

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010年4月1日(01.04.2010)

PCT

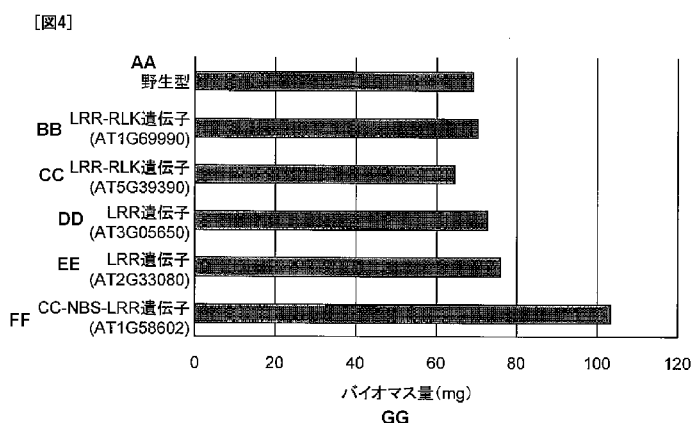
(10) 国際公開番号
WO 2010/035784 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/29 (2006.01) A01H 5/00 (2006.01)
A01H 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/066650
- (22) 国際出願日: 2009年9月25日(25.09.2009)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2008-246233 2008年9月25日(25.09.2008) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): トヨタ自動車株式会社 (TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 Aichi (JP). 岡山県 (OKAYAMA PREFECTURE) [JP/JP]; 〒7000824 岡山県岡山市北区内山下2丁目4番6号 Okayama (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 近藤 聡 (KONDO Satoshi) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP). 光川 典宏 (MITSUKAWA Norihiro) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP). 服部 悦子 (HATTORI Etsuko) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP).
- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI Yusuke et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門4丁目3番20号 神谷町MTビル19階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,

[続葉有]

(54) Title: GENE CAPABLE OF INCREASING AMOUNT OF PLANT BIOMASS, AND METHOD FOR UTILIZING SAME

(54) 発明の名称: 植物のバイオマス量を増産させる遺伝子及びその利用方法



AA WILD TYPE
 BB LRR-RLK GENE
 CC LRR-RLK GENE
 DD LRR GENE
 EE LRR GENE
 FF CC-NBS-LRR GENE
 GG AMOUNT OF BIOMASS (mg)

(57) Abstract: Disclosed is a technique for largely increasing the amount of a plant biomass and imparting salt stress tolerance. A gene encoding a protein is introduced, wherein the protein contains a consensus sequence comprising the amino acid sequence depicted in SEQ ID NO:3 and a consensus sequence comprising the amino acid sequence depicted in SEQ ID NO:2 in this order from the N-terminal side, and has a coiled-coil structure, a nucleic acid-binding site, and a leucine-rich repeat structure. Alternatively, an expression control region for the gene which is present endogenously is modified.

(57) 要約: 植物バイオマス量を大幅に増産できるとともに塩ストレス耐性を付与する技術を提供する。配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入する、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変する。



WO 2010/035784 A1

GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ,
CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称：

植物のバイオマス量を増産させる遺伝子及びその利用方法

技術分野

[0001] 本発明は、所定の遺伝子を導入した、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変した植物体、及び所定の遺伝子を導入する、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変することによるバイオマス量を増産し、且つ塩ストレス耐性を付与する方法、バイオマス量が増産し、且つ塩ストレス耐性が付与された植物体の製造方法に関する。

背景技術

[0002] バイオマス (biomass) とは、一般的には一定面積あたりに生息または存在する生物の総量を指し、特に植物を対象とした場合は、単位面積あたりの乾重量を意味する。バイオマスの単位は、質量又はエネルギー量で数値化する。バイオマスという表現は、「生物体量」、「生物量」も同義語であり、植物バイオマスの場合には「現存量 (Standing crop)」の語が使われることもある。植物バイオマスは、大気中の二酸化炭素を太陽エネルギーを用いて固定して生成されるため、いわゆるカーボンニュートラルなエネルギーとして捕らえることができる。したがって、植物のバイオマスを増加させることは、地球環境保全、地球温暖化防止、温室効果ガス排出低減の効果がある。従って、植物バイオマスを増産させる技術は産業上の重要性が高い。

