

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-504308

(P2017-504308A)

(43) 公表日 平成29年2月9日 (2017. 2. 9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 B 0 3 0
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 6 3
C O 7 K 14/415 (2006.01)	C O 7 K 14/415	4 C 0 8 4
A O 1 H 5/00 (2006.01)	A O 1 H 5/00 A	4 C 0 8 6
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 F	4 C 0 8 7
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 122 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-526869 (P2016-526869)	(71) 出願人	506002731
(86) (22) 出願日	平成26年10月31日 (2014. 10. 31)		ユニヴェルシテ ポール サバティエ ト
(85) 翻訳文提出日	平成28年6月24日 (2016. 6. 24)		ゥールーズ トロワ
(86) 国際出願番号	PCT/FR2014/052781		UNIVERSITE PAUL SAB
(87) 国際公開番号	W02015/063431		ATIER TOULOUSE 111
(87) 国際公開日	平成27年5月7日 (2015. 5. 7)		フランス共和国, エフ-31062 トウ
(31) 優先権主張番号	13/60727		ールーズ セデックス 4, ルート ドウ
(32) 優先日	平成25年10月31日 (2013. 10. 31)		ナルボンヌ, 118
(33) 優先権主張国	フランス (FR)	(71) 出願人	502205846
(31) 優先権主張番号	14/55044		サントル ナショナル ドウ ラ ルシェ
(32) 優先日	平成26年6月3日 (2014. 6. 3)		ルシュ シアンティフィク
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		フランス国 パリ セデックス 16 リ
			ュ ミシエルーアンジュ 3
		(74) 代理人	100065248
			弁理士 野河 信太郎
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロペプチド及び遺伝子発現をモジュレートするためのその使用

(57) 【要約】

マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド (miPEP) を検出及び同定する方法、及び遺伝子発現をモジュレートするためのその使用。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる12～303ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、
- b) ・前記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によってコードされ、前記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、前記マイクロRNAを発現する特定の真核細胞における前記マイクロRNAの蓄積と、
・ 前記ペプチドの非存在下における、前記マイクロRNAを発現する前記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における前記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、
前記ペプチド非存在下における前記マイクロRNAの蓄積からの、前記ペプチド存在下における前記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、前記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド (miPEP) を検出及び同定する方法。

10

【請求項 2】

前記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、前記マイクロRNAの蓄積の増大又は減少であり、特に増大である請求項 1 に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

【請求項 3】

- 前記細胞中における前記ペプチドの存在が、
- 前記ペプチドをコードする核酸の当該細胞内への導入、又は
 - 前記ペプチドの当該細胞内への導入
- に起因する請求項 1 又は 2 に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

20

【請求項 4】

前記工程a) におけるオープンリーディングフレームが、前記マイクロRNAの一次転写産物の5'部分又は3'部分、好ましくは5'部分に含まれる、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

【請求項 5】

- 前記マイクロRNAが、野生型植物細胞又は野生型動物細胞中に存在し、
- 前記工程b) において用いられる真核細胞が、植物細胞、好ましくはアブラナ科植物細胞、マメ科植物細胞若しくはナス科植物細胞であるか、又は動物細胞、好ましくはヒト細胞若しくはドロソフィラ属動物細胞である、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

30

【請求項 6】

前記マイクロRNAが、前記工程b) において用いられる真核細胞において内因性のものである、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

【請求項 7】

- 前記マイクロRNAが、前記工程b) において用いられる真核細胞において外因性のものがあり、
- 前記真核細胞が、前記マイクロRNAの発現を可能にするベクターを含む請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

40

【請求項 8】

前記マイクロRNAの蓄積が、定量RT-PCR、ノザンブロット、DNAチップ又はRNAチップを用いて測定される請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載のmiPEPを検出及び同定する方法。

【請求項 9】

請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の方法によって得られたヌクレオチド配列によってコードされるmiPEP。

【請求項 10】

マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列中に含まれる12～303ヌクレオチドのオープンリーディングフレームによってコードされる3～100アミノ酸、好ましくは

50

4～40アミノ酸のmiPEPであって、

前記miPEPは、真核細胞における前記マイクロRNAの蓄積をモジュレートすることができ

、

前記ヌクレオチド配列は、前記マイクロRNAの一次転写産物の5'部分又は3'部分、好ましくは5'部分に含まれ、

前記miPEPによるマイクロRNAのモジュレーションは、miPEPの存在下における細胞と非存在下における細胞とのマイクロRNA量の変化を観察することによって証明される、miPEP。

【請求項 1 1】

前記miPEPが、

- 配列番号1～配列番号104及び配列番号355、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなるペプチドの群から選択される請求項 9 又は 1 0 に記載のmiPEP。

【請求項 1 2】

特に

- 配列番号105～配列番号208及び配列番号356、
- 配列番号387～配列番号399、又は
- 配列番号425

からなる核酸の群から選択される、請求項 9 ～ 1 1 のいずれか 1 項に記載のmiPEPをコードする核酸分子。

【請求項 1 3】

特定の真核細胞における遺伝子の発現をモジュレートするための、少なくとも：

- 請求項 9 ～ 1 1 のいずれか 1 項に記載のmiPEP、
- 前記miPEPをコードする核酸、又は
- 前記核酸を含むベクター

の使用であって、

前記特定の真核細胞は、その一次転写産物が前記少なくとも1つのmiPEPをコードする少なくとも1つのヌクレオチド配列を含み、その蓄積が前記少なくとも1つのmiPEPによってモジュレートされるマイクロRNAを発現することができ、

前記遺伝子の発現は、前記マイクロRNAによって調節され、

前記miPEPは、特に：

- 配列番号1～配列番号104及び配列番号355、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424、

特に：

配列番号59、配列番号24、配列番号43、配列番号76、配列番号77、配列番号14、配列番号63及び配列番号424

からなるペプチドの群から選択され、

前記核酸は、特に：

- 配列番号105～配列番号208及び配列番号356、
- 配列番号387～配列番号399、又は
- 配列番号425、

特に：

配列番号163、配列番号128、配列番号147、配列番号180、配列番号181、配列番号118、配列番号425及び配列番号167

からなる核酸の群から選択され、

前記マイクロRNAが、特に：

- 配列番号282～配列番号354及び配列番号358、
- 配列番号412～配列番号423、又は

10

20

30

40

50

- 配列番号427、
特に：

配列番号319、配列番号297、配列番号305、配列番号331、配列番号291、配列番号322及び配列番号427

からなる核酸の群から選択される、使用。

【請求項 1 4】

ヒト又は動物用薬剤として用いるための、少なくとも：

- 請求項 9～11 のいずれか 1 項に記載のmiPEP、
- 前記miPEPをコードする核酸、又は
- 前記核酸を含むベクター

を含む組成物。

【請求項 1 5】

真核細胞におけるmiPEPの蓄積工程を行うことを含み、
前記miPEPは：

- 3～100アミノ酸、好ましくは4～20アミノ酸のサイズ、及び
- 前記遺伝子の発現を調節するマイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされるものと同一のペプチド配列を有し、
- 前記マイクロRNA蓄積をモジュレートすることができ、

前記真核細胞における前記miPEPの蓄積は、前記miPEPの蓄積がない前記遺伝子の発現と比較して、前記遺伝子の発現のモジュレーションを誘導し、

当該方法は、ヒトの身体又は動物の身体の外科的処置又は治療的処置のためにも、人間の遺伝的同一性の改変のためにも用いられない、真核植物細胞又は真核動物細胞、特にヒト細胞においてマイクロRNAにより調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法。

【請求項 1 6】

植物の成長及び/又は発達を促進するための、

特に植物の生理学的パラメータ、特にバイオマス、葉の表面積、開花、果実のサイズ、植物種子の産生及び/又は選択をモジュレートするための、

特に植物の単為結実若しくは雌雄同体を制御するための、又は

特に植物種子の生理学的パラメータ、特に発芽、根系の根張り及び水分ストレス耐性を改変するための、又は

- 植物病害の予防又は治療のための、

特に感染性疾患への耐性を促進するための

植物用薬剤としての、少なくとも：

- 請求項 9～11 のいずれか 1 項に記載のmiPEP、
- 前記miPEPをコードする核酸、又は
- 前記核酸を含むベクター

を含む組成物の使用。

【請求項 1 7】

植物を根絶するか、又はその成長を遅らせるための除草剤としての、少なくとも：

- 請求項 9～11 のいずれか 1 項に記載のmiPEP、
- 前記miPEPをコードする核酸、又は
- 前記核酸を含むベクター

を含む組成物の使用。

【請求項 1 8】

特に植物又は当該植物に接触している支持体に適用することによって、植物に有害であるか又はそのように分類されがちな生物を根絶するための害虫駆除剤、特に昆虫綱動物駆除剤、クモ綱動物駆除剤、軟体動物門動物駆除剤又はネズミ目動物駆除剤としての、少なくとも：

- 請求項 9～11 のいずれか 1 項に記載のmiPEP、
- 前記miPEPをコードする核酸、又は

- 前記核酸を含むベクター
を含む組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、マイクロペプチド（マイクロRNAによりコードされるペプチド又は「miPEP」）及び遺伝子発現をモジュレートするためのその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

マイクロRNA(miRNA)は、標的mRNAを分解することによって、又はその翻訳を阻害することによって、転写後レベルで標的遺伝子の発現を制御する、成熟後に約21ヌクレオチド長の小さなノンコーディングRNAである。miRNAは、植物及び動物において生じる。

標的遺伝子は、多くの場合、発達過程において重要な遺伝子である。例えば、それらは、転写因子又はプロテアソームタンパク質をコードする。

【0003】

miRNAの発現調節は殆ど理解されていないが、殆どのコーディング遺伝子と同様、調節にはRNAポリメラーゼIIが関与することが特に知られている：この酵素は「pri-miRNA」と呼ばれる一次転写産物を産生し、その後、これは特にDicer型酵素を含むタンパク質複合体によって成熟される。この成熟は、まず、miRNA及びその相補配列のmiRNA*を含むステムループ二次構造を有する「pre-miRNA」と呼ばれるmiRNA前駆体の形成をもたらす。次に、前駆体が成熟してmiRNA及びmiRNA*を含むより短い二本鎖RNAの形成をもたらす。その後、miRNAは、RISC複合体に引き渡され、これが標的遺伝子のmRNAを切断するか、又はその翻訳を阻害する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

更に、マイクロRNAの一次転写産物におけるイントロンの存在が、成熟マイクロRNAの発現を増大させることが示されている（Schwabら, EMBO Rep., 14(7): 615-21, 2013）。しかしながら、実験が困難なために、マイクロRNAの一次転写産物又はpri-miRNAはあまり研究されてこなかった。

【0005】

真核生物の遺伝子の約50%は、コーディング配列上流の5'UTR領域（5'非翻訳領域）内に小さなオープンリーディングフレームを有する。これら小さなオープンリーディングフレーム（又は「uORF」、上流ORFの略）は、当該uORFにコードされるペプチドによって、主にシスに作用して、mRNAに対するリボソームの固定及び速度をモジュレートすることにより、また未知のメカニズムによりトランスにも作用して、翻訳調節因子の役割を果たし得る（Combierrら, Gene Dev, 22: 1549-1559, 2008）。定義によれば、uORFは、コーディング遺伝子上流に存在する。

【0006】

近年、長鎖遺伝子間ノンコーディングRNA（lincRNA）中にも小さなORFが発見されているが、その推定上の機能（もし存在するならば）は、未知である（Ingoliaら, Cell, 147(4): 789-802, 2011; Guttman及びRinn, Nature, 482(7385): 339-46, 2012）。

【0007】

しかしながら、ノンコーディングマイクロRNA中における、ペプチドをコードするORFの存在については、まだ何の報告例もない。今日まで、マイクロRNA及び、ひいてはその一次転写産物は、それらの具体的な作用機序に基づき、ペプチドを産生しないノンコーディング調節性RNAとして常に考えられてきた。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の1つの態様は、マイクロRNAの発現をモジュレートすることができるペプチド

10

20

30

40

50

を提供することである。

本発明の別の態様は、マイクロRNAの1以上の標的遺伝子の発現をモジュレートするための手段を提供することである。

本発明は、マイクロRNAにより標的化される遺伝子の発現を、当該マイクロRNA以外の手段によって、より簡便に、より効果的に制御することを可能にするという利点を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】HAM1及びHAM2遺伝子の発現(A)又はM. トランカツラにおける側根数(B)に対するMtmiR171b(メディカゴ トランカツラで同定されたmiR171b)の過剰発現の効果を示す。

10

【図2】M. トランカツラにおけるMtmiR171bの発現並びにHAM1及びHAM2遺伝子の発現(A)又は側根数(B)に対するMtmiPEP171b1の過剰発現の効果を示す。

【図3】M. トランカツラにおけるMtmiR171bの発現、HAM1及びHAM2遺伝子の発現(A)並びに側根数(B)に対するMtmiPEP171b1の効果を示す。

【図4】M. トランカツラにおけるpre-MtmiR171b(A)及びMtmiR171b(B)の発現に対するMtmiPEP171b1の効果を示す。

【図5】M. トランカツラにおける種々のマイクロRNA前駆体の発現に対するMtmiPEP171b1の過剰発現の効果(A)及びMtmiPEP171b1の効果(B)を示す。

【図6】モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、MtmiR171bの発現に対するMtmiPEP171b1の翻訳の効果を示す。

20

【図7】モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、pre-MtmiR171bの発現に対するMtmiPEP171b1の過剰発現の効果を示す。

【図8】モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、pre-MtmiR171bの発現に対するMtmiPEP171b1の効果を示す。

【図9】モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、pri-miR171b(A)、pre-MtmiR171b(B)及びMtmiR171b(C)の発現に対するMtmiPEP171b1の効果を示す。

【図10】MtmiPEP171b1を発現するために改変されたタバコ葉細胞におけるMtmiPEP171b1の局在を示す。

【図11】モデル植物タバコにおいて示された、AtmiR165aの発現に対する(アラビドプシス タリアナにおいて同定された)AtmiPEP165aの発現の効果(A)及びAtmiR319aに対する(アラビドプシス タリアナにおいて同定された)AtmiPEP319a2の発現の効果(B)を示す。

30

【図12】アラビドプシス タリアナの根の成長に対するAtmiPEP165a処置の効果を示す。

【図13】ドロソフィラにおいて同定されたmiPEP8の配列の保存を示す。

【図14】ドロソフィラ種におけるmiPEP8の質量(kDa)及び等電点(pI)の変化を示す。

【図15】miPEPの機能に対する配列付加の効果を示す。

【図16】メディカゴ トランカツラの根系におけるMtmiPEP171b1の発現を示す。

40

【図17】ドロソフィラ メラノガスター細胞におけるDmmiPEP8の発現を示す。

【図18】D. メラノガスター細胞におけるDmmiR8蓄積に対するDmmiPEP8の影響を示す。

【図19】ホモ サピエンス細胞におけるHsmiR155蓄積に対するHsmiPEP155の効果を示す。

【図20】モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、MtmiR171bの発現に対するMtmiPEP171b1の翻訳の効果を示す。

【図21】モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、MtmiR171bの発現に対するMtmiPEP171b1の過剰発現の効果を示す。

【図22】AtmiR165aの蓄積及びその標的遺伝子(PHAVOLUTA: PHV、PHABOLUSA: PHB及びREVOLUTA: REV)の蓄積に対するAtmiPEP165aの効果を示す。

50

【図 2 3】A. タリアナにおけるAtmiR164aの発現に対するAtmiPEP164aを用いる処置の効果を示す。

【図 2 4】アラビドプシス タリアナの成長に対するAtmiPEP164aを用いる処置の効果を示す。

【図 2 5】A. タリアナにおけるAtmiR165aの発現に対するAtmiPEP165aを用いる処置の効果を示す。

【図 2 6】A. タリアナにおけるAtmiR319aの発現に対するAtmiPEP319a1の過剰発現の効果を示す。

【図 2 7】アラビドプシス タリアナの成長に対するAtmiPEP319aを用いる処置の効果を示す。

【図 2 8】免疫染色を示す。

【図 2 9】A. タリアナにおけるAtmiR160bの発現に対するAtmiPEP160b1の過剰発現の効果を示す。

【図 3 0】AtmiR164aの発現に対するAtmiPEP164a1の効果を示す。

【図 3 1】A. タリアナにおけるAtmiR319aの発現に対するAtmiPEP319a1の過剰発現の効果を示す。

【図 3 2】M. トランカツラにおけるMtmir169dの発現に対するMtmirPEP169dの効果を示す。

【図 3 3】M. トランカツラにおけるMtmir171eの発現に対するMtmirPEP171eの過剰発現の効果を示す。

【図 3 4】野生型M. トランカツラ種植物におけるMtmirPEP171b1の局在を示す。

【図 3 5】野生型A. タリアナ種植物におけるAtmiPEP165aの存在を示す。

【図 3 6】A. タリアナにおけるAtmiPEP165aの作用を示す。

【図 3 7】M. トランカツラにおける側根数に対するpri-mir171bの効果を示す。

【図 3 8】ドロソフィラ メラノガスター細胞におけるDmmirPEP8翻訳の可能性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0010】

よって、本発明は、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる12〜303ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、

- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によってコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAを発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、

・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAを発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチドの非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチドの存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、

マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド (miPEP) を検出及び同定する方法に関する。

【0011】

本発明は、特に、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる15〜303ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、

- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAを発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、

・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAを発現する上記特定の真核細胞

と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチド非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチド存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド (miPEP) を検出及び同定する方法に関する。

【0012】

本発明は、特に、

a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる15~303ヌクレオチド長又は12ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、

b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAを発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、

・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAを発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチド非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチド存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド (miPEP) を検出及び同定する方法に関する。

【0013】

本発明は、特に、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる12ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、

- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAを発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、

・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAを発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチド非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチド存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド (miPEP) を検出及び同定する方法に関する。

【0014】

したがって、第1の工程において、マイクロペプチドの検出及び同定方法は、マイクロRNAの一次転写産物中の、ペプチドをコードする可能性のあるオープンリーディングフレームの存在を検出することからなる。

第2の工程に関しては、マイクロRNA蓄積に対する上記ペプチドの効果を探ることによって、上記ペプチドを特徴決定すること、すなわち上記ペプチドが細胞内で実際に産生されたペプチドに相当するか否かを決定することを可能にする。

【0015】

マイクロRNA蓄積に対するペプチドの効果を示すために、マイクロRNAを発現する第1の細胞に大量のペプチドを導入する。次いで、この第1の細胞におけるマイクロRNA蓄積を測定し、第1の細胞と同一であるが上記ペプチドを含まない第2の細胞におけるマイクロRNA蓄積と比較する。

【0016】

よって、ペプチド存在下の細胞とペプチド非存在下の細胞とのマイクロRNA量の変化を

観察することにより、(i) 当該マイクロRNAの一次転写産物によりコードされるペプチドが存在すること、(ii) 当該ペプチドの配列が、当該マイクロRNAの一次転写産物で同定されるオープンリーディングフレームによりコードされること、及び(iii) 当該ペプチドが、当該マイクロRNA蓄積に対して効果を有すること、が示される。

【0017】

したがって、本発明は、一方ではマイクロRNAの一次転写産物上に、マイクロペプチドをコードできるオープンリーディングフレームが存在することを観察し、他方では上記マイクロペプチドが上記マイクロRNA蓄積をモジュレートできることを観察したという本発明者らによる予測されなかった2つの観察結果に基づいている。

【0018】

特に、本発明は、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる15～303ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、
- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、
 - ・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチド非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチド存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド(miPEP)を検出及び同定する方法に関する。

【0019】

特に、本発明は、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる15～303ヌクレオチド長又は12ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、
- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、
 - ・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞におけるマイクロRNA蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチド非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチド存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド(miPEP)を検出及び同定する方法に関する。

【0020】

特に、本発明は、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる12ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、
- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、
 - ・上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する上記

特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチド非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチド存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、上記オープンリーディングフレームによりコードされるマイクロペプチドの存在を示す、マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれるヌクレオチド配列によりコードされるマイクロペプチド(miPEP)を検出及び同定する方法に関する。

【0021】

本発明において、用語「マイクロRNA」、「ノンコーディングマイクロRNA」及び「miRNA」は、同義であり、互換可能に用いられ得る。それらは、翻訳されず、ペプチド又はタンパク質をもたらさない約21ヌクレオチドのRNAの小分子と定義される。 10

しかしながら、この成熟型において、マイクロRNAは、例えばRISC複合体によって、転写後機構により特定の遺伝子を調節する機能を果たす。

【0022】

マイクロRNAの一次転写産物又は「pri-miRNA」は、DNA分子の転写から直接得られるRNA分子に相当する。一般に、この一次転写産物は、例えばRNAの特定の構造又はスプライシング現象によるRNAの特定部分の切断に関連付けられる1以上の転写後修飾を受け、マイクロRNAの前駆体又は「pre-miRNA」をもたらす、次いでマイクロRNAの成熟型又は「miRNA」をもたらす。 20

【0023】

用語「マイクロペプチド」及び「miPEP」(マイクロRNAによりコードされるペプチド)は、同義であり、互換可能に用いられ得る。それらは、マイクロRNAの一次転写産物上に存在するオープンリーディングフレームによってコードされ、当該マイクロRNAの蓄積をモジュレートできるペプチドと定義される。

本発明で意味するところのマイクロペプチドは、「マイクロ」がペプチドのサイズに対応するものでないことから、必ずしも、小さなペプチドであると解されるべきではない。

【0024】

本発明によれば、miPEPは、転写モジュレータ、特に転写活性因子と考えることもできる。このような転写モジュレータは、転写レベルで作用して、pri-miRNA、pre-miRNA及びmiRNAの蓄積をモジュレートすることができる。 30

【0025】

遺伝子コードの縮重を考慮すれば、同一のマイクロペプチドは、複数のヌクレオチド配列によってコードされ得る。この種のヌクレオチド配列は、少なくとも1つのヌクレオチドで互いに異なるが同一のペプチドをコードし、「縮重配列」と呼ばれる。

【0026】

用語「オープンリーディングフレーム」又は「ORF」は、同義であり、互換可能に用いられ得る。それらは、ペプチド又はタンパク質をコードする可能性のあるDNA又はRNA分子中のヌクレオチド配列に相当する：オープンリーディングフレームは、開始コドン(一般にメチオニンをコードする開始コドン)から始まり、一連のコドン(アミノ酸をコードする各々のコドン)が続き、終止コドン(翻訳されない終止コドン)で終わる。 40

本発明においては、ORFは、それがマイクロRNAの一次転写産物上に存在するとき、特に「miORF」と呼ばれ得る。

【0027】

特定の発明において定義されるmiORFは、12~303ヌクレオチドのサイズを有し得、3~100アミノ酸のペプチドをコードし得る。

特に、本発明で定義するmiORFは、15~303ヌクレオチドのサイズを有し得る。アミノ酸は3ヌクレオチドのコドンによりコードされるので、15~303ヌクレオチドのmiORFは、4~100アミノ酸のmiPEPをコードする。

特に、miORFは、15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 47, 51, 54, 57, 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87, 90, 93, 96, 99, 102, 105, 108, 111, 114, 11 50

7, 120, 123, 126, 129, 132, 135, 138, 141, 144, 147, 150, 153, 156, 159, 162, 165, 168, 171, 174, 177, 180, 183, 186, 189, 192, 195, 198, 201, 204, 207, 210, 213, 216, 219, 222, 225, 228, 231, 234, 237, 240, 243, 246, 249, 252, 255, 258, 261, 264, 267, 270, 273, 276, 279, 282, 285, 288, 291, 294, 297, 300又は303ヌクレオチドのサイズを有し、4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99又は100アミノ酸のサイズを有するmiPEPをそれぞれコードする。

10

【0028】

本発明において、「蓄積」とは、細胞内における分子、例えばマイクロRNA又はマイクロペプチドの産生量を意味する。

よって、細胞内の分子蓄積の「モジュレーション」は、細胞内に存在する当該分子の量の変化に相当する。

更に、miPEPの効果は、miRNA蓄積のモジュレーションだけでなく、対応するpri-miRNA又はpre-miRNA蓄積のモジュレーションによっても観察することができる。

【0029】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNA蓄積のモジュレーションが当該マイクロRNA蓄積の増大又は減少、特に増大である、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

20

「蓄積の減少」は、細胞内における分子の量の減少に相当する。

反対に、「蓄積の増大」は、細胞内における分子の量の増大に相当する。

有利な実施形態では、本発明は、マイクロRNA蓄積のモジュレーションが当該マイクロRNA蓄積の増大である、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

【0030】

1つの実施形態では、本発明は、細胞内におけるペプチドの存在が、

- 当該ペプチドをコードする核酸の当該細胞内への導入、又は
- 当該ペプチドの当該細胞内への導入

に起因する、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

30

【0031】

miPEPを特徴決定するためには、当該細胞内に試験対象のペプチドが存在する、マイクロRNAを発現する細胞のモデルを得る必要がある。そのために、細胞とペプチドとを接触させることによって、又はペプチドをコードする核酸を細胞内に導入し、その後当該細胞内で核酸がペプチドに翻訳されることによって、ペプチドを細胞内に導入することができる。

【0032】

1つの実施形態では、工程a)におけるオープンリーディングフレームが、マイクロRNAの一次転写産物の5'部分又は3'部分、好ましくは5'部分に含まれる、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

40

マイクロRNAの一次転写産物の5'部分又は3'部分は、マイクロRNAの成熟中に切断されるRNA分子の末端部分に相当する。

【0033】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、野生型植物細胞中に存在する、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

本発明において、野生型植物細胞は、ヒトにより遺伝子操作されていない植物細胞に相当する。

【0034】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、野生型動物細胞、特に野生型ヒト細胞又は野生型ドロソフィラ属(Drosophila)動物細胞中に存在する、上記で定義したmiPEP

50

の検出及び同定方法に関する。

本発明において、野生型動物細胞は、ヒトにより遺伝子操作されていない動物細胞、特にヒト細胞に相当する。

【0035】

1つの実施形態では、本発明は、工程bにおいて用いられる特定の真核細胞及び当該特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞が、アラビドプシス タリアナ (*Arabidopsis thaliana*) などのアブラナ科植物、グリシン マクス (*Glycine max*、ダイズ)、メディカゴ トランカツラ (*Medicago truncatula*) 及びメディカゴ サティバ (*Medicago sativa*) (アルファルファ) などのマメ科植物、又はニコチアナ ベンサミアナ (*Nicotiana benthamiana*、タバコ)、ソラナム ツベロサム (*Solanum tuberosum*、ジャガイモ)、ソラナム リコパーシカム (*Solanum lycopersicum*、トマト) 若しくはソラナム メロンゲナ (*Solanum melongena*、ナス) などのナス科植物の植物細胞である、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

10

【0036】

1つの実施形態では、本発明は、工程bにおいて用いられる特定の真核細胞及び当該特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞が、植物細胞、好ましくはメディカゴ トランカツラ細胞、ニコチアナ ベンサミアナ細胞又はアラビドプシス タリアナ細胞である、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、工程bにおいて用いられる特定の真核細胞及び当該特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞が、動物細胞、好ましくはヒト細胞又はドロソフィラ属動物細胞である、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

20

【0037】

上記で定義したマイクロペプチドの検出及び同定方法では、マイクロRNAに対するペプチドの潜在的効果を示すことができるように、マイクロRNAの一次転写産物上の、ペプチドをコードできるORFを同定した後に、上記マイクロRNA及び上記ペプチドを有する細胞モデルを得る必要がある。

【0038】

したがって、2つの選択肢が考えられる：

- miORFが同定された細胞モデルと、miRNAに対するペプチドの効果が示された細胞モデルとが同一であるか、又は
- miORFが同定された細胞モデルと、miRNAに対するペプチドの効果が示された細胞モデルとが異なる。

30

【0039】

第1の選択肢では、ペプチドの効果を観察するために用いられる細胞モデルは、マイクロRNAの一次転写産物が単離された細胞モデルと同一である。この細胞モデルでは、特定の真核細胞は、マイクロRNAを天然に含んでおり、これら細胞内には、試験対象のペプチドのみ導入する必要がある。この文脈において、マイクロRNAは、それが細胞内に天然に存在するために、「内因性のもの」と称される。しかし、内因性マイクロRNAのその他のコピーを、例えば内因性マイクロRNAをコードするベクターを細胞内に導入することによって、細胞に添加してもよい。

40

【0040】

第2の選択肢では、ペプチドの効果を観察するために用いられる細胞モデルは、マイクロRNAの一次転写産物が単離された細胞モデルとは異なる。この細胞モデルでは、特定の真核細胞は、マイクロRNAも試験対象のペプチドも含まない。したがって、これら2つの要素をこれら細胞内に導入する必要がある。この文脈において、マイクロRNAは、それが細胞内に天然に存在しないために、「外因性のもの」と称される。

【0041】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、工程b) において用いられる真核細胞において、及び工程b) において用いられる特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞において、内因性のものである、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

50

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、工程b)において用いられる、上記マイクロRNAの発現を可能にするベクターを含む真核細胞において、及び工程b)において用いられる、特定の真核細胞と同じタイプの、上記マイクロRNAの発現を可能にするベクターを含む真核細胞において、外因性のものである、上記miPEPの検出及び同定方法に関する。

【0042】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAの蓄積が、定量RT-PCR又はノザンブロットを用いて測定される、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAの蓄積が、DNAチップ又はRNAチップを用いて測定される、上記で定義したmiPEPの検出及び同定方法に関する。

マイクロRNAの蓄積は、特定の核酸分子のアッセイのための分子生物学的手法を用いて測定してもよい。

【0043】

また、別の態様では、本発明は、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる15〜303ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、
- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAを発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、

・ 上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAを発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチドの非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチドの存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、その一次転写産物がマイクロペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むマイクロRNAの存在を示す、その一次転写産物の配列がmiPEPをコードするヌクレオチド配列を含むマイクロRNAを検出及び同定する方法に関する。

【0044】

特に、本発明は、

- a) マイクロRNAの一次転写産物の配列中に含まれる15〜303ヌクレオチド長のオープンリーディングフレームを検出する工程と、
- b) ・上記オープンリーディングフレームのものと同一のヌクレオチド配列又はその縮重配列によりコードされ、上記マイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して当該細胞中に存在するペプチドの存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する特定の真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、

・ 上記ペプチドの非存在下における、上記マイクロRNAの一次転写産物を発現する上記特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞における上記マイクロRNAの蓄積と、を比較する工程とを含み、

上記ペプチドの非存在下における上記マイクロRNAの蓄積からの、上記ペプチドの存在下における上記マイクロRNAの蓄積のモジュレーションが、その一次転写産物がマイクロペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むマイクロRNAの存在を示す、その一次転写産物の配列がmiPEPをコードするヌクレオチド配列を含むマイクロRNAを検出及び同定する方法に関する。

【0045】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNA蓄積のモジュレーションが、マイクロRNA蓄積の増大又は減少、特に増大である、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、細胞内におけるペプチドの存在が、

- 当該ペプチドをコードする核酸の当該細胞内への導入、又は
- 当該ペプチドの当該細胞内への導入

に起因する、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

【0046】

1つの実施形態では、本発明は、工程a)におけるオープンリーディングフレームが、マイクロRNAの一次転写産物の5'部分又は3'部分、好ましくは5'部分に含まれる、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、野生型植物細胞中に存在する、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、野生型動物細胞、特に野生型ヒト細胞中に存在する、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

【0047】

1つの実施形態では、本発明は、工程b)において用いられる真核細胞及び特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞が、植物細胞、好ましくはメディカゴ トランカツラ細胞である、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、工程b)において用いられる真核細胞及び特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞が、動物細胞、好ましくはドロソフィラ属動物細胞である、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

【0048】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、工程b)において用いられる真核細胞において、及び工程b)において用いられる、特定の真核細胞と同じタイプの真核細胞において、内因性のものである、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、工程b)において用いられる、マイクロRNAの発現を可能にするベクターを含む真核細胞において、及び工程b)において用いられる、特定の真核細胞と同じタイプの、マイクロRNAの発現を可能にするベクターを含む真核細胞において、外因性のものである、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

【0049】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAの蓄積が、定量RT-PCR又はノザンブロットを用いて測定される、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAの蓄積が、DNAチップ又はRNAチップを用いて測定される、上記で定義したマイクロRNAの検出及び同定方法に関する。

【0050】

別の態様では、本発明は、上記で定義した方法を実施することによって得られるmiPEPに関する。

より具体的には、本発明は、上記で定義した方法を実施することによって得られるヌクレオチド配列によってコードされるmiPEPに関する。言い換えれば、本発明は、上記で定義した方法を実施することによって検出及び同定されるヌクレオチド配列によってコードされるmiPEPに関する。

【0051】

また、本発明の別の態様は、マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされ、真核細胞におけるマイクロRNA蓄積をモジュレートできる、3~100アミノ酸、特に4~100アミノ酸、特に4~60アミノ酸、好ましくは4~40アミノ酸のmiPEPに関する。

また、本発明の別の態様は、マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされ、真核細胞におけるマイクロRNA蓄積をモジュレートできる、4~100アミノ酸又は3アミノ酸のmiPEPに関する。

また、本発明の別の態様は、マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされ、真核細胞におけるマイクロRNA蓄積をモジュレートできる、3アミノ酸のmiPEPに関する。

【0052】

特に、本発明において定義されるmiPEPは、15～303ヌクレオチドのmiORFによってコードされ、4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99又は100アミノ酸、特に5, 8, 10, 18, 19, 23, 37, 50又は59アミノ酸のサイズを有する。

特に、本発明のmiPEPは、4～10アミノ酸、4～20アミノ酸、4～30アミノ酸、4～40アミノ酸、4～50アミノ酸、4～60アミノ酸、4～70アミノ酸、4～80アミノ酸、4～90アミノ酸又は4～100アミノ酸の範囲のサイズを有する。

10

【0053】

更に、マイクロRNAの一次転写産物について複数のmiORFが同定され得、このことはマイクロRNAの一次転写産物が複数のmiPEPをコードする可能性があることを示していることに留意すべきである。

また、miPEPの効果は、一般的に、1つのマイクロRNA、すなわち当該miPEPをコードする一次転写産物に由来するマイクロRNAに特異的であることに留意すべきである。

【0054】

miPEPによるマイクロRNAのモジュレーションは、miPEPの存在下及び非存在下における細胞間のマイクロRNA量の変化を観察することで証明され得る。

【0055】

20

1つの実施形態では、本発明は、ヌクレオチド配列がマイクロRNAの一次転写産物の5'部分又は3'部分、好ましくは5'部分に含まれる、上記で定義したmiPEPに関する。

1つの実施形態では、本発明は、ヌクレオチド配列がマイクロRNAの一次転写産物上に存在する第1のオープンリーディングフレームに相当する、上記で定義したmiPEPに関する。

1つの実施形態では、本発明は、塩基性の、好ましくは8より高い等電点を有する、上記で定義したmiPEPに関する。

1つの実施形態では、本発明は、酸性の等電点を有する、上記で定義したmiPEPに関する。

【0056】

30

1つの実施形態では、本発明は、配列番号1～配列番号104、配列番号375～配列番号386及び配列番号355からなるペプチドの群から選択される、上記で定義したmiPEPに関する（表1）。

1つの実施形態では、本発明は、

- 配列番号1～配列番号104及び配列番号355、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなるペプチドの群から選択される、上記で定義したmiPEPに関する。

1つの実施形態では、本発明は、アミノ酸配列MVTからなる、上記で定義したmiPEPに関する。

40

【0057】

別の態様では、本発明は、上記で定義したmiPEPをコードする核酸分子に関する。

1つの実施形態では、本発明は、配列番号105～配列番号208、配列番号387～配列番号399及び配列番号356からなる核酸の群から選択される、上記で定義した核酸分子に関する（表2）。

1つの実施形態では、本発明は、

- 配列番号105～配列番号208及び配列番号356、
- 配列番号387～配列番号399、又は
- 配列番号425

からなる核酸の群から選択される、上記で定義した核酸分子に関する。

50

【0058】

特定の実施形態では、本発明は、miR171b（配列番号319）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号163）によってコードされ、真核細胞において上記miR171bの蓄積をモジュレートできる、MtmiPEP171b1（配列番号59）に関する。

特定の実施形態では、本発明は、miR164a（配列番号297）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号128）によってコードされ、真核細胞において上記miR164aの蓄積をモジュレートできる、AtmiPEP164a1（配列番号24）に関する。

【0059】

特定の実施形態では、本発明は、miR165a（配列番号305）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号147）によってコードされ、真核細胞において上記miR165aの蓄積をモジュレートできる、AtmiPEP165a（配列番号43）に関する。

特定の実施形態では、本発明は、miR319a（配列番号331）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号180）によってコードされ、真核細胞において上記miR319aの蓄積をモジュレートできる、AtmiPEP319a1（配列番号76）に関する。

【0060】

特定の実施形態では、本発明は、miR319a（配列番号331）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号181）によってコードされ、真核細胞において上記miR319aの蓄積をモジュレートできる、AtmiPEP319a2（配列番号77）に関する。

特定の実施形態では、本発明は、miR160b（配列番号291）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号118）によってコードされ、真核細胞において上記miR160bの蓄積をモジュレートできる、AtmiPEP160b1（配列番号14）に関する。

【0061】

特定の実施形態では、本発明は、miR169d（配列番号427）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号425）によってコードされ、真核細胞において上記miR169dの蓄積をモジュレートできる、MtmiPEP169d（配列番号424）に関する。

特定の実施形態では、本発明は、miR171e（配列番号322）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号167）によってコードされ、真核細胞において上記miR171eの蓄積をモジュレートできるMtmiPEP171e（配列番号63）に関する。

【0062】

特定の実施形態では、本発明は、miR1（配列番号353）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号206）によってコードされ、真核細胞において上記miR1の蓄積をモジュレートできる、DmmiPEP1a（配列番号102）に関する。

特定の実施形態では、本発明は、miR1（配列番号353）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号207）によってコードされ、真核細胞において上記miR1の蓄積をモジュレートできる、DmmiPEP1b（配列番号103）に関する。

【0063】

特定の実施形態では、本発明は、miR8（配列番号354）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号208）によってコードされ、真核細胞において上記miR8の蓄積をモジュレートできる、DmmiPEP8（配列番号104）に関する。

特定の実施形態では、本発明は、miR155（配列番号358）の一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列（配列番号356）によってコードされ、真核細胞において上記miR155の蓄積をモジュレートできる、HsmiPEP155（配列番号355）に関する。

【0064】

別の態様では、本発明は、特に植物又はヒトなどの動物に天然に存在するmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなる、単離されたペプチド、又は単離精製されたペプチド、又は合成ペプチド、又は組換えペプチドに関する。

別の態様では、本発明は、上記で定義した少なくとも1つの核酸分子を含むベクターに関する。

【0065】

また、別の態様では、本発明は、その一次転写産物が少なくとも1つのmiPEPをコードす

10

20

30

40

50

る少なくとも1つのヌクレオチド配列を含み、その蓄積が上記少なくとも1つのmiPEPによってモジュレートされるマイクロRNAを発現することができる特定の真核細胞において、当該マイクロRNAによりその発現が調節される少なくとも1つの遺伝子の発現をモジュレートするための、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

の使用に関する。

【0066】

また、別の態様では、本発明は、その一次転写産物が少なくとも1つのmiPEPをコードする少なくとも1つのヌクレオチド配列を含み、その蓄積が上記少なくとも1つのmiPEPによってモジュレートされるマイクロRNAを発現することができる特定の真核細胞において、当該マイクロRNAによりその発現が調節される少なくとも1つの遺伝子の発現をモジュレートするための、少なくとも、

- マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされ、真核細胞において当該マイクロRNAの蓄積をモジュレートできる、4~100アミノ酸、好ましくは4~40アミノ酸のmiPEP、

- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

の使用に関する。

【0067】

また、別の態様では、本発明は、その一次転写産物が少なくとも1つのmiPEPをコードする少なくとも1つのヌクレオチド配列を含み、その蓄積が上記少なくとも1つのmiPEPによってモジュレートされるマイクロRNAを発現することができる特定の真核細胞において、当該マイクロRNAによりその発現が調節される少なくとも1つの遺伝子の発現をモジュレートするための、少なくとも、

- マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされ、真核細胞において当該マイクロRNAの蓄積をモジュレートできる、4~100アミノ酸又は3アミノ酸のmiPEP、

- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

の使用に関する。

【0068】

また、別の態様では、本発明は、その一次転写産物が少なくとも1つのmiPEPをコードする少なくとも1つのヌクレオチド配列を含み、その蓄積が上記少なくとも1つのmiPEPによってモジュレートされるマイクロRNAを発現することができる特定の真核細胞において、当該マイクロRNAによりその発現が調節される少なくとも1つの遺伝子の発現をモジュレートするための、少なくとも、

- マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされ、真核細胞において当該マイクロRNAの蓄積をモジュレートできる、3アミノ酸のmiPEP、

- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

の使用に関する。

【0069】

本発明は、miPEPを用いて当該マイクロRNA蓄積をモジュレートすることによって、同一のマイクロRNAの1以上の標的遺伝子の発現をモジュレートすることができるという本発明者らによる驚くべき観察結果に基づく。

