

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4189011号
(P4189011)

(45) 発行日 平成20年12月3日 (2008. 12. 3)

(24) 登録日 平成20年9月19日 (2008. 9. 19)

(51) Int. Cl.		F I	
AO 1 H	5/00	(2006. 01)	AO 1 H 5/00 A
AO 1 H	3/00	(2006. 01)	AO 1 H 3/00
C 1 2 N	15/09	(2006. 01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A

請求項の数 5 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2007-108025 (P2007-108025)
 (22) 出願日 平成19年4月17日 (2007. 4. 17)
 (65) 公開番号 特開2008-17833 (P2008-17833A)
 (43) 公開日 平成20年1月31日 (2008. 1. 31)
 審査請求日 平成19年9月4日 (2007. 9. 4)
 (31) 優先権主張番号 10-2006-0066605
 (32) 優先日 平成18年7月14日 (2006. 7. 14)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(73) 特許権者 505176556
 コリア ユニバーシティ インダストリアル
 アンド アカデミック コラボレイシ
 ヨン ファウンデーション
 大韓民国, ソウル 136-701, ソン
 ブクーク, アナムードン, 5-カ, 1, コ
 リア ユニバーシティ内
 (74) 代理人 110000338
 特許業務法人原謙三国際特許事務所
 (72) 発明者 ジョン ショップ, シン
 大韓民国, 136-701, ソウル, ソン
 ブクーク, アナムードン, 5-カ, 1, コ
 リア ユニバーシティ, スクール オブ
 ライフ サイエンス アンド バイオテ
 クノロジー

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 植物ホルモンジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ *AtLEJ1* 遺伝子を用いた、雄性不稔植物体の製造方法、植物体に雄性不稔を誘発する方法、および該遺伝子が過多

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 の塩基配列を有するシロイヌナズナから単離された雄性不稔誘発遺伝子 (*AtLEJ1*) を植物体内で過多発現させることによって、該植物体に雄性不稔を誘発する方法。

【請求項 2】

前記遺伝子は、ジャスモン酸またはエチレンの生合成を阻害して雄性不稔を誘発するものである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記遺伝子が組み換えベクターに含まれており、該ベクターを前記植物体に導入することにより、当該遺伝子を前記植物体内で過多発現させる、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 に記載の方法を用いた、雄性不稔植物体の製造方法。

【請求項 5】

配列番号 1 の塩基配列を有するシロイヌナズナから単離された雄性不稔誘発遺伝子 (*AtLEJ1*) が過多発現された植物体にジャスモン酸または *ACC* (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) を処理して稔性を回復させる方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

【 0 0 0 1 】

本発明は、植物ホルモンジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ *AtLEJ1* 遺伝子、およびこれを用いた雄性不稔植物体の製造方法に係り、さらに詳しくは、安定性のある不稔系を確保することができ、雄性不稔系を維持するための他の維持系統が不要であり、植物ホルモンによって稔性の回復が可能な新規の雄性不稔誘発遺伝子である *AtLEJ1* 遺伝子、およびこれを用いた雄性不稔植物体の製造方法に関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 2 】

新品種開発産業は、生産性の向上による足りない食糧資源の確保の面、且つ、薔薇や蘭などの高付加価値産業における先占の確保の面で世界的に新品種開発の主体となるための競争が熾烈な趨勢である。現在、新機能新品種の種子を開発しようとする育種家は、交雑実験と遺伝子操作によって新品種の開発および育成に努めている。

10

【 0 0 0 3 】

新品種の種子としては、通常、母系純系と父系純系とを交雑して雑種強勢現象が目立つ一代雑種 (F1 hybrid) を用いるが、これは、両親と比較して、生育が旺盛であり、数量が多く、特性が均一であるうえ、開花および成熟期が促進されて不良環境に対する抵抗性が強くなるためである。

【 0 0 0 4 】

ところが、一代雑種の採種の際に、花が比較的大きく、一つの果実に種子が比較的多く入っているウリ科 (Cucurbitae) の野菜などは、人工授粉が容易なので、比較的簡単に雑種種子を得ることができるが、玉ねぎやニンジンなどは花が小さくて人工交配が難しいうえ、1回の交配で得られる種子の数が非常に少なく人工交配によって雑種を生産するのは現実性がない。しかも、大部分を占めている両性花 (hermaphrodite、一つの花に雌蕊と雄蕊の両方ともがある) 植物の場合は、人工交配に先立ち、若い蕾状態で母系の雄蕊を除去する、多くの手間が要る除雄 (emasculation) 作業が必須的である。