[0003] 一方、植物は、その一部の組織自体 (種子、根、葉茎など) を目的として栽培されたり、油脂などの種々の物質生産を目的として栽培されたりする。例えば、植物が生産する油脂としては、大豆油、ごま油、オリーブ油、椰子油、米油、綿実油、ひまわり油、コーン油、べに花油、パーム油及び菜種油等が古来より知られており、家庭用途や工業用途に広く利用されている。また、植物が生産する油脂は、バイオディーゼル燃料やバイオプラスチックの原料としても使用され、石油代替エネルギーとして適用性が広がっている。

[0004] 特に、サトウキビなどのエネルギー作物は、バイオ燃料の原料となるため、植物自体の総量（植物バイオマス量）を増産させることが期待されている。このような状況において、植物バイオマス量を増産させるには、単位耕地面積あたりの生産性の向上が必要となる。ここで単位耕地面積あたりの栽培個体数が一定であると仮定すると、個体あたりのバイオマス量の向上が必要であることが判る。

[0005] しかしながら、植物バイオマス量は、多数の遺伝子が関与すると考えられており（いわゆる量的形質の一種）、個別の遺伝子導入、遺伝子操作では効果的に増産できないと考えられている。一方、多数の遺伝子を望ましい状態で植物に導入することは非常に困難であり、また、導入できたとしても望ましい形質が確実に獲得できるわけではないといった問題があった。

[0006] 植物バイオマスを増産させる技術としては、例えば特許文献1～7に開示されるような種々の遺伝子導入技術が知られていた。しかしながら、いずれの技術においても、バイオマス増産効果には着目されているものの、植物体に塩ストレス耐性を付与するといった技術を開示するものではない。

特許文献1：特表2001-505410号

特許文献2：特表2001-519659号

特許文献3：特表2007-530063号

特許文献4：特開2005-130770号

特許文献5：特表2000-515020号

特許文献6：特表平9-503389号

特許文献7：特開2005-52114号

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0007] そこで、上述したような実情に鑑み、植物バイオマス量を大幅に向上させる新規な機能を有する遺伝子を探索し、植物バイオマス量を大幅に増産できるとともに、植物体に塩ストレス耐性を付与する技術を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

- [0008] 上述した目的を達成するため、本発明者らが鋭意検討した結果、分子内にコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造とを有するタンパク質であって、特徴的な共通配列を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入する、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変することで、植物バイオマス量を大幅に向上できるとともに植物体に塩ストレス耐性を付与できるといった新規知見を見だし、本発明を完成するに至った。
- [0009] すなわち、本発明に係る植物体は、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入した、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変したものである。
- [0010] また、本発明に係るバイオマス量を増産させ且つ植物体に塩ストレス耐性を付与する方法は、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入する、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変する方法である。
- [0011] さらに、本発明に係る植物体の製造方法は、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入した、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変した形質転換植物を準備する工程と、前記形質転換植物の後代植物のバイオマス量及び塩ストレス耐性を測定し、当該バイオマス量が有意に向上するとともに塩ストレス耐性を示した系統を選抜する工程とを含む方法である。
- [0012] 本発明において、上記タンパク質は、配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列を、上記配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列のN末

端側に更に有するものであることが好ましい。

[0013] 本発明において、上記遺伝子は、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920からなる群から選ばれる少なくとも1種の遺伝子若しくは当該遺伝子に機能的に等価な遺伝子とすることができる。

[0014] 本発明において、上記遺伝子が、以下の(a)～(c)のいずれかのタンパク質をコードするものであることが好ましい。

[0015] (a) 配列番号5に示すアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号5に示すアミノ酸配列において1又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質