【0070】

1つの実施形態では、本発明は、特定の真核細胞が植物細胞である、上記で定義した使用に関する。

10

20

30

40

50

1つの実施形態では、本発明は、特定の真核細胞が、アラビドプシス タリアナなどのアブラナ科植物、グリシン マクス（ダイズ）、メディカゴ トランカツラ及びメディカゴ サティバ（アルファルファ）などのマメ科植物、ニコチアナ ベンサミアナ（タバコ）、ソラナム ツペロサム（ジャガイモ）、ソラナム リコパーシカム（トマト）又はソラナム メロンゲナ（ナス）などのナス科植物の植物細胞である、上記で定義した使用に関する。

【0071】

1つの実施形態では、本発明は、特定の真核細胞が、動物細胞、特にヒト細胞である、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、特定の真核細胞が、動物細胞、特にヒト細胞であり、miPEPが、ヒトの身体又は動物の身体の外科的処置又は治療的処置のためにも、人間の遺伝的同一性の改変のためにも用いられない、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、特定の真核細胞が動物細胞であり、miPEPがヒトの身体又は動物の身体の外科的処置又は治療的処置に用いられる、上記で定義した使用に関する。

【0072】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNA及び遺伝子が、特定の真核細胞において内因性のものである、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNA及び遺伝子が、特定の真核細胞において外因性のものであり、当該特定の真核細胞が当該マイクロRNA及び遺伝子の発現を可能にする少なくとも1つのベクターを含む、上記で定義した使用に関する。

【0073】

本発明では、「内因性」及び「外因性」との表現は、種間の配列保存性に鑑みて、異なる種のマイクロRNA及び/又は遺伝子を区別するために用いられる。

よって、用語「内因性」とは、マイクロRNA及び/又は遺伝子が、懸案の細胞において天然に存在し得ることを示す。しかしながら、内因性マイクロRNA及び/又は内因性遺伝子のその他のコピーを、例えばクローニングによって、当該懸案の細胞に人工的に添加してもよい。

反対に、用語「外因性」とは、マイクロRNA及び/又は遺伝子が、懸案の細胞において天然に存在し得ないことを示す。それは、別のタイプの細胞又は別の種の生体において同定されるマイクロRNA及び/又は遺伝子である；したがって、このマイクロRNA及び/又は遺伝子は、必ず当該懸案の細胞に人工的に導入される。

したがって、本発明において、遺伝的に形質転換された細胞は、配列が類似している可能性のあるマイクロRNA及び/又は遺伝子の2つの群（一方は内因性のもので、他方は外因性のもの）を含み得る。

【0074】

1つの実施形態では、本発明は、miRNAの一次転写産物及び遺伝子が、マイクロRNAの一次転写産物の発現を可能にする少なくとも1つのベクターを含む特定の真核細胞において外因性のものである、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miRNAの一次転写産物が、人工的に細胞内に導入されるベクターによってコードされる、上記で定義した使用に関する。

【0075】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、配列番号1～配列番号104、配列番号375～配列番号386及び配列番号355からなるペプチドの群から選択される、上記で定義した使用に関する（表1）。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、

- 配列番号1～配列番号104及び配列番号355、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなるペプチドの群から選択される、上記で定義した使用に関する。

10

20

30

40

50

【0076】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、MtmPEP171b1（配列番号59）、AtmiPEP164a1（配列番号24）、AtmiPEP165a（配列番号43）、AtmiPEP319a1（配列番号76）及びAtmiPEP319a2（配列番号77）から選択される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、MtmPEP171b1（配列番号59）、AtmiPEP164a1（配列番号24）、AtmiPEP165a（配列番号43）、AtmiPEP319a1（配列番号76）、AtmiPEP319a2（配列番号77）、AtmiPEP160b1（配列番号14）、MtmPEP171e（配列番号63）及びMtmPEP169d（配列番号424）から選択される、上記で定義した使用に関する。1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、DmmiPEP1a（配列番号102）、DmmiPEP1b（配列番号103）及びDmmiPEP8（配列番号104）から選択される、上記で定義した使用に関する。

10

【0077】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、HsmiPEP155a（配列番号355）である、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、核酸が、配列番号105～配列番号208及び配列番号356からなる核酸の群から選択される、上記で定義した使用に関する（表2）。

1つの実施形態では、本発明は、核酸が、

- 配列番号105～配列番号208及び配列番号356、
- 配列番号387～配列番号399、又は
- 配列番号425

からなる核酸の群から選択される、上記で定義した使用に関する。

20

【0078】

1つの実施形態では、本発明は、核酸が、miORF171b（配列番号163）、miORF164a1（配列番号128）、miORF165a（配列番号147）、miORF319a1（配列番号180）及びmiORF319a2（配列番号181）から選択される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、核酸が、miORF171b（配列番号163）、miORF164a1（配列番号128）、miORF165a（配列番号147）、miORF319a1（配列番号180）、miORF319a2（配列番号181）、miORF160b1（配列番号118）、miORF169d（配列番号425）及びmiORF171e（配列番号167）から選択される、上記で定義した使用に関する。

【0079】

1つの実施形態では、本発明は、核酸が、miORF1a（配列番号206）、miORF1b（配列番号207）及びmiORF8（配列番号208）から選択される、上記で定義した使用に関する。

30

1つの実施形態では、本発明は、核酸が、miORF155（配列番号356）から選択される、上記で定義した使用に関する。

【0080】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、配列番号282～配列番号354及び配列番号358からなる核酸の群から選択される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、

- 配列番号282～配列番号354及び配列番号358、
- 配列番号412～配列番号423、又は
- 配列番号427

からなる核酸の群から選択される、上記で定義した使用に関する。

40

【0081】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、miR171b（配列番号319）、miR165a（配列番号305）及びmiR319a（配列番号331）から選択される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、miR171b（配列番号319）、miR164a（配列番号297）、miR165a（配列番号305）、miR319a（配列番号331）、miR160b（配列番号291）、miR171e（配列番号322）及びmiR169d（配列番号427）から選択される、上記で定義した使用に関する。

【0082】

50

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、miR1a（配列番号353）及びmiR8（配列番号354）から選択される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが、miR155（配列番号358）から選択される、上記で定義した使用に関する。

【0083】

別の態様では、本発明は、特に、

- 3～100アミノ酸、好ましくは4～20アミノ酸のサイズを有し、
 - 当該遺伝子の発現を調節するマイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされるものと同じのペプチド配列を有し、
 - 上記マイクロRNAの蓄積をモジュレートすることができる
- miPEPの、真核細胞内における蓄積工程を行うことを含み、

上記真核細胞内における上記miPEPの蓄積が、上記miPEPの蓄積がない上記遺伝子の発現に対して、上記遺伝子の発現のモジュレーションを誘導する、真核細胞におけるマイクロRNAによって調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0084】

別の態様では、本発明は、特に、

- 4～100アミノ酸又は3アミノ酸のサイズを有し、
 - 当該遺伝子の発現を調節するマイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされるものと同じのペプチド配列を有し、
 - 上記マイクロRNAの蓄積をモジュレートすることができる
- miPEPの、真核細胞内における蓄積工程を行うことを含み、

上記真核細胞内における上記miPEPの蓄積が、上記miPEPの蓄積がない上記遺伝子の発現に対して、上記遺伝子の発現のモジュレーションを誘導する、真核細胞におけるマイクロRNAによって調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0085】

別の態様では、本発明は、特に、

- 3アミノ酸のサイズを有し、
 - 当該遺伝子の発現を調節するマイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされるものと同じのペプチド配列を有し、
 - 上記マイクロRNAの蓄積をモジュレートすることができる
- miPEPの、真核細胞内における蓄積工程を行うことを含み、

上記真核細胞内における上記miPEPの蓄積が、上記miPEPの蓄積がない上記遺伝子の発現に対して、上記遺伝子の発現のモジュレーションを誘導する、真核細胞におけるマイクロRNAによって調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0086】

特に、本発明は、

- 4～100アミノ酸、好ましくは4～20アミノ酸のサイズを有し、
 - 当該遺伝子の発現を調節するマイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされるものと同じのペプチド配列を有し、
 - 上記マイクロRNAの蓄積をモジュレートすることができる
- miPEPの、真核細胞内における蓄積工程を行うことを含み、

上記真核細胞内における上記miPEPの蓄積が、上記miPEPの蓄積がない上記遺伝子の発現に対して、上記遺伝子の発現のモジュレーションを誘導する、真核細胞におけるマイクロRNAによって調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0087】

1つの実施形態では、本発明は、細胞内におけるmiPEPの蓄積が、

- 当該miPEPをコードする核酸の当該細胞内への導入、又は
- 当該miPEPの当該細胞内への導入

に起因する、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0088】

1つの実施形態では、本発明は、真核細胞が、植物細胞である、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、真核細胞が、動物細胞、特にヒト細胞である、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0089】

1つの実施形態では、本発明は、真核細胞が、動物細胞、特にヒト細胞であり、ヒトの身体又は動物の身体の外科的処置又は治療的処置のためにも、人間の遺伝的同一性の改変のためにも用いられない、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNA及び遺伝子が、真核細胞において内因性のものである、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNA及び遺伝子が、当該マイクロRNA及び遺伝子の発現を可能にする少なくとも1つのベクターを含む真核細胞において外因性のものである、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0090】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、配列番号1～配列番号104、配列番号375～配列番号386及び配列番号355からなるペプチドの群から選択される、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、

- 配列番号1～配列番号104及び配列番号355、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなるペプチドの群から選択される、上記で定義した遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0091】

特定の実施形態では、本発明は、

真核細胞におけるMtmPEP171b1 (配列番号59)の蓄積工程を行うことを含み、

真核細胞におけるMtmPEP171b1の蓄積は、MtmPEP171b1の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、

真核細胞におけるmiR171b (配列番号319)により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0092】

特定の実施形態では、本発明は、

真核細胞におけるMtmPEP171b1 (配列番号59)の蓄積工程を行うことを含み、

真核細胞におけるMtmPEP171b1の蓄積は、MtmPEP171b1の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導し、

上記遺伝子が、HAM1 (アクセッション番号MtGI9- TC114268) 及びHAM2 (アクセッション番号MtGI9- TC120850) (メディカゴ トランカツラ遺伝子発現アトラス(Medicago truncatula Gene Expression Atlas)「MtGEA」データベースでのアクセッション番号) から選択される、

真核細胞におけるmiR171b (配列番号319)により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0093】

特定の実施形態では、本発明は、

真核細胞におけるAtmiPEP165a1 (配列番号24)の蓄積工程を行うことを含み、

真核細胞におけるAtmiPEP164a1の蓄積は、AtmiPEP164a1の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、

真核細胞におけるmiR164a (配列番号297)により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0094】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるAtmiPEP165a（配列番号43）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるAtmiPEP165aの蓄積は、AtmiPEP165aの蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR165a（配列番号305）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0095】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるAtmiPEP319a1（配列番号76）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるAtmiPEP319a1の蓄積は、AtmiPEP319a1の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR319a（配列番号331）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0096】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるAtmiPEP319a2（配列番号77）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるAtmiPEP319a2の蓄積は、AtmiPEP319a2の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR319a（配列番号331）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0097】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるAtmiPEP160b1（配列番号14）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるAtmiPEP160b1の蓄積は、AtmiPEP160b1の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR160b（配列番号291）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0098】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるMtmPEP169d（配列番号424）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるMtmPEP169dの蓄積は、MtmPEP169dの蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR169d（配列番号427）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0099】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるMtmPEP171e（配列番号63）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるMtmPEP171eの蓄積は、MtmPEP171eの蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR171e（配列番号322）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0100】

特定の実施形態では、本発明は、
真核細胞におけるDmmiPEP1a（配列番号102）の蓄積工程を行うことを含み、
真核細胞におけるDmmiPEP1aの蓄積は、DmmiPEP1aの蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、
真核細胞におけるmiR1（配列番号353）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0101】

特定の実施形態では、本発明は、

真核細胞におけるDmmiPEP1b（配列番号103）の蓄積工程を行うことを含み、

真核細胞におけるDmmiPEP1bの蓄積は、DmmiPEP1bの蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、

真核細胞におけるmiR1（配列番号353）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0102】

特定の実施形態では、本発明は、

真核細胞におけるDmmiPEP8（配列番号104）の蓄積工程を行うことを含み、

真核細胞におけるDmmiPEP8の蓄積は、DmmiPEP8の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、

真核細胞におけるmiR8（配列番号354）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0103】

特定の実施形態では、本発明は、

真核細胞におけるhsmiPEP155（配列番号355）の蓄積工程を行うことを含み、

真核細胞におけるhsmiPEP155の蓄積は、hsmiPEP155の蓄積がない遺伝子の発現に対して、遺伝子発現のモジュレーションを誘導する、

真核細胞におけるmiR155（配列番号358）により調節される遺伝子の発現をモジュレートする方法に関する。

【0104】

別の態様では、本発明は、ペプチドが、miPEPをコードするヌクレオチド配列を有するマイクロRNAの一次転写産物の転写とは独立して真核細胞内に存在する、上記で定義したmiPEPと同一のペプチドを含む改変真核細胞に関する。

【0105】

本発明において、用語「改変真核細胞」とは、真核細胞が、ペプチドとして、又はmiPEPをコードするベクターとして、の如何を問わず、細胞内に人工的に導入されたmiPEPを含むことを意味する。

細胞内に人工的に導入されたmiPEPに加えて、本発明の改変真核細胞は、miPEPをコードするmiORFに対応する少なくとも1つの核酸も含む。

細胞内に人工的に導入されたmiPEP及びmiORFに加えて、本発明の改変真核細胞は、その一次転写産物がmiORFを含む少なくとも1つのmiRNAも含む。

【0106】

1つの実施形態では、本発明は、マイクロRNAが内因性のものである、上記で定義した改変真核細胞に関する。

別の実施形態では、本発明は、マイクロRNAが外因性のものであり、改変真核細胞がマイクロRNAの発現を可能にするベクターを含む、上記で定義した改変真核細胞に関する。

【0107】

1つの実施形態では、本発明は、植物細胞である上記で定義した改変真核細胞に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物細胞が、メディカゴ トランカツラ又はアラビド プシス タリアナの細胞であり、ペプチドが、

- 配列番号1～配列番号101、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなるペプチドの群から選択される、上記で定義した改変真核細胞に関する。

【0108】

1つの実施形態では、本発明は、植物細胞が、メディカゴ トランカツラ又はアラビド プシス タリアナの細胞であり、ペプチドが、配列番号43、配列番号59及び配列番号77からなる群から選択される、上記で定義した改変真核細胞に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物細胞が、メディカゴ トランカツラ又はアラビド

10

20

30

40

50

プシス タリアナの細胞であり、ペプチドが、配列番号59、配列番号24、配列番号43、配列番号76、配列番号77、配列番号14、配列番号424及び配列番号63からなる群から選択される、上記で定義した改変真核細胞に関する。

【0109】

1つの実施形態では、本発明は、動物細胞である上記で定義した改変真核細胞に関する。

1つの実施形態では、本発明は、動物細胞がドロソフィラ属動物細胞であり、ペプチドが、配列番号102、配列番号103及び配列番号104からなるペプチドの群から選択される、上記で定義した改変真核細胞に関する。

1つの実施形態では、本発明は、動物細胞がヒト細胞であり、ペプチドが、配列番号355からなる、上記で定義した改変真核細胞に関する。 10

【0110】

別の態様では、本発明は、上記で定義した少なくとも1つの改変真核細胞を含む植物に関する。

また、別の態様では、本発明は、上記で定義した少なくとも1つの改変真核細胞を含む非ヒト動物に関する。

【0111】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む組成物に関する。 20

【0112】

別の態様では、本発明は、

- 配列番号1～配列番号101、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなる群から選択される少なくとも1つのmiPEPを含む組成物に関する。

【0113】

別の態様では、本発明は、少なくとも、 30

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む害虫駆除用組成物に関する。

【0114】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む植物用薬剤組成物(composition phytopharmaceutique)に関する。 40

【0115】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含むエリシター組成物(composition elicitrice)に関する。

【0116】

「エリシター組成物」とは、優れた共生能、又は熱ストレス、水分ストレス若しくは化学的ストレスのそれらの性質の如何を問わず種々のストレスに対する優れた耐性を植物に付与することができる組成物を指す。 50

この目的のために、本発明は、植物の成長（成長阻害、又は反対に、成長促進）及び生理的機能（より優れた菌根形成能、より優れた根粒形成能、種々のストレスに対してのより優れた耐性）に作用する組成物にも関する。

特に、本発明は、植物の成長を促進させるための組成物に関する。

【0117】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む除草用組成物に関する。

10

【0118】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む昆虫綱動物駆除用組成物に関する。

【0119】

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号24からなるmiPEP164aを活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物(composition phytosanitaire)に関する。

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号76からなるmiPEP319aを活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。

20

【0120】

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号59からなるmiPEP171bを活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号43からなるmiPEP165aを活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。

【0121】

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号77からなるmiPEP319a2を活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号14からなるmiPEP160b1を活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。

30

【0122】

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号424からなるmiPEP169dを活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。

別の態様では、本発明は、好ましくは配列番号63からなるmiPEP171eを活性成分として含む組成物、特に植物衛生用組成物に関する。miPEPの溶解特性は、特に、それらのアミノ酸組成によって決まる。親水性のmiPEPは、水などの水性溶液中に溶解し、容器詰めすることができる。疎水性のmiPEPは、有機溶媒などの溶媒中に溶解し、容器詰めすることができる。

【0123】

miPEPを用いる植物の処置について、有機溶媒は、少量では植物に非毒性の溶媒である。すなわち、それらは、植物の発達に対して有害な効果を有しない。限定されないが、有機溶媒は、アセトニトリル及び酢酸から選択することができる。

40

【0124】

また、miPEPは、例えばアセトニトリルと酢酸との混合物のような有機溶媒混合物中に溶解し、容器詰めすることができる。特に、miPEPは、50%アセトニトリル、10%酢酸及び40%水(体積/体積/体積)を含む溶液中に溶解することができる。

好ましくは、miPEP164a及びmiPEP165aは水に溶解し、miPEP171b及びmiPEP319aは50%アセトニトリル、10%酢酸及び40%水(体積/体積/体積)を含む溶液に溶解する。

【0125】

50

限定されないが、上記で定義した組成物、害虫駆除用組成物、植物用薬剤組成物、除草用組成物及び昆虫綱動物駆除用組成物は、 10^{-9} M $\sim 10^{-4}$ MのmiPEP、特に 10^{-9} M、 10^{-8} M、 10^{-7} M、 10^{-6} M、 10^{-5} M又は 10^{-4} MのmiPEPを含み得る。

想定される適用に依存して、より高濃度又はより低濃度の組成物が提供されてもよい。例えば、miPEPを散布によって植物に適用しなければならない場合には、 10^{-1} M $\sim 10^{-3}$ MのmiPEP、特に 10^{-1} M、 10^{-2} M又は 10^{-3} MのmiPEPを含む組成物が想定され得る。

【0126】

別の態様では、本発明は、植物を根絶するか、又はその成長を遅延させるための除草剤としての、好ましくは植物の種又は属に特異的な除草剤としての上記で定義した組成物の使用に関する。

10

【0127】

別の態様では、本発明は、

-植物の成長及び/又は発達を促進するための、

特に植物の生理的パラメータ、特にバイオマス、葉の表面積、開花、果実のサイズ、植物種子の産生及び/又は選択をモジュレートするための、

特に単為結実又は雌雄同体を制御するための、又は

植物種子の生理的パラメータ、特に発芽、根系の根張り及び水分ストレス耐性を改変するための、又は

-植物病害の予防又は治療のための、

特に感染性疾患への耐性を促進するための、

植物用薬剤としての上記で定義した組成物の使用に関する。

20

【0128】

別の態様では、本発明は、植物の生理的パラメータ、特にバイオマス、葉の表面積又は果実のサイズをモジュレートするための、上記で定義した組成物の使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、果実のサイズを大きくすることを目的として果樹をまばらにするための、上記で定義した組成物の使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物の単為結実又は雌雄同体を制御するために用いられる、植物種子の産生及び/又は選択のための上記で定義した組成物の使用に関する。

【0129】

1つの実施形態では、本発明は、葉又は根を介して植物に投与される、上記で定義した組成物の使用に関する。

30

1つの実施形態では、本発明は、植物種子の産生及び/又は選択のための、上記で定義した組成物の使用に関する。

【0130】

1つの実施形態では、本発明は、植物種子の生理的パラメータ、特に根系の根張り、発芽及び水分ストレス耐性を改変するために用いられる、上記で定義した組成物の使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物種子のコーティング又はフィルムコーティングによって適用される、上記で定義した組成物の使用に関する。

【0131】

別の態様では、本発明は、植物に有害な生物又はそのように分類され得る生物を根絶するための害虫駆除剤、特に昆虫綱動物駆除剤、クモ綱動物駆除剤、軟体動物門動物駆除剤又はネズミ目動物駆除剤としての、上記で定義した組成物の使用に関する。

40

1つの実施形態では、本発明は、昆虫綱動物駆除剤としての、上記で定義した組成物の使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、昆虫綱動物の害虫を根絶するための、上記で定義した組成物の使用に関する。

【0132】

1つの実施形態では、本発明は、有害なものとして分類される動物種又はそのように分類されがちな動物種、特にネズミ科動物、特にラットを根絶するための、上記で定義した

50

組成物の使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、特に植物又は当該植物に接している支持体に適用することによって、植物に有害であるか又はそのように分類されがちな生物を根絶するための害虫駆除剤、特に昆虫綱動物駆除剤、クモ綱動物駆除剤、軟体動物門動物駆除剤又はネズミ目動物駆除剤としての、上記で定義した組成物の使用に関する。

【0133】

別の態様では、本発明は、昆虫綱動物の害虫から植物を保護するために当該植物に適用される、上記で定義した組成物の使用に関する。

別の態様では、本発明は、植物の成長を促進させるためのペプチドの使用であって、
上記ペプチドは、上記植物に導入されており、

上記ペプチドは、上記植物において天然に存在するmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるアミノ酸配列を有し、

上記植物において天然に存在する上記miPEPは、その配列がmiRNAの一次転写産物上に位置するオープンリーディングフレームによってコードされる4~100アミノ酸のペプチドであり、

上記miPEPは、上記植物における上記miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節する、使用に関する。

【0134】

驚くべきことに、本発明者らは、その配列が、miRNAの一次転写産物によってコードされるmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドを用いて、植物の成長を促進することができることを見出した。

【0135】

本発明において、用語「植物」とは、一般に、発達の段階に拘りなく植物の全体又は部分（種又は若芽(jeune pousse)の形態の植物を含む）、植物の1以上の器官（例えば葉、根、茎、花）、植物の1以上の細胞又は植物細胞のクラスタをいう。

本発明において、用語「成長」とは、時間を経ての、植物の全体又は部分の発達をいう。よって、植物の成長は、植物の特定の部分、細胞又は器官、例えば葉、根、茎又は花について観察可能な発達のパラメータをモニタリングすることによって、測定及び定量され得る。

【0136】

限定されないが、植物の成長を測定及び定量するためのパラメータは、特に、

- 葉のサイズ、表面積、体積、質量及び数、
- 花のサイズ及び数、
- 茎（又は穂）のサイズ、
- 根の長さ及び数、
- 発芽(germination)の早さ
- つぼみ形成(bourgeonnement)の早さ
- 開花誘導（又は開花期への移行）の早さ、又は
- 細胞数

であり得る。

マメ科植物の場合、植物の成長は、根の根粒形成率又は根粒のサイズ及び数にも関連付けられ得る。

【0137】

更に、本発明において、表現「植物の成長の促進」又は「植物の成長の改善」とは、

- 発達の加速化（例えば、参照用植物に対しての、所定の時点における植物の葉のサイズの巨大化等）、
- 発達の増大（例えば、参照用植物では達成できない植物の葉のサイズの巨大化等）、又は
- 植物の発達における加速化及び増大

10

20

30

40

50

のいずれかを示す。

【0138】

miPEPは植物において天然に存在するペプチドなので、本発明による使用は、園芸又は農業における慣用の化学的方法と比較して環境に優しいという利点を有することに注目することが重要である。

【0139】

また、本発明は、植物の成長を促進するための、当該植物に導入されるmiPEPの使用であって、

上記導入されるmiPEPは、上記植物において天然に存在するmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドであり、

上記天然に存在するmiPEPは、その配列が、miRNAの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされる4~100アミノ酸のペプチドであり、

上記miPEPは、上記植物における上記miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に關与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節し、

上記導入されるmiPEP量及び天然に存在するmiPEP量の総和は、天然に存在するmiPEP量よりも厳密に大きい、使用に關する。

【0140】

本発明において、表現「導入されるmiPEP」は、「植物において天然に存在するmiPEP」とは反対に、植物に人工的に導入されるmiPEPをいう。したがって、植物へのmiPEPの導入は、自然な現象ではなく、交雑にも選択にも相当しない技術的な工程である。

導入されるmiPEPは、植物の外部で産生されたペプチド（例えば、単離及び/又は精製されたペプチド、合成ペプチド又は組換えペプチド）又はmiPEPをコードする核酸の植物への非自然的導入後の植物において産生されたペプチドのいずれかであり得る。

【0141】

miPEPが導入されていない植物は、天然に存在するmiPEP量に相当するmiPEP基底量を有する。miPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるmiPEPの使用は、その一次転写産物がmiPEPをコードする配列を含むmiRNAの蓄積をモジュレートするmiPEPの総量の増大をもたらす。

更に、導入されるmiPEPは、植物において存在し、その導入は、その安定性に対する影響を有しない。

【0142】

1つの実施形態では、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に關与する遺伝子が、NAC1（アクセッション番号AT1G56010.1）、NAC4（アクセッション番号AT5G07680.1）、NAC5（アクセッション番号AT5G61430.1）、CUC1（アクセッション番号AT3G15170.1）、CUC2（アクセッション番号AT5G53950.1）、TCP3（アクセッション番号AT1G53230.1）及びTCP4（アクセッション番号AT3G15030.1）（アラビドプシス情報資源「TAIR」(The Arabidopsis Information Resource)データベースによるアクセッション番号)からなる群から選択される、上記で定義した使用に關する。

【0143】

特に、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に關与する遺伝子が、NAC1、NAC4、NAC5、CUC1及びCUC2からなる群から選択される、上記で定義した使用に關する。

1つの実施形態では、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に關与する遺伝子が、TCP3及びTCP4からなる群から選択される、上記で定義した使用に關する。

【0144】

1つの実施形態では、本発明は、miRNAが、miR164a及びmiR319aから選択される、上記で定義した使用に關する。

1つの実施形態では、本発明は、miRNAが、miR164a、miR319a、miR171b、miR165a、miR160b、miR169d及びmiR171eから選択される、上記で定義した使用に關する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、AtmiPEP164a1、AtmiPEP319a1、AtmiPEP319a

10

20

30

40

50

2、MtmiPEP171b1、AtmiPEP165a1、AtmiPEP160b1、MtmiPEP169d、MtmiPEP171eから選択される、上記で定義した使用に関する。

【0145】

特に、本発明は、miR164aが、配列番号297からなるヌクレオチド配列を有する、上記で定義した使用に関する。

特に、本発明は、miR164aが、配列番号297のヌクレオチド配列と少なくとも80%の同一性、好ましくは少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列を有する、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、AtmiPEP164a1であり、特にAtmiPEP164a1が、配列番号24からなるアミノ酸配列を有する上記で定義した使用に関する。

10

【0146】

特に、本発明は、miR319aが、配列番号331からなるヌクレオチド配列を有する、上記で定義した使用に関する。

特に、本発明は、miR319aが、配列番号331のヌクレオチド配列と少なくとも80%の同一性、好ましくは少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列を有する、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、AtmiPEP319a1であり、特にAtmiPEP319a1が、配列番号76からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義した使用に関する。

【0147】

1つの実施形態では、本発明は、植物が、アラビドプシス タリアナなどのアブラナ科植物、グリシン マクス（ダイズ）、メディカゴ トランカツラ及びメディカゴ サティバ（アルファルファ）などのマメ科植物又はニコチアナ ベンサミアナ（タバコ）、ソラナム ツペロサム（ジャガイモ）、ソラナム リコパーシカム（トマト）若しくはソラナム メロンゲナ（ナス）などのナス科植物である、上記で定義した使用に関する。

20

1つの実施形態では、本発明は、植物が、アブラナ科植物である、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物が、アラビドプシス タリアナである、上記で定義した使用に関する。

【0148】

1つの実施形態では、本発明は、アラビドプシス タリアナ種植物の成長を促進するための上記で定義した使用であって、

30

AtmiPEP164a1は、アラビドプシス タリアナ種植物に導入され、

AtmiPEP164a1は、アラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するものでもあり、

導入されるAtmiPEP164a1は、その配列が天然に存在するAtmiPEP164a1のものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドであり、

天然に存在するAtmiPEP164a1の配列は、miR164aの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされ、

miR164aは、アラビドプシス タリアナの生長部分又は繁殖部分の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を制御し、

40

導入されるAtmiPEP164a1量及び天然に存在するAtmiPEP164a1量の総和は、アラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するAtmiPEP164a1量よりも厳密に大きい、使用に関する。

【0149】

1つの実施形態では、本発明は、アラビドプシス タリアナ種植物の成長を促進させるための、上記で定義した使用であって、

AtmiPEP319a1は、アラビドプシス タリアナ種植物に導入され、

AtmiPEP319a1は、アラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するものでもあり、

導入されるAtmiPEP319a1は、その配列が天然に存在するAtmiPEP319a1のものと同一の配

50

列を含むか又は当該配列からなるペプチドに導入され、

天然に存在するAtmiPEP319a1の配列は、miR319aの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされ、

miR319aは、アラビドプシス タリアナの生長部分又は繁殖部分の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を制御し、

導入されるAtmiPEP319a1量及び天然に存在するAtmiPEP319a1量の総和は、アラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するAtmiPEP319a1量よりも厳密に大きい、使用に関する。

【0150】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、好ましくは散水、噴霧又は肥料、堆肥、培養土又は不活性な支持体を添加することによって、外部から植物に導入される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、散水及び噴霧することによって導入される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、散水及び肥料を添加することによって導入される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、噴霧及び肥料を添加することによって導入される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、散水、噴霧及び肥料を添加することによって導入される、上記で定義した使用に関する。

【0151】

事実、本発明者らは、植物において、対応するmiRNAの蓄積をモジュレートするために、miPEPを含む組成物を植物に直接適用できることを予期せぬことに見出した。このことは、miPEPが、植物によって捕捉されることを示す。

1つの実施形態では、本発明は、植物が、 10^{-9} M $\sim 10^{-4}$ MのmiPEPを含む組成物、特に 10^{-9} M、 10^{-8} M、 10^{-7} M、 10^{-6} M、 10^{-5} M又は 10^{-4} MのmiPEPを含む組成物を用いて処置される、上記で定義した使用に関する。

好ましくは、植物に散水又は噴霧することによって適用するために、組成物は、 10^{-8} M $\sim 10^{-5}$ Mの濃度を有する。

加えて、より高濃度又はより低濃度の組成物が、miPEPを用いての植物の処置のために想定され得る。限定されないが、例えば、導入される外因性miPEPを散布によって植物に適用する場合には、 10^{-1} M $\sim 10^{-3}$ M、特に 10^{-2} MのmiPEPを含む、より高濃度の組成物が用いられ得る。

【0152】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPをコードする核酸によりmiPEPが植物に導入され、上記核酸が植物に導入される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における茎サイズが、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における茎サイズと比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

【0153】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における葉の数が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における葉の数と比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における葉のサイズが、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における葉のサイズと比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

【0154】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における根の数が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における根の数と比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における根の長さが、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における根の長さと比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

【0155】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における根粒形成率が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における根粒形成率と比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物における根粒数が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物における根粒数と比較して増大される、上記で定義した使用に関する。

10

【0156】

miPEPが導入されている植物における成長を測定及び定量するためのパラメータ（例えば茎サイズ、葉の数及びサイズ、根の数及び長さ、根の根粒形成率又は根粒数）の増大は、好ましくは、同一条件下で育ったがmiPEPが何も導入されていない同齡の同じ植物（すなわち、同種及び/又は変種の植物）との比較によって証明される。

【0157】

別の態様では、本発明は、植物において天然に存在するものでもあるmiPEPを当該植物に導入する工程を含む、植物の成長を促進するための方法であって、

導入されるmiPEPは、その配列が、天然に存在するmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなる4~100アミノ酸のペプチドであり、

20

天然に存在するmiPEPの配列は、miRNAの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされ、

miPEPは、miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

miRNAは、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節し、

導入されるmiPEP量及び天然に存在するmiPEP量の総和が、天然に存在するmiPEPの量よりも厳密に大きい、方法に関する。

【0158】

1つの実施形態では、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に関与する遺伝子が、NAC1（アクセッション番号AT1G56010.1）、NAC4（アクセッション番号AT5G07680.1）、NAC5（アクセッション番号AT5G61430.1）、CUC1（アクセッション番号AT3G15170.1）、CUC2（アクセッション番号AT5G53950.1）、TCP3（アクセッション番号AT1G53230.1）及びTCP4（アクセッション番号AT3G15030.1）からなる群から選択される、上記で定義した方法に関する。

30

特に、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に関与する遺伝子が、NAC1、NAC4、NAC5、CUC1及びCUC2からなる群から選択される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に関与する遺伝子が、TCP3及びTCP4からなる群から選択される、上記で定義した方法に関する。

【0159】

1つの実施形態では、本発明は、miRNAが、miR164a、miR319a、miR171b、miR165a、miR160b、miR169d及びmiR171eから選択される、上記で定義した方法に関する。

40

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、AtmiPEP164a1、AtmiPEP319a1、AtmiPEP319a2、MtmiPEP171b1、AtmiPEP165a1、AtmiPEP160b1、MtmiPEP169d、MtmiPEP171eから選択される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miRNAがmiR164aであり、特にmiR164aが配列番号297からなるヌクレオチド配列を有する、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPがAtmiPEP164a1であり、特にAtmiPEP164a1が配列番号24からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義した方法に関する。

【0160】

1つの実施形態では、本発明は、miRNAがmiR319aであり、特にmiR319aが配列番号331か

50

らなるヌクレオチド配列を有する、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPがAtmiPEP319a1であり、特にAtmiPEP319a1が配列番号76からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義した方法に関する。

【0161】

1つの実施形態では、本発明は、植物が、アラビドプシス タリアナなどのアブラナ科植物、グリシン マクス（ダイズ）、メディカゴ トランカツラ及びメディカゴ サティバ（アルファルファ）などのマメ科植物又はニコチアナ ベンサミアナ（タバコ）、ソラナム ツペロサム（ジャガイモ）、ソラナム リコパーシカム（トマト）若しくはソラナム メロンゲナ（ナス）などのナス科植物である、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物がアブラナ科植物である、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物がアラビドプシス タリアナである、上記で定義した方法に関する。

【0162】

1つの実施形態では、本発明は、アラビドプシス タリアナ種植物の成長を促進するための、上記で定義した方法であって、

AtmiPEP164a1は、アラビドプシス タリアナ種植物に導入され、

AtmiPEP164a1は、アラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するものでもあり、

導入されるAtmiPEP164a1は、その配列がmiR164aの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされる4~100アミノ酸のペプチドである天然に存在するAtmiPEP164a1のものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドであり、

AtmiPEP164a1は、アラビドプシス タリアナの生長部分又は繁殖部分の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節するmiR164a蓄積を増大させることができ、

導入されるAtmiPEP164a1量及び天然に存在するAtmiPEP164a1量の総和は、天然に存在するAtmiPEP164a1量よりも厳密に大きい、方法に関する。

【0163】

1つの実施形態では、本発明は、アラビドプシス タリアナ種植物の成長を促進するための、上記で定義した方法であって、

AtmiPEP319a1は、アラビドプシス タリアナ種植物に導入され、

AtmiPEP319a1は、アラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するものでもあり、

導入されるAtmiPEP319a1は、その配列がmiR319aの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされる4~100アミノ酸のペプチドである天然に存在するAtmiPEP319a1のものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドであり、

AtmiPEP319a1は、アラビドプシス タリアナの生長部分又は繁殖部分の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節するmiR319aの蓄積を増大させることができ、

導入されるAtmiPEP319a1量及び天然に存在するAtmiPEP319a1量の総和は、天然に存在するAtmiPEP319a1量よりも厳密に大きい、方法に関する。

【0164】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、好ましくは肥料、堆肥、培養土又は不活性な支持体を散水、噴霧又は添加することによって、外部から植物に導入される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、 10^{-9} M~ 10^{-4} MのmiPEPを含む組成物、特に 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 又は 10^{-4} MのmiPEPを含む組成物の形態で植物に投与される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、当該miPEPをコードする核酸により植物に導入され、上記の核酸が植物に導入される、上記で定義した方法に関する。

【0165】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の茎サイズが、miPEPが何

10

20

30

40

50

も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の茎サイズと比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の葉の数が、miPEPが何も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の葉の数と比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

【0166】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の葉のサイズが、miPEPが何も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の葉のサイズと比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根の数が、miPEPが何も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根の数と比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

【0167】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根の長さが、miPEPが何も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根の長さとして比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根粒形成率が、miPEPが何も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根粒形成率と比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

【0168】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根粒数が、miPEPが何も導入されていないか又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根粒数と比べて増大される、上記で定義した方法に関する。

別の態様では、本発明は、植物の成長を促進するための上記で定義した使用又は方法に従ってmiPEPが導入されている植物に関する。

【0169】

別の態様では、本発明は、

a)miPEPの発現を可能にする条件下で、植物に、又は植物の少なくとも1つの細胞に、4~100アミノ酸のmiPEPをコードする核酸を導入する工程であって、

上記miPEPは、上記植物において天然に存在するものでもあり、

上記天然に存在するmiPEPは、その配列がmiRNAの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされるペプチドであり、

上記miPEPは、植物における上記miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節する、工程と、

b)トランスジェニック植物の取得を可能にする条件下で、工程a)において得られた植物又は植物の少なくとも1つの細胞を培養する工程と

を含む、トランスジェニック植物を製造する方法に関する。

【0170】

別の態様では、本発明は、

a)miPEPの発現を可能にする条件下で、植物に、又は植物の少なくとも1つの細胞に、4~100アミノ酸又は3アミノ酸のmiPEPをコードする核酸を導入する工程であって、

上記miPEPは、上記植物において天然に存在するものでもあり、

上記天然に存在するmiPEPは、その配列がmiRNAの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされるペプチドであり、

上記miPEPは、植物における上記miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節する、工程と、

b)トランスジェニック植物の取得を可能にする条件下で、工程a)において得られた植物又は植物の少なくとも1つの細胞を培養する工程と

を含む、トランスジェニック植物を製造する方法に関する。

【0171】

別の態様では、本発明は、

a) miPEPの発現を可能にする条件下で、植物に、又は植物の少なくとも1つの細胞に、3アミノ酸のmiPEPをコードする核酸を導入する工程であって、

上記miPEPは、上記植物において天然に存在するものでもあり、

上記天然に存在するmiPEPは、その配列がmiRNAの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされるペプチドであり、

上記miPEPは、植物における上記miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に参与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節する、工程と、

10

b) トランスジェニック植物の取得を可能にする条件下で、工程a)において得られた植物又は植物の少なくとも1つの細胞を培養する工程と

を含む、トランスジェニック植物を製造する方法に関する。

【0172】

1つの実施形態では、本発明は、核酸が導入されていない同一の植物と比較して、工程b)において得られたトランスジェニック植物の成長が改善されている、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物に導入される核酸によってコードされるmiPEPの発現が、核酸が導入されていない同一の植物と比較して、成長の改善をもたらす、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

20

【0173】

1つの実施形態では、本発明は、工程a)が、核酸を含むベクター、好ましくはプラスミドを用いて行われる、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、工程a)の核酸の発現が、強力なプロモータ、好ましくは強力な構成性プロモータ、例えば35Sプロモータの制御下に置かれている、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0174】

1つの実施形態では、本発明は、植物の生長部分又は繁殖部分の発達に参与する遺伝子が、NAC1 (アクセッション番号 AT1G56010.1)、NAC4 (アクセッション番号AT5G07680.1)、NAC5 (アクセッション番号AT5G61430.1)、CUC1 (アクセッション番号AT3G15170.1)、CUC2 (アクセッション番号AT5G53950.1)、TCP3 (アクセッション番号AT1G53230.1)及びTCP4 (アクセッション番号AT3G15030.1)からなる群から選択される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

30

【0175】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、配列番号1～配列番号101及び配列番号375～配列番号386からなる群から選択される配列を含むか又は当該配列からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、

- 配列番号1～配列番号101、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

40

からなる群から選択される配列を含むか又は当該配列からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0176】

1つの実施形態では、本発明は、miRNAがmiR164aであり、特にmiR164aが配列番号297からなるヌクレオチド配列を有する、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPがAtmiPEP164a1であり、特にAtmiPEP164a1が配列番号24からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義したトランスジェニック植物の製造