20

【 0 0 0 5 】

もし雄性不稔系があれば、これを母系として、正常の可稔系を父系として用いて除雄作業を省略し、放任受粉によって一代雑種の採種が可能であるため、雄性不稔植物の開発は、新品種種子の開発に有用に使用できる。このような雄性不稔は、雄蕊の欠陥により受精能力のある花粉を生産することができない現象であって、雄化または花粉 (pollen) の奇形化または裂開不能 (葯が破れずに花粉が出てこない現象) によって現われる。

30

【 0 0 0 6 】

雄雌不稔性は、遺伝様式によって核遺伝型 (genic male sterility) と細胞質遺伝型 (cytoplasmic male sterility) に分けられる。核遺伝型雄性不稔は、生存に不利に作用するから発見されるもので、主に劣性遺伝を行い、劣性同型 (homozygously recessive) の場合に不稔性を示すため、不稔系の維持および増殖に多くの努力がかかり、また作物によっては花が小さくて稔性の判別が難しく、花が咲くまで長時間がかかる作物には適用し難いという欠点がある。

【 0 0 0 7 】

一方、細胞質雄性不稔性は、いずれの可稔系を交配しても100%不稔株が出るから、不稔株にいろんな可稔株を交配して50%あるいは100%不稔株を出すことが可能な個体および系統、すなわち維持系統 (maintainer) を探し出して植えなければならないので、現実性がない。しかし、一代雑種の育種のために、雄性不稔系の獲得のための放射線および化学薬品による人為的雄性不稔の誘起も試みられたことがあるが、安定性が低くて実用化が容易ではないという問題点がある。

40

【 0 0 0 8 】

一代雑種種子を生産するための雄性不稔植物の開発および研究に多くの投資を行っているが、現在まで雄性不稔植物が持っている問題点により、これに関する研究成果は非常に微々たる実情である。もしこのような雄性不稔系植物の欠点を克服し、すなわち安定性のある雄性不稔系を確保し、且つ他の維持系統を必要とすることなく不稔系を維持すること

50

が可能であれば、これを用いた容易な新品種の開発および高付加価値の産業生産に有用である。

【 0 0 0 9 】

よって、安定性のある雄性不稔系を確保することが可能で、他の維持系統を必要とすることなく不稔系を維持することが可能な新規遺伝子に対して強く求められてきた。

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 1 0 】

そこで、本発明は、従来の技術の問題点および前記要求を解決するために案出されたものであって、その目的とするところは、安定性のある雄性不稔系を確保することが可能で、他の維持系統を必要とすることなく不稔系を維持することが可能な新規の雄性不稔誘発遺伝子を提供することにある。

10

【 0 0 1 1 】

本発明の他の目的は、前記雄性不稔誘発遺伝子を含む組み換えベクターおよびこれにより形質転換された植物体を提供することにある。

【 0 0 1 2 】

本発明の別の目的は、前記遺伝子の雄性不稔誘発メカニズムを究明して稔性を正常的に回復させることが可能な方法を提供することにある。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 3 】

上記目的を達成するために、本発明者らは、シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子の D N A をクローニングして植物体形質転換用発現ベクターを製作し、同一のベクターを用いてシロイヌナズナ形質転換体を製作し、その雄性不稔およびその雄性不稔植物体の植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン含量の減少、並びに前記植物ホルモンの処理による稔性の回復を確認し、本発明を完成するに至った。

20

【 0 0 1 4 】

したがって、本発明は、配列番号 1 の塩基配列を有するシロイヌナズナから単離された雄性不稔誘発遺伝子 A t L E J 1 を提供する。

【 0 0 1 5 】

前記遺伝子は、植物ホルモングジャスモン酸またはエチレンの生合成を阻害して雄性不稔を誘発することを特徴とする。

30

【 0 0 1 6 】

本発明は、前記雄性不稔誘発遺伝子を含む組み換えベクター、およびこれによって形質転換された植物体を提供する。

【 0 0 1 7 】

前記組み換えベクターは、形質転換用バイナリーベクターであって、様々な種類の植物形質転換用ベクターが利用できる。

【 0 0 1 8 】

本発明は、前記遺伝子が過剰発現された植物体にジャスモン酸または A C C を処理して稔性を正常的に回復させる方法を提供する。

40

【 発明の効果 】

【 0 0 1 9 】

上述した本発明に係る遺伝子 A t L E J 1 を用いると、従来の雄性不稔植物の製造方法に比べて安定性があり、雄性不稔系を維持するための他の維持系統が不要であり、植物ホルモンによって稔性の回復が可能な雄性不稔植物を製造することができる。よって、本発明は、容易な新品種の開発および高付加価値の産業生産に有用に利用することができる。

