋭意検討した結果、所定の群（クレード）に含まれるSWEETタンパク質をコードする核酸を導入し、当該タンパク質の発現を強化した形質転換植物においては、滲出物の糖含量が非常に高いことを見だし、本発明を完成するに至った。

[0011] 本発明は以下を包含する。

（１）以下のアミノ酸配列：(L/I/V/M/F)_x(G/A)_{xx}(I/L/V/M/F)_{xxxx}(L/I/V/F)(A/S)(P/S)(1-3aa)(P/S/T/A)T(F/L)_{xx}(I/V)_{xxx}KxxxxxxxxxPYxxx(L/I)_{xxxx}(L/I)_x(I/L/M/V/F)_xY(A/S/G)(7-13aa)(I/L/V/M)(1-2aa)(I/V)_{Nxxxxxx}(E/Q)_{xx}Yxxx(Y/F)_{xx}(Y/F)(A/G/S)(35-36aa)(R/Q/H)_{xxxx}Gx(V/I/L)_{xxxxx}(V/M/L/I/F)_{xxxx}(A/S/T)P(L/M)_x(I/V)(I/M/V/L)(2-7aa)(V/I)(V/I/M)_x(T/S)_x(S/N)_{xx}(F/Y)(M/L)(P/S)(F/I/V/L)_xLSxx(L/I)(T/V)_{xx}(A/G)_{xx}W(F/L)_xYGxxxxDxx(V/I)_{xx}PNxxGxx(F/L)(G/S)_{xx}Q(M/I)_x(L/M/I/V/F)(Y/H/F)を含む共通配列を有する、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を導入する及び/又は当該タンパク質の発現を強化した形質転換植物又は形質転換植物細胞。

（２）上記トランスポータータンパク質は、SWEETタンパク質のアミノ酸配列に基づく分類群であるクレードI～VのうちクレードIIIに属するタンパク質であることを特徴とする（１）記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

（３）上記トランスポータータンパク質は、以下の（a）又は（b）のタンパク質であることを特徴とする（１）記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

（a）配列番号15～137のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

（b）配列番号15～137のいずれかのアミノ酸配列に対して90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質

（４）上記共通配列は、以下のアミノ酸配列：G(L/I/V/F/M)_xGx(I/V/L)(I/

V/L)(S/T)xxxxL(A/S)P(L/V/I/M)(P/S/T/A)TFxx(I/V)x(K/R)xK(S/T)xxx(F/Y)x
 (S/A)xPYxx(A/S/T)LxSxxLx(L/I/M/V)(Y/F)Y(A/G)(7-9aa)(L/I)(I/V/L)(T/S)I
 Nxx(G/A)xx(I/V/M)(E/Q)xxYxxx(F/Y)(L/I/V/F)x(Y/F)Ax(K/R/N)xxxxx(T/A)(7
 -8aa)(V/F/L/I/M)(18-19aa)(R/Q/H)xxxxGx(I/V)xxxxx(V/I/L/M)x(V/M)F(A/V)
 (A/S/T)PLx(I/V)(I/M/V/L)xxV(I/V)(K/R/Q)(T/S)(K/R)S(V/A)x(F/Y)MP(F/I/L
)xLS(L/F/V)xL(T/V)(L/I)xAxxW(F/L)xYG(L/F)xxxDxx(V/I)xxPNxxGxx(L/F)(G/
 S)xxQMx(L/V/I)(Y/F)xx(Y/F)を含むことを特徴とする(1)記載の形質転換
 植物又は形質転換植物細胞。

(5) 上記トランスポータータンパク質は、以下の(a)又は(b)のタンパク質であることを特徴とする(4)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号15～35のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号15～35のいずれかのアミノ酸配列に対して90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質

(6) 上記共通配列は、以下のアミノ酸配列：(A/V)xxxG(I/L/V)xGN(I/L/V)
)(I/L/V)S(F/L)x(V/T)xL(A/S)P(V/L/I)(P/A)TFxx(I/V)x(K/R)xK(S/T)xx(G/S)
 (F/Y)(Q/S/E)SxPYxx(A/S/T)LxS(A/C/S)xLx(L/I/M)(Y/F)Y(A/G)xx(K/T)(3-5aa)
)(L/M/P)(L/I)(I/L/V)(T/S)INxx(G/A)xx(I/V)(E/Q)xxY(I/L)x(L/M/V/I)(F/Y)
 (L/I/V/F)x(Y/F)Ax(K/R)xxxxx(T/A)xx(L/M/F/V/I)(L/F/V/I)xxx(N/D)(F/V/I/
 L)xx(F/L)xx(I/L/V)xxxxxx(L/I/V)(5-6aa)(R/Q)xxxxGx(I/V)xxxx(S/A)(V/L/M)
)(C/S/A)VF(A/V)(A/S)PLx(I/V)(I/M/V)xxV(I/V)(K/R/Q)(T/S)(K/R)S(V/A)E(F
 /Y)MP(F/I)xLS(L/F/V)xL(T/V)(L/I)(S/N)A(V/I)xW(F/L)xYGLxx(K/N)Dxx(V/I)
 xxPN(V/I)xGxx(F/L)(G/S)xxQMxL(Y/F)xx(Y/F)を含むことを特徴とする(1)
 記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(7) 上記トランスポータータンパク質は、以下の(a)又は(b)のタンパク質であることを特徴とする(6)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号 15～26 のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号 15～26 のいずれかのアミノ酸配列に対して 90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質

(8) 上記共通配列は、以下のアミノ酸配列：(M/L/V)_{xx}(T/K/N/S)_{xxxx}A_{xx}FG(L/I/V)LGN(I/L/V)(I/V)SF_xV_xL(S/A)P(V/I)PTF_{xx}I_xK(K/R)K(S/T)_x(E/K)(G/S)(F/Y)(Q/E)S(I/L)PY_{xx}(A/S)L_xS(A/C)_xL_x(L/I/M)YY(A/G)_{xx}K(4-5aa)(L/M)(L/I)(I/V)(T/S)IN(A/S/T)(F/V)(G/A)_x(F/V)(I/V)(E/Q)_{xx}Y(I/L)_x(L/M/I)(F/Y)(F/V/I/L)_x(Y/F)A_x(K/R)_{xx}(R/K)_{xx}(T/A)(L/V/M)K(V/L/M/F)(L/I/V/F)_{xxx}(N/D)(F/V/I)_{xx}(F/L)_{xx}(I/L)(L/I/V/F)(L/M/V)(L/V)_{xx}(F/L)(L/I/V)(5-6aa)(R/Q)_x(K/S/Q)_x(L/I/V)G_x(I/V)C_{xxx}(S/A)(V/L)(S/C/A)VF(A/V)(A/S)PL_x(I/V)(M/I/V)_{xx}V(I/V)(K/R)T(K/R)S(V/A)E(Y/F)MPF_xLS(L/F)_xLT(I/L)(S/N)A(V/I)_xW(L/F)_xYGL_x(L/I)(K/N)D_{xx}(V/I)A(L/F/I/M)PN(V/I)(L/I/V)G_{xx}(L/F)G_{xx}QM(I/V)L(Y/F)(V/L/I/M)(V/L/I/M)(Y/F)(K/R/Q)を含むことを特徴とする(1)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(9) 上記トランスポータータンパク質は、以下の(a)又は(b)のタンパク質であることを特徴とする(8)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号 15～21 のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号 15～21 のいずれかのアミノ酸配列に対して 90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質

(10) 顕花植物であることを特徴とする(1)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(11) 上記顕花植物が被子植物であることを特徴とする(10)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(12) 上記被子植物が単子葉植物であることを特徴とする(11)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(13) 上記単子葉植物がイネ科植物であることを特徴とする(12)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(14) 上記イネ科植物がOryza属植物であることを特徴とする(13)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(15) 上記被子植物が双子葉植物であることを特徴とする(11)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(16) 上記双子葉植物がアブラナ科植物であることを特徴とする(15)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(17) 上記アブラナ科植物がArabidopsis属植物であることを特徴とする(16)記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(18) 上記(1)乃至(17)いずれかに記載の形質転換植物を栽培し、当該形質転換植物から滲出物を採取する工程を含む滲出物の製造方法。

(19) 上記形質転換植物を栽培する栽培条件を相対湿度80%RH以上とすることを特徴とする(18)記載の滲出物の製造方法。

(20) 上記滲出物が排水液であることを特徴とする(18)記載の滲出物の製造方法。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2013-273128号の明細書及び/又は図面に記載される内容を包含する。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、植物由来の滲出物における糖含量を大幅に向上させることができる。すなわち、本発明に係る形質転換植物は、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を導入するか及び/又は当該タンパク質の発現を強化することで、高糖含量といった特徴を有する滲出物を産生することができる。また、本発明に係る滲出物の製造方法は、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を導入するか及び/又は当該タンパク質の発現を強化した形質転換植物を利用することで、高糖含量の滲出物を製造することができる。さらに、上記形質転換植物から採取した滲出物は高糖含量であるため、アルコール、有機酸、アル

カン及びテルペノイド等を製造する際の原料として使用することができる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1-1]非特許文献1 (Nature (2010) 468, 527-532) で規定されたクレード IIIに属するSWEETタンパク質のアミノ酸配列を米国生物学情報センター (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 提供のデータベースGenBankから収集し、そのアミノ酸配列情報に基づいて作成した系統樹の概略図である。

[図1-2]図1-1に示した系統樹の部分領域を拡大して示す図である。

[図1-3]図1-1に示した系統樹の部分領域を拡大して示す図である。

[図2-1]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果を示す図である。

[図2-2]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-1の下に続く図である。

[図2-3]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-2の下に続く図である。

[図2-4]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-1の右に続く図である。

[図2-5]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-2の右に続く図である。

[図2-6]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-3の右に続く図である。

[図2-7]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-4の右に続く図である。

[図2-8]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-5の右に続く図である。

[図2-9]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-6の右に続く図である。

[図2-10]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライ

メント解析の結果であり、図2-7の右に続く図である。

[図2-11]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-8の右に続く図である。

[図2-12]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-9の右に続く図である。

[図2-13]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-10の右に続く図である。

[図2-14]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-11の右に続く図である。

[図2-15]図1-1に示した系統樹に含まれるタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図2-12の右に続く図である。

[図3-1]非特許文献1 (Nature (2010) 468, 527-532) でクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質のアミノ酸配列のマルチプルアライメント解析の結果を示す図である。

[図3-2]非特許文献1 (Nature (2010) 468, 527-532) でクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質のアミノ酸配列のマルチプルアライメント解析の結果であり、図3-1の下に続く図である。

[図3-3]非特許文献1 (Nature (2010) 468, 527-532) でクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質のアミノ酸配列のマルチプルアライメント解析の結果であり、図3-2の下に続く図である。

[図4-1]当該クレードIIIのうちシロイヌナズナ由来SWEETタンパク質及びイネ由来SWEETタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果を示す図である。

[図4-2]当該クレードIIIのうちシロイヌナズナ由来SWEETタンパク質及びイネ由来SWEETタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果であり、図4-1の下に続く図である。

[図5]当該クレードIIIのうちシロイヌナズナ由来SWEETタンパク質のマルチプルアライメント解析の結果を示す図である。

[図6]実施例で作製した核酸AtSWEET/pRI201ANの物理地図を模式的に示す構成

図である。

[図7]シロイヌナズナにおいて実施例に記載した条件で、排水液を産生している部分を撮像した写真である。

[図8]実施例で作製した核酸pZH2B_GW0x_AtSWEET11及びpZH2B_GW0x_AtSWEET12の物理地図を模式的に示す構成図である。

[図9]イネにおいて、実施例に記載した条件で排水液を産生している部分を撮像した写真である。

発明を実施するための形態

[0014] 以下、本発明を詳細に説明する。

本発明では特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を細胞内へ導入するか及び／又は当該タンパク質の発現を強化する。これにより当該核酸を細胞内へ導入した及び／又は当該タンパク質の発現を強化した形質転換植物からは、高糖濃度の滲出物を採取することができき。ここで、滲出物とは、植物の組織から外部へとしみだす液体を意味し、例えば、根滲出液や、種子滲出液、排水組織からしみだす排水液を含む意味である。なお、排水組織 (hydathode) から液体がしみだす現象は、溢液現象 (guttation) とも称される。よって、排水液と溢液とは同義である。排水液特に、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を細胞内へ導入するか及び／又は当該タンパク質の発現を強化した形質転換植物は、高糖濃度の排水液を産生することができる。

[0015] なお、本明細書において核酸とは、DNA及びRNAといった天然に存在する核酸、PNA (ペプチド核酸) や塩基・糖・リン酸ジエステル部に化学修飾を加えた核酸分子などの人工核酸を含む意味である。また、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸としては、ゲノムに存在する遺伝子及び当該遺伝子の転写産物の両者を含む意味である。

[0016] また、本明細書において糖とは $C_n(H_2O)_n$ の化学式であらわされる物質で、多価アルコールのアルデヒド、ケトン誘導体、それらに近縁の誘導体や縮合体を含め、多糖・オリゴ糖 (少糖) ・二糖・単糖も含む意味である。糖の還元

基にアルコール、フェノール、サポニン、色素などのアグリコンが結合した配糖体でも良い。単糖は炭素数に基づきトリオース、テトロース、ヘキソースやペントースなどと分類されることもあり、分子内の官能基に基づきアルデヒド基を有するアルドースやケトン基を有するケトースなどと分類されることがある。糖は、アルデヒド基やケトン基から最も離れた不斉炭素の立体配置によりD系列とL系列と区別されることもある。単糖の具体的な例としては、グルコース（ブドウ糖）、フルクトース（果糖）、ガラクトース、マンノース、キシロース、キシルロース、リボース、エリトロース、トレオース、エリトルロース、グリセルアルデヒド、ジヒドロキシアセトンなどが挙げられ、二糖の具体的な例としては、スクロース（サッカロース・蔗糖）、ラクトース（乳糖）、マルトース（麦芽糖）、トレハロース、セロビオースなどが挙げられる。

[0017] 本発明が適用される植物は、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を細胞内へ導入するか及び／又は当該タンパク質の発現を強化することで排水液等の滲出物に含まれる糖量が、野生型と比較して有意に向上している。上記タンパク質は、植物組織の細胞全体に亘って発現させたものであっても良いが、植物組織の少なくとも一部の細胞に対して発現させたものであっても良い。ここで植物組織とは、葉、茎、種子、根及び花等の植物器官を含む意味である。本発明において核酸を導入するとは、トランスポータータンパク質をコードする核酸の細胞あたりの分子数を野生型における分子数と比較して有意に大とすることと同義である。また、本発明において、トランスポータータンパク質の発現を強化するとは、トランスポータータンパク質をコードする核酸の発現制御領域を改変すること及び／又は当該核酸そのものを細胞内に注入することで、転写産物や翻訳産物の発現量を向上させることを意味する。

[0018] 糖輸送に関与するトランスポータータンパク質遺伝子

上述した「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸」とは、以下のアミノ酸配列：(L/I/V/M/F)_x(G/A)_{xx}(I/L/V/M/F)_{xxx}

x(L/I/V/F)(A/S)(P/S)(1-3aa)(P/S/T/A)T(F/L)xx(I/V)xxxKxxxxxxxxxPYxxx(L/I)xxxx(L/I)x(I/L/M/V/F)xY(A/S/G)(7-13aa)(I/L/V/M)(1-2aa)(I/V)Nxxxxxx(E/Q)xxYxxx(Y/F)xx(Y/F)(A/G/S)(35-36aa)(R/Q/H)xxxxGx(V/I/L)xxxxx(V/M/L/I/F)xxxx(A/S/T)P(L/M)x(I/V)(I/M/V/L)(2-7aa)(V/I)(V/I/M)x(T/S)x(S/N)xx(F/Y)(M/L)(P/S)(F/I/V/L)xLSxx(L/I)(T/V)xx(A/G)xxW(F/L)xYGxxxxDxx(V/I)xxPNxxGxx(F/L)(G/S)xxQ(M/I)x(L/M/I/V/F)(Y/H/F)を含む共通配列1を有する、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする。

[0019] 上記アミノ酸配列において、xは任意のアミノ酸残基を示している。当該アミノ酸配列において、-で連結した2つの数値とaaからなる表記は、その位置が任意のアミノ酸からなる配列であり、その配列が当該2つの数値で挟まれる範囲のアミノ酸残基数からなることを示している。当該アミノ酸配列において、括弧内で複数のアミノ酸を/で区切って示した表記は、その位置が当該複数のアミノ酸のうちいずれかのアミノ酸であることを示している。なお、本明細書に記載するアミノ酸配列については、この表記方法を採用する。

[0020] また、上記アミノ酸配列については、N末端からC末端にかけて、配列番号1のアミノ酸配列、1〜3個の任意のアミノ酸残基、配列番号2のアミノ酸配列、7〜13個の任意のアミノ酸残基、配列番号3のアミノ酸配列、I/L/V/Mのうちいずれかのアミノ酸残基、1〜2個のアミノ酸残基、配列番号4のアミノ酸配列、2〜7個のアミノ酸残基及び配列番号5のアミノ酸配列がこの順で連結したアミノ酸配列であると言い換えることができる。

[0021] なお、Nature (2010) 468, 527-534のSupplementary Figure 8には、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質SWEETに関してアミノ酸配列に基づいた系統樹が開示されている。本文献では、シロイヌナズナ由来SWEETタンパク質、イネ由来SWEETタンパク質、ウマゴヤシ由来SWEETタンパク質、コナミドリムシ (*Chlamydomonas reinhardtii*) 由来SWEETタンパク質、ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) 由来SWEETタンパク質、ペチュニア (*Petunia hybrida*) 由来SWEETタンパク質、センチュウ (*Caenorhabditis elegans*) 由来SWEETタンパク質、哺乳類由来SWEETタンパク質について開示している。

この系統樹によれば、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質であるSWEETは、アミノ酸配列の類似性に基づいてクレードI～Vの5つに分類されることが理解できる。

[0022] 本文献に開示された糖輸送に関与するトランスポータータンパク質SWEETのうち、シロイヌナズナ由来SWEETタンパク質、イネ由来SWEETタンパク質、及び上ウマゴヤシSWEETタンパク質とペチュニアSWEETタンパク質について、Gen Bank ID番号、ゲノムデータから算出されているタンパク質コード領域のIndex (Index in the Genome)、遺伝子名、タンパク質名、タンパク質略号、SWEETタンパク質クレード番号及び由来生物種の対応を下記表1に示す。

[0023]

[表1]

GenBank (NCBI) ID No. #1	GenBank (NCBI) ID No. #2	Index in the Genome	Gene Name	Encoded Protein	Abbreviation of Encoded Protein	SWEET Clade	Organism
NP_564140	SWET1_ARATH	At1g21460	<i>AtSWEET1</i>	AtSWEET1	AtSW01	I	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_566493	SWET2_ARATH	At3g14770	<i>AtSWEET2</i>	AtSWEET2	AtSW02	I	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_200131	SWET3_ARATH	At5g53190	<i>AtSWEET3</i>	AtSWEET3	AtSW03	I	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_566829	SWET4_ARATH	At3g28007	<i>AtSWEET4</i>	AtSWEET4	AtSW04	II	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_201091	SWET5_ARATH	At5g52850	<i>AtSWEET5</i>	AtSWEET5	AtSW05	II	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_176849	SWET6_ARATH	At1g56770	<i>AtSWEET6</i>	AtSWEET6	AtSW06	II	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_567366	SWET7_ARATH	At4g10850	<i>AtSWEET7</i>	AtSWEET7	AtSW07	II	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_568579	SWET8_ARATH	At5g40260	<i>AtSWEET8</i>	AtSWEET8	AtSW08	II	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_181439	AAM63257	At2g39060	<i>AtSWEET9</i>	AtSWEET9	AtSW09	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_199892	AED95992	At5g50790	<i>AtSWEET10</i>	AtSWEET10	AtSW10	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_190443	AEE78451	At3g48740	<i>AtSWEET11</i>	AtSWEET11	AtSW11	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_197755	AED93195	At5g23660	<i>AtSWEET12</i>	AtSWEET12	AtSW12	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_199893	AED95993	At5g50800	<i>AtSWEET13</i>	AtSWEET13	AtSW13	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_194231	AEE84991	At4g25010	<i>AtSWEET14</i>	AtSWEET14	AtSW14	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_196821	AED91859	At5g13170	<i>AtSWEET15</i>	AtSWEET15	AtSW15	III	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_188291	SWT16_ARATH	At3g16690	<i>AtSWEET16</i>	AtSWEET16	AtSW16	IV	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_193327	SWT17_ARATH	At4g15920	<i>AtSWEET17</i>	AtSWEET17	AtSW17	IV	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NP_001044998	SWT1A_ORYSJ	Os01g0881300	<i>OsSWEET1a</i>	OsSWEET1a	OsSW01a	I	<i>Oryza sativa</i>
NP_001055599	SWT1B_ORYSJ	Os05g0426000	<i>OsSWEET1b</i>	OsSWEET1b	OsSW01b	I	<i>Oryza sativa</i>
NP_001043270	SWT2A_ORYSJ	Os01g0541800	<i>OsSWEET2a</i>	OsSWEET2a	OsSW02a	I	<i>Oryza sativa</i>
NP_001043993	SWT2B_ORYSJ	Os01g0700100	<i>OsSWEET2b</i>	OsSWEET2b	OsSW02b	I	<i>Oryza sativa</i>
NP_001054926	SWT3A_ORYSJ	Os05g0214300	<i>OsSWEET3a</i>	OsSWEET3a	OsSW03a	I	<i>Oryza sativa</i>
NP_001042428	SWT3B_ORYSJ	Os01g0220700	<i>OsSWEET3b</i>	OsSWEET3b	OsSW03b	I	<i>Oryza sativa</i>
NP_001046621	SWT4_ORYSJ	Os02g0301100	<i>OsSWEET4</i>	OsSWEET4	OsSW04	II	<i>Oryza sativa</i>
NP_001056475	SWT5_ORYSJ	Os05g0588500	<i>OsSWEET5</i>	OsSWEET5	OsSW05	II	<i>Oryza sativa</i>
NP_001043523	SWT6A_ORYSJ	Os01g0606000	<i>OsSWEET6a</i>	OsSWEET6a	OsSW06a	II	<i>Oryza sativa</i>
NP_001043522	SWT6B_ORYSJ	Os01g0605700	<i>OsSWEET6b</i>	OsSWEET6b	OsSW06b	II	<i>Oryza sativa</i>
NP_001062690	SWT7A_ORYSJ	Os09g0254600	<i>OsSWEET7a</i>	OsSWEET7a	OsSW07a	II	<i>Oryza sativa</i>
NP_001062702	SWT7B_ORYSJ	Os09g0258700	<i>OsSWEET7b</i>	OsSWEET7b	OsSW07b	II	<i>Oryza sativa</i>
SWT7C_ORYSJ		Os12g0178500	<i>OsSWEET7c</i>	OsSWEET7c	OsSW07c	II	<i>Oryza sativa</i>
NP_001062354	-	Os08g0535200	<i>OsSWEET11</i>	OsSWEET11	OsSW11	III	<i>Oryza sativa</i>
NP_001050099	-	Os03g0347500	<i>OsSWEET12</i>	OsSWEET12	OsSW12	III	<i>Oryza sativa</i>
SWT13_ORYSJ	-	Os12g0476200	<i>OsSWEET13</i>	OsSWEET13	OsSW13	III	<i>Oryza sativa</i>
NP_001067955	-	Os11g0508600	<i>OsSWEET14</i>	OsSWEET14	OsSW14	III	<i>Oryza sativa</i>
NP_001046944	-	Os02g0513100	<i>OsSWEET15</i>	OsSWEET15	OsSW15	III	<i>Oryza sativa</i>
NP_001050071	SWT16_ORYSJ	Os03g0341300	<i>OsSWEET16</i>	OsSWEET16	OsSW16	IV	<i>Oryza sativa</i>
XP_003617528	-	Medtr5g092600	<i>MtSWEET9</i>	MtSWEET9	MtSW09	III	<i>Medicago truncatula</i>
XP_003602780	-	Medtr3g098930	<i>MtSWEET10a</i>	MtSWEET10a	MtSW10a	III	<i>Medicago truncatula</i>
AFK35161	-	-	<i>MtSWEET10b</i>	MtSWEET10b	MtSW10b	III	<i>Medicago truncatula</i>
CAC44123	-	-	<i>MtSWEET10c</i>	MtSWEET10c	MtSW10c	III	<i>Medicago truncatula</i>
NOD3_MEDTR	-	-	<i>NOD3</i>	MtSWEET15a	MtSW15a	III	<i>Medicago truncatula</i>
XP_003620983	-	Medtr7g005650	<i>MtSWEET15b</i>	MtSWEET15b	MtSW15b	III	<i>Medicago truncatula</i>
XP_003615405	-	Medtr5g067530	<i>MtSWEET15c</i>	MtSWEET15c	MtSW15c	III	<i>Medicago truncatula</i>
XP_003593107	-	Medtr2g007890	<i>MtSWEET15d</i>	MtSWEET15d	MtSW15d	III	<i>Medicago truncatula</i>
NEC1_PETHY	-	-	<i>NEC1</i>	PhNEC1	PhNEC1	III	<i>Petunia hybrida</i>

[0024] なお、本明細書中でAtSWEETと記載する場合は表1中のAtSWEET1、AtSWEET2、AtSWEET3、AtSWEET4、AtSWEET5、AtSWEET6、AtSWEET7、AtSWEET8、AtSWEET9、AtSWEET10、AtSWEET11、AtSWEET12、AtSWEET13、AtSWEET14、AtSWEET15、AtSWEET16及びAtSWEET17を指し、OsSWEETと記載する場合は表1中のOsSWEET1a、OsSWEET1b、OsSWEET2a、OsSWEET2b、OsSWEET3a、OsSWEET3b、OsSWEET4、OsSWEET5、OsSWEET6a、OsSWEET6b、OsSWEET7a、OsSWEET7b、OsSWEET7c、Os

SWEET11、OsSWEET12、OsSWEET13、OsSWEET14、OsSWEET15及びOsSWEET16を指す。

[0025] 上述した共通配列1は、上記文献で規定されたクレードIIIに属するSWEETタンパク質のアミノ酸配列をGenBankデータベースから収集し、そのアミノ酸配列情報に基づいて、ClustalWによる系統樹（図1-1～図1-3）及びマルチプルアラインメント（図2-1～図2-15）を作成し、作成した系統樹及びマルチプルアラインメントから導き出されるアミノ酸配列である。すなわち、上述した共通配列1を有する糖輸送に関与するトランスポータータンパク質とは、上記文献においてクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質を含み、上記文献においてクレードI、II、IV及びVのいずれかに分類されたSWEETタンパク質は含まれない。言い換えると、上述した共通配列1は、上記文献においてクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質及びGenBankデータベースから収集したクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質に特徴的な配列であって、上記文献においてクレードI、II、IV及びVの各グループとの明確な区別基準となる配列である。

[0026] なお、図1-1には系統樹の全体像を示しており、図1-2～図1-3には図1-1に示した全体像の部分領域を拡大して示している。図1-1に示した全体像にはGenBank IDやタンパク質名等が記載されていないが、図1-2～図1-3に示した部分領域にはGenBank IDやタンパク質名等を記載している。

[0027] 具体的に、クレードIIIには、図1-1～1-3に示すように、表1に示したシロイヌナズナ、イネ、ウマゴヤシ及びペチュニア以外にも、ダイズ (*Glycine max*)、ミヤコグサ (*Lotus japonicus*)、トマト (*Solanum lycopersicum*)、トウガラシ (*Capsicum annuum*)、ヒヨコマメ (*Cicer arietinum*)、キュウリ (*Cucumis sativus*)、モモ (*Prunus persica*)、イチゴ (*Fragaria vesca*)、ブドウ (*Vitis vinifera*)、ナズナ (*Capsella rubella*)、ポプラ (*Populus trichocarpa*)、トウゴマ・ヒマ (*Ricinus communis*)、トウモロコシ (*Zea mays*)、モロコシ・ソルガム (*Sorghum bicolor*)、タルホコム

ギ (*Aegilops tauschii*)、ミナトカモジグサ (*Brachypodium distachyon*)、ウラルツコムギ (*Triticum urartu*)、オオムギ (*Hordeum vulgare*) 等由来のSWEETタンパク質が含まれている。

[0028] これらクレードIIIに含まれるSWEETタンパク質のうち、表1に示したシロイヌナズナ、イネ、ウマゴヤシ及びペチュニア由来のSWEETタンパク質について、GenBank ID番号、遺伝子名、由来生物種及びアミノ酸配列の配列番号の対応を下記表2に示す。

[0029] [表2]

GenBank ID	遺伝子名	由来生物種	アミノ酸配列 配列番号
NP_181439	<i>AtSWEET9</i>	シロイヌナズナ	配列番号 1 5
NP_199892	<i>AtSWEET10</i>	シロイヌナズナ	配列番号 1 6
NP_190443	<i>AtSWEET11</i>	シロイヌナズナ	配列番号 1 7
NP_197755	<i>AtSWEET12</i>	シロイヌナズナ	配列番号 1 8
NP_199893	<i>AtSWEET13</i>	シロイヌナズナ	配列番号 1 9
NP_194231	<i>AtSWEET14</i>	シロイヌナズナ	配列番号 2 0
NP_196821	<i>AtSWEET15</i>	シロイヌナズナ	配列番号 2 1
NP_001062354	<i>OsSWEET11</i>	イネ	配列番号 2 2
NP_001050099	<i>OsSWEET12</i>	イネ	配列番号 2 3
SWT13_ORYSJ	<i>OsSWEET13</i>	イネ	配列番号 2 4
NP_001067955	<i>OsSWEET14</i>	イネ	配列番号 2 5
NP_001046944	<i>OsSWEET15</i>	イネ	配列番号 2 6
XP_003617528	<i>MtSWEET9</i>	ウマゴヤシ	配列番号 2 7
XP_003602780	<i>MtSWEET10a</i>	ウマゴヤシ	配列番号 2 8
AFK35161	<i>MtSWEET10b</i>	ウマゴヤシ	配列番号 2 9
CAC44123	<i>MtSWEET10c</i>	ウマゴヤシ	配列番号 3 0
NOD3_MEDTR	<i>NOD3</i>	ウマゴヤシ	配列番号 3 1
XP_003620983	<i>MtSWEET15b</i>	ウマゴヤシ	配列番号 3 2
XP_003615405	<i>MtSWEET15c</i>	ウマゴヤシ	配列番号 3 3
XP_003593107	<i>MtSWEET15d</i>	ウマゴヤシ	配列番号 3 4
NEC1_PETHY	<i>NEC1</i>	ペチュニア	配列番号 3 5

[0030] また、シロイヌナズナ、イネ、ウマゴヤシ及びペチュニア以外の生物種由来であって、図1-1～1-3に示したSWEETタンパク質について、GenBank ID番号、由来生物種及びアミノ酸配列の配列番号の対応を下記表3、4及び

5 に示す。

[0031]

[表3]

GenBank ID	由来生物種	アミノ酸配列 配列番号
ACV71016	Capsicum annuum	配列番号 3 6
AFK39311	Lotus japonicus	配列番号 3 7
AFK48645	Lotus japonicus	配列番号 3 8
AFW71563	Zea mays	配列番号 3 9
AFW88409	Zea mays	配列番号 4 0
BAJ85621	Hordeum vulgare	配列番号 4 1
BAJ94651	Hordeum vulgare	配列番号 4 2
BAJ99068	Hordeum vulgare	配列番号 4 3
BAK07340	Hordeum vulgare	配列番号 4 4
CBI15715	Vitis vinifera	配列番号 4 5
CBI32263	Vitis vinifera	配列番号 4 6
EAZ09693	Oryza sativa Indica	配列番号 4 7
EMJ01437	Prunus persica	配列番号 4 8
EMJ10621	Prunus persica	配列番号 4 9
EMJ23678	Prunus persica	配列番号 5 0
EMS45810	Triticum urartu	配列番号 5 1
EMS46194	Triticum urartu	配列番号 5 2
EMS51422	Triticum urartu	配列番号 5 3
EMT09236	Aegilops tauschii	配列番号 5 4
EMT11081	Aegilops tauschii	配列番号 5 5
EMT20480	Aegilops tauschii	配列番号 5 6
EMT20481	Aegilops tauschii	配列番号 5 7
EMT20808	Aegilops tauschii	配列番号 5 8
EMT31030	Aegilops tauschii	配列番号 5 9
EMT31640	Aegilops tauschii	配列番号 6 0
EOA14646	Capsella rubella	配列番号 6 1
EOA14916	Capsella rubella	配列番号 6 2
EOA17919	Capsella rubella	配列番号 6 3
EOA21276	Capsella rubella	配列番号 6 4
EOA22072	Capsella rubella	配列番号 6 5
EOA24501	Capsella rubella	配列番号 6 6
EOA28959	Capsella rubella	配列番号 6 7
NP_001132836	Zea mays	配列番号 6 8
NP_001141106	Zea mays	配列番号 6 9
NP_001141654	Zea mays	配列番号 7 0
NP_001148964	Zea mays	配列番号 7 1