(c) 配列番号4に示す塩基配列の相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドに対してストリンジентな条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質

また、本発明において、上記機能的に等価な遺伝子は、シロイヌナズナ以外の生物由来のコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を挙げることができる。シロイヌナズナ以外の生物としては、ブドウを挙げることができる。

[0016] 本発明において対象とする植物は、双子葉植物、例えばアブラナ科植物、アブラナ科植物の中でもシロイヌナズナやナタネを挙げることができる。一方、本発明において対象とする植物は、単子葉植物、例えばイネ科植物、イネ科植物の中でもイネやサトウキビを挙げることができる。

[0017] 本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2008-246233号の明細書および／または図面に記載される内容を包含する。

発明の効果

[0018] 本発明に係る植物体は、野生型と比較してバイオマス量が有意に向上し、

塩ストレスに対する耐性が付与されたものとなる。また、本発明に係るバイオマス量を増産させ且つ植物体に塩ストレス耐性を付与する方法は、対象とする植物の野生型と比較して大幅にバイオマスを増産することができ、且つ塩ストレス耐性を付与することができる。さらに、本発明に係る植物体に製造方法は、野生型と比較してバイオマス量が大幅に向上し、且つ塩ストレス耐性を有する植物体を製造することができる。したがって、本発明を適用することによって、例えば、植物自体を生産物としたときの生産性の向上を達成することで低コスト化を達成することができ、且つ、高塩濃度の環境においても植物の育成が可能となる。

図面の簡単な説明

[0019] [図1-1] AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図1-2] AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図1-3] AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図1-4] AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配

列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図1-5]AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図1-6]AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図1-7]AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920がコードするアミノ酸配列について、CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignmentプログラムを用いてアラインメント解析した結果を示す特性図である。

[図2]野生型及びAT1G58602のORFを含む断片を導入した形質転換植物体の種子をプレートに播種した後の写真である。

[図3]野生型及びAT1G58602のORFを含む断片を導入した形質転換植物体の地上部を撮影した写真である。

[図4]野生型の植物体、LRR-RLKタンパク質遺伝子(AT1G69990)を導入した形質転換植物体、LRR-RLKタンパク質遺伝子(AT5G39390)を導入した形質転換植物体、LRRタンパク質遺伝子(AT3G05650)を導入した形質転換植物体、LRRタンパク質遺伝子(AT2G33080)を導入した形質転換植物体及びCG-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)を導入した形質転換植物体について、それぞれ地上部の全バイオマス量を測定した結果を示す特性図である。

発明を実施するための最良の形態

[0020] 以下、本発明を詳細に説明する。

[0021] 本発明に係る植物体は、特徴的な共通配列を有するコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質（以下、CC-NBS-LRRと略称する）をコードする遺伝子を植物体内に導入したもの、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変したものであり、野生型と比較してバイオマス量が有意に向上するとともに、塩ストレス耐性が付与されている。対象とする遺伝子を外来的に植物体内に導入するか、内在する遺伝子の発現制御領域を改変することによって、対象とする遺伝子の発現量を野生型における発現量と比較して有意に大とすることができる。本発明に係る植物体としては、上記CC-NBS-LRR遺伝子を植物組織の全体に亘って発現させたものであっても良いが、植物組織の少なくとも一部において発現させたものであっても良い。ここで植物組織とは、葉、莖、種子、根及び花等の植物器官を含む意味である。

[0022] また、発現制御領域とは、RNAポリメラーゼが結合するプロモーター領域及びその他の転写因子が結合する領域を含む意味である。転写制御領域の改変としては、内在する転写制御領域のうち例えばプロモーター領域を、より高発現が可能なプロモーター領域に置換することが好ましい。