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 2 0 】

以下に添付図面を参照しながら、本発明の構成について詳細に説明する。

【 0 0 2 1 】

50

シロイヌナズナの全塩基配列は既に明らかになっている。これらの塩基配列に基づき、各遺伝子の位置と重要なドメイン (domain)、エクソン (exon)、イントロン (intron) などに関する情報も既に推定して公開されているが、未だ、特定のドメインがなく且つ機能の推定が不可能な遺伝子が大多数である。

【 0 0 2 2 】

本発明者らは、その機能が未だ報告されていないシロイヌナズナの未知遺伝子のうち、雄性不稔に関連するものと推定される遺伝子 A t L E J 1 (At4g34120) を選抜して、植物形質転換用バイナリーベクターを用いてクローニングし、塩基配列 (配列番号 1) を確認した (図 1 および図 2 参照)。

【 0 0 2 3 】

前記バイナリーベクターを用いて本発明に係る A t L E J 1 遺伝子をシロイヌナズナ内で過多発現させたとき、雄蕊の葯の裂開 (anther dehiscence) 不能による雄性不稔が引き起こされる (図 3, 図 4 および図 5 参照)。

【 0 0 2 4 】

本発明に係る遺伝子を含む組み換えベクターを製造し、この組み換えベクターを植物細胞内に導入させるために、本発明の属する分野における通常の知識を有する者に公知になっている様々な技術を使用することができる (参考文献: Clough SJ and Bent AF, 1998. Floral dip: a simplified method for Agrobacterium-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. Plant J 16:735-43)。例えば、アグロバクテリウム媒介形質転換を利用することができる。

【 0 0 2 5 】

また、本発明は、配列番号 1 の塩基配列を有する D N A 断片を増幅するための配列番号 2 および配列番号 3 に示される P C R 用プライマー (表 1 参照) を提供する。

【 0 0 2 6 】

一方、この植物体は、正常的な花粉 (pollen) を持っており、このような雄性不稔の原因は、植物ホルモンとしてのジャスモン酸とエチレンの生合成が少なく生ずることにある (図 6, 図 7, 図 8 および図 9 参照)。

【 0 0 2 7 】

ひいては、他の化薬薬品ではなく、前記 2 つの植物ホルモンを人為的に処理することにより、稔性が正常的に回復する (図 1 0, 図 1 1, 図 1 2 および図 1 3 参照)。

【 0 0 2 8 】

これにより、本発明に係る遺伝子で形質転換させて得られた雄性不稔植物体は、安定性があり、雄性不稔系を維持するための他の維持系統が不要である。よって、本発明は、新品種の開発のための有用な方法として使用できる。

【 0 0 2 9 】

以下、実施例によって本発明をさらに詳しく説明する。これらの実施例は本発明をより具体的に説明するためのものに過ぎず、本発明の範囲を限定するものでないことは、本発明の属する技術分野における通常の知識を有する者には自明である。

【 実施例 】

【 0 0 3 0 】

〔実施例 1 : 本発明に係る新規遺伝子である A t L E J 1 のクローニング〕

両端に X b a I (5' 末端) と B g l I I 部位 (3' 末端) を含むプライマー (表 1) を用いて A t L E J 1 (At4g34120) 遺伝子の O R F (open reading frame) をシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia) の総 R N A から製作された c D N A プールで P C R 技法によって増幅した。

【 0 0 3 1 】

前記 P C R 産物の末端を各制限酵素で切断した後、レフトボーダー (Left boarder) とライトボーダー (right boarder) との間に C a M V (Cauline flower mosaic virus) 3 5 S プロモーターを持っている植物形質転換用バイナリーベクター (binary vector) である p C A M B I A 2 3 0 0 にクローニングした (図 1)。このクローンを解読 (sequen