[0032] [表4]

GenBank ID	由来生物種	アミノ酸配列 配列番号
NP_001149028	<i>Zea mays</i>	配列番号 7 2
NP_001237418	<i>Glycine max</i>	配列番号 7 3
NP_001239695	<i>Glycine max</i>	配列番号 7 4
NP_001241307	<i>Glycine max</i>	配列番号 7 5
NP_001242732	<i>Glycine max</i>	配列番号 7 6
XP_002264875	<i>Vitis vinifera</i>	配列番号 7 7
XP_002267792	<i>Vitis vinifera</i>	配列番号 7 8
XP_002284244	<i>Vitis vinifera</i>	配列番号 7 9
XP_002299333	<i>Populus trichocarpa</i>	配列番号 8 0
XP_002321730	<i>Populus trichocarpa</i>	配列番号 8 1
XP_002321731	<i>Populus trichocarpa</i>	配列番号 8 2
XP_002322281	<i>Populus trichocarpa</i>	配列番号 8 3
XP_002333315	<i>Populus trichocarpa</i>	配列番号 8 4
XP_002442119	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 8 5
XP_002443167	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 8 6
XP_002444688	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 8 7
XP_002450786	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 8 8
XP_002453892	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 8 9
XP_002462642	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 9 0
XP_002465280	<i>Sorghum bicolor</i>	配列番号 9 1
XP_002511126	<i>Ricinus communis</i>	配列番号 9 2
XP_002511127	<i>Ricinus communis</i>	配列番号 9 3
XP_002511128	<i>Ricinus communis</i>	配列番号 9 4
XP_002514863	<i>Ricinus communis</i>	配列番号 9 5
XP_002520679	<i>Ricinus communis</i>	配列番号 9 6
XP_002862913	<i>Arabiopsis lyrata</i>	配列番号 9 7
XP_003518628	<i>Glycine max</i>	配列番号 9 8
XP_003523161	<i>Glycine max</i>	配列番号 9 9
XP_003524088	<i>Glycine max</i>	配列番号 1 0 0
XP_003530901	<i>Glycine max</i>	配列番号 1 0 1
XP_003547573	<i>Glycine max</i>	配列番号 1 0 2
XP_003561640	<i>Brachypodium distachyon</i>	配列番号 1 0 3
XP_003572455	<i>Brachypodium distachyon</i>	配列番号 1 0 4
XP_003575028	<i>Brachypodium distachyon</i>	配列番号 1 0 5
XP_003576036	<i>Brachypodium distachyon</i>	配列番号 1 0 6
XP_003576225	<i>Brachypodium distachyon</i>	配列番号 1 0 7

[0033] [表5]

GenBank ID	由来生物種	アミノ酸配列 配列番号
XP_003578398	Brachypodium distachyon	配列番号 1 0 8
XP_004138032	Cucumis sativus	配列番号 1 0 9
XP_004138250	Cucumis sativus	配列番号 1 1 0
XP_004138978	Cucumis sativus	配列番号 1 1 1
XP_004138979	Cucumis sativus	配列番号 1 1 2
XP_004140547	Cucumis sativus	配列番号 1 1 3
XP_004145146	Cucumis sativus	配列番号 1 1 4
XP_004153501	Cucumis sativus	配列番号 1 1 5
XP_004161952	Cucumis sativus	配列番号 1 1 6
XP_004235326	Solanum lycopersicum	配列番号 1 1 7
XP_004235333	Solanum lycopersicum	配列番号 1 1 8
XP_004235334	Solanum lycopersicum	配列番号 1 1 9
XP_004235339	Solanum lycopersicum	配列番号 1 2 0
XP_004235340	Solanum lycopersicum	配列番号 1 2 1
XP_004235342	Solanum lycopersicum	配列番号 1 2 2
XP_004235470	Solanum lycopersicum	配列番号 1 2 3
XP_004241452	Solanum lycopersicum	配列番号 1 2 4
XP_004247459	Solanum lycopersicum	配列番号 1 2 5
XP_004297511	Fragaria vesca	配列番号 1 2 6
XP_004297512	Fragaria vesca	配列番号 1 2 7
XP_004301046	Fragaria vesca	配列番号 1 2 8
XP_004302124	Fragaria vesca	配列番号 1 2 9
XP_004489106	Cicer arietinum	配列番号 1 3 0
XP_004503778	Cicer arietinum	配列番号 1 3 1

[0034] なお、表 2 ～ 5 に示した各種生物由来のSWEETタンパク質のアミノ酸配列について、ClustalW multiple sequence alignmentプログラム（国立遺伝学研究所のDDBJで利用できる）を用いてアラインメント解析した結果を図 2 - 1 ～ 2 - 1 5 に示す。解析に用いたバージョンおよび各種パラメーターを以下に示す。

[0035] ClustalW Version, 2.1

-Pairwise Alignment Parameters

--Alignment Type, Slow

--Slow Pairwise Alignment Options

---Protein Weight Matrix, Gonnet

---Gap Open, 10

---Gap Extension, 0.1

Multiple Sequence Alignment Parameters

-Protein Weight Matrix, Gonnet

-Gap Open, 10

-Gap Extension, 0.20

-Gap Distances, 5

-No End Gaps, no

-Iteration, none

-Numiter, 1

-Clustering, NJ

Output Options

-Format, Aln w/numbers

-Order, Aligned

[0036] 図2-1～2-15に示すように、上述したSWEETタンパク質のクレードII Iに分類されるSWEETタンパク質は、上述した共通配列1を有することが理解できる。ここで、上記共通配列1において、所定の位置で取りうるアミノ酸残基のバリエーションは以下の理由によるものである。参考文献(1)（「マッキー生化学」第3版 5章アミノ酸・ペプチド・タンパク質 5.1アミノ酸、監修：市川厚、監訳：福岡伸一、発行者：曽根良介、発行所：(株)化学同人、ISBN4-7598-0944 -9）でも記載されているように、アミノ酸は同様の性質（化学的性質や物理的大きさ）を持つ側鎖に従って分類される事がよく知られる。また、タンパク質の活性を保持したまま、所定のグループに分類されるアミノ酸残基間における分子進化上の置換が頻度高く起こることがよく知られる。この考えを基に、参考文献(2)：Henikoff S., Henikoff J.G., Amino-acid substitution matrices from protein blocks, Proc. Natl. Acad. Sci.

USA, 89, 10915-10919 (1992)中の、Fig.2でアミノ酸残基の置換変異のスコアマトリックス (BLOSUM) が提唱され、広く使用されている。参考文献(2)では、側鎖の化学的性質が似たもの同士のアミノ酸置換は、タンパク質全体に与える構造や機能変化が少なくなると言う知見に基づくものである。上記参考文献(1)及び(2)によれば、マルチプルアラインメントで考慮するアミノ酸の側鎖のグループは、化学的性質や物理的大きさなどの指標を基にして考えることができる。これは、参考文献(2)に開示されたスコアマトリックス (BLOSUM) において、スコアの0以上の値を持つアミノ酸、好ましくは1以上の値を持つアミノ酸のグループとして示される。代表的なグループとしては、下記の8つが上げられる。その他の細かいグループ分けは、当該スコアの値の0以上同士のアミノ酸グループ、好ましくは1以上同士のアミノ酸グループ、さらに好ましくは2以上のアミノ酸グループであれば良い。

[0037] 1) 脂肪族疎水性アミノ酸グループ (ILMVグループ)

このグループは、上記参考文献(1)で示された中性非極性アミノ酸のうち、脂肪属性の疎水性側鎖をもつアミノ酸のグループであり、V(Val、バリン)、L(Leu、ロイシン)、I(Ile、イソロイシン)及びM(Met、メチオニン)から構成される。参考文献(1)による中性非極性アミノ酸と分類されるもののうちFGACWPは以下理由で、この「脂肪族疎水性アミノ酸グループ」には含めない。G(Gly、グリシン)やA(Ala、アラニン)はメチル基以下の大きさで非極性の効果が弱いからである。C(Cys、システイン)はS-S結合に重要な役目を担う場合があり、また、酸素原子や窒素原子と水素結合を形成する特性があるからである。F(Phe、フェニルアラニン)やW(Trp、トリプトファン)は側鎖がとりわけ大きな分子量をもち、かつ、芳香族の効果が強いからである。P(Pro、プロリン)はイミノ酸効果が強く、ポリペプチドの主鎖の角度を固定してしまうからである。

[0038] 2) ヒドロキシメチレン基をもつグループ (STグループ)

このグループは、中性極性アミノ酸のうちヒドロキシメチレン基を側鎖に持つアミノ酸のグループであり、S(Ser、セリン)とT(Thr、スレオニン)から

構成される。SとTの側鎖に存在する水酸基は、糖の結合部位であるため、あるポリペプチド（タンパク質）が特定の活性を持つために重要な部位である場合が多い。

[0039] 3) 酸性アミノ酸（DEグループ）

このグループは、酸性であるカルボキシル基を側鎖に持つアミノ酸のグループであり、D(Asp、アスパラギン酸)とE(Glu、グルタミン酸)から構成される。

[0040] 4) 塩基性アミノ酸（KRグループ）

このグループは、塩基性アミノ酸のグループであり、K(Lys、リジン)とR(Arg、アルギニン)から構成される。これらKとRは、pHの広い範囲で正に帯電し塩基性の性質をもつ。一方、塩基性アミノ酸に分類されるH(His、ヒスチジン)はpH7においてほとんどイオン化されないので、このグループには分類されない。

[0041] 5) メチレン基＝極性基（DHNグループ）

このグループは、全て α 位の炭素元素に側鎖としてメチレン基が結合しその先に極性基を有すると言う特徴を持つ。非極性基であるメチレン基の物理的大きさが酷似している特徴を持ち、N(Asn、アスパラギン、極性基はアミド基)、D(Asp、アスパラギン酸、極性基はカルボキシル基)とH(His、ヒスチジン、極性基はイミダゾール基)から成る。

[0042] 6) ジメチレン基＝極性基（EKQRグループ）

このグループは、全て α 位の炭素元素に側鎖としてジメチレン基以上の直鎖炭化水素が結合しその先に極性基を有すると言う特徴を持つ。非極性基であるジメチレン基の物理的大きさが酷似している特徴を持つ。E(Glu、グルタミン酸、極性基はカルボキシル基)、K(Lys、リジン、極性基はアミノ基)、Q(Gln、グルタミン、極性基はアミド基)、R(Arg、アルギニン、極性基はイミノ基とアミノ基)から成る。

[0043] 7) 芳香族（FYWグループ）

このグループには、側鎖にベンゼン核を持つ芳香族アミノ酸であり、芳香

族特有の化学的性質を特徴とする。F(Phe、フェニルアラニン)、Y(Tyr、チロシン)、W(Trp、トリプトファン)から成る。

[0044] 8) 環状&極性 (HYグループ)

このグループには、側鎖に環状構造を持つと同時に極性も持つアミノ酸で、H(H、ヒスチジン、環状構造と極性基は共にイミダゾール基)、Y(Tyr、チロシン、環状構造はベンゼン核で極性基は水酸基)から成る。

[0045] 上記のアミノ酸グループに基づき、ある機能を有するタンパク質のアミノ酸配列中のあるアミノ酸残基を同一のグループに属するアミノ酸残基に置換しても同様の機能を有する新規タンパク質が得られることが容易に予想できる。たとえば上記「1) 脂肪族疎水性アミノ酸グループ (ILMVグループ)」に基づき、ある機能を有するタンパク質のアミノ酸配列中のイソロイシン残基をロイシン残基に置換しても同様の機能を有する新規タンパク質が得られることが容易に予想できる。ある機能を有するタンパク質が複数ある場合には、コンセンサス配列としてアミノ酸配列を記載する場合もあるが、この場合でもあるアミノ酸残基を同一のグループに属するアミノ酸残基に置換しても同様の機能を有する新規タンパク質が得られることが容易に予想できる。たとえば、ある機能を有するタンパク質が複数あり、そこから算出されたコンセンサス配列中のアミノ酸残基がイソロイシンまたはロイシン (L/I) の時、上記「1) 脂肪族疎水性アミノ酸グループ (ILMVグループ)」に基づき、イソロイシンまたはロイシン残基をメチオニンまたはバリン残基に置換しても同様の機能を有する新規タンパク質が得られることが容易に予想できる。

[0046] ところで、上述した「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」は、上述した共通配列1のN末端側及びC末端側に所定のアミノ酸残基を加えるとともに、所定の位置において取りうるアミノ酸のバリエーションを限定したアミノ酸配列からなる共通配列2を有するタンパク質として規定することができる。共通配列2のアミノ酸配列は以下の通りである。G(L/I/V/F/M)xGx(I/V/L)(I/V/L)(S/T)xxxxL(A/S)P(L/V/I/M)(P/S/T/A)TFxx(I/V)x(K/R)

xK(S/T)xxx(F/Y)x(S/A)xPYxx(A/S/T)LxSxxLx(L/I/M/V)(Y/F)Y(A/G)(7-9aa)(L/I)(I/V/L)(T/S)INxx(G/A)xx(I/V/M)(E/Q)xxYxxx(F/Y)(L/I/V/F)x(Y/F)Ax(K/R/N)xxxxx(T/A)(7-8aa)(V/F/L/I/M)(18-19aa)(R/Q/H)xxxxGx(I/V)xxxxx(V/I/L/M)x(V/M)F(A/V)(A/S/T)PLx(I/V)(I/M/V/L)xxV(I/V)(K/R/Q)(T/S)(K/R)S(V/A)x(F/Y)MP(F/I/L)xLS(L/F/V)xL(T/V)(L/I)xAxW(F/L)xYG(L/F)xxxDxx(V/I)xPNxxGxx(L/F)(G/S)xxQMx(L/V/I)(Y/F)xx(Y/F)

[0047] また、共通配列 2 のアミノ酸配列については、N末端からC末端にかけて、配列番号 6 のアミノ酸配列、7～9個の任意のアミノ酸残基、配列番号 7 のアミノ酸配列、7～8個の任意のアミノ酸残基、V/F/L/I/Mのうちいずれかのアミノ酸残基、18～19個のアミノ酸残基及び配列番号 8 のアミノ酸配列がこの順で連結したアミノ酸配列であると言い換えることができる。

[0048] 共通配列 2 は、上述した文献においてクレードIIIと分類されたSWEETタンパク質に共通するアミノ酸配列である。すなわち、共通配列 2 は、上述した文献にクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質、イネ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質、ウマゴヤシ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質及びペチュニア由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質の各アミノ酸配列について、上述と同様にClustalWによる解析を行い、作成したマルチプルアラインメントから導き出されたアミノ酸配列である。よって、共通配列 2 は、上記文献においてクレードIIIに分類されたSWEETタンパク質に特徴的な配列であって、上記文献においてクレードI、II、IV及びVの各グループとの明確な区別基準となる配列である。

[0049] なお、上記文献においてクレードIIIと分類されたSWEETタンパク質のアミノ酸配列について、ClustalW multiple sequence alignmentプログラム（国立遺伝学研究所のDDBJで利用できる）を用いてアラインメント解析した結果を図3-1～3-3に示す（解析に用いたバージョンおよび各種パラメータは上記の通りである）。図3-1～3-3に示すように、上記文献においてクレードIIIと分類されたSWEETタンパク質は、上述した共通配列 2 を有す

ることが理解できる。

[0050] さらに、上述した「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」は、上述した共通配列2のN末端側に所定のアミノ酸残基を加えるとともに、所定の位置において取りうるアミノ酸のバリエーションを限定したアミノ酸配列からなる共通配列3を有するタンパク質として規定することができる。共通配列3のアミノ酸配列は以下の通りである。(A/V)_{xxx}G(I/L/V)_xGN(I/L/V)(I/L/V)S(F/L)_x(V/T)_xL(A/S)P(V/L/I)(P/A)TF_{xx}(I/V)_x(K/R)_xK(S/T)_{xx}(G/S)(F/Y)(Q/S/E)S_xPY_{xx}(A/S/T)L_xS(A/C/S)_xL_x(L/I/M)(Y/F)Y(A/G)_{xx}(K/T)(3-5aa)(L/M/P)(L/I)(I/L/V)(T/S)IN_{xx}(G/A)_{xx}(I/V)(E/Q)_{xx}Y(I/L)_x(L/M/V/I)(F/Y)(L/I/V/F)_x(Y/F)A_x(K/R)_{xxxxx}(T/A)_{xx}(L/M/F/V/I)(L/F/V/I)_{xxx}(N/D)(F/V/I/L)_{xx}(F/L)_{xx}(I/L/V)_{xxxxxx}(L/I/V)(5-6aa)(R/Q)_{xxxx}G_x(I/V)_{xxxx}(S/A)(V/L/M)(C/S/A)VF(A/V)(A/S)PL_x(I/V)(I/M/V)_{xx}V(I/V)(K/R/Q)(T/S)(K/R)S(V/A)E(F/Y)MP(F/I)_xLS(L/F/V)_xL(T/V)(L/I)(S/N)A(V/I)_xW(F/L)_xYGL_{xx}(K/N)D_{xx}(V/I)_{xx}PN(V/I)_xG_{xx}(F/L)(G/S)_{xx}QM_xL(Y/F)_{xx}(Y/F)

[0051] また、共通配列3のアミノ酸配列については、N末端からC末端にかけて、配列番号9のアミノ酸配列、3～5個の任意のアミノ酸残基、配列番号10のアミノ酸配列、5～6個の任意のアミノ酸残基及び配列番号11のアミノ酸配列がこの順で連結したアミノ酸配列であると言い換えることができる。

[0052] 共通配列3は、上述した文献においてクレードIIIと分類されたSWEETタンパク質のうちシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質及びイネ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質の各アミノ酸配列について、上述と同様にClustalWによる解析を行い、作成したマルチプルアラインメントから導き出されたアミノ酸配列である。よって、共通配列3は、上記文献においてクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質及びイネ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質に特徴的な配列であって、上記文献においてクレードI、II、IV及びVの各グループとの明確な区別基準となる配列である。

[0053] なお、上記文献においてクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質及びイネ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質のアミノ酸配列について、ClustalW multiple sequence alignmentプログラム（国立遺伝学研究所のDDBJで利用できる）を用いてアラインメント解析した結果を図4-1～4-2に示す（解析に用いたバージョンおよび各種パラメーターは上記の通りである）。図4-1～4-2に示すように、上記文献においてクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質及びイネ由来の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質は、上述した共通配列3を有することが理解できる。

[0054] さらにまた、上述した「特定の糖輸送に参与するトランスポータータンパク質」は、上述した共通配列3のN末端側及びC末端側に所定のアミノ酸残基を加えるとともに、所定の位置において取りうるアミノ酸のバリエーションを限定したアミノ酸配列からなる共通配列4を有するタンパク質として規定することができる。共通配列4のアミノ酸配列は以下の通りである。(M/L/V)xx(T/K/N/S)xxxxAxxFG(L/I/V)LGN(I/L/V)(I/V)SFxxVxL(S/A)P(V/I)PTFxxIxK(K/R)K(S/T)x(E/K)(G/S)(F/Y)(Q/E)S(I/L)PYxx(A/S)LxS(A/C)xLx(L/I/M)YY(A/G)xxK(4-5aa)(L/M)(L/I)(I/V)(T/S)IN(A/S/T)(F/V)(G/A)x(F/V)(I/V)(E/Q)xxY(I/L)x(L/M/I)(F/Y)(F/V/I/L)x(Y/F)Ax(K/R)xx(R/K)xx(T/A)(L/V/M)K(V/L/M/F)(L/I/V/F)xxx(N/D)(F/V/I)xx(F/L)xx(I/L)(L/I/V/F)(L/M/V)(L/V)xx(F/L)(L/I/V)(5-6aa)(R/Q)x(K/S/Q)x(L/I/V)Gx(I/V)Cxxx(S/A)(V/L)(S/C/A)VF(A/V)(A/S)PLx(I/V)(M/I/V)xxV(I/V)(K/R)T(K/R)S(V/A)E(Y/F)MPFxLS(L/F)xLT(I/L)(S/N)A(V/I)xW(L/F)xYGLx(L/I)(K/N)Dxx(V/I)A(L/F/I/M)PN(V/I)(L/I/V)Gxx(L/F)GxxQM(I/V)L(Y/F)(V/L/I/M)(V/L/I/M)(Y/F)(K/R/Q)

[0055] また、共通配列4のアミノ酸配列については、N末端からC末端にかけて、配列番号12のアミノ酸配列、4～5個の任意のアミノ酸残基、配列番号13のアミノ酸配列、5～6個の任意のアミノ酸残基及び配列番号14のアミノ酸配列がこの順で連結したアミノ酸配列であると言い換えることができる。

[0056] 共通配列4は、上述した文献においてクレードIIIと分類されたSWEETタンパク質のうちシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質の各アミノ酸配列について、上述と同様にClustalWによる解析を行い、作成したマルチプルアラインメントから導き出されたアミノ酸配列である。よって、共通配列4は、上記文献においてクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質に特徴的な配列であって、上記文献においてクレードI、II、IV及びVの各グループとの明確な区別基準となる配列である。

[0057] なお、上記文献においてクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質のアミノ酸配列について、ClustalW multiple sequence alignmentプログラム（国立遺伝学研究所のDDBJで使用できる）を用いてアラインメント解析した結果を図5に示す（解析に用いたバージョンおよび各種パラメーターは上記の通りである）。図5に示すように、上記文献においてクレードIIIに分類されたシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質は、上述した共通配列4を有することが理解できる。

[0058] 以上のように、本発明において使用できる「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸」は、上述した共通配列1、2、3又は4を有する、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードするものであれば、特に限定されない。言い換えると、当該核酸としては、表2～5に列挙した具体的なSWEETタンパク質をコードするものに限定されず、表2～5に挙げた生物種と異なる生物種由来のSWEETタンパク質をコードするものも含まれる。例えば、GenBank等のデータベースに配列データが格納されていない生物由来であって、共通配列1、2、3又は4を有する、糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸も使用することができる。

[0059] 具体的に、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質としては、表2～5に示したように配列番号15～131のいずれかに示したアミノ

酸配列を含むタンパク質を挙げることができる。特に、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質としては、配列番号15～35のいずれかに示したアミノ酸配列を含むタンパク質（表2）であることが好ましく、配列番号15～26のいずれかに示したアミノ酸配列を含むタンパク質（シロイヌナズナ又はイネ由来）であることがより好ましく、配列番号15～21のいずれかに示したアミノ酸配列を含むタンパク質（シロイヌナズナ由来）であることが更に好ましい。さらに、特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質としては、配列番号17のアミノ酸配列を含むAtSWEET11、配列番号18のアミノ酸配列を含むAtSWEET12、配列番号25のアミノ酸配列を含むOsSWEET14及び配列番号26のアミノ酸配列を含むOsSWEET15であることが最も好ましい。

[0060] なお、本発明において使用できる「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸」は、上述のように具体的な配列番号で特定される糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸に限定されず、上述した共通配列1、2、3又は4を有する糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸であれば如何なる核酸も使用することができる。

[0061] 糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸とは、当該核酸がコードするタンパク質が糖輸送に関与するトランスポーター活性を有することを意味する。糖輸送に関与するトランスポーター活性とは、例えば非特許文献1及び2のMethodsに記載されているような、小胞体（endoplasmic reticulum; ER）内外への糖輸送を細胞質局在またはER局在のFRET(Forster resonance energy transfer又はfluorescence resonance energy transfer)糖センサーで測定される活性である。

[0062] なお、所定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質が共通配列1、2、3又は4を有するか否か、若しくは当該タンパク質をコードする核酸が共通配列1、2、3又は4を有するタンパク質をコードするか否かは、当該タンパク質のアミノ酸配列若しくは当該核酸がコードするアミノ酸配列を

共通配列 1、2、3 又は 4 に示すアミノ酸配列と比較することで容易に判別することができる。

[0063] ここで、配列番号 15～131 のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含み、共通配列 1、2、3 又は 4 を有する糖輸送に関与するトランスポータータンパク質としては、例えば、配列番号 15～131 のいずれかに示したアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸配列が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、且つ、共通配列 1、2、3 又は 4 を有し、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質をコードするものであっても良い。ここで、複数個のアミノ酸としては、例えば、1 から 20 個、好ましくは 1 から 10 個、より好ましくは 1 から 7 個、さらに好ましくは 1 個から 5 個、特に好ましくは 1 個から 3 個を意味する。なお、アミノ酸の欠失、置換若しくは付加は、上記糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸の塩基配列を、当該技術分野で公知の手法によって改変することによって行うことができる。塩基配列に変異を導入するには、Kunkel 法または Gapped duplex 法等の公知手法又はこれに準ずる方法により行うことができ、例えば部位特異的突然変異誘発法を利用した変異導入用キット（例えば Mutant-K や Mutant-G（何れも商品名、TAKARA Bio 社製））等を用いて、あるいは LA PCR in vitro Mutagenesis シリーズキット（商品名、TAKARA Bio 社製）を用いて変異が導入される。また、変異導入方法としては、EMS（エチルメタンスルホン酸）、5-ブロモウラシル、2-アミノプリン、ヒドロキシルアミン、N-メチル-N'-ニトロ-Nニトロソグアニジン、その他の発ガン性化合物に代表されるような化学的変異剤を使用する方法でも良いし、X線、アルファ線、ベータ線、ガンマ線、イオンビームに代表されるような放射線処理や紫外線処理による方法でも良い。

[0064] また、配列番号 15～131 のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含み、共通配列 1、2、3 又は 4 を有する糖輸送に関与するトランスポータータンパク質としては、例えば、配列番号 15～131 のいずれかに示したアミノ酸配列に対する類似度 (Similarity) 又は同一性 (identity) が例えば 7

0%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、最も好ましくは95%以上であるアミノ酸配列を有し、且つ、共通配列1、2、3又は4を有し、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質をコードするものであっても良い。類似度及び同一性の値は、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) プログラムを実装したコンピュータプログラム及び遺伝子配列情報を格納したデータベースを用いてデフォルトの設定で求められる値を意味する。

[0065] さらに、配列番号15～131のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含み、共通配列1、2、3又は4を有する糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸は、植物ゲノム情報が明らかとなっていない場合には、対象となる植物から核酸を抽出し、配列番号15～131のアミノ酸配列をコードする核酸に対して、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸を単離することで同定することができる。ここで、ストリンジェントな条件とは、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいう。例えば、45℃、6×SSC（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）でのハイブリダイゼーション、その後の50～65℃、0.2～1×SSC、0.1%SDSでの洗浄が挙げられ、或いはそのような条件として、65～70℃、1×SSCでのハイブリダイゼーション、その後の65～70℃、0.3×SSCでの洗浄を挙げることができる。ハイブリダイゼーションは、J. Sambrook et al. Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory(1989)に記載されている方法等、従来公知の方法で行うことができる。

[0066] 以上のように、本発明において使用する「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」を共通配列1、2、3又は4を有するものとして定義した。しかし、本発明において使用できる「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」は、この共通配列1、2、3又は4を有するタンパク質に限定されない。

[0067] すなわち、「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」とし

ては、配列番号 15～131 のいずれかに示したアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸配列が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質をコードするものであっても良い。ここで、複数個のアミノ酸としては、例えば、1 から 20 個、好ましくは 1 から 10 個、より好ましくは 1 から 7 個、さらに好ましくは 1 個から 5 個、特に好ましくは 1 個から 3 個を意味する。なお、アミノ酸の欠失、置換若しくは付加は、上記糖輸送に関与するトランスポータータンパク質をコードする核酸の塩基配列を、当該技術分野で公知の手法によって改変することによって行うことができる。塩基配列に変異を導入する方法は上述した方法を適宜適用することができる。

[0068] また、「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」としては、例えば、配列番号 15～131 のいずれかに示したアミノ酸配列に対する類似度(Similarity)又は同一性(identity)が例えば 70%以上、好ましくは 80%以上、より好ましくは 90%以上、最も好ましくは 95%以上であるアミノ酸配列を有し、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質をコードするものであっても良い。類似度及び同一性の値は、上述した方法により求めることができる。

[0069] さらに、「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」としては、例えば、配列番号 15～131 のアミノ酸配列をコードする核酸に対して、ストリンジントな条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされるタンパク質であって、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質をコードするものであっても良い。ここで、ストリンジントな条件とは、上述したものと同様である。

[0070] 本発明を適用した植物は、上述したように定義された「特定の糖輸送に関与するトランスポータータンパク質」をコードする核酸を細胞内へ導入するか、当該核酸によりコードされるタンパク質の発現を強化することによって、高糖濃度の滲出物を産生することができる。この糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞内へ導入する手法としては、例えば、糖

輸送に関与するトランスポーターをコードするDNAを発現可能なように配置した発現ベクターを細胞内へ導入する手法を挙げることができる。また、糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸の発現を強化する手法としては、対象とする植物体における糖輸送に関与するトランスポーターをコードするDNAの近傍に位置する転写プロモーターを改変する手法を挙げることができる。特に、恒常的発現を可能とするプロモーターの制御下に上述した糖輸送に関与するトランスポーターをコードするDNAを発現可能なように配置した発現ベクターを対象の植物の細胞に導入する手法が好ましい。

[0071] 糖輸送に関与するトランスポーターをコードする人工遺伝子

上述した「特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸」としては、共通配列 1、2、3 又は 4 を有し、糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸であれば自然界に存在する核酸と同じ塩基配列を有する核酸に限らず、人工的に設計された塩基配列を有する核酸、つまり、人工遺伝子であってもよい。ここで人工遺伝子とは、人為的に設計したアミノ酸配列をコードする核酸であって、天然には存在しない塩基配列を有するDNAを意味する。人工遺伝子は、天然に存在するタンパク質の一部を改変（アミノ酸残基の欠失、置換、挿入等）したタンパク質をコードするものでも良いし、天然に存在するアミノ酸配列をつなぎ合わせたキメラタンパク質をコードするものでも良いし、N末端からC末端まで全配列を独自に設計したタンパク質をコードするものであっても良い。

[0072] 人工遺伝子としては、共通配列 1、2、3 又は 4 を含むアミノ酸配列をコードする塩基配列を有するDNAであればよい。また、人工遺伝子として糖輸送に関与するトランスポーター遺伝子を設計する場合、特に、膜貫通ドメインも含むように設計することが好ましい。このドメインによって、トランスポーターがより好ましい位置に局在し、トランスポーター活性に寄与すると考えられるからである。

[0073] より具体的に、糖輸送に関与するトランスポーターをコードする人工遺伝子としては、配列番号 132～137 に示すアミノ酸配列をコードするよう

に設計することができる。これら配列番号132～137に示すアミノ酸配列には、上述した共通配列がN末端側存在しており、また、C末端側に膜貫通ドメインを含んでいる。配列番号132に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をSWo1と呼称し、配列番号133に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をSWo2と呼称し、配列番号134に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をSWo3と呼称し、配列番号135に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をSWo4と呼称し、配列番号136に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をSWo5と呼称し、配列番号137に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をSWo6と呼称する。