50

方法に関する。

【0177】

1つの実施形態では、本発明は、miRNAがmiR319aであり、特にmiR319aが配列番号331からなるヌクレオチド配列を有する、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPがAtmiPEP319a1であり、特にAtmiPEP319a1が配列番号76からなるアミノ酸配列を有する、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0178】

1つの実施形態では、本発明は、工程a)において導入される核酸が、配列番号128及び配列番号180から選択されるヌクレオチド配列を含む、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

10

【0179】

1つの実施形態では、本発明は、植物が、アラビドプシス タリアナなどのアブラナ科植物、グリシン マクス（ダイズ）、メディカゴ トランカツラ及びメディカゴ サティバ(アルファルファ)などのマメ科植物又はニコチアナ ベンサミアナ（タバコ）、ソラナム ツペロサム（ジャガイモ）、ソラナム リコパーシカム（トマト）若しくはソラナム メロンゲナ（ナス）などのナス科植物である、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、トランスジェニック植物がアブラナ科植物である、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

20

1つの実施形態では、本発明は、トランスジェニック植物がアラビドプシス タリアナである、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0180】

1つの実施形態では、本発明は、
a)AtmiPEP164a1の発現を可能にする条件下において、配列番号24のアミノ酸配列からなるAtmiPEP164a1をコードする配列番号128のヌクレオチド配列を含む核酸を、アラビドプシス タリアナ種植物に、又はアラビドプシス タリアナ種植物の少なくとも1つの細胞に導入する工程であって、

上記AtmiPEP164a1は、上記のアラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するものでもあり、

30

上記天然に存在するmiPEPは、その配列がmiR164aの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされるペプチドであり、

上記AtmiPEP164a1は、上記miR164の蓄積をモジュレートすることができ、

上記miR164aは、アラビドプシス タリアナの生長部分又は繁殖部分の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を制御する、工程と、

b)トランスジェニックアラビドプシス タリアナ種植物の取得を可能にする条件下で、工程a)において得られた植物又は植物の少なくとも1つの細胞を培養する工程とを含む、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0181】

40

1つの実施形態では、本発明は、

a)AtmiPEP319a1の発現を可能にする条件下において、配列番号76のアミノ酸配列からなるAtmiPEP319a1をコードする配列番号180のヌクレオチド配列を含む核酸を、アラビドプシス タリアナ種植物に、又はアラビドプシス タリアナ種植物の少なくとも1つの細胞に導入する工程であって、

上記AtmiPEP319a1は、上記のアラビドプシス タリアナ種植物において天然に存在するものでもあり、

上記天然に存在するmiPEPは、その配列がmiR319aの一次転写産物の5'に位置するオープンリーディングフレームによってコードされるペプチドであり、

上記AtmiPEP319a1は、上記miR319の蓄積をモジュレートすることができ、

50

上記miR319aは、アラビドプシス タリアナの生長部分又は繁殖部分の発達に関与する少なくとも1つの遺伝子の発現を調節する、工程と、

b)トランスジェニックアラビドプシス タリアナ植物の取得を可能にする条件下で、工程a)において得られた植物又は植物の少なくとも1つの細胞を培養する工程とを含む、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0182】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、当該miPEPをコードする核酸により植物に導入され、上記の核酸が植物に導入される、上記で定義した製造方法に関する。

【0183】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の茎サイズが、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の茎サイズと比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の葉の数が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の葉の数と比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0184】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の葉のサイズが、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の葉のサイズと比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根の数が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根の数と比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0185】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根の長さが、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根の長さとして比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根粒形成率が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根粒形成率と比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0186】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが導入されている植物の根粒数が、miPEPが何も導入されていないか、又は上記のmiPEPが導入されていない同齡の同じ植物の根粒数と比べて増大される、上記で定義したトランスジェニック植物の製造方法に関する。

【0187】

また、1つの態様では、本発明は、上記で定義した製造方法によって得られるトランスジェニック植物に関する。

別の態様では、本発明は、miPEPをコードするベクターを含むトランスジェニック植物であって、

上記miPEPは、上記の植物において天然に存在するものでもあり、

上記天然に存在するmiPEPは、その配列がmiRNAの一次転写産物の5'部分に位置するオープンリーディングフレームによってコードされるペプチドであり、

上記miPEPは、植物における上記miRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、少なくとも1つの遺伝子の発現を調節し、

植物に導入されるベクターによってコードされる上記miPEPの発現は、核酸が導入されていない同一の植物と比べて上記遺伝子の発現のモジュレーションをもたらす、トランスジェニック植物に関する。

【0188】

1つの実施形態では、本発明は、遺伝子が、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に関与し、植物に導入された核酸によってコードされるmiPEPの発現が、核酸が導入されていない同一の植物と比較して当該トランスジェニック植物の成長の改

10

20

30

40

50

善をもたらす、上記で定義したトランスジェニック植物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、

- 配列番号1～配列番号101、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなる群から選択される、上記で定義したトランスジェニック植物に関する。

【0189】

別の態様では、本発明は、ベクターを含むトランスジェニック植物であって、

上記ベクターは、miRNAの一次転写産物の発現を可能にする核酸を含み、

上記miRNAの一次転写産物は、miPEPをコードするオープンリーディングフレームを含み

10

、

上記miPEPは、植物におけるmiRNAの蓄積をモジュレートすることができ、

上記miRNAは、植物において少なくとも1つの遺伝子の発現を調節し、

植物に導入されるベクターによりコードされるmiPEPの発現は、核酸が導入されていない同一の植物と比べて、上記遺伝子の発現のモジュレーションをもたらす、トランスジェニック植物に関する。

【0190】

1つの実施形態では、本発明は、核酸が内因性のものである、上記で定義したトランスジェニック植物に関する。

核酸が内因性のものである場合、少なくとも1コピーの核酸は、植物に導入されるベクターとは独立して、当該植物内において既に天然に存在している。

20

【0191】

1つの実施形態では、本発明は、核酸が外因性のものである、上記で定義したトランスジェニック植物に関する。

核酸が外因性のものである場合、既に植物内において天然に存在する当該核酸のコピーはない。

1つの実施形態では、本発明は、遺伝子が、植物の生長部分又は繁殖部分、特に根、茎、葉又は花の発達に関与し、植物に導入される核酸によってコードされるmiPEPの発現は、核酸が導入されていない同一の植物と比較して当該トランスジェニック植物の成長の改善をもたらす、上記で定義したトランスジェニック植物に関する。

30

【0192】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、

- 配列番号1～配列番号101、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなる群から選択される、上記で定義したトランスジェニック植物に関する。

【0193】

別の態様では、本発明は、植物種子の所定量と、その配列が当該植物において天然に存在するmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドの所定量とを組み合わせる組成物に関する。

40

【0194】

1つの実施形態では、本発明は、miPEPが、

- 配列番号1～配列番号101、
- 配列番号375～配列番号386、又は
- 配列番号424

からなる群から選択される、上記で定義した組成物に関する。

【0195】

1つの実施形態では、本発明は、植物、特にA. タリアナの種子の所定量と、その配列がAtmiPEP164a1のものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドの所定量とを組み合わせる組成物に関する。

50

1つの実施形態では、本発明は、植物、特にA. タリアナの種子の所定量と、その配列がAtmiPEP319a1のものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドの所定量とを組み合わせる組成物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、植物、特にM. トランカツラの種子の所定量と、その配列がMtmPEP171bのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなるペプチドの所定量とを組み合わせる組成物に関する。

【0196】

1つの実施形態では、本発明は、コーティング種子を形成するように製剤化された、上記で定義した組成物に関する。

コーティングは、アグリ-食品産業において慣用の方法によって行うことができ、溶媒又は土壌、例えばバインダ又は粘土中で分解可能な材料を用いて達成することができる。

【0197】

本発明によれば、コーティングは、例えばmiPEPの組成物又はmiPEPと組み合わせた種子の組成物に特定の性質を付与するために用いることができる。

1つの実施形態では、本発明は、MtmPEP171bを含むコーティング種子を形成するように製剤化された、上記で定義した組成物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、AtmiPEP164a1を含むコーティング種子を形成するように製剤化された、上記で定義した組成物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、AtmiPEP319a1を含むコーティング種子を形成するように製剤化された、上記で定義した組成物に関する。

【0198】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

と、医薬的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物に関する。

【0199】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む、特にヒト又は動物用の医薬として用いるための組成物に関する。

本発明の組成物の使用は、ヒトの医療及び獣類の医療において適用可能である。

【0200】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む、患者の遺伝子の発現の脱調節に関連付けられる疾患の予防及び/又は治療に用いるための組成物であって、

上記遺伝子の発現は、その蓄積が上記miPEPによってモジュレートされるマイクロRNAによって調節される、組成物に関する。

【0201】

1つの実施形態では、本発明は、疾患が、がん、糖尿病、肥満、感染性疾患及び神経変性疾患から選択される、上記で定義した組成物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、疾患が、がん、糖尿病、肥満、感染性疾患、神経変性疾患、循環器疾患(maladies cardiovasculaires)及び自己免疫疾患から選択される、上記で定義した組成物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、疾患が、がん、糖尿病、肥満、感染性疾患、神経変性疾患、循環器疾患及び自己免疫疾患から選択される、上記で定義した組成物に関する。

1つの実施形態では、本発明は、疾患が、循環器疾患及び自己免疫疾患から選択される、上記で定義した組成物に関する。

【0202】

別の態様では、本発明は、少なくとも、

- 上記で定義したmiPEP、
- 上記miPEPをコードする核酸、又は
- 上記核酸を含むベクター

を含む、動物又はヒトの寄生生物感染の予防及び/又は治療に用いるための組成物であって、

上記寄生生物は、その蓄積が上記miPEPによってモジュレートされるマイクロRNAによって、その発現が調節される遺伝子を有する、組成物に関する。

10

【0203】

別の態様では、本発明は、医薬として用いるための、真核細胞におけるマイクロRNAの蓄積をモジュレートすることができ、マイクロRNAの一次転写産物に含まれるヌクレオチド配列によってコードされる4〜100アミノ酸又は3アミノ酸のmiPEPに関する。

【0204】

別の態様では、本発明は、miPEPを特異的に認識する抗体に関する。

特に、本発明は、AtmiPEP165aを特異的に認識する抗体に関する。

特に、本発明は、MtmiPEP171bを特異的に認識する抗体に関する。

特に、本発明は、AtmiPEP164a1を特異的に認識する抗体に関する。

特に、本発明は、AtmiPEP319a1を特異的に認識する抗体に関する。

20

【0205】

このような抗体は、当業者に公知の方法によって、例えば、動物による免疫反応及び抗体産生を惹起するために非ヒト動物にmiPEPを注入することによって、取得することができる。

【0206】

別の態様では、本発明は、miPEPを特異的に認識する抗体を用いて、植物からの生物試料を標識する工程を含む、miPEPの免疫染色方法(un procede d'immunolocalisation)に関する。

特に、本発明は、AtmiPEP165aを特異的に認識する抗体を用いるAtmiPEP165aの免疫染色方法に関する。

30

特に、本発明は、MtmiPEP171bを特異的に認識する抗体を用いるMtmiPEP171bの免疫染色方法に関する。

特に、本発明は、AtmiPEP164a1を特異的に認識する抗体を用いるAtmiPEP164a1の免疫染色方法に関する。

特に、本発明は、AtmiPEP319a1を特異的に認識する抗体を用いるMtmiPEP319a1の免疫染色方法に関する。

【0207】

別の態様では、本発明は、医薬として用いるための、本発明のmiPEPを特異的に認識する抗体に関する。

40

別の態様では、本発明は、本発明のmiPEPを特異的に認識する抗体と、医薬的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物に関する。

【0208】

別の態様では、本発明は、その配列が、上記で定義したmiPEPのものと同一の配列を含むか又は当該配列からなる組換えペプチドをコードする発現ベクターで生体を形質転換する工程を含む、組換えペプチドを製造する方法に関する。

1つの実施形態では、生体は、細菌、酵母、(酵母以外の)菌類、動物細胞、植物及び動物を含む群から選択される。

1つの実施形態では、生体は、エシェリシア コリ(Escherichia coli)である。

【0209】

50

特に、本発明は、

- 組換えペプチドをコードする核酸を、タグ、例えばGSTをコードする核酸に結合させる工程と、
 - 組換えペプチドをコードする核酸を含む発現ベクターをE. コリ細菌に導入する工程と、
 - 発現ベクターを含むE. コリ細菌をLB培地中で、好ましくは0.2～0.4のODまで培養する工程と、
 - 好ましくは4～5時間、IPTGで組換えペプチドの産生を誘導する工程と、
 - E. コリ細菌を遠心分離して溶菌する工程と、
 - 上清を濾過する工程と、
 - グルタチオンセファロースアフィニティカラムで組換えペプチドを精製する工程と、
 - 必要に応じて、プロテアーゼを用いてGSTを切断する工程と
- を含む、上記で定義した組換えペプチドを製造する方法に関する。

10

【0210】

miPEP、miORF、miRNA及びmiRNAの一次転写産物の全ての配列を表1、2、3、4、5及び6に示す。

表7は、pri-miR171bの種々の領域のDNA配列についての多型解析を表す（ハプロタイプは、他のハプロタイプと少なくとも1つのアミノ酸が異なるときに定義される）。

【表 1 - 1】

miPEP (pI / サイズMW)	miR	生物	miRNAの標的遺伝子	miPEPの配列	配列番号
AtmiPEP156a1 (10.57 / 3824)	miR156a	アラビドプシス タリアナ	茎の発達及び開花に 関与するSPL遺伝子 ファミリー	MFCSIQCVARHLFPLHVREIKKATRAI KKGKTL	配列番号 1
AtmiPEP156a2	miR156a	アラビドプシス タリアナ		MRRQTSVPFACKRDKESDKSHKER	配列番号 2
AtmiPEP156a3	miR156a	アラビドプシス タリアナ		MVMFFLDLDKNPRFDLLKGLKWNLF SSHISPSLPPSL	配列番号 3
AtmiPEP156c1 (8.5 / 1359)	miR156c	アラビドプシス タリアナ		MKDNFPLLLRL	配列番号 4
AtmiPEP156c2	miR156c	アラビドプシス タリアナ		MSDD	配列番号 5
AtmiPEP156e1 (4.03 / 1818)	miR156e	アラビドプシス タリアナ		MIYNKYGSISAVEDD	配列番号 6
AtmiPEP156f1 (9.5 / 520)	miR156f	アラビドプシス タリアナ	発芽及び開花に 関与するMYB遺伝子ファミリー	MSQR	配列番号 7
AlmiPEP159a	miR159a	アラビドプシス リラタ (<i>Arabidopsis lyrata</i>)		MTCPLLSLSFLLSKYI	配列番号 8
AtmiPEP159a1 (8.34 / 1898)	miR159a	アラビドプシス タリアナ		MTWPILLSLSFLLSKYV	配列番号 9
CrmiPEP159a	miR159a	カプセラ ルベラ (<i>Capsella rubella</i>)		MTCPLSALSLSLNMFRVN	配列番号 10
AtmiPEP159b1 (5.27 / 659)	miR159b	アラビドプシス タリアナ		MFYLS	配列番号 11
AtmiPEP159b2	miR159b	アラビドプシス タリアナ		MVNTSSFFISSFILPLVLSNCLLFRIT YKFSMVLY	配列番号 12
AtmiPEP160a1 (8.02 / 2936)	miR160a	アラビドプシス タリアナ	発芽、発達及び開花に 関与する ARF遺伝子ファミリー	MFCLLIPIFSFVFSNRLRLQEQ	配列番号 13
AtmiPEP160b1 (5.28 / 608)	miR160b	アラビドプシス タリアナ		MFSPQ	配列番号 14
AtmiPEP160b2	miR160b	アラビドプシス タリアナ		MKYIHILILFKSRSTYKLSTNHI	配列番号 15
AtmiPEP161 (10 / 1199)	miR161	アラビドプシス タリアナ		MKIPLFLPKL	配列番号 16

10

20

30

40

【表 1 - 2】

AtmiPEP162a1 (403 / 3045)	miR162a	アラビドプシス タリアナ	発達に関与する DCL1遺伝子	MVSGQEDSWLKSLCFLFLSLDLSLI	配列番号 17
AtmiPEP162b1 (571 / 4114)	miR162b	アラビドプシス タリアナ		MFLIFLRLMICVCSSTDFLRSVNYFC LFIYDL	配列番号 18
AtmiPEP163-1 (65 / 1076)	miR163	アラビドプシス タリアナ	二次代謝物質の産生に 関与するSAMT遺伝子 ファミリー	MSTTQEHS	配列番号 19
AtmiPEP163-2	miR163	アラビドプシス タリアナ		MILKCWSSRFLRVSPYQNAHSLSLG	配列番号 20
AlmiPEP164a1	miR164a	アラビドプシス リラタ	根、葉及び花の発達に 関与するNAC遺伝子 ファミリー	MPLAVIRQGVWVP	配列番号 21
AlmiPEP164a2	miR164a	アラビドプシス リラタ		MPSWHDMMVLLPYVKHHTANTRHT	配列番号 22
AlmiPEP164a3	miR164a	アラビドプシス リラタ		MTWFFCLT	配列番号 23
AtmiPEP164a1 (705 / 4256)	miR164a	アラビドプシス タリアナ		MPSWHGMVLLPYVKHHTASTHTHTH NIYGCACELVFH	配列番号 24
AtmiPEP164a2	miR164a	アラビドプシス タリアナ		MAWYGSPALRKTHSRQHTHTHT	配列番号 25
AtmiPEP164a3	miR164a	アラビドプシス タリアナ		MVWFFCLT	配列番号 26
BirmiPEP164a1	miR164a	ブラシカ ラバ (Brassica rapa)		MMILWK	配列番号 27
BirmiPEP164a2	miR164a	ブラシカ ラバ		MLWAKLVSFSTLHSLVFLSPSFA	配列番号 28
BirmiPEP164a3	miR164a	ブラシカ ラバ		MPSWHGIVLPFVKHHTANIHYSYSC VCI	配列番号 29
CpmiPEP164a1	miR164a	カリカ ババイヤ (Carica papaya)		MTACHPYLPFPLFLSLTFYSIFFSPSPPS PSLPL	配列番号 30
CpmiPEP164a2	miR164a	カリカ ババイヤ		MPSELLAFSPFPFSNILLNLLPLPPFPLS AHTIKPLSLPLSLSLSGFSV	配列番号 31
CirmiPEP164a1	miR164a	カブセラ ルベラ		MELKGLRTWQLLDKV	配列番号 32
CirmiPEP164a2	miR164a	カブセラ ルベラ		MPSWHGMACFYCLT	配列番号 33
CirmiPEP164a3	miR164a	カブセラ ルベラ		MAWHGMFLLPYVKHHTANTYSLYM	配列番号 34

10

20

30

40

【表 1 - 3】

GmPEP164a1	miR164a	ゴシペウム ライモンディ (<i>Gossypium raimondii</i>)		MMRSRLKFQYRFGMGIGGRKQLKN QLCQIQGRIS	配列番号 3 5
GmPEP164a2	miR164a	ゴシペウム ライモンディ		MSNSRSYQLK	配列番号 3 6
GmPEP164a3	miR164a	ゴシペウム ライモンディ		MNEDLEISTRKRTPQLC	配列番号 3 7
MtmPEP164a1	miR164a	メディカゴ トランカツラ		MPKFDIFFYFV	配列番号 3 8
MtmPEP164a2	miR164a	メディカゴ トランカツラ		MSYISLPKLLPNTKPPWLQVQNFY FSSNTKCNKLHFLGEKLLVGEAGHVQ ILFLHSLJMHINIFCTCSPSPTRLPHPSL	配列番号 3 9
OsmPEP164a1	miR164a	オライザ サティバ (<i>Oryza sativa</i>)		MQTHSNTPQSTYSLSLSE	配列番号 4 0
OsmPEP164a2	miR164a	オライザ サティバ		MCVCDINMHSMMLL	配列番号 4 1
AlmiPEP165a	miR165a	アラビドプシス リラタ		MRKLFQLRGMLSGSRILYNTCV/C	配列番号 4 2
AtmiPEP165a (123 / 2105)	miR165a	アラビドプシス タリアナ		MRVKLFQLRGMLSGSRIL	配列番号 4 3
BomiPEP165a	miR165a	ブラシカ カリナタ (<i>Brassica carinata</i>)		MRMKLFQLRGMLSGSRILYTHKYVY MLIQVFDHICI	配列番号 4 4
BjmiPEP165a	miR165a	ブラシカ ジュンセア (<i>Brassica juncea</i>)		MRMKLFQLRGMLSGSRILYTHKYVY C	配列番号 4 5
BnmiPEP165a	miR165a	ブラシカ ナバス (<i>Brassica napus</i>)	管、根、葉及び花の発達及び 根粒形成に關与する HD-ZIPII 遺伝子ファミリー	MRMKLFQLRGMLSGSRILYTHKYVY MLIQVFDHICI	配列番号 4 6
BomiPEP165a	miR165a	ブラシカ オレラセア (<i>Brassica oleracea</i>)		MRMKLFQLRGMLSGSRILYTHKYVY MLIQVFDHICI	配列番号 4 7
BnmiPEP165a	miR165a	ブラシカ ラバ		MRMKLFQLRGMLSGSRILYTHKYVY C	配列番号 4 8
AtmiPEP166a (468 / 2372)	miR166a	アラビドプシス タリアナ		MLDLFRSNNRIEPSDFRFD	配列番号 4 9
AtmiPEP166b (935 / 576)	miR166b	アラビドプシス タリアナ		MRDR	配列番号 5 0
AtmiPEP167a (11 / 1148)	miR167a	アラビドプシス タリアナ	根及び花の発達に關与する ARF 遺伝子ファミリー	MNRKISLSLS	配列番号 5 1
AtmiPEP167b1 (527 / 891)	miR167b	アラビドプシス タリアナ		MMGCFVGF	配列番号 5 2

10

20

30

40

【表 1 - 4】

AtmiPEP167b2	miR167b	アラビドプシス タリアナ		MQEETVEG	配列番号 53
AtmiPEP169c1 (93 / 7110)	miR169c	アラビドプシス タリアナ	根粒形成、干ばつ耐性、 窒素欠乏耐性に関与する OCCAAT結合因子の 遺伝子ファミリー	MPHTNLKDLFFSPNVFFSFAIYLHNS WNKNYIHKRENHNTSFALIFFSSIM SINYG	配列番号 54
AtmiPEP169c2	miR169c	アラビドプシス タリアナ		MFFFRLLFSTILGKTTFTNERIFTTPL LLSFFFRPL	配列番号 55
AtmiPEP169i (852 / 786)	miR169i	アラビドプシス タリアナ		MRHKES	配列番号 56
AtmiPEP171a1 (1105 / 4057)	miR171a	アラビドプシス タリアナ	花、葉及び根の発達、 固根形成、根粒形成に関与する GRAS遺伝子ファミリー	MNLLKKERQRRQRSIGSHCIASLVL KGYMKKI	配列番号 57
AtmiPEP171b (85 / 995)	miR171b	アラビドプシス タリアナ		MVLSGKLTf	配列番号 58
MtmiPEP171b1	miR171b	メディカゴ トランカツラ		MLLHRLSKFCKIERDIVYIS	配列番号 59
MtmiPEP171b2	miR171b	メディカゴ トランカツラ		MKIEE	配列番号 60
ZmmiPEP171b	miR171b	ゼア メイズ (Zea mays)		MHLPTSPRPPQHTLSFLGKEMTKG TTIACFG	配列番号 61
AtmiPEP171c1 (668 / 1187)	miR171c	アラビドプシス タリアナ	花の発達に関与する AP2遺伝子ファミリー	MLSLSHFHC	配列番号 62
MtmiPEP171e	miR171e	メディカゴ トランカツラ		MMVFGKPKKAMLVRFPKTDLHV	配列番号 63
MtmiPEP171h	miR171h	メディカゴ トランカツラ		MASAAKVYMA	配列番号 64
AtmiPEP172a1 (85 / 734)	miR172a	アラビドプシス タリアナ		MASKIW	配列番号 65
AtmiPEP172a3	miR172a	アラビドプシス タリアナ		MVRFQLSIRD	配列番号 66
AtmiPEP172b1 (79 / 1621)	miR172b	アラビドプシス タリアナ		MCTYYYLYLNKYF	配列番号 67
AtmiPEP172c1 (798 / 1367)	miR172c	アラビドプシス タリアナ		MFPKWCRLES	配列番号 68
AtmiPEP172e1 (835 / 2452)	miR172e	アラビドプシス タリアナ		MGSLSLFKSQLEILMLLSLSK	配列番号 69

10

20

30

40

【表 1 - 5】

AtmiPEP172e2	miR172e	アラビドプシス タリアナ	MSVYHVPISLNCFSPKSSC	配列番号 70
AtmiPEP172e3	miR172e	アラビドプシス タリアナ	MGVPNFRPRNR	配列番号 71
AcmiPEP319a1	miR319a	アラビドプシス セベンネンシス (<i>Arabidopsis cebennensis</i>)	MRSRVSEFFFKIMLFRLLGYRSM	配列番号 72
AcmiPEP319a2	miR319a	アラビドプシス セベンネンシス	MHTYHTISNISSIFFCSKRSEFPTYRI IVVIDPFRIALIFR	配列番号 73
AlmiPEP319a	miR319a	アラビドプシス ハレリ (<i>Arabidopsis halleri</i>)	MRSRVSLFLSFSSNFAYSPRS	配列番号 74
AlmiPEP319a	miR319a	アラビドプシス リラタ	MHTYPPSSFPISNISSVFFCYKRSFSPY TYRIIVVIDPFRIALIFR	配列番号 75
AtmiPEP319a1 (656 / 5917)	miR319a	アラビドプシス タリアナ	MNIHTYHHLLFPVSLVFHQSSDVFNALS LHHTYIEYIVVIDPFRIALIFR	配列番号 76
AtmiPEP319a2	miR319a	アラビドプシス タリアナ	MFQTLYLFIYIHTNILLLS	配列番号 77
BtmiPEP319a	miR319a	ブラシカ ラバ	MEKLYPSAILSTQYMHYTHHRIALIFL SILYPSTNYLMSPILNPT	配列番号 78
CpmiPEP319a	miR319a	カリカ ババヤ	MKIKLGFSLIKIULLDKNS	配列番号 79
CtmiPEP319a	miR319a	カブセラ ルベラ	MHPHTYHIPSSSFLISSFCL	配列番号 80
EgmiPEP319a	miR319a	ユーカリプタス グランディス (<i>Eucalyptus grandis</i>)	MKHIQRWRYGETSGRQGDWKRLEIK VHSNPSLKVKKNTNNFSSSL	配列番号 81
GtmiPEP319a	miR319a	ゴシビウム ライモンディ	MIHFNLSQWRAICMANFHLTYSFLLFG VL	配列番号 82
MtmiPEP319a	miR319a	メデイカゴ トランカツラ	MHVYLELFMVVKGLGFLLLVK	配列番号 83
OsmiPEP319a	miR319a	オライザ サティバ	MEMIQRPCILIKFFFKLSTLYP	配列番号 84
PpmiPEP319a	miR319a	フィスコミトレラ パテンシス (<i>Physcomitrella patens</i>)	MPHRRSSVLLPPFGQTQPNPRCLPDL RFPSCFTPCTA	配列番号 85
ThmiPEP319a1	miR319a	テルンギエラ ハロフィラ (<i>Thellungiella halophila</i>)	MTICKVSKACFYAGKIENSRLKKIGIP KREGAPFSPRENQ	配列番号 86
ThmiPEP319a2	miR319a	テルンギエラ ハロフィラ	MEIQKKKNLYMNTQKLLPNLYIYYK YVFIKLMVVE	配列番号 87
AtmiPEP319b1 (804 / 5120)	miR319b	アラビドプシス タリアナ	MVPQNLWSSRVILKIRIDSSSTHREED HCIQNHKHLGLSFISF	配列番号 88

花及び葉の発達に關与する
TOP遺伝子ファミリー

10

20

30

40

【表 1 - 6】

AtmiPEP394a1 (97 / 1977)	miR394a	アラビドプシス タリアナ	葉の発達及び干ばつ耐性に 関与する F-box遺伝子ファミリー	MSLQFYERVSFKNTVK	配列番号 89
AtmiPEP395c1 (358 / 1429)	miR395c	アラビドプシス タリアナ	発芽及び硫黄代謝に関与する APS遺伝子及びGAST遺伝子の ファミリー	MTEQEEESQMST	配列番号 90
AtmiPEP395e1 (998 / 4700)	miR395e	アラビドプシス タリアナ		MYLQYIDNVISIYNNRRVGRMFESRV PLSTSLEIQFFIK	配列番号 91
AtmiPEP397b1 (453 / 1418)	miR397b	アラビドプシス タリアナ	銅代謝に関与するラッカーゼの 遺伝子のファミリー、 それらの過剰発現は 成長を改善する	MSKEIFFSPGFE	配列番号 92
AtmiPEP398c1	miR398c	アラビドプシス タリアナ	銅代謝に関与する CSD遺伝子ファミリー、 その過剰発現は 成長を改善する	MRTHEQSTAITTLRHCYSSRFMC SQV TPAELFLYRPCFINAVAR	配列番号 93
AtmiPEP399b (11 / 678)	miR399b	アラビドプシス タリアナ	リン代謝に関与する PHO2遺伝子ファミリー	MKRNM	配列番号 94
AtmiPEP399d1 (4 / 622)	miR399d	アラビドプシス タリアナ		MQCEI	配列番号 95
AtmiPEP403 (527470)	miR403	アラビドプシス タリアナ	AGO遺伝子ファミリー	MFCA	配列番号 96
AtmiPEP447a1 (669 / 724)	miR447a	アラビドプシス タリアナ	ホスホグリセリン酸キナーゼ 遺伝子ファミリー	MVMAHH	配列番号 97
AtmiPEP447a2	miR447a	アラビドプシス タリアナ		MMKPRWNCSLYGITEWTNNQNQSK RKGRKTKQWRIGDRDLDTVECHTML SAY	配列番号 98
AtmiPEP447b1 (4 / 1155)	miR447b	アラビドプシス タリアナ		MLLIIVELVL	配列番号 99

10

20

30

40

【表 1 - 7】

ArmiPEP447b2	miR447b	アラビドプシス タリアナ		MLCFNFCVRRFAE	配列番号100
AtmiPEP447c	miR447c	アラビドプシス タリアナ		MYTYQLDINSFSWFLCTRFCLYRYFLF NFCFRFSE	配列番号101
DmmiPEP1a	miR1	ドロソフィラ メラノガスター	筋肉の分化	MWREVCQAQKSTKRRNFITGNQR RNKTKANRKAETKQKQVYEFFVQ ARERCKTRKKHEKKTLKTKKIQ NRYRAVSENEWGKGFPISHI	配列番号102
DmmiPEP1b	miR1	ドロソフィラ メラノガスター	筋肉の分化	MRTKKSNNKKAQFYGGQPTTKQNK SQPKSRNKAASL	配列番号103
DmmiPEP8	miR8	ドロソフィラ メラノガスター	成長	MEPGFVFLPHTLSTQHTQREKSI LVMGLNLQSAKQSDKQNSKERKK NTQINSQRIPYRQGGQCSKVLSP	配列番号104
HsmiPEP155	miR155	ホモ サピエンス (Homo sapiens)	炎症	MEMALMVAQTRKGKSVV	配列番号355
AtmiPEP157c (595 / 1776)	miR157c	アラビドプシス タリアナ	茎の発達及び開花に関する SPL遺伝子ファミリー	MMLHITHRFESDVGC	配列番号375
AtmiPEP157d (527 / 524)	miR157d	アラビドプシス タリアナ		MLYV	配列番号376
AtmiPEP160c (998 / 1790)	miR160c	アラビドプシス タリアナ	発芽、発達及び開花に関する ARF遺伝子ファミリー	MFMRRLGLVYNNIYI	配列番号377
AtmiPEP164b (472 / 1949)	miR164b	アラビドプシス タリアナ	根、葉及び花の発達に関する NAC遺伝子ファミリー	MMKVCDEQDGEAGHVHY	配列番号378

10

20

30

40

【表 1 - 8】

AtmiPEP166c (1042 / 3407)	miR166c	アラビドプシス タリアナ	管、根、葉及び花の発達及び 根粒形成に関与する HD-ZIPⅢ遺伝子ファミリー	MKKRTRINLEEQIKKTLDDSRTRL HSP	配列番号 379
AtmiPEP166d (835 / 1125)	miR166d	アラビドプシス タリアナ	根粒形成、干ばつ耐性、 鹽素欠耐性に関与する OCAAT結合因子の 遺伝子ファミリー	MKKUGSIDSF	配列番号 380
AtmiPEP169a (95 / 784)	miR169a	アラビドプシス タリアナ		MTCRFK	配列番号 381
AtmiPEP169h1 (528 / 349)	miR169h	アラビドプシス タリアナ		MVT	配列番号 382
AtmiPEP169h2	miR169h	アラビドプシス タリアナ		MKNENLCGSQG	
AtmiPEP169n (896 / 5315)	miR169n	アラビドプシス タリアナ		MKCMKKRGLTWRKASCLVAKD DLPDLFRLHDSISNSCILDYYTF	配列番号 383
AtmiPEP170 (575 / 879)	miR170	アラビドプシス タリアナ	花、葉及び根の発達、 根粒形成、根粒形成に 関与する GRAS 遺伝子ファミリー	MFPRESL	配列番号 384

10

20

30

40

【表 1 - 9】

AtmiPEP396a (53 / 3636)	miR396a	アラビドプシス タリアナ	根の発達及び細胞増殖、 側根形成に関与する GRF 遺伝子ファミリー	MTLSVFFHSELELQNFFRFFFSFDI SYA	配列番号 385
AtmiPEP399c (866 / 2703)	miR399c	アラビドプシス タリアナ	リン代謝に関与する PHO2 遺伝子ファミリー	MSLAKGELPCHCFRLNTVYNRFC	配列番号 386
MtmiPEP169d	miR169d	メディカゴ トランカツラ	NF-YA 遺伝子 (又は HAP2 遺伝子) ファミリー	MVKESFMERLKVR	配列番号 424

表 1 潜在的な miPEP(miPEP) のリスト

10

20

30

40

10
20
30
40

[illegible]

AtniPEP162b1	アラビドプシス タリアナ	ATGTTTCTTTAAATCTTTTTAGAGATTAAATAATGATTGTGTTTGTTTC ATCAACCGATTTTTCTCAGATCTGTCAATTATTTTGTATTATTATT ATGATTTATGA	配列番号 1 2 2
AtniPEP163-1	アラビドプシス タリアナ	ATGTCCACTACTCAAGAGCATAGGTCTTGA	配列番号 1 2 3
AtniPEP163-2	アラビドプシス タリアナ	ATGATACTAAAGTGTGGAGTTCGCCGTTCCCTGAGAGTGAGTCCA TATCAAATATGCGCATTCGTTATCACTTGGTTGA	配列番号 1 2 4
AlmiPEP164a1	アラビドプシス リラタ	ATGCCCTTAGCAGTTATTAGACAAGGATTTGTTGGCCCTAG	配列番号 1 2 5
AlmiPEP164a2	アラビドプシス リラタ	ATGCCATCATGGCATGACATGGTTCTTTTGCCTTACGTAAAAACAC ACTCACGCCAACACACGCCACATAACATAA	配列番号 1 2 6
AlmiPEP164a3	アラビドプシス リラタ	ATGACATGGTTCTTTTGCCTTACGTAA	配列番号 1 2 7
AtniPEP164a1	アラビドプシス タリアナ	ATGCCATCATGGCATGGTATGGTTCTTTTGCCTTACGTAAAAACAC ACTCACGCCAGCACACACACACACATAACATAATACGGATG TGCGTGTGAGCTAGTCTTCCATTAA	配列番号 1 2 8
AtniPEP164a2	アラビドプシス タリアナ	ATGGCATGGTATGGTTCTTTTGCCTTACGTAAAAACACACTCACGC CAGCACACACACACACATAA	配列番号 1 2 9
AtniPEP164a3	アラビドプシス タリアナ	ATGGTATGGTTCTTTTGCCTTACGTAA	配列番号 1 3 0
BtmiPEP164a1	ブラシカ ラバ	ATGATGATAATTTTGTGGAAAATAA	配列番号 1 3 1
BtmiPEP164a2	ブラシカ ラバ	ATGCTTTGGGCCAAGCTAGTTTCTTTTAGCACTCTTCACTCACTAG TTTTTCTTCTCAGCCCTTCTTTTGCGTGA	配列番号 1 3 2
BtmiPEP164a3	ブラシカ ラバ	ATGCCATCATGGCATGGCATTTGTCATTTTGCCTTTCGTAAAAACAC ACTCACGCCAACATACATTATTCATATTCATGTGTATGTATATGA ATGCCATCATGGCATATGCCATCATGGCAT	配列番号 1 3 3
CpmiPEP164a1	カリカ ババイア	ATGATTGCATGCCATCCCTACTTGCCTTTTCCCCTTTTCCCTTCTCT AACATTTTACTCAATCTTCTTCTCCCCCTCCCCCTTCCCCCTCTC TGCCATTATAA	配列番号 1 3 4
CpmiPEP164a2	カリカ ババイア	ATGCCATCCCTACTTGCCTTTTCCCCTTTTCCCTTCTCTCAACATTT ACTCAATCTTCTTCTCCCCCTCCCCCTTCCCCCTCTCTGCCATTA TAACCATAAATTAAACCTCTCTCCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTCTGGGTCTCTCAGTATAA	配列番号 1 3 5
CrmiPEP164a1	カフセラ ルベラ	ATGGAATTAAAAAGGTTTGAGAAGTGGCAGTTATTAGACAAAGGTA TAG	配列番号 1 3 6
CrmiPEP164a2	カフセラ ルベラ	ATGCCATCATGGCATGGCATGGTCTTTCTATTGCTTACGTAA	配列番号 1 3 7

【表 2 - 3】

CtmiPEP164a3	カブセラ ルベラ	ATGGCATGGCATGTTTCTATTGCTTACGTAAACACACTCACGC CAACACATACTCACTATACATGTAAATAAGTATGTGCGGTGTA	配列番号138
GtmiPEP164a1	ゴシビウム ライモンディ	ATGATGAGATCAAGAAATTTAAAGTTTCAATATAGATTGGCATG GGTATTGGCGGCAGAAAGCAATTAAAAAACCAGTTATGTCAAAT TCAAGGTCGTATCAGTTAA	配列番号139
GtmiPEP164a2	ゴシビウム ライモンディ	ATGTCAAATTCAGGTCGTATCAGTTAAATGA	配列番号140
GtmiPEP164a3	ゴシビウム ライモンディ	ATGAATGAAGATTAGAAATTTCAACAAGGAAGAGACCCACA GCTTTGTAA	配列番号141
MtmiPEP164a1	メディカゴ トランカツラ	ATGCCAAATTTGATATTTTTTTTATATATTGTATAG	配列番号142
MtmiPEP164a2	メディカゴ トランカツラ	ATGTCATATATCTCTCTCTCTCTAAAGTTGCTACCTATAAATACTA AGCCTTTCCTTGGTTGTTCAATTCAACTTCTACTCTCATCAAA CACAAAGTGCAATAAGCTTCAATTTCTGGGTGAGAAGCTCCTGT TGGAGAAGCAGGCGACGTGCAAAATCCTCTTCTGATTCAATCTCT CATAATGCATATCAATATCTTTTGACGCTGCTCCCTTCTCCAACT AGG	配列番号143
OsmiPEP164a1	オライザ サティバ	ATGCAAAACCCACTCCAACTCCACAATCCACATACTCTCTCTCT CTCTCTCTCTGAGTAG	配列番号144
OsmiPEP164a2	オライザ サティバ	ATGTGTGTGTGTGATATCAATATGCATTCGATGTTGATGCTACTGT AG	配列番号145
AlmiPEP165a	アラビドプシス リラタ	ATGAGAAATTAAGCTATTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATACATATATACATGTTGTTGA	配列番号146
AtmiPEP165a	アラビドプシス タリアナ	ATGAGGGTTAAGCTATTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATAG	配列番号147
BcmiPEP165a	ブラシカ カリナタ	ATGAGAAATGAAGCTATTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATATATACACAAATACGTATATATGTTAATACAAAGTG TTTGATCATATATGATATAG	配列番号148
BjmiPEP165a	ブラシカ ジュンセア	ATGAGAAATGAAGCTATTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATATATACACAAATATGTTATATATATGTTAA	配列番号149
BnmiPEP165a	ブラシカ ナバス	ATGAGAAATGAAGCTATTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATATATACACAAATACGTATATATGATAATACAAAGTG TTTGATCATATATGATATAG	配列番号150