10

20

30

40

50

cing) した結果、正確な塩基配列がクローニングされたのを確認することができた (図 2)。

【 0 0 3 2 】

【表 1】

5'-CGA-TCT-AGA-ATA-TGG-GTT-CAA-TCT-CTT-TAT-CC (配列番号 2)	32-mer
5'-TAG-AGA-TCT-CTA-TGT-AGA-GTT-CTC-GGT-TTC-CCG-T (配列番号 3)	34-mer

【 0 0 3 3 】

〔実施例 2：本発明に係る遺伝子である A t L E J 1 の過多発現植物体の雄性不稔の確認〕

実施例 1 で製作されたベクターをアグロバクテリウム (Agrobacterium GV3101) に冷却凍 (Freeze - thaw) 方法 (An, G. 1987, Methods in Enzymology) によって導入した。形質転換されたアグロバクテリウムは、花浸漬方法 (flower dipping, Clough and Bent, 1998, The Plant Journal) によってシロイヌナズナを形質転換させた。形質転換させたシロイヌナズナを 3 世代にわたって選抜して T₃ ラインを確保した。

【 0 0 3 4 】

まず、形質転換植物体と正常的な野生型植物体から総 RNA を抽出して cDNA に転換した後、RT-PCR 分析 (95 20 秒、53 20 秒、72 40 秒を 1 サイクルとして、27 サイクルを繰り返し行った後、72 で 3 分間最終合成 (extension) を行う) によって、形質転換植物体では野生型植物体より明確に A t L E J 1 の遺伝子が過多発現されていることを確認した。この際、内的対照群としては e I F 4 a 1 を使用した (図 3)。

【 0 0 3 5 】

本発明に係る A t L E J 1 過多発現植物体の表現型を観察したところ、正常的に稔性を持っている野生型植物体と比較して確実に不稔が引き起こされていることを確認した (図 4)。そして、花を解剖して顕微鏡で観察した結果、雄蕊の葯が裂開 (anther dehiscence) されるべき時点においても、A t L E J 1 過多発現植物体は裂開されていないことを確認した (図 5)。

【 0 0 3 6 】

より詳細な雄蕊の表現型を観察するために野生型植物体と A t L E J 1 過多発現植物体の花を固定液 (fixing solution; 4% para-formaldehyde and 2.5% glutaraldehyde in a 0.05M potassium phosphate buffer) に浸漬した後、エタノールシリーズ (30%、50%、70%、90%、95%、100%) を用いて脱水過程を経た後、液体 CO₂ ガスを用いた臨界点乾燥 (critical point dry) を行った。このような花サンプルを用いて電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope) によって雄蕊部分を観察した。図 6 の結果のように、雄蕊が裂開されていない段階 (ステージ 11) においても、A t L E J 1 過多発現植物体の雄蕊は野生型の雄蕊に比べて非常に乾燥した形態を観察し、かつ、雄蕊の葯が裂開される段階 (ステージ 13) においてもこのような形態を維持しながら裂開がなされていないことを再確認した。しかし、A t L E J 1 過多発現植物体の花粉粒 (pollen grain) は野生型と同様の正常的な表現型を示していた。

【 0 0 3 7 】

また、雄蕊の葯発達過程を細胞の水準で調べるために、野生型植物体と A t L E J 1 過多発現植物体の花を固定液に浸漬し、エタノールシリーズを用いて脱水過程を経た後、パラフィン (Paraplast) に固定した。このような固定された試料をマイクロトーム (microtome) を用いて 8 μm に切断 (cross-section) し、葯の裂開のために重要であると知られている雄蕊内壁細胞 (endothecium cell) 内の木質化 (lignification) 部分を染色させる 2% フロログルシノール (Phloroglucinol) を用いて染色した後、9N 塩酸 (HCl) で洗浄し、その後顕微鏡によって観察した。図 7 に示すように、野生型雄蕊の内壁細胞

10

20

30

40

50

部分内では、確実に正常的な木質化と共に、フロログルシノールで染色（赤色部分）されることを確認したが、A t L E J 1 過多発現植物体の雄蕊部分では、染色がなされないため、このような雄蕊内壁細胞内の木質化が行われていないことを確認した。