[0074] 発現ベクター

発現ベクターは、恒常的な発現を可能とするプロモーター塩基配列を有する核酸と、上述した糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸（天然に存在する塩基配列を有する核酸及び人工遺伝子の両者を含む。以下同様）とを含むように構築する。発現ベクターの母体となるベクターとしては、従来公知の種々のベクターを用いることができる。例えば、プラスミド、ファージ、またはコスミド等を用いることができ、導入される植物細胞や導入方法に応じて適宜選択することができる。具体的には、例えば、pBR322、pBR325、pUC19、pUC119、pBluescript、pBluescriptSK、pBI系のベクター等を挙げることができる。特に、植物細胞へのベクターの導入法がアグロバクテリウムを用いる方法である場合には、pBI系のバイナリーベクターを用いることが好ましい。pBI系のバイナリーベクターとしては、具体的には、例えば、pBIG、pBIN19、pBI101、pBI121、pBI221等を挙げることができる。

[0075] プロモーターは、植物体内で糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を発現させることが可能なプロモーターであれば特に限定されるものではなく、公知のプロモーターを好適に用いることができる。かかるプロモーターとしては、例えば、カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター（CaMV35S）、各種アクチン遺伝子プロモーター、各種ユビキチ

ン遺伝子プロモーター、ノパリン合成酵素遺伝子のプロモーター、タバコの P R 1 a 遺伝子プロモーター、トマトのリブロース 1, 5-ニリン酸カルボキシラーゼ・オキシダーゼ小サブユニット遺伝子プロモーター、ナピン遺伝子プロモーター、オレオシン遺伝子プロモーター等を挙げることができる。この中でも、カリフラワーモザイクウイルス 35 S プロモーター、アクチン遺伝子プロモーター又はユビキチン遺伝子プロモーターをより好ましく用いることができる。上記各プロモーターを用いれば、植物細胞内に導入されたときに任意の核酸を強く発現させることが可能となる。

[0076] また、プロモーターとしては、植物における部位特異的に核酸を発現させる機能を有するものを使用することもできる。このようなプロモーターとしては、従来公知の如何なるプロモーターを使用することができる。このようなプロモーターを使用して、上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を部位特異的に導入することによって、当該核酸を導入した細胞から成る植物器官や植物組織から産生される滲出物に含まれる糖含量を向上させることができる。

[0077] なお、発現ベクターは、プロモーター及び上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸に加えて、さらに他のセグメント配列を有する核酸を含んでいてもよい。当該他のセグメント配列を有する核酸は特に限定されるものではないが、ターミネーター塩基配列を有する核酸、形質転換体選別マーカー塩基配列を有する核酸、エンハンサー塩基配列を有する核酸、翻訳効率を高めるための塩基配列を有する核酸等を挙げることができる。また、上記組換え発現ベクターは、さらに T-DNA 領域を有していてもよい。T-DNA 領域は特にアグロバクテリウムを用いて上記組換え発現ベクター中の塩基配列を有する核酸を植物細胞に導入する場合に核酸導入の効率を高めることができる。

[0078] ターミネーター塩基配列を有する核酸は転写終結部位としての機能を有していれば特に限定されるものではなく、公知のものであってもよい。例えば、具体的には、ノパリン合成酵素遺伝子の転写終結領域（Nos ターミネー

ター)、カリフラワーモザイクウイルス35Sの転写終結領域(CaMV35Sターミネーター)等を好ましく用いることができる。この中でもNosターミネーターをより好ましく用いることができる。上記組換えベクターにおいては、ターミネーターを適当な位置に配置することにより、植物細胞に導入された後に、不必要に長い転写物を合成するといった現象の発生を防止することができる。

[0079] 形質転換体選別マーカー塩基配列を有する核酸としては、例えば薬剤耐性遺伝子を含む核酸を用いることができる。かかる薬剤耐性遺伝子の具体的な一例としては、例えば、ハイグロマイシン、ブレオマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン、クロラムフェニコール等に対する薬剤耐性遺伝子を含む核酸を挙げることができる。これにより、上記抗生物質を含む培地中で生育する植物体を選択することによって、形質転換された植物体を容易に選別することができる。

[0080] 翻訳効率を高めるための塩基配列を有する核酸としては、例えばタバコモザイクウイルス由来のomega配列を有する核酸を挙げることができる。このomega配列を有する核酸をタンパク質コード領域上流の非翻訳領域(5'UTR)に配置させることによって、上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸の発現効率を高めることができる。このように、上記組換え発現ベクターには、その目的に応じて、さまざまなDNAセグメント配列を有する核酸を含ませることができる。

[0081] 組換え発現ベクターの構築方法についても特に限定されるものではなく、適宜選択された母体となるベクターに、上記プロモーター塩基配列を有する核酸、上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸及び必要に応じて上記他のDNAセグメント配列を有する核酸を所定の順序となるよう導入すればよい。例えば、上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸とプロモーター塩基配列を有する核酸と(必要に応じてターミネーター塩基配列を有する核酸等)とを連結し、これをベクターに導入すればよい。

[0082] また、上記発現ベクターの増殖方法（生産方法）も特に限定されるものではなく、従来公知の方法を用いることができる。一般的には大腸菌を宿主として当該大腸菌内で増殖させればよい。このとき、ベクターの種類に応じて、好ましい大腸菌の種類を選択してもよい。

[0083] 形質転換

上述した発現ベクターは、一般的な形質転換方法によって対象の植物細胞に導入される。発現ベクターを植物細胞に導入する方法（形質転換方法）は特に限定されるものではなく、植物細胞に応じた適切な従来公知の方法を用いることができる。具体的には、例えば、アグロバクテリウムを用いる方法や直接植物細胞に導入する方法を用いることができる。アグロバクテリウムを用いる方法としては、例えば、Bechtold, E., Ellis, J. and Pelletier, G. (1993) In Planta Agrobacterium-mediated gene transfer by infiltration of adult Arabidopsis plants. C.R. Acad. Sci. Paris Sci. Vie, 316, 1194-1199. あるいは、Zyprian E, Kado Cl, Agrobacterium-mediated plant transformation by novel mini-T vectors in conjunction with a high-copy vir region helper plasmid. Plant Molecular Biology, 1990, 15(2), 245-256. に記載された方法を用いることができる。

[0084] 発現ベクターを直接植物細胞に導入する方法としては、例えば、マイクロインジェクション法、エレクトロポレーション法（電気穿孔法）、ポリエチレングリコール法、パーティクルガン法、プロトプラスト融合法、リン酸カルシウム法等を用いることができる。

[0085] また、上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を直接植物細胞に導入する方法を採るなら、対象とするトランスポーターをコードする核酸の発現に必要な転写ユニット、例えばプロモーター塩基配列を有する核酸や転写ターミネーター塩基配列を有する核酸と、対象とするトランスポーターをコードする核酸を含んだ核酸であれば十分であり、ベクター機能が必須ではない。さらに、転写ユニットを有さない上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸のタンパク質コード領域のみを含む核酸であ

っても、宿主ゲノム中の転写ユニット内にインテグレートし、対象となる遺伝子を発現することができればよい。また、宿主ゲノム中にインテグレートされない場合でも、上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸が細胞内で転写且つ／または翻訳されれば十分である。

[0086] 上記発現ベクターや、発現ベクターを含まず対象となる糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸が導入される植物細胞としては、例えば、花、葉、根等の植物器官における各組織の細胞、カルス、懸濁培養細胞等を挙げることができる。ここで、発現ベクターは、生産しようとする種類の植物体に合わせて適切なものを適宜構築してもよいが、汎用的な発現ベクターを予め構築しておき、それを植物細胞に導入してもよい。

[0087] 発現ベクターの導入対象となる細胞から成る植物としては、特に限定されない。すなわち、上述した糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を導入することによって、あらゆる植物体について排水液等の滲出物に含まれる糖濃度を向上させることができる。対象となる植物としては、例えば、顕花植物であることが好ましく、顕花植物のなかでも被子植物であることがより好ましい。対象となる被子植物としては、双子葉植物、単子葉植物、例えばアブラナ科、イネ科、ナス科、マメ科、ヤナギ科等に属する植物（下記参照）が挙げられるが、これらの植物に限定されるものではない。

[0088] アブラナ科：シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)、ミヤマハタザオ (*Arabidopsis lyrata*)、アブラナ (*Brassica rapa*、*Brassica napus*、*Brassica campestris*)、キャベツ (*Brassica oleracea* var. *capitata*)、ハクサイ (*Brassica rapa* var. *pekinensis*)、チンゲンサイ (*Brassica rapa* var. *chinensis*)、カブ (*Brassica rapa* var. *rapa*)、ノザワナ (*Brassica rapa* var. *hakabura*)、ミズナ (*Brassica rapa* var. *lancinifolia*)、コマツナ (*Brassica rapa* var. *peruviridis*)、パクチヨイ (*Brassica rapa* var. *chinensis*)、ダイコン (*Raphanus sativus*)、ワサビ (*Wasabia japonica*)、ルベラナズナ (*Capsella rubella*) など。

アカザ科：テンサイ (*Beta vulgaris*)

カエデ科：サトウカエデ (*Acer saccharum*)

トウダイグサ科：トウゴマ (*Ricinus communis*)

ナス科：タバコ (*Nicotiana tabacum*)、ナス (*Solanum melongena*)、ジャガイモ (*Solanum tuberosum*)、トマト (*Solanum lycopersicum*)、トウガラシ (*Capsicum annuum*)、ペチュニア (*Petunia hybrida*) など。

マメ科：ダイズ (*Glycine max*)、エンドウ (*Pisum sativum*)、ソラマメ (*Vicia faba*)、フジ (*Wisteria floribunda*)、ラッカセイ (*Arachis hypogaea*)、ミヤコグサ (*Lotus japonicus*)、インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*)、アズキ (*Vigna angularis*)、アカシア (*Acacia*)、ウマゴヤシ (*Medicago truncatula*)、ヒヨコマメ (*Cicer arietinum*) など。

キク科：キク (*Chrysanthemum morifolium*)、ヒマワリ (*Helianthus annuus*) など。

ヤシ科：アブラヤシ (*Elaeis guineensis*、*Elaeis oleifera*)、ココヤシ (*Cocos nucifera*)、ナツメヤシ (*Phoenix dactylifera*)、ロウヤシ (*Copernicia*) など。

ウルシ科：ハゼノキ (*Rhus succedanea*)、カシューナットノキ (*Anacardium occidentale*)、ウルシ (*Toxicodendron vernicifluum*)、マンゴー (*Mangifera indica*)、ピスタチオ (*Pistacia vera*) など。

ウリ科：カボチャ (*Cucurbita maxima*、*Cucurbita moschata*、*Cucurbita pepo*)、キュウリ (*Cucumis sativus*)、カラスウリ (*Trichosanthes cucumeroi des*)、ヒョウタン (*Lagenaria siceraria* var. *gourda*) など。

バラ科：アーモンド (*Amygdalus communis*)、バラ (*Rosa*)、イチゴ (*Fragaria vesca*)、サクラ (*Prunus*)、リンゴ (*Malus pumila* var. *domestica*)、モモ (*Prunus persica*) など。

ブドウ科：ブドウ (*Vitis vinifera*)

ナデシコ科：カーネーション (*Dianthus caryophyllus*) など。

ヤナギ科：ポプラ (*Populus trichocarpa*、*Populus nigra*、*Populus tremula*) など。

イネ科：トウモロコシ (*Zea mays*)、イネ (*Oryza sativa*)、オオムギ (*Hordeum vulgare*)、コムギ (*Triticum aestivum*)、ウラルツコムギ (*Triticum urartu*)、タルホコムギ (*Aegilops tauschii*)、ミナトカモジグサ (*Brachypodium distachyon*)、タケ (*Phyllostachys*)、サトウキビ (*Saccharum officinarum*)、ネピアグラス (*Pennisetum purpureum*)、エリアンサス (*Erianthus ravenae*)、ススキ (*Miscanthus virgatus*)、ソルガム (*Sorghum bicolor*) スイッチグラス (*Panicum*) など。

ユリ科：チューリップ (*Tulipa*)、ユリ (*Lilium*) など。

[0089] なかでも、サトウキビやトウモロコシ、イネ、ソルガム、コムギ、テンサイ、サトウカエデといった滲出物を比較的に多く産生し、且つ糖やデンプンの産生能の高い植物を対象とすることが好ましい。詳細を後述するように、これら植物から採取した滲出物をバイオ燃料やバイオプラスチックの原料に使用できるからである。

[0090] また、上述したように、本発明で使用可能な糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸は、種々の植物から単離して使用することができるが、対象の植物の種類に応じて、適宜選択して用いることができる。すなわち、対象の植物細胞が単子葉植物由来である場合には、糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸として単子葉植物から単離したものを導入することができる。特に、対象の植物がイネ科植物である場合には、イネ由来の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸であるOsSWEET13をコードする核酸 (Os12g047620001) 及びOsSWEET14をコードする核酸 (Os11t050860001) 及びOsSWEET15をコードする核酸 (Os02t051310001) を導入することが好ましい。これらOsSWEET13をコードする核酸 (Os12g047620001) 及びOsSWEET14をコードする核酸 (Os11t050860001) 及びOsSWEET15をコードする核酸 (Os02t051310001) を導入することによって、イネの滲出物に含まれる糖量を著しく向上させることができる。

[0091] また、対象の植物細胞が単子葉植物由来であったとしても、双子葉植物由来の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を導入しても良い

。対象の植物細胞が単子葉植物由来の場合、双子葉植物であるシロイヌナズナ由来の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸のうちAtSWEET11をコードする核酸（At3g48740）及びAtSWEET12をコードする核酸（At5g23660）を導入することが好ましい。これらAtSWEET11をコードする核酸（At3g48740）及びAtSWEET12をコードする核酸（At5g23660）は、対象の植物がイネ等の単子葉植物であっても滲出物に含まれる糖量を著しく向上させることができる。

[0092] その他の工程、その他の方法

上述した形質転換処理後、植物体のなかから適切な形質転換体を選抜する選抜工程を、従来公知の方法で行うことができる。選抜の方法は特に限定されるものではなく、例えば、ハイグロマイシン耐性等の薬剤耐性を基準として選抜してもよいし、形質転換体を育成した後に、植物体から滲出物を採取し、採取した滲出物に含まれる糖分を測定し、野生型と比較して糖濃度が有意に向上しているものを選抜してもよい。また、採取した滲出物に含まれる糖分測定は定量的でなく定性的に測定する方法でも良く、例えば糖に反応し呈色する試験紙を用いた呈色法で測定しても良い。

[0093] また、形質転換処理で得られた形質転換植物から定法に従って後代植物を得ることができる。上記糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸の発現量が野生型と比較して有意に向上するといった形質を保持した後代植物を、その滲出物に含まれる糖量を基準として選抜することによって、上記形質を有することで滲出物に含まれる糖量が増加した安定的な植物系統を作出することができる。なお、形質転換植物やその子孫から、植物細胞や種子、果実、株、カルス、塊茎、切穂、塊等の繁殖材料を得て、これらを基に上記形質を有することで滲出物に含まれる糖量が増加した安定的な植物系統を量産することも可能である。

[0094] 以上説明したように、本発明によれば、上述した特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞へ導入するか、当該核酸の発現を強化することで、野生型の植物体と比較して、滲出物に含まれる糖濃度を有

意に向上させることができる。ここで、滲出物に含まれる糖成分としては、グルコース（ブドウ糖）、ガラクトース、マンノース及びフルクトースといった単糖類、スクロース、ラクトース及びマルトースといった二糖類を含む意味である。すなわち、上述した特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞へ導入するか、内在する当該遺伝子の発現を強化することで、滲出物に含まれるグルコース、ガラクトース、マンノース、フルクトース、スクロース、ラクトース及びマルトース等の糖成分のうちいずれか1種以上の濃度を向上させることができる。特に、本発明によれば、滲出物中のグルコース、フルクトース及びスクロースの濃度を大幅に向上させることができる。

[0095] 特に、滲出物として排水組織から産生される排水液を採取する際には、上述した特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞へ導入するか、当該核酸の発現を強化した植物を、産生された排水液の蒸散を防止するような条件下で栽培することが好ましい。さらに、当該植物を、排水液の産生量が増大するような条件下にて培養することがより好ましい。例えば、当該植物を栽培する際の栽培条件を湿度80%RH以上、より好ましくは90%RH以上の密閉空間とすることで、排水液の蒸散を防止し、且つ排水液の産生量を増大することができる。

[0096] 例えば、野生型シロイヌナズナの排水液に含まれる糖濃度が約2.0 μ M（平均値、単糖当量）であるのに対して、上述した特定の糖輸送に関与するトランスポーター遺伝子を細胞へ導入した形質転換シロイヌナズナにおいては、排水液中の糖濃度が約98.5～6057.5 μ Mまで増加する。特に、AtSWEET12をコードする核酸（At5g23660）を細胞へ導入した形質転換シロイヌナズナは、他の形質転換シロイヌナズナと比較してより高濃度の糖成分を含む排水液を産生することができる。

[0097] また、野生型イネの排水液に含まれる糖濃度が約1.3 μ M（平均値、単糖当量）であるのに対して、上述した特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞へ導入した形質転換イネにおいては、排水液中

の糖濃度が約1074.3～185641.2 μ Mまで増加する。特に、AtSWEET11をコードする核酸 (At3g48740) 又はOsSWEET13をコードする核酸 (Os12g0476200) 又はSWo5をコードする核酸を細胞へ導入した形質転換イネは、他の形質転換イネと比較してより高濃度の糖成分を含む排水液を産生することができる。さらに、OsSWEET15をコードする核酸 (Os02g051310001) を細胞へ導入した形質転換イネは、他の特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞へ導入した形質転換イネの排水液中の最大糖濃度と比較して、より高濃度の糖成分を含む排水液を産生することができ、排水液中の糖濃度が最大450340.4 μ Mまで増加する。

[0098] 以上のように、本発明によれば高糖濃度の滲出物を採取することができる。採取した滲出物は、アルコール及び/又は有機酸の発酵生産に使用することができる。さらに、採取した滲出物はバイオリファイナリーの原料としても使用することができる。このとき、例えば滲出物として排水液を利用する場合、上述した特定の糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を細胞へ導入するか、当該核酸の発現を強化した植物から採取した排水液をそのままアルコール発酵や有機酸発酵の反応系に利用することができ、バイオリファイナリーの原料として利用することができる。或いは、当該植物から採取した排水液を濃縮処理や、他の炭素源や窒素源等を添加する処理を行った後、アルコール発酵や有機酸発酵の反応系に利用することもできる。

実施例

[0099] 以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

[0100] 1. シロイヌナズナ形質転換用DNAコンストラクトの作製

1.1 PCRによるAtSWEETタンパク質をコードするDNAの取得

1.1.1 AtSWEETタンパク質をコードするDNAの増幅

シロイヌナズナから調製したcDNAを鋳型にし、PCRによる評価用のAtSWEET1、AtSWEET2、AtSWEET3、AtSWEET4、AtSWEET5、AtSWEET6、AtSWEET7、AtSWEET9、AtSWEET11、AtSWEET12、AtSWEET13、AtSWEET15及びAtSWEET17タンパク質

をコードするDNAの増幅を行った。評価用DNAをpRI201ANベクター（タカラバイオ社製、#3264）に挿入するため、5' 末端にSal I制限酵素認識配列を付加したフォワードプライマーを、また3' 末端にSac IまたはPst I制限酵素認識配列を付加したリバースプライマーを設計した（表6）。

[0101] [表6]

増幅 DNA 名	プライマー名	配列	配列 番号
SWEET1	sal I -SWEET1-F26mer	5' -TAATGTCGACATGAACATCGCTCACACTATCTTCGG-3'	1 3 8
	sac I -SWEET1-R	5' -TATGAGCTCTTAAACTTGAAGTCTTGCTTCCATTAAAC-3'	1 3 9
SWEET2	sal I -SWEET2-F27mer	5' -TAATGTCGACATGGATGTTTTGCTTTCAATGCTTC-3'	1 4 0
	sac I -SWEET2-R27mer	5' -TATGAGCTCTCACACGTAAGAAACAATCAAAGGCTC-3'	1 4 1
SWEET3	sal I -SWEET3-F27mer	5' -TAATGTCGACATGGGTGATAAACTTCGATTATCCATC-3'	1 4 2
	sac I -SWEET3-R28mer	5' -TATGAGCTCTTAGATCGATGAGGCATTGTTAGAATTC-3'	1 4 3
SWEET4	sal I -SWEET4-F31mer	5' -TAATGTCGACATGGTTAACGCTACAGTTGCGAGAAACATTG-3'	1 4 4
	sac I -SWEET4-R30mer	5' -TATGAGCTCTCAAGCTGAAACTCGTTTAGCTTGCCAC-3'	1 4 5
SWEET5	sal I -SWEET5-F30mer	5' -TAATGTCGACATGACGGACCCACACCGCCGGACGATC-3'	1 4 6
	sac I -SWEET5-R31mer	5' -TATGAGCTCTCAAGCCTGGCCAAGTCGATTCCAGCATTC-3'	1 4 7
SWEET6	sal I -SWEET6-F33mer	5' -TAATGTCGACATGGTGCATGAACAGTTGAATCTTATTCGGAAG-3'	1 4 8
	sac I -SWEET6-R32mer	5' -TATGAGCTCTCAAACGCCGCTAACTCTTTTGTTTAAATATG-3'	1 4 9
SWEET7	sal I -SWEET7-F28mer	5' -TAATGTCGACATGGTGTTGCACATTGAACCTTCTTC-3'	1 5 0
	sac I -SWEET7-R31mer	5' -TATGAGCTCTTAAACATTGTTAGGTCTTGTTGGTATTC-3'	1 5 1
SWEET9	sal I -SWEET9-F31mer	5' -TAATGTCGACATGTTCTCAAGGTTCAATGAAATTGCTTTTC-3'	1 5 2
	sac I -SWEET9-R27mer	5' -TATGAGCTCTCACTTCATTGGCCTCACCGATCCTTC-3'	1 5 3
SWEET11	sal I -SWEET11-F29mer	5' -TAATGTCGACATGAGTCTCTTCAACACTGAAAACACATG-3'	1 5 4
	sac I -SWEET11-R27mer	5' -TATGAGCTCTCATGTAGCTGCTGCGGAAGAGGACTG-3'	1 5 5
SWEET12	sal I -SWEET12-F29mer	5' -TAATGTCGACATGGCTCTCTTCGACACTCATAACACATG-3'	1 5 6
	sac I -SWEET12-R29mer	5' -TATGAGCTCTCAAGTAGTTGCAGCACTGTTTCTAACTC-3'	1 5 7
SWEET13	Nde I -SWEET13-F30mer	5' -GGAATTCCATATGGCTCTAACTAACAATTTATGGGCATTG-3'	1 5 8
	sal I -SWEET13-R30mer	5' -TAATGTCGACTTAAACTTGACTTTGTTTCTGGACATCCTTG-3'	1 5 9
SWEET15	sal I -SWEET15-F30mer	5' -TAATGTCGACATGGGAGTCATGATCAATCACCATTTCCTC-3'	1 6 0
	sac I -SWEET15-R27mer	5' -TATGAGCTCTCAAACGGTTTCAGGACGAGTAGCCTC-3'	1 6 1
SWEET17	sal I -SWEET17-F30mer	5' -TAATGTCGACATGGCAGAGGCAAGTTCTATATCGGAGT-3'	1 6 2
	sac I -SWEET17-R29mer	5' -TATGAGCTCTTAAGAGAGGAGAGGTTCAACACGTGATG-3'	1 6 3

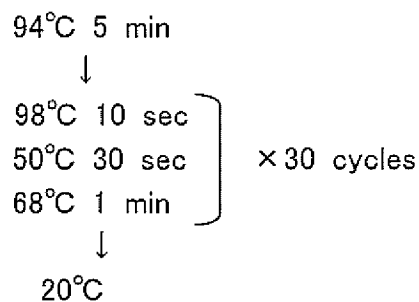
[0102] そして、これらプライマーと、PrimeSTAR GXL DNAポリメラーゼ (TaKaRa、#R050A) を使用してPCR増幅を行った。反応液組成を表7に示し、反応条件を表8に示した。

[0103]

[表7]

Component	(μ l)
鑄型 DNA (100 ng/ μ l)	1 μ l
5 $\times$ Prime Star GXL buffer	4 μ l
dNTP mixture (25 mM)	1.6 μ l
Forward primer (10 ng/ μ l)	0.4 μ l
Reverse primer (10 ng/ μ l)	0.4 μ l
Prime Star GXL (1u/ μ l)	0.8 μ l
滅菌水	12.6 μ l
Total	20 μ l

[0104] [表8]



[0105] 次に、上記PCR増幅で得られたDNA断片をpCR2.1-TOP0ベクターDNA (Invitrogen、#K4500-01) へ挿入するため、以下の処理をし、5' 末端と3' 末端にAdenineを付加した。反応液組成を表9に示した。表9に示した反応液を70°Cで15分間反応させた。

[0106] [表9]

Component	
PCR 反応液	15 μ l
10 $\times$ ExTaq buffer	3 μ l
dNTP mixture (25 mM)	2 μ l
Ex Taq (0.5 u/ μ l)	0.1 μ l
滅菌水	9.9 μ l
Total	30 μ l

[0107] 1.1.2 増幅DNA断片の切り出しおよび精製

PCRで増幅した各DNA断片をアガロースゲル電気泳動後、MagExtractor-PCR

& Gel Clean up キット (TOYOB0、#NPK-601) を用いて、切り出し精製を行った。なお、切り出し精製は、キット添付のマニュアルに従って行った。

[0108] 1.1.3 増幅DNA断片の形質転換

精製した増幅DNA断片を、TOP0 TA Cloning (Invitrogen、#K4500-01) を用いてpCR2.1-TOP0ベクターに導入した。反応液組成を表10に示した。表10に示した反応液を室温で5分間反応させた。

[0109] [表10]

Component	(μ l)
切り出し精製物(SWEET 配列増幅)	2 μ l
Salt solution	0.5 μ l
pCR2.1-TOP0 vector	0.5 μ l
Total	3 μ l

[0110] 次に、この反応液2 μ lをEscherichia coli DH5 α コンピテントセル (TOYOB0、#DNA-903) に添加し、形質転換を行った。氷浴上で30分間放置した後、42℃で30秒間熱処理を行った。その後、氷浴上で急冷し、500 μ lのSOC培地 (Invitrogen、#15544-034) を添加し、37℃、180 rpmで1時間振とう培養した。終濃度50 μ g/mlのカナマイシンを添加したLB寒天プレートにDMF (N,N-ジメチルホルムアミド) に溶かした40 mg/ml X-gal 40 μ l、100 mM IPTG 40 μ lを塗布した後、さらに培養液100-200 μ lを塗布し、37℃で一晩培養し、翌朝コロニーを得た。

[0111] 1.1.4 コロニーPCRによる形質転換のチェックとポジティブクローンの選抜

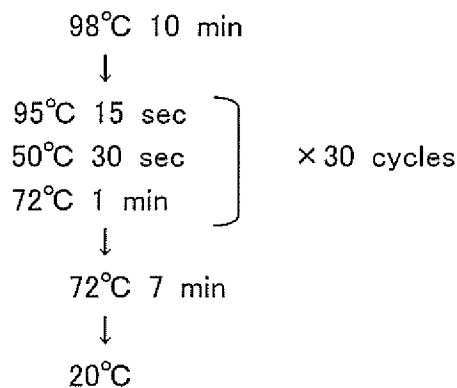
形質転換の結果、多数のコロニーが得られた。各コロニーについて挿入DNAの有無を確認するため、M13-F : 5' -GTA AAA CGA CCA GTC TTA AG-3' (配列番号164) 及びM13-R : 5' -CAG GAA ACA GCT ATG AC-3' (配列番号165) を用いてコロニーPCRを行った。コロニーPCRの反応液組成を表11に示し、PCR条件を表12に示した。

[0112]

[表11]

Component	(μ l)
鋳型 DNA	Colony
Amprltaq Gold 360 Master Mix (ABI, #4398881)	10 μ l
Forward primer (M13-F) (10 ng/ μ l)	0.4 μ l
Reverse primer (M13-R) (10 ng/ μ l)	0.4 μ l
滅菌水	9.2 μ l
Total	20 μ l

[0113] [表12]



[0114] 1.1.5 ポジティブクローンからのプラスミドDNA精製

挿入DNAが確認できたクローンからプラスミドDNAの精製を行った。プラスミドDNAの精製は、QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN、#27106) を用い、添付のプロトコルに従って行った。

[0115] 1.1.6 ポジティブクローンの塩基配列決定

1.1.5で得たプラスミドDNAを鋳型にし、M13-F及びM13-Rプライマーを用いてPCR増幅し、ダイデオキシ法（サンガー法）によるDNA断片の塩基配列の決定を行った。

[0116] 1.2 化学合成によるAtSWEETタンパク質をコードするDNAの取得

AtSWEET8、AtSWEET10、AtSWEET14、AtSWEET16タンパク質をコードするDNAについては、5' 末端にPst I制限酵素認識配列、3' 末端にSal I制限酵素認識配列を付加するよう塩基配列を設計し、化学的に全合成した。その結果、pEX-Aベクター（オペロンバイオテクノロジー）に挿入されたAtSWEET8及びAtSWEET14タンパク質をコードするDNA、pCR2.1-TOP0ベクターに挿入されたAtSWEET

10及びAtSWEET16タンパク質をコードするDNAを得ることができた。

[0117] 1.3 制限酵素反応によるAtSWEETタンパク質をコードするDNAの切り出しおよび精製

1.1.5と1.2で得られたプラスミドDNAからAtSWEETタンパク質をコードするDNA断片を取り出す為、二度の制限酵素処理を行った。各DNAに対する制限酵素の組み合わせを表13に記す。

[0118] [表13]

DNA 名	一回目	二回目	DNA 名	一回目	二回目
AtSWEET1	Sac I	Sal I	AtSWEET10	Sal I	Sac I
AtSWEET2	Sac I	Sal I	AtSWEET11	Sac I	Sal I
AtSWEET3	Sac I	Sal I	AtSWEET12	Sac I	Sal I
AtSWEET4	Sac I	Sal I	AtSWEET13	Nde I	Sal I
AtSWEET5	Sac I	Sal I	AtSWEET14	Nde I	Sal I
AtSWEET6	Sac I	Sal I	AtSWEET15	Sac I	Sal I
AtSWEET7	Sac I	Sal I	AtSWEET16	Sal I	Xba I
AtSWEET8	Nde I	Sal I	AtSWEET17	Sac I	Sal I
AtSWEET9	Sac I	Sal I			

[0119] 1.3.1 増幅DNA断片のSac I、Nde I又はSal I制限酵素反応（一回目）

Sac I(TaKaRa、#1078A)、Nde I(TaKaRa、#1161A)又はSal I(TaKaRa、#1080A)を用いて以下の反応液を作製し、37℃で一晩反応させ、1.1.5または1.2で得られたプラスミドを切断した。Sac Iの反応液組成を表14に、Nde Iの反応液組成を表15に、Sal Iの反応液組成を表16に示した。

[0120] [表14]

Component	(μ l)
Plasmid	45 μ l
10 $\times$ L buffer	10 μ l
Sac I	1 μ l
DW	44 μ l
Total	100 μ l

[0121]

[表15]

Component	(μ l)
Plasmid	45 μ l
10 $\times$ H buffer	10 μ l
<i>Nde</i> I	1 μ l
DW	44 μ l
Total	100 μ l

[0122] [表16]

Component	(μ l)
Plasmid	45 μ l
10 $\times$ H buffer	10 μ l
<i>Sal</i> I	1 μ l
DW	44 μ l
Total	100 μ l

[0123] 1.3.2 制限酵素反応により切断したDNA断片の精製

次に、DNAを精製するため、PCI（フェノール：クロロホルム：イソアミルアルコール＝24:24:1）抽出とエタノール沈殿を行った。反応液に等量のPCIを加えて攪拌し、5分間、15000 rpmで遠心して回収した上層に等量のクロロホルムを加え、同様に遠心し上層を回収した。回収した上層に二倍量のエタノールを加え、Pellet Paint NF Co-Precipitant（メルクバイオインサイト、#70748）を用いてエタノール沈殿を行った。乾燥後、得られたDNAは滅菌水44 μ lに溶解した。

[0124] 1.3.3 増幅DNA断片の*Sal* I、*Xba* I及び*Sac* I制限酵素反応（二回目）

次に、*Sal* I（TaKaRa、#1080A）、*Xba* I（TaKaRa、#1093A）又は*Sac* I（TaKaRa、#1078A）を用いて以下の反応液を作製し、37℃で一晩反応させ、1.3.2で得られたプラスミドを切断した。*Sal* Iの反応液組成を表17に、*Xba* Iの反応液組成を表18に、*Sac* Iの反応液組成を表19に示した。