[0023] CC-NBS-LRR遺伝子

本発明において、CC-NBS-LRR遺伝子は、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、CC-NBS-LRRタンパク質をコードする。なお、CC-NBS-LRRは、参考文献(1) (The Plant Cell, Vol. 15, 809-834, April 2003)に記載されているように、核酸結合部位を有するとともに植物における抵抗性タンパク質 (Rタンパク質とも称される) の一種として分類されている。特に、上記共通配列を有するCC-NBS-LRRは、上記参考文献において“CNL-D”として分類されており、N末端側からコイルドコイル構造、核酸結合部位及びロイシンリッチリピート構造を有する点では他のCC-NBS-LRRと同じであるが、コイルドコイル構造とロイシンリッチリピート構造との間における核酸結合性

モチーフの一部が特徴的であり、他のCG-NBS-LRRとは異なる生物学的機能を有していると考えられる。

[0024] このCNL-Dに分類されるCG-NBS-LRRとしては、上記参考文献(1)のFigure 4Aに開示されるように、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920を挙げることができる。これらCNL-Dに分類されるCG-NBS-LRRについて、CLUSTAL W (1.8.3) multiple sequence alignmentプログラム(国立遺伝学研究所のDDBJで使用できる(<http://clustalw.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>))を用いてアラインメント解析した結果を図1に示す(使用したアミノ酸配列置換行列表はデフォルト値のBLOSUMマトリックスを使用した)。

[0025] 図1に示すように、これらCNL-Dに分類されるCG-NBS-LRRは、N末端側から順に高度に保存された領域(3)及び(2)を有していることが判る。すなわち、この高度に保存された領域(3)及び(2)が、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列として定義することができる。換言すると、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列は、上述したCG-NBS-LRRの分類におけるCNL-Dに特徴的な配列であって、他のグループとの明確な区別基準となる配列である。

[0026] また、CNL-Dに分類されるCG-NBS-LRRは、図1に示すように、領域(3)及び(2)に加えて、領域(3)のN末端側に、高度に保存された領域(1)を有していることが判る。すなわち、この高度に保存された領域(1)が配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列として定義することができる。すなわち、CNL-Dに分類されるCG-NBS-LRRは、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列に加えて、上記配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列のN末端側に、更に配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列を有すると定義することもできる。

[0027] ここで配列番号1に示すアミノ酸配列において、Xaaとして表記されたアミ

ノ酸残基は任意のアミノ酸であり、如何なるアミノ酸に限定されるものではない。但し、配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 3 番目のアミノ酸残基は、イソロイシン（三文字表記：Ile、一文字表記：I、以下同様）、ロイシン（Leu、L）又はバリン（Val、V）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 4 番目のアミノ酸残基は、トレオニン（Thr、T）、セリン（Ser、S）又はアラニン（Ala、A）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 6 番目のアミノ酸残基は、メチオニン（Met、M）又はロイシン（Leu、L）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 9 番目のアミノ酸残基は、ロイシン（Leu、L）又はイソロイシン（Ile、I）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 16 番目のアミノ酸残基は、リジン（Lys、K）又はアルギニン（Arg、R）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 18 番目のアミノ酸残基は、バリン（Val、V）又はイソロイシン（Ile、I）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 20 番目のアミノ酸残基は、アスパラギン（Asn、N）、アスパラギン酸（Asp、D）又はヒスチジン（His、H）であることが好ましい。配列番号 1 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 22 番目のアミノ酸残基は、グルタミン酸（Glu、E）又はアスパラギン酸（Asp、D）であることが好ましい。すなわち、配列番号 1 に示すアミノ酸配列からなる共通配列としては、より具体的に V S(I/L/V) (T/S/A) G(M/L) GG(L/I) GKTTLA(K/R) Q(V/I) F(N/D/H) H(E/D) であることが好ましい。このアミノ酸配列において、カッコ内の複数のアミノ酸は当該位置において取りうるアミノ酸残基のバリエーションを示している。