【 0 0 3 8 】

〔実施例 3：本発明に係る遺伝子 A t L E J 1 過多発現植物体の花器構造を用いたジャスモン酸およびエチレン含量の測定〕

既存の幾つかの論文から、シロイヌナズナ植物でジャスモン酸の生合成が阻害されると、雄蕊の葯の裂開が遅くなることにより不稔が引き起こされると報告されたことがある。また、エチレンは、シロイヌナズナの雄蕊の葯裂開過程における明確な機能は報告されたことがないが、タバコの雄蕊の葯裂開過程で作用すると報告されたことがあるため、このような既存の研究に基づき、本実験においても、A t L E J 1 過多発現植物体の花を採取し、総ジャスモン酸とエチレンの含量をガスクロマトグラフィーを用いて測定した。図 8 に示すように、総ジャスモン酸の場合、A t L E J 1 過多発現植物体では野生型植物体に比べて 3 0 % 減少することを確認した。また、エチレンの場合、A t L E J 1 過多発現の際には正常時より約 7 0 % が減少することを確認した（図 9）。したがって、本発明に係る遺伝子 A t L E J 1 はジャスモン酸およびエチレンの生合成を阻害することにより、裂開不能雄性不稔を誘導することが分かった。

【 0 0 3 9 】

〔実施例 4：本発明に係る遺伝子 A t L E J 1 過多発現植物体の人為的ジャスモン酸および A C C（エチレン前駆体）の処理による稔性回復の確認〕

本発明に係る遺伝子 A t L E J 1 過多発現植物体は、雄性不稔を示しながら花器内のジャスモン酸とエチレンの合成量が少ないため、外部から人為的にジャスモン酸または A C C（1-aminocyclopropane-1-carboxylate、エチレンの前駆体）を処理したときに稔性が回復するかを確認する実験を行った。

【 0 0 4 0 】

まず、A t L E J 1 過多発現植物の蕾（flower bud cluster）に 5 0 0 μ M ジャスモン酸を処理し、対照区として何にも処理せず或いは水のみを処理して稔性の回復を確認した。

【 0 0 4 1 】

図 1 0 の結果から確認できるように、対照区処理区では依然として雄性不稔を示しているが、これに対し、ジャスモン酸処理の後に一週間経った植物体は部分的に稔性が回復する現象を確認することができ（白色矢印）、また、処理二日後の花を顕微鏡で観察したところ、裂開不能の葯が裂開されていることを確認した。このようなジャスモン酸処理二日後の花をパラフィン（palapast）に固定した後、フロログルシノール（phloroglucinol）染色によって顕微鏡で観察したところ、図 1 1 に示すように、雄蕊内壁細胞の木質化が回復（黒色矢印）して葯の裂開（anther dehiscence）による花粉粒（pollen grain）が正常的に出ていることを確認した。

【 0 0 4 2 】

これと同様に、このような A t L E J 1 過多発現植物体にエチレン前駆体 A C C を 5 0 m M と 5 0 0 m M で処理した場合でも、ジャスモン酸処理時と同様に、A t L E J 1 過多植物体の雄性不稔表現型を可稔に回復させることを確認することができた（図 1 2）。これも部分的に雄蕊内壁細胞の木質化が回復することを確認した（図 1 3）。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 3 】

【図 1】本発明に係る植物ホルモンジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子のクローニングに用いられる p C A M B I A 2 3 0 0 ベクターのレフトボーダーとライトボーダーのカセットを示す図である。

【図 2】本発明に係る植物ホルモンジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子 O R F の全 c D N A 塩基配列を示す図である。

【図 3】本発明に係る植物ホルモンジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌ

10

20

30

40

50

ナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体における前記 A t L E J 1 遺伝子の転写発現様相を示す図である。

【図 4】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体における雄性不稔表現型を示す植物体の写真である。

【図 5】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体における雄性不稔表現型を示す植物体の写真である。

【図 6】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体における雄性不稔表現型を示す電子顕微鏡の写真である。

10

【図 7】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体において花内の雄蕊を切断 (cross-section) した後、雄蕊内壁細胞の木質化部分を染色した姿を示す写真である。

【図 8】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体の花内における全ジャスモン酸含量を示すグラフである。

【図 9】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体の花内における全エチレン含量を示すグラフである。

20

【図 10】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体へのジャスモン酸処理によって雄性不稔表現型が回復することを示す写真である。

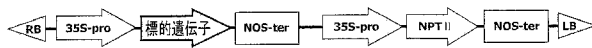
【図 11】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体へのジャスモン酸処理によって雄性不稔表現型が回復することを示す写真である。

【図 12】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体への A C C 処理によって雄性不稔表現型が回復することを示す写真である。