[0125]

[表17]

Component	(μ l)
Pellet	
10 $\times$ H buffer	5 μ l
<i>Sa</i> I	1 μ l
DW	44 μ l
Total	50 μ l

[0126] [表18]

Component	(μ l)
Pellet	
10 $\times$ M buffer	5 μ l
100 $\times$ BSA	0.5 μ l
<i>Xba</i> I	1 μ l
DW	43.5 μ l
Total	50 μ l

[0127] [表19]

Component	(μ l)
Pellet	
10 $\times$ L buffer	5 μ l
<i>Sac</i> I	1 μ l
DW	44 μ l
Total	50 μ l

[0128] 1.3.4 制限酵素反応により切断したDNA断片の精製

1.3.3で得られた反応液は1.1.2の手順と同様にアガロースゲル電気泳動後、MagExtractor-PCR & Gel Clean up キットを用いて切り出し精製を行った。

[0129] 1.4 制限酵素反応によるpRI201ANベクターの切り出しおよび精製

1.3で得られたAtSWEETタンパク質をコードするDNA断片とライゲーションを行うため、pRI201ANベクターを1.3と同様の手順で制限酵素処理を行った。

[0130] 1.5 ライゲーション

1.5.1 ライゲーション反応

1.3で得たAtSWEETタンパク質をコードするDNA断片を1.4で得たpRI201ANベクターへ挿入するため、ライゲーション反応を行った。反応にはDNA Ligation Kit Ver.2.1（タカラバイオ、#6022）を用い、16℃で一晩反応させた。

[0131] 1.5.2 ライゲーション反応産物の形質転換

上記ライゲーション反応の終了後、反応液2 μ lを用いて1.1.3と同様の方法で形質転換を行った。

[0132] 1.5.3 コロニーPCRによるライゲーション反応のチェック

コロニーPCRで増幅するDNA断片の長さをアガロースゲル電気泳動で可視化する事によって、AtSWEETタンパク質をコードするDNAのベクターへの挿入を確認した。

[0133] 1.5.4 ライゲーション反応により得られたDNAコンストラクトの調製

挿入DNAが確認できたコロニーからプラスミドDNAの精製を行い、目的のDNA断片を挿入したクローンを得た。プラスミドDNAの精製は、QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN、#27106)を用い、添付のプロトコルに従って行った。得られたDNAコンストラクト (AtSWEET / pRI201AN) の物理地図を図6に示す。図6において、LBはleft borderを、RBはright borderを、TNOSはAgrobacterium tumefaciens のTiプラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子NOSの転写ターミネーターを、NPTIIはEscherichia coli由来neomycin phosphotransferase II遺伝子を、PnosはAgrobacterium tumefaciens のTiプラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子NOSの転写プロモーターを、THSPはArabidopsis thaliana由来のheat shock protein遺伝子HSPの転写ターミネーターを、AtSWEETはArabidopsis thaliana由来SWEETタンパク質をコードするDNAを、P35Sはカリフラワーモザイクウイルス35S転写プロモーターを、AtADH 5' -UTRはArabidopsis thaliana由来のalcohol dehydrogenase遺伝子ADHの翻訳エンハンサーを、ColE1 oriはEscherichia coliの複製起点を、Ri oriはAgrobacterium rhizogenesの複製起点をそれぞれ表す。

[0134] 1.6.1 化学合成によるOsSWEETタンパク質をコードするDNAの取得とコンストラクトの作製

シロイヌナズナのコドン頻度を参考にしてアミノ酸配列が変わらないように新たに配列設計しなおしたOsSWEET5、OsSWEET11、OsSWEET12、OsSWEET13、OsSWEET14及びOsSWEET15タンパク質をコードするDNAの開始コドン側にNde I制限酵素認識配列、終止コドン側にSac I制限酵素認識配列を付加するよう設計した。そして、設計したDNAを化学的に全合成し、pRI201ANベクターに挿入することで各DNAコンストラクトを得た。なお、5'末端に付加したNde I制限酵素認識配列(5' CATATG3')に含まれるATGがSWEETタンパク質をコードするDNAの開始コドンと一致するようにした。

[0135] 1.6.2 化学合成による糖輸送に関与するトランスポーターをコードする人工遺伝子とコンストラクトの作製

共通配列1を有する糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸で、天然には存在しない塩基配列を有するDNA、すなわち共通配列1を有する糖輸送に関与するトランスポーターの人工遺伝子6種を以下のように作製した。まず、配列番号132～137のアミノ酸配列で示されるトランスポーターSWo1、SWo2、SWo3、SWo4、SWo5及びSWo6について、各トランスポーターをコードする核酸としてそれぞれ配列番号168、169、170、171、172及び173を設計した。そして、これら配列番号168、169、170、171、172及び173における、開始コドン側にNde I制限酵素認識配列、終止コドン側にSac I制限酵素認識配列を付加するようを設計した。次に、設計したDNAを化学的に全合成し、pRI201ANベクターに挿入することで6種のDNAコンストラクトを得た。なお、5'末端に付加したNde I制限酵素認識配列(5' CATATG3')に含まれるATGが配列番号168、169、170、171、172及び173の開始コドンと一致するようにした。

[0136] 1.7 シロイヌナズナへの形質転換

1.5及び1.6.1並びに1.6.2で作製した植物発現用ベクターをエレクトロポレーション法(Plant Molecular Biology Manual, Second Edition, B. G. Stanton and A. S. Robbert, Kluwer Academic Publishers 1994)により、Agrobacterium tumefaciens C58C1株に導入した。次いで植物発現用ベクターが導

入された *Agrobacterium tumefaciens* を、Cloughらにより記載された浸潤法 (Steven J. Clough and Andrew F. Bent, 1998, The Plant Journal 16, 735-743) により、野生型シロイヌナズナ エコタイプ Col-0 に導入し、T1 (形質転換 (transformant) 第一世代) 種子を回収した。回収した T1 種子は、カナマイシン (50 mg/L)、カルベニシリン (100 mg/L) 及びベンレート水和剤 (10 mg/L: 住友化学社製) を含む MS 寒天培地 (寒天濃度は 0.8%) に無菌播種し、約 2 週間培養し形質転換体を選抜した。選抜した形質転換体は、新しい上記 MS 寒天培地に植え換え、さらに約 1 週間栽培後、バーミキュライトとソイルミックス (サカタのタネ) を体積比で 1:1 に混合した土をいれた鉢に植え替え T2 (形質転換第二世代) 種子を得た。

[0137] 1.8 シロイヌナズナ排水液の取得

AtSWEET、OsSWEET、SWo1、SWo2、SWo3、SWo4、SWo5 及び SWo6 タンパク質をコードする DNA によって形質転換されたシロイヌナズナの T1 又は T2 植物体の栽培を、18L/6D (18 時間明条件の後 6 時間暗条件にする 24 時間光サイクル条件)、22°C で行った。馴化後、1 ~ 2 週間経過した植物体に 1/1000 ハイポネックスを与え、ラップフィルム (旭化成製、サランラップ) で湿度 80% 以上好ましくは 90% 以上になるように植物を包み込み、排水液を排出させた (図 7)。おもに葉裏に付着した排水液を回収し、排水液中の糖濃度を分析した。なお、野生型シロイヌナズナにアグロバクテリウムを感染・栽培して収穫される種子を T1 種子、T1 種子を薬剤選抜するか PCR などの方法により、細胞中への DNA 導入を確認した植物体を T1 植物、T1 植物を栽培して収穫される種子を T2 種子と定義する。

[0138] 2. イネ形質転換用 DNA コンストラクトの作製

2.1 AtSWEET タンパク質をコードする DNA の増幅

上記 1.5.4 で調製したシロイヌナズナ形質転換用 DNA コンストラクト (AtSWEET8 タンパク質をコードする DNA 及び AtSWEET11 タンパク質をコードする DNA 及び AtSWEET12 タンパク質をコードする DNA) を鋳型とし、PCR により AtSWEET8 タンパク質をコードする DNA 及び AtSWEET11 タンパク質をコードする DNA 及び AtSW

EET12タンパク質をコードするDNAをそれぞれ増幅した。なお、増幅産物をpENTR/D-TOP0ベクターに導入するために、5' 端にはCACC配列を付加している。

[0139] 2.2 増幅DNA断片を用いた形質転換

得られた反応液の一部をアガロースゲル電気泳動し、予定したサイズの増幅産物があることを確認したのち、pENTER Directional TOP0 Cloningキット（インビトロジェン）を用いてpENTR/D-TOP0ベクターに導入した。

[0140] 次に、反応液全量をEscherichia coli DH5 α コンピテントセル(タカラバイオ)に添加し、形質転換を行った。氷浴上で30分間放置した後、42°Cで45秒間の熱処理を行った。その後、氷浴で急冷し、300 μ lのSOC培地(タカラバイオ)を添加し、37°C、180 rpmで1時間振とう培養した。この培養液を終濃度50 μ g/mlのカナマイシンを添加したLB寒天プレートに塗布し、37°Cで終夜培養し、翌朝コロニーを得た。

[0141] 2.3 コロニーPCRによる形質転換のチェックとポジティブクローンの選抜

コロニーPCRで増幅するDNA断片の長さをアガロースゲル電気泳動で可視化する事によって、AtSWEETタンパク質をコードするDNAのベクターへの挿入を確認した。

[0142] 2.4 ポジティブクローンからのプラスミドDNA精製

挿入DNAが確認できたクローンからプラスミドDNAの精製を行った。プラスミドDNAの精製は、QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN、#27106)を用い、添付のプロトコルに従って行った。

[0143] 2.5 ポジティブクローンの塩基配列決定

2.4で精製したプラスミドDNAを鋳型にし、M13-F及びM13-Rプライマーを用いて、DNAシーケンサ（ベックマンコールター CEQ8000）によりDNA断片の塩基配列の決定を行った。

[0144] 2.6 LR反応と形質転換

2.4で得たAtSWEET8タンパク質をコードするDNA、AtSWEET11タンパク質をコードするDNA、AtSWEET12タンパク質をコードするDNAが挿入されたpENTR/D-TOP0プラスミドDNAとイネ形質転換用ベクター（pZH2B_GW0x）とを用いてGatewa

y LR反応を行い、図8に示すように、イネ植物体内で過剰発現するためのコンストラクトを構築した。

[0145] 次に、反応液全量をEscherichia coli DH5 α コンピテントセル(タカラバイオ)に添加し、形質転換を行った。氷浴上で30分間放置した後、42°Cで45秒間の熱処理を行った。その後、氷浴で急冷し、300 μ lのSOC培地(タカラバイオ)を添加し、37°C、180 rpmで1時間振とう培養した。この培養液を終濃度50 μ g/mlのスペクチノマイシンを添加したLB寒天プレートに塗布し、37°Cで終夜培養し、翌朝コロニーを得た。

[0146] 2.7 コロニーPCRによる形質転換のチェックとポジティブクローンの選抜

コロニーPCRで増幅するDNA断片の長さをアガロースゲル電気泳動で可視化する事によって、AtSWEETタンパク質をコードするDNAのベクターへの挿入を確認した。

[0147] 2.8 ポジティブクローンからのプラスミドDNA精製

挿入DNAが確認できたクローンからプラスミドDNAの精製を行った。プラスミドDNAの精製は、QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN、#27106)を用い、添付のプロトコルに従って行った。

[0148] 2.9 ポジティブクローンの塩基配列決定

2.8で精製したプラスミドDNAを鋳型にし、以下のプライマーを用いて、DNAシーケンサ(ベックマンコールター CEQ8000)によりDNA断片の塩基配列の決定を行った。

Ubi3' F : 5' -TGC TGT ACT TGC TTG GTA TTG-3' (配列番号166)

UbiTseq3 : 5' -GGA CCA GAC CAG ACA ACC-3' (配列番号167)

[0149] 2.10.1 化学合成によるOsSWEETタンパク質をコードするDNAの取得

OsSWEET13、OsSWEET14或いはOsSWEET15タンパク質をコードするDNAに、pENTR/D-TOP0ベクターに導入するため5' 端にCACC配列を付加するよう設計した。設計したDNAを化学的に全合成し、pENTR/D-TOP0ベクターに挿入した。

[0150] 2.10.2 化学合成による糖輸送に関与するトランスポーターをコードする人工遺伝子の取得

共通配列 1 を有する糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸で、天然には存在しない塩基配列を有するDNA、すなわち共通配列 1 を有する糖輸送に関与するトランスポーターの人工遺伝子 2 種を以下のように作製した。まず、配列番号 1 3 2 及び 1 3 6 のアミノ酸配列で示されるトランスポーターSWo1及びSWo5について、各トランスポーターをコードする核酸としてそれぞれ配列番号 1 7 4 及び 1 7 5 を設計した。そして、これら配列番号 1 7 4 及び 1 7 5 に対して、pENTR/D-TOP0ベクターに導入するため5' 端にCACC配列を付加するよう設計した。設計したDNAを化学的に全合成し、pENTR/D-TOP0ベクターに挿入した。

[0151] 2.11 0sSWEETタンパク質をコードするDNA又は人工遺伝子のコンストラクトの作製

2.10.1及び2.10.2で合成したDNAを用い、上記2.6～2.9と同様にイネ形質転換用ベクターを構築した。

[0152] 2.12 イネへの形質転換

上記2.9及び2.11で作製した植物発現用ベクターを用いて、The Plant Journal (2006) 47, 969-976に記載の方法に従い、AtSWEET、0sSWEET、SWo1及びSWo5タンパク質をコードするDNAをイネ（日本晴）に導入した。

[0153] 2.13 イネ排水液の取得

AtSWEET、0sSWEET、SWo1及びSWo5タンパク質をコードするDNAを導入したイネの形質転換第一世代を、直径6cmポットに8割程度バーミキュライトを入れたものに移し替えて馴化した。なおイネの栽培は、18L(30℃)/6D(25℃)（18時間30℃明条件の後6時間25℃暗条件にする24時間光サイクル条件）で行った。馴化後、1～2週間経過した植物体に1/1000ハイポネックスを十分に与え、ラップフィルム（旭化成社製、サランラップ）で湿度80%以上好ましくは90%以上になるように植物を包み込み、イネの排水組織から排水液を排出させた（図9）。葉に付着した排水液を回収し、糖濃度を分析した。

[0154] 3. 排水液中の糖濃度分析

3.1 排水液サンプルの希釈

1.8で得られたシロイヌナズナの排水液、2.13で得られたイネの排水液の体積をピペッターを用いて測定し、純水を加えて0.35mLに定容した。次に、10000xG、10分間の遠心分離を行ったのち、上清0.3mLをオートサンプラーバイアルに移してHPLC分析に用いた。

[0155] 3.2 HPLCによる糖濃度の分析

糖濃度の分析は以下の条件でHPLCを用いて行った。このとき標準物質としてグルコース、フルクトース、スクロースを各50 μ Mになるよう混合した標準液を用いた。

分析カラム : CarboPac PA1 (ダイオネクス)

溶離液 : 100mM NaOH

流量 : 1mL/min

注入量 : 25 μ L

検出器 : パルスドアンペロメトリ検出器 (ダイオネクス ED40)

[0156] 4. 分析結果

1.8で得られたシロイヌナズナの排水液、2.13で得られたイネの排水液について糖濃度を測定した結果を表20及び21に示す。

[0157]

[表20]

Clade	Transgene	Host	Glc (μM)			Fru (μM)			Suc (μM)			Total Monosaccharide Equivalent (μM)		
			Ave	Max	Min	Ave	Max	Min	Ave	Max	Min	Ave	Max	Min
I	AtSW01	<i>A. thaliana</i>	1.3	14.2	0.0	1.8	11.8	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1	22.1	0.0
I	AtSW02	<i>A. thaliana</i>	5.7	33.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.8	0.0	5.8	33.6	0.0
I	AtSW03	<i>A. thaliana</i>	4.0	14.7	0.0	0.9	6.0	0.0	0.2	3.4	0.0	5.2	19.6	0.0
II	AtSW04	<i>A. thaliana</i>	3.0	9.1	0.0	8.5	20.7	0.0	0.0	0.0	0.0	11.6	23.2	0.0
II	AtSW05	<i>A. thaliana</i>	5.5	15.7	0.0	3.4	20.5	0.0	0.0	0.0	0.0	8.8	30.8	0.0
II	AtSW06	<i>A. thaliana</i>	3.3	10.3	0.0	0.1	2.0	0.0	0.2	5.0	0.0	3.9	10.3	0.0
II	AtSW07	<i>A. thaliana</i>	4.9	15.1	0.0	8.0	19.0	0.0	1.6	4.9	0.0	16.1	36.9	0.0
II	AtSW08	<i>A. thaliana</i>	419.9	838.6	50.2	610.6	1,154.3	145.6	697.1	1,172.5	217.6	2,424.8	4,337.8	631.0
II	AtSW08	<i>O. sativa</i>	571.4	1,205.6	152.4	419.0	845.5	153.1	41.9	47.8	33.6	1,074.3	2,146.7	394.3
III	AtSW09	<i>A. thaliana</i>	399.5	2,708.3	36.4	552.5	2,838.7	69.5	228.3	1,309.4	41.2	1,408.5	7,865.4	211.8
III	AtSW10	<i>A. thaliana</i>	331.6	536.3	77.0	650.9	1,085.9	215.8	280.9	516.6	45.2	1,544.3	2,705.4	383.1
III	AtSW11	<i>A. thaliana</i>	711.1	2,137.9	80.1	674.6	1,384.7	117.6	290.7	470.4	97.2	1,967.1	4,463.5	449.6
III	AtSW11	<i>O. sativa</i>	31,304.7	59,730.0	757.3	36,772.0	74,830.9	964.0	8,196.6	19,339.4	110.8	84,469.9	173,239.6	1,942.9
III	AtSW12	<i>A. thaliana</i>	1,375.5	2,920.7	183.4	1,720.7	3,542.4	201.4	1,480.7	6,099.3	214.7	6,057.5	18,661.6	1,185.5
III	AtSW12	<i>O. sativa</i>	14,006.2	45,976.5	1,081.6	11,477.3	43,830.5	1,690.7	2,598.2	22,209.9	56.4	30,679.9	130,872.6	3,247.4
III	AtSW13	<i>A. thaliana</i>	230.5	941.5	51.1	304.3	1,336.8	85.5	146.8	402.7	51.9	828.5	3,083.7	287.3
III	AtSW14	<i>A. thaliana</i>	60.4	211.6	24.9	163.2	451.8	74.8	48.8	118.7	22.2	321.2	900.7	151.6
III	AtSW15	<i>A. thaliana</i>	796.6	2,064.2	143.1	1,140.0	2,727.5	226.1	514.2	1,217.2	70.1	2,965.0	6,511.9	582.7
IV	AtSW16	<i>A. thaliana</i>	3.1	14.6	0.0	0.5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.5	14.6	0.0
IV	AtSW17	<i>A. thaliana</i>	2.0	3.5	0.0	1.2	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0	3.2	7.1	0.0

[表21]

Clade	Transgene	Host	Glc (μM)			Fru (μM)			Suc (μM)			Total Monosacharide Equivalent (μM)		
			Ave	Max	Min	Ave	Max	Min	Ave	Max	Min	Ave	Max	Min
II	OsSW05	<i>A. thaliana</i>	2.7	5.3	0.0	3.8	12.8	0.0	2.2	3.9	0.0	10.8	21.5	0.0
III	OsSW11	<i>A. thaliana</i>	318.0	607.1	81.5	490.8	833.1	179.7	221.0	723.7	14.0	1,250.7	2,887.6	360.7
III	OsSW12	<i>A. thaliana</i>	41.7	172.9	9.7	89.5	334.1	32.4	36.9	127.8	3.0	205.0	762.5	71.1
III	OsSW13	<i>A. thaliana</i>	48.5	160.9	8.0	121.0	367.7	24.8	41.3	93.7	19.6	252.1	716.0	71.9
III	OsSW13	<i>O. sativa</i>	62,407.2	125,776.4	3,917.0	77,858.6	156,842.0	4,650.0	22,687.7	74,320.2	64.5	185,641.2	358,704.4	8,994.7
III	OsSW14	<i>A. thaliana</i>	37.5	128.5	10.7	115.6	460.4	45.5	51.2	118.0	19.4	255.6	824.9	95.0
III	OsSW14	<i>O. sativa</i>	43,115.4	90,201.0	543.0	58,581.3	152,827.3	229.1	7,104.2	21,756.3	10.8	115,905.1	275,262.5	793.8
III	OsSW15	<i>A. thaliana</i>	14.9	39.7	8.2	39.3	97.3	19.6	25.5	82.0	7.2	105.3	300.9	59.8
III	OsSW15	<i>O. sativa</i>	33,018.8	246,007.1	197.8	31,135.4	197,244.2	461.9	2,011.4	10,537.3	85.2	68,176.9	450,340.4	830.2
III	SWo1	<i>A. thaliana</i>	182.9	337.5	28.2	125.9	219.2	32.6	14.3	22.4	6.1	337.3	601.5	73.0
III	SWo1	<i>O. sativa</i>	11,181.0	33,889.1	284.2	6,586.0	19,670.8	351.1	221.1	795.8	18.5	18,209.1	51,684.6	1,019.9
III	SWo2	<i>A. thaliana</i>	81.6	128.4	30.6	103.3	146.3	26.7	9.9	13.8	6.3	204.7	284.5	84.9
III	SWo3	<i>A. thaliana</i>	141.1	141.1	141.1	166.9	166.9	166.9	16.0	16.0	16.0	340.0	340.0	340.0
III	SWo4	<i>A. thaliana</i>	41.9	96.3	12.7	35.5	88.2	3.8	10.6	13.4	6.7	98.5	210.9	51.7
III	SWo5	<i>A. thaliana</i>	31.8	31.8	31.8	7.7	7.7	7.7	10.1	10.1	10.1	59.6	59.6	59.6
III	SWo5	<i>O. sativa</i>	12,006.9	43,461.2	1,371.6	7,166.2	31,839.2	734.7	892.0	4,573.9	42.4	20,957.0	84,448.2	2,197.3
III	SWo6	<i>A. thaliana</i>	179.1	455.3	33.5	121.1	155.1	64.6	10.8	21.1	2.8	321.8	638.2	108.6
-	none	<i>A. thaliana</i>	1.6	8.1	0.0	0.3	7.3	0.0	0.0	2.6	0.0	2.0	11.0	0.0
-	none	<i>O. sativa</i>	1.0	8.3	0.0	0.0	0.2	0.0	0.1	0.8	0.0	1.3	8.3	0.0

[0158] 表20及び21から判るように、SWEETタンパク質をコードする核酸のうちクレードIIIに分類されるAtSWEET9~15をコードするDNA、OsSWEET13~15をコードするDNAで形質転換したシロイヌナズナ及びイネは、全て排水液中の糖濃度が大幅に向上していることが判った。特に、AtSWEET11をコードするDNA、AtSWEET12をコードするDNA、AtSWEET15をコードするDNA、OsSWEET13をコードするDNA及びOsSWEET14をコードするDNAのいずれかで形質転換した場合には、排水液中の糖濃度をより大幅に向上できることが判った。また、クレードIIIに分類されるSWEETタンパク質をコードするDNAで形質転換したシロイヌナズナよりも、クレードIIIに分類されるSWEETタンパク質をコードするDNAで形質転換したイネの方が排水液中の糖濃度が向上することが判った。特に、OsSWEET13をコードするDNA、OsSWEET14をコードするDNA及びOsSWEET15をコードするDNAのいずれかをイネに形質転換した場合には、同DNAをシロイヌナズナに形質転換した場合よりも、排水液中の糖濃度が著しく向上することが判った。

[0159] また、共通配列1を有する糖輸送に関与するトランスポーターの人工遺伝子を導入した植物体でも同様に、排水液中の糖濃度を向上できることが判った。この結果より、共通配列1を有する糖輸送に関与するトランスポーターをコードする核酸を導入する及び/又は当該タンパク質の発現を強化することで、宿主の植物に限定されず、いかなる植物においても排水液中の糖濃度を向上できることが明らかとなった。

[0160] 野生型植物においても、個体によってはまれに排出液中50 μ M程度の糖が検出されることがある。しかし本実施例に示すように、クレードIIIに分類されるSWEETタンパク質をコードするDNAを導入する効果は、野生型植物で検出される最大濃度よりはるかに高いことが明らかとなった。

請求の範囲

[請求項1] 以下のアミノ酸配列：(L/I/V/M/F)_x(G/A)_{xx}(I/L/V/M/F)_{xxxx}(L/I/V/F)(A/S)(P/S)(1-3aa)(P/S/T/A)T(F/L)_{xx}(I/V)_{xxx}K_{xxxxxxxxxx}PY_{xxx}(L/I)_{xxxx}(L/I)_x(I/L/M/V/F)_xY(A/S/G)(7-13aa)(I/L/V/M)(1-2aa)(I/V)_N_{xxxxxx}(E/Q)_{xx}Y_{xxx}(Y/F)_{xx}(Y/F)(A/G/S)(35-36aa)(R/Q/H)_{xxxx}G_x(V/I/L)_{xxxxxx}(V/M/L/I/F)_{xxxx}(A/S/T)P(L/M)_x(I/V)(I/M/V/L)(2-7aa)(V/I)(V/I/M)_x(T/S)_x(S/N)_{xx}(F/Y)(M/L)(P/S)(F/I/V/L)_xLS_{xx}(L/I)(T/V)_x(A/G)_{xx}W(F/L)_xYG_{xxxx}D_{xx}(V/I)_{xx}PN_{xx}G_{xx}(F/L)(G/S)_{xx}Q(M/I)_x(L/M/I/V/F)(Y/H/F)を含む共通配列を有する、糖輸送に参与するトランスポータータンパク質をコードする核酸を導入する及び/又は当該タンパク質の発現を強化した形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項2] 上記トランスポータータンパク質は、SWEETタンパク質のアミノ酸配列に基づく分類群であるクレードI～VのうちクレードIIIに属するタンパク質であることを特徴とする請求項1記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項3] 上記トランスポータータンパク質は、以下の(a)又は(b)のタンパク質であることを特徴とする請求項1記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号15～137のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号15～137のいずれかのアミノ酸配列に対して90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に参与するトランスポーター活性を有するタンパク質

[請求項4] 上記共通配列は、以下のアミノ酸配列：G(L/I/V/F/M)_xG_x(I/V/L)(I/V/L)(S/T)_{xxxx}L(A/S)P(L/V/I/M)(P/S/T/A)TF_{xx}(I/V)_x(K/R)_xK(S/T)_x_{xx}(F/Y)_x(S/A)_xPY_{xx}(A/S/T)L_xS_{xx}L_x(L/I/M/V)(Y/F)Y(A/G)(7-9aa)(L/I)(I/V/L)(T/S)IN_{xx}(G/A)_{xx}(I/V/M)(E/Q)_{xx}Y_{xxx}(F/Y)(L/I/V/F)_x(Y/F)A_x(K/R/N)_{xxxxxx}(T/A)(7-8aa)(V/F/L/I/M)(18-19aa)(R/Q/H)_{xxxx}G_x(I

/V)xxxxx(V/I/L/M)x(V/M)F(A/V)(A/S/T)PLx(I/V)(I/M/V/L)xxV(I/V)(K/R/Q)(T/S)(K/R)S(V/A)x(F/Y)MP(F/I/L)xLS(L/F/V)xL(T/V)(L/I)xAx
 xW(F/L)xYG(L/F)xxxDxx(V/I)xxPNxxGxx(L/F)(G/S)xxQMx(L/V/I)(Y/F)
 xx(Y/F)を含むことを特徴とする請求項 1 記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項5] 上記トランスポータータンパク質は、以下の (a) 又は (b) のタンパク質であることを特徴とする請求項 4 記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号 15～35 のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号 15～35 のいずれかのアミノ酸配列に対して 90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に参与するトランスポーター活性を有するタンパク質

[請求項6] 上記共通配列は、以下のアミノ酸配列：(A/V)xxxG(I/L/V)xGN(I/L/V)(I/L/V)S(F/L)x(V/T)xL(A/S)P(V/L/I)(P/A)TFxx(I/V)x(K/R)xK(S/T)xx(G/S)(F/Y)(Q/S/E)SxPYxx(A/S/T)LxS(A/C/S)xLx(L/I/M)(Y/F)Y(A/G)xx(K/T)(3-5aa)(L/M/P)(L/I)(I/L/V)(T/S)INxx(G/A)xx(I/V)(E/Q)x
 xY(I/L)x(L/M/V/I)(F/Y)(L/I/V/F)x(Y/F)Ax(K/R)xxxxx(T/A)xx(L/M/F/V/I)(L/F/V/I)xxx(N/D)(F/V/I/L)xx(F/L)xx(I/L/V)xxxxxx(L/I/V)(5-6aa)(R/Q)xxxxGx(I/V)xxxx(S/A)(V/L/M)(C/S/A)VF(A/V)(A/S)PLx(I/V)(I/M/V)xxV(I/V)(K/R/Q)(T/S)(K/R)S(V/A)E(F/Y)MP(F/I)xLS(L/F/V)xL(T/V)(L/I)(S/N)A(V/I)xW(F/L)xYGLxx(K/N)Dxx(V/I)xxPN(V/I)xGxx(F/L)(G/S)xxQMxL(Y/F)xx(Y/F)を含むことを特徴とする請求項 1 記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項7] 上記トランスポータータンパク質は、以下の (a) 又は (b) のタンパク質であることを特徴とする請求項 6 記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号 15～26 のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパ

ク質

(b) 配列番号 15～26 のいずれかのアミノ酸配列に対して 90%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、糖輸送に関与するトランスポーター活性を有するタンパク質

[請求項8]

上記共通配列は、以下のアミノ酸配列：(M/L/V)_{xx}(T/K/N/S)_{xxxx}A_xxFG(L/I/V)LGN(I/L/V)(I/V)SF_xV_xL(S/A)P(V/I)PTF_{xx}I_xK(K/R)K(S/T)_x(E/K)(G/S)(F/Y)(Q/E)S(I/L)PY_{xx}(A/S)L_xS(A/C)_xL_x(L/I/M)YY(A/G)_{xx}K(4-5aa)(L/M)(L/I)(I/V)(T/S)IN(A/S/T)(F/V)(G/A)_x(F/V)(I/V)(E/Q)_{xx}Y(I/L)_x(L/M/I)(F/Y)(F/V/I/L)_x(Y/F)A_x(K/R)_{xx}(R/K)_{xx}(T/A)(L/V/M)K(V/L/M/F)(L/I/V/F)_{xxx}(N/D)(F/V/I)_{xx}(F/L)_{xx}(I/L)(L/I/V/F)(L/M/V)(L/V)_{xx}(F/L)(L/I/V)(5-6aa)(R/Q)_x(K/S/Q)_x(L/I/V)G_x(I/V)C_{xx}x(S/A)(V/L)(S/C/A)VF(A/V)(A/S)PL_x(I/V)(M/I/V)_{xx}V(I/V)(K/R)T(K/R)S(V/A)E(Y/F)MPF_xLS(L/F)_xLT(I/L)(S/N)A(V/I)_xW(L/F)_xYGL_x(L/I)(K/N)D_{xx}(V/I)A(L/F/I/M)PN(V/I)(L/I/V)G_{xx}(L/F)G_{xx}QM(I/V)L(Y/F)(V/L/I/M)(V/L/I/M)(Y/F)(K/R/Q)を含むことを特徴とする請求項1記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項9]

上記トランスポータータンパク質は、以下の(a)又は(b)のタンパク質であることを特徴とする請求項8記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

(a) 配列番号 15～21 のいずれかのアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号 15～21 のいずれかのアミノ酸配列に対して 90%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質

[請求項10]

顕花植物であることを特徴とする請求項1記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項11]

上記顕花植物が被子植物であることを特徴とする請求項10記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項12]

上記被子植物が単子葉植物であることを特徴とする請求項11記載

の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項13] 上記单子葉植物がイネ科植物であることを特徴とする請求項12記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項14] 上記イネ科植物がOryza属植物であることを特徴とする請求項13記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項15] 上記被子植物が双子葉植物であることを特徴とする請求項11記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項16] 上記双子葉植物がアブラナ科植物であることを特徴とする請求項15記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