10

20

30

40

【表 2 - 4】

BomiPEP165a	ブラシカ オレラセア	ATGAGAAATGAAAGCTATTTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATATATACACAAGTACGTATATATGTTAATACAAGTG TTTGATCATATATGTATATAG	配列番号 151
BmniPEP165a	ブラシカ ラバ	ATGAGAAATGAAAGCTATTTTCAGTTGAGGGGAATGTTGTCTGGATCG AGGATATTATATATACACAATATGTATATATATGTTAA	配列番号 152
AtmiPEP166a	アラビドプシス タリアナ	ATGTTGGATCTCTTTTCGATCTAACAAATCGAATTGAACCTTCAGATT TCAGATTGTAGTAG	配列番号 153
AtmiPEP166b	アラビドプシス タリアナ	ATGAGAGATAGATAA	配列番号 154
AtmiPEP167a	アラビドプシス タリアナ	ATGAACAGAAAAATCTCTCTTCTCTCTTCTTGA	配列番号 155
AtmiPEP167b1	アラビドプシス タリアナ	ATGATGGTGTGTTTGTGGGATTTAA	配列番号 156
AtmiPEP167b2	アラビドプシス タリアナ	ATGCAGGAGGAAACATATGAGGGGTGA	配列番号 157
AtmiPEP169c1	アラビドプシス タリアナ	ATGCCACATACAAACTTGAAAGATCTCTCTCATCTTTTCTCCAAATG TTTTTTTTTCGTTTGCTATTTATCTCCACAAATTTTGGAAACAAAA CTACATTCACAAACGAGAGAAATTTTCACAAACCTCTTTTGTCTC ATTTTTTTTTTCGTCATTATGAGTATTAATTATGGTTAG	配列番号 158
AtmiPEP169c2	アラビドプシス タリアナ	ATGTTTTTTTTTCGTTTGCTATTTATCTCCACAAATCTTGGAAACAA AACTACATTCACAAACGAGAGAAATTTTCACAAACCTCTTTTGC TCTCATTTTTTTTTTCGTCATTATGA	配列番号 159
AtmiPEP169I1	アラビドプシス タリアナ	ATGAGACATAAAGAGAGTTAA	配列番号 160
AtmiPEP171a1	アラビドプシス タリアナ	ATGAACCTCTCTCAAGAGGAAAGACAGAGGAGGAGACAAAGAA GTATAGGTTTCACATTCATAGCCAGTTTGTGAAAGGATGGAT ATATGAAAAAATATGA	配列番号 161
AtmiPEP171b	アラビドプシス タリアナ	ATGTTCTCTCCGGTAAATTAACAATTTAG	配列番号 162
MtmiPEP171b1	メデイカゴ トランカツラ	ATGCTTCTTCATAGGCTCTCCAAATTTTGCAAAATTGAAAGAGAC ATAGTATATATATCTTAG	配列番号 163
MtmiPEP171b2	メデイカゴ トランカツラ	ATGAAGATTGAAGAGTAA	配列番号 164
ZmniPEP171b	ゼ7 メイス	ATGCATCTGCCTTCAACTCCCTCTCGCCCCCACCACACACAT CTCTCTCTTTTCTAGGAAAGGAAATGACGAAAGGGACGACGACG GCATGCTTCGGCTAG	配列番号 165
AtmiPEP171c1	アラビドプシス タリアナ	ATGTTGTCTCTTTCTCAATTTTCATATCTGCTAA	配列番号 166
MtmiPEP171e	メデイカゴ トランカツラ	ATGATGGTGTGTTGGGAGCCGAAAAAGCGATGTTGTGAGGTT CAATCCGAAAGACGGATTTACATGTATAG	配列番号 167

10

20

30

40

【表 2 - 5】

MimiPEP171h	メディコ トランカツラ	ATGGCTTCAGCTGCAAAAGTATACATGGCGTGA	配列番号 168
AtmiPEP172a1	アラビドプシス タリアナ	ATGGCTTCCAAGATCTGGTAA	配列番号 169
AtmiPEP172a3	アラビドプシス タリアナ	ATGGTTAGGTTCCAAGTAAAGTATACAGAGATTAA	配列番号 170
AtmiPEP172b1	アラビドプシス タリアナ	ATGTGTACGTACTATTATCTCATATAAATAATTTTAA	配列番号 171
AtmiPEP172c1	アラビドプシス タリアナ	ATGTTTCCAGCAAAATGGTGCCGCTTGAGTCTTGA	配列番号 172
AtmiPEP172e1	アラビドプシス タリアナ	ATGGGATCTCTCTCTTTATTAAAGTCAATTAGAGATCTTGATGC TACTTCTGTCCCTTTCAGTGA	配列番号 173
AtmiPEP172e2	アラビドプシス タリアナ	ATGAGTGTATATATTTCATGTACCTATCTCTCTCAATTGCTTCTCAC CAAAATCATCTTGCTGA	配列番号 174
AtmiPEP172e3	アラビドプシス タリアナ	ATGGGAGTTCCCAACTTTAGACCTCGAAACCGATAA	配列番号 175
AcmiPEP319a1	アラビドプシス セベンネンシス	ATGAGATCTAGGGTTTCTTTCTTTCTTCAAAATCATGCTTTTTC GCTTGCTAGGTTATAGATCCATGTAA	配列番号 176
AcmiPEP319a2	アラビドプシス セベンネンシス	ATGCATACATACATACATACCATCTCTCTAATATTTCATCAATCTTCT TTTGTTCCAAACGCCTTTCTCTCCATTACATACATACGAATCAT GTTGTCATAGATCCGTTTAGAATTGCTTTAACTTTTAGATGA	配列番号 177
AhmiPEP319a	アラビドプシス ハレリ	ATGAGATCTAGGGTTTCTTTGTTCCTTTCTGTTTCTTCAAAATTTTGC TGCATATTCTCCAAGATCATGA	配列番号 178
AlmiPEP319a	アラビドプシス リラタ	ATGCATACATACATACATACCATCATCATCTTTTCCCATCTCTAATTT CATCAGTCTTCTTTTGTACAAACGCTCTTTCTCGCCATATACATA CATAAGAAATCAATTGTTGTCATAGATCCGTTTAGAATTGCTTTAACT TTTAGATGA	配列番号 179
AtmiPEP319a1	アラビドプシス タリアナ	ATGAATATACATACATACATACATCTTCTTTTCCCATCTCTAGTTT TTCATCAATCTTCTGTATGTTCCAAACGCTCTATCTTTCATATACA TACATACGAATATATATTGTTGTCATAGATCCATTTAGAAATCACT TTAGCTTTTAGATGA	配列番号 180
AtmiPEP319a2	アラビドプシス タリアナ	ATGTTCCAAACGCTCTATCTCTTCATATACATACATACGAATATAT TATTGTTGTCATAG	配列番号 181
BtmiPEP319a	ブラシカ ラバ	ATGTTTAAGCTCTACTTCTCAGCAATTCTCTCCACCCCAATACATGC ATACATACCATCATCGTATCGCTCTAATTTTCTATCAATCTTGTGA TCCTTCCACAAATTATCTTATGTCTCCCAATTTTAAATCTACATAG	配列番号 182
CpmiPEP319a	カリカ ババイア	ATGAAGATTAAATTAGGTTTATAGTCTTATTAAAGATTATATATTAC TAGACAAAACAGTTAA	配列番号 183

10

20

30

40

【表 2 - 6】

CrmiPEP319a	カブセラ ルベラ	ATGCATCCACATACATACATACATATACCATCATCTCTCTCTCTCA TCTCTAGTTTTTGGTTTATAA	配列番号184
EgmiPEP319a	ユーカリプタス グランディス	ATGAAGCATATTCAAGGTGGAGATATGGGGAGACTTCCGGAAG GCAAGGGGATTTGAAAAGGCTCGAGATCAAAAGTGATAGCAACC CTTCGCTAAAAGGTGAAAAAGAAATACGAAATAACTTCAGTAGCTCAC TTTAA	配列番号185
GrmiPEP319a	ゴシピウム ライモンディ	ATGATCCATTTCACACCTGTCACAGTGGAGAGCAATTTGTATGGCT AATTTCCATCTCACCTATCTTTCTTTCTGTTGGGTTCTCTAG	配列番号186
MtmiPEP319a	メデイカゴ トランカツラ	ATGCATGTATATCTTGAATTGTTTATGGTAATAAAGGGTTAGGA TTTCTCCTTTTGGTGAAGTGA	配列番号187
OsmiPEP319a	オライザ サチイバ	ATGGAAATGATACAAAAGGCCGTGTTTAAATTTTAAAATTTTTCAT AACTTTCACACTTTACATCCCATAA	配列番号188
PpmiPEP319a	フィスコミトレラ バテンス	ATGTTCCACCGTCGGAGATCCTCGGTGCTGCTACCCCCGTTCCGGC CAAAACCAACCAACCCAGCTAGTGTCTGCGGAGACCTCCGCTTCCCC TCTGCTTCACCCCTGCAACCGCTTAA	配列番号189
ThmiPEP319a1	テルンギエラ ハロフィラ	ATGACGATATGTAAAGTAAGCAAGGCATGTTTTTATGCAGGGAA GATTTGAAAAATTCAGATTAATCAAGAAAAATTTGAAATACCAAAAA GAGAGGGAGCTCCCTTCAGTCCAATCAGAGAGAAATCAATGA	配列番号190
ThmiPEP319a2	テルンギエラ ハロフィラ	ATGGAGATTCAAAATTAAGAAAAAGAAAACTTATATATAATGAATAC ACAAAAGCTACCTAATCTGTATATATATATATATATAAATATGTCTT CAITAAATTAATGGTCGTGGAATAG	配列番号191
AtmiPEP319b1	アラビドプシス タリアナ	ATGTTACCTCAAAATTAATCTATGTCATCTAGGGTTATCTTGAAG ATTAGAATTGATTCTAGCACGCACAGAGAGAAAGATCATTTGCATC CAGAAATCAAAAACATG ³ GCCTATCTTTTATCTTTCTTTTGA	配列番号192
AtmiPEP394a1	アラビドプシス タリアナ	ATGTCTCTCCAAITTTATGAGAGGGTTTCCTTCAAGAACACAGTA AAATAG	配列番号193
AtmiPEP395c1	アラビドプシス タリアナ	ATGACAGAGCAAGAAAGAAAGTCAAAATGTCCACATGA	配列番号194
AtmiPEP395e1	アラビドプシス タリアナ	ATGTAATCTACAATATATTGATAATGTAAATATCTATATAATCAAAC AATCGTCGTGTTGGTCGGAATGTTTCTAGAGTTCCCTCTGAGCACTT CATTGGAGATACAATTTTATATAAATAG	配列番号195
AtmiPEP397b1	アラビドプシス タリアナ	ATGAGCAAGGAGATATTTTTTCCCTGGGTTTGAATGA	配列番号196

10

20

30

40

【表 2 - 7】

AtmiPEP398c1	アラビドプシス タリアナ	ATGAGAACACACGAGCAATCAACGGCTATACGCGTACGCTCA TTGTTACAGCTCTCGTTTCATGTGTTCTCAGGTCACCCCTGCTGAG CTCTTCTCTACCGTCCATGTTTATCAACGCCGTGGCCCGTG	配列番号 197
AtmiPEP399b	アラビドプシス タリアナ	ATGAAGAGAAACATGTAA	配列番号 198
AtmiPEP399d1	アラビドプシス タリアナ	ATGCAATGTGAAATATGA	配列番号 199
AtmiPEP403	アラビドプシス タリアナ	ATGTTTGTGCTTGA	配列番号 200
AtmiPEP447a1	アラビドプシス タリアナ	ATGGTCATGGCTCATCATAG	配列番号 201
AtmiPEP447a2	アラビドプシス タリアナ	ATGATGAACACCTCGATGGAACCTGCTCTCTTTATGGAAATCACGGAA TGGACAAATAATCAAAATCAGAAATCGAAGCGGAAAGGAGGA GAAACACGCAGATTGGAGGATTGGGACAGATTAGATACTGTT GAATGCATCACTCTAATGCTATCAGCCTATTAA	配列番号 202
AtmiPEP447b1	アラビドプシス タリアナ	ATGCTGCTTATCATCGTGGAGTTGGTCTGTAA	配列番号 203
AtmiPEP447b2	アラビドプシス タリアナ	ATGCTTTGTTTCAATTCAGGTGCGTTAGAAGGTTTGCAGAGTAG	配列番号 204
AtmiPEP447c	アラビドプシス タリアナ	ATGTACACCTACCAGCTTGATAACTCTTTTCGTGTTCTGTGTA CTCGTTCTGTTGTACAGATACTTCTTGTTCAAATTTTCAGATGCTTT AGAAAGTTTTCGGAG	配列番号 205
dmmiPEP1a	ドロソフィラ メラノガスター	ATGTGCGCGAAGTATGCGCACAAATAAGTCAACAAATAAGGCG CAATTTTATTACGGCAACCAACGACGAAACAAACAAACAAAGCCA ACCGAAAGCAGAAACAAAGCAGCAAAAGTTTATGAATTTT GTGCAAGGCGGTGAAAGATGCAAAACGAGAAATAACATGAAA AAAAACATTAATAAAACAAATAAAATCCAAACAGATACCG AGCTGTATCCGAAACGAGTGGGGAAGGGGTTTCCCAGTCACA TATAA	配列番号 206
DmmiPEP1b	ドロソフィラ メラノガスター	ATGCGCACAAATAAGTCAACAAATAAGGCGCAATTTTATTACGG GCAACCAACGACGAAACAAACAAAGCCAAACGAAAGCAGA AACAAAGCAGCAAAAGTTTATGA	配列番号 207
DmmiPEP8	ドロソフィラ メラノガスター	ATGGAGCCTGGCTTTGTTTGTGTTTATTTCCAAACCCACTTGAGCA CACAGCACACACAGAGAGAAATACTACTCGTTATGGGATT AATTACAAAGCGCAAGCAAGCAGCAAAACAAATTCAAAAAGA AAGAAAAAAACACTCAATAAATCACTCACAAGAAATTCCTTATC GCCAAGGGGGCAATGTTCTAAGGTTCTTCCGCTTGA	配列番号 208
HsmiPEP155	ホモ サビエンス	TGGAGATGGCTCTAATGTGTGCACAAACCGAAGGGGAA ATCTGTGTTTAA	配列番号 356

10

20

30

40

【表 2 - 8】

AtmiPEP157c	アラビドプシス タリアナ	ATGATGTTGCATATCACACATAGGTTTGAGAGTGAATGTTGTTGT TGA	配列番号 387
AtmiPEP157d	アラビドプシス タリアナ	ATGCTGTATGTATAG	配列番号 388
AtmiPEP160c	アラビドプシス タリアナ	ATGTTTCATGCGTAGAGGTTTGGTATACAACAATATATACATATAA	配列番号 389
AtmiPEP164b	アラビドプシス タリアナ	ATGATGAAGGTGTGTGATGAGCAAGATGGAGAAAGCAGGGCACGT GCATTACTAG	配列番号 390
AtmiPEP166c	アラビドプシス タリアナ	ATGAAGAAGAGAAATCACTCGAAATTAATTGGAGAACAATAATAA GAAACCCCTAGATGATTTCTCGGACCAAGGCTTCATTTCCCCCTAA	配列番号 391
AtmiPEP166d	アラビドプシス タリアナ	ATGAAGAAGATCGGTAGATTGATTCAATTTAA	配列番号 392
AtmiPEP169a	アラビドプシス タリアナ	ATGACTTGCCGAATTTAAATGA	配列番号 393
AtmiPEP169h1	アラビドプシス タリアナ	ATGGTGACATGA	配列番号 394
AtmiPEP169h2	アラビドプシス タリアナ	ATGAAGAATGAGAACTTGTGTGGTAGCCAAAGGATGA	配列番号 395
AtmiPEP169n	アラビドプシス タリアナ	ATGAAGTGTATGATGAAGAAGAGAGGTCTAACATGGCGGAAAGC GTCAATGTTTAGTAGCCCAAGGATGACTTGCCTGATCTTTTTCGCCTC CACGATTCAATTTCAAATTCATGCATTTTGGATTATTATACCTTTT AA	配列番号 396
AtmiPEP170	アラビドプシス タリアナ	ATGTTTCCGAGAGAGTCCCTCTGA	配列番号 397
AtmiPEP396a	アラビドプシス タリアナ	ATGACCCCTCTCTGTATTTCTCCACAGCTTCTTGAAGTGAACAACT TCTTCAGATTTTTTTTTTTTCTTTTGATATCTCTTACGCATAA	配列番号 398
AtmiPEP399c	アラビドプシス タリアナ	ATGTCACTTGCCAAAGGAGAGTGGCCCTGTCACCTGCTTCCGCTTA AACACAGTCTATAAACCGGTTCTGCTAA	配列番号 399
MtmiPEP169d	メティカゴ トランカツラ	ATGGTCAAAAGAGTCTTTTCATGGAGAGGTTGAAAGTGAGATGA	配列番号 425

表 2 miORF のリスト

10

20

30

40

【表 3 - 1】

miPEP	生物	pri-miRNAの配列	配列番号
AtmiPEP156a1 AtmiPEP156a2 AtmiPEP156a3	アラビドプシス タリアナ	ATTCAATTGTTCACTCTCAAAATCTCAAGTTCAATTGCCATTTTAYAGTCTCTCTAT AAATTCAAAATGTTCTGTTCATTTCAATGCGTCGCCAGACATCTGTTCCCTTTG CATGTAAGAGAGATAAAGAAAGCGACAAGAGCCATAAAGAAAGGTAAGAC TCTTTGAAATAGAGAGAGATAAGGTTTTCTCTTATCTCTTCTCATCAGATCT TTGTTTCTTTTACCCTCTTTCTTTCTTTTCTTTTATGTTTATGTTTCTTTCT CGATTTAGACAAAACCCTAGATTGATCTTCTAAAGGCTCAAAATGGAAT CTCTCTCTCTCATATCTCTCCCTCTCTCCCTCCCTCTCTTTGATTTCTTTCT TCTCCAGTTAAAACTCAGATCTAACACAAAGCTTAAAGATTTCTCATCTGTTT TTGTTTCTTTTGTTCATCTTGTAGATCTCTGAAGTTGGACTAATTGTGAATGA AAGAGTTGGGACAAGAGAAACGCAAGAAACTGACAGAAAGAGAGTGAGCA CACAAAGGCAATTGCATATCATTTGCACTTGCCTCTCTTGGGTGCTCACTGCT CTTCTGTCAGATTCCGGTGTGATCTCTT	配列番号 209
AtmiPEP156c1 AtmiPEP156c2	アラビドプシス タリアナ	CTCTGCCCTTAGTCTTCTTTTGTGTAATATATTTATTTTTCGTTACGATTG GTCAAAACCCCTAGATTGTTTCCAAAGCATATCTGAAAATGAAGGACAAC TTTCTCTTCTCTCGGTATAAAATATCTCTCCGGTTTGTGTTAAACCT AAAAGCCTCAGATCTAACTCCAAACACCTTCAAAGTCTGCCCTCTTCCAATCT TCTTCTCTGTCGATCTCTAATCTCAGAAATTTGTGCGTAAGGTAAGGTA GATAATGATGATGACTGATGAGGGAGTTTGGGACAAATTTTAAAGAGAAA CGCATAGAAACTGACAGAAAGAGAGTGAGCACACAAAGGCACCTTTCATGTT CGATGCATTTGCTTCTTTCGGTGTCTCACTGCTCTATCTGTCTCAGATTCCGGCT TCCCACATCCAAAGATAGAAAGATGTAAAGTCTAGAGTCTTGTCTTAATCC CCTAACAGAACCAATGATATATATAATAATAATATGGTTCGATATCGGCTGTGG AGGACGACTAGCTACGGTTTCGAGCCTGTGTCACATGCGTAGAGTGTGAAAAG TAATTAGGAGGTGACAGAAAGAGAGTGAGCACACATGTTGTTCTTTCATGTC TTTTTGTATTAGGGTTTCAATGCTTGAAGCTATGTGTGCTTACTCTCTCTCTGTC ACCCCT	配列番号 210
AtmiPEP156e1	アラビドプシス タリアナ	TCCCACAGCCAATGAGCCAAAGATAAAGAAACACCTATCCTATAATAATTTA GAGCAATATACCTCCATAATGGAACATCTATATATAAAGGTATCCGTATA TCTCTATATATATATTCATTGAGTTTAAAGTGGCTAGGTTTATAGATGTAT GTGATATTAAAGAGATATGAACATATTTGTGACCGTTTGTGAGTGGTGAGGAA TTGATGGTGACAGAAAGAGAGTGAGCACACATGTTGGCTTCTTTCATATTG AAGGTTCCATGCTTGAAGCTATGTGTGCTCACTCTCTATCCGTCACCCCTTC TCTCCCTCTCCCTC	配列番号 211
AtmiPEP156f1	アラビドプシス タリアナ	TCCCACAGCCAATGAGCCAAAGATAAAGAAACACCTATCCTATAATAATTTA GAGCAATATACCTCCATAATGGAACATCTATATATAAAGGTATCCGTATA TCTCTATATATATATTCATTGAGTTTAAAGTGGCTAGGTTTATAGATGTAT GTGATATTAAAGAGATATGAACATATTTGTGACCGTTTGTGAGTGGTGAGGAA TTGATGGTGACAGAAAGAGAGTGAGCACACATGTTGGCTTCTTTCATATTG AAGGTTCCATGCTTGAAGCTATGTGTGCTCACTCTCTATCCGTCACCCCTTC TCTCCCTCTCCCTC	配列番号 212

10

20

30

40

10
20
30
40

[illegible]

【表 3 - 3】

AtmiPEP159b1 AtmiPEP159b2	アラビドプシス タリアナ	ATCTTCTTGACTTCTCTCTATAAAGTCTTTCTTTATTTTCTTCTCTACAATA GTTGTTTGGATCGGAAGATCTTTAAAGTTTCCCTTAA TTTCACITTTGTTCTCTCTCCCTTTTCTTTTCTTTTCAGGAATCTTCTTTCTAT GTTTATCTTTCATAAATAGATCTGATAAATTTTGATTTTCTACTATATATAATTAT GGTTAATACTAGTAGCTTTTTCATTTCAAGTTTATCTTCCATTTGGTTCTTTC TGAGTCAAATTGTCCTCTGTTTCGAACCATATATAAGTTTTCAAATGGTTTGT ATTAACCTCAAGTATTCAACATATAGTCTCTCTTTTCTTGTGATCTCTAAAT GCTGTTCATATTTTAAAGCATAGGTTTAGGTTAGATGCAATGTAACCTGCCAATT AAAAGAAGGTCAAAGAGTTTTTGAATTGATGAATATATGAGTTAGTCAAAGC AGATCCACACGATTATATAGAAAACAAAGGAAGAAAGAGGAAGAGAGCTC CTTGAAGTTCAATGGAGGTTTAGCAGGTTGAAGTAAAGCTGCTAAGCTATG GATCCCATAAAGCCTTATCAAAATTCATATAAATTGATGATAAGGTTTTTTTAT GGATGCCATATCTCAGGAGCTTTCACCTAACCCCTTTAATGGCTTCACCTCTCT TTGGATTGAAGGAGCTCTTCATCTCTC	配列番号 216
AtmiPEP160a1	アラビドプシス タリアナ	CATCCACCCCTTAATTGTTTTATATAAACCATTTCTCTCTCTCTCTCCATCAOC TTCAATCTCTCTCGATCTCTCTGGATCCCAATCTCACCTCCATGTTTGTGT TGTTGATTCCCATCTTCTCTTTTGTCTTTTTCACCAAATCTGTCATTTAAGGCTTC AAGAACAGTAACCCCAATTCTCTCCACAAGAGGGAGAGAAACAAAGATCT TCCAATTCCATTTCTCGTACATGCAAAATCACAATCCATGCCATAGATTGTTCT ATTCTCTCTTATTTATGCTTGTATCTGTCTATGCTATGCAATGGACCAAGTGGAGAGA GCATTACTTAAAAAATAGAAATTAGCTATCTGTTTAGGGCAATTAGTTTCTTAA CATAACCATGTATATGTCATGACGCATATACATAATGATGATGATATGATTA TATATGATGCTGGCTCCCTGATGCCATATGCTGAGCCCATCGAGTATCGA TGACCTCCGTGGATGGCGTATGAGGAGCCATGCATAT ACTCATAACTCTCCCCAAATTCTTTGACCAAAATATCCGCCACTTCTCTCTG GTTTCATGTTTCCCTCAATGAAATACATACACATTTTGTGATTTTATAATTAATC AAGATCGACGTATAAGCTATCCACCAATCATATTTAAGGGTCCCGTATACA TATATACTATATATATATGGAATAATAGTCGTGCTGGCTCCCTGATGCC ACAAGAAAACATCGATTAGTTTCAAAATCGATCACTAGTGGCGTACAGAGT AGTCAAGCATGAC	配列番号 217
AtmiPEP160b1 AtmiPEP160b2	アラビドプシス タリアナ	CTCTAACTCATCTCTCTCTCTATGAAAATTCATTTCTGCTGCCGAAGCTTTG ATCAGTACTTCTCTTTTGTGTTGATCTCGGTTTTTGACCAGTTTATTCGCTCGAT CAATGCATTGAAAGTGACTACATCGGGGTTCGGATTTTTTTTGTCTCTCATAT	配列番号 218
AtmiPEP161	アラビドプシス タリアナ	CTCTAACTCATCTCTCTCTCTATGAAAATTCATTTCTGCTGCCGAAGCTTTG ATCAGTACTTCTCTTTTGTGTTGATCTCGGTTTTTGACCAGTTTATTCGCTCGAT CAATGCATTGAAAGTGACTACATCGGGGTTCGGATTTTTTTTGTCTCTCATAT	配列番号 219

【表 3 - 4】

AtmiPEP162a1	アラビドプシス タリアナ	GATGAAGCGGAACACAGTAATCAACCCCTGGTTAGTCACCTTTCACCTGCAATTAA TCAATGTCATTTGTAAAGAGGGAAGCA CTAGAAGAAAAACCAGATCTATAAAGTTTGTATTAAAGATAGAGAGAG AGGAGGATGTAGTAGGCCAATAGGCAATCAGAGAAATCAGAAATGATGATC TGGTCAAGAAGATTCTCTGGTTAAACCTTTCATCTCTCTGTTCTTTCTTCTC TTTGTGGATTCAATTAATTGACATATCTCTATCATCACACTGATTCTTCTCT CCCAGTTTGTCTGCAGATGCATGTGTGTAATCTAGGGTATATGTTTGTGCCA TTTGGTTTCATAAGGCAATAAAGATCCAGCTATTACTACTTGTGGTATAGAT TTTGACTGTTGAATTTTCAGATCTGATGTGTTTCGTTTGATCCGATTCGGA AATTATGTTTCGTTGACATTTTGGAGTTTAGTTGGAAGAGAGTGAGAGTCG CTGGAGGCAGCGGTTTCATCGATCTCTCTCTGTAACACATTAATAAATGTAA AGCATGAATAGATCGATAAACCCTCTGCATCCAGCGTTTGCCTCTTGTATCTT CTTATTGACTT	配列番号 220
AtmiPEP162b1	アラビドプシス タリアナ	CTGCATCTATCCACCTCTCTCTGTAAATTAATCTAAATGTTTCTTTAATCTTT TTGAGATTAAATGATTGTTGTTGTTTCATCAACCGAATTTCTCAGATCTGT CAATTATTTTGTATTATTTATGATTTATGAATGAGGAAAGAGTGAAATC GCTGGAGGCAGCGGTTTCATCGATCAATCTCTGTGAATATTTATTTTGTAC AAAAGCAAGATCGATCGATAAACCTCTGCATCCAGCGCTGCTTGTCTC TATCACAGTTCTCATCAATATTTTGAAGTATCAACAAACAAAGAGAGTG AGAAAAATAAGAGAGAGATAGAGAGATCATGTCCACTACTCAAGAGCA TAGGTCTTGATTGTTGGAAGACAAAGTACCTTAGATAAACCGACCAAAACCCG GTGGATAAAATCGAGTTCCAAACCTCTTCAACGACAAACGATTTCAAACACTCTC TTCCAGGAACAACCTCTCCAGGCAGATGATACTAAAGTGTGGAGTTCCCG GTTCTGAGAGTGAGTCCATATCAAAATGCGCATTCGTTATCACTTGGTTGA ACCCATTTGGGGATTAAATTTGGAGGTGAATGGAACCGGTAAATTGATGAC TCCTACGTGGAAACCTCTCTTAGGAAGAGCACCGTCCGAAAGTAAGTACGCGC AGTGCTTAAATCGTAGATGCTAAAGTCCGTTGAAGAGGACTTGGAACTTCGAT ATTATCCCCGTGT	配列番号 221
AtmiPEP163-1 AtmiPEP163-2	アラビドプシス タリアナ	AGTAGGTTGGAAAAATTTTTCATTTTACTCTAAATAGAAATAGAGTTGG AGATGCCCTTAGCAGTTATTAGACAAAGGATGTTTGGCCCTAGCGATCCCTC TCTTCACTCTCTCACTTTGTAGTTCAACCTCTCTTTTGGTGAGATGCCATCA TGGCATGACATGGTTCTTTTGGCTTACGTAACACACACTCACGCCAACACAC GCCACATAACATAAATAATTATATATACATATACGTAATGTCGTGTGAGTC TTCCATTAAATGCAATCTTTGGCCCTATATATATACAAACCTTCCATAACCA	配列番号 222
AlmiPEP164a1 AlmiPEP164a2 AlmiPEP164a3	アラビドプシス リラタ		配列番号 223

10

20

30

40

【表 3 - 5】

AtmiPEP164a1 AtmiPEP164a2 AtmiPEP164a3	アラビドプシス タリアナ	AAGTTATCATACTACAAAAGCTCTCTCGTACTTGGAAATGCGGGTGAGAATC TCCATGTTGGAGAGCAGGGCACGTGCAAAACCAACCAACACAGAAATCCGTC TCATGTGTTTGGACGTACTCCCTTCTCCAACATGAGCTCCTGACCCATTG AGACAAGCCCCACACTAAAACAGTAATATGGAATAAAAAAAGCTTT CAAACTTAGCAGTTATTAGACAAGGTAATGTTGGCCCTAGCTAGCGATCG TTTAGCTCTCTTCACTCTCACTTTTATGTTCAACCTTCTTTGCGTGAGA TGCCATCATGGCATGGTATGTTCTTTTGGCTTACGTAAACACACTCACGCC AGCACACACACACACATAACATATACGGATGTGCGTGTGAGCTAGTCT TCCATTAAATGCAATCTTTGGGCTATATATACAAACCTTTCCATAACCAAGT TCTCATACTACAAACGCCCTCATGTGCTTGGAAATGCGGGTGAGAAATCTCC ATGTTGGAGAAAGCAGGGCACGTGCAACCAACCAACACAGAAATCCGTCTCA TTTGCTTATTGACGTACTTAACCTTCTCCAACATGAGCTCTTCAACC	配列番号 224
BmPEP164a1 BmPEP164a2 BmPEP164a3	ブラシカ ラバ	AGACAACCCACGTTTAAATAAGAAATGATGATAATTTTGGAAATAAA AGTAGTATATCTTTGCAATAATTAGACAAGGTAATGATGCTTTGGGCCAAG CTAGTTCTTTTAGCACTCTTCACTCACTAGTTTCTTCTCAGCCCTTCTTTT GCGTGAATGCCATCATGGCATGGCATTTGCTTTCCTTTCGTAACACAC ACTCAGCCCAACATACATTATTCATATTCATGTTGATGATATGAAATGTCCA TTAATGCAATCTTTGGGGCTATATATACGAAGTTACATCACCAGCTCTC ATATTACAAAGCTCACATATATATCTTGGAAATGAGTGAGAACCTCCATG TTGGAGAAAGCAGGGCACGTGCAACCAACCAACCAACATGAAATCTGTTTCATAT GCTTTGACGCTGCTCCCTCTCCAACATGA	配列番号 225
CpmiPEP164a1 CpmiPEP164a2	カリカ パバイア	AGACAACACTCCTCTTTGTTCCCTCTCTCACGTAATCCACTTTTGAAATTTGTA ATTTGTGTGCAACCAACATGATTGCAATGCCATCCCTACTTGCCCTTTCCCTTTT CCTTCTCTAAACATTTTACTCAATCTTCTCTCCCTCCCTCCCTTCCCTCTC TCTGCCATTATAACCAATAAATTAACCTCTCTCCCTCTCTCTCTCTCTCTC TCTCTCTGCGTCTCAAGTATAAATGACGCTCTGCTTATACCTCCACACCTA TATATATACCTGACCTTCTTCACTCTCTCACTCCCTCCCTCTCTCTCTCC CAAAACTTCTTAACTGTTCTCTGCAATACATATATATCCACATACATATAT ATATATAGAGAGAGAGTGAGACAGAGAGGTTACCGAGGCAATTGGGTGAGT AGCTCCCTGTTGGAGAAAGCAGGGCACGTGCAAAATCTCCATGGCTTTCCCT CTTTGACGCTGCTCCCTTCTCCAACATGGGTTC	配列番号 226
CrmiPEP164a1 CrmiPEP164a2 CrmiPEP164a3	カブセラ ルベラ	CGGCCACCCCACTTAACAGAAATAAAACTGATGGAATTAAGGTTTG AGAACTTGGCAGTTATTAGACAAGGTATAGTTGGCCCTAGCTCTTTAAAT TAGCTCTCCACTCTCACACTTTTCACTTCACTTCACTTCTCTCTGCGTGAGTCG	配列番号 227

10

20

30

40

【表 3 - 6】

		CGAGATGCCATCATGGCATGGCATGGCATGTTTCTATTGCTTACGTAAAC ACACTACGCCAACACATACTCACTATACATGTAAATAAGTATGTGCGGTG TGAGTCTTCCATCCATCAATGCAATCTTTGGGCTATATATACAAACCTTT TCCATAACCAAGCTCTCATATAAACTACAAAGGCTCACTTGGAAATGCG GGTGAGAAATCTCCAGTTGGAGAGCAGGCGACGTGCAACCAACAAACAC GAAACCTCTCATGTGCTTGCACGTACTCCCTTCTCCACATG	
Gm1PEP164a1 Gm1PEP164a2 Gm1PEP164a3	ゴシピウム ライモンディ	GAAACCCCAAGTTCAGGCTAACAAAGTTATCTGATGATGATCAAGAATTT AAAGTTTCAATATAGATTGGCATGGGTATTGGCGGCAGAAAGCAATTAAAA AACCAATTATGTCAAATTCAAGTCGTATCAGTTAAATGAATGAAGATTAA GAAATTTCAACAAAGGAGAGGAGCCACAGCTTTGTTAAATTAAGTGTGG TTTTATAATTATCATCTCGAAAGTTTCAATAATCAATTAGATTAAACATC TCTGAATTTCAATAATTACAAACCAGATAGATAGATGATAAACTTAGACC CCAGAGATCTGTCTTTAAAGAAATGCCACTTCTAGACTCAATCTCTATACTC TCTTTTCTCTCTCTCTCTCTCGGAAAACTTGTATATAAATAAATGACAC TTCTTTGCTTTCTGCACTCAACTCATGAACCTTGAAAGCTTACTTGGATGG GTTGGTTGGGGTGAGTATCTCTGTGTGGAGAAAGCAGGCGACGTGCAAGTTC CTATGTTTAAAGTAACTTGCACGTCTCCCTTCTCCACCGTGG	配列番号 228
Mtm1PEP164a1 Mtm1PEP164a2	メディカゴ トランカツラ	GAAAGAAAAACCTAGTGTAAAAATTTGATATATCTCTTATGTATAGTACGA ATGTTTTTTAAAAATATGTAAAAAATGATAAAATAAATAACTAAATTT AACAGTAAATTAGAAAGTAAATACTATGCCCAAATTTGATATTTTTTTT ATATATTTGTATAGATTATATTATTTGATATGTAAAGTCCAAATTAATAATTT GTTTTAACTAAGATTGAACTAGGTTTTCTTAAAGACTCATCTTTACTTCA AATTTATTTATCAATTTGAATTCATCTCTCTAATAATTTATTTATTTCC ACCATACTCATTTGCTTCTGCCACGTTACTTTAGTTAGATCTCTTATGTCATAT ATCTCTCTCTCTAAAGTTGCTACCTATAAATACTAAGCCTTTCCCTTGGTTG GTTCAATTCAACTTCTCTCTCATCAACACAAAGTGCATAAAGCTTTCATTT CCTGGGTGAGAAAGCTCTTGTGTGGAGAGCAGGCGACGTGCAATCTCTTT CTGATTCATTTCTCTCATAAATGCATATCAATAATCTTTTGCACGTGCTCCCTTCT CCAACTAGG	配列番号 229
Osm1PEP164a1 Osm1PEP164a2	オライザ サティバ	ATGCAAAACCCACTCCAACTCCACAATCCACATCTCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTGAGTAGGAGTACATGTGTGTGTGTATCAATATGCAATTCGATGTG ATGCTACTGTAGCCATCTTGTGGCTATATAAACCAGCAGGCGACGACAG CTTAGCTAGAGAGCCATATTGCATGCACACTCGCTAATCTCTTTCTCTACTC TACTTGCAATTACACCACCTCTGCTGCTGCACTTGCATTCATTCATTCCTGAT	配列番号 230

10

20

30

40

【表 3-7】

[illegible]

10

20

30

40

40

[illegible]

【表 3 - 9】

		CACAAACAAGTAGTAAGCTCAATAAATGTCTTTGAGCCTTTCAGCATCGTTTC ATATGTTTTCGAAATCCG		配列番号 237
BmPEP165a	ブラシカ ラバ	GAGATCAATGAAAATTATCCTGCCAAATAAAAGGTGTGACGTTTATTCAAAA TATATGCAATTAATGCTTTGATATTAATAATATTTCCTTTTAAAGCTAGCTAG GGTTAGGAAATGACGAGTTGTGTCTTATTAAGCCCTTCTTCTCCTCCGCCA CTCATCATCCCTCATCAATAACACCATCATCACCATTCATCCACCTCTTCTCTC CT GAGAAATCTGCTAAATAATTGTGATTATCATGAGAAATGAAGCTATTTCAG TTGAGGGGAATGTTGTCTGATCGAGGATATATATATATACACAAATATGTAT ATATATGTTAATATCAGTGTGTGATCATATATATGATATATAGATTATCTCGG ACCAGGCTTCATCCCTTCAACATGTTATGCTCTGATCACCAGATTCTATC AACTCTTAGCTTATTATTGTCAACAACAAGTAATAAGCTCAATAAATGTCTTT GAGTCTTTCAGCATCGTTTCATATGTTTTCGAATCCG		
AtmPEP166a	アラビドプシス タリアナ	CATCATCACCACTCACTTATCTTCTTCTCCATCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT ATCTTAGCCGGTCTCTGTTGGGACGACATAGAAAGAGAGAGATATAAAG ATATATATTAGAAACCCCTAGATTCTATAATTCGACTGAAAGAAAGG GCTTCTCTTTTGAAGGACTGTGTGCTGGCTCGAGACTCTGGCTCGCTCTA TTCATGTGGATCTCTTTCGATCTAACAAATCGAAATGAACCTTCAGATTTCAG ATTGATTAGGGTTTACGGTCTTCGGACCAAGGCTTCATTCCTCCCTTCTCT GCTCCCTGTTTACTCCATAATTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT AGTGAATGAACCCCTGTAAAGGTTTGTATCTCTTACCTTACTTT		配列番号 238
AtmPEP166b	アラビドプシス タリアナ	TCTCATCATCTCTCTCATCATCACCAATTCATCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT CT GAGATAGATAAATAATAAGAAATTCCTCGAATAAACCCTAATAGAAAGG CTGTTCTTAAAGAAAGAAAGAAAGAGGATTTAAAGAGGGATTTTCTTTG AGGGGACTGTTGTCTGGCTCGAGGACTCTTATCTAATAACAATCTCATTTGAA TACATTCAGATCTGATGATTGATTAGGGTTTGTAGTGTCTCGGACCAAGGCTTC ATTCCCCCAA		配列番号 239
AtmPEP167a	アラビドプシス タリアナ	TGATGAACAGAAAATCT ATGGTGCACCGCATCTGATGAAGCTGCCAGCATGATCTAATTAGCTTTCTTT ATCCTTTGTTGTTTCAATGACGATGTTAAGAGATCAGTCTCGATTAGATCA TGTTCCGAGTTTCACCCGTGACTGTCCGACCC		配列番号 240
AtmPEP167b1 AtmPEP167b2	アラビドプシス タリアナ	AACCACAAAGTACCGCTGCTATTTCTTTTACGTCCTTTGTATTGTCATCGTCT AAGAGATGATGGGTGTTTGTGGGATTTAATGCAGGAGGAAACATATGA		配列番号 241