[0028] ここで配列番号 2 に示すアミノ酸配列において、Xaa として表記されたアミノ酸残基は任意のアミノ酸であり、如何なるアミノ酸に限定されるものではない。但し、配列番号 2 に示すアミノ酸配列における N 末端側から 2 番目のアミノ酸残基は、ヒスチジン（His、H）、アルギニン（Arg、R）又はグルタミン（Gln、Q）であることが好ましい。配列番号 2 に示すアミノ酸配列にお

けるN末端側から3番目のアミノ酸残基は、ロイシン (Leu、L) 又はメチオニン (Met、M) であることが好ましい。配列番号2に示すアミノ酸配列におけるN末端側から6番目のアミノ酸残基は、メチオニン (Met、M)、イソロイシン (Ile、I) 又はロイシン (Leu、L) であることが好ましい。配列番号2に示すアミノ酸配列におけるN末端側から7番目のアミノ酸残基は、メチオニン (Met、M) 又はバリン (Val、V) であることが好ましい。配列番号2に示すアミノ酸配列におけるN末端側から10番目のアミノ酸残基は、バリン (Val、V) 又はイソロイシン (Ile、I) であることが好ましい。配列番号2に示すアミノ酸配列におけるN末端側から12番目のアミノ酸残基は、ロイシン (Leu、L) 又はイソロイシン (Ile、I) であることが好ましい。すなわち、配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列としては、より具体的にC(H/R/Q) (L/M) HD (M/I/L) (M/V) RE (V/I) G (L/I) であることが好ましい。このアミノ酸配列において、カッコ内の複数のアミノ酸は当該位置において取りうるアミノ酸残基のバリエーションを示している。

[0029] ここで配列番号3に示すアミノ酸配列において、Xaaとして表記されたアミノ酸残基は任意のアミノ酸であり、如何なるアミノ酸に限定されるものではない。但し、配列番号3に示すアミノ酸配列におけるN末端側から2番目のアミノ酸残基は、イソロイシン (Ile、I) 又はロイシン (Leu、L) であることが好ましい。配列番号3に示すアミノ酸配列におけるN末端側から6番目のアミノ酸残基は、バリン (Val、V) 又はアラニン (Ala、A) であることが好ましい。配列番号3に示すアミノ酸配列におけるN末端側から7番目のアミノ酸残基は、アルギニン (Arg、R) 又はリジン (Lys、K) であることが好ましい。配列番号3に示すアミノ酸配列におけるN末端側から10番目のアミノ酸残基は、メチオニン (Met、M) 又はロイシン (Leu、L) であることが好ましい。配列番号3に示すアミノ酸配列におけるN末端側から11番目のアミノ酸残基は、バリン (Val、V) 又はイソロイシン (Ile、I) であることが好ましい。すなわち、配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列としては、より具体的にY(I/L) EEL (V/A) (R/K) RN (M/L) (V/I) であることが好まし

い。このアミノ酸配列において、カッコ内の複数のアミノ酸は当該位置において取りうるアミノ酸残基のバリエーションを示している。

[0030] 所定の位置において取りうるアミノ酸残基のバリエーションは以下の理由によるものである。参考文献(2) (「マッキー生化学」第3版 5章アミノ酸・ペプチド・タンパク質 5.1アミノ酸、監修：市川厚、監訳：福岡伸一、発行者：曾根良介、発行所：(株)化学同人、ISBN4-7598-0944 -9)でも記載されているように、アミノ酸は同様の性質(化学的性質や物理的大きさ)を持つ側鎖に従って分類される事がよく知られる。また、タンパク質の活性を保持したまま、所定のグループに分類されるアミノ酸残基間における分子進化上の置換が頻度高く起こることがよく知られる。この考えを基に、参考文献(3) : Henikoff S., Henikoff J.G., Amino-acid substitution matrices from protein blocks, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 10915-10919 (1992) 中の、Fig. 2でアミノ酸残基の置換変異のスコアマトリックス(BLOSUM)が提唱され、広く使用されている。参考文献(2)では、側鎖の化学的性質が似たもの同士のアミノ酸置換は、タンパク質全体に与える構造や機能変化が少なくなると言う知見に基づくものである。上記参考文献(2)及び(3)によれば、マルチプルアラインメントで考慮するアミノ酸の側鎖のグループは、化学的性質や物理的大きさなどの指標を基にして考えることができる。これは、参考文献(3)に開示されたスコアマトリックス(BLOSUM)において、スコアの0以上の値を持つアミノ酸、好ましくは1以上の値を持つアミノ酸のグループとして示される。代表的なグループとしては、下記の8つが上げられる。その他の細かいグループ分けは、当該スコアの値の0以上同士のアミノ酸グループ、好ましくは1以上同士のアミノ酸グループ、さらに好ましくは2以上のアミノ酸グループであれば良い。