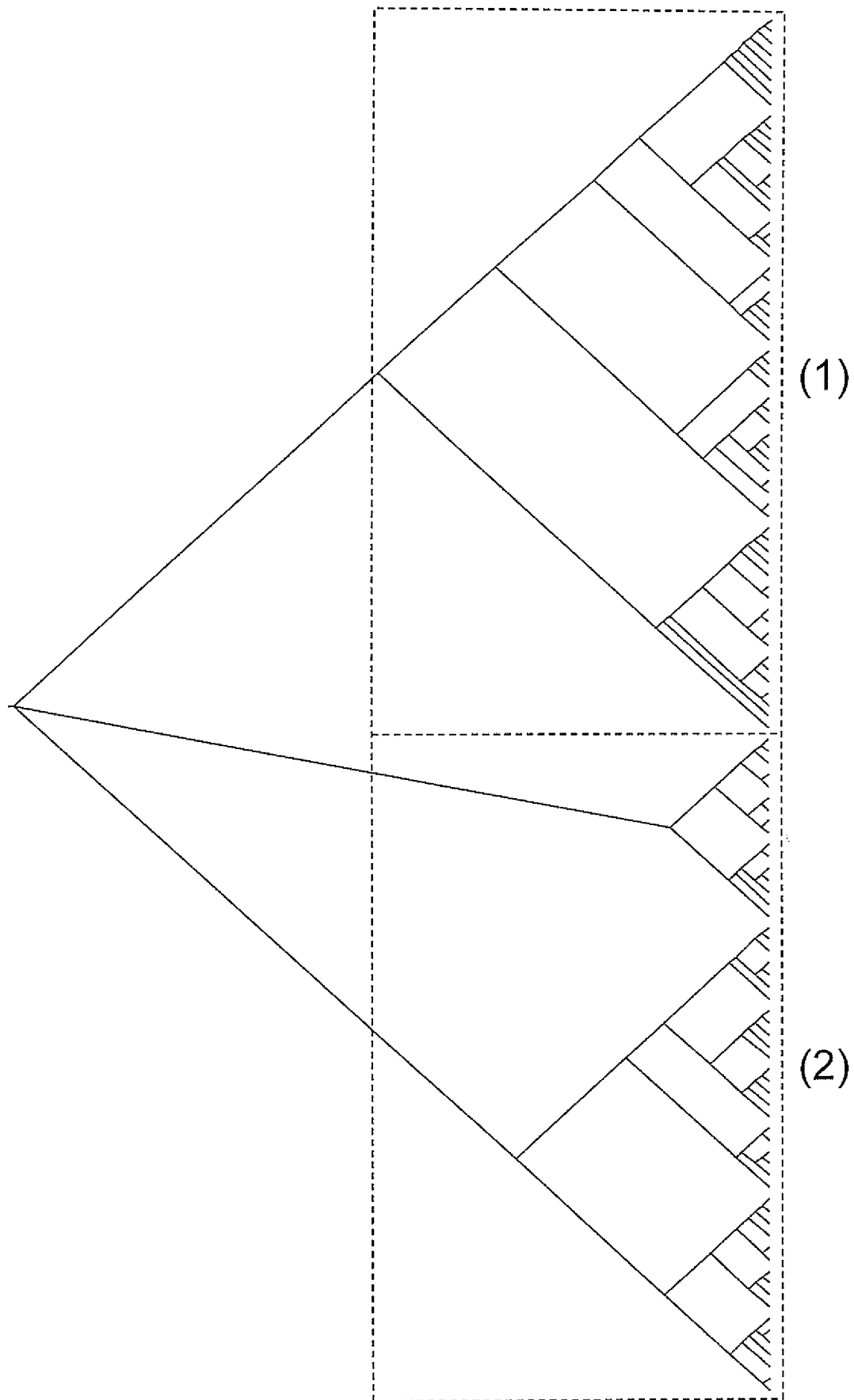
[請求項17] 上記アブラナ科植物がArabidopsis属植物であることを特徴とする請求項16記載の形質転換植物又は形質転換植物細胞。

[請求項18] 請求項1乃至17いずれか一項記載の形質転換植物を栽培し、当該形質転換植物から滲出物を採取する工程を含む滲出物の製造方法。

[請求項19] 上記形質転換植物を栽培する栽培条件を相対湿度80%RH以上とすることを特徴とする請求項18記載の滲出物の製造方法。

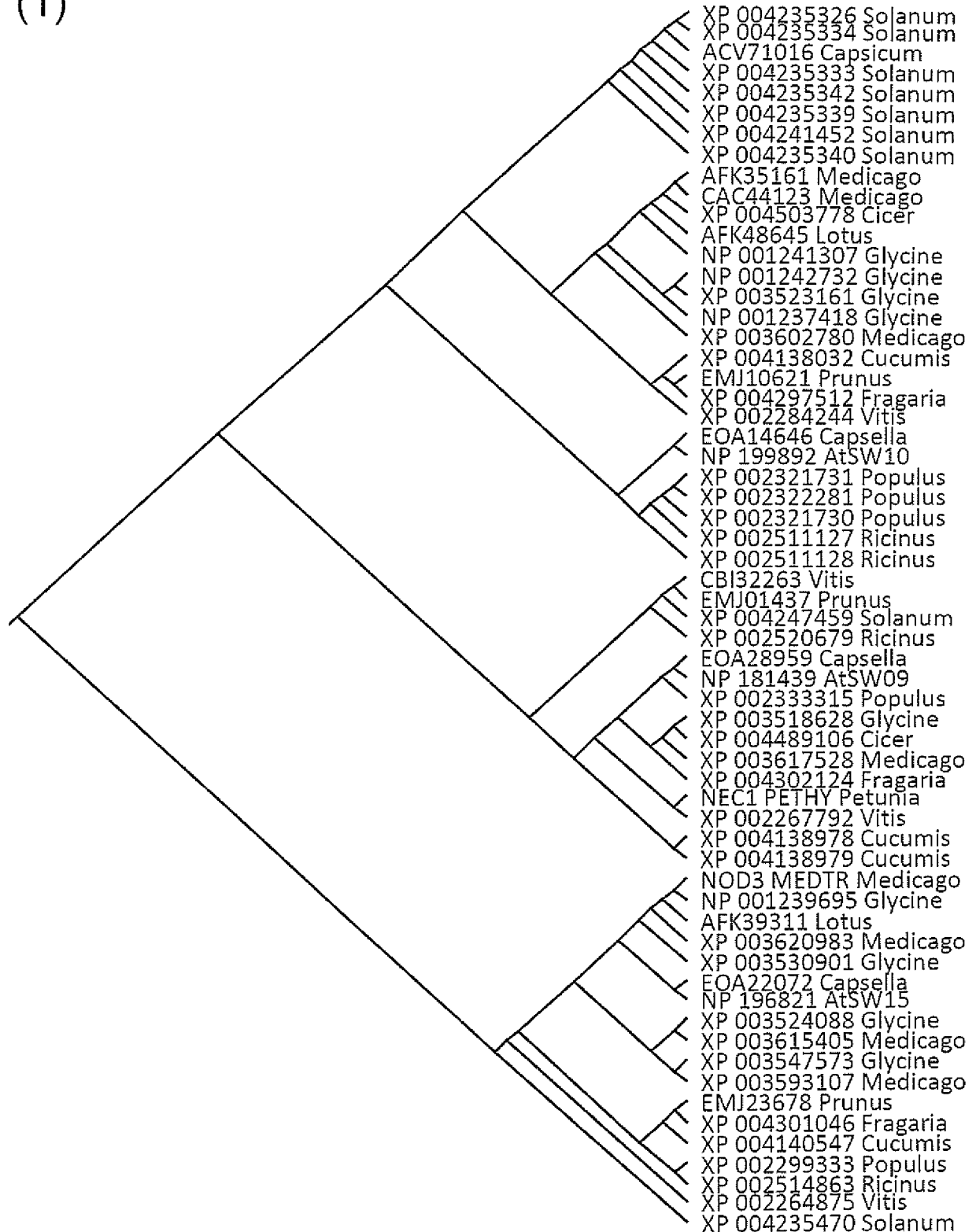
[請求項20] 上記滲出物が排水液であることを特徴とする請求項18記載の滲出物の製造方法。

[図1-1]



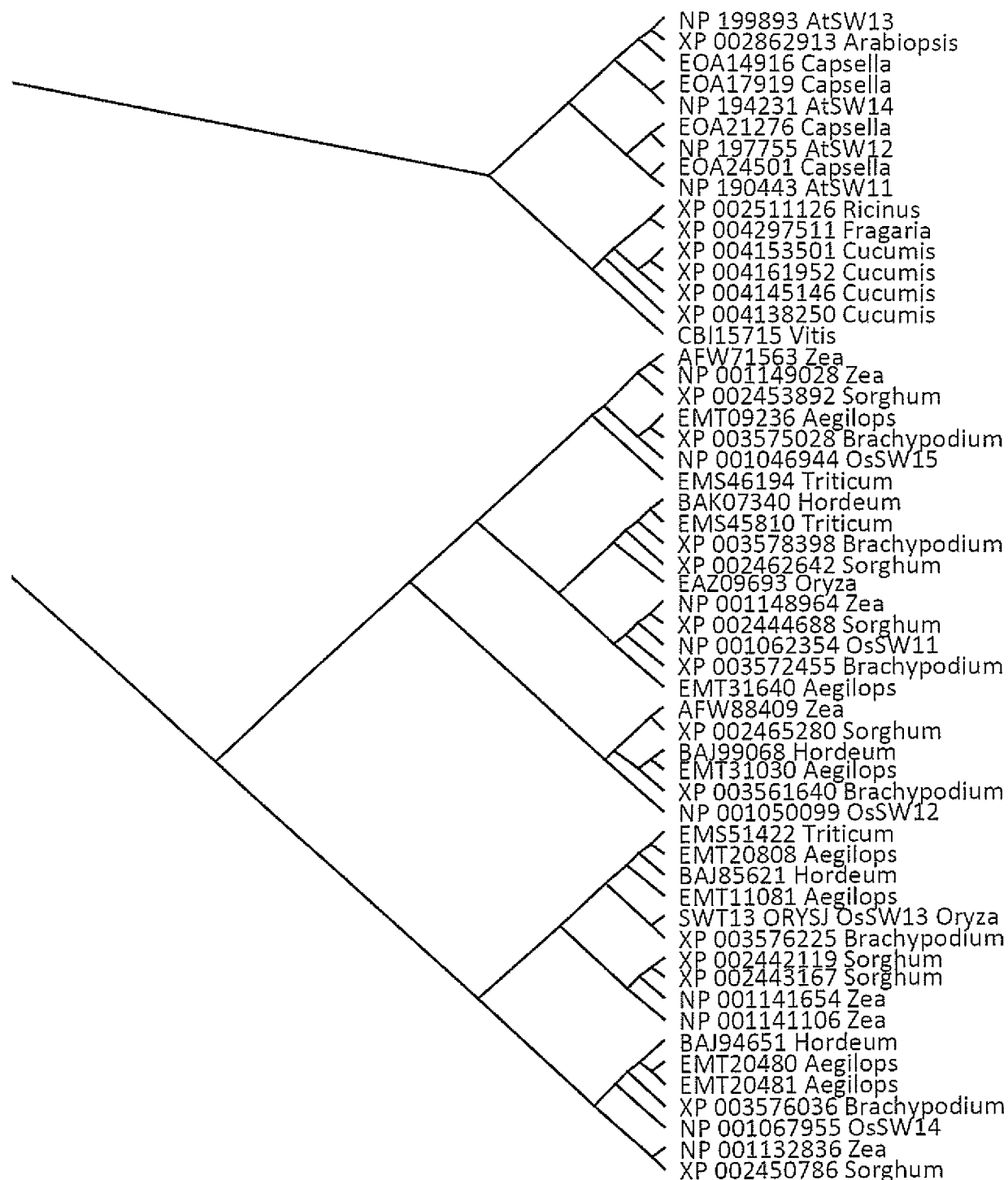
[図1-2]

(1)



[図1-3]

(2)



[図2-1]

XP 004235326 Solanum	--MAVDFG--HYAFAGVGLGNIISFIVFLSPI--PTFYSIYKKKSTEGYQ 44
XP 004235334 Solanum	---MVFN--HWAFAGVGLGNIVSFIVFLSPI--PTFYNIYKKKSTEGYQ 42
ACV71016 Capsicum	---MTGISG--HWAFAGVGLGNIISFIVFLSPI--PTFYTIYKKKTAEGYQ 44
XP 004235333 Solanum	---MAFSAD--HWAFVFGVGLGNIVSFIVFLSPL--PTFYTIYKKKTAEGYQ 44
XP 004235342 Solanum	---MAGISG--HWAFAGVGLGNIVSFIVFLSPL--PTFYKIYKKKSTDGYQ 44
XP 004235339 Solanum	---MAIAG--HWAFVFGVGLGNIISFIVFLSPI--PTFNKIYKKKSTEGYQ 43
XP 004241452 Solanum	---MAGFSD--HWTFAFGVGLGNIISFFVFLSPL--PTFYNIYKKKSTEGYQ 44
XP 004235340 Solanum	----MTT--HLAFVFGLLGNIVSFMVYLAPV--PTFYKIYKKKSTEGFQ 41
AFK35161 Medicago	---MAMTR--ESWAFVFGIIGNIISFAVFLSPL--PTFYVIFKKKSAEGFQ 44
CAC44123 Medicago	---MAMTR--ESWAFVFGIIGNIISFAVFLSPL--PTFYVIFKKKSAEGFQ 44
XP 004503778 Cicer	---MAMTR--ESWAFVFGLLGNIISFAVFLSPL--PTFYLIFFKKKSTEGFQ 44
AFK48645 Lotus	---MAMTR--ESWAFVFGMLGNIVSFMVFLAPL--PTFYQIYKKKTAEGFQ 44
NP 001241307 Glycine	---MTMHR--ESWAFVFGVMGNIISFGVFLAPL--PTFYQIYKKKSTEGFQ 44
NP 001242732 Glycine	---MAINH--ETWAFIFGLLGNVISFMVFLASL--PTLYQIYKKKSTDGFQ 44
XP 003523161 Glycine	---MAISH--ETWAFIFGLLGNVISFMVFLAPL--PTFYQIYKKKSTEGFQ 44
NP 001237418 Glycine	---MAINH--ETWAFVFGLLGNVISFMVFLAPL--PTFYQIYKKKSTEEFQ 44
XP 003602780 Medicago	---MALFYSEYWAFFVFGVIGNVISCMFLAPL--PTFYRIYKKKSTEGFQ 45
XP 004138032 Cucumis	---MAISP--QTLAFVFGLLGNIISFMVFLAPL--PTFYKIYKKKSAEGYQ 44
EMJ10621 Prunus	---MAIQH--PLTSLFGLLGNIISFLVFLAPV--PTFYTIYKKKTAEGFQ 43
XP 004297512 Fragaria	---MAIHH--PLTLAFGLLGNISFMVFLAPM--PTFYKIYKKKTTEGFQ 43
XP 002284244 Vitis	MALFPPIHH--PLVFIFGILGNLISFMVYLAPL--PTFYQIYKKKSTEGFQ 46
EOA14646 Capsella	---MAISQAVLATVFGILGNVISFFVCLAPI--PTFIRIYKKKSTEGYQ 44
NP 199892 AtSW10	----MAISQAVLATVFGILGNISFFVCLAPI--PTFVRIYKKKSTEGYQ 44
XP 002321731 Populus	----MAL--HLTWMALAFGLLGNLISCLVCLAPL--PTFYQIYKKKSTEGFQ 43
XP 002322281 Populus	----MAL--HLTWWFGFGLLGNFISCLVCLAPL--PTFYRICKKTSQGFH 43
XP 002321730 Populus	----MAL--HFTWWFGFGLLGNLISCLVCLAPL--PTFYQICKKTSQGFQ 43
XP 002511127 Ricinus	----MAY--HLSLEFLFGLVLANIISSMVCLAPL--PTFYQICKKTSQGFQ 43
XP 002511128 Ricinus	----MAF--HLTLAFAGLLGNIISFLVCLAPM--PTFYQICKKTSQGFQ 43
CBI32263 Vitis	---MAMLTVPHMAFAFGILGNIVSFLVYLSPL--PTFYRIYKKKSTEGFQ 45
EMJ01437 Prunus	---MAAPDAFLASVFGILGNIVAFMVYLAPL--PTFYRIFKKKSTEGFQ 45
XP 002520679 Ricinus	----MALNDPRFILAFGILGNIVSFLVYLAPL--PTFWRIYKKKSTEGFQ 44
XP 004247459 Solanum	----MPLFTTLQLAFAGILGNVGSFLVYLSPL--PTFYRIFKKKSTEGFQ 45
EOA28959 Capsella	---MVFIKVHQLAFFFGMLGNIVSFGVFLSPV--PTFYGIYKKKSSKGFQ 45
NP 181439 AtSW09	----MFLKVHEIAFLFGLLGNIVSFGVFLSPV--PTFYGIYKKKSSKGFQ 44
XP 002333315 Populus	---MGFLSNDQLTFLFGLLGNIVAAGMFLAPV--PTFYTIYKKKSTEGFQ 45
NEC1 PETHY Petunia	---MAQLRADDLSFIFGLLGNIVSFMVFLAPV--PTFYKIYKKKSTEGYQ 45
XP 002267792 Vitis	---MAVVTVKQLAFIFGLLGNLVSMVYLSPL--PTFFKIYKKKSTEGYQ 45
XP 004138978 Cucumis	---MNGLSVHQLQFIFGLLGNLISFLVFLAPM--PTFWTIYKKKSTEGFQ 45
XP 004138979 Cucumis	---MKGLSVHQLQFIFGLLGNLISFMVFLAPV--PTFWTVYKKKSTEGFQ 45
XP 003518628 Glycine	---MVSISDHELVLIFGLLGNIVSFMVFLAPL--PTFYTIYKKKSTEGFQ 45
XP 004489106 Cicer	MSKMFTFSDHEMVLIFGLLGNIVSFLVFLAPL--PTFYSIYKKKSTEGFQ 48
XP 003617528 Medicago	---MPPFSNLKMYLLFGFLG--IVTFMSFLAPL--PTFYSIYKKKSTEGFQ 44
XP 004302124 Fragaria	---MAYSTTEQLAFSFGLLGNIVSFMVFLAPM--PTFYRIYKKKSTEGFQ 45
NOD3 MEDTR Medicago	----MAISHNTLAFTFGMLGNVISFLVFLAPI--STFYRIYKKKSTEGFQ 44
NP 001239695 Glycine	----MAISHSTLAFAGMLGNVISFLVFLAPI--STFYRIYKKKSTEGFQ 44
AFK39311 Lotus	----MALSHNTLAFTFGMLGNVISFMVFLAPI--ATFYRIYKKKSTEGFQ 44
XP 003620983 Medicago	----MAISHNTLAFAGMLGNVISFMVFLAPM--TTFYRIYKKKSTEGFQ 44
XP 003530901 Glycine	----MVIHTHTLAFTFGMLGNVISFLVFLAPV--PTFYRIYKKKSTESFQ 44
XP 003524088 Glycine	---MAIFNGHNHLALGFGMLGNVISFMVYLAPL--PTFYRIYKKKSTEGFQ 46
XP 003615405 Medicago	---MDPHD--HDRLAFIFGILGNLISSMVYLAPL--PTFYRIYKKKSTEGFQ 45
XP 003547573 Glycine	----MPTHHASAAIFGIIGNMISVMVYLAPV--PTFYQIYKKKCTDGFH 43

[図2-2]

XP 003593107 Medicago	-MAMISMNHHFLVIAFGLLGNIISCMVYLAPL--PTFIQIYKKKSTECFQ	47
EOA22072 Capsella	--MGVVMNHHLLTIIIFGILGNVSVFLVLAPL--PTFYRIYKKKSTESFQ	46
NP 196821 AtSW15	--MGVMINHHFLAFIFGILGNVISFLVFLAPV--PTFYRIYKKKSTESFQ	46
EMJ23678 Prunus	-MGALADSHHPWAFTEFGILGNVISFLVYLAPV--PTFYGIYKKKSTQGFQ	47
XP 004301046 Fragaria	--MSMYSQHHLAFIFVVIGDVISFMVYLAPV--PTFYRIYKKKSTEGFQ	46
XP 002299333 Populus	-----MTGNIISFMVYLAPV--PTFIRILRKKSTEDFQ	31
XP 002514863 Ricinus	--MAIISTHPPLAFAFGILGNIISILVYLAPV--PTFYRIYKKKSTEGFQ	46
XP 004140547 Cucumis	--MTIFHSPHLLVFTFGLLGNIISFFVYLAPL--PTFYRIWQKKSTEGFH	46
XP 002264875 Vitis	-MAMAMANHHTLGLIFGILGNIISFLVYFAPA--PTFYRIYKKKSAEGFH	47
NP 199893 AtSW13	----MALTNLWAFVFGILGNIISFVFLAPV--PTFVRICKKKSTEGFQ	44
XP 002862913 Arabiopsis	----MALTHNVWAFVFGMLGNIISFVFLAPV--PTFVRICKKKSTEGFQ	44
EOA14916 Capsella	----MALTHNVWAFVFGIMGNIISFVFLAPV--PTFIRICKKKSTEGFQ	44
EOA17919 Capsella	----MVLAHNVLAFTFGVMGNIISFIVFLAPV--PTFVRICKKKSTEGFE	44
NP 194231 AtSW14	----MVLTHNVLAFTFGVLGNIISFIVFLAPV--PTFVRICKKKSTEGFE	44
EOA21276 Capsella	--MALFDTHNTWAFVFGLLGNIISFAVFLSPV--PTFYRICKKKSTEGFQ	46
NP 197755 AtSW12	---MALFDTHNTWAFVFGLLGNIISFAVFLSPV--PTFYRICKKKSTEGFQ	46
EOA24501 Capsella	--MTLFNTENTWAFVFGLLGNVISFAVFLSPV--PTFYRIWKKKSTEGFQ	46
NP 190443 AtSW11	--MSLFNTENTWAFVFGLLGNIISFAVFLSPV--PTFYRIWKKKSTEGFQ	46
XP 002511126 Ricinus	--MAIFNTHNPSVVFVFGLLGNIVSFVFLAPV--PTFLRVCKKKSTEGFQ	46
XP 004297511 Fragaria	----MTSSHPLAFAFGILGNIVSFIVFLAPV--PTFYRVYKKKSTEGFQ	44
XP 004153501 Cucumis	-MALSFNTHNPAAFTFGLLGNIISFIVFLAPV--PTFMRIYKKKSTEGFQ	47
XP 004161952 Cucumis	-MALSFNTHNPAAFTFGLLGNIISFIVFLAPV--PTFMRIYKKKSTEGFQ	47
XP 004145146 Cucumis	-MAL-FDTHHPGVFAFGLLGNIISFIVFLAPV--PTFMRIYKKKSTEGFQ	46
XP 004138250 Cucumis	-MALSFMNHPWIFAFGLLGNIISFIVFLAPV--PTFIRVCRKKSTEGFQ	47
XP 004235470 Solanum	--MTSVSHTHPLVYTFGILGNLVFSMVFIAPV--PTFYRIVKKKSSSEGFH	46
CBI15715 Vitis	-MAMFTVGHHPWVFASGILGNLMSFLVYLAPI--PTFTRVIKKKSTEGFQ	47
AFW71563 Zea	-MAFLNMEQQTWAFTEFGILGNIISLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGFQ	47
NP 001149028 Zea	-MAFLNMEQQTWAFTEFGILGNIVSLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGFQ	47
XP 002453892 Sorghum	-MAFLNMEQQTWAFTEFGILGNIISLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGFQ	47
EMT09236 Aegilops	-MAFLNMEQHTWAFTEFGILGNIISLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGVQ	47
XP 003575028 Brachypodium	-MAFLNMEQHTWAFTEFGILGNIISLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGFQ	47
NP 001046944 OsSW15	-MAFMSMERSTWAFTEFGILGNLISLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGFQ	47
EMS46194 Triticum	-MAFLNMEQHTWAFTEFGILGNIISLMVFLSPL--PTFYRVYRKKSTEGFQ	47
AFW88409 Zea	----MITVGHVPVFAVGILGNILSFLVILAPV--PTFYRVYAKKSTESFQ	44
XP 002465280 Sorghum	----MITVGHPPVFAVGILGNILSFLVTLAPV--PTFYRVYKKKSTESFQ	44
BAJ99068 Hordeum	----MAAVGSPLIFAVGILGNILSFLVILAPV--PTFYRVYRKKSTESFQ	44
EMT31030 Aegilops	----MGAVGSPLVFAVGILGNILSFLVILAPV--PTFYRVYRKKSTESFQ	44
XP 003561640 Brachypodium	----MAAIGNPWVFAVGILGNILSFLVILAPV--PTFHRVYRKKSTESFQ	44
NP 001050099 OsSW12	-----MVQALVFAVGIVGNILSFLVILAPV--PTFYRVYKKKSTESFQ	41
BAK07340 Hordeum	MAGGLFSMAHPWASAFGILGNIISFLVFLAPT--PTFLRVYRKKSTEGFS	48
EMS45810 Triticum	MAEGLFSMAHPWASAFGILGNIISFLVFLAPT--PTFLRVYRKKSTEGFS	48
XP 003578398 Brachypodium	MAGALFSMAHPWASAFGILGNIISFLVFLAPT--PTFLRVYRKKSTEGFS	48
XP 002462642 Sorghum	MAGGLFSMEHPWVSFAFGILGNIISFLVFLAPV--PTFLRVYRKKSTEGFS	48
EAZ09693 Oryza	-----MDHLWASVFGILGNIVSFLVFLAPM--PTFLRVYRKKSTEGFS	41
NP 001148964 Zea	MAGGLFSMAHPAVTLSGIAGNIISFLVFLAPV--ATFLQVYRKKSTGGFS	48
XP 002444688 Sorghum	MAGGLFSMAHPAITLSGIAGNIISFLVFLAPV--ATFLQVYRKKSTGGFS	48
XP 003572455 Brachypodium	MAAGFLSMAHPAITLSGIAGNVISFLVFLAPV--TTFVQVYRKKSTGGFS	48
NP 001062354 OsSW11	MAGGLFSMANPAVTLSGVAGNIISFLVFLAPV--ATFLQVYKKKSTGGYS	48
EMT31640 Aegilops	MAGGLFDMSPASALAGIAGNVISFFVFLAPM--ATFLQIYRKKSTGGFS	48
EMS51422 Triticum	--MGGLSMEHPWAFAGLLGNVISFSSLLAPI--PTFYRIFKSKSTEGFQ	46
EMT20808 Aegilops	--MGGLSMEHPWAFAGLLGNVISFSSLLAPI--PTFYRIFKSKSTEGFQ	46

L	G	IS	LAP	PTF	I	K
I	A	LT	ISS	S L	V	
V		VA	V	T		
M	M	F	A			
F	F					

[図2-4]

XP 004235326 Solanum	SIPYVVALFSSMLWIYYALLK-----SNMPLLLIT-INSFGMFIETIYVGF	88
XP 004235334 Solanum	SIPYVVALFSSMLWIYYALLK-----SNMPLLLIT-INSFGMFIETIYVGL	86
ACV71016 Capsicum	SIPYVIALFSSMLWIYYAFLK-----TNVTLLIT-INSFGIFETIYVGL	88
XP 004235333 Solanum	SIPYVVALFSSMLWIYYAFLK-----TNTLLIT-INTFGVFVETIYVVF	88
XP 004235342 Solanum	SIPYVVALFSSMLWIYYAFLK-----TNTLLIT-INSFGVFIETIYVGF	88
XP 004235339 Solanum	SIPYVIALFSCMLWIYYAFLK-----TNTLLIT-INSFGMLIETIYVSL	87
XP 004241452 Solanum	SIPYVVALFSAMLWIYYAFLK-----TNTLLVT-INTFGCFIETIYVGF	88
XP 004235340 Solanum	SVPYVVGFLFSAMLWIYYAFLK-----PDTLLIT-INSVGCIFIQTFYICF	85
AFK35161 Medicago	ALPYVVALFSAMLWIYYAFVK-----RESALLIT-INTFGIVVESAYIIM	89
CAC44123 Medicago	ALPYVVALFSAMLWIYYAFVK-----RESALLIT-INTFGIVVESAYIIM	89
XP 004503778 Cicer	SLPYVVALFSAMLWIYYAFVK-----REAALLIT-INTFGIVVESCYLIV	89
AFK48645 Lotus	ALPYVVALFSAMLWIYYAFVK-----RESALLIT-INTFGIVVESIYIAF	89
NP 001241307 Glycine	SLPYVVALFSAMLWIYYAFVK-----REAALLIT-INTFGIVVESIYLAI	89
NP 001242732 Glycine	SLPYVIALFSSMLWIYYALVK-----KDASLLIT-INSFGCVIETIYLAI	89
XP 003523161 Glycine	SLPYVVALFSSMLWIYYALVK-----KDASLLIT-INSFGCVIETIYLAI	89
NP 001237418 Glycine	SLPYVVALFSSMLWIYYALVK-----KDASLLIT-INSFGCVIETIYLAI	89
XP 003602780 Medicago	SVPYVTALLSAMLWIYYAHVK-----NKATLLLLT-INIYGFGIEAIYIII	90
XP 004138032 Cucumis	SVPYVVALFSAMLWIYYALLK-----TN-ATFLIT-INSFGCVIESLYILL	88
EMJ10621 Prunus	ALPYVIALLSSMLYIYYALLKEE-FKEDATFLIT-INSFGCVVETLYISL	91
XP 004297512 Fragaria	ALPYAVALFSCMLWIYYALL-----KQDATFLIT-INSVGCVIETIYLA	87
XP 002284244 Vitis	SVPYVIALFSSMLWIYYAFLN-----TDASLLIT-INSVGCVIETIYIVM	90
EOA14646 Capsella	SVPYVISLFSAMLWLYYAMIK-----KDAVMLIT-INSFAFVIQIYIYSL	88
NP 199892 AtSW10	SIPYVISLFSAMLWMYAMIK-----KDAMMLIT-INSFAFVVQIYIYSL	88
XP 002321731 Populus	SIPYVIALFSAMLWLFYAIFS-----EDAILLIT-INTFAFFMEFGYITV	87
XP 002322281 Populus	SIPYVIALFSAMLWLFYALFK-----EDALLIT-INSFTFFMEIGYIFM	87
XP 002321730 Populus	SIPYVIALFSAMLWLFYASFS-----ENAMLLIT-INSFAFFMEIGYIAV	87
XP 002511127 Ricinus	SVPYVIALFSAMLWLFYATFD-----DNATLLIT-INSFTFFMEVGYLSV	87
XP 002511128 Ricinus	SIPYVIALFSATLWLFYAIFA-----NDATLLIT-INSFAFFMETAYIAI	87
CBI32263 Vitis	SIPYSVALFSAMLLYYAFLKTDN-----QIMLIT-INSVGTCTEATYLLV	90
EMJ01437 Prunus	SIPYSVALFSAMLMYYAFLKTN-----AFMLIT-INSVGCIIETSYLVM	89
XP 002520679 Ricinus	SIPYSVALFSAMLTLYYATLKEN-----AILLIT-INSIGCLIEGIYLT	88
XP 004247459 Solanum	SIPYSVSLFSAMLYLYYAYLKKN-----EILLIT-INSFGTGIQIYLT	89
EOA28959 Capsella	SIPYICALASATLLYYGIMKTH-----AYLIIS-INTFGCFIEITYLFL	89
NP 181439 AtSW09	SIPYICALASATLLYYGIMKTH-----AYLIIS-INTFGCFIEISYLF	88
XP 002333315 Populus	SIPYSVALMSASLLYYGLLKTN-----AYLLIS-INSIGCAFEVYTLII	89
NEC1 PETHY Petunia	AIPYMVALFSAGLLYYAYLRKN-----AYLIVS-INGFGCAIELTYISL	89
XP 002267792 Vitis	ALPYSVGLLCASFLYYALLQSG-----KFLILS-INTIGSTIQATYLV	89
XP 004138978 Cucumis	SIPYVVALMSAMLLYYAALKTN-----AYLLVS-INSFGCVIEIYIYAL	89
XP 004138979 Cucumis	CIPYVVALMSAMLLYYAVLKTN-----AYLLIS-INSFGCVIELIYIAL	89
XP 003518628 Glycine	SIPYAVALLSALLYYGFIKTN-----ATLIIT-INCIGCVIEVSYLTM	89
XP 004489106 Cicer	SIPYVVALLSAMLLYYGLLKTN-----AILIIT-INCIGCVIEVLYLII	92
XP 003617528 Medicago	SIPYVVTLLSTLLFVYGGFLKTN-----AIFLIT-INSIGCVMEVAYLIM	88
XP 004302124 Fragaria	SIPYVVALLSAMLLYYGVIKTN-----AILIIS-INAFGVIEVAYLIF	89
NOD3 MEDTR Medicago	SLPYLVALFSSMLWLYYALLK-----KDAFLLIT-INSFGCVVETIYIIL	88
NP 001239695 Glycine	SLPYLVALFSSMLWLYYALLK-----KDAMLLIT-INSFGCVIEIYIIL	88
AFK39311 Lotus	SLPYLVALFSSMLWLYYAMVK-----KDAFLLIT-INSFGCVIEIYIIL	88
XP 003620983 Medicago	SLPYLVALFSSMLWLYYAFVK-----KDEFLLIT-INSFGCVVETIYIIL	88
XP 003530901 Glycine	SLPYLVALFSSMLWLYYALLK-----RDAVLLIT-INSFGCVIEIYIVL	88
XP 003524088 Glycine	SLPYLVALFSSMLWLYYASLKP-----ADATLLIT-INSLGCVIEIYIIM	91
XP 003615405 Medicago	SLPYLVALFSSMLWLYYGFVK-----KHAFLLIT-INSAGCVIETIYIVT	89
XP 003547573 Glycine	SLPYLLSLMSSMLWLYYAFVKI-----HDGVVPLIT-INSIGCVIELIYILT	89