【図 13】本発明に係る植物ホルモングジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ A t L E J 1 遺伝子が過剰発現された植物体への A C C 処理によって雄性不稔表現型が回復することを示す写真である。

30

【図 1】



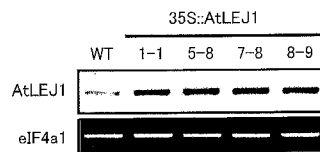
【図 2】

```

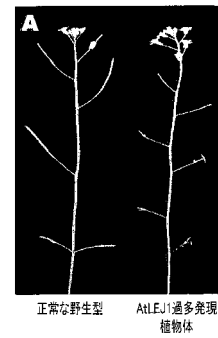
ATGGGTTCAATCTCTTTATCCAATTCATGCCATAACTCGACTCCACTACTT
ACATCACTCTATCATCAAAAGCTTCTTCGATTTCTTCTCATCTTTCTCTCTT
CTTCCTCTCTCTAAATCGTCGTCGCTCCTCCACTTTTTCACCGTCAATCACCGTC
TCTGCCTTCTTCGCTGCTCCTGCCAGCGTTAATAATAAATAACTCTGTTCCGGCA
AAAAATGGAGGTTACACAGTTGGGGATTTCATGACTCCGAGACAGAATTTGCA
CGTTGTTAAGCCCTCTACGTCGTCGATGATGCGTTGGAACCTCTGGTTGAGAA
GAAAGTCACGGGATTGCCCTGTAATTGACGATAATTGGACACTGGTTGGTGTG
TTTCTGATTACGATTTCCTTCCATTGGACTCCATCTCTGTCGCAGTCAAAATG
ATACAAACTTGTTCCTGATGTCGACAGTACCTGGAAAACGTTTAAACGAACAC
AGAAACTGATCAGTAAGACAATATGGAAAAGTTGTTGGAGACTTGATGACACCG
TCTCCTCTCGTTGTCCGTGATTCTACCAATTTAGAAGATGACGCCAGGTTGCTT
CTGGAAACAAAGTTCCGAAGATTACCGTTGTGTGATGCTGATGGAAAACGAT
TGGGATCCTTACAAGGGGAAACGTTGTAAGGGCTGCGCTGCAGTCAAACGGGA
AACCGAGAACTCTACATAG

```

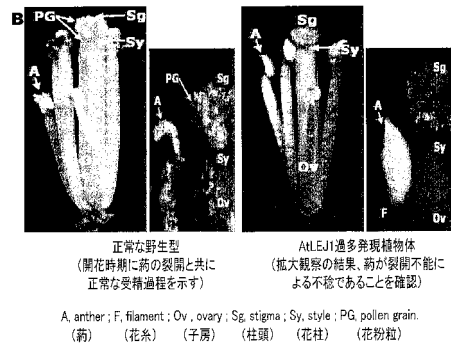
【図 3】



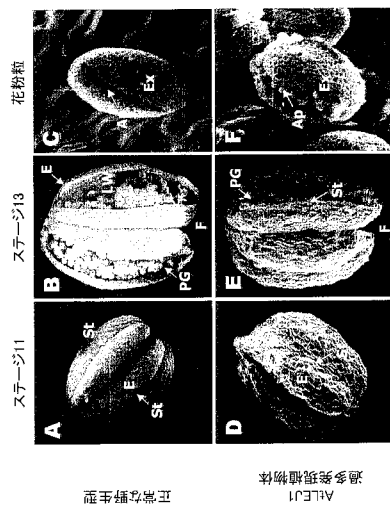
【図 4】



【図 5】

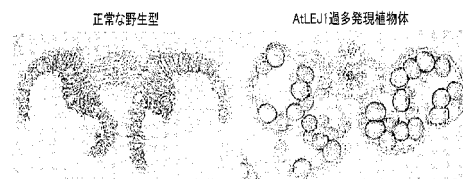


【図 6】

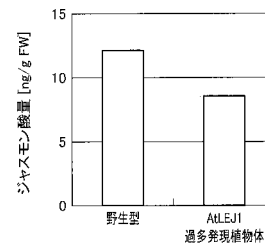


Ap, aperture; C, connective; E, epidermis; Ex, exine; F, filament; LW, inner locule wall; Ov, ovary; Sg, stigma; Sy, style; St, stomium; PG, pollen grain; Sr, sacculus.