[0031] 1) 脂肪族疎水性アミノ酸グループ (ILMVグループ)

このグループは、上記参考文献(1)で示された中性非極性アミノ酸のうち、脂肪属性の疎水性側鎖をもつアミノ酸のグループであり、V(Val、バリン)、L(Leu、ロイシン)、I(Ile、イソロイシン)及びM(Met、メチオニン)から構成さ

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

[0032] 2) ヒドロキシメチレン基をもつグループ (STグループ)

このグループは、中性極性アミノ酸のうちヒドロキシメチレン基を側鎖に持つアミノ酸のグループであり、S(Ser、セリン)とT(Thr、スレオニン)から構成される。SとTの側鎖に存在する水酸基は、糖の結合部位であるため、あるポリペプチド(タンパク質)が特定の活性を持つために重要な部位である場合が多い。

[0033] 3) 酸性アミノ酸 (DEグループ)

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

[0034] 4) 塩基性アミノ酸 (KRグループ)

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

[0035] 5) メチレン基=極性基 (DHNグループ)

このグループは、全て α 位の炭素元素に側鎖としてメチレン基が結合しその先に極性基を有すると言う特徴を持つ。非極性基であるメチレン基の物理

的大きさが酷似している特徴を持ち、N(Asn、アスパラギン、極性基はアミド基)、D(Asp、アスパラギン酸、極性基はカルボキシル基)とH(His、ヒスチジン、極性基はイミダゾール基)から成る。

6) ジメチレン基=極性基 (EKQRグループ)

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

[0036] 7) 芳香族 (FYWグループ)

このグループには、側鎖にベンゼン核を持つ芳香族アミノ酸であり、芳香族特有の化学的性質を特徴とする。F(Phe、フェニルアラニン)、Y(Tyr、チロシン)、W(Trp、トリプトファン)から成る。

[0037] 8) 環状&極性 (HYグループ)

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

[0038] 以上のように、配列番号1~3に示す所定のアミノ酸配列においては、Xaaとして示すアミノ酸残基を任意のアミノ酸としても良いが、Xaaとして示すアミノ酸残基を上記1)~8)のグループ内でアミノ酸置換しても良いことが判る。すなわち、本発明において、CC-NBS-LRR遺伝子は、配列番号3及び2に示すアミノ酸配列からなる2つの共通配列、好ましくは配列番号1~3に示すアミノ酸配列からなる3つの共通配列を有する限り、如何なる植物由来のCC-NBS-LRR遺伝子であってもよい。

[0039] より具体的に、シロイヌナズナにおいて配列番号1~3に示す所定のアミノ酸配列からなる共通配列を有するCC-NBS-LRR遺伝子としては、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1

G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920が挙げられ、本発明ではこれら遺伝子群から選ばれる少なくとも1種の遺伝子を植物体内に導入するか、内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変する。なかでも、本発明においては、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848及びAT1G58602で特定される遺伝子、より好ましくはAT1G58602で特定される遺伝子を植物体内に導入するか、内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変する。