[図2-5]

XP 003593107 Medicago	SLPYLVALFSSMLWLYYG---I---QTNAIFIVSINAFGCVIEIYYCIM 90
EOA22072 Capsella	SLPYQVSLFSCMLWLYYALIK-----KNAFLIT-INSFGCVVQTIYIAM 90
NP 196821 AtSW15	SLPYQVSLFSCMLWLYYALIK-----KDAFLIT-INSFGCVVETLYIAM 90
EMJ23678 Prunus	SVPYLVALFSGMLWFYIYALK-----KNAMLLIT-INSFGTVIETIYIVM 91
XP 004301046 Fragaria	SLPYLVALFGSTLWLYYGIVK-----QNMVLLIT-INTFGSVMETLYIAM 90
XP 002299333 Populus	SLPYLVALFSSMLWLYYAMLK-----NDEILLVT-INSFGCVIETIYIAI 75
XP 002514863 Ricinus	SLPYLVALFSSMLWLYYAMLK-----KDVFLVT-INAFGCVIETIYIIM 90
XP 004140547 Cucumis	ALPYLVALFSSALWLCYAFK-----TNTFLLIT-INSFGCVIEFLYFIV 90
XP 002264875 Vitis	SLPYIYALFSAAMLWLYYALK-----KDAFLIT-INSFGCAIESFYILL 91
NP 199893 AtSW13	SLPYVSALFSAAMLWIYYAMQKD-----TAFLIT-INAFGCVIETIYIVL 89
XP 002862913 Arabidopsis	SLPYVSALFSAAMLWIYYAMQKD-----SGFLLIT-INAAGCVIETIYIVL 89
EOA14916 Capsella	SLPYLSAIFSAAMLWIYYAMQKD-----SGFLLIT-INAAGCVIETIYIVL 89
EOA17919 Capsella	SLPYVSALFSAAMLWIYYAMQKD-----AGFLLIT-INAAGCVIETIYIIL 89
NP 194231 AtSW14	SLPYVSALFSAAMLWIYYALQKD-----AGFLLIT-INAAGCVIETIYIIL 89
EOA21276 Capsella	SIPYVVALFSAAMLWLYYATQKK-----DVFLVT-INSFGCFIETIYISI 90
NP 197755 AtSW12	SIPYVVALFSAAMLWLYYATQKK-----DVFLVT-INSFGCFIETIYISI 90
EOA24501 Capsella	SIPYVVALFSAAMLWLYYATQKK-----DVFLVT-INAAGCVIETIYISM 90
NP 190443 AtSW11	SIPYVVALFSAAMLWLYYATQKK-----DVFLVT-INAAGCVIETIYISM 90
XP 002511126 Ricinus	SFPYVVSALFSAAMLWLYYASLKS-----DAFLIT-INSVGCLIETIYITL 90
XP 004297511 Fragaria	SIPYIFALFSAITWIYYASLKS-----DEMLIT-INGFGCVIETIYIAM 88
XP 004153501 Cucumis	SIPYVVALFSAAMLWLYYASFNP-----NETLLIT-INSVGCLIETIYLAI 91
XP 004161952 Cucumis	SIPYVVALFSAAMLWLYYASFNP-----NETLLIT-INSVGCLIETIYLAI 91
XP 004145146 Cucumis	SVPYVVALFSAAMLWLYYASFNS-----NETLLIT-INSVGCLIETIYIAI 90
XP 004138250 Cucumis	SIPYVVALFSAALLIYVSTLNA-----DEFFLMT-INSVGCFIETIYIAL 91
XP 004235470 Solanum	SLPYVVGFLFSAAMLWIYYAMVKT-----NVTLLIT-INSFGCAIETIYVAI 90
CBI15715 Vitis	SVPYVIALFSAAMLWMYGYLVN-----TNASFLS-VNGFGCFIETIYISI 91
AFW71563 Zea	STPYVVTFLFSCMLWIFYALLK-----SGAELLVT-INGVGCVEAAYLAA 91
NP 001149028 Zea	STPYVVTFLFSCMLWIFYALLK-----PGAELLVT-INGVGCVVETVYLAM 91
XP 002453892 Sorghum	STPYVVTFLFSCMLWIFYALLK-----SGAELLVT-INGVGCVIETVYLG 91
EMT09236 Aegilops	PTPYLVTLFSCLLWMYAFK-----SGSELLT-INAAGCVIESLYIAM 91
XP 003575028 Brachypodium	STPYVVTFLFSCLLWMYAFK-----SGAELLT-INGVGCVIETIYIAM 91
NP 001046944 OsSW15	STPYVVTFLFSCMLWMYAFVK-----SGAELLVT-INGVGCVIETVYLAM 91
EMS46194 Triticum	STPYLVTLFSCLLWMYAFK-----SGSELLT-INAAGCVIESLYIAM 91
AFW88409 Zea	SVPYVVALLSATLWLYYALLS-----TD-LLLS-INTVACVAESVYLAV 87
XP 002465280 Sorghum	SVPYVVALLSAAMLWLYYALLS-----ID-VLLS-INTIACVSVYLAI 87
BAJ99068 Hordeum	SVPYAMALLSAMLWLYYALLT-----KD-LLLT-INTVGCVVETAYLAI 87
EMT31030 Aegilops	SVPYAMALLSAMLWLYYALLT-----KD-LLLT-INTVGCVVESAYLAI 87
XP 003561640 Brachypodium	SAPYAMALLSAMLWLYYALLT-----AD-LLLS-INAAGCVVETAYLAV 87
NP 001050099 OsSW12	SVPYAVALLSAMLWLYYALLT-----SD-LLLS-INSIGCLVESLYLTV 84
BAK07340 Hordeum	SVPYVVALFSCTLWILYALVK-----TNSSPLT-INAAGCVVEAFYIVL 92
EMS45810 Triticum	AVPYVVALFSCMLWIFYALVK-----TNSSPLT-INAAGCVVESFYILL 92
XP 003578398 Brachypodium	SVPYVVALFSCTLWILYALVK-----TNSSPLT-INAAGCVVEAAYIVL 92
XP 002462642 Sorghum	SVPYVVALFSCTLWILYAVVK-----TNSSPLT-INAAGCVVEATYILL 92
EAZ09693 Oryza	SVPYVVALFSCTLWILYAMVK-----TNSSPLT-INAAGCVVEAAYIAV 85
NP 001148964 Zea	SVPYVVALFSSVLWIFYALVK-----TNSRPLT-INAAGCGVEAAYIVL 92
XP 002444688 Sorghum	SVPYVVALFSSVLWIFYALVK-----TNSRPLT-INAAGCGVEAAYIVF 92
XP 003572455 Brachypodium	AVPYVVALFSSTLWILYALLK-----GNSRPLT-INGFGCGVELAYVVA 92
NP 001062354 OsSW11	SVPYVVALFSSVLWIFYALVK-----TNSRPLT-INAAGCGVEAAYIVL 92
EMT31640 Aegilops	SVPYVVALFSCSLLIFYALLK-----TDSPLLT-INSFGCCIETVYIVA 92
EMS51422 Triticum	SVPYVVALFSAAMLWIFYALVK-----TGEGLIS-INAAGCVIETVYIVM 90
EMT20808 Aegilops	SVPYVVALFSAAMLWIFYALVK-----TGEGLIS-INAAGCVIETVYIVM 90

[図2-6]

BAJ85621 Hordeum	SVPYVVALFSAMLWIFYALVK-----TGEGLLIT-INAAGCVIETVYIIM 90
EMT11081 Aegilops	SVPYVVALFSAMLWIFYALVK-----TGEGLLIS-INAAGCVIETVYIYM 90
XP 002442119 Sorghum	SVPYVVALFSAMLWIFYALIK-----SNETFLIT-INAAGCVIETIYIYM 90
XP 002443167 Sorghum	SVPYVVALFSAMLWIFYALIK-----SNETFLIT-INAAGCVIETIYIYM 90
NP 001141654 Zea	SVPYVVALFSAMLWIFYALIK-----SNETFLIT-INAAGCVIETIYIYM 90
NP 001141106 Zea	SVPYVVALFSAMLWIFYALIK-----SNETFLIT-INAAGCVIETVYVVM 90
SWT13 ORYSJ OsSW13 Oryza	SVPYVVALFSAMLWIFYALIK-----SNEALLIT-INAAGCVIETIYIYM 90
XP 003576225 Brachypodium	SVPYVVALFSAMLWIFYALVK-----SNESLLIT-INAAGCVIETIYVVM 90
BAJ94651 Hordeum	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SDEYLLIT-INTAGCVIETIYIVL 90
XP 003576036 Brachypodium	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SDGCLLIT-INTAGCVIETIYIVV 90
EMT20480 Aegilops	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SDELLIT-INSAGCVIETIYIYM 90
EMT20481 Aegilops	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SDELLIT-INSAGCVIETIYIIM 90
NP 001132836 Zea	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SNEFLIT-INSAGCVIETLYIAT 90
XP 002450786 Sorghum	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SNEFLIT-INSAGCVIETLYIYM 92
NP 001067955 OsSW14	SVPYVVALFSAMLWIFYALLK-----SDECLLIT-INSAGCVIETIYIAV 90

**	:	:	.	*	:	!*	:	*
--PY---	L---	L-I-	YA---	(7-13aa)	---	I--IN-----	E--Y----	
	I	I	L S			L V	Q	
			M G			V		
			V			M		
			F					

[図2-7]

XP 004235326 Solanum	YLFYAPKKARVHT-IKMLMLSVVGGFGAIVLVTEFLFK-GVVRGQIVGWI	136
XP 004235334 Solanum	YLLYAPNKARVHT-IKMLMLSVVGGFGAIVLITEFLFK-GVVRGQIVGWI	134
ACV71016 Capsicum	YLFYAPKKARVHT-VKMLLLTVVGGFGAIVLVTEFLFK-GVVRGQIVGWI	136
XP 004235333 Solanum	YLIYAPKKSRVQT-IKMLSLFVVGFGAIIIVTQFLFK-GVIRGQVVGWI	136
XP 004235342 Solanum	YLFYAPKKDRVQT-IKMLMLSVVGGFGAIVLITEFLFK-GVVRGQIVGWI	136
XP 004235339 Solanum	FLYAPKKARVNT-VKMLLLTVVGGFGAIIIVTQFLFK-GVVRGQIVGWI	135
XP 004241452 Solanum	YLFYAPKKARVQT-IKLLLLLVVGGFGAIIITQFLFK-GAIRAQIVGWI	136
XP 004235340 Solanum	FLFYATKKAKMDT-MKLLLSMNVVGLGLIIFLTQFFAK-GSNRAQIVGWI	133
AFK35161 Medicago	FLIYAPKKQRLST-IKLLLLLVVGGFGAMLLSTLYLSK-GAKRLAIIIGWI	137
CAC44123 Medicago	FLIYAPKKQRLST-IKLLLLLVVGGFGAMLLSTLYLSK-GAKRLAIIIGWI	137
XP 004503778 Cicer	FLIYATKKSRLST-IKLLLLLVVGGFGAMLLSTLYLAK-GAKRLAIIIGWI	137
AFK48645 Lotus	FLFYAPKKSRLST-IKLLLLLVVGGFGAMLLATLYLSK-GAKRLQIIIGWI	137
NP 001241307 Glycine	FLLYAPRKPRLT-IKLLLLLVVGGFGAMLLSTLYLSK-GAKRLAIIIGWI	137
NP 001242732 Glycine	FLIYAPSKTRLWT-IKLLMLNVFVGFGAMLLSTLYLT-GSKRLSVIGWI	137
XP 003523161 Glycine	FLVYAPSKTRLWT-IKLLMLNVFVGFGAMLLSTLYLT-GSKRLSVIGWI	137
NP 001237418 Glycine	FLIYAPSKTRLWT-IKLLMLNVFVGFGAMLLSTLYLT-GSKRLTVIGWI	137
XP 003602780 Medicago	FLLYASNKARLST-IKLFLT-VCYGTMVILTTYLTK-GSKRLSIIGWI	137
XP 004138032 Cucumis	FIIYAPTCLRQFT-AKVIFLLNVLFGLMLALTFLAK-GEKRLKVLGWI	136
EMJ10621 Prunus	FLFYAPKKARIST-LTLVFLNLVFGFGLMMLLTHFLAT-GEMRLKIVGWI	139
XP 004297512 Fragaria	FLFYSPKKARIST-VKFLLLLVVGGFGAMLLVTLFLAK-GEIRLKVVGWI	135
XP 002284244 Vitis	FLVYAPKKARITT-VKLVFLMNICGFGSILLTLTLLAE-GANRVRLIGWV	138
EOA14646 Capsella	FFFYAPKKDKILT-VKFVLFVDVFAFGLIFFSTYFPIH-GNKRQVVLGYI	136
NP 199892 AtSW10	FFFYAPKKEKILT-VKFVLFVDVLFVGAIFVLTIFYI-HANKRVQVVLGYI	136
XP 002321731 Populus	YLLYATKKDKILT-FKLLLLFNSFGGLICVLTFLTLTQ-GQKRVQVLGWI	135
XP 002322281 Populus	YLLYATKKDKILT-FKLLLLFNVFVGGLICVLTFLTLTQ-RQKRVQVLGWI	135
XP 002321730 Populus	YLFYATKKDKILT-FKLLLLFNIFGGLICALSLTTE-GTKRVHVLGWI	135
XP 002511127 Ricinus	YLFYGTTRKDRMLT-TKLVLFFNVFVGGMIAITLTLFLTH-GRKRVQVLGWI	135
XP 002511128 Ricinus	YLFYAVKKDRLFT-TKLVLNLNIFAFGSICVIAMFLTH-GQKRVQVLGWI	135
CBI32263 Vitis	YMIYAPRTAKIYT-AKLLLLFNTGVYGAIVLSTFFLSK-GHRRAKIVGWI	138
EMJ01437 Prunus	YMIYAPAKTRIYT-AKLLVLFNVGVGVIVLSTYLIPN-HFLRIKVVGWI	137
XP 002520679 Ricinus	YMIYATQTSRVQIHFKLLILFNLGTLYLLIVMLASELTH-GTLRVQVVGWI	137
XP 004247459 Solanum	FMIYATKSAKIFA-TKLLIGFNLVAFGAIVGLTYVFANENDLRISIVGWI	138
EOA28959 Capsella	YIFYAPREARIFT-LKLIVICNIGGLGLLILLVNLVLP-KPHRVSTVGWV	137
NP 181439 AtSW09	YIYAPREARIST-LKLIVICNIGGLGLLILLVNLVLP-KQHRVSTVGWV	136
XP 002333315 Populus	YLIYAPKQEKMT-MKLLIFNMGSFGVLLLTMLLMK-GKPRLSVVGWI	137
NEC1 PETHY Petunia	FLFYAPRKSIFT-G-WLMLELGAIGMVPITYLLAE-GSHRMIVGWI	136
XP 002267792 Vitis	FIIYSPRAGKIVAT-LKMILILNVASLGLVLLTTLFSLK-GKTRIQVVGWI	137
XP 004138978 Cucumis	YLFYAPKKQKIFT-LKLFIFNLGFSVGMVGGTMFLH-GMKRTNAVGI	137
XP 004138979 Cucumis	YFYAPKKLKIFT-LKLLMILNLGSGVMVGGTMLIH-GNKRTHAVGI	137
XP 003518628 Glycine	YIIYAPRKQKIST-LVMILIAIDIGGGLTMLITTFVAVK-GINRVHAVGI	137
XP 004489106 Cicer	YIIYAPRKLKIST-LALILVADLGGGLTLIITNFIVK-SYYRVHAVGLI	140
XP 003617528 Medicago	YITYAPKKLKIST-LVLILIVDMGGFGLTMIITTFIVK-GSFHVQVVGWI	136
XP 004302124 Fragaria	YLYYAPKKQRIFT-LNLILLVNVAFGLTLAATIFLLS-GTKRVAIVGWI	136
NOD3 MEDTR Medicago	YIIYAPRDARNLT-FKLLSAMNVGSFALILIVTNYAVHGP-LRVQVLGWI	136
NP 001239695 Glycine	YITYATRDARNLT-LKLFFAMNVGAFALILLVTHFAVHGS-LRVQVLGWI	136
AFK39311 Lotus	YMIYAPRDARNLT-LKLFTAMNVGSFALILLVTHFAVHGP-LRVQVLGWI	136
XP 003620983 Medicago	YIIYATKDARKLT-IKLLLAMNIGSGLILLVTKYAVHGP-IRVQVLGWI	136
XP 003530901 Glycine	YITYATRDARNLT-IKLFSAMNMTSFAVILLVTHFGVHGP-LRVQVLGWI	136
XP 003524088 Glycine	FTIYATKDARNLT-VKLFMVMNVGSFALIFLVTYFAMHGS-LRVQVVGWV	139
XP 003615405 Medicago	YLIYATKDARILT-IKLFMAMNVACSVLIVLTTQLAMHGK-LRVHVLGWI	137
XP 003547573 Glycine	YIKYAHKDARNLT-YTLFAAMN-IAFLTIVLSSHFALHGS-HRVKVIGWI	136

[図2-8]

XP 003593107 Medicago	YIAYATKDARKLT-IKLCAALNVVSFVLIFLIIQFSIPEN-HRVQVLGWI	138
EOA22072 Capsella	FLAYATRDKRISA-MKLFIAINVVFFSLILLVTHFVVKTPTLQVSVLGWI	139
NP 196821 AtSW15	FFAYATREKRISA-MKLFIAMNVAFPSLILMVTHFVVKTPPLQVSVLGWI	139
EMJ23678 Prunus	FIFYAPKDARKFT-LKLFGFMNVGLFCSILVLSHFVAVRSE-YRVPVLGWI	139
XP 004301046 Fragaria	YIVYATNASRKLTIKLFGFMNGLFSLIVVCISYAVHSE-YRALVLGXI	138
XP 002299333 Populus	YIAYATRESKVST-IKLLSMNMGLFSLIILLTHFLASGS-TRVKALGWL	123
XP 002514863 Ricinus	YIIYATKKNRVST-FKVLTSMNGLFAFIILFSHFLVKSS-VRAQVLGWI	138
XP 004140547 Cucumis	FIVFAANSVRMLT-IRIFAMNMGLFGLILVAIHFIIPNPS-NRTDVMGWI	138
XP 002264875 Vitis	YFFYAPMQAKKQT-LKVVISLNVGVFSILVVLIIQFLKGS-NRINVFGWI	139
NP 199893 AtSW13	FVSYANKKTRIST-LKVLGLLNFLGFAAIVLVCELLTK-GSTREKVLGGI	137
XP 002862913 Arabiopsis	FVTYANKKTRIST-LKVLGLLNFLGFAAIVLVCELLTE-GSTREKVLGGI	137
EOA14916 Capsella	FVTYANKKTRIST-LKVLGLLNFLGFAAIVLVCELLTK-GSTRKVLGGI	137
EOA17919 Capsella	FLTYANKKARIST-LKVLGLLNFLGFAAIIILVCELLTK-GSNREKVLGGI	137
NP 194231 AtSW14	FITYANKKARIST-LKVLGLLNFLGFAAIIILVCELLTK-GSNREKVLGGI	137
EOA21276 Capsella	FLAFATKNARMLT-VKLLLLMNVGGFCAIILLCQFLAK-GATRAKIIGGI	138
NP 197755 AtSW12	FVAFASKKARMLT-VKLLLLMNVGGFCLILLCQFLAK-GTTRAKIIGGI	138
EOA24501 Capsella	FLAYAPKPARMIT-VKILLMNFGGFCLILLCQLLK-GATRAKIIGGI	138
NP 190443 AtSW11	FLAYAPKPARMIT-VKMLLLMNFGGFCAIILLCQFLVK-GATRAKIIGGI	138
XP 002511126 Ricinus	FITYAPKQARITT-LKILLLNFGGFCLILLSHFLAK-GSERATILGWV	138
XP 004297511 Fragaria	YITYAPKKARVNT-LRLLLVNFGGFCLILFLSHFLTQ-GPTRVKVLGWV	136
XP 004153501 Cucumis	FIVFAPKQIRVST-LRFVLLNFGGFCLILLVTHFLVH-GSNRVKVVGWI	139
XP 004161952 Cucumis	FIVFAPKQIRVST-LRFVLLNFGGFCLILLVTHFLVH-GSNRVKVVGWI	139
XP 004145146 Cucumis	FIVFAPKQIRVST-LRFVLLNFGGFCLILLVTHFLVH-GSNQVQVVGWI	138
XP 004138250 Cucumis	YIAYAPKKARIFT-VRFVLLLDVVGFCISILVVTQFLVK-RAYRARVIGFI	139
XP 004235470 Solanum	YFTYATKKARMKT-LGLVLLNFGVFGILFLTLQILCQ-GTKRAEVIGWI	138
CB115715 Vitis	YLIFAPRRARILT-LRLLLLINLGAFCILIVTNFMVK-RPHRVKAVGWV	139
AFW71563 Zea	YLVPYAPKAARALT-AKMLLGLNVGVF-GLAALATMVVSSAGLRVRVLGWI	139
NP 001149028 Zea	YLVPYAPKAARVLA-AKMLLGLNVGVF-GLVALVTMLSDAGLRVHVLGWI	139
XP 002453892 Sorghum	YLLYAPKAARVLT-AKMLLGLNVGVF-GLVALVTMVLNGLRVKVLGWI	139
EMT09236 Aegilops	YLVPYAPKSARLLT-AKLFTIGLDVGLF-GLIALVTMLASVPLRVQVVGWI	139
XP 003575028 Brachypodium	YLIYAPKSARLLT-AKLFTIGLDVGLF-GLIALVTMLVSAGTLRVQIVGWI	139
NP 001046944 OsSW15	YLAYAPKSARMLT-AKMLLGLNIGLF-GVIALVTMLLSRGELRVHVLGWI	139
EMS46194 Triticum	YLVPYAPKSARLLT-AKLFTIGLDVGLF-GLIALVTMLASHGPLRVQVVGWI	139
AFW88409 Zea	YLAYAPGPAKAFT-LKLLCAINMGLFGAMVAFLLQFY-VDGQRRVSIAGGV	136
XP 002465280 Sorghum	YLTYPAPKPAMAFT-LKLLFTMNMGFLGAMVAFLLQFY-VDGQRRVSIAGGV	135
BAJ99068 Hordeum	YLAYAPKQAKAFT-AKLVCIMNVVALYGAMVCVLQLLVRDGESRVTIAGGI	136
EMT31030 Aegilops	YLAYAPKQARTFT-AKLVCIMNVVALYGAMVCVLQLLVKDGESRVTIAGGI	136
XP 003561640 Brachypodium	YLAYAPKQARAFT-VKLVFVMNVVALYGAMVAFLLQLYVRDGDRRVAIAGGV	136
NP 001050099 OsSW12	YLLYAPRQAMAFT-LKLVCMANLALFAAVVAALQLLVKATDRRVTLAGGI	133
BAK07340 Hordeum	YLVPYAPRPARMRA-LAFFLLLNVAAL-SLIVAVTVFLVPQPSRVKVLGSI	140
EMS45810 Triticum	YVVYAPRPARHRA-LAFFLLLDVAAL-SLIVVTVFLVPQPSRVKVLGSI	140
XP 003578398 Brachypodium	YLVPYAPRPARLRT-LASFLLLNVAAL-SLIVAVTVFLVAPMHRVKVLGSI	140
XP 002462642 Sorghum	YLIYAPRAARLRA-LAFFFLLDVAAL-ALIVVVVVVLVAEPHRVKVLGSI	140
EAZ09693 Oryza	YLVPYAPRPARLRA-LASFLLLNVAAL-SLVVVVTVAAVVQPHRVRVLGS	133
NP 001148964 Zea	YLAYAPRRARLRT-LAYFFLLDVAAL-ALVVAVTLFAVREPHRVKFLGSI	140
XP 002444688 Sorghum	YLAYAPRKARLRT-LAYFFLLDVAAL-ALVVVVTLFVREPHRVKFLGSI	140
XP 003572455 Brachypodium	YLLYAPRKARLRA-LAYFLALDVAAL-ATVAAVALLGVAPEHRVKFLGSI	140
NP 001062354 OsSW11	YLVPYAPRRARLRT-LAFFLLLDVAAL-ALIVVTTLYLVKPHQVVKFLGSI	140
EMT31640 Aegilops	YLVPYAPRPARLRT-LAYFFVLDVAAL-GLVLVVTMYAFAPHRVKFLGSI	140
EMS51422 Triticum	YLVPYAPRKAKIFT-AKIVVLLNITGF-GLIFLLTLFAFHGETRVVSLGWI	138
EMT20808 Aegilops	YLVPYADRKAKIFT-AKIVVLLNIAGF-GLIFLLTLFAFHGETRVVTLGWI	138

[図2-9]

BAJ85621 Hordeum	YLVYAPRKAKIFT-AKIVLLLNAGF-GLIFLLTLFAFHGETRVVSLGWI	138
EMT11081 Aegilops	YLVYAPRKAKIFT-AKIVVLLNVAGF-GLIILLTLFAFHGETRVISLGI	138
XP 002442119 Sorghum	YFVYAPKKAKLFT-AKIMLLLNAGVF-GVILLVTLLLFKGDKRVMMLGWI	138
XP 002443167 Sorghum	YFVYAPKKAKLFT-AKIMLLLNAGVF-GVILLVTLLLFKGDKRVMMLGWI	138
NP 001141654 Zea	YFVYAPKKAKLFT-AKIMALLNAGVF-GVILLVTLLLFKGSKRVMMLGWI	138
NP 001141106 Zea	YFVYATKKGRMFT-AKIMLLLNAGF-GAILLVTLLLFKGDKRVMMLGWI	138
SWT13 ORYSJ OsSW13 Oryza	YLAYAPKKAKVFT-TKILLLNAGVF-GVILLVTLLLSHGQEVVSLGWI	138
XP 003576225 Brachypodium	YFVYAPRKAKLFT-AKIMLLLNAGVF-GVILFCTLFLAHGEKRVMMLGWI	138
BAJ94651 Hordeum	YLAYAPKQARLFT-AKILLLNAGVF-GLIILLTLTLAGERRVMMLGWI	138
XP 003576036 Brachypodium	YLAYAPKQAKLFT-AKILLLNAGVF-GMILLTLTLAGGEKRVMMLGWI	138
EMT20480 Aegilops	YLAYAPKQAKIFT-AKILLLNAGVF-GLIILLTLTLAGGEKRVMMLGWI	138
EMT20481 Aegilops	YLTYPKQAKLFT-AKILLLNAGVF-GLIILLTLTLAGGEKRVMMLGWI	138
NP 001132836 Zea	YLLYAPNKAKLFT-AKILLLNAGVF-GLIILLTLTLAGQHRVVMMLGWI	138
XP 002450786 Sorghum	YLLYAPKKAKLFT-AKILLLNAGVF-GLIILLTLTLAGQHRVVMMLGWI	140
NP 001067955 OsSW14	YLVYAPKKAKMFT-AKILLLVNAGVF-GLIILLTLTLAGDRRIVVMMLGWI	138

:	:	:	*	:
Y	Y	A		
----- (35-36aa) -----				
F	FG		Q	I
	S		H	L

[図2-10]