10

20

30

40

【表 3 - 1 0】

AtmiPEP169c1 AtmiPEP169c2	アラビドプシス タリアナ	GGGTGATTAAGGCAAAACCTTAAGATGTGTCATTTAGATACATGGAGTC AACTAAGAAATGGACCTTGGCGAAAGCTTCTTCACGGTCAAGATTTAAAATC AGGTACGACACTGTACGTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAT ATAGAAAGAAAGAGATGATCAACAATAAAGGAGTATATTTAGGGTCACAGG TGGTGAGATATAGGTATGCAGGGCCAAAGGCTCTAATCTCTTCATAGCCCTA TTGATTTGTCCCTCC ATGCGTCTTTTAATTCACGTGTTTCAGGCTCTTTAATTCGTGGTCTCTCTCC TTTTACCCCAACCATCTCTTAAATTTTAAACATCTGTCTCCCAAAATCTCTCT CATCTCTTCTATAAGTATCTATAGCGCTCTTAAACCAACAAAGCATCACCTC TGCTCTCTCATCTCCCTTCTGTATCTCTTTCATTCCTTCACGTCGTGTGCA ATTCTCCACTTCTTGAGCTTCGTTTTTACAATTATGATCCGTCAAAATATG TGAGATTTGCACAACTTGTGCTCAGGTATTTGAAGACAAGTCCACAAGGG AACAAAGTGAAAGCTGCCAGCATGATCTATCTTTGGTTAAGAGATGAATGTGGA AACATATTGCTTAAACCCAAAGCTAGGTGATGCTCTGTGACAGCCTCACTCTCTCC T	配列番号 242
AtmiPEP169l1	アラビドプシス タリアナ	GAGCAAGACAATGCCACATACAAAACCTTGAAAGATCTCTTCATCTTTTCTCCA AATGTTTTTTTTCGTTTGTATTTATCTCCACAATTTCTTGGACAACAAAACCTAC ATTCACAACAGAGAGAAATTTTCAACAACCTCTTTTGTCTCTCATTTTTTTTTT TCGTCCATTATGAGTATTAATTTAGTTAGGGAATCTTACAGAAATGAATAATG AAGGTGTGAATGATTGTCTCATCTTAAAGCCTTGAATGTGGGAAAAGGCCCA TTGTTGTTTCAGCCAAAGGATGACTTGCCGGTAGCTTGTATTAATGATTACTCTAT ATTTCGATTTATATTGAGAGATGATGGTTTATATATATAATTTACTTATCTACATA GTTTTAGTTGATTTTTTTTCGTACGTAATAATAACGAAAAGTATTTACTTTA TTTATATATGTGTGTGGGCAAGAGTGAACCAAGTAGCCCGGCAAGTC ATCTATGGCTATGCAACTGTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT TAAAAAATCCCAATATCACTAATAATGATATGAAATATGGAATG	配列番号 243
AtmiPEP171a1	アラビドプシス タリアナ	AGGCATGAGACATAAAGAGAGTTAAATATAATGAAGAAGAGAGGTCATAATA TGGCGAAAAGAGTCATGTTAATAGCCAAGGATGACTTGCCTGATCTTTTTC ACCTCCATGATTCAATTTTAAAGTTCGTGGATTTTGGATTATATGCGTTTAAA AGGTATAATAATTGAGATCATGTTGAATCTTGGGGTTAGGTTTCAGGCAG TCTCTTTGGCTATCTTGACAATGCTTTCTTCTCATC	配列番号 244

40

GGTGGCCAGCTTTTGTGCTTTGGTAGTAGATGAGGTTTAAATGCTCCATA CCTCCATTTCCCTCTCTCTACCCCTAAATTTAAATCTCTCTCTCTTATAACTC CCCACAGACATTCCTCACTTCTCTCTCTCACTTCACTTCACTCAACACTTCTTCTT GTTTTTCATTTTACAATGTTTCTCTTGATATCCGCACCTTTAAGCATGAGAGA GTCCCTTGATATTGGCTGGTTCACCTCAGATCTTACCTGACCCACACACGTAG ATATACATTATCTCTAGATTATCTGATTGAGCCGCGCCAAATATCTCAGTA CTCTCTGCTCTATTTGGACTTTTGGTCTTTGTAGATCGATTTGTATGTGTG TGTGAAATGGAGACAAGTACTTGTAACTTCTTTGTGTTGTTATATTGTTACCT ATAGGCTGATGTGCATAAACTCTTTTGATCTTTCTAACTTCCAGATCTTG AAAAAATCAAGTCGTGTGTGCTCTCCATGGAAGCCCTTTTCCATTTCTCTCTT CCA			アラビドプシス タリアナ	AtmiPEP171b	配列番号 245
ACTCATAAACTTTGCTACTGGCCGCATTTCTATTTCTCTCTCGATTCTCTAA TTCTGACTTTGGTTTCTGACGTCCCTAAATTTTACACAGTAAGAGTTCTC CAGGATCCGATGGTTCTCTCCGGTAAATTAACATTTTGTGTTCTGGAGCTAAG TATACATAATTTTATTTTCACTTTTGTGTTTGTGTTTCTGGAGCTAAG TGGAGATTATAGTCGAACAAGAGTGGTTTATGCAAGTAAACGCGAGATATT AGTGGGTTCAATCAATAAGTCGCTCTTAACTCATGGAACGCGTGTGT TCGATTGAGCCGTGCCAATATCACGCGGTAAACCAAAATGGCAAAAGATAG TTATTATAACCTTAAAGGTATGATCATATATCGTTTATTGTTTCAATTTTGAT TAATGGCTTTGATATTTCATTTT			メデイカゴ トランカツラ	MtmiPEP171b1 MtmiPEP171b2	配列番号 246
ATTGGTCAAAACATACATACAGTAGCACTAGCTGGTTTCAATTATCCACTATGC TTCCTCATAGGCTCTCCAAATTTTGCAAAATTTGAAAGAGACATAGTATATAT ATCTTAGCAAGGAGAAATTCAGGATATTGAGGATGAAGATTGAAGAGTAAT CAGTGATGAAGAAAGCAAGCAAGGTATTGGCGCGCTCAATTTGAATACAT GGCTATAAAATATGCATCATATCAGCCATGTAGTTTGTAGCCGCGTCAAT ATCTTGTCTCCATCTCCAAATTTACCAATCTCATCAAAATCAAAATTAACACCAC AATCAAGGCTTTCATTTAATGTCAGTCAAAATAGGTTGACCTTATCATCGAAG AAATTTGTTTCTCATTCCTATCGAAGTTGGACTTGGCGGAAATGCTCGAAAGC ATGTGTTTGTAGTTGACAGCGGCAAAAGTTACCGAAGGACAAATTTGGTTGTG GTTCGGATAAGATCAAGCAACGGATATTTTCAAGACACGTTTCGAAATTCAAA TCAAATGGATAAGTATCGTTAGTTTACTGCAGTTATAGTTTAAATTCAAATC TAGGCAGTTGTTTCTATTGTATAAATAGTATGTTTCTCCCTAGGGGAAAAGGGG TCGCAATTCATCATACAAAAAATTAACAATCAAAATATCCGCATGGAAGAG AGAAACGAGTCACAAAGTTGCAATGTATGAACATGTGTACCAATTTACATTC ATCAGTACAAATTTAAGTTCAATTTCCATATAAAAAAAA					

【表 3 - 1 3】

MtmPEP171h	メディカゴ トランカツラ	配列番号 250	CCACAAACTATAAAGTAGTAGAGCTTTAAATCGCCTTATTATTATAATAAT AATAATAAATATGGCTTCAGCTGCAAAAGTATACATGGCGTGATATTGATCC GGCTCATCTATATCTTCAAGTTCAATCATCCATATTCATATCAATTCAGACG AGCCGAATCAATATCACTCTTGTGTTGCTTCATTCATATTAATTAATCTTC ATTTAAGTTATAGTTGCCATATATATATAGATTGATTCGCAAGTAG ACAGGAGTGGTGTGTTCTGCTCATCTTATTAATAATGAATGAATGAATG ACATTTGCTTACTTATAAGACGAGCCGAATCAATATCACTCCAGTACACCT CT GGTTAATATATGGCTTCCAAAGATCTGGTAATATGTTATAAATACGTCATACTT AAGCTTTTTCAAAATCAAAATAGAAAATTTGTGGGTTTGTCTCGTTTTACTAT TTAGCAGTATATATTAAGAAAGTTCAGATGTTATTCGATCATCTGTTTTGCT TCCCTCTGCCAICTTTATCTTTTAGGGTTTCAATCTTTTCACTTTTCTTC TGGTTGGAGATGGTTAGGTTCCAACTAAAGTATACGAGATTAAATTTGACAT CTTAGTTACTTCAAAATTCCTTCAATCAAAACAAAGTCACTCGACTATCCGC CATGTTTGATATACATATTTATATATATATATATATGAAGTACGAGTTCTA GTGCTATAAATTAAAGAAAGTTAAGTACCATAATAGATGATATTTGTTAAGTA GTAAGTCACTCAAAGTTGAGTTGGGTTGAGTTGAGTTGAGTTGAGTTGAGTT TGAGAGACAAAGATTACTACAAGAAGATTGTTAAACAAAAATGGAAGACT AATTTCCGGAGCCCGGTCGTGTTGGTGTGCTGCTGAGCATCAAGATTAC ATCTGTTGATGGACGGTGTGATTCACCTCTCCACAAAGTTCTCTATGAAAA GAGAACTTGTGATGCTGCAATCGGC
AtmiPEP172a1 AtmiPEP172a3	アラビドプシス タリアナ	配列番号 251	ACTTGCACCTCTCCTCCTCCCTTTCTCTAACTAGTCTTGTGTGCACCCATTATGT GTACGTACTATTATCTCATATAATAATATTTTAAATAATTAGATGCATTTATTTG ATATGAAAAAGTTACAAAGATTAGTTTGTGTGTGTGAGACTTTGGATCGACA GATCGAAAAAATTAACCTAACCGTCAATTTGAATATCAACTATTATATGCTC CATGCATTGCTTATAGTTTTCACACAATTTGTTTCTTCACTGCTTAAATCA GAAGATTCCATATAATTTCTTATGACGTAAAGGACCACTTATAAGTTGACA CGTCAGCCCTTGGATTCTGTGAGGTTTCTCTCTACTTCACTTCTACTTTTC CTCATATCCCACTGCTTTCTCTCTCTCTGTTCTGTTTCTGTTTCTGTTTCTTC TTCTTCTCCAAAGAAATAGAGATCGAAAGATTAGATCTATTGTTGTAGCA AGAAATTATCATTTCTGTTCTTCTCATATATATGTTCTATTATGTTGTACAA TAATAGATACTCGATCTCTTGTGCGTGGTAAATTTTATACAAGTTGTGGCG GATCCATGGAAGAAAGCTCATCTGCTGTTGTTGTAGGCGCAGCACCATTA GATTCACATGGAAATTGATAAATACCCCTAAATTAGGGTTTGTATGTATAT GAGAACTTGTGATGCTGCAATCAAC
AtmiPEP172b1	アラビドプシス タリアナ	配列番号 252	ACTTGCACCTCTCCTCCTCCCTTTCTCTAACTAGTCTTGTGTGCACCCATTATGT GTACGTACTATTATCTCATATAATAATATTTTAAATAATTAGATGCATTTATTTG ATATGAAAAAGTTACAAAGATTAGTTTGTGTGTGTGAGACTTTGGATCGACA GATCGAAAAAATTAACCTAACCGTCAATTTGAATATCAACTATTATATGCTC CATGCATTGCTTATAGTTTTCACACAATTTGTTTCTTCACTGCTTAAATCA GAAGATTCCATATAATTTCTTATGACGTAAAGGACCACTTATAAGTTGACA CGTCAGCCCTTGGATTCTGTGAGGTTTCTCTCTACTTCACTTCTACTTTTC CTCATATCCCACTGCTTTCTCTCTCTCTGTTCTGTTTCTGTTTCTGTTTCTTC TTCTTCTCCAAAGAAATAGAGATCGAAAGATTAGATCTATTGTTGTAGCA AGAAATTATCATTTCTGTTCTTCTCATATATATGTTCTATTATGTTGTACAA TAATAGATACTCGATCTCTTGTGCGTGGTAAATTTTATACAAGTTGTGGCG GATCCATGGAAGAAAGCTCATCTGCTGTTGTTGTAGGCGCAGCACCATTA GATTCACATGGAAATTGATAAATACCCCTAAATTAGGGTTTGTATGTATAT GAGAACTTGTGATGCTGCAATCAAC

10

20

30

40

40

AtmiPEP172c1	アラビドフシス タリアナ	TCACCAAAATAGGCTCTTCTTTATCGCTTCATATATATAAAAAGTCTACATCTAT CTCTTTCTAGGTCACCTAGCTAGACTCTAGATTAAAGGATTGAAATTAGGGTTTC ATGTTTCCAGCAAAATGGTGCCGCTTGAGTCTTGAAAAGATCCAAAGACAAA ACCAAAATCACTACATACATCCCTATCATCAACCAAGCTACTGTTCGCTGTGGGA GCATCATCAAGATTCACAAATCATCAAGTATTCTGTGTAATAAACCCATTTA TGATTAGATTTTGTGATGTATGAGAAATCTTTGATGATGCTGCGAGCTGCAAT CAGTGGCT	配列番号 253
AtmiPEP172e1 AtmiPEP172e2 AtmiPEP172e3	アラビドフシス タリアナ	TGTCATATTGAGAACTCTTTAGCCCTTTGGCTTCTGTTCTGACACTTGTATAG TGAAAGTGGCTTGTGTTATATAGATGGGATCTCTCTCTTTATTTAAAAAGTCAA TTAGAGATCTTGATGCTACTTCTGTCCCTTTCCAAAGTGATTTACGTCGACCA ACTAGCTTTTTTCATATGAGTGTATAATATCATGTACCTATCTCTCTCAATTGC TTCTCACCAAAATCATCTTTGCTGATTCAATTTGCTGTGAATCCCTCTGCTTTC CTCTTTGCTTTTTCATTTGTTGATTTAAACCATGGGAGTTCCCAACTTTAGACC TCGAAACCGATAAGGATCTTTCTCTGCGGTTGAAATAGCTAGTTCTCGATG AATAGGCTAGCCTTTGGTGGATGTATATCAGCCAGTAGTCGCAGATGCAGCAC CATTAAAGATTCACAAGAGATGTGGTTCCCTTTGCTTTTCGCTCTCGATCCGCA GAAAAGGGTTCCCTTATCGAGTGGGAAATCTTGATGATGCTGCATCAGCAAATA C	配列番号 254
AcmiPEP319a1 AcmiPEP319a2	アラビドフシス セベンネンシス	TTGTAATCCATAGTGTATTTCTCTCGCATCTACCAATCCATTTTCTACGCCCTCTCTC TCTCTCTTTCTCCATCAAAATCTTGTTTGTTCAAAATCTCTCTCTCTCATCAATTC TCTCCATAACAATACATGCATACATACATACATACATACCATCTCTAATATTTCATCA ATCTTCTTTTGTCCAAACGCTCTTTCTCTCCATTACATACATACGAATCATTT GTTGTCAATAGATCCGTTTAGAATTGCTTTAACTTTTAGATGAGATCTAGGGTT TCTTTCTTTTCTTCAAAATCAATGCTTTTTCGCTTGTAGGTTATAGATCCATG TAAGTTTAGAGTAGATGTACACACACACGCTCGGACACTTATTAAATACATG TTGATACACITTAATCTCGCTGTTTGAATTGATGTTGTAGGAATATATAAAT GTAGAGAGAGCTTCCTTGAGTCCATTACAGGTCGGATATGATCCAATTAGC TTCCGACTCATTCATCCAAATACCGAGTCGCCAAATTCAAAATTAGACTCGTT AAATGAATGAATGATGCGGTAGACAAATTGGATCATTGATTCCTCTTTGATTG GACTGAAGGGAGCTCCCTCTCTCTCTGTATCC	配列番号 255
AhmiPEP319a	アラビドフシス ハレリ	TTGTAATCCATAGTGTATTTCTCTCGCATCTACCAATCCATTTTCTACGCCCTCACTC TCTCTTTCTCCATCAAAATCTTGTTTGTATCAAACTCTCTCTCTCTCTCTCTCAT CAATTGTCTCCATACAATACATACATACCATCATCTTTCCCATCTCTAATATT TCATCAATCTCTTTTGTTCAAAACGCTCTTCTCTCTCCATATACATATACATACA	配列番号 256

【表 3 - 1 5】

		TACGAATCACAATTGGTGTATAGATCCGTTTAGAATTGCTTTAACITTTAGAT GAGATCTAGGGTTCTTTGTTTCTTTCGTTTCTTCAAATTTGCTGCATATTC TCCAAGATCATGATTTTTCGCTTGCTAGGTATAGATCCATGCAAATATAGAG TAGATTTACACACACACGCTCGGACACTTATTACATACATGTTGATACAC TTAATACTCGCTGTTTAAATTGATGTTGTAGGAATATATATATGTAGAGAGA GCTTCCTTGAGTCCATTACAGGTGCTGATATGATCCAAATTAGCTTCCGACTC ATTCAATCCAAATACCGAGTCGCCAAATTCGAACCTAGACTCGTTAAATGAAT GAATGATGCGGTAGACAAATTGGATCAATTGATCTCTTTGATTGGACTGAAG GGAGCTCCCTCTCTCTCTGAT	配列番号 257
AlmiPEP319a	アラビドプシス リラタ	TTGTATCCATAGTGTATTTCTCTGCACTACCATCCATTTTCTACGCCCTCTCTC TTTCTCCAATCAAATCTTTGTTTGTCCAACTCTCTCTCATCAATTCATTCCA TACAAATACATGCATACATACATACCATCATCATCTTTTCCCATCTCTAATAT TCATCAGTCTCTTTTGTACAAACGCTCTTTCTCGCCATATACATACATAAG AATCATTTGTTGTCATAGATCCGTTTGAATTTGCTTTAACTTTTAGATGAGATC TAGGGTTTCTTTCTTTCTTCAATTTTGTGCTGATATTTCTTCAAATCATGAT TTTTCGCTTGCTAGGTTATAGATCCATGCAATAATAGAGTAGATGTACACAC ATTACGCTCGGACACTTATTACATACATGTTGATACACTTAATCTCGCTGT TTTGAATGGATGTTGTAGGAATATATATGTAGAGAGAGCTTCCCTTGAGTCCA TTCACAGGTCGTGATATGATCCAAATTAGCTTCCGACTCATTCACAAATACC GAGTCGCCAAATTCGAACCTAGACTCGTTAAATGAATGAATGATGCGGTAGA CAAAATTGGATCATTTGATCTCTTTGATTGGACTGAAGGAGCTCCCTCT	配列番号 258
AtmiPEP319a1 AtmiPEP319a2	アラビドプシス タリアナ	TTGTATCCGCAGTGTATTTCTCTGCACTACCATCCCTTTTCTACGCCCTCTCTC CCTCTCTCTTTCTCCATCAAATCTTTGTTTGTCAAACCTCTCTCTCTCAT CTATTCTCTCCATACATACATGAATATACATACATACCATCATCTTCTTTC CCATCTCTAGTTTTCATCAATCTTCTGATGTTCCAAACGCTCTATCTCTTCAT ATACATACATACGAATATATTTGTTGTCATAGATCCATTTAGAAATCACITTT AGCTTTTAGATGAGATCTAGGGTTTCTTTGTTTCTTTCAAATTTTGTGTCATA TTCTTCTAAATCATGTTTTCGCTTGCTAGGTTATAGATCCATGCAAATATG GAGTAGATGTACAAACACACGCTCGGACGCAATTAACACATGTTTCATACACT TAATACTCGCTGTTTGAATGATGTTTAGGAATATATATGTAGAGAGAGCT TCCTTGAGTCCATTACAGGTCGTGATGATGATTCATTAAGCTTCCGACTCAIT CATCCAAATACCGAGTCGCCAAATTCAAACCTAGACTCGTTAAATGAATGAA TGATGCGGTAGACAAATTGGATCAATTGATCTCTTTGATTGGACTGAAGGGA GCTCCCTCT	

10

20

30

40

【表 3 - 1 6】

BrmiPEP319a	フラシカ ラバ	TTGTATCCATTGTGTATTTCTTGCATCCATCAATAAATTTATGTTACGCCTC TCTATTATTTCTCTACATCACACTGTCTTATGTTTAAAGCTCTACTTCTCAGC AATTCTCTCCACCAATACATGCATACATACCATCATCGTATCGCTCTAAATTT TTCTATCAATCTTGTATCTTCCACAAATATCTTATGCTGAGATCCATCCATTAC CTACATAGATCCACACATACGAATATTTCTTGTCTGAAGATCCATCCATTAC GATTGCTTTAACTTTACATGAGATCTAGGGCTTCTTATTTTCTTCAAATCT TGCTGCATATATTTCAAGATCATGCTTTTCGGCTTGTAGGGTTCTAGATCCA TGGATGTATAGGTACATACATACACGCACTAATTCATACCTGTAGTTGTAC GGAGAACATCATAAATATCACTGTTTGGAAATTAATCGGTAGGAAATATAG ATAGGTAGGGAGCTTCTTTAGTCCATTCACAGATCATGATGATGCCAATT AGCTTCCGACTCATTCATCCAAATACCGAGTCACGAAATTTCAACTTAGAC TCGTTAAATGAATGAATGATGCGGTAAACAAATTGGATCATTTGATTTCTCTCT GATTGGACTGAAAGGAGCTCCCTC	配列番号259
CpmiPEP319a	カリカ ババイア	CTATACTCCCTGTCAAATAGTACTTGGTTTGTGTTTAGCCACAAATCTTCTGGT CTTGCAAAAGTTCTCTGATCTCTCCCCCTTCTCAATTTTCTCCTCTTATAT ATGGATCATCAATTTGCTGTACACACACACATTTACTGTAGTGATAATTA GCTAGCTAATTTGTTAGTATGTAATTAGATCCCAAGTACCTGTTATATTT TTTAGGCTTATCCTATGCTATACCTGATAGTACAAAGAACTTGTGTGTAATTAG GTACTTGGTAGTAGGTTAGATTAATTAAGTTTGTGTTTAAAGAACTTATCCA ACAAATAGAGCTATGAAGATTAAATTAAGTTTGTGTTTAAAGAACTTATTA ATTAAGTACACAAACAGTTAAATTTTAAATTTGGTAAATTAGGTACTTAGC AATAGGTTAGATTAAATTAAGTCTTAAAGAAAGAGAACCTACCTACAAATAGAG TTGAAATGATTATGTTTAAAGTCTTAAAGATAGTCAATTTCTGGAATAAATA CAAATCTTGAAACAGATAATTCAGATAGTCAATGGAATAAATAAATCAATCA TGGGTGTGTCTTAAATTAAGCTAATATATATATATATGAAGATATAATGTTAT GCACACTAGCTATGAATTTGTAAGAAATAATGAAGGATAAAGATGATATATT AGATGTTATAAGTGAAGTAAGTGAATGAGTTGATGGGTAGTAGTAGTAG TAGTAGAGATGATTGGTGGAGAGAGCTTCTTCAAGCCACTCATGGATGGGT ATGAAGGGGTAGAAGTAGTGGCGACTCATTCATTCAGCCACTCAGTATGTA AACTCGTCCCACTGTGACTGTATGAATGATGCGGGAGATATTTTACATCCA TCTTCTCTGTGCTTGGACTGAAGGAGCTCCTCTCT	配列番号260
CtmiPEP319a	カフセラ ルベラ	TTGTATCCATAGTGTATTTCTCGCATCTACCATCTACTATTTTCTACGCCTCT CTCTCTTATCCCTCTATCTCTTCTCTCATCAAAATCTTCTTTTGTCAAAGTCTC TCTCATCAATTTTCTCTATACACATACATCATCCATCCACATACATACATAT ACCATCATCTCTTTCTCATCTCTAGTTTGTGTTTATAAATTTGTTCCTCAAGG	配列番号261

10

20

30

40

【表 3 - 17】

		ATCTGTATCTCTCCAAATAAAGATACATACAAATATTGTTGTCATAGATCTAT TAGAATTGCTTTAACTTTTATATGAGATCTAGGATTTCTTCTCTTTTCAAA ATTTGCTGCATATTTTCAAAATCATGATTTATCGCTTGCTAGGTTCTAGATC CATGCAAAATTTAGAGTATTTTACACACACACAGCTTGACACAAAGTACAT ACATGTAGTTTCTTTTATGTGTGAAAGTACATAACATGATGTTTATAGTT ACTAGTCGCTATATAATTTAAATTTGATGTTATAGGAATATATGTACGGAGA GAGCTTCCTTGAGTCCATTCAACAGGTCGTGATATGATCCAAATAGCTTCCGAC TCATTTCATCCAAATACCGAGTCTCACCAAAATGGAACAAGACTTGTTAAAT GAATGAATGATGCGGTAGACAAATTGGATCAATTGATCTCTTTGATTGGACT GAAGGGAGCTCC	配列番号 262
EgmiPEP319a	ユーカリプタス グランディス	TCGTTTCCCATCCCATTTTCATAGAATAATGCCACCAACAAAGAAAGCATTA GCTCAAAGACTAATTACCATCTGTTTATTGATAGATACGTGCGAAACGGTG ATTGTTTTCCTCCAAATAAGAAACCAAAATGAAGCATATTCAAAAGTGGAGA TATGGGGAGACTTCCGGAAGGCAAGGGGATTGGAAAGGCTCGAGATCAAA GTGCATAGCAACCTTCGCTAAAGGTGAAAGAAATACGAATAACTTCAGTA GCTCACTTTAAATCCGAAACATTAACAAATCAAAATCTCCCTGCCCTCCTT GCCTCCTCTTTACCTATATAAGCCACCGCCCTTCAATGAATCCACGAG TGGAAAGGTCACAGTATAGAGGTCTGCAAGGGAGAGCGAGAGCGGCTC CACTGTCTACCTATAAGCAGTTCCTTTCTTTGTTTACATGTCTGTGACCTC ACCGAGTTTCTTCTTCTCTCTGTTGTTAGCAGATTTCTCAGGGGA CTTCCCTCCTCCTTGAGGATCCTTCTGTAAGCGATATGTCTCGAATGGGT AAGAGAGAGAGAGGAGGAGCTTTCTTCAGTCCACCCATGGGACGTGTIG GGTTTAAATTAGCTGCCGACTCATTCATCCAAATACCGAGCGAGCAAGTA ACAGAGCTCCGTAAATGAATGGATGATCGGGGAGTCTTGTGATTCCCAAGC TTTCCGTGATTGGACTGAAGGGAGCTCCCTCTATCT	配列番号 263
GmriPEP319a	ゴシピウム ライモンディ	GGGTATCCTTCCACTTACGGATTACCATAGCTGCTATAGCCCGAGTTTGCTT GTCATAATAGAAATAAATAAGGGAGAAATAAGCTCTCCACTCTCGCTTTT TCTTCTCGAGTCTCTCTTTGACTGGCCTTTGTGCAAGATCTTCTTTT AAACAGTCGCTTTCTTACTCTCCCTTTCCCTTCTTCTTAAATGCTAAAGC AGCTTCCACTTCCACTTAAACCCATGATCCATTTCAACCTGTCCACAGTG GAGAGCAATTGTATGGCTAATTTCCATCTCACCTATCTTTCTGTTGGGG TTCTCTAGTCTAGGTTGCAATGACATGAGAGACATGGCTCTTTTCTTTT CAGTTCAACAGGTGTTTATAATGTTGTTGTTTATTTGCTTAAAGCTTTGTG ATTGATGATCTGATAGGTAAGAGAGAGCTTTCTTCAAGTCCACTCATGGGATG GGGATGGGGTTTAAATTAGCTGCCGACTCAITCAJCCAAATACTGTGTACAA	

10

20

30

40

【表 3 - 1 8】

MtmPEP319a	メディカゴ トランカツラ	AACCAGTAAATGAGTGAATGATGCGGGAGACAAATTGAATCCTAATCTTCC TGTCCTGGACTGAAGGAGCTCCCTCCC ATTATCCAAATCATGTTGCTCTCAGCTTCTTTCAGCAGTCTCTGTTGATATCACC CTTTAGTTGAAGCTTTGGATTTCATGACTTTATGAGATGGTAAATCTTTAAAT TAAGTTAAAGTATGCACCTGATTTGTTATATAAATTTGTTTATTAGATTTTAA ACCTAAGTTGACTTTTAAATTTGATTAAATTTATGATATGATTTGTTAATTTGG CTTACCATGGTCATAATTTAGGGTTTGAAGAAGTCAATGATATCTTGAATTTGT TTATGGTAATAAAGGGTTAGGATTTCTCCTTTTGGTGAAGTGAAGAAATCT CATAATTTGTTCTGAAGTAGTTTAAAGATTAGGGTTATGGGTTCTTTTGT TTGAATGCTTTTCAAGTCTTTTCAATGATATTTGCCCTAGATCTGTTTAAAT TTGAATTAATAATCTGGGTTGGATTAAATTTATTTGAAGATTATTTAATTA ATTATTAAGAAATAGATGAAGAGAGCTTCTTTCAGTCCACTCATGGAGGGT AAGGGTTTGAATTTACCTGCTGACTCATTTGATTTCAACACAATAGACAAAT ATGGGGTTATGCTATTGTGAATTTGTGTGAATGATGACAGAGGTGAATTTCTT CCTTTCTCTTTGCTTGGACTGAAGGGAGTCTCCTTT	配列番号 264
OsmiPEP319a	オライザ サティバ	TTATACTGACGGTTGTAATCTGTTTAAATTAGGGCTTTTGCCCAATTTCTTTTG ACCCCTTCGGACATTCGCTAGTTGGAACCTTGTTTACTCCTAGCAGTGTAC TGTGTAGTACTTATTACGAGCAACGTAATAAATAAATAAATGGAATGATAC AAAGGCCGTGTTTAAATTTAAATTTTTCAAACTTCAACACTTTACATC CCATAAAAGCTTACTATACATACAAACTTCCAACTTTTCGTCACATCGTAT CTAATTTCAACTAACTTTTAAATTTAGCGTGAACCTAAACACAGCCGAAGCC CGGCCACATTCCTCACTATTTTATTCATTTATCATGCTGATGTCACGCTT TGCCCTATTAAATAGGCCCTTCTCCATTTCTCCTCCATATGATGTCCTTCTCT CTATCCCTCTTGCCATCTTCTATCTTCCCTCTTGCAACCCATCTTTGTGATAACT TCTACTAGCTCCTCTCTACTACCACTCATACCACTCTCACAATACTCTCCAAG ATCCGCAATGGGGAGAGCTCCAAAGTTTCGTGGTTAGTTAATTTTCATGCTT GTTTGTGCGGTTTTCATGTTGATCTGATCTTAATAATATGATGACTGCTGTTA ACATATTCTTTTAAATTTGATGGAAGAGCGGATCGATGGATGGAAGAGCGGA TCCTTCAGTCCACTCATGGCGGTGCTAGGGTCAATTAAGTGCAGACTCAT CAGCCACAATGCCAAGCAAGAACGCTTGAGATAGCGAAGCTTAGCAGATG AGTGAATGAAGGGGAGAGTAAAGTTCCGATCTCGCGCCGCTTTGCTTGGGA CTGAAGGGTGTCTCCCTCT	配列番号 265
PpmiPEP319a	フィスコミ パテンヌ	TGGATCCACACGAGTAAATTTCCCTCTCTCATGCATCACAACCTTGGACTTG CCCAGCTTTTACCCTCTCTCCATGTTCCACCGTGGAGATCCTCGGTGCTGCTA	配列番号 266

10

20

30

40

【表 3 - 1 9】

		CCCCGTTGGCCAAACCCAAACCCACCCCTAGGTGTCTGCCGGACCTCCGCTTCCCTCTGCTTCAACCCCTGCACCGCTTAAATTTGCACTCGTAGTATTTATCTATGCCCAATTTCAAGATGACTTGCGATGACACCCATCTGGAATCGTCTCCAGGGCTTGTGCTATCTATGCTATCAGTCTTCTTTCAGTCTGTCTTCTCTGCCAAGCACACCGTGTGTGGTGGTGTATCAGTCGAAAGCAGTCGCCGAAGGGTCTTGATCCAGCCCTCACGGAGACAGTTCGCTTCGGGIGGGGAGAACTGTTGAGACCGTCGATGTTGCATGCAGCAGCACTGGCGAAGGTGCTTCTGATAC TGGGTATCCAGCTCGCCCTCGGTGCGTGCAGTGCAGGTACGTGTTACATGACACTACTGTGTGGTAGTCTGGGCACAAGTAGATCGACATGCCAGATTTGGCCCGTATGCGTGTATGTGCGGTATGTTCCTGTTTCGATTCGGGATACCTTGATTTGTGAGCTCCGTTTCGGTCCAAATAGTGGCTGCGACGGAAGGTGGTCCCGCTGCCAATCACACGTCGCGGTGCTTATCGGGCAGGGCCCCGATACGGTATCCGAACGTTTGTCCCGGGAACGTGCTGCGACCTTCGCGCCCGGCTCTCTGGACTGAAGGAGCTCCACT	
ThmiPEP319a1 ThmiPEP319a2	テルンギエラ ハロフィラ	TTTTATACAAATAATGTTCGATAACACTAAACCCCTAGCCATCCAACTAATAGACAAAACCTACTGTGTAATTTACAACCGCAAAATCCAGAGAACAGAGTAAC TACGAGAGAGAGATGGAGATTCAAATTAAGAAAGAAACTTATATATAATG AATACACAAAAGCTACCTAATCTGTATATATATATATAATAATATGCTTCAT TAAATTAATGGTCGTGGAATAGAAAAGGAAAACCTAATTTGATCGCTAGG GCTTATCAGAGTAAAGATGGTTAACCTTCAAAGATGACTAATTAACCGGGG AGATAATTAAAGATTAATACGCCAACAGAGATTAGAGATACCGAGATT TAAATCCACAATTTGGTCATGTTCTTCTTCACGTATTCATGACGATGTCTGA ATTATAGAGAAACCCAAAATATAAAATGTTAATTTACCAGACATTTACATA CCAATAACTCTATGACGATATGTAAAGTAAGCAAGGCATGTTTATGCAAG GAAGATTGAAAATTCAGATTAAATCAAGAAATTTGGAATACCAAAGAGA GGGAGCTCCCTTCAGTCCAAATCAGAGAGAAATCAATGACCCAAATTTGTCTACC GCATCATTCATTTAACAAGTCTAGCTCGAATTCCTTGGTGACTCGGTATT TGGATGAATGAGTCGGAAAGCTAATTTGGATCATATCACGACCTATGAATGGAC TCAAGGAAGCTCTCTACAAATGTATTCTTACCACATCAACCCAAAATATAGTG ATTACAGATGCTGTCTCACTGTAGACTACATTTACGTTT	配列番号 267
AtmiPEP319b1	アラビドプシス タリアナ	AGACATCTCTTCTCTCATCTCTCTTCTTCTCTCTCTTCTCTCACATAAACT CTCCTTTTCTACTAATTAATCCATATGCTACCTCAAAATTAATCTATGGTCATCT AGGGTTATCTTGAAGATTAGAATTGATTCTAGCACGACAGAGAGGAAGATC ATTGCATCCAGAAATCAAAACATGGCCTATCTTTTATCTTTTCTTTTGTATCTA AGTCACTGTTTATGCTATATATAGTATAATCAAAATCTTTACATGTGCTTGT	配列番号 268

10

20

30

40

【表 3 - 20】

		ATGTATGCGGTATATAGTAACGGAATTGTTAATATGCTTATAGATGTTGAGT TGGTGGAGGAAGAGAGCTTTCTTCGGTCCACTCATGGAGTAATATGTGAGAT TTAATTGACTCTCGACTCATTCATCCAAATACCAAATGAAAGAAATTGTTCTC ATATGGTAAATGAATGATGCGGAGAGACAAATTGAGTCTTCACITCTCTCT ATGCTTGACTGAAGGGAGCTCCCT		
AtmiPEP394a1	アラビドプシス タリアナ	TCTTATCCATCACAATCATCTAGGGTTTAAAGCCAAAGCTTATATAGCCCGTC ATAAAGAGAACTCATCTGCTCTCTCTCAATACCAATAAATATCACCACCGT CCTTCTCTCTATCACTATCAATCTATCGCAAACTCTTTATGTCCTCCAAAT TTTATGAGAGGGTTTCTTCAAGAAACACAGTAAATAGATTGGATCTTTAA CTTTGTTCTTTTCATGAGGGTTTGACAAAGATTTCACAGTCATCTTTGG CAATCTGTCCACCTCTCTATACATATATGCAATGTGTATATATATATGCGTTT CGTGTAAAGAAAGGAGGTGGGTATCTGCCAATAGAGATCTGTTAG	配列番号 269	
AtmiPEP395c1	アラビドプシス タリアナ	TTGTATCATGACAGAGCAAGAAAGAAAGTCAAAATGTCCACATGAGTTCCC TTTAACGCTTCATTTGTTGAATACTCAAGCCACATTTGGTTTGTATATAACACT GAAGTGTGTTGGGGGACTCTGTGTGAT	配列番号 270	
AtmiPEP395e1	アラビドプシス タリアナ	TTTCAAAACCTAACACTCTTATAAAACCGATTCGCCAAAATGTATCTACAATAT ATTGATAATGTAAATATCTATATATCAAAACAATCGTGTGTCGGAATGT TTCTAGAGTTCCTCTGAGCACCTTCATTTGGAGATACAAATTTTATAAAATAGT TTTCTACTGAAGTGTGTTGGGGAACTCCCGGCTGATTCGGTATTTTAAATTC AGTAGACTAGCTAGCTG	配列番号 271	
AtmiPEP397b1	アラビドプシス タリアナ	TGGTAATAGAAATGAGCAAGGAGATATTTTTCCTCCCTGGGTTTGAATGAAC ATCATTTGAGTGATCGTTGATGTAAATTTACTTATTTTATCCATTTGTGAATT AATTAAAGAAAGTATATATCAGCGTTGCAATCAATATGTTTTTCTAATTTCA GGAAATACAAAAAAATGAAAAAAATCACTTAAAGACCTTGAGAGAT TCTTTTGACT	配列番号 272	
AtmiPEP398c1	アラビドプシス タリアナ	GGATATCGAAACTCAAACCTGTAAACAGTCCCTTTTATTTACTGTTTAGAAGATA GATAAATATTGTTAAGGTAGTGGATCTCGACAGGGTTGATATGAGAAACACAC GAGCAATCAACGGCTATAACGACGCTACGTCAATTTGTACAGCTCTCGTTCA TGTGTTCTCAGGTCAACCCCTGCTGAGCTCTTCTCTACCGTCCATGTTTATCA ACGCCGTGGCCCCGTG	配列番号 273	
AtmiPEP399b	アラビドプシス タリアナ	TCTTATAGAGATGAAGAGAAACATGTAAACTACTAGTTTAGGGCGCCTCT CCATTGGCAGGTCCTTTACTTCCAAATATACACATACATATATGAAATATCGA AAATTTCCGATGATCGATTATTAATGACCTGCCAAAGGAGAGTTGCCCTGA AACTGGTTC	配列番号 274	

10

20

30

40

【表 3 - 2 1】

AtmiPEP399d1	アラビドプシス タリアナ	CAATAACTCAAAATGCAATGTGAAATATGAAGAAATATATTAAATAGTAGTGA AGATGCATGTTTATGAAGACAGAGAGATAATGTATGGTTGGATTACTGGGCG AATACTCTATGGCAGATCGCAATTGGCTAGATATGCAAGTAAATGCTTCTC TGCCAAAGGAGATTGGCCCCGCAATTCATCC	配列番号 275
AtmiPEP403	アラビドプシス タリアナ	ATTAGGTCA TCTCTGTGAGAAAGATACGACGATTGTCTATTAGAAAGAGTCGTATTACATG TTTTGTGCTTGAATCTAATTCAACAGGCTTATGTAAAGAGATTCTTTAACAAT TCCATAAATCTTTGTTGGATTAGATTACGCACAAACTCGTAATCTGTCT TTTCGATTTTACCAGATCTGTC	配列番号 276
AtmiPEP447a1 AtmiPEP447a2	アラビドプシス タリアナ	AATTATATCCATGGTCAATGGCTCATCATTAATGTCGCACTGCTCTCTCTCTCA AAGTTTAAATTCGACATTTGGTAAATGATGAACCTCGATGGAACTGCTCT CTTTATGGAATCACGGAATGGACAAATATCAAAATCAGAAATCGAAAGCGA AAAGGAGGAGAAACGACGATTTGGAGGATTGGGACAGATTAGATACT GTTGAATGCATCACTCTAATGCTATCAGCCTATTATAGCGTCTCTATATTTTC GAAGACTTTTAAATGTTTAGGTTATGGATTTTTCGAGCGAAGCATGGAGAGA TGTTGAAITGGATACTATAGGATTTGGTACAAACACATACATATGTTCTGCTTC TGCAAAACTAACATATCAAGTTCAGAGAAACAGTAAAGTCGTTGAATATTTT ATTATCCATTCACGCTTCTCTTTTGGATCATGTCTTGTGTTGCTTGACCACT TCTTCTGCTTAAAGAGGATGGACAAATATATAAACTGGAGCCTCTCTTTTCT ATGAATGCTTATCATCGCGGAGTTGATCTGTTCATTTCAATTCACCTGCCATTGGATG CTTTTTTATATATACTCACTGTTCAATTTAGATGCTTTAGAAAGTTTGGCGG AGTAGTAGAGAACTGTTATCTTCAGTTCTTCAATTTCAAGTCTACITGGTATC AGCTTCGTCATTGTATATCAACACATTTCTTAATAATAATACTACTTTTTCAT CCATTAAACCCCTACAATGTCGAGTAAACGAAGCATCTGTCCTGTTATT GTCTCGAGCTTGGTGTTTTCTAGCCAACTCCAAAGTTCTCGAGTTGATCA TTGTTTGTATTCTTGAGACATTATTTGGGACGAGATGTTTGTGACTCGAT ATAAGAAAGGGCTTTATGGAGAAATTGTAGTATTATATATCGAGAGTG CTATAAATGCTGCTTATCATCGTGGAGTTGGTTCTGTAAACATTTGAAAATTC TGAACAGTTTCACCTGCCATTTGGATGCTTTGTTTCAATTTCAAGTGGTTAGA AGGTTTGCAGAGTAGCTAGAGAAATCTCGTATCTTCACTTCTGCTACTTGGTA TCAGCTTCGTCATTATATCAACACATTTCTTAATAATAACATACTACTTTTC ATCCATTAAATCCCTTACAATGTGAGTAAACGAAGCATCTGTCCCTGGTAT TGCTTTCGAGCTTGGTGTGTTTCTAGCCAGCCCCAAGTTCTCGAGTTGATC	配列番号 277
AtmiPEP447b1 AtmiPEP447b2	アラビドプシス タリアナ		配列番号 278