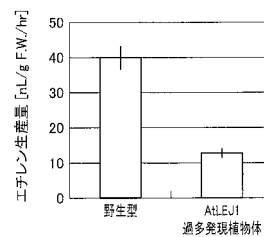
【図 7】



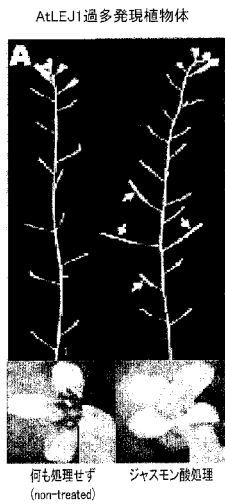
【図 8】



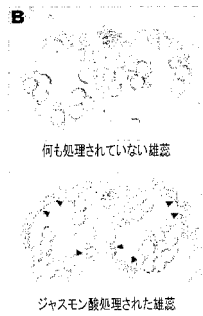
【図 9】



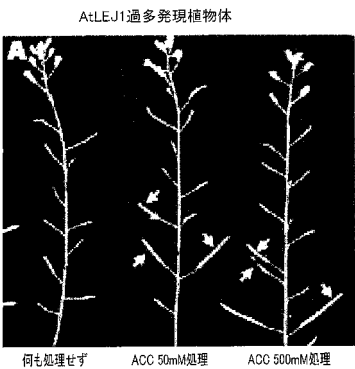
【図 1 0】



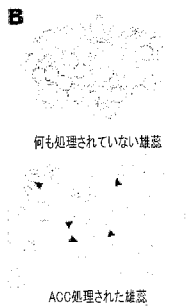
【図 1 1】



【図 1 2】



【図 1 3】



【配列表】

0004189011000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 クァン ウ, ジョン
大韓民国, 136-701, ソウル, ソンブク-ク, アナム-ドン, 5-カ, 1, コリア ユニバーシティ, スクール オブ ライフ サイエンスズ アンド バイオテクノロジー
- (72)発明者 キョン シン, ヨ
大韓民国, 136-701, ソウル, ソンブク-ク, アナム-ドン, 5-カ, 1, コリア ユニバーシティ, スクール オブ ライフ サイエンスズ アンド バイオテクノロジー
- (72)発明者 メイ ファ, クイ
大韓民国, 136-701, ソウル, ソンブク-ク, アナム-ドン, 5-カ, 1, コリア ユニバーシティ, スクール オブ ライフ サイエンスズ アンド バイオテクノロジー
- (72)発明者 ユン ヨン, キム
大韓民国, 136-701, ソウル, ソンブク-ク, アナム-ドン, 5-カ, 1, コリア ユニバーシティ, スクール オブ ライフ サイエンスズ アンド バイオテクノロジー
- (72)発明者 ソン ハン, オク
大韓民国, 136-701, ソウル, ソンブク-ク, アナム-ドン, 5-カ, 1, コリア ユニバーシティ, スクール オブ ライフ サイエンスズ アンド バイオテクノロジー

審査官 中村 正展

- (56)参考文献 特開2006-067996(JP, A)
欧州特許第01033405(EP, B1)
GenBank Accession AY056339, 2002年 9月18日, GI: 15810600, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?15810600:NCBI:3814595>, URL, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?15810600:NCBI:3814595>
GenBank Accession AF360331, 2002年 9月18日, GI: 13430837, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?13430837:NCBI:3812615>, URL, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?13430837:NCBI:3812615>
GenBank Accession BX826621, 2004年 2月 6日, GI: 42460925, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?42460925:OLD:76071>, URL, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?42460925:OLD:76071>
GenBank Accession AL161584, 2005年 4月17日, GI: 7270316, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?7270316:EMBL:7344063>, URL, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?7270316:EMBL:7344063>
Plant Cell Environ., 2004年, vol. 27, 521-549

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

C12N 5/00 - 5/10

A01H 5/00

A01H 3/00

A01H 1/00

PubMed

JSTPlus(JDreamII)

AGRICOLA/CABA/CROPU(STN)

CA/CONFSCI/SCISEARCH(STN)

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq

- (54)【発明の名称】植物ホルモンジャスモン酸およびエチレン生合成阻害関連シロイヌナズナ *AtLEJ1* 遺伝子を用いた、雄性不稔植物体の製造方法、植物体に雄性不稔を誘発する方法、および該遺伝子が過多発現された植物体にジャスモン酸またはACCを処理して稔性を回復させる方法