XP 004235326 Solanum	CLIFSLCVFVAPLGIVR-----QVIKTKSVEYMPLLLSVFLTLSAVMWFF	181
XP 004235334 Solanum	CLIFSLCVFVAPLGIVR-----KVIKTKSVEYMPLLLSVFLTLSAVMWFF	179
ACV71016 Capsicum	CLIFALS VFVAPLGIVR-----QVIKTKSVEYMPLLLSVFLTLSAVMWFF	181
XP 004235333 Solanum	CLIFSLCVFVAPLGIVR-----KVIKTKSVEYMPLLLSVFLTLSAVMWFF	181
XP 004235342 Solanum	CLIFSLCVFVAPLGIVK-----QVIKTKSVEYMPLLLSIFLTL SAVVWFF	181
XP 004235339 Solanum	CLIFSLCVFVAPLGIVR-----QVIKTKSVEYMPILLSVFLTISAVMWFF	180
XP 004241452 Solanum	CLVFSLCVFVAPLCIVR-----QVIKTKSVEYMPFLLSVFLTLSAVMWFF	181
XP 004235340 Solanum	CLIFSFCVFVAPLGVL R-----QVIRTKSVEYMPFQLSFFLTLSAVMWFL	178
AFK35161 Medicago	CLVFNISVFATPLFVIS-----KVIRSR SVEYMPFFLSFFLTINAVMWFF	182
CAC44123 Medicago	CLVFNISVF AAPLFVIS-----KVIRSR SVEYMPFFLSFFLTINAVMWFF	182
XP 004503778 Cicer	CLVFNITVF AAPLFII S-----RVIRTR SVEYMPFFLSFFLTINAVMWFF	182
AFK48645 Lotus	CLVFNISVF AAPLFII S-----KVIRTR SVEYMPFFLSFSLTINAVMWFF	182
NP 001241307 Glycine	CLVFNISVF AAPLFII R-----RVIRTR SVEYMPFFLSMFLTINAVMWFF	182
NP 001242732 Glycine	CLVLNISVF AAPLCIMK-----RVIRTR SVEFMPFSL SFFLTINAVMWFF	182
XP 003523161 Glycine	CLVFNISVF AAPLCIMK-----RVIRTR SVEFMPFSL SLSLTINAVMWFF	182
NP 001237418 Glycine	CLVFNISVF AAPLCIIK-----RVIRTR SVEFMPFSL SFFLTINAVMWFF	182
XP 003602780 Medicago	CMVFNICVFASPLFILK-----QVIKTKSVA FMPNL SFFLTINAVMWFF	182
XP 004138032 Cucumis	CLVFNL S VF AAPLFIMG-----KVIKTKSVEYMPFALSFFLTINAVMWFF	181
EMJ10621 Prunus	CLVFSL S VFVAPLGVL R-----RVIRTR SVEFMPFPL SFFLT LGAVTWFF	184
XP 004297512 Fragaria	CLVFNL TVF AAPLCILK-----KVIRTR SVEFMPFPL SFFLT LGAVMWFF	180
XP 002284244 Vitis	CLVFSL S VFLAPLCIMR-----QVIRTR SVEYMPFLL SFFLTLSAVMWFF	183
EOA14646 Capsella	CMVFALS VFVAPLGIIR-----KVIKTKSAEFMPFGL SFFLTLSAVMWFF	181
NP 199892 AtSW10	CMVFALS VFVAPLGIIR-----KVIKTKSAEFMPFGL SFFLTLSAVMWFF	181
XP 002321731 Populus	CMIFSLCVFVAPLFIVR-----EVIKTKSVEFMPFSL SFFLTLSAVMWFF	180
XP 002322281 Populus	CMTFSLCVFVAPLFIVR-----KVIRTR SVEFMPFSL SFFLTLSAVMWFF	180
XP 002321730 Populus	CMVFALCVFVAPLGVR-----KVIRTR SVEFMPFSL SFFLTLSAVMWFF	180
XP 002511127 Ricinus	CMIFALCVFVAPLGIMR-----KVIKTKSVEFMPFSL SFFLTLSAVMWFF	180
XP 002511128 Ricinus	CMVFALCVFVAPLAIVR-----KVIKTKSVEFMPFSL SFFLTLSAVMWFF	180
CBI32263 Vitis	CAAFSLCVF AAPLSIMR-----LVIRTR SVEYMPFPL SFFLTICAVMWFF	183
EMJ01437 Prunus	SVVFSVCVF AAPLSIMR-----LVIRTR SVEFMSFPL SFCLTLCAVMWFF	182
XP 002520679 Ricinus	CAVFSVCVF AAPLSIMR-----LVIKTKSVEYMPFSL SFFLTLC AISWLG	182
XP 004247459 Solanum	CAVFSVS VF AAPLSIMR-----RVIQTKSVEFMPFPL SFFLTICAVMWFF	183
EOA28959 Capsella	CAAYSLAVFASPLSVMR-----KVIKTKSVEYMPFLL SLSLTINAVMWFF	182
NP 181439 AtSW09	CAAYSLAVFASPLSVMR-----KVIKTKSVEYMPFLL SLSLTINAVMWFF	181
XP 002333315 Populus	CAVFSVAVCAAPLSIMR-----RVVRTKSVEYLPFTLSASITLNAV MWFF	182
NECI PETHY Petunia	CAAINVAVF AAPLSIMR-----QVIKTKSVEFMPFTLSLFLTLCATMWFF	181
XP 002267792 Vitis	SAGVNIGTFVAPLSIIK-----RVIETRSVEYMPFNLSFFLTICATMWFF	182
XP 004138978 Cucumis	CAAFNL S VFASPLSIMK-----RVITTKSVEYMPFSL SFFLTLSATMWFF	182
XP 004138979 Cucumis	CAAFNLAVFASPLAIMK-----RVITTKSVEYMPFSL SFFLTLSATMWFF	182
XP 003518628 Glycine	CAIFNIAVF AAPLSIMR-----RVIKTKSVEFMPFSL SFLTLCATMWFF	182
XP 004489106 Cicer	CAIFNIAVF AAPLSIMR-----KVIKTR SVEYMPFPL SFLTLCATMWFF	185
XP 003617528 Medicago	CTIFNIGMF AAPLSIMK-----KVIKTR SVEYMPFPL SFLTLCATMWFF	181
XP 004302124 Fragaria	CAVFNIAVF AAPLSIMR-----EVIKTKSVEFMPFGL SFLTLCATTWFF	181
NOD3 MEDTR Medicago	CVSL S VSVF AAPLSIVA-----QVVRTKSVEFMPFNLSFTLTLSATMWFG	181
NP 001239695 Glycine	CVSL S ISVF AAPLSIVA-----QVVRTKSVEFMPFNLSFTLTLSAIMWFG	181
AFK39311 Lotus	CVSIAVSVF AAPLSIVA-----QVVRTKSVEFMPFNLSFTLTLSATMWFG	181
XP 003620983 Medicago	CVSISVSVF AAPLTIVA-----QVVRTKSVEFMPFNLSFTLTLSAIMWFG	181
XP 003530901 Glycine	CVSISVSVF AAPLSIVA-----QVVRTKSVEFMPFNLSFTLTLSAIMWFG	181
XP 003524088 Glycine	CVSIAVG VF AAPLSIVA-----QVIRTKNVEFMPFNLSFLTISAVMWFF	184
XP 003615405 Medicago	CTSFATCVF AAPLTIMA-----KVIRTR SVEFMPINLSFFLTLSAIVWFF	182
XP 003547573 Glycine	CDAVSL S VFASPLSIMA-----KVIRTR S VQFMPFYL SFFLT LNAITWFF	181

[図2-11]

XP 003593107 Medicago	CTISISISVFAAPLSIVV-----RVVKTksVEFMpFNLSLFLtLSAVVWFL	183
EOA22072 Capsella	CVAISVAVFAAPLMIVA-----RVVKTksVEYMPFtLSFFLTISAVMWFG	184
NP 196821 AtSW15	CVAISVSVFAAPLMIVA-----RVIKTksVEYMPFtLSFFLTISAVMWFA	184
EMJ23678 Prunus	NVAISVIVFAAPLSIVA-----QVIRtRSVEFMpFSLSFFLtLSAVMWFS	184
XP 004301046 Fragaria	NVAVTICASAAPLSIVA-----QVIRtGSVEFMpFtLSFFLTtLSGVLWFS	183
XP 002299333 Populus	CVAFSVCVFAAPLNIVK-----QIIRtKSVEFMpFtLSFFLTtLSAVIWFA	168
XP 002514863 Ricinus	CVAVSVCVFAAPLSIVA-----QVIKTksVEFMpFNLSFFLTtLSAIMWFA	183
XP 004140547 Cucumis	CVAVSVSVFAAPLSILR-----QVMtTKSVEFMpFtLSFFLTtLSAIMWFA	183
XP 002264875 Vitis	CASFSAVFAAPLSIVA-----KVIRtKSVEFMpFSLSFFLtLSAIMWFA	184
NP 199893 AtSW13	CVGFSSVSVFAAPLSIMR-----VVVRtRSVEFMpFSLSLFLtTISAVTWLF	182
XP 002862913 Arabiopsis	CVGFSSVSVFAAPLSIMR-----VVVRtRSVEFMpFSLSLFLtTISAVTWLF	182
EOA14916 Capsella	CVGFSSVSVFAAPLSIMR-----LVVRtRSVEFMpFSLSLFLtTISAVTWLF	182
EOA17919 Capsella	CVGFSSVCVFAAPLSIMR-----VVIRtKSVEFMpFSLSLFLtTISAITWLF	182
NP 194231 AtSW14	CVGFSSVCVFAAPLSIMR-----VVIRtKSVEFMpFSLSLFLtTISAITWLF	182
EOA21276 Capsella	CVGFSSVCVFAAPLSIIR-----TVIKtKSVEYMPFSLSLTLtTISAVIWLL	183
NP 197755 AtSW12	CVGFSSVCVFAAPLSIIR-----TVIKtKSVEYMPFSLSLTLtTISAVIWLL	183
EOA24501 Capsella	CVGFSSVCVFAAPLSIIR-----TVIKtRSVEYMPFSLSLTLtTISAIWFL	183
NP 190443 AtSW11	CVGFSSVCVFAAPLSIIR-----TVIKtRSVEYMPFSLSLTLtTISAVIWLL	183
XP 002511126 Ricinus	CVIFSVSVFAAPLSVMR-----IVIRtKSVEFMpFYLSFFLTtLSAIMWLF	183
XP 004297511 Fragaria	CVAFSSVSVFAAPLSIMR-----LVIRtKSVEFMpFSLSFFLtTLSAIMWLF	181
XP 004153501 Cucumis	CVAFSISVFAAPLTIIIR-----LVIRtKSVEFMpFYLSFFLTtLSATSWLL	184
XP 004161952 Cucumis	CVAFSISVFAAPLTIIIR-----LVIRtKSVEFMpFYLSFFLTtLSATSWLL	184
XP 004145146 Cucumis	CVAFSSVSVFAAPLTIMR-----LVIRtKSVEFMpFSLSFFLtTSAITWLL	183
XP 004138250 Cucumis	CGGLSVSVFAAPLSIMK-----RVIRtRSVEYMPFSLSFFLtTSAVMWLC	184
XP 004235470 Solanum	CMAFSISVFAAPLSIMG-----RVIRtKSVEFMpFNLSLALTtSAVMWFL	183
CBI15715 Vitis	CLIFAVSVFAAPLSIMASILYRLVIRtKSVEFMpLPLSLICLTtSAVGWFF	189
AFW71563 Zea	CVSVALSVFAAPLSIMR-----QVVRtKSVEFMpISLSFFLVLSAVIWFA	184
NP 001149028 Zea	CVSVALSVFAAPLSIMR-----QVIRtKSVEFMpISLSFFLVLSAVIWFA	184
XP 002453892 Sorghum	CVSVALSVFAAPLSIMR-----QVIRtKSVEFMpISLSFFLVLSAVIWFA	184
EMT09236 Aegilops	CVAVALGVFAAPLSIIR-----LVIRtKSVEFMpFSLSFFLVLSAVIWFA	184
XP 003575028 Brachypodium	CVAVALGVFAAPLSIIR-----LVIRtKSVEFMpISLSFFLVLSAVIWFA	184
NP 001046944 OsSW15	CVAVSLSVFAAPLSIIR-----LVIRtKSVEFMpFSLSFFLVLSAVIWFL	184
EMS46194 Triticum	CVAVALGVFAAPLSIIR-----LVIRtKSVEFMpFSLSFFLVLSAVIWFA	184
AFW88409 Zea	GAAPALAVFVAPLAIIR-----RVMRTKSVEFMpFWLSFFLTtSAVVWFF	181
XP 002465280 Sorghum	GAAPALAVFVAPLTIIR-----QVIRtKSVEYMPFWLSFFLTtSAVVWFF	180
BAJ99068 Hordeum	GSAPALAVFVAPLAIIR-----QVIRtKSVEFLPFWLSFFLTtSAVVWFF	181
EMT31030 Aegilops	GSAPALAVFVAPLAIIR-----QVIRtKSVEFLPFWLSFFLTtSAVVWFF	181
XP 003561640 Brachypodium	GAAPAFVAVFVAPLAIIR-----QVIRtKSVEFLPFWLSFFLTtSAVVWFF	181
NP 001050099 OsSW12	GASFALAVFVAPLTIIR-----QVIRtKSVEFMpFWLSFFLTtSAVVWFF	178
BAK07340 Hordeum	CLAFSMVAVFVAPLSVIF-----VVIKtKSAEYMPFSLSFFLtLSAVAWFF	185
EMS45810 Triticum	CLAFSMVAVFVAPLSVIF-----VVIKtKSAEYMPFSLSFFLtLSAVAWFF	185
XP 003578398 Brachypodium	CLAFSMVAVFVAPLSVIF-----VVIKtKSAEYMPFSLSFFLtLSAVAWFF	185
XP 002462642 Sorghum	CLAFSMVAVFVAPLSVIF-----VVIRtKSAEFMPFtLSFFLTtLSAVAWFL	185
EAZ09693 Oryza	CLAFSMVAVFVAPMSVIM-----VVIKtKSAEFMPFSLSFFLtLSAVAWFF	178
NP 001148964 Zea	CLAFSMVAVFVAPLSIIV-----KVVKtKSVEFLPISLSFCLtLSAVAWFC	185
XP 002444688 Sorghum	CLAFSMVAVFVAPLSIIV-----KVVKtKSVEFLPISLSFCLtLSAVAWFC	185
XP 003572455 Brachypodium	CLAFSMVAVFVAPLSIIF-----KVIKTksVEFMpISLSFCLVLSAVAWFC	185
NP 001062354 OsSW11	CLAFSMVAVFVAPLSIIF-----KVIKTksVEFMpIGLSVCLtLSAVAWFC	185
EMT31640 Aegilops	CLAFSMVAVFVAPLSIIV-----KVIKTksVEFLPVGLSFCLVLSAVAWFC	185
EMS51422 Triticum	CVGFSSVCVFAAPLSIIG-----RVIKTksVEYMPFtLSLTtLSAIVWFL	183
EMT20808 Aegilops	CVGFSSVCVFAAPLSIIG-----RVIKTksVEYMPFtLSLTtLSAIVWFL	183

[図2-12]

BAJ85621 Hordeum	CVGFSVCVFVAPLSIIG-----RVIKTKSVEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
EMT11081 Aegilops	CVGFSVCVFVAPLSIIG-----RVIKTKSVEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
XP 002442119 Sorghum	CVGFSVSVFVAPLSIMR-----RVIQTKSVEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
XP 002443167 Sorghum	CVGFSVSVFVAPLSIMR-----RVIQTKSMEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
NP 001141654 Zea	CVGFSVSVFVAPLSIMR-----RVIQTKSVEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
NP 001141106 Zea	CVGFSVSVFVAPLSIMR-----RVIQTKSVEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
SWT13 ORYSJ OsSW13 Oryza	CVAFSVSVFVAPLSIIG-----RVIQSRSEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
XP 003576225 Brachypodium	CVAFSVSVFVAPLSIIG-----RVIKTRSEYMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
BAJ94651 Hordeum	CVGFSVCVFVAPLSVIR-----LVVRTRSEFMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
XP 003576036 Brachypodium	CVGFSVSVFVAPLSVIR-----LVVRTRSEFMPFNLSLTLTSAVVWFL	183
EMT20480 Aegilops	CVGFSVSVFVAPLSIIR-----LVVRTRSEFMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
EMT20481 Aegilops	CVGFSVSVFVAPLSVIR-----LVVRTRSEFMPFSLSLTLTSAVVWFL	183
NP 001132836 Zea	CVAFSVSVFVAPLSIIR-----QVVRTRSEFMPFSLSFLTLTSAVVWFL	183
XP 002450786 Sorghum	CVAFSVSVFVAPLSIIR-----QVVRTRSEFMPFSLSLTLTSAVVWFL	185
NP 001067955 OsSW14	CVGFSVSVFVAPLSIIR-----LVVRTKSVEFMPFSLSFLTLTSAVVWFL	183

```

.      *: ::      :: : .  :... **  :.  .  *:
-----V-----APL-II (2-7aa) VV-T-S--FMPF-LS--LT--A--WF--
      M      S M VM      II S N  YLSI      IV G  L
      L      T      V      M      V
      I      L      L
      F

```

[図2-13]

XP 004235326 Solanum	YGLLLKDINIAAPNVLGFI FGILQIILYAIYSKKEKSIKEQKLPEIQKT	231
XP 004235334 Solanum	YGLLLKDINIAAPNVLGFI FGILQIVLYAIYSKKEKVLKEQKLPEIQTP	229
ACV71016 Capsicum	YGLLLKDINIAAPNVLGFI FGVLQIVLYAIYSKKEKVLKEQKLPEIQKP	231
XP 004235333 Solanum	YGLLLKDINIAAPNVLGFI FGVLQMIYVIYSKKEKAILKEQKLPEIQKG	231
XP 004235342 Solanum	YGLLLKDINIAIPNVLGFI LGILQMVLYVIYNKKEKAILKEQKLPEKLQN	231
XP 004235339 Solanum	YGLLLKDVNIAAPNVLGFI FGILQMIYAMYRKKHKPIVNVN--VEVQNP	228
XP 004241452 Solanum	YGLLLKDFNIAIPNVLGFI FGILQMIYVMYNKKEKVVIKEQNLPELKD	231
XP 004235340 Solanum	YGLLRKDYNIAIPNVLGFS LGVIQMTLYLIY--KNAKKVTKEVK----LEV	223
AFK35161 Medicago	YGLLLRDYYVALPNTLGFVFGI IQMVVYLIYR-----NATPV-----	219
CAC44123 Medicago	YGLLLRDYYVALPNTLGFVFGI IQMVVYLIYR-----NATPV-----	219
XP 004503778 Cicer	YGLLLKDYVALPNTLGFVFGI IQMVVYLIYR-----NATPVP-----	220
AFK48645 Lotus	YGLLLRDYYVALPNTLGFVFGI IQMVVYLIYR-----NATPVV-----	220
NP 001241307 Glycine	YGLLLRDYYVALPNTLGFVFGI IQMGMYLMYR-----NATPVA-----	220
NP 001242732 Glycine	YGLLLKDYVALPNTLGFVFGI IQMVLYLIYR-----NAKPQG-----	220
XP 003523161 Glycine	YGLLLKDYVALPNTLGFVFGI IQMVLYLYR-----NAKPQT-----	220
NP 001237418 Glycine	YGLLLKDYVALPNTLGFVFSI IQMVLYLIYR-----NAKTP-----	219
XP 003602780 Medicago	YGLLIDDFYIAIPNTLGFVFGI QMVIYLIYK-----DAIPL-----	219
XP 004138032 Cucumis	YGLLLKDYVALPNVVGFGI IQMILYVIVKHIGNKSRIPIVK-----	224
EMJ10621 Prunus	YGLLIKDYNAFPNIGLFGI AQMVLYIYVK-----NTKKV-----	221
XP 004297512 Fragaria	YGLFLKDYNAFPNIGLFGI AQMVLYIYVK-----NAKKVVL-----	219
XP 002284244 Vitis	YGLMLKDFYIAGPNIGLFGI QMVLVLIYR-----NRKKV-----	220
EOA14646 Capsella	YGLLLKDNIALPNVLGFI FGVLQMVLFVYK-----KPGTK-----	218
NP 199892 AtSW10	YGLLLKDMNIALPNVLGFI FGVLQMILFLYK-----KPGTK-----	218
XP 002321731 Populus	YGYLKKDQFVAVPNIGLFGI IQMVLYVIYR-----NPMKI-----	217
XP 002322281 Populus	YGLLKKDQFVAVPNIGLFGI LQMVLYMIYG-----NSKKV-----	217
XP 002321730 Populus	YGYLKKDKFVAIPNIGFI FGILQMVLYLIYR-----NPKKN-----	217
XP 002511127 Ricinus	YGLLKKDIYVYIPNVLGFFG IVMILYLIYR-----NSKK-----	216
XP 002511128 Ricinus	YGLLKKDLYVAVPNIGLFGI QMILYLIYR-----NPKKT-----	217
CBI32263 Vitis	YGLLIRDFYIAFPNIGLFAF GIAQMILYTIYK-----NAKKGVL-----	222
EMJ01437 Prunus	YGLLRDLFIAAPNIGLFAF GLAQMIMYLMFK-----NSKKSM-----	221
XP 002520679 Ricinus	YGLAVNDYFIASPNI GLFGI QMVLVMIYK-----NKKNEIL-----	221
XP 004247459 Solanum	YGLLKKDMYIAMPNIGLFGS GIAQMILYAIYR-----NRKQVVL-----	222
EOA28959 Capsella	YGLLIKDKFIAMPNIGLFGV AQMILYMMYQ-----GSTKTDL-----	221
NP 181439 AtSW09	YGLLIKDKFIAMPNIGLFGV AQMILYMMYQ-----GSTKTDL-----	220
XP 002333315 Populus	YGLLQHDYVALPNVLGFI LGIAQMILYMYK-----NLKKNVE-----	221
NEC1 PETHY Petunia	YGFFKKDFYIAFPNIGLFGI QMLLYFYVK-----DSKRID-----	219
XP 002267792 Vitis	YGIFVRDFFIAIPNVVGFGI AQMFLYIYK-----YMMKSD-----	220
XP 004138978 Cucumis	YGFFIKDLFIALPNVVGFL LGMVQIMYIY-----	212
XP 004138979 Cucumis	YGFFIKDLFIALPNIVGFL LGMVQIMYMIYK-----DRKGNSL-----	221
XP 003518628 Glycine	YGFFDKDDFIMFPNVLGFI FGISQMILYMIYK-----NS-KKNG-----	220
XP 004489106 Cicer	YGLFDKDNIMLPNVLGFI LGISQMILYLIYK-----NA-KNKV-----	223
XP 003617528 Medicago	YGFFDKDKYIMLPNGLGFL GVSQMILYLIYK-----NA-KNNV-----	219
XP 004302124 Fragaria	YGLFTKDYYIALPNVLGFI LGIAQMILYMYR-----NSGKDHD-----	220
NOD3 MEDTR Medicago	YGFFLKDICIXLPNVLGXV LGLLQMLLYAIYR-----NGGEKAMK-----	221
NP 001239695 Glycine	YGLFLKDIICIALPNVLGF ALGLLQMLLYAIYR-----NGNKKVDKI-----	222
AFK39311 Lotus	YGLFLKDIICIALPNILGFI GLI QMVLYAIYR-----NGNEKGKK-----	221
XP 003620983 Medicago	YGLFLKDIICIALPNVLGF ALGLVQMILYCIYR-----NGDKKKAN-----	221
XP 003530901 Glycine	YGLFLKDIICIALPNVLGFV LGLLQMLLYTIYR-----KGNKKTNT-----	221
XP 003524088 Glycine	YGLLLKDIICIALPNILGFI TGLLQMLLYAIYR-----NGKTNNKEVV-----	226
XP 003615405 Medicago	YGLLLHDICIALIPNVLGFI LGLLQMLLYAIYN-----KS-----	216
XP 003547573 Glycine	YGLSIQDKCIYVPNVGGF GLGLVQMVLVYGIY-----RNGGESEK-----	220

[図2-14]

XP 003593107 Medicago	YGFVKRDICIYLPNVVGFILGIQMVLYGYYS----	KYSVEKEK-----	223
EOA22072 Capsella	YGLFLNDICIAIPNVVGFVLGMLQMVLYCVYR----	NASEKPEIE-----	225
NP 196821 AtSW15	YGLFLNDICIAIPNVVGFVLGMLQMVLYLVYR----	NSNEKP-----	222
EMJ23678 Prunus	YGLFLKDICIAIPNVLGFILGMLQMLLYAIYR----	NRKPIEDDE-----	225
XP 004301046 Fragaria	YGMLLKDIFIALPNLGFVLGMLQMLFYAIYR----	NRKQVTVDQ-----	224
XP 002299333 Populus	YGLFIKDMCVALPNLGFVLGMLQMLLYGIYR----	NAEK-----	204
XP 002514863 Ricinus	YGLSTKDTCVLALPNVGFILGMLQMVLYVIYR----	KAKKVIL-----	222
XP 004140547 Cucumis	YGLLLNDICIAIPNVVGFILGMLQMVVYAIYR----	KRKIVIMEE-----	224
XP 002264875 Vitis	YGLLKNDDPCVAIPNLGVILGLVQMVLYGFYR----	NAGKEKMEK-----	225
NP 199893 AtSW13	YGLAIKDFYVALPNVLGAFLGAVQMILYIIFK-----	YKTP-----	219
XP 002862913 Arabidopsis	YGLAIKDFYVALPNVLGAFLGAVQMILYIIFK-----	YKIP-----	219
EOA14916 Capsella	YGLAIKDFYVALPNVLGAFLGAVQMILYIVFK-----	YTMP-----	219
EOA17919 Capsella	YGLAIKDFYVALPNLGAFLGAVQMILYIVFK-----	YKSPV-----	220
NP 194231 AtSW14	YGLAIKDFYVALPNLGAFLGAVQMILYIVFK-----	YKTP-----	220
EOA21276 Capsella	YGLALKDIYVAFPNVIGFALGALQMLYVVYK-----	YCKTS--SD----	222
NP 197755 AtSW12	YGLALKDIYVAFPNVIGFVLGALQMLYVVYK-----	YKTP--SD----	222
EOA24501 Capsella	YGLALKDIYVAFPNVLGFALGALQMLYVVYK-----	YCKTSPHPH-----	224
NP 190443 AtSW11	YGLALKDIYVAFPNVLGFALGALQMLYVVYK-----	YCKTS--PH----	222
XP 002511126 Ricinus	YGLLLKDLYIAVPNLGLVFGVLQMLYVIYK-----	NKTV-----	220
XP 004297511 Fragaria	YGLLLKDLYIAAPNLGFSFGVQMLYAAIR-----	NKTV-----	218
XP 004153501 Cucumis	YGVFLKDIYIAVPNIPGFMFGIAQMILYLIYK-----	KRE-----	219
XP 004161952 Cucumis	YGVFLKDIYIAVPNIPGFMFGIAQMILYLIYK-----	KRE-----	219
XP 004145146 Cucumis	YGVFLKDIYVALPNVLGFIFGVAQMILYLIYR-----	KYEIA-----	220
XP 004138250 Cucumis	YGLFLKDLYVALPNTLGFTFGMAQMILYAIYR-----	NAKP-----	220
XP 004235470 Solanum	YGLLLKDVYVAVPNIPGMILGVLMILYGIYR-----	NSKSNN-----	221
CB115715 Vitis	YGILQMDLYIAMPNTLGFVFGVGLIQMILYAMYR-----	NSTPVT-----	227
AFW71563 Zea	YGALKRDVFAFPNVLGFVFGVAQIALYMY-----	RNKEPA-----	221
NP 001149028 Zea	YGALKKDVFVAFPNVLGFVFGVAQIALYMY-----	RNRKPA-----	222
XP 002453892 Sorghum	YGALKKDVFVAFPNVLGFVFGVAQIALYMY-----	RNKKPA-----	221
EMT09236 Aegilops	YGALKKDIFVAMPNVLGLLFGVAQMALYMY-----	RNKKPAT-----	222
XP 003575028 Brachypodium	YGLLKDVFAFPNVLGFVFGVAQMALYMY-----	RNKSPA-----	221
NP 001046944 OsSW15	YGLLKDVFAFPNVLGFVFGVAQMALYMY-----	RSKKPLVASS--	226
EMS46194 Triticum	YGALKKDIFVAMPNVLGFVFGVAQMALYMY-----	RNKKPATVAVI--	226
AFW88409 Zea	YGLLIKDFVAMPNVLGLLFGVAQMVLFVYR-----	NRNPKKN-----	220
XP 002465280 Sorghum	YGLLMKDFVAMPNVLGLLFGVAQMALYFVYR-----	NRNPKQN-----	219
BAJ99068 Hordeum	YGLLMKDFVATPNVLGLLFGVAQMALHLVYK-----	N--PKKK-----	218
EMT31030 Aegilops	YGLLMKDFVATPNVLGLLFGVAQMALHLVYK-----	N--PKKK-----	218
XP 003561640 Brachypodium	YGLLMKDFVAMPNVLGLLFGVAQMALHLVYK-----	N--PKKK-----	219
NP 001050099 OsSW12	YGLLMKDFVATPNVLGLLFGVAQMVLYVVYK-----	N--PKKN-----	215
BAK07340 Hordeum	YGLFTKDIYVTLPNVGGFFFGVAQMTLYFCYR-----	KPDTSA-----	223
EMS45810 Triticum	YGLFTKDIYVTLPNVGGFFFGVAQMTLYFCYR-----	KPDTSA-----	223
XP 003578398 Brachypodium	YGLFTKDIYVTLPNVGGFFFGVAQMTLYFCYR-----	KPGTSA-----	223
XP 002462642 Sorghum	YGLFTKDPYVTLPNVGGFFFGVAQMTLYFCYR-----	KP--SAS-----	222
EAZ09693 Oryza	YGLFTNDLYVTLPNVGGFFFGVQMALYFKYR-----	KPNTAAGG-----	218
NP 001148964 Zea	YGLFTKDPFVMYPNVGGFFFGVQMALYFYR-----	KPRPAAKN-----	225
XP 002444688 Sorghum	YGLFTKDPFVMYPNVGGFFFGVQMALYFYR-----	KPRP--AKN-----	224
XP 003572455 Brachypodium	YGYFTKDPYVYPNVGGFFFGVQMALYFYR-----	RPSN-----	221
NP 001062354 OsSW11	YGLFTKDPYVYPNVGGFFFGVQMALYFYR-----	KPRN-----	221
EMT31640 Aegilops	YGLFTKDPFVMYPNVGGFFFGVQMALYFYR-----	KPSN-----	221
EMS51422 Triticum	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGVIGMVLYVFYR-----	NKTP-----	219
EMT20808 Aegilops	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGVIGMVLYVFYR-----	NKTP-----	219

[図2-15]

BAJ85621 Hordeum	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGMIQMVLYMFYM-----NATPV-----	220
EMT11081 Aegilops	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGMIQMVLYMFYM-----NATP-----	219
XP 002442119 Sorghum	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGVVQMVLVLYM-----NKTPI-----	220
XP 002443167 Sorghum	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGMVQMVLVLYM-----NKTPI-----	220
NP 001141654 Zea	YGLLIKDKYVALPNVLFIFGVVQMVLVLYM-----NKTPI-----	220
NP 001141106 Zea	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGVVQMVLVLYM-----NKTPI-----	220
SWT13 ORYSJ OsSW13 Oryza	YGLLIKDKYVALPNILGFTFGVVQMGLYVLYM-----NATPV-----	220
XP 003576225 Brachypodium	YGLLIKDKYVALPNILGFSFGVVQMALYMFYM-----NKTPI-----	220
BAJ94651 Hordeum	YGLLIKDKYVALPNILGFAFGVIQMGLYALYR-----NATP-----	219
XP 003576036 Brachypodium	YGLLIKDKYVALPNILGFAFGVIQMGLYALYR-----NSTP-----	219
EMT20480 Aegilops	YGLLIKDKYVALPNILGFAFGVIQMGLYAIYC-----NATP-----	219
EMT20481 Aegilops	YGLLIKDKYVALPNILGFAFGVIQMGLYALYC-----NAMP-----	219
NP 001132836 Zea	YGLLIKDKYVALPNVLFIFGVVQMGMALYR-----NATPR-----	220
XP 002450786 Sorghum	YGLLIKDKYVALPNVLFIFGVVQMGLYALYR-----NATPR-----	222
NP 001067955 OsSW14	YGLLIKDKYVALPNVLFIFGVVQMGLYAMYR-----NSTPK-----	220

** * : ** * :. *: .

YG---D--V--PN--G--FG--QM-LY-----

I LS I MH

IF

V

F

[図3-1]

AtSW09 ----MFLKVHEIAFLFGLLGNIVSFGVFLSPVPTFYGIYKKKSSKGFQSI 46
 PhNEC1 ---MAQLRADDLSFIFGLLGNIVSFMVFLAPVPTFYKIYKKKSSEGYQAI 47
 XP 003617528 Medicago ---MFPFSNLKMVLLFGFLG-IVTFMSFLAPLPTFYSIYKKKSSEGFHSI 46
 NOD3 MEDTR Medicago ----MAISHNTLAFTFGMLGNVISFLVFLAPISTFYRIYKKKSTEGFQSL 46
 XP 003620983 Medicago ----MAISHNTLAFAFGMLGNVISFMVFLAPMTTFYRIYKKKSTEGFQSL 46
 AtSW15 --MGVMINHHFLAFIFGILGNVISFLVFLAPVPTFYRIYKKKSTESFQSL 48
 XP 003615405 Medicago ---MDPHDHDRLAFIFGILGNISSMVYLAPLPTFYRIWKKKSTEGFQSL 47
 XP 003593107 Medicago -MAMISMNHFLVIAFGLLGNIISCMVYLAPLPTFIQIYKKKSTECFQSL 49
 AtSW11 --MSLFNTENTWAFVFGLLGNLISFAVFLSPVPTFYRIWKKKTTTEGFQSI 48
 AtSW12 --MALFDTHNTWAFVFGLLGNLISFAVFLSPVPTFYRICKKKTTTEGFQSI 48
 AtSW13 ----MALTNLWAFVFGILGNIISFVFLAPVPTFVRICKKKSTEGFQSL 46
 AtSW14 ----MYLTHNVLAFTFGVLGNIISFIVFLAPVPTFVRICKKKKSIEGFESL 46
 OsSW13 -MAGLSLQHP-WAFAFGLLGNIISFTTYLAPIPTFYRIYKSKSTEGFQSV 48
 OsSW14 -MAGMSLQHP-WAFAFGLLGNIISFMTYLAPLPTFYRIYKSKSTQGFQSV 48
 OsSW15 -MAFMSMERSTWAFTFGILGNLISLMVFLSPLPTFYRVYRKKSTEGFQST 49
 AFK35161 Medicago ---MAMTR-ESWAFVFGIIGNIISFAVFLSPLPTFYVIFKKKSAEGFQAL 46
 CAC44123 Medicago ---MAMTR-ESWAFVFGIIGNIISFAVFLSPLPTFYVIFKKKSAEGFQAL 46
 XP 003602780 Medicago ---MALFYSEYWAFVFGVIGNVISCMTFLAPLPTFYRIYKKKSTEGFQSV 47
 AtSW10 ---MAISQ-AVLATVFGILGNIISFFVCLAPIPTFVRRIYKKKSSEGYQSI 46
 OsSW12 -----MVQALVFAVGIVGNLSFLVILAPVPTFYRVYKKKSTESFQSV 43
 OsSW11 MAGGFLSMANPAVTLSGVAGNIISFLVFLAPVATFLQVYKKKSTGGYSSV 50