10

20

30

40

【表 3 - 2 2】

AtmiPEP447c	アラビドプシス タリアナ	ATTGTTTGTATTCTGACACATTATTGTTGGGACGAGATGTTTGTGACTCGAT ATAAGAAAGGGGCTTTATGGAAGAATAATTGTAGTATTATATATATGAGAAATG TAGTATAACCGCTGATGTACACCTACCAGCTTGATAAATCTCTTTTCGTGGTTT CTGTGACTCGTTCTGTTGTACAGATACTCTTGTGTTCAATTCAGATGCTTT AGAAAGTTTTCGGAGTGGCTAGAGATCTGTTATCTGTATGAACAGCTACTTG GTATCAGCTTCGTCAATTTATCAACACATCTTAAATACAATACTTCTTTTC ATGCATTAAAGCCCTTACAATGTGAGTAACAAGCATGTGTCGCTAATA TTGTCTTCGAGCTTGGTATTTTGTATTCTGATACGGTATTTGGGACGACAT CTTTGTTGACTCGATATAAGAAAGGGGTTTGTGGAAGAAATTGTAGTATTA TATAACAAGAAATG	配列番号 279
DmimiPEP1a DmimiPEP1b	ドロソフィラ メラノガスター	TTTGTGGAACACATTCGACCCACTGAAAAATTGATATAATTTAATGAAAAGTG CATAAAAATGGTGACAGTGCAATTAACCTGAGCATTTGAACACAAAGGCCGC TCAGCAAAATGCTAATTAAATTAACGATGCGCATTTTCACCTGACACGTTGAC GATTTTCATTACAATTCGAATTATGTTTCGTTGCAGGGAATTTTAAATGTTAAT TGCCAAAGAAATGTTTCAACAAATTCATTTCTCAATTAATGTCTTTTCATTAA TTTTATGTTGATGAGCTGCAGAGAAATGAGTTGTACTTTAGTTCGACGGC AGAGTCATGAATGTTTCGGCAAGAAATGTAATAATACTATCTCTTTAGACA AATATAGATACAAATCTATCAGATTCTAAAGTAGAATAATCAATTAATCAG AAAGCTAAAATATAATAGGCATATTATATTTAATGCGGATTTTGAAGTT CAACGGGAGAAATGAATCCTTTTACCAGCCACAGGCGCAATTGCAACAGA AAGTGTAGCAGAAAGTACTCTCTGAAATATTTCCCTGCTCCAGGATCATCCAT GTGGTTTCGAGGCACACATTTGACAAACTCATGCCCCGCTATTGTTGTAAA AACACAATCGCACACATGGCCGCAATTCGGCGACTTCCAGAGAGCGGTACAC TTAAGCGGCTGGGAAACGCTGCAATCTGTCTGTCGCGAACTGCAGATTG CATCCATGTGCCAGGCGACCATGCGACCATGTGACCATGTGCCCGCCGACG CCTCGCAGCCACATCTGCCCATCGAGGCGCAAACTCAGCGTGGGTATTGC CGCTCCGGCTGCTCAAGTAGGTAAACCGAGAGAGATTGAGGATGAATGT ATGAGTATGAGAAAATACTCGCGGAACATATGCTCCGGGCTTGACCTGAC CCTGCCCTCATGTGTGGTCTCCGATTTAATTTAGGCACCTATATAAACGCGT GTTTACACTGCAGCCAGAACACAGTCGCCGCTCTCAGTTCGCCGCGTCAACT CCTCGATCGATCGATCGCATCGTCTCGGATCGAATAGAGCTGGCTTCTGCT CCGGAGCTACATCGCCGTAATGTCGGACGAGTGGTGTGATGAAAAGTCGCT TAGTCCGGGATTCTGCTCCAGATCTCTAAGGGATGAGTGGCATCCAGGCTG GCCATGTGCGCGGAAGTATGCGCACAAAAGTCAACAAAAGGCGCAAT TTTATTACGGGCAACCAACGACGAAACAAACAAAGCCACCGGAAAGCA	配列番号 280

10

20

30

40

【表 3 - 2 3】

DmmiPEP8	ドロソフィラ メラノガスター		配列番号 281
GAAACAAAGCAGCAAAAAGTTATGAATTTTGTGCGGGCGGTGAAAGAT GCAAAACGAGAAAAAACAATGAAAAAACAATTAAAAAACAACAAAAA ATCCAAAACAGATACCGAGCTGTATCCGAAAAACGAGTGGGAAAGGGGTTT CCCAGTCACATATAAACACACATTCAGTGGCTTAAAAAATTGCTTTATTGCAGT TGGACTATAAAACGACCGCAGCGAACACCGCACAAACAAAAAGGACGAGC AGAAAGTGGGCAATAAAACGAAAGCTCTTAAACGAAAAACAGGAAAAATTG CATGCCACAAAAATAGCATAAAGGATTTGCCGCGCACAAAGTAGAAGCAAA AAGGAATTGCCCAATGCGCCACAAAGACTGTGGCAATGTTTTCAGCT TGCCCTTTTCCCTGCAATTACCGTACCCATCATCATCATCATCATCATCTTC TATGGTTTGTCTTATCCGGACCCATCATCATCATCATCATCATCATCATCTTC GGTAAGTTAGACAAATCCCATAAAAAACTGTCCAAAGTAGTGCCACCAA AAGTTAGCCGCTGTGGAAAAATCCAAAAACAAGACCATCCCATATTCAGCC TTTGAGAGTTCCATGCTTCTTGCATTCAATAGTTATATTCAGCATATGGAA TGTAAGAAAGTATGGAGCGAAATCTGGCGAGACATCGGAGTTGAAACTAAA ACTGAAAATTTGATTGAACACAGAAAGTAGAACCGTAATGAAATGAATGAAATA TTAACCCGTTTCTACAAATCCCTGAATAAAATTATTAAATTATATAGAGCGGG CTAATTTTACAATATATATGATTTTTTTTGAAG ATCTTTTTTGTGCTCGATCGTAGCGGTTTGTCTCGGCTCTCCGCTGCGCCG CTCTTCCGTTGCATATGTGTGGGGCTTATGTGCAATGTTTCCGTTGGCCG AAAAAAATAGTAAAAATAAATATAGAAAAACAGAAACCAAGAAATAATAAC AGCCATACGATAAACAGTGTGCCAATGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT CGGTAAACAATAATTGCATTATCGGATGGCGCCAGCTTCAATTAAAT ATAATAACATGTTCAACTTTTATACTATTTCCCTGCGTCAAAAGTTTGTCTG TGCAACTGCCCCGGAAAAATCACGCGCCCGGTTCAAAAGTTAAAGTTTGTCTG GGTAACGCACACACACACACACATCATCATCACCGGTCAACCGCACAC TTTCAATAAACTAATGAGCCTGGCTTTTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT TGAGCACACAGCACACAGAGAGAAAAATCAATACTCGTTATGGGATTAA ATTTACAAAGCGCAAGCAAGCGACAAACAATAATTCAAAAGAAAGAAAA AAAAACACTCAATAAATACTCACAAGAAATTCCTTATCGCCAAAGGGGCCAA TGTTCTAAGGTTCTTTCGCCCTTGAAGAACTTTGAGCTTCTCTGCAAAAGGAG ATTATAATGTACAAATAATGTGTCAATAACCAAGTTGAAACCAATGGAATACC GAATCTTGCTAATTAGCAAGGACATCTGTTCACATCTTACCGGGCAGCATT GATCCTTTTATAACTCTAATACTGTCAAGTAAAGATGTGTCGCTGTCCTTA ACCTTCAGTACCACCAACAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC ATGCGTAAAAATCCAAACAAATCATAAAAAGTCGAAGGA			

10

20

30

40

【表 3 - 2 4】

HsmiPEP155	ホモ サビエンス	配列番号357
GCCGAGCCCGGGCCAGCGCCCTGCAGCCTCGGGAAGGAGCGGATAGC GGAGCCCGAGCGCCCGCAGAGCAAGCGGGGAACCAAGGAGACGCTCC TGCCACTGCAGATAACTTGTCTGCAITTTCAAGAAACAACCTACCAGAGACCTT ACCTGTCACCTTGGCTCTCCACCCCAATGGAGATGGCTCTAATGTTGGCACA AACCAGGAAGGGAAATCTGTGGTTAAATTCITTTATGCCTCATCCTCTGAG TGCTGAAGGCTTGTGTAGGCTGTATGCTGTAAATGCTAAATCGTATAGGGG TTTTGGCTCCAACCTGACTCCTACATATTAGCATTAACAGTGTATGATGCCTG TTAAGCATTCACATGGAACAAATGCTGCCGTGGGAGGATGACAAAGAA GCATGAGTCACCCCTGCTGGATAAACTTAGACTTCAGGCTTTATCAITTTTCAA TCTGTAAATCATAATCTGGTCACTGGGATGTTCAACCTTAAACTAAAGTTTGA AAGTAAGGTTATTTAAAGATTATCAGTAGTATCCTAAATGCAAAACATTTT CATTTAAATGTCAAGCCCATGTTTGTGTTTATCATTAACAGAAATAATATCA TGTCAITCTTAATTGCAGGTTTGGCTTGTTCATTATAATGTTCAATAAACACC TTTGATTCAACTGTTAGAAATGTGGGCTAAACACAAATTTCTATAATATTTT GTAGTTAAAAATTAGAAGGACTACTAACCTCCAGTTATATCAATGGAATGTCT GGCAACGTTTTTTAAAGATTAGAACTGGAACCTGTTTCCCCCAGGTAACGAT TTTCTGTTCAAGGCAACTTCAGTTTAAATTAATACTTTTATTGACTCTTAAA GGGAACTGAAGGCTATGAAGCTGAATTTTAAATGAATATTTTAAACA GTTAGCAGGGTAAATAACATCTGACAGCTAATGAGATATTTTCCATACAA GATAAAAAGATTAAATCAAAAATTTCTATATTGAAATGAAGTCCCAAAATCT AGGTTCAAGTTCAATAGCTTAGCCACATAATACGGTTGTGCGAGCAGAGAAT CTACCTTTCCACTTCTAAGCCTGTTTCTCTCCATATGGGATAAATACTTTAC AAGGTTGTTGTGAGGCTTAGATGAGATAGAGAAATTAATCCATAAGATAATCA AGTGCTACATTAATGTTATAGTTAGATTAAATCCAAAGAACTAGTCACCCCTACTT TATTAGAGAAAGAGAAAAGCTAATGATTGATTGCGAGAAATTTAAGGTTTG GATTTCTATGCAGTTTTTCTAAATAACCATCACTTACAAAATATGTAACCAAAC GTAAATGTTAGTATATTTAATGTAAACTGTGTTTAAACAACCTCTCTCAACAT		

10

20

30

40

40

AtmiPEP157c	アラビドプシス タリアナ	TTGTCCAGGTTATTCACTGTAAACCAATAAAATCTCATGAGTCTTTAGTTGATT TAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA CTTTGTCACCTTCATACACTCCCTATTGCTATATATATATATATATATACATTACACAT ATTCAAAACATTATAATACTTAATTACACATACATACTTTATGATGTTGCATAT CACACATAGGTTTGAGAGTGATGTTGGTTGTGACAGAAAGATAGAGAGCACT AAGGATGACATGCAAGTACATACATATATATATCATCATCACACCCGATGTGGATGA TAAATAATGTATAACAATAATTCAAAAGAAAGAGAGGGAGAGAAAGAGAGAGA ACCTGCATCTCTACTCTTTTGTGCTCTCTATACITCTGTGCACCACCTTTATCTC TTCTTCTCTCTAAACCT	配列番号400
AtmiPEP157d	アラビドプシス タリアナ	ATTTACTCTTTCACCGCCCTCTCTCTATATATAGTCTCTATCTCTCACATATTATA TATCAAAACCGCAAGAAATGCTGTATGTATAGTGGAGGTGATAGTGGTTGC TGACAGAAAGATAGAGAGCACTAAGGATGCTATGCAAAACAGACACAGATAT GTGTTTCTAAATTGTAATTCATACTTTAAACCTCAAAGTTGATATAAAAAAGAA AGAAAGATAGAAAGAGCTAGAAGACTATCTGCATCTCTATTCCTATGTGCTCT CTATGCTTCTGTCAATCACCTTTCTTTTCTCTATTTCTCTCTAC	配列番号401
AtmiPEP160c	アラビドプシス タリアナ	AACCAAAACTCTTCAACATTTCTCTCTGACTACTTCAATTTCTCTCTTCCCAACA GTTAAAAAAAAGTTCTGATTCGATTCAGCCAAAGATCCACGTATAAAGATATG TTCAATGCGTAGAGGTTTGGTATACAACAATATATATACATATAAATAGTTTGTCTGT TATGCTGGCTCCCTGTATGCCACGAGTGGATACCGATTTTGGTTTAAAAATC GGCTGCCGGTGGCGTACAAGGAGTCAAGCATGAC	配列番号402
AtmiPEP164b	アラビドプシス タリアナ	ATACATTTCTCTCTTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCATCCCCGGCCAGTTATGTGG TCGGAGAGAAATGATGAAGGTGTGTGATGAGCAAGATGGAGAAGCAGGGCAC GTGCAATTAAGTCAATATATACACTCTCAACCACAAATGCGGTGATATATATGCG GAATTTGTGATATAGATGTGTGTGTGTGTGAGTGTGATGATATGGAATGAG TTAGTTCTTTCATGTGCCCATCTTCCACCATC	配列番号403
AtmiPEP166c	アラビドプシス タリアナ	TCACACATACCTTTCTTTCTCTCTCTCTCTTCTTCTTACGAAAAAGTTTCATCACATTCA CATTATCTTTAACTTTGGTCTCTTTTCTTTTCTTTTGTGCTCTTTTCTCTCTTGTATAA CGTGGTTCTAGTCTTGAATTAATTCATTGTTGTGCGAATTTAGTGTGAGAGGAT	配列番号404

【表 3 - 2 6】

		TGTTGCTGGCTCGAGGTCATGAAGAAGAGAAATCACTCGAAATTAATTTGGAA GAACAAATTAAAGAAAACCCCTAGATGATTCCTCGGACCAGGCTTCATTCCTCCCT AACCTACTTATCGC		
AtmiPEP166d	アラビドプシス タリアナ	ATTAGCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTGC TTTGGTTTAGGGTTGAGAGGAATAATTGTCTGGCTCGAGTCATGAAGAAGAT CGGTAGATTGATTCAATTTTAAAGAGTGAAATCCCTAAATGATTCTCGGACCA GGCTTCATTCCCTCCCAACC	配列番号 405	
AtmiPEP169a	アラビドプシス タリアナ	TAGTATTTCATAGCACCAAAACAAATATGTAGAGATCTCCTCTTCCATTCTCT ATTGTTACTTTCGAGAAGAAACATACAAACACATACATTTTCTTTTGTMTG TGGTTTTCATATATACAGTGGGTATAGCTAGTGAACGCGAATGTGACGAA AGTAGTGTGCAGCCAAAGGATGACTTGCCGATTTAAATGATCTTCTTTTACT CTATTAAGACAATTTAGTTTCAAACTTTTCTTTTCTTTTCTTTTGTGAAGGATTC AGGAAGAAATTAGGATATATTATTCGGTATAAAATACAAAGATATATAAACC AAAAAGAAAAGTAACATGATCGGCAAGTTGTCTTGGCTACACGTTACTTT GTGTCGC	配列番号 406	
AtmiPEP169h1 AtmiPEP169h2	アラビドプシス タリアナ	ACTCATCAACAACCTCTTCAATAAATACATAAAATCATATAAGAGAAAATGGTG ACATGAAGAATGAGAACTTGIGGG	配列番号 407	
AtmiPEP169n	アラビドプシス タリアナ	AGGCAAAAACATATAGAGAGTAATGAAGTGTATGATGAAGAAGAGAGGTCT AACATGGCGGAAAGCGTCAATGTTTAGTGCCAAAGGATGACTTGCCCTGATCTT TTTCGCCCTCCACGATTCAATTTCAAATTCATGCAATTTGGATTATATACCTTT TAAAGTATAATAGGTCAAATAATCATGTTGAATCTTGGGGTTAGGTTTCAGG CAGTCTCTTTGGCTATCTTGACATGCTTTTCCATCCAT	配列番号 408	
AtmiPEP170	アラビドプシス タリアナ	ATTCACCTCCCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCACTT GGGTCTTGTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCCGAGAGTCCCT CTGATAATTGGCTGGTTCACTCAGATTCTCTTTTACTAACTCACTGATCTGATTGAG CCGTGTCAATATCTCAGTCTCTCTCTCG	配列番号 409	
AtmiPEP396a	アラビドプシス タリアナ	TCTCACAACTTCAACTTCCCTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCC CTCTTCCACAATTAGGGTTTCGCTGCTCTACATGACCTCTCTCTGTTATCTTCTC	配列番号 410	

10

20

30

40

【表 3 - 2 7】

AtmiPEP399c	アラビドプシス タリアナ	CACAGCTTCTTGAAGTCAAACTTCTTCAGATTTTCTTTTGTGAT ATCTCTTACGCATAAAATAGTGATTTTCTTCATATCTCTGCTCGATTGATTG CGGTTCAATAAAGCTGTGGGAAGATACAGAC GAATAACCAACAGCCTTCTCTCAAGCAAAACCAAAAGAAAAACCAACAT TGAAAGAGGAAGTTACGATAAGCGGAGCAGTAATAGGGCATCTTTCTATTTGG CAGGCGACTTGGCTATTGTATCTTTTGTGTTGACTATTGGCTATGTCACCT TGCCAAAGGAGAGTTGCCCTGTCACCTCCGCTTAACACACAGTCTATAAC CGGTTCTGCTAATATCAATCCTTCTTTTGGACATGTCCAAAGCCGAGATTGAT TGATAGAGAAATTGGTCTCTCTGGCTACAAAACTAGTGGGTTCTCTCGATTTA AGTTTAAATAGCATTCACCTTTCACATTCGATCTTTTACATCAAAATTTCCATT CATCAACCATCTAAACCTCTTTGTGTTAGCTTTGATATAAGCAACGATCTAAAGT CTAAAAACCATTAATCCTCTGAAATAAAAGACAAATTTTCGATGGTTCTATTAT GTTTCTCCAAATGCAGAAATTGTATCGTCTGAATTATAGTAGATTTTCTCTAGA CTAAAGTGTAAACCAAGACGAATCTGCACCTAACAAAGACACACCAATAGACT TTACAGAGAAAGGTTACGAGTTTGTGAAATAATTAACGGGACCATAGTCAATCGC G TGGATAAGTTAATTTATGTTCAAGAGTCTTTCATGGAGAGTTGAAAAGTGA GATGAAGCCCAAGGATGACTTGGCGGTATAATAGTAATTTGCCACAAATCTAG ATAGCTATTAGCTATGTTGGATGGGCGGTGAGATTACAAATTTACAGCAG CATGTGATTTTGTGATGCTTTAAAGTGTAGTTTATCAAAATTTACAGTGG TTCACGTGAATTATGAGAAATCTCACCGTCAATCTAAATATGCAATTTAGTTTCA TTTCCGGCAGGTTCATCCTTCGGCTATATT	配列番号 411
MtmPEP169d	メディカゴ トランカツラ	TGGATAAGTTAATTTATGTTCAAGAGTCTTTCATGGAGAGTTGAAAAGTGA GATGAAGCCCAAGGATGACTTGGCGGTATAATAGTAATTTGCCACAAATCTAG ATAGCTATTAGCTATGTTGGATGGGCGGTGAGATTACAAATTTACAGCAG CATGTGATTTTGTGATGCTTTAAAGTGTAGTTTATCAAAATTTACAGTGG TTCACGTGAATTATGAGAAATCTCACCGTCAATCTAAATATGCAATTTAGTTTCA TTTCCGGCAGGTTCATCCTTCGGCTATATT	配列番号 426

表 3 一次転写産物 (pri-miRNA) のリスト

10

20

30

40

【表 4 - 1】

miPEP	生物	mRNAの配列	配列番号
AtmiPEP156a1 AtmiPEP156a2 AtmiPEP156a3	アラビドプシス タリアナ	uagacagaaagagagugagcac	配列番号 282
AtmiPEP156c1 AtmiPEP156c2	アラビドプシス タリアナ	uagacagaaagagagugagcac	配列番号 283
AtmiPEP156e1	アラビドプシス タリアナ	uagacagaaagagagugagcac	配列番号 284
AtmiPEP156f1	アラビドプシス タリアナ	uagacagaaagagagugagcac	配列番号 285
AlmiPEP159a	アラビドプシス リラタ	uuuugaaauagaaaggagucua	配列番号 286
AtmiPEP159a1	アラビドプシス タリアナ	uuuugaaauagaaaggagucua	配列番号 287
CrmiPEP159a	カブセラ ルベラ	uuuugaaauagaaaggagucua	配列番号 288
AtmiPEP159b1 AtmiPEP159b2	アラビドプシス タリアナ	uuuugaaauagaaaggagucuu	配列番号 289
AtmiPEP160a1	アラビドプシス タリアナ	uagcuaagucuaacuuuauagcca	配列番号 290
AtmiPEP160b1 AtmiPEP160b2	アラビドプシス タリアナ	uagcuaagucuaacuuuauagcca	配列番号 291
AtmiPEP161	アラビドプシス タリアナ	ucaaagcauuagaaaagugacua	配列番号 292
AtmiPEP162a1	アラビドプシス タリアナ	uagcauaaaacuuuagcauaccag	配列番号 293
AtmiPEP162b1	アラビドプシス タリアナ	uagcauaaaacuuuagcauaccag	配列番号 294
AtmiPEP163-1 AtmiPEP163-2	アラビドプシス タリアナ	uuuagaaagagagacuuuagaaauucgaa	配列番号 295
AlmiPEP164a1 AlmiPEP164a2 AlmiPEP164a3	アラビドプシス リラタ	uagagaaagacagagagcacugca	配列番号 296
AtmiPEP164a1 AtmiPEP164a2 AtmiPEP164a3	アラビドプシス タリアナ	uagagaaagacagagagcacugca	配列番号 297

10

20

30

40

【表 4 - 2】

BrmiPEP164a1 BrmiPEP164a2 BrmiPEP164a3	ブラシカ ラバ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 298
CpmiPEP164a1 CpmiPEP164a2	カリカ ババイア	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 299
CrmiPEP164a1 CrmiPEP164a2 CrmiPEP164a3	カブセラ ルベラ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 300
GpmiPEP164a1 GpmiPEP164a2 GpmiPEP164a3	ゴシピウム ライモンディ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 301
MtmiPEP164a1 MtmiPEP164a2	メティゴ トランカツラ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 302
OsmiPEP164a1 OsmiPEP164a2	オライザ サティバ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 303
AlmiPEP165a	アラビドプシス リラタ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 304
AtmiPEP165a	アラビドプシス タリアナ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 305
BemiPEP165a	ブラシカ カリナタ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 306
BjmiPEP165a	ブラシカ ジュンセア	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 307
BnmiPEP165a	ブラシカ ナバス	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 308
BomiPEP165a	ブラシカ オレラセア	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 309
BrmiPEP165a	ブラシカ ラバ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 310
AtmiPEP166a	アラビドプシス タリアナ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 311
AtmiPEP166b	アラビドプシス タリアナ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 312
AtmiPEP167a	アラビドプシス タリアナ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 313
AtmiPEP167b1 AtmiPEP167b2	アラビドプシス タリアナ	uuggaagaaagcaggggacacgugca	配列番号 314

10

20

30

40

【表 4 - 3】

AtmiPEP169c1	アラビドプシス タリアナ	caggccaaagggaugacuuugccggg	配列番号 315
AtmiPEP169c2			
AtmiPEP169I1	アラビドプシス タリアナ	uagccaaagggaugacuuugccug	配列番号 316
AtmiPEP171a1	アラビドプシス タリアナ	uagauugagggccggccaaauuc	配列番号 317
AtmiPEP171b	アラビドプシス タリアナ	uuagggccggugccaaauucacgg	配列番号 318
MtmiPEP171b1	メディカゴ トランカツラ	uagauugagggccggccaaauuc	配列番号 319
MtmiPEP171b2			
ZmmiPEP171b	ゼア メイズ	ggauugagggccggccaaauuc	配列番号 320
AtmiPEP171c1	アラビドプシス タリアナ	uuagggccggugccaaauucacgg	配列番号 321
MtmiPEP171e	メディカゴ トランカツラ	agauugagggccggccaaauuc	配列番号 322
MtmiPEP171h	メディカゴ トランカツラ	cggagccggaaucaaauucacuc	配列番号 323
AtmiPEP172a1	アラビドプシス タリアナ	agaaauucuuagauugaugcugcau	配列番号 324
AtmiPEP172a3			
AtmiPEP172b1	アラビドプシス タリアナ	ggagggcccauuuaaggauucac	配列番号 325
AtmiPEP172c1	アラビドプシス タリアナ	agaaauucuuagauugaugcugcag	配列番号 326
AtmiPEP172e1	アラビドプシス タリアナ	ggaaauucuuagauugaugcugcau	配列番号 327
AtmiPEP172e2			
AtmiPEP172e3			
AcmiPEP319a1	アラビドプシス セベンネンシス	uuuggaucugaaaggaggagcucccu	配列番号 328
AcmiPEP319a2			
AhmiPEP319a	アラビドプシス ハレリ	uuuggaucugaaaggaggagcucccu	配列番号 329
AlmiPEP319a	アラビドプシス リラタ	uuuggaucugaaaggaggagcucccu	配列番号 330
AtmiPEP319a1	アラビドプシス タリアナ	uuuggaucugaaaggaggagcucccu	配列番号 331
AtmiPEP319a2			
BtmiPEP319a	ブラシカ ラバ	uuuggaucugaaaggaggagcucccu	配列番号 332
CpmiPEP319a	カリカ ババイア	uuuggaucugaaaggaggagcucccu	配列番号 333
CrmiPEP319a	カブセラ ルベラ	uuuggaucugaaaggaggagcuccc	配列番号 334

10

20

30

40

【表 4 - 4】

EgmiPEP319a	ユーカリプタス グランデイス	uuugagcuugaaaggggagcucccu	配列番号 335
GmniPEP319a	ゴシウム ライモンディ	uuugagcuugaaaggggagcucccu	配列番号 336
MtmiPEP319a	メディカゴ トランカツラ	uuugagcuugaaaggggagcucccu	配列番号 337
OsmiPEP319a	オライザ サティバ	uuugagcuugaaaggggagcucccu	配列番号 338
PpmiPEP319a	フィスコミトレラ バテンス	cuuugagcuugaaaggggagcucc	配列番号 339
ThmiPEP319a1	テルンギエラ ハロフィラ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 340
ThmiPEP319a2			
AtmiPEP319b1	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcucccu	配列番号 341
AtmiPEP394a1	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcucc	配列番号 342
AtmiPEP395c1	アラビドプシス タリアナ	cuugagcuugaaaggggagcucc	配列番号 343
AtmiPEP395e1	アラビドプシス タリアナ	cuugagcuugaaaggggagcucc	配列番号 344
AtmiPEP397b1	アラビドプシス タリアナ	ucaaauugagcuugaaaggggagcucc	配列番号 345
AtmiPEP398c1	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 346
AtmiPEP399b	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 347
AtmiPEP399d1	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 348
AtmiPEP403	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 349
AtmiPEP447a1	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 350
AtmiPEP447a2	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	
AtmiPEP447b1	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 351
AtmiPEP447b2	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	
AtmiPEP447c	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 352
DmniPEP1a	ドロソフィラ メラノガスター	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 353
DmniPEP1b			
DmniPEP8	ドロソフィラ メラノガスター	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 354
HsmiPEP155	ホモ サビエンス	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 358
AtmiPEP157c	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 412
AtmiPEP157d	アラビドプシス タリアナ	uuugagcuugaaaggggagcuccu	配列番号 413

10

20

30

40

【表 4 - 5】

AtmiPEP160c	アラビドプシス タリアナ	uugcucugggucuccuguaugcca	配列番号 4 1 4
AtmiPEP164b	アラビドプシス タリアナ	uuggggaaagcaggcgacagugca	配列番号 4 1 5
AtmiPEP166c	アラビドプシス タリアナ	uugggaccaggcucuaaucccc	配列番号 4 1 6
AtmiPEP166d	アラビドプシス タリアナ	uugggaccaggcucuaaucccc	配列番号 4 1 7
AtmiPEP169a	アラビドプシス タリアナ	caaggcaagggaugacuuugccga	配列番号 4 1 8
AtmiPEP169h	アラビドプシス タリアナ	uagccaaagggaugacuuugccug	配列番号 4 1 9
AtmiPEP169n	アラビドプシス タリアナ	uagccaaagggaugacuuugccug	配列番号 4 2 0
AtmiPEP170	アラビドプシス タリアナ	ugauugaggccgugucuaauuc	配列番号 4 2 1
AtmiPEP396a	アラビドプシス タリアナ	uuccacaggcuuucuuugaaacug	配列番号 4 2 2
AtmiPEP399c	アラビドプシス タリアナ	uugccaaaggaggaguuugcccuug	配列番号 4 2 3
AtmiPEP169d	メヂイカゴ トランカツラ	aaaggccaaagggaugacuuugccggg	配列番号 4 2 7

表 4 マイクロ RNA (miRNA) のリスト

10

20

30

40

【表 5】

Pre-miR	生物	pre-miRNAの配列	配列番号
Pre-miR169	メディカゴ トランカツラ	TTAGGGTTTTCAGCTCATGGTAATAAAATGTCACTCTAAATGTCTTGCATGT GGGAATGAGGTCATATATGCGCCAAAGGATGACTTGCCGGCAGCCTCTT TCGATACTTTATGACATAAATTAATCATGTGGATAGCCAAGGTACTAACT CACTTTGCACATAAAACAAATATTTTGCCTTAGTGCAAACTTAGTTAGGC GCTTCGCAACGGCTAGTCAAAATGTCTAGTTCCAATGTGATGTGTTGTCGG GCAAGTCGTCTCTGGCTACGTAAAGGCCTCCTTTTTCATGCTAGATTTTG ATGATTTGATATAGCCACACATATTTGGAA	配列番号359
Pre-miR169a	メディカゴ トランカツラ	AAGAGCGCAGAGAGTAATGCAGCCAAAGGATGACTTGCCGACAACATTTG GCGAATGTTTCATGTGATTTCTGCCCTCATTTGCGCGCAAGTTGTCTTGGCT ATGTTAGTCTCTCATCTTCT	配列番号360
Pre-miR171a MI 0001753	メディカゴ トランカツラ	TGAATTCCTCCCTCCGCTTTTGTGATGTGGCTTGTCTCAATCAAAATCAAAAGTTC TTGAAAATTGAGTCTCTTAGTCTGATGTGAGTCGTGCCAATATCATATTAAG CGATAAAAGTC	配列番号361
Pre-miR171h	メディカゴ トランカツラ	CCACAAAACATAACTAGCTAGAAAGCTTAAATCGCCTTATTATTATAATA ATAATAATAAATATGGCTTCAGCTGCAAAAGTATACATGGCGTGATATTG ATCCGGCTCATCTATATCTTCAAGTTCAATCATCCATATTCATATCAATTC AGACGAGCCGAATCAATATCACTCTTGTGTGCTTCATTCATATTAATTAAT ATACTTCATTTAAGTTAAGTTAGTTGGCCATATATATTAGATTGATTCG AGAAGTAGACAGGAGTGGTGTGTTCTGCTCATCTTATTAATAAATGAAT GAATGAATGACATTTGCTTACTTATAAGACGAGCGCAATCAATCACTCC AGTACACCT	配列番号362
Pre-miR393a	メディカゴ トランカツラ	AACTGCAACTTGAGGAGGCATCCAAAGGGATCGCATTGATCCTATAATAT TTCAACTTTAGTCACTTAAATTTCTCTCATATAAATACTTAATTGGGATCAT GCCATCCCTTTGGATTCTCCTTTAGTAGCTAC	配列番号363
Pre-miR393b	メディカゴ トランカツラ	AGGCATCCAAAGGGATCGCATTTGATCCCAAAATCTAATTAAGTCCCTAGCTA CTTAATTAACAACTTAATTCTCTTAATATCTCATATAATTTGGGATCATGCT ATCCCTTTGGATTTCAT	配列番号364
Pre-miR396a	メディカゴ トランカツラ	TGCTTTTCCACAGCTTTCTTGAACCTTCTTCTGATCTTAAATCTGTTTCAA GATTAAGAGTCTAGAAAGCTCAAGAAAGCTGTGGGAGAATA	配列番号365
Pre-miR396b	メディカゴ トランカツラ	TATCTTCCACAGCTTTCTTGAACCTGCAATCCCAATTAAGATTCTCTTTCATTTG CCATGGCCATTTGTTGGGTTCAATAAAGCTGTGGGAAGATA	配列番号366

表 5 コントロール Pre-miRNA のリスト

10

20

30

40

【表 6】

miR	生物	miRNAの配列	配列番号
miR169	メデイカゴ トランカツラ	CAGCCAAGGAUGACUUGCCCG	配列番号367
miR169a	メデイカゴ トランカツラ	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA	配列番号368
miR171a	メデイカゴ トランカツラ	UGAUUGAGUCGUGCCAAUAUC	配列番号369
miR171h	メデイカゴ トランカツラ	GAGCCGAAUCAUAUACACUC	配列番号370
miR393a	メデイカゴ トランカツラ	UCCAAAGGGAUCGCAUUGAUC	配列番号371
miR393b	メデイカゴ トランカツラ	UCCAAAGGGAUCGCAUUGAUC	配列番号372
miR396a	メデイカゴ トランカツラ	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	配列番号373
miR396b	メデイカゴ トランカツラ	UUCCACAGCUUUCUUGAACUG	配列番号374

表 6 コントロールmiRNA のリスト

10

20

30

40

【表 7】

	サイズ	# SNP	# 変異	%SNP	#ハプロタイプ
pri-mir171b	1127	91	100	8.07	161
5' pri-miR171b	129	4	4	3.1	5
miPEP171b	62	2	2	3.22	3
Pre-miR171b	118	1	1	0.85	2
miR171b+miR171b*	42	0	0	0	1
3' pri-miR171b	259	39	42	15.06	89

表 7 pri-miR171b の種々の領域の DNA 配列についての多型

【0211】

以下の図及び実施例は本発明をより詳細に説明するが、その範囲を限定するものではな

10

20

30

40

50

い。

【0212】

図1. HAM1及びHAM2遺伝子の発現 (A) 又はM. トランカツラにおける側根数 (B) に対するMtmIR171b (メディカゴ トランカツラで同定されたmiR171b) の過剰発現の効果

(A) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 又はMtmIR171bを過剰発現する植物 (黒色カラム) におけるMtmIR171b (左カラム)、HAM1 (中央カラム) 又はHAM2 (右カラム) の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。MtmIR171bの過剰発現は、HAM1及びHAM2遺伝子の発現減少を誘導する。

(B) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 又はMtmIR171bを過剰発現する植物 (黒色カラム) において観察された側根の平均数を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=100) に相当する。MtmIR171bの過剰発現は、側根数の減少をもたらす。

10

【0213】

図2. M. トランカツラにおけるMtmIR171bの発現並びにHAM1及びHAM2遺伝子の発現 (A) 又は側根数 (B) に対するMtmPEP171b1の過剰発現の効果

(A) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 又はMtmPEP171b1を過剰発現する植物 (黒色カラム) におけるMtmPEP171b1 (左側のグラフ)、miR171b (右側のグラフ、左カラム)、又はHAM1 (アクセッション番号MtGI9- TC114268) (右側のグラフ、中央カラム) 又はHAM2 (アクセッション番号MtGI9- TC120850) (右側のグラフ、右カラム) の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。MtmPEP171b1の過剰発現は、MtmIR171bの蓄積増大並びにHAM1及びHAM2遺伝子の発現減少を誘導する。

20

(B) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 又はMtmPEP171b1を過剰発現する植物 (黒色カラム) において観察された側根の平均数を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=100) に相当する。MtmPEP171b1の過剰発現は、側根数の減少をもたらす。

【0214】

図3. M. トランカツラにおけるMtmIR171bの発現、HAM1及びHAM2遺伝子の発現 (A) 並びに側根数 (B) に対するMtmPEP171b1の効果

(A) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 又は1日1回、5日間の散水によって0.01 μ M (明灰色カラム)、0.1 μ M (暗灰色カラム) 又は1 μ M (黒色カラム) のMtmPEP171b1で処置した植物におけるMtmIR171b (左カラム)、HAM1 (中央カラム) 又はHAM2 (右カラム) の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。種々の濃度のMtmPEP171b1の適用は、MtmIR171bの蓄積増大並びにHAM1及びHAM2遺伝子の発現減少を誘導する。

30

(B) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 又は1日1回、5日間の散水によって0.1 μ MのMtmPEP171b1で処置した植物 (黒色カラム) において観察された側根の平均数を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=100) に相当する。0.1 μ MのMtmPEP171b1の適用は、側根数の減少をもたらす。

(C) Y軸は、コントロール植物 (白色カラム) 或いは1日1回、5日間の散水によって0.01 μ M (灰色カラム)、0.1 μ M (暗灰色カラム) 若しくは1 μ M (黒色カラム) のMtmPEP171b1又はそのアミノ酸組成がmiPEP171bと同一であるがその配列が異なる0.01 μ Mのスクランブルペプチド (LIVSHLYSEKFDCMRKILRI、配列番号428) (明灰色カラム) で処置した植物におけるMtmIR171b (左カラム)、HAM1 (中央カラム) 又はHAM2 (右カラム) の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。

40

【0215】

図4. M. トランカツラにおけるpre-MtmIR171b (A) 及びMtmIR171b (B) の発現に対するMtmPEP171b1の効果

Y軸は、コントロール植物 (左カラム) 又は1日1回、5日間の散水によって0.01 μ M、0.1 μ M又は1 μ MのMtmPEP171b1で処置した植物 (右カラム) のマイクロRNAの種々の形態にある前駆体の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=200) に相当する。種々の濃度のMtmPEP171b1の適用は、pre-MtmIR171b (A) 及びMtmIR171b (B) の蓄積増大をもたらす。

50

【0216】

図5. M. トランカツラにおける種々のマイクロRNA前駆体の発現に対するMtmPEP171b1の過剰発現の効果(A)及びMtmPEP171b1の効果(B)

Y軸は、MtmPEP171b1を過剰発現する植物におけるマイクロRNA前駆体の発現と、コントロールの根における当該前駆体の発現との比 (A) 又はMtmPEP171b1 (0.1 μ M)で処置された植物におけるマイクロRNA前駆体の発現と、コントロールの根における当該前駆体の発現との比 (B) を示す。試験された種々のマイクロRNA前駆体をx軸の左から右に示す。すなわち、pre-MtmR171b (配列番号246)、pre-MtmR169 (配列番号359)、pre-MtmR169a (配列番号360)、pre-MtmR171a (配列番号361)、pre-MtmR171h (配列番号362)、pre-MtmR393a (配列番号363)、pre-MtmR393b (配列番号364)、pre-MtmR396a (配列番号365) 及びpre-MtmR396b (配列番号366)である。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。MtmPEP171b1は、MtmR171b蓄積に対してのみ効果をもたらし、その他のmiRNAに対しては効果をもたらさないことが注目される。

【0217】

図6. モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、MtmR171bの発現に対するMtmPEP171b1の翻訳の効果

Y軸は、pri-MtmR171b (白色カラム) 又はATGコドンがATTで置き換えられた変異型pri-MtmR171b (黒色カラム) を発現させるために形質転換されたタバコ植物におけるMtmR171bの相対的発現を示す。したがって、変異型pri-MtmR171bは、MtmPEP171b1を産生することができない。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=30) に相当する。MtmPEP171b1が翻訳されないことにより、miR171b蓄積が著しく低減することが注目される。