Consensus

*. * ::. *:.*. : : * : :
 GL-G-IIS----LAPLPTF--I-K-KS---F-S-
 I VVT S VS V R T Y A
 V LL IT
 M MA
 F

AtSW09 PYICALASATLLLYYGIMKT-HAYLIISINTFGCFIEISYLFYIILYAPR 95
 PhNEC1 PYMVALFSAGLLLYAYLRK-NAYLIVSINGFGCAIELTYISLFLFYAPR 96
 XP 003617528 Medicago PYVVTLLSTLLFVYGGFLKT-NAIFLITINSIGCVMEVAYLIMYIYAPK 95
 NOD3 MEDTR Medicago PYLVALFSSMLWLYYALLKK-DAFLITINSFGCVVETIYIILYIYAPR 95
 XP 003620983 Medicago PYLVALFSSMLWLYYAFLLK-DEFLITINSFGCVVELIYIILYIYATK 95
 AtSW15 PYQVSLFSCMLWLYYALIKK-DAFLITINSFGCVVETIYIYAMFFAYATR 97
 XP 003615405 Medicago PYLVALFSSMLWLYYGFVKK-HAFLITINSAGCVIETIYIVTYLIYATK 96
 XP 003593107 Medicago PYLVALFSSMLWLYYG-IQT-NAIFIVSINAFGCVIEIYICIMYIYATK 97
 AtSW11 PYVVALFSATLWLYYATQKK-DVFLVTINAFGCFIETIYISMFLAYAPK 97
 AtSW12 PYVVALFSAMLWLYYATQKK-DVFLVTINSFGCFIETIYISIFVAFASK 97
 AtSW13 PYVSALFSAMLWYIYAMQKDGTAFLITINAFGCVIETIYIVLVFSYANK 96
 AtSW14 PYVSALFSAMLWYIYALQKDGAGFLITINAVGCFIETIYIILFITYANK 96
 OsSW13 PYVVALFSAMLWIFYALIKS-NEALLITINAAGCVIETIYIVMYLAYAPK 97
 OsSW14 PYVVALFSAMLWYIYALLKS-DECLITINSAGCVIETIYIYAVLVYAPK 97
 OsSW15 PYVVTLPSCMLWYIYAFVKS-GAELLVTINGVGCVIETIYVYLAYAPK 98
 AFK35161 Medicago PYVVALFSAMLWYIYAFVKRESALLITINTFGIVVESAYIIMFLIYAPK 96
 CAC44123 Medicago PYVVALFSAMLWYIYAFVKRESALLITINTFGIVVESAYIIMFLIYAPK 96
 XP 003602780 Medicago PYVTALLSAMLWYIYAHVKNKATLLLTINTYGFIEIYIIFLLYASN 97
 AtSW10 PYVISLFSAMLWYIYAMIK-KDAMMLITINSFAFVVQIVYISLFFFYAPK 95
 OsSW12 PYAVALLSAMLWLYYALLTS--DLLLSINSIGCLVESLYLTVYLLYAPR 91
 OsSW11 PYVVALFSSVLWIFYALVKT-NSRPLLTINAFGCGVEAAYIVLYLVYAPR 99

Consensus

** :* * * :.*. : : * . : : * .
 PY--AL-S--L-LYYA-----LITIN--G--IE--Y---FL-YA-K
 S IF G IVS A VQ YI F R
 T M L M V N
 V F

* : ** : : * : : : * : *** ** : * : * * : ** : * : *

FAAPL-II--VIKTKSV-FMPF-LSL-LTL-A--WF-YGL---D--V--P

VS VM VRSR A Y I F VI L F I

T V Q L V

L

[図3-3]

AtSW09	NILGFLFGVAQMILYMMYQGSTK-TDLPTE-----NQLANKTDVN	233
PhNEC1	NILGFLFGIVQMLLYFVYKDSKR-IDDEKS-----DPVREATKSK	233
XP 003617528 Medicago	NGLGFLLGVSQMILYLIYKNAKNNVEASST-----NQLQEHGCDG	234
NOD3 MEDTR Medicago	NVLGXVLGLLQMLLYAIYRNGGEKAMKKEK-----KAPIEPPKSI	234
XP 003620983 Medicago	NVLGFALGLVQMILYCIYRNGDKK--KANS-----KAAL---KSV	229
AtSW15	NVVGfVLGLLQMVLYLVYRNSNEKPEKINS-----SEQQ--LKSI	235
XP 003615405 Medicago	NVLGFILGLLQMLLYAIYNKSVKE--EYAL-----EPMT----NI	229
XP 003593107 Medicago	NVVGfILGIQMVLYGYYSKYSVE--KEKE-----QAVI----NI	230
AtSW11	NVLGFALGALQMILYVVYKYCKTSPHLGEK-----EVEAAKLPEV	236
AtSW12	NVIGFVLGALQMILYVVYKYCKTPSDLVEK-----ELEAAKLPEV	236
AtSW13	NVLGAFLGAVQMILYIIFKYKTP--VAQK-----TDKSKDVSDH	233
AtSW14	NILGAFLGAVQMILYVIFKYKTPL-VVDE-----TEPKTVSDH	234
OsSW13	NILGFTFGVVQMGLYVFMNATPVAGEGKE-----GKGKLAAAEELPV	239
OsSW14	NVLGFSFGVIQMGLYAMYRNSTPKAVLTKEVEAATATGDDHSAAGVKEH	246
OsSW15	NVLGFVFGVAQMALYMYRSKKPLVASSSS---AVVAAGLEIKLPEHVKE	244
AFK35161 Medicago	NTLGFVFGIIQMVVYLIYRN-ATPVVEAPM-----KGQELSGGHI	234
CAC44123 Medicago	NTLGFVFGIIQMVVYLIYRN-ATPVVEAPM-----KGQELSGGHI	234
XP 003602780 Medicago	NTLGFVFGIVQMVIYLYKD-AIPLESTKL-----QKPNDHVLNI	234
AtSW10	NVLGFIFGVLQMILFLIYKKPGTKVLEPPG-----IKLQDISEHV	234
OsSW12	NVLGLLFGLAQMVLYVVYKNPKKNSAVSEA-----AAAQQVEVKDQQ	233
OsSW11	NVGGFFFSVCVMGLYFWYRKPRNTAVLPTTSDSMSPISAAAAATQRVIEL	248
	* * :. ** :. :	
Consensus	N--G--LG--QM-LY--Y	
	FS VF F	
	I	

[図4-1]

```

At5g50790.1 AtSW10      ----MAISQAVLATVFGILGNIISFFVCLAPIPTFVRIYKRKSSEGYQSIPIYVISLFSAM 56
At5g13170.1 AtSW15      --MGVMINHHFLAFIFGILGNVISFLVFLAPVPTFYRIYKRKSTESFQSLPYQVSLFSCM 58
At3g48740.1 AtSW11      ---MSLFNTENTWAFVFGLLGNLISFAVFLSPVPTFYRIWKKKTTEGFQSIPIYVVALFSAT 58
At5g23660.1 AtSW12      --MALFDTHNTWAFVFGLLGNLISFAVFLSPVPTFYRICKKKTTEGFQSIPIYVVALFSAM 58
At5g50800.1 AtSW13      ----MALTNNLWAFVFGILGNIISFVFLAPVPTFVRICKKKSTEGFQSLPYVVALFSAM 56
At4g25010.1 AtSW14      ----MVLTHNVLAFTFGVLGNIISFIVFLAPVPTFVRICKKKKSIEGFESLPYVVALFSAM 56
Os12g0476200 OsSW13     -MAGLSLQHP-WAFAFGLLGNLISFTTYLAPIPTFYRIYKSKSTEGFQSVPYVVALFSAM 58
Os11g0508600 OsSW14     -MAGMSLQHP-WAFAFGLLGNLISFMTYLAPLPTFYRIYKSKSTQGFQSVPYVVALFSAM 58
Os02g0513100 OsSW15     -MAFMSMERSTWAFTFGILGNLISLMVFLSPLPTFYRVYRKKSTEGFQSTPYVVTLFSCM 59
At2g39060.1 AtSW09      ----MFLKVHEIAFLGLLGNIVSFGVFLSPVPTFYGIYKKKSSKFQSIPIYICALASAT 56
Os03g0347500 OsSW12     -----MVQALVFAVGIVGNLSFLVLAPVPTFYRVYKSKSTESFQSVPYAVALLSAM 53
Os08g0535200 OsSW11     MAGGFLSMANPAVTLSGVAGNIISFLVFLAPVATFLQVYKKKSTGGYSSVPYVVALFSSV 60

```

Consensus

```

      * : *** : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
A---GI-GNIISF-V-LAPVPTF--I-K-KS--GFQS-PY--AL-SA-
V   L   LL L T S LA   V R T SYS   S   C
      V   VV       I           E       T   S

```

```

At5g50790.1 AtSW10      LWMYYAMIKK-DAMMLITINSFAFVQIVYISLFFFYAPKKEKTLTVKFVLFVDVLGFGA 115
At5g13170.1 AtSW15      LWLYYALIKK-DAFLITINSFGCVVETLYIAMFFAYATREKRISAMKLFIAMNVAFSL 117
At3g48740.1 AtSW11      LWLYYATQKK-DVFLLVLTINAFGCFIETIYISMFLAYAPKPARMLTVKMLLLMNFGGFC 117
At5g23660.1 AtSW12      LWLYYATQKK-DVFLLVLTINSFGCFIETIYISIFVAFASKKARMLTVKLLLMNFGGFC 117
At5g50800.1 AtSW13      LWIYYAMQKDGTAFLITINAFGCVIETIYIVLFVSYANKKTRISTLKVGLLNFLGFAA 116
At4g25010.1 AtSW14      LWIYYALQKDGAGFLITINAVGCFIETIYIILFITYANKKARISTLKVGLLNFLGFAA 116
Os12g0476200 OsSW13     LWIFYALIKS-NEALLITINAAGCVIETIYIVMYLAYAPKAKVFTTKILLLLNVGVFGV 117
Os11g0508600 OsSW14     LWIYYALLKS-DECLITINSAGCVIETIYIAVYLVYAPKAKMFTAKLLLVNVGVFGL 117
Os02g0513100 OsSW15     LWMYYAFVKS-GAELLVTINGVGCIVETVYLAMYLAYAPKSARMLTAKMLLGLNIGLFGV 118
At2g39060.1 AtSW09      LLLYYGIMKT-HAYLIISINTFGCFIETISYFLYILYAPREAKISTLKLIVICNIGGLGL 115
Os03g0347500 OsSW12     LWLYYALLTS--DLLLLSINSIGCLVESLYLVYLLYAPRQAMAFTLKLVLCAMNLALFAA 111
Os08g0535200 OsSW11     LWIFYALVKT-NSRPLLTINAFGCGVEAAYIVLYLVYAPRRARLRTLAFFLLLDVAALFA 119

```

Consensus

```

* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
L-LYYA--K-----LLITIN--G--IE--YI-LFL-YA-K-----T--LL--NF--F--
  IF G T   MILS   A VQ   L MYI F R   A MF   DV L
    M       P V           V V           FV   I
              I F           VI   L
                        I

```

```

At5g50790.1 AtSW10      IFVLTYYFIIHAN-KRVQVLGYICMVFALSVMFVAPLGIIRKVIKTKSAEFMPFGLSFFLTL 174
At5g13170.1 AtSW15      ILMVTHFVVKTPPLQVSVLGWICVAISVSFAAPLMIVARVIKTKSVEYMPFSLSFFLTI 177
At3g48740.1 AtSW11      ILLLCQFLVKGA-TRAKIIGGICVGFVSVCVFAAPLSIIRTVIKTRSVYEMPFSLSLTLTI 176
At5g23660.1 AtSW12      ILLLCQFLAKGT-TRAKIIGGICVGFVSVCVFAAPLSIIRTVIKTKSVEYMPFSLSLTLTI 176
At5g50800.1 AtSW13      IVLVCELLTKGS-TREKVLGGICVGFVSVCVFAAPLSIMRVVVRTRSVFEMPFSLSLFLTI 175
At4g25010.1 AtSW14      IILVCELLTKGS-NREKVLGGICVGFVSVCVFAAPLSIMRVVIRTKSVEFMPFSLSLFLTI 175
Os12g0476200 OsSW13     ILLLTLLLSHGE-QRVVSLGWVCVAFSVSVFVAPLSIIKRVIQSRSVYEMPFSLSLTLTL 176
Os11g0508600 OsSW14     ILLLTLLLSAGD-RRIVVLGWVCVGFVSVCVFAAPLSIIRLVVTRKSVEFMPFSLSFSLTI 176
Os02g0513100 OsSW15     IALVTLLLSRGE-LRVHVLGWICVAVSLSVFAAPLSIIRLVIRTKSVEFMPFSLSFFLVL 177
At2g39060.1 AtSW09      LILLVNLLVPKQ-HRVSTVGWVCAAYS LAVFASPLSVMRKVIKTKSVEYMPFLLSLSLTL 174
Os03g0347500 OsSW12     VVAALQLLVKATDRRVTLAGGIGASFALAVFVAPLTIIRQVIRTKSVEFMPFWLSFFLTL 171
Os08g0535200 OsSW11     IVVTTLYLVPKP-HQVKFLGSVCLAFSMAVFAAPLSIIFKVIKTKSVEFMPIGLSVCLTL 178

```

Consensus

```

:       :       :       * :       : : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
I-----L-----R-----G-I-----SVCVFAAPL-II--VIKTKSVEFMPF--LSL-LTL
L       I       Q       V   ALS VS   VM   VRSR A Y I   F VI
V       V               MA       V   Q               V

```

[図4-2]

At5g50790.1 AtSW10	SAVMWFFYGLLLKDMNIALPNVLGFIFGVLMILFLIYKKPGTKVLEPPGIKLQDISEHV	224
At5g13170.1 AtSW15	SAVMWFAYGLFLNDICIAIPNVVGFVLGLLQMVLYLVYRNSNEKPEKINSSEQQLKSIVV	227
At3g48740.1 AtSW11	SAVIWLLYGLALKDIYVAFPNVLGFALGALQMILYVVYKYCKTSPHLGEKEVEAAKLPEV	226
At5g23660.1 AtSW12	SAVIWLLYGLALKDIYVAFPNVIGFVLGALQMILYVVYKYCKTPSDLVEKELEAAKLPEV	226
At5g50800.1 AtSW13	SAVTWLFYGLAIKDFYVALPNVLGAFVGAVQMILYIIFKYKTPVAQKTDKSKDVSDHSI	223
At4g25010.1 AtSW14	SAITWLFYGLAIKDFYVALPNILGAFVGAVQMILYVIFKYKTPLVVDETEKPKTVSDHS	224
Os12g0476200 OsSW13	SAVVWFLYGLLIKDKYVALPNILGFTFGVVQMGLYVFYMNATPVAGEGKEGKGLAAAE	229
Os11g0508600 OsSW14	SAVVWFLYGLLIKDKYVALPNVLGFSFGVIQMGLYAMYRNSTPKAVLTKEVEAATATGDD	236
Os02g0513100 OsSW15	SAVIWFLYGLLKKDVFVALPNVLGFVFGVAQMALYMYRSKKPLVASSSSAVVAAGLEIK	234
At2g39060.1 AtSW09	NAVWFFYGLLIKDKFIAMPNILGFLFGVAQMILYMMYQGSKTDLPTENQLANKTDVNE	224
Os03g0347500 OsSW12	SAVVWFFYGLLMKDFVATPNVLGLLFGLAQMVLYVVYKNPKNSAVSEA-AAQQQVEVK	221
Os08g0535200 OsSW11	SAVAWFCYGLFTKDPYVYPNVGGFFFCVQMGLYFWYRKPRNTAVLPTTSDSMSPISAA	238
	.*: *: *** :* : ***: * :. ** *: :	
Consensus	SAV-WF-YGL--KD--V--PNV-G--FG--QM-LY--Y	
	N I L N I I L S F F	

[図5]

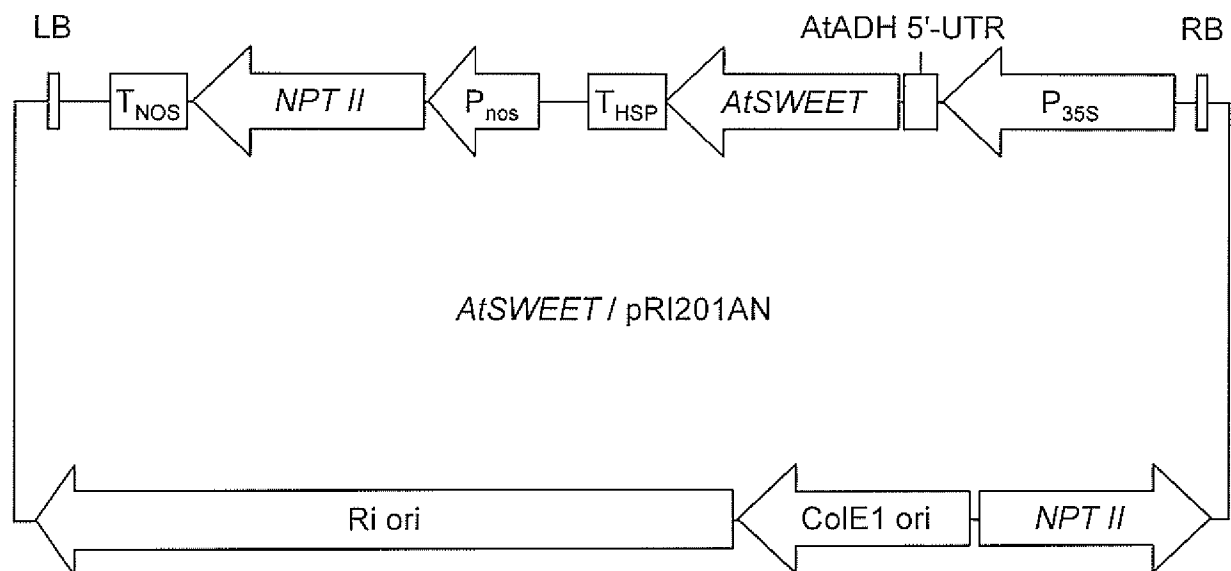
At5g50790.1	AtSW10	--MAISQAVLATVFGILGNIISFFVCLAPIPTFVRIYKRKSSEGYQSIPYVISLFSAMLW	58
At5g13170.1	AtSW15	MGVMINHHFLAFIFGILGNVISFLVFLAPVPTFYRIYKRKSTESFQSLPYQVSLFSCMLW	60
At3g48740.1	AtSW11	MSLFNTENTWAFVFGLLGNLISFAVFLSPVPTFYRIWKKKTTEGFQSIPIYVVALFSATLW	60
At5g23660.1	AtSW12	MALFDTHNTWAFVFGLLGNLISFAVFLSPVPTFYRICKKKKTTEGFQSIPIYVVALFSAMLW	60
At5g50800.1	AtSW13	--MALTNNLWAFVFGILGNIISFVVFLAPVPTFVRICKKKKSTEGFQSLPYVSALFSAMLW	58
At4g25010.1	AtSW14	--MVLTHNVLAFTFGVLGNIISFIVFLAPVPTFVRICKKKKSTEGFQSLPYVSALFSAMLW	58
At2g39060.1	AtSW09	--MFLKVHEIAFLFGLLGNIVSFGVFLSPVPTFYGIYKKKSSKGFQSIPIYICALASATLL	58
Consensus		M--T----A--FGLLGNISF-V-LSPVPTF--I-KKKS-EGFQSIPIY--AL-SA-L-	
		L K I LV A I R T KSYE L S C	
		V N V V	
		S	

At5g50790.1	AtSW10	MYIAMIKK-DAMMLITINSFAFVVQIVYISLFFFYAPKKEKTLTVKFVLFVDVLGFGAIF	117
At5g13170.1	AtSW15	LYYALIKK-DAFLITINSFGCVVETLYIAMFFAYATREKRISAMKLFIAMNVAFSLIL	119
At3g48740.1	AtSW11	LYYATQKK-DVFLLVLTINAFGCFIETIYISMFLAYAPKPARMLTVKMLLLMNFGGFCAIL	119
At5g23660.1	AtSW12	LYYATQKK-DVFLLVLTINSFGCFIETIYISIFVAFASKKARMLTVKMLLLMNFGGFCIL	119
At5g50800.1	AtSW13	IYYAMQKDGTAFLLITINAFGCVIETIYIVLVFSYANKKTRISTLKVGLLNLGFAAIV	118
At4g25010.1	AtSW14	IYYALQKDGAGFLITINAVGCFIETIYIILFITYANKKARISTLKVGLLNLGFAAII	118
At2g39060.1	AtSW09	LYYGIMKT-HAYLIISINTFGCFIEISYLFYILYAPREAKISTLKLIVICNIGGLGLLI	117
Consensus		LYYA--K-----LLITINAFG-FIE--YI-LFF-YA-K--R--TLKVL--NF--F--IL	
		I G MIVS SVA VVQ L MYV F R K AV LI DV L LI	
		M T I I M MV I V	
		L FF F	

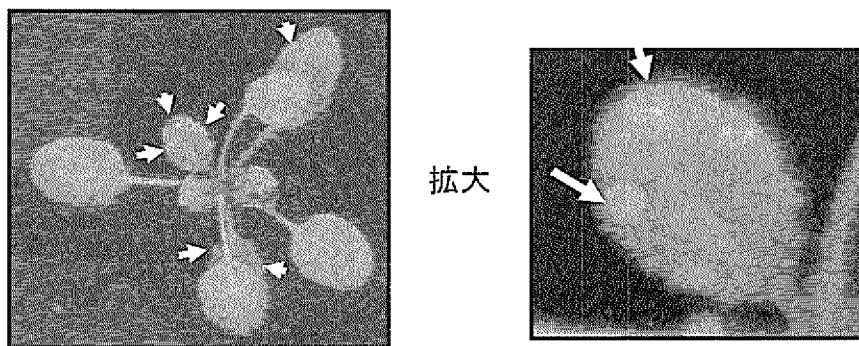
At5g50790.1	AtSW10	VLTYFIIHAN-KRVQVLGYICMVFALS VFVAPLGIIRKVIKTKSAEFMPFGLSFFLTLSA	176
At5g13170.1	AtSW15	MVTHFVVKTPPLQVSVLGWICVAISVSVFAPLMIVARVIKTKSVEYMPFSLSFFLTISA	179
At3g48740.1	AtSW11	LLCQFLVKGA-TRAKIIGGICVGF SVCVFAAPLSIIRTVIKTRSV EYMPFSLSLTLTISA	178
At5g23660.1	AtSW12	LLCQFLAKGT-TRAKIIGGICVGF SVCVFAAPLSIIRTVIKTRSV EYMPFSLSLTLTISA	178
At5g50800.1	AtSW13	LVCELLTKGS-TREKVLGGICVGF SVCVFAAPLSIMRVVVRTRSV EYMPFSLSLFLTISA	177
At4g25010.1	AtSW14	LVCELLTKGS-NREKVLGGICVGF SVCVFAAPLSIMRVVIRT SV EYMPFSLSLFLTISA	177
At2g39060.1	AtSW09	LLVNLVLPKQ-HRVSTVGWVCAAYSLAVFASPLSVMRKVIKTKSVEYMPFLLSLSLTLNA	176
Consensus		LL--FL-----R-K-LG-IC---SVSVFAAPL-IM--VIKTKSVEYMPF-LSL-LTISA	
		MV LI Q S I V ALC VS VI VR R A F F LN	
		V V Q V A V	

At5g50790.1	AtSW10	VMWFFYGLLLKDMNIALPNVLGFI FGVLQMILFLIYK-KPGTKV-LEPPGIKLQDISEHV	234
At5g13170.1	AtSW15	VMWFAYGLFLNDICIAIPNVVGFVLGLLQMVLYLVYR-NSNEKP-EKINSSEQQLKSIVV	237
At3g48740.1	AtSW11	VIWLLYGLALKDIYVAFPNVLGFALGALQMILYVVYK-YCKTSPHLGEKEVEAAKLPEVS	237
At5g23660.1	AtSW12	VIWLLYGLALKDIYVAFPNVIGFVLGALQMILYVVYK-YCKTSPDLVEKELEAAKLPEVS	237
At5g50800.1	AtSW13	VTWLFYGLAIKDFYVALPNVLGAFVGAVQMILYIIFK-YYKTP--VAQKTDKSKDVSDHS	234
At4g25010.1	AtSW14	ITWLFYGLAIKDFYVALPNILGAFVGAVQMILYVIFK-YYKTPL-VVDETEKPKTVSDHS	235
At2g39060.1	AtSW09	VMWFFYGLLIKDKFIAMPNVLGFLGVAQMILYMMYQGSKTKDLPTENQLANKTDVNEVP	236
Consensus		V-WL-YGL-LKD--VALPNVLG--LG--QMILYVVYK	
		I F IN I F II F V FLIFR	
		I V IM Q	
		M M	

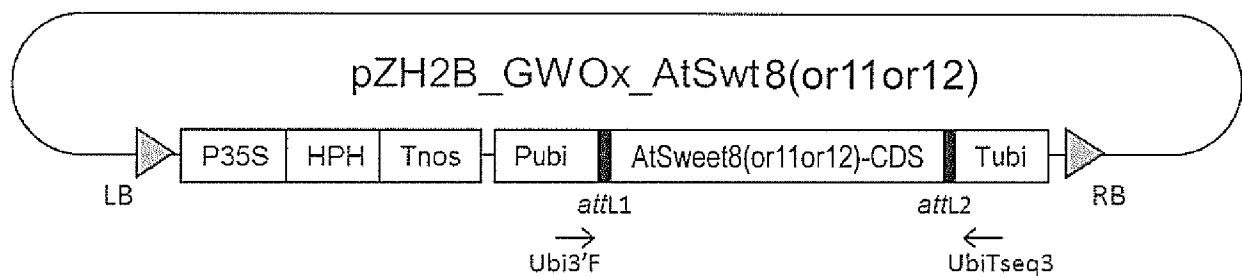
[図6]



[図7]



[図8]



P35S: CaMV35Sプロモーター

NOSターミネーター

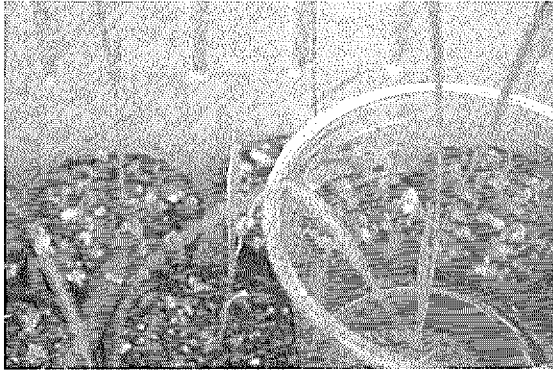
Pubi: イネユビキチンプロモーター

注) pZH2Bの詳細はKuroda et al. (Biosci Biotechnol Biochem 2010, 74: 2348-51)

HPH: ハイグロマイシン耐性遺伝子

Tubi: イネユビキチンターミネーター

[図9]



拡大



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/084316

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01H5/00(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01H5/00, C12N5/10, C12N15/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS/WPIX (STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580
(JDreamIII), GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u> <u>Y</u>	WO 2013/086494 A1 (Carnegie Institution of Washington), 13 June 2013 (13.06.2013), claims: [00021], [00041], [00046], [00075], [00076], [00195] & US 2014/0359899 A1 & EP 2787805 A1	<u>1-17</u> <u>1-20</u>
<u>X</u> <u>Y</u>	JP 2012-525845 A (Carnegie Institution of Washington), 25 October 2012 (25.10.2012), claims; paragraphs [0106], [0120], [0217], [0218] & US 2011/0209248 A1 & WO 2010/129540 A2 & EP 2427471 A2	<u>1-15</u> <u>1-20</u>



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 March 2015 (26.03.15)

Date of mailing of the international search report

07 April 2015 (07.04.15)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/084316

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2001-512685 A (Max-Planck-Gesellschaft zur Forderung der Wissenschaften e.V.), 28 August 2001 (28.08.2001), claims; fig. 13 & US 2004/0168214 A1 & WO 99/007863 A1 & EP 1002118 A1 & CN 1265704 A	1-20
Y	JP 2002-501755 A (Board of Trustees, Rutgers, The State University of New Jersey), 22 January 2002 (22.01.2002), claims & US 6096546 A1 & WO 99/038990 A1 & EP 1049792 A1	1-20
Y	JP 2008-528016 A (Librophyt), 31 July 2008 (31.07.2008), claims & US 2008/0281135 A1 & WO 2006/079727 A1 & EP 1844154 A1	1-20
Y	JP 2012-055208 A (Tokyo University of Agriculture and Technology), 22 March 2012 (22.03.2012), paragraph [0043] (Family: none)	1-20
A	GUAN Yue-Feng et al., RUPTURED POLLEN GRAIN1, a Member of the MtN3/saliva Gene Family, Is Crucial for Exine Pattern Formation and Cell Integrity of Microspores in Arabidopsis, Plant Physiology, 2008, Vol.147, p.852-863	1-20
A	CHEN Li-Qing et al., Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens, Nature, 2010, Vol.468, p.527-532	1-20

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. A01H5/00(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. A01H5/00, C12N5/10, C12N15/09			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 日本国公開実用新案公報 日本国実用新案登録公報 日本国登録実用新案公報 1 9 2 2－1 9 9 6 年 1 9 7 1－2 0 1 5 年 1 9 9 6－2 0 1 5 年 1 9 9 4－2 0 1 5 年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS/WPIX(STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580(JDreamIII), GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq, UniProt/GeneSeq			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
X Y	WO 2013/086494 A1 (CARNEGIE INSTITUTION OF WASHINGTON) 2013.06.13, 【特許請求の範囲】【00021】【00041】【00046】【00075】【00076】【00195】 & US 2014/0359899 A1 & EP 2787805 A1	1-17 1-20	
X Y	JP 2012-525845 A (カーネギー インスチテューション オブ ワシントン) 2012.10.25, 【特許請求の範囲】【0106】【0120】【0217】【0218】 & US 2011/0209248 A1 & WO 2010/129540 A2 & EP 2427471 A2	1-15 1-20	
☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 2 6 . 0 3 . 2 0 1 5		国際調査報告の発送日 0 7 . 0 4 . 2 0 1 5	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 坂崎 恵美子 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8	4 B 5 2 7 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2001-512685 A (マックス・プランク・ゲゼルシャフト ツール フォルデルング デル ヴィッセンシャフテン エー. ファウ.) 2001. 08. 28, 【特許請求の範囲】【図 13】 & US 2004/0168214 A1 & WO 99/007863 A1 & EP 1002118 A1 & CN 1265704 A	1-20
Y	JP 2002-501755 A (ボード オブ トラストィーズ, ラトガーズ, ザ ステイト ユニバーシティ オブ ニュー ジャージー) 2002. 01. 22, 【特許請求の範囲】 & US 6096546 A1 & WO 99/038990 A1 & EP 1049792 A1	1-20
Y	JP 2008-528016 A (リプロフィ) 2008. 07. 31, 【特許請求の範囲】 & US 2008/0281135 A1 & WO 2006/079727 A1 & EP 1844154 A1	1-20
Y	JP 2012-055208 A (国立大学法人東京農工大学) 2012. 03. 22, 【0043】 (ファミリーなし)	1-20
A	GUAN Yue-Feng et al., RUPTURED POLLEN GRAIN1, a Member of the MtN3/saliva Gene Family, Is Crucial for Exine Pattern Formation and Cell Integrity of Microspores in Arabidopsis, Plant Physiology, 2008, Vol.147, p.852-863	1-20
A	CHEN Li-Qing et al., Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens, Nature, 2010, Vol.468, p.527-532	1-20