【0218】

図7. モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、pre-MtmR171bの発現に対するMtmPEP171b1の過剰発現の効果

Y軸は、MtmR171b (左カラム)、MtmR171b及びMtmPEP171b1 (中央カラム)、又は、MtmR171b及び開始コドンATGがATTで置き換えられた変異型MtmORF171b (右カラム) を発現させるために形質転換されたタバコ植物におけるpre-MtmR171bの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=30) に相当する。MtmPEP171b1の発現はMtmR171bの発現を増大させるが、この効果はMtmORF171bからMtmPEP171b1への翻訳に依存することが注目される。

【0219】

図8. モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、pre-MtmR171bの発現に対するMtmPEP171b1の効果

Y軸は、MtmPEP171b1 (0.1 μ M) がサンプリングの12時間前及び30分前に2回噴霧されたか (右カラム) 又は噴霧されなかった (左カラム)、MtmR171bを発現させるために形質転換されたタバコ植物におけるMtmR171bの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=6) に相当する。噴霧によって適用されるペプチドMtmPEP171b1は、MtmR171bの蓄積増大を誘導する。

【0220】

図9. モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、pri-miR171b (A)、pre-MtmR171b (B) 及びMtmR171b (C) の発現に対するMtmPEP171b1の効果

Y軸は、MtmR171bを発現するために改変されたタバコ植物 (左カラム)、又はMtmR171bを発現し、MtmPEP171b1を過剰発現するために改変されたタバコ植物 (右カラム、図9A)、又は0.1 μ MのmiPEP171b1で処置されたタバコ植物 (図9B及びC) における種々の形態にあるマイクロRNA前駆体の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=30) に相当する。MtmPEP171b1の過剰発現又はmiPEP171b1の適用は、pri-MtmR171b (A)、pre-MtmR171b (B) 及びMtmR171b (C) の蓄積を増大させる。

【0221】

図10. MtmPEP171b1を発現するために改変されたタバコ葉細胞におけるMtmPEP171b1の局在

10

20

30

40

50

写真は、GFPタンパク質のみ（左パネル）又はMtmPEP171b1に融合したGFPタンパク質（右パネル）を発現させるために改変されたタバコ葉細胞を示す。これらの観察結果は、MtmPEP171b1が核にある小体(petits corps nucleaires)に局在することを示す。

【0222】

図11. モデル植物タバコにおいて示された、AtmiR165aの発現に対する（アラビドプシスターリアナにおいて同定された）AtmiPEP165aの発現の効果(A)及びAtmiR319aに対する（アラビドプシスターリアナにおいて同定された）AtmiPEP319a2の発現の効果(B)

(A) Y軸は、AtmiR165a(左カラム)又はAtmiR165a及びAtmiPEP165a(右カラム)を発現するために改変されたタバコ植物におけるAtmiR165aの相対的発現を示す。

(B) Y軸は、AtmiR319a(左カラム)又はAtmiR319a及びAtmiPEP319a(右カラム)を発現するために改変されたタバコ植物におけるAtmiR319aの相対的発現を示す。

エラーバーは、平均の標準誤差（個体数＝30）に相当する。

いずれの場合においても、miORFの発現、したがってmiPEPの産生は、pre-miRNAの蓄積増大をもたらすことが注目される。

【0223】

図12. アラビドプシスターリアナの根の成長に対するAtmiPEP165a処置の効果

写真は、同齢の2つの植物を示す：コントロール植物（左側の植物）及びAtmiPEP165aで処置された植物（右側の植物）。AtmiPEP165aでの処置は、アラビドプシスターリアナにおいて根の成長が大きく加速されるという表現型をもたらす。このグラフは、漸増用量のAtmiPEP165aを用いる処置に応答してのpre-miR165の発現を示す。

【0224】

図13. ドロソフィラにおいて同定されたmiPEP8の配列の保存

miPEP8の配列(配列番号104)は、12匹の種々のドロソフィラ種のmiORF8の配列(配列番号208)から推測し、アライメントした。ヒストグラムは、分析した12種におけるmiORF8配列間の各アミノ酸の保存を示す。

【0225】

図14. ドロソフィラ種におけるmiPEP8の質量(kDa)及び等電点(pI)の変化(evolution)

左側のY軸は、miPEP8のサイズ(kD)を示す。右側のY軸は、miPEPの等電点を示す。X軸は、miPEPの由来、すなわちドロソフィラ種を示す。それらのサイズの有意な変化(3倍以上)にも拘らず、miPEPの電荷は、試験された12種では依然として強い塩基性(>9.8)であることが注目される。

【0226】

図15. miPEPの機能に対する配列付加の効果

miPEP171bを過剰発現させるためにタバコの葉を形質転換した。これらのグラフは、配列(タグHis、HA又はGFP)の付加がmiPEPの機能を変更しないことを示す。Y軸は、MtmIR171b(左カラム)を発現させるために、MtmIR171b及びタグタンパク質が付加されたか又は付加されていないMtmPEP171b1(右カラム)を発現させるために形質転換されたタバコ植物におけるpre-MtmIR171bの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数＝6）に相当する。MtmPEP171b1の発現がMtmIR171bの発現を増大させるが、この効果はタグの存在とは独立していることが注目される。

【0227】

図16. メディカゴ トランカツラの根系におけるMtmPEP171b1の発現

GUSタンパク質(青色)と、miR17bのプロモータ(A、E)、miPEP171b1のATG(B、F)、全miPEP171b1(C、G)又はATG2(miPEPの後の前駆体に位置する2番目のATG)(D、H)との融合物を発現させるために、メディカゴ トランカツラの根を形質転換した。根の先端(A)及び側根(E)においてmiRNAが発現していることが明らかである。転写物融合体(B、F)及び翻訳物融合体(C、G)は、同一の組織においてmiPEP171bの発現を示すが、次のATGは活性ではない(D、H)。

【0228】

図17. ドロソフィラ メラノガスター細胞におけるDmmiPEP8の発現

10

20

30

40

50

DmmiPEP8 (OE miPEP8) 又はその翻訳開始コドンが変異したmiPEP8 (OE miPEP8 mut) を過剰発現させるために、ドロソフィラ メラノガスター細胞をトランスフェクトした。Y軸は、pre-miR8の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（独立した実験回数＝6）に相当する。DmmiPEP8の発現がDmmiR8の発現を増大させ、この効果はmRNAの翻訳に関連付けられることが注目される。

【0229】

図18. D. メラノガスター細胞におけるDmmiR8蓄積に対するDmmiPEP8の影響

野生型DmmiR8 (OE miR8) 又はその翻訳開始コドンが変異したDmmiR8 (OE miR8 miPEP8 mut) を過剰発現させるために、ドロソフィラ メラノガスター細胞をトランスフェクトした。Y軸は、pre-miR8の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（独立した実験回数＝2）に相当する。DmmiPEP8の存在がDmmiR8の発現を増大させることが注目される。

10

【0230】

図19. ホモ サピエンス細胞におけるHsmiR155蓄積に対するHsmiPEP155の効果

HsmiPEP155 (OE miPEP155) を過剰発現させるために、ホモ サピエンスのHeLa細胞をトランスフェクトした。Y軸は、pre-miR155の相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（独立した実験回数＝2）に相当する。HsmiPEP155の発現はHsmiR155の発現を増大させることが注目される。

【0231】

図20. モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、Mtmir171bの発現に対するMtmPEP171b1の翻訳の効果

Y軸は、pri-miR171b（左カラム）、miORF171bが欠失したpri-miR171b（中央カラム）又はATGコドンがATTで置き換えられた変異型pri-miR171b（右カラム）を発現させるために形質転換されたタバコ植物においてMtmir171bの相対的発現を示す。したがって、変異型pri-miR171bは、miPEP171b1を産生することができない。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数＝30）に相当する。miPEP171b1の翻訳がされないことにより、miR171b蓄積は著しく低減することが注目される。

20

【0232】

図21. モデル植物ニコチアナ ベンサミアナにおいて示された、Mtmir171bの発現に対するMtmPEP171b1の過剰発現の効果

Y軸は、miPEP171bの発現を可能にするベクターと、第2の空ベクター（白色カラム）、MtmPEP171bの発現を可能にするベクター（左の黒色カラム）、MtmPEP171bをコードするORFのATGコドンがATTで置き換えられたベクター（中央の黒色カラム）又は翻訳されるペプチドのアミノ酸配列を改変することなくORFのヌクレオチド配列を変異させたベクター（縮重ORFによってコードされるmiPEP、右の黒色カラム）のいずれかとして形質転換されたタバコ植物におけるMtmir171bの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数＝30）に相当する。MtmPEP171b1の発現がMtmir171bの発現を増大させ、この効果がMtmir171bからMtmPEP171b1への翻訳に依存することが注目される。

30

【0233】

図22. AtmiR165aの蓄積及びその標的遺伝子（PHAVOLUTA: PHV、PHABOLUSA: PHB及びREVOLUTA: REV）の蓄積に対するAtmiPEP165aの効果

Y軸は、水（コントロール）又は種々の濃度（0.01 μ M、0.1 μ M、1 μ M又は10 μ M）のAtmiPEP165aで処置されたアラビドプシス タリアナの根におけるAtmiR165a、PHV、PHB及びREVの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数＝10）に相当する。

40

より高濃度のAtmiPEP165aを用いての植物の処置は、AtmiR165a蓄積の用量依存的な効果と、AtmiPEP165a量に応じたその標的遺伝子の負の調節とを示す。

【0234】

図23. A. タリアナにおけるAtmiR164aの発現に対するAtmiPEP164aを用いる処置の効果

写真は、水（コントロール、左側の写真）又はAtmiPEP164aのものと同一の配列を有す

50

る0.1 μM の合成ペプチド水溶液 (0.1 μM のmiPEP164a) を用いて処置した根におけるAtmiR164a蓄積のノザンプロット分析の結果を示す。RNA U6は、AtmiR164a量の定量を可能にするローディングコントロールとして用いる。

この実験を独立して4回繰り返したところ、類似の結果が得られた。

0.1 μM の miPEP164aを用いてのA. タリアナの芽の処置は、miR164aの蓄積増大をもたらす。

【0235】

図24. アラビドプシス タリアナの成長に対するAtmiPEP164aを用いる処置の効果

写真は、3週間成長後の2つの植物 (上面及び側面) を示す：水で散水したコントロール植物 (A) 及びAtmiPEP164aに相当する合成ペプチドの組成物(0.1 μM)で散水した植物 (B) 10
(B)。AtmiPEP164aをアラビドプシス タリアナ種植物に散水することにより植物の成長が著しく良くなる。

【0236】

図25. A. タリアナにおけるAtmiR165aの発現に対するAtmiPEP165aを用いる処置の効果

写真は、水 (コントロール、左側の写真) 又はAtmiPEP165aのものと同一の配列を有する合成ペプチドの0.1 μM 水溶液 (0.1 μM のmiPEP165a) で処置された根におけるAtmiR165a蓄積のノザンプロット分析の結果を示す。RNA U6は、AtmiR165a量の定量を可能にするローディングコントロールとして用いる。

この実験を独立して4回繰り返したところ、類似の結果が得られた。

0.1 μM の miPEP165aを用いてのA. タリアナの芽の処置は、miR165aの蓄積増大をもたらす。 20

【0237】

図26. A. タリアナにおけるAtmiR319aの発現に対するAtmiPEP319a1の過剰発現の効果

Y軸は、コントロール植物 (左カラム) 又はAtmiPEP319a1を過剰発現する植物 (右カラム) におけるAtmiR319aの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。AtmiPEP319a1の過剰発現は、AtmiR319aの蓄積増大を誘導する。

【0238】

図27. アラビドプシス タリアナの成長に対するAtmiPEP319aを用いる処置の効果

写真は、3週間成長後の2つの植物 (上面及び側面) を示す：水で散水したコントロール植物 (A)、及びAtmiPEP319a1に相当する合成ペプチド0.1 μM の組成物で散水された植物 (B)。AtmiPEP319a1をアラビドプシス タリアナ種植物に散水することにより植物の成長が著しく良くなる。 30

【0239】

図28. 免疫染色

GUSタンパク質 (青色) と、miPEP171bのATG (Pro_{miR171b}-ATG1:GUS) 又はATG2 (miPEPの後の前駆体に位置する2番目のATG) (Pro_{miR171b}-ATG2:GUS) との融合物を発現させるために、メディカゴ トランカツラの根を形質転換した。また、抗miPEP171b抗体 (miPEP171b) を用いて標識した。M. トランカツラの根におけるmiPEP171bの免疫染色は、側根の開始部分におけるmiPEP171bの存在を明らかにし、このことは、マイクロRNAと、対応するmiPEPとの共局在を示している。 40

【0240】

図29. A. タリアナにおけるAtmiR160bの発現に対するAtmiPEP160b1の過剰発現の効果

Y軸は、コントロール植物 (左カラム) 又はAtmiPEP160b1を過剰発現する植物 (右カラム) におけるAtmiR160bの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。AtmiPEP160b1の過剰発現は、AtmiR160bの相対的発現の増大を誘導する。

【0241】

図30. AtmiR164aの発現に対するAtmiPEP164a1の効果

Y軸は、コントロール植物 (左カラム) 又は0.1 μM のAtmiPEP164a1を1日1回散水した植物 (右カラム) におけるAtmiR164aの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差 (個体数=10) に相当する。 50

AtmiPEP164a1の添加は、AtmiR164aの相対的発現の増大を誘導する。

【0242】

図31. A. タリアナにおけるAtmiR319aの発現に対するAtmiPEP319a1の過剰発現の効果

Y軸は、コントロール植物（左カラム）又はAtmiPEP319a1を過剰発現する植物（右カラム）におけるAtmiR319aの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数=10）に相当する。

AtmiPEP319a1の過剰発現は、AtmiR319aの相対的発現の増大を誘導する。

【0243】

図32. M. トランカツラにおけるMtmir169dの発現に対するMtmPEP169dの効果

Y軸は、コントロール植物（左カラム）又は0.1 μ MのMtmPEP169dを1日1回散水した植物（右カラム）におけるMtmir169dの相対的発現を示す。

エラーバーは、平均の標準誤差（個体数=10）に相当する。

MtmPEP169dの添加は、Mtmir169dの相対的発現の増大を誘導する。

【0244】

図33. M. トランカツラにおけるMtmir171eの発現に対するMtmPEP171eの過剰発現の効果

Y軸は、コントロール植物（左カラム）又はMtmPEP171eを過剰発現する植物（右カラム）におけるMtmir171eの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数=10）に相当する。

MtmPEP171eの過剰発現は、Mtmir171eの相対的発現の増大を誘導する。

【0245】

図34. 野生型M. トランカツラ種植物におけるMtmPEP171b1の局在

MtmPEP171b1に特異的な抗体を用いる免疫ブロッティングにより、様々な量（1、0.5又は0.1 nmol）の合成ペプチドMtmPEP171b1及びM. トランカツラの根の全抽出物を分析した。

MtmPEP171b1は、M. トランカツラの根において天然に産生される。

【0246】

図35. 野生型A. タリアナ種植物におけるAtmiPEP165aの存在

上側の写真は、野生型A. タリアナCol-0の若苗（左側）及びAtmiPEP165aを過剰発現するA. タリアナの若苗（右側）におけるAtmiPEP165a量のウェスタンブロット分析に相当する。

下側の写真は、野生型A. タリアナCol-0の若苗（左側）及びAtmiPEP165aを過剰発現するA. タリアナの若苗（右側）におけるコントロールタンパク質（チューブリン）量のウェスタンブロット分析に相当する。AtmiPEP165aは、A. タリアナにおいて天然に産生され、AtmiPEP165aを過剰発現する植物において、より大量に存在する。

【0247】

図36. A. タリアナにおけるAtmiPEP165aの作用

(A) Y軸は、コントロールの根（左カラム）又は10 μ MのAtmiPEP165aを1日1回散水した根（右カラム）におけるpri-miR165aの相対的発現を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数=10）に相当する。

AtmiPEP165aの添加は、AtmiR165aの相対的発現の増大を誘導する。

(B) Y軸は、コルジセピン（RNA合成阻害剤）の存在下における、コントロールの根（灰色の曲線）又は10 μ MのAtmiPEP165aを1日1回散水した根（黒色の曲線）におけるpri-miR165aの相対的発現を示す。X軸は、コルジセピンで処置した時間を示す。

AtmiPEP165aの添加は、pri-miR165aのより良好な安定性を誘導しない。

(C) Y軸は、野生型植物（Col-0）又はRNAポリメラーゼIIの第2のラージサブユニット (la seconde grande sous-unite) の劣性対立遺伝子 (un allele faible) が変異した植物 (nrpb 2-3) におけるpri-miR165aの相対的発現を示す。X軸は、植物が水で散水されたか、又は10 μ MのAtmiPEP165aで散水されたかを示す。

野生型植物とは異なり、変異した植物は、AtmiPEP165aに応答してAtmiR165aを蓄積することができない。

【0248】

図37. M. トランカツラにおける側根数に対するpri-miR171bの効果

Y軸は、コントロール植物（白色カラム）又はpri-miR171bを過剰発現する植物（黒色カラム）において観察された側根の平均数を示す。エラーバーは、平均の標準誤差（個体数=100）に相当する。

pri-miR171bの過剰発現は、側根数の減少を誘導する。

【0249】

図38. ドロソフィラ メラノガスター細胞におけるDmmiPEP8翻訳の可能性

DmmiPEP8 (miPEP8::GFP)又はその開始コドンが変異したDmmiPEPmt (miPEP8 mt::GFP)を発現するように、いくつかのドロソフィラ メラノガスター細胞をトランスフェクトした。トランスフェクションのコントロールとして、モエシン-RFPタンパク質を産生するプラスミド（下側の写真）を、DmmiPEP8をコードするプラスミド（左側の写真）及びDmmiPEP8 mtをコードするプラスミド（右側の写真）と共にコトランスフェクトした。DmmiPEP8配列の開始コドンは、GFPの合成を可能にするので機能的である一方（左上の写真）、ATG変異を有する構築物はGFPを殆ど産生しない（右上の写真）ことが観察される。

よって、これらの結果は、miPEPのORFが機能的であることを示唆する。

【実施例】

【0250】

A: 植物におけるmiPEPの分析

実施例1-モデル植物メディカゴ トランカツラにおける特徴決定

a) MtmPEP171b1（メディカゴ トランカツラにおいて同定されたmiPEP171b1）の同定及び特徴決定

マイクロRNAであるMtmR171bは、根の分裂組織領域において発現する。このマイクロRNAの過剰発現は、特に、HAM1遺伝子（アクセッション番号MtGI9- TC114268）及びHAM2遺伝子（アクセッション番号MtGI9- TC120850）の発現減少（図1A）並びに側根数の減少（図1B）をもたらす。また、pri-miR171bの過剰発現は、側根数の減少を誘導する（図37）。

【0251】

MtmR171bの一次転写産物の配列を、RACE-PCR法を用いて決定した。一次転写産物の配列解析により、完全に予想されていなかったいくつかの小さなオープンリーディングフレーム（sORF）の存在を同定することが可能となった。これらのsORFを、miORF（「マイクロRNA ORF」の略）と称した。これらのmiORFは、約4~100アミノ酸の短鎖ペプチドをコードしている可能性がある。これらのmiORFと著しい相同性を有するものはデータベースでは見つからなかった。

【0252】

MtmR171bの過剰発現において既に観察されたように、MtmORF171bと称される第1のmiORFの過剰発現は、MtmR171bの蓄積増大と、HAM1遺伝子及びHAM2遺伝子の発現減少（図2A参照）並びに側根数の減少（図2B）をもたらす。

【0253】

MtmORF171bが実際にペプチドの産生をもたらすか否か、及び上記で観察された調節性機能が実際に当該ペプチドによるものなのか否かを決定するために、その配列がMtmORF171bによってコードされる可能性のあるものと同一である合成ペプチドをメディカゴ トランカツラの根に適用した。このペプチドの適用は、MtmORF171bの過剰発現について上記で既に観察された表現型、すなわちMtmR171bの蓄積増大、HAM1遺伝子及びHAM2遺伝子の発現減少（図3A参照）、及び側根数の減少（図3B）をもたらす。

【0254】

これらの実験結果は、MtmORF171bが、MtmR171bの蓄積、及びMtmR171bの標的遺伝子：HAM1及びHAM2の発現をモジュレートできるペプチドをコードすることを示す。当該ペプチドは、MtmPEP171b1と称される（マイクロRNAによりコードされるペプチドに相当する「miPEP」）。

更に、MtmPEP171b1は、MtmR171bの蓄積増大（図4A）及びpre-MtmR171bの蓄積増大（図4B）をもたらす。

10

20

30

40

50

【0255】

b) miPEP171b1の特異性

メディカゴ トランカツラの種々のマイクロRNA前駆体 (Mtmir171b 配列番号319、Mtmir169 配列番号367、Mtmir169a 配列番号368、Mtmir171a 配列番号369、Mtmir171h 配列番号370、Mtmir393a 配列番号371、Mtmir393b 配列番号372、Mtmir396a 配列番号373及びMtmir396b 配列番号374) の発現を測定し、コントロール植物及びMtmipep171b1をコードするMtmiorf171bを過剰発現する植物 (図5A)、又はコントロール植物及びMtmipep171b1を含む栽培用培地で成長させた植物 (図5B) と比較した。

得られた結果は、Mtmipep171b1がMtmir171bの蓄積増大をもたらすに過ぎず、その他のmiRNAの蓄積増大はもたらさないことを示す。このことは、miPEPが、それが由来するマイクロRNAに対してのみ効果を有することを示す。

10

【0256】

c) miPEP171b1の局在

更に、M. トランカツラの根におけるmiPEP171b1の免疫局在は、側根の開始部分におけるmiPEP171b1の存在を明らかにしており、マイクロRNAと、対応するmiPEPとの共局在を示す (図28及び34)。

【0257】

実施例1B - Mtmipep169d

Mtmipep169dに関して、このmiPEPの過剰発現は、Mtmir169dの蓄積を誘導することがM. トランカツラにおいてインビボで示された (図32)。

20

【0258】

実施例1C - Mtmipep171e

Mtmipep171eに関して、このmiPEPの過剰発現は、Mtmir171eの蓄積を誘導することがM. トランカツラにおいてインビボで示された (図33)。

【0259】

実施例2 - モデル植物タバコにおける特徴決定a) タバコにおけるメカニズムの保存

マイクロRNAの調節メカニズムがその他の植物種において保存されているか否かを決定するために、種々の細胞モデルにおいて、Mtmipep171b1によるMtmir171bの調節を試験した。このために、Mtmir171b及びMtmipep171b1をタバコの葉に導入した。

30

【0260】

Mtmipep171b1を産生できる野生型pri-miRNA又はMtmipep171b1を産生できない (Mtmiorf171bの開始コドンATGがATTで置き換えられた) 変異型pri-miRNAであるメディカゴ トランカツラMtmir171bを発現させるために形質転換されたタバコの葉におけるMtmir171b蓄積を測定した (図6及び図20)。Mtmipep171b1が翻訳されないことにより、Mtmir171bの蓄積は、著しく低減する。

【0261】

メディカゴ トランカツラのMtmir171bのみ (コントロール) を発現させるか、又はそれに加えてメディカゴ トランカツラの野生型Mtmiorf171b (35SmiPEP171b1 ATG) を発現させるか若しくは開始コドンATGがATTで置き換えられた変異型Mtmiorf171b (35SmiPEP171b1 ATT) を発現させるために形質転換されたタバコの葉におけるpre-Mtmir171bの蓄積を測定した (図7及び図21)。Mtmiorf171bの発現は、pre-miR171bの蓄積増大をもたらし、このpre-miR171bの蓄積は、Mtmiorf171bからマイクロペプチドへの翻訳に依存する。

40

【0262】

更に、サンプリング12時間前 (1回目) 及びサンプリング30分前 (2回目) に噴霧することによりMtmipep171b1 (0.1 μ M) で処置されていないか又は処置されたメディカゴ トランカツラのMtmir171bを発現させるために形質転換されたタバコの葉において、Mtmipep171b1は、葉に噴霧することによってペプチドの形態で直接用いてもよいことが観察された (図8)。

【0263】

50

更に、MtmPEP171b1が、MtmR171bの蓄積増大（図9A）及びpre-MtmR171bの蓄積増大（図9B）をもたらすが、pri-MtmR171bの蓄積は減少させること（図9C）が（メディカゴトランカツラと同様に）タバコにおいて観察された。

まとめると、これらの結果は、マイクロRNAの調節メカニズムと、miPEPの制御下におけるそれらの標的遺伝子の調節メカニズムが種において保存されていることを示す。

【0264】

b) MtmPEP171b1の細胞内局在

蛍光タンパク質（GFP）と融合したメディカゴトランカツラMtmPEP171b1を過剰発現させるために、タバコの葉を形質転換した（図10）。得られた結果は、miPEPが核にある小体に局在することを示す。

【0265】

c) データベースからのmiPEPの同定

70のmiRNAの一次転写産物中にオープンリーディングフレームの存在について植物ゲノムデータベースを検索し、miPEPをコードすることが可能な101のmiORFを同定した。

現在、アラビドプシスターリアナにおいて同定されたAtmiPEP165a及びAtmiPEP319a2が既に特徴決定されている。モデル植物であるタバコにおいて行った実験により、AtmiORF165a又はAtmiORF319aの過剰発現が、AtmiR165a又はAtmiR319aの蓄積をそれぞれ増大させることを示すことができた（図11）。

miR165aは、Revoluta、Phavoluta及びPhabulosaのような転写因子を調節する。miR319は、TCPファミリーの遺伝子を調節する。

【0266】

実施例3 - モデル植物アラビドプシスターリアナにおける特徴決定

実施例3A - AtmiPEP165a

AtmiPEP165aに関して、AtmiPEP165aを用いての処置は、根の成長が大きく加速されるという表現型をもたらすことがアラビドプシスターリアナにおいてインビボで示された（図12）。

更に、より高濃度のmiPEP165aを用いての植物の処置は、miR165a蓄積に対する用量依存的な効果、及びmiPEP165a量に応じてのその標的遺伝子(PHAVOLUTA: PHV、PHABOLUSA: PHB及びREVOLUTA: REV)の負の調節を示す（図22）。

【0267】

実施例3B - AtmiPEP164a

AtmiPEP164aに関して、これを合成し、当該合成ペプチドで処置されたA. タリアナの根におけるmiR164aの蓄積増大を調べるために用いた。

ノザンプロット分析は、ペプチドmiPEP164aを用いての植物の処置が、miR164aの蓄積増大をもたらすことを示す（図23）。

同様の結果がqRT-PCRによって得られた（図30）。

また、AtmiPEP164aを用いての植物の処置が、植物の成長を著しく増大することが、アラビドプシスターリアナにおいてインビボで示された（図24）。

【0268】

実施例3C - AtmiPEP165a

AtmiPEP165aに関して、これを合成し、当該合成ペプチドで処置されたA. タリアナの根におけるmiR165aの蓄積増大を調べるために用いた。

ノザンプロット分析は、ペプチドmiPEP165aを用いての植物の処置が、miR165aの蓄積増大をもたらすことを示す（図25）。

更に、それら自身のmiRNA蓄積に対するmiPEPの作用機序を決定するために、野生型植物及びmiPEP165aを過剰発現するように形質転換された植物において、pri-miR165aの発現を分析した（図35）。

【0269】

pri-miR165aの過剰発現は、miPEP165aを過剰発現する植物において亢進する（図36A）。

。

10

20

30

40

50

RNA合成阻害剤であるコルジセピンの存在下においては、野生型植物及び形質転換された植物におけるpri-miR165a量は同一であり（図36B）、このことは、miPEP165aがRNA安定化因子として機能するのではなく、むしろpri-miR165aの転写活性化因子として機能することを示す。

更に、野生型植物（Col-0植物）及びRNAポリメラーゼIIの第2のラージサブユニットの劣性対立遺伝子を有する変異型植物（nrpb2-3植物）において、pri-miR165aの発現を分析した。得られた結果は、変異型植物が、野生型植物とは異なり、miPEP165aに応答してのpri-miR165蓄積の増大を示さないことを示す。miPEPは、転写調節因子として機能するようである。

【0270】

実施例3D - AtmiPEP319a1

AtmiPEP319a1に関して、これも合成し、当該合成ペプチドで処置されたA. タリアナの根におけるmiR319aの蓄積増大を調べるために用いた。

qRT-PCRによる分析は、AtmiPEP319a1の過剰発現が、miR319aの蓄積増大をもたらすことを示す（図26及び31）。

また、AtmiPEP319a1を用いての植物の処置は、植物の成長を著しく増大することが、アラビドプシス タリアナにおいてインビボで示された（図27）。

【0271】

実施例3E - AtmiPEP160b1

AtmiPEP160b1に関して、このmiPEPの過剰発現が、AtmiR160b蓄積を誘導することが、A. タリアナにおいてインビボで示された（図29）。

【0272】

材料及び方法

生物材料

M. トランカツラの種子の表面を滅菌し、暗中4℃で5日間アガープレート上で発芽させた。次いで、7.5 μ Mホスフェートを含む窒素非含有Fahraeus培地で満たされた12 cm四角プレート上で若芽を成長させた（Lauresserguesら, Plant J., 72(3): 512-22, 2012）。毎日、側根を数えた。ポットの中で、少量のリンを含有するLong Ashton改変培地を植物に1日置きに散水した（Balzergueら, Journal of Experimental Botany, (62)1049-1060, 2011）。

【0273】

Eurogentec又はSmartox-Biotechによりペプチドを合成した。MtmPEP171b1を、40% 水/50% アセトニトリル/10% 酢酸(v/v/v)の溶液中に再懸濁し、その他のペプチドを水中に再懸濁した。

種々の濃度(0.01、0.1、1 μ M)のペプチド溶液を用いて、当該ペプチドを噴霧することにより、サンプリング12時間前(1回目)及びサンプリング30分前(2回目)に、葉に散水した。

【0274】

マイクロRNAの逆転写

3倍容量のエタノールを用いて行ったRNA沈澱を除き、製造業者の取扱説明書に従って、Tri-Reagent (MRC)試薬を用いてRNAを抽出した。RNAの逆転写は、特異的なステム-ループプライマーRTprimer171bと、高分子量のRNAの逆転写を行うための六量体とを併用して行った。

簡潔には、ステム-ループプライマーMIR171b (0.2 μ M)、六量体 (500 ng)、RTバッファー (1X)、SuperScript逆転写酵素(SSIII) (1ユニット)、dNTP (各0.2 mM) 及びDTT (0.8 mM) に1 μ gのRNAを添加し、25 μ lの最終反応混合物とした。逆転写を行うために、パルス逆転写反応を行った (16℃で2分間、42℃で1分間及び50℃で1秒のサイクルを40回繰り返し、その後85℃で5分間の逆転写の最終的な不活性化)。

【0275】

定量RT-PCR分析 (qRT-PCR)

10

20

30

40

50

RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) 抽出キットを用いて、M. トランカツラの根又はタバコの葉からトータルRNAを抽出した。500 ngのトータルRNAについて、SuperScript II逆転写酵素(Invitrogen)を用いて逆転写を行った。この手法をそれぞれ2回繰り返して、3回の繰り返し(n=3)を行った。各実験を2~3回繰り返した。Lauresserguesら (Plant J., 72(3): 512-22, 2012) に記載の方法により、LightCycler 480 System thermocycler (Roche Diagnostics)を用いて、qPCRによる増幅を行った。

【0276】

統計解析

遺伝子の相対的発現及び側根産生の平均値は、Student検定又はKruskal-Wallis検定を用いて解析した。エラーバーは、SEM (平均の標準誤差) を表す。アスタリスクは、有意差を示す ($p < 0.05$)。

10

【0277】

プラスミド構築物

Pfuポリメラーゼ (Promega) を用いて、興味あるDNAフラグメントを増幅した。Combierら (Genes & Dev, 22: 1549-1559, 2008) に記載される方法によって、強力な構成性プロモータ35Sの制御下における過剰発現のためにXhoI及びNotI酵素を用いてDNAフラグメントをpPEX-DsREDプラスミドに、レポーター遺伝子についてはKpnI-NcoI酵素を用いてpPEX GUSプラスミドに、クローニングした。

miPEP165a及びmiPEP319aについては、Combierら (Genes & Dev, 22: 1549-1559, 2008) に記載される方法により、対応するmiORFをpBIN19にクローニングした。

20

【0278】

植物の形質転換

アグロバクテリウム リゾゲネス(Agrobacterium rhizogenes)で形質転換された根を有する合成植物は、Boisson-Dernierら (Mol Plant-Microbe Interact, 18: 1269-1276, 2005) に記載される方法によって取得した。双眼蛍光拡大鏡を用いてのDsRED観察により、形質転換された根を確認し、選択した。コントロールの根は、pPEX-DsREDベクターを含まないA. リゾゲネスで形質転換された根に相当する。タバコの葉の形質転換は、Combierら (Genes & Dev, 22: 1549-1559, 2008) に記載される方法によって行った。

【0279】

ノザンブロット分析

Lauresserguesら. Plant J, 72(3): 512-22, 2012に記載されるプロトコルに従って、ノザンブロット分析を行った。

30

生物試料は、0.1MのNaCl、2%のSDS、50mMのTris-HCl (pH 9)、10mMのEDTA (pH 8)及び20mMのメルカプトエタノールを含むバッファー中でホモジナイズし、フェノール/クロロホルム混合物を用いてRNAを2回抽出し、エタノールで沈澱させた。

PAGE15%ゲルにRNAをロードし、ナイロンメンブレン (HybondNX, Amersham) に転写した。RNA U6又はmiR164aを検出するために、その端が標識された放射性オリゴヌクレオチドプローブを用いてRNAをハイブリダイズした。

ハイブリダイゼーションは55°Cで行った。ハイブリダイゼーションシグナルは、ホスホイメージャー (Fuji) を用いて定量し、RNA U6の特異的プローブのシグナルを用いて正規化した。

40

【0280】

RNAの安定性

各条件について、MS固体培地上で垂直式栽培された2週齢の植物を、1mlのMS液体培地を含む6ウェルプレートに移した。1mMのmiPEPと共に16時間インキュベーション後、植物を100 µg/mlのコルジセピン又は(コントロールとしての) 水で処置し、種々の時点で回収し、RNAを抽出及び定量した。各実験をそれぞれ3回行った。

【0281】

組織化学的標識

GUS標識は、Combierら (Genes & Dev, 22: 1549-1559, 2008) に記載される方法により

50

行った。試料を顕微鏡 (axiozoom) で観察した。

【0282】

免疫染色

50mMホスフェートバッファー(pH7.2)中の4%ホルマリン(v/v)中で、メディカゴ組織の根又は胚を2時間固定し、水中の(融点の低い)アガロースLMP 5%に包埋する。薄い切片(100 μm)を取得し、Pbi(免疫用ホスフェートバッファー)、2% Tween及び1%ウシ血清アルブミン(PbiT-BSA)中において2時間ブロッキングされたテフロンコートスライド上のPbi中に置き、その後BSA-PbiT中に希釈された一次抗体を用いて4℃で一晩(12 h)標識した。切片をPbiTで洗浄し、PbiT-BSA中に希釈された二次抗体と共に、周囲温度で2時間インキュベートした。その後、Pbi中で30分間スライドを洗浄し、Citifluor(封入剤)に封入した。一次抗体及び希釈率は、以下のとおりであった: 1716a (1:500, v/v)。二次抗体は、Alexa Fluor 633蛍光プローブ(Molecular Probes)とカップリングしたヤギ抗ウサギIgG抗体であり、1:1000 (v/v)の希釈率で用いた。

10

【0283】

ウェスタンブロッティング

タンパク質の全抽出物は、Combierら(Genes & Dev, 22: 1549-1559, 2008)に記載される方法を用いて調製し、SDS-PAGEで分離した。泳動は、ホスフェートバッファーを用いて、4℃、15Vで一晩行い、その後グルタルアルデヒド0.2% (v/v) 溶液中でメンブレンを室温で45分間インキュベートした。一次抗体は、1:1000 (v/v)の希釈率で用い、HRP-コンジュゲートヤギ抗ウサギIgG抗体を二次抗体として1:40000 (v/v)の希釈率で用いた。

20

【0284】

【表8-1】

AtmiR160bq5 (配列番号429)	TCCCCAAATTCTTGACCAAA
AtmiR160bq3 (配列番号430)	TTGAGGGGAAAACATGAACC
AtmiR164aq5 (配列番号431)	ACGAAATCCGTCTCATTTGC
AtmiR164aq3 (配列番号432)	GGGTGAAGAGCTCATGTTGG
AtmiR165q5 (配列番号433)	TGAGGGGAATGTTGTCTGG
AtmiR165q3 (配列番号434)	GAAGCCTGGTCCGAGGATA
AtmiR319q5 (配列番号435)	CGAGTCGCCAAAATTCAAAC
AtmiR319q3 (配列番号436)	GCTCCCTTCAGTCCAATCAA
AtPHVq5 (配列番号437)	GCAACTGCAGTGGAATAGCA
AtPHVq3 (配列番号438)	GCGACCTTCATGGGTTCTAA
AtPHBq5 (配列番号439)	CTCAGCATCAGCAACGTGAT
AtPHBq3 (配列番号440)	AACTCTGCTAGGGCCTCCTC
AtREVq5 (配列番号441)	TCACAACCTCCTCAGCATTCG

30

【表 8 - 2】

AtREVq3 (配列番号 4 4 2)	ACCCAATCAACAGCAGTTCC
Atactine2F (配列番号 4 4 3)	GGTAACATTGTGCTCAGTGG
Atactine2R (配列番号 4 4 4)	CTCGGCCTTGGAGATCCACA
miORF319acla5 (配列番号 4 4 5)	tcategATGAATATACATACATACCATCAT
miORF319abam3 (配列番号 4 4 6)	tccggatccTCTAAAAGCTAAAGTGATTCTA AA
AtmiR319cla5 (配列番号 4 4 7)	tcategAGAGAGAGCTTCCTTGAGTC
AtmiR319bam3 (配列番号 4 4 8)	tccggatccAGAGGGAGCTCCCTTCAGT
AtmiR165cla5 (配列番号 4 4 9)	tcategGTTGAGGGGAATGTTGTCTG
AtmiR165bam3 (配列番号 4 5 0)	tccggatccGTTGGGGGGGATGAAGCC
AtmiR165muorf5cla (配列番号 4 5 1)	tcategATGAGGGTTAAGCTATTTTCAGT
AtmiR165muorf3bam (配列番号 4 5 2)	tccggatccTAATATCCTCGATCCAGACAAC
miR171bq5 (配列番号 4 5 3)	CGCCTCAATTTGAATACATGG
miR171bq3 (配列番号 4 5 4)	ACGCGGCTCAATCAAACCTAC
pri-miR171bq5 (配列番号 4 5 5)	GCACTAGCTGGTTTCATTATTCC
pri-miR171bq3 (配列番号 4 5 6)	TTGCAAAATTTGGAGAGCCTA
miR171eq5 (配列番号 4 5 7)	AAGCGATGTTGGTGAGGTTTC
miR171eq3 (配列番号 4 5 8)	CGGCTCAATCTGAGATCGTAT
miR169dq5 (配列番号 4 5 9)	GGGCGGTGAGATTAAACAAA
miR169dq3 (配列番号 4 6 0)	CCTGCCGGAATGAAACTAA
miORF171e2Cla5 (配列番号 4 6 1)	tcategATGATGGTGTGTTGGGAAGCC
miORF171e2bam3 (配列番号 4 6 2)	tccggatccTACATGTAAATCCGTCTTCGG
miORF171b5'AGG (配列番号 4 6 3)	AGGCTTCTTCATAGGCTCTCC
miR171e5'Xho (配列番号 4 6 4)	TCAGTCCGCTCGAGGAATAAGTGAATAT TATCGATATTT
miR171e3'Not (配列番号 4 6 5)	AAGGAAAAAAGCGGCCGCAAAGTGATA TTGGCGCGGCT
171b scramble F bis (配列番号 4 6 6)	TAGCATGTTATTACACCGCTTAAGTAAG TTCTGTAAAGATAGAGCGCGATATTGTTT ACATTAGCTAG
171b scramble R bis (配列番号 4 6 7)	CGTACTAGCTAATGTAAACAATATCGCG CTCTATCTTACAGAACTTACTTAAGCGG TGTAATAACAT
PromiORF171b1 ATG BsaI R (配列番号 4 6 8)	aaaaGGTCTCgCCATAAGCATAGTGGAAT AATGAAACC
PromiORF171b2 ATG BsaI R (配列番号 4 6 9)	aaaaGGTCTCgCCATTTCATACCTGAATT TCTCCTT
PromiORF171b6 ATG BsaI R (配列番号 4 7 0)	aaaaGGTCTCgCCATCTTCATCCTCAATAT CCTAATTC
171b fusion GFP sans ATG BsaI R (配列番号 4 7 1)	aGGTCTCgACACAGATATATATACTATGT CTCTTTCAATTTTGC
Pro171b fusionTranscript GUSpPEX BsaI R (配列番号 4 7 2)	aaaGGTCTCgCCATGACCATTTTCCCACG AATATG

10

20

30

40

【表 8 - 3】

Pro171b fusionATG1 GUSpPEXsansATG BsaI R (配列番号 473)	aaGGTCTCgACACAAGCATAGTGAATA ATGAAACC
Pro171b fusionTraduc GUSpPEX BsaI R (配列番号 474)	aaGGTCTCgACACAGATATATATACTATG TCTCTTTCA
171b NcoI F (配列番号 475)	Gaattcctgcccattggttttcg
171b NcoI R (配列番号 476)	Cgaaaaccatgggcaggaattc
171b AflIII F (配列番号 477)	cagtccegaacttaagctcaatac
171b AflIII R (配列番号 478)	gtattgagcttaagtcgggactg
171b génomiq BsaI F (配列番号 479)	aaaGGTCTC C TAGC TTGGTCAAACATACATACAGTAGCACTA G
171b génomiq BsaI R (配列番号 480)	aaaGGTCTCgCGTAAAATTGTACTGATTG AATGTAAATTGGTACAC
AthmiORF160b F (配列番号 481)	TAGCATGTTTTCCCCTCAATGA
AthmiORF160b R (配列番号 482)	cgtaTCATTGAGGGGAAAACAT
AthMIR160b BsaI F (配列番号 483)	aaaGGTCTCcTAGCACTCATAACTCTCCCC AAATTC
AthMIR160b BsaI R (配列番号 484)	aaaGGTCTCgCGTAGAAAGAATGTTTCGAA AAACAATG
pro 165a BsaI F (配列番号 485)	aGGTCTCCAAATcatgaagcaggcagtaataacct
165a muORF tagHA BsaI R (配列番号 486)	aGGTCTCgCGTActaAGCGTAATCTGGAAC ATCGTATGGGTAtaataatcctcgatccagacaac
165a fusion transcript BsaI R (配列番号 487)	aGGTCTCgccatagtggcggagacgaagatg
165a fusion traduc BsaI R (配列番号 488)	aGGTCTCgccattaataatcctcgatccagacaac
pro 165a BsaI F (配列番号 489)	aGGTCTCCAAATtaaactgtcagtgcattggtgt
165a fusion GTG BsaI R (配列番号 490)	aGGTCTCgACACattcacaaattttgtgttagagag
165a fusion GTGmutGTT BsaI R (配列番号 491)	aGGTCTCgACACattaacaaattttgtgttagagag
165a fusion CTG BsaI R (配列番号 492)	aGGTCTCgACACtagcagattcacaaattttgtgt
165a fusion ATG BsaI R (配列番号 493)	aGGTCTCgACACcctcatgataatcgatcttagca

表 8 プライマーのリスト

【0285】

B: 動物におけるmiPEPの分析

実施例4 - ドロソフィラにおけるmiPEP候補の同定

a) miPEP候補の同定

モデル動物ドロソフィラ メラノガスターにおけるRACE-PCRにより行った最初の試験は、胚形成中に発現されるmiRNA、miR1及びmiR8の存在を示す。

植物と同様に、試験された2つのmiRNAのそれぞれにおいてmiORFを同定した。例えば、昆虫における成長調節の役割を担うことが知られるmiR8は、miPEP8をコードする可能性のあるmiORFを有する。

(ドロソフィラ メラノガスターで同定される) DmmiR1については、DmmiPEP1a及びDmmiPEP1bをコードする可能性のある2つのDmmiORFを有する。

10

20

30

40

50

【0286】

系統発生的解析は、解析した12のドロソフィラ種におけるmiORFの存在についての進化的保存、すなわち6千万年以上前のそれらの分岐からの進化的保存を示す（図13）。

【0287】

更に、ドロソフィラにおいて同定されたmiPEPは、植物のmiPEPといくつかの類似点を有する。それらの一次配列、したがってそれらのサイズが種において急速に変化するならば、サイズの低減がみられると共に（32～104AA）、全体的に塩基性の電荷（9.5～12のpHi）についての強い保存がみられる（図14）。

【0288】

したがって、まとめると、これらの結果は、広範な真核生物種にわたって、マイクロRNAの一次転写産物によってコードされる調節性miPEPが存在することを示す。発見されたこれらのペプチドは、植物及び動物の両方において、多様な基本的生物機能を調節し得る未解明の天然分子が存在することを表す。

【0289】

b) miPEPの発現

（配列番号494の配列からの）DmmiPEP8又は（配列番号495の配列からの）その開始コドンが変異したDmmiPEP mtを過剰発現するようにドロソフィラ メラノガスター細胞をトランスフェクトした。トランスフェクションコントロールとして、モエシン-RFP産生プラスミドを、DmmiPEP8をコードするプラスミド及びDmmiPEP8 mtをコードするプラスミドと共にコトランスフェクトした。DmmiPEP8配列の開始コドンは、GFPによって示されるmiPEP::GFP融合タンパク質の合成を可能にするので、機能的である一方、ATGが変異した構築物は、GFPを殆ど産生しないことが観察される。

これらの結果は、miPEPのORFが機能的であることを示唆する（図38）。

【0290】

材料及び方法

ドロソフィラ メラノガスター細胞

S2細胞は、T75フラスコ中の1%ペニシリン100 U/mL、ストレプトアビジン100mg/mL（Sigma）及び10%補体除去(decomplemente)胎児ウシ血清を含む12 mLのSchneider培地（GIBCO）中で（56℃で30分間）培養する。

一過的トランスフェクションは、FuGENE（登録商標）HDトランスフェクションキット（Roche）を用いて、推奨に従って行う。慣用の方法では、6ウェルプレート（培地3ml/ウェル）に予め播種された150万のS2細胞を、250 ngのトータルプラスミドDNAでトランスフェクトする。100 µlのOPTIMEM（GIBCO）中で、DNAをFugene（3 µl）と接触させる。20分後、形成されたトランスフェクション試薬を、培養培地中で細胞と接触させる。トランスフェクションの66 h後、細胞のRNAを抽出する。

【0291】

DmmiPEP8フラグメント及び変異DmmiPEP8フラグメントのクローニング

pUASプラスミド中のGFPとインフレームでクローニングされるように(pour etre clones en phase avec la GFP dans un plasmide pUAS)、DmmiPEP8（配列番号494）の配列及び開始コドンが変異したDmmiPEP8（配列番号495）の配列に対応するDNAフラグメントを増幅した。DmmiPEP8::GFP又はその変異型DmmiPEP8 mt::GFPをコードするプラスミド、アクチンプロモータの制御下で産生されるGAL4転写因子によってそれらの過剰発現を可能にするpACT-GAL4、及び同様にアクチンプロモータの制御下においてトランスフェクションコントロールとして用いられるモエシン-RFPタンパク質をコードする発現ベクターの混合物（1/1/1の比率、全量300 ng）を用いて、SE昆虫細胞をコトランスフェクトした。トランスフェクションの48h後、ホルムアルデヒド4%（W/V）を最終培地に添加することによって、細胞を10分間固定する。次いで、PBS1Xを用いて細胞を2回洗浄し、顕微鏡（Leica SPE）で観察するためにスライドにコーティングする。

【0292】

【表 9】

CGCACACACACACACACAATCACTCACACGCGGTCACAC GCACATTTCAATAAACTAATGGAGCCTGGCTTTGTTTTTGT TTATTTCCAACCCACTTGAGCACACAGCACACAGAGAGA AAAATCAATACTCGTTATGGGATTAAATTTACAAAGCGCAA AGCAAAGCGACAAACAAAATTCAAAAGAAAGAAAAAAAAA CACTCAAATAAACTCACAAAGAATTCCTTATCGCCAAGGGG GCCAATGTTCTAAGGTTCTTTTCGCCT	配列番号 494
CGCACACACACACACACAATCACTCACACGCGGTCACAC GCACATTTCAATAAACTAAGTGAGCCTGGCTTTGTTTTTGT TTATTTCCAACCCACTTAAGCACACAGCACACAGAGAGA AAAATCAATACTCGTTAGTGGATTAAATTTACAAAGCGCAA AGCAAAGCGACAAACAAAATTCAAAAGAAAGAAAAAAAAA CACTCAAATAAACTCACAAAGAATTCCTTATCGCCAAGGGG GCCAATGTTCTAAGGTTCTTTTCGCCT	配列番号 495

10

表 9 クローニングされた配列

【0293】

C: ヒトにおけるmiPEPの特徴決定

20

実施例5 - HsmiPEP155の特徴決定

興味あるDNAフラグメント（HsmiPEP155及び変異miPEP）を合成するか、又は特異的なプライマーを用いてPCRによって増幅し、酵素XhoI及びNotIを用いて、強力な構成性プロモータによってその発現が制御されるGAL4転写因子によってそれらの過剰発現を可能にするpUASプラスミドにクローニングした。

【0294】

HeLa細胞のゲノムDNAに対するPCR増幅又はL428ヒト細胞のトータルRNAに対するRT-PCRのいずれかによって、種々の構築物を産生した。増幅したPCRフラグメントをHindIII/EcoRI制限酵素で消化し、次いでpcDNA3.1ベクターにクローニングする。エシエリシア コリ DH5α株をエレクトロポレートし、次いで固体培地（2YT+アガー+アンピシリン）で培養する。次いで種々のクローンからプラスミドDNAを調製し、確認のためにシーケンスする。次いで、QIAfilter Plasmid Midi kit (QIAGEN)を用いて構築物を調製し、-20℃で保存する。

30

【0295】

HeLa細胞（樹立腫瘍株、ATCC CCL-2.2）を、6ウェルプレート中の完全培地〔(DMEM (1x) + Glutamax + ビルビン酸を含まない4.5g/Lグルコース + 1x ペニシリン/ストレプトマイシン + 1 mM Na-ピルベート + 10% ウシ血清〕中で培養し、37℃、5%CO₂のインキュベータ中に置く。

【0296】

50%コンフルエンスのときに細胞をトランスフェクトする。実験開始の際、抗生物質を含む完全培地を、抗生物質を含まない完全培地に置き替える。

40

【0297】

各ウェルについて、混合物A〔250 μlのOptimem (+Glutamax) (Gibco) + 2 μgのDNA〕及び混合物B〔250 μlのOptimem + 4 μlのLipofectamine 2000 (Invitrogen)〕を調製し、周囲温度で5分間放置する。次いで混合物Bを混合物Aに滴下して混合し、周囲温度で25分間インキュベーションする。次いで、混合物をウェルに滴下する。4～5時間後、培地を、抗生物質を含む完全培地に置き替える。トランスフェクションの48時間後、細胞を停止させる(les cellules sont arretees)。培地をアスピレートし、廃棄する；細胞をPBS 1Xでリンスする。次いで、細胞を-20℃で保存するか、又はトータルRNAを直接抽出することが可能である。

50

【0298】

各ウェルについて、細胞に1mlのTri-Reagent(Euromedex)を置くことによって、RNAを抽出する。Tri-reagentをアスピレートし、戻すことを数回行い、細胞を適正に溶解させ、それを1.5 mlチューブに移す。0.2 mlの水-飽和クロロホルムを添加する。それをボルテックスにより混合し、次いで周囲温度で2~3分間放置する。それを15300 rpmで、4℃で5分間遠心分離する。周囲温度で10分間インキュベートし、15300 rpmで4℃、15分間遠心分離し、0.5mlのイソプロパノールから水相を沈降させる。上清を廃棄し、1 mlの70%エタノールでペレットをリンスし、15300 rpmで4℃、5分間遠心分離する。上清を再び廃棄し、ペレットを数分間風乾する。

【0299】

10

残留している可能性のあるゲノムDNAを可能な限り除去するために、RNAをDNaseで処理する。このために、170 μ lの超純水、20 μ lのDNaseバッファー10x及び10 μ lのRQ1 RNaseフリーDNaseにペレットを再懸濁し、37℃で30分間維持する。次いで、37℃で20分間にわたって、20 μ lのSDS10%及び5 μ lのプロテイナーゼK (20 mg/ml)を添加する。

225 μ lのフェノール/H₂O/クロロホルム混合物を用いて最後のフェノール抽出を行い、15300 rpm、4℃で5分間遠心分離する。

【0300】

次いで、20 μ lの3M酢酸ナトリウム及び600 μ lの100%エタノールから、-80℃で20分間、水相を沈降させる。次いで、これを15300rpm、4℃で15分間遠心分離する。上清を廃棄する。1mlの70%エタノールでペレットをリンスし、15300rpm、4℃で5分間遠心分離し、上清を再び廃棄し、ペレットを数分間風乾させる。

20

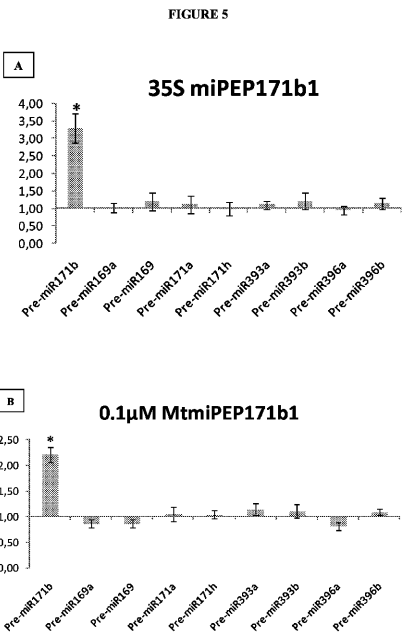
次いで、15~20 μ lの超純水にペレットを溶解させ、RNAをアッセイする。

【0301】

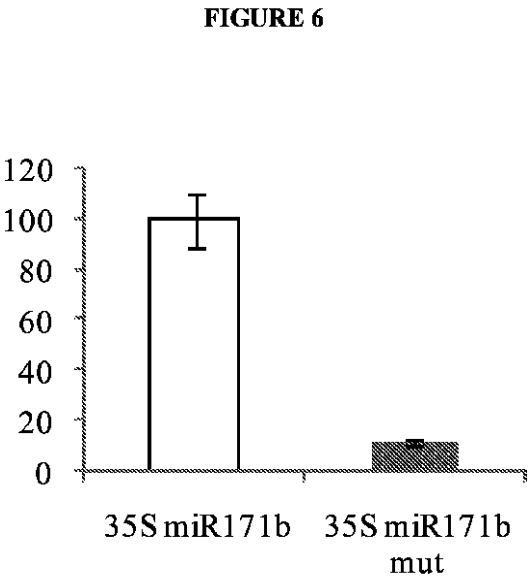
次いで、15%アクリルアミドゲル [アクリルアミド/40%ビス-アクリルアミド溶液、比率19:1]、TBE 1x中の7M尿素を用いてのノザンプロットにより10~15 μ gのトータルRNAを分析する。泳動は、ゲルを予め温めた後、泳動バッファーとしてのTBE1x中400Vで行う。次いで、転写タンク中で1V及び4℃で2時間、RNAをBiodyne Plus 0.45 μ mナイロンメンブレンに電氣的に転写する。転写の終わりに、0.124 J/cm²のUVでメンブレンを照射する。次いで、ハイブリダイゼーションオープン中50℃で1時間、5xSSPEバッファー、1xデンハルト液、1% SDS及び150 μ g/mlの酵母tRNA中でメンブレンをプレハイブリダイズさせる。次いで、 γ -³²P-ATP (0.5~1.10⁶ cpm/mlのハイブリダイゼーションバッファー)で5'を標識されたヌクレオチドプローブを添加し、50℃で一晩ハイブリダイズさせる。次いで、0.1x SSPE/0.1%SDS中周囲温度でメンブレンを2回洗浄し、BioMax HEスクリーン(Kodak)及びBioMax MSフィルム(Kodak)を含むオートラジオグラフィカセットに曝し、-80℃で24~48時間、マイクロRNAを検出する。

30

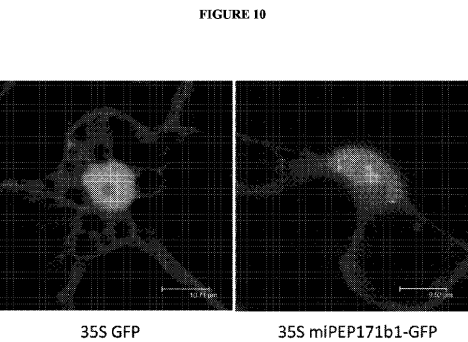
【 図 5 】



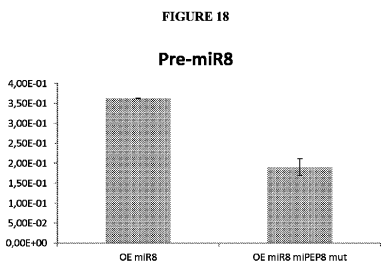
【 図 6 】



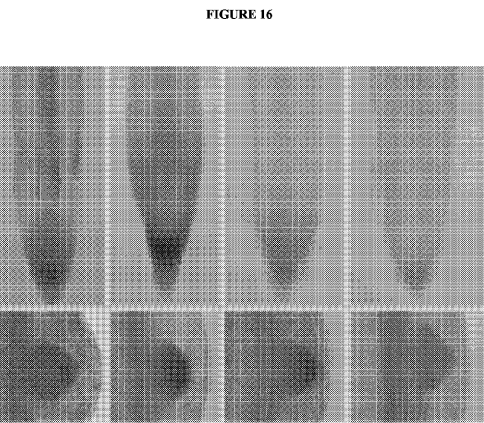
【 図 1 0 】



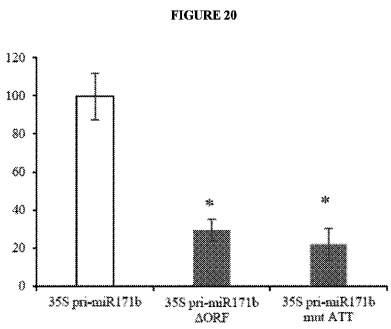
【 図 1 8 】



【 図 1 6 】

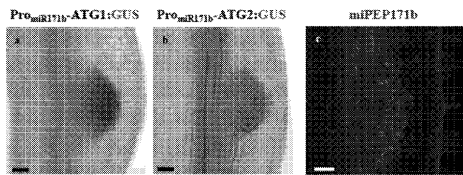


【 図 2 0 】



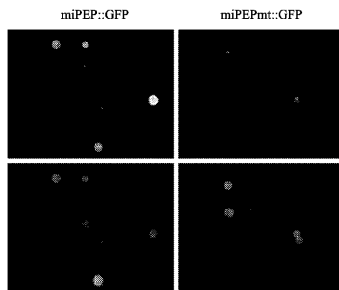
【図 28】

FIGURE 28

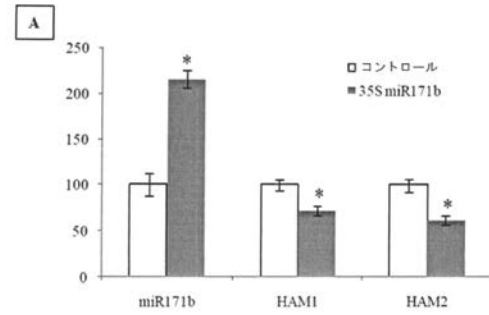
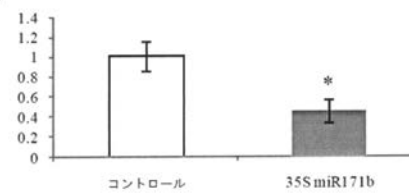


【図 38】

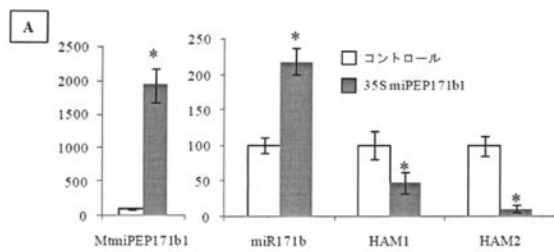
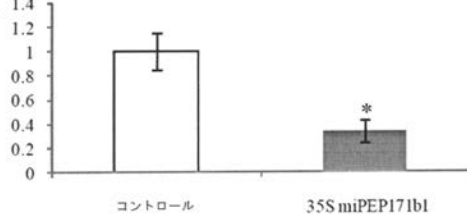
FIGURE 38



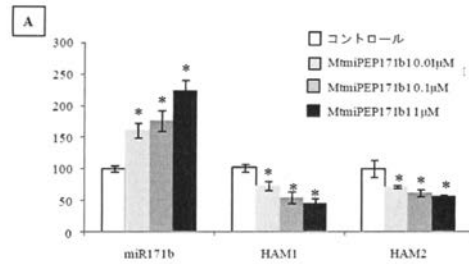
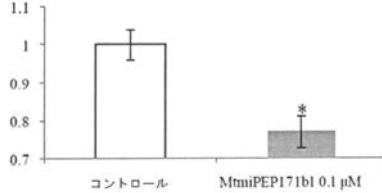
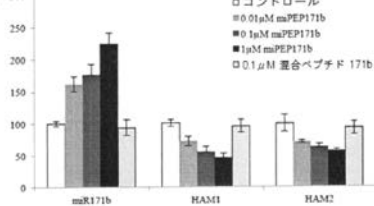
【図 1】

**B**

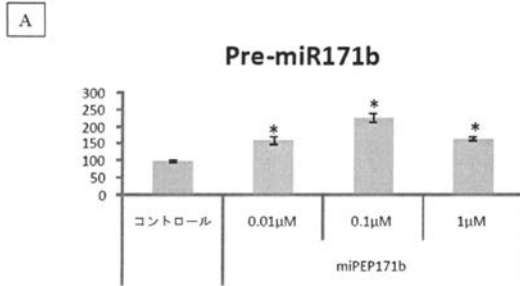
【図 2】

**B**

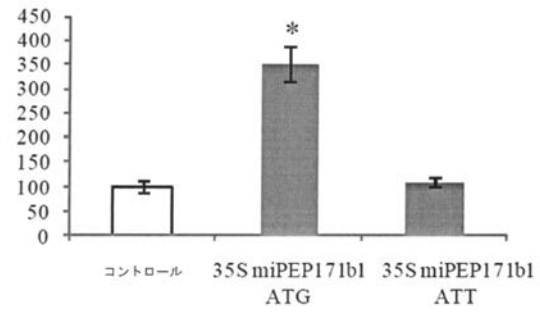
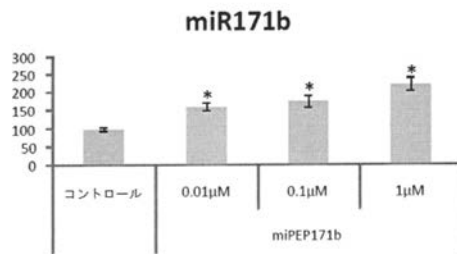
【図 3】

**B****C**

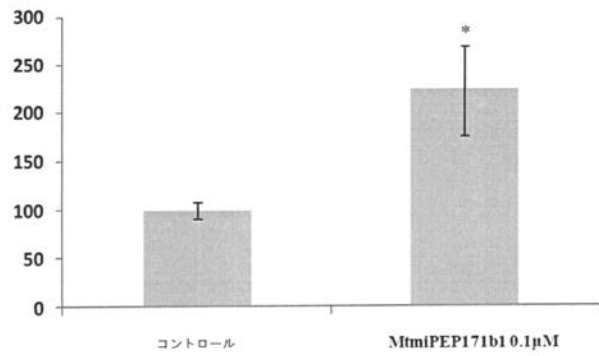
【図 4】



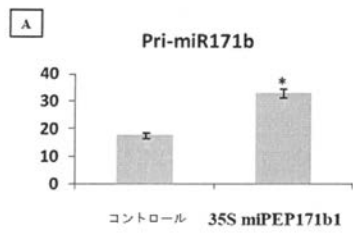
【図 7】

**B**

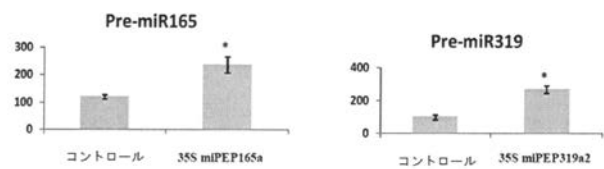
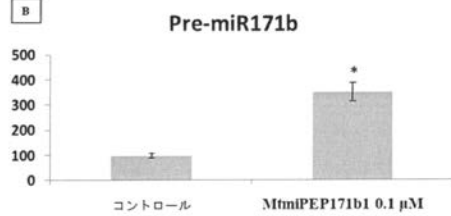
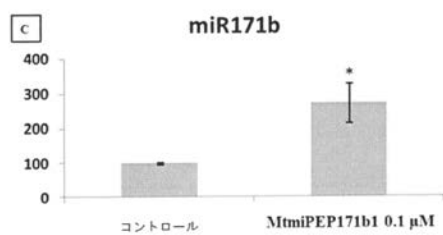
【図 8】



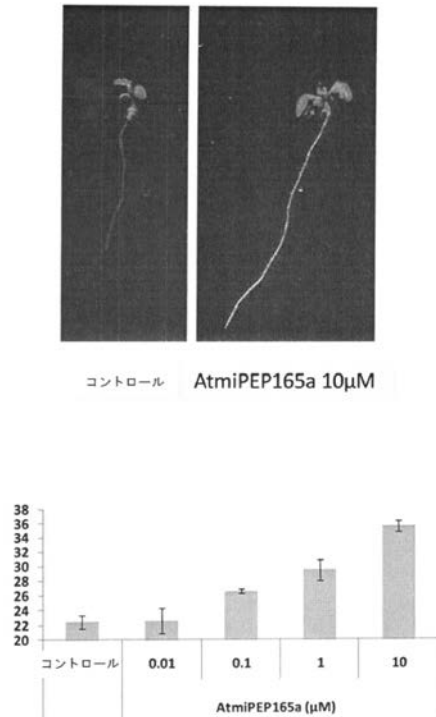
【図 9】



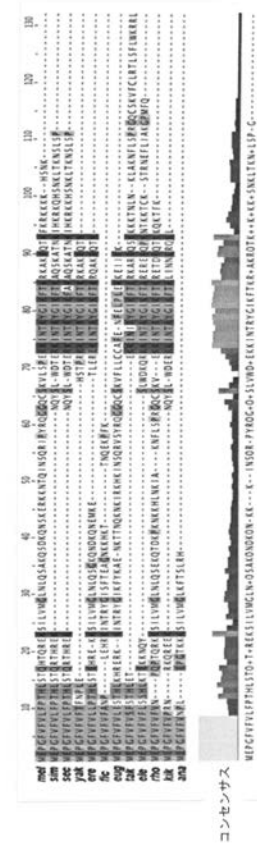
【図 11】

**B****C**

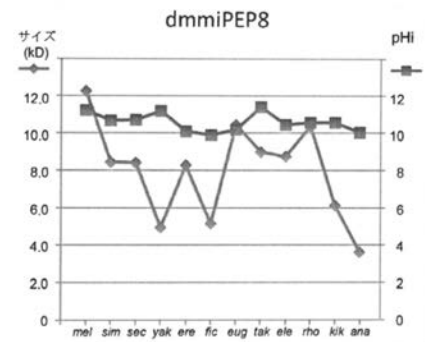
【図 1 2】



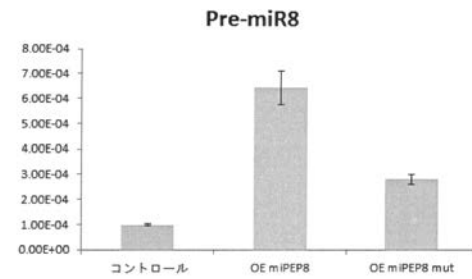
【図 1 3】



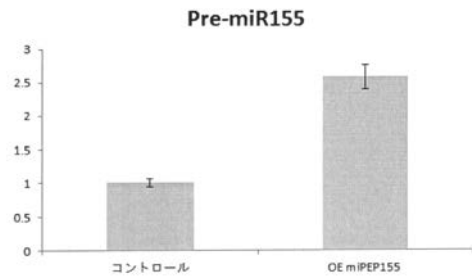
【図 1 4】



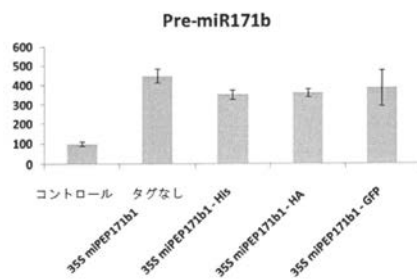
【図 1 7】



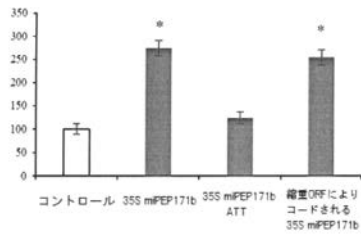
【図 1 9】



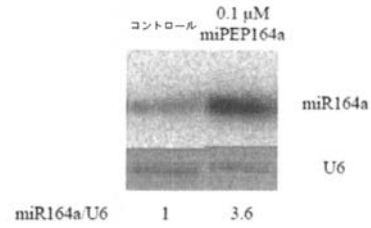
【図 1 5】



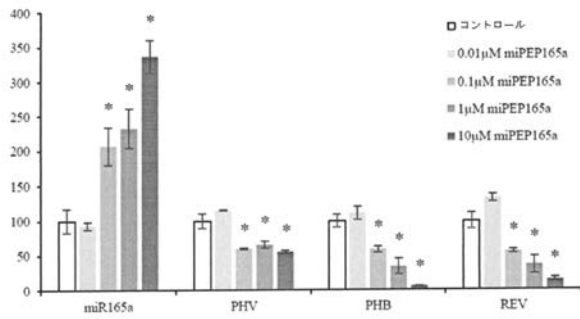
【図 2 1】



【図 2 3】



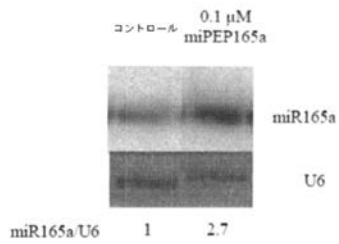
【図 2 2】



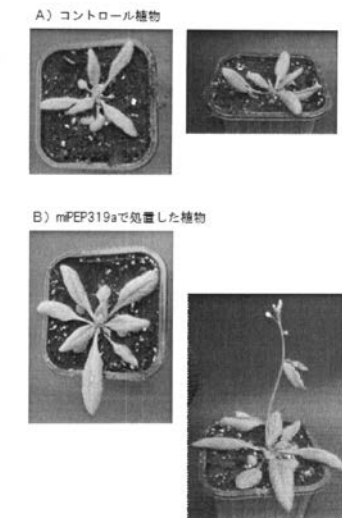
【図 2 4】



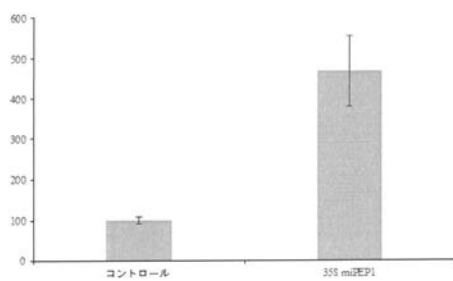
【図 2 5】



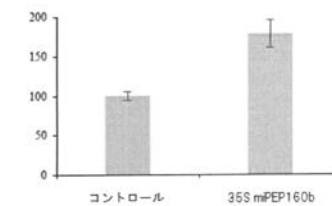
【図 2 7】



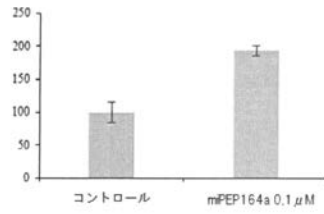
【図 2 6】



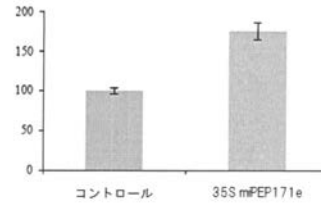
【図 2 9】



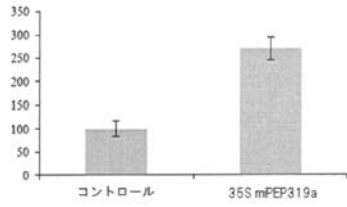
【図 30】



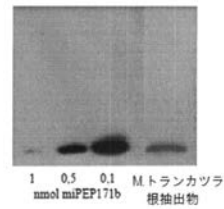
【図 33】



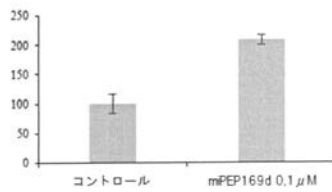
【図 31】



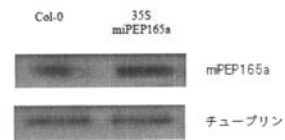
【図 34】



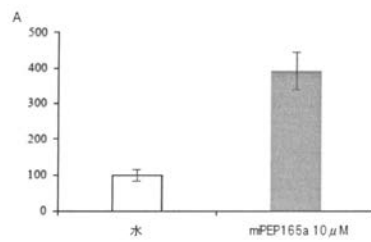
【図 32】



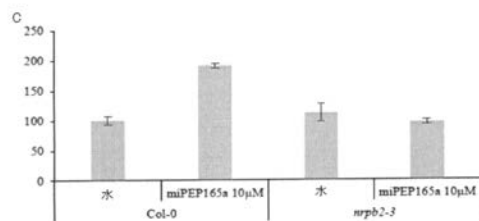
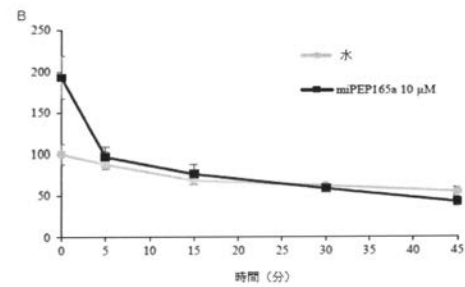
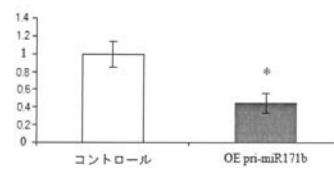
【図 35】



【図 36】



【図 37】



【配列表】

2017504308000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2014/052781

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 C07K7/06 C07K7/08 C12N15/11 C07K14/415 C12N15/82 ADD. 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) C12Q C07K C12N Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	AXEL BRENNICKE: "Micropeptide als Gen-Regulatoren", BIOL. UNSERER ZEIT, vol. 40, 1 June 2010 (2010-06-01), page 371, XP055168530,	9-18
A	abstract the whole document	1-8
Y	JEROEN CRAPPÉ ET AL: "Micro peptides as a new class of bio-active peptides in Eukaryotes", BENELUX BIOINFORMATICS CONFERENCE: PROCEEDINGS OF BBC11, 9 December 2011 (2011-12-09), page 77, XP055168531,	9-18
A	abstract the whole document	1-8
----- -/--		
☒ 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		Date of mailing of the international search report
17 February 2015		25/02/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Helliot, Bertrand

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2014/052781

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MÁXIMO IBO GALINDO ET AL: "Peptides Encoded by Short ORFs Control Development and Define a New Eukaryotic Gene Family", CURRENT SCIENCE, vol. 83, no. 5, 1 January 2007 (2007-01-01), page 426, XP055168533, ISSN: 0011-3891, DOI: 0011-3891(2002)083[0426:COAEDF]2.0.CO;2	9-18
A	abstract the whole document	1-8
A	----- C. LELANDAIS-BRIERE ET AL: "Genome-Wide Medicago truncatula Small RNA Analysis Revealed Novel MicroRNAs and Isoforms Differentially Regulated in Roots and Nodules", THE PLANT CELL ONLINE, vol. 21, no. 9, 1 September 2009 (2009-09-01), pages 2780-2796, XP055127996, ISSN: 1040-4651, DOI: 10.1105/tpc.109.068130 page 283, column 2, paragraph 2 abstract the whole document	1-8
A	----- DOMINIQUE LAURESSERGUES ET AL: "The microRNA miR171h modulates arbuscular mycorrhizal colonization of Medicago truncatula by targeting NSP2", THE PLANT JOURNAL, vol. 72, no. 3, 30 August 2012 (2012-08-30), pages 512-522, XP055128000, ISSN: 0960-7412, DOI: 10.1111/j.1365-3113X.2012.05099.x page 513, column 1, paragraph 5 abstract the whole document	1-18

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2014/052781

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. C12Q1/68 C07K7/06 C07K7/08 C12N15/11 C07K14/415 C12N15/82 ADD. Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) C12Q C07K C12N Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	AXEL BRENNICKE: "Micropeptide als Gen-Regulatoren", BIOL. UNSERER ZEIT, vol. 40, 1 juin 2010 (2010-06-01), page 371, XP055168530,	9-18
A	abrégé le document en entier	1-8
Y	JEROEN CRAPPÉ ET AL: "Micro peptides as a new class of bio-active peptides in Eukaryotes", BENELUX BIOINFORMATICS CONFERENCE: PROCEEDINGS OF BBC11, 9 décembre 2011 (2011-12-09), page 77, XP055168531,	9-18
A	abrégé le document en entier	1-8
----- -/--		
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
17 février 2015		25/02/2015
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Helliot, Bertrand

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (avril 2005)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2014/052781

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	MÁXIMO IBO GALINDO ET AL: "Peptides Encoded by Short ORFs Control Development and Define a New Eukaryotic Gene Family", CURRENT SCIENCE, vol. 83, no. 5, 1 janvier 2007 (2007-01-01), page 426, XP055168533, ISSN: 0011-3891, DOI: 0011-3891(2002)083[0426:COAEDF]2.0.CO;2	9-18
A	abrégé le document en entier -----	1-8
A	C. LELANDAIS-BRIERE ET AL: "Genome-Wide Medicago truncatula Small RNA Analysis Revealed Novel MicroRNAs and Isoforms Differentially Regulated in Roots and Nodules", THE PLANT CELL ONLINE, vol. 21, no. 9, 1 septembre 2009 (2009-09-01), pages 2780-2796, XP055127996, ISSN: 1040-4651, DOI: 10.1105/tpc.109.068130 page 283, colonne 2, alinéa 2 abrégé le document en entier -----	1-8
A	DOMINIQUE LAURESSERGUES ET AL: "The microRNA miR171h modulates arbuscular mycorrhizal colonization of Medicago truncatula by targeting NSP2", THE PLANT JOURNAL, vol. 72, no. 3, 30 août 2012 (2012-08-30), pages 512-522, XP055128000, ISSN: 0960-7412, DOI: 10.1111/j.1365-3113.2012.05099.x page 513, colonne 1, alinéa 5 abrégé le document en entier -----	1-18

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 H 0 1 1
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/7105	4 H 0 4 5
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 35/76	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 0 1 P 13/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 0 1 P 21/00 (2006.01)	A 0 1 P 13/00	
A 0 1 P 11/00 (2006.01)	A 0 1 P 21/00	
A 0 1 P 9/00 (2006.01)	A 0 1 P 11/00	
A 0 1 P 7/04 (2006.01)	A 0 1 P 9/00	
A 0 1 P 7/00 (2006.01)	A 0 1 P 7/04	
A 0 1 N 63/00 (2006.01)	A 0 1 P 7/00	
A 0 1 P 3/00 (2006.01)	A 0 1 N 63/00	C
	A 0 1 P 3/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(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),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. テフロン

(74)代理人 100159385

弁理士 甲斐 伸二

(74)代理人 100163407

弁理士 金子 裕輔

(74)代理人 100166936

弁理士 稲本 潔

(74)代理人 100174883

弁理士 富田 雅己

(72)発明者 コンビエ, ジャンーフィリップ

フランス、エフー 3 1 3 2 0 カスタネ トロザン、レ オルム 1、ビーエーティー ビー 3

(72)発明者 ロールーセルグ, ドミニク

フランス、エフー 3 1 0 0 0 トゥールーズ、アベニュー ポール セジオルネ、9

(72)発明者 ベカード, ギヨーム

フランス、エフー 3 1 4 5 0 オダール、リュ ベル オリゾン、1 3

(72)発明者 ペール, フランソワ

フランス、エフー 3 1 4 5 0 ポンペルテュザ、リュ ドゥ クストゥー ド ヴァレット、1 4
(72)発明者 プラザ、セルジュ

フランス、エフー 3 1 5 2 0 ラモンビル サン タニユ、リュ ロマン ロラン、3 0

(72)発明者 カヴァイユ、ジェローム

フランス、エフー 3 1 5 2 0 ラモンビル サン タニユ、リュ フェドリコ ガルシア ロルカ
、1 2

F ターム(参考) 2B030 AA02 AB03 CA11

4B063 QA01 QA13 QA18 QQ02 QQ04 QQ08 QQ09 QQ42 QQ52 QR32

QR35 QR55 QR62 QS25 QS32 QX01

4C084 AA02 AA07 AA13 BA01 BA16 BA17 BA18 BA19 BA20 CA53

NA14 ZA02 ZA36 ZA70 ZB07 ZB26 ZB35 ZC01 ZC35

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA36 ZA70 ZB07

ZB26 ZB35 ZC01 ZC35

4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 NA14 ZA02 ZA36 ZA70 ZB07 ZB26

ZB35 ZC01 ZC35

4H011 AA01 AB01 AB03 AC00 AC01 AE01 BB21 BB22 BB23

4H045 AA10 AA30 BA10 CA30 CA31 EA50 EA60 FA74