[0040] 一例として、AT1G58602で特定される遺伝子におけるコーディング領域の塩基配列を配列番号4に示し、AT1G58602で特定される遺伝子によりコードされるCC-NBS-LRRのアミノ酸配列を配列番号5に示す。

[0041] また、本発明においては、上記で列挙した遺伝子と機能的に等価な遺伝子を植物体内に導入しても良い。ここで機能的に等価な遺伝子とは、例えばシロイヌナズナ以外の生物由来であって、配列番号3及び2に示すアミノ酸配列からなる2つの共通配列を有するCC-NBS-LRRをコードする遺伝子を含む意味である。また、機能的に等価な遺伝子とは、CC-NBS-LRRを有するタンパク質であって、エフェクターに対して直接的又は間接的に相互作用するRタンパク質をコードする遺伝子である。

[0042] 上記シロイヌナズナ以外の生物としては、一例としてブドウ (*Vitis vinifera*) を挙げるができる。より具体的には、*Vitis vinifera* の遺伝子としてアクセッション番号A7Q3G8で特定される遺伝子、A5BY93で特定される遺伝子、A7Q3G6で特定される遺伝子、A5C0R9で特定される遺伝子、及びA7Q3H1で特定される遺伝子を挙げるができる。

[0043] これらに代表されるシロイヌナズナ以外の植物における、配列番号3及び2に示すアミノ酸配列からなる2つの共通配列を有するCC-NBS-LRRをコードする遺伝子は、上記で列挙したシロイヌナズナ由来のAT1G58602遺伝子によりコードされるアミノ酸配列に基づいて、GenBank等の公知のデータベースから容易に検索・同定することができる。

[0044] なお、本発明においてCC-NBS-LRR遺伝子としては、上述したような配列番

号で特定される塩基配列及びアミノ酸配列からなるCC-NBS-LRR遺伝子に限定されるものではない。すなわち、CC-NBS-LRR遺伝子としては、上述したような配列番号で特定されるアミノ酸配列において1又は複数個のアミノ酸配列が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、且つ、CC-NBS-LRRとして機能する活性を有するものであっても良い。ここで、複数個のアミノ酸としては、例えば、1から20個、好ましくは1から10個、より好ましくは1から7個、さらに好ましくは1個から5個、特に好ましくは1個から3個を意味する。なお、アミノ酸の欠失、置換若しくは付加は、上記CC-NBS-LRR遺伝子をコードする塩基配列を、当該技術分野で公知の手法によって改変することによって行うことができる。塩基配列に変異を導入するには、Kunkel法またはGapped duplex法等の公知手法又はこれに準ずる方法により行うことができ、例えば部位特異的突然変異誘発法を利用した変異導入用キット（例えばMutant-KやMutant-G（何れも商品名、TAKARA Bio社製））等を用いて、あるいはLA PCR in vitro Mutagenesisシリーズキット（商品名、TAKARA Bio社製）を用いて変異が導入される。また、変異導入方法としては、EMS（エチルメタンサルホン酸）、5-ブロモウラシル、2-アミノプリン、ヒドロキシルアミン、N-メチル-N'-ニトロ-Nニトロソグアニジン、その他の発ガン性化合物に代表されるような化学的変異剤を使用する方法でも良いし、X線、アルファ線、ベータ線、ガンマ線、イオンビームに代表されるような放射線処理や紫外線処理による方法でも良い。

[0045] また、CC-NBS-LRR遺伝子としては、上述したような配列番号で特定される塩基配列及びアミノ酸配列からなるCC-NBS-LRR遺伝子の相同遺伝子であってもよい。ここで、相同遺伝子とは、一般的に、共通の祖先遺伝子から進化分岐した遺伝子を意味しており、2種類の種の相同遺伝子（オルソログ（ortholog））及び同一種内で重複分岐により生じた相同遺伝子（パラログ（paralog））を含む意味である。換言すると、上述した「機能的に等価な遺伝子」にはオルソログやパラログといった相同遺伝子を含む意味である。但し、上述した「機能的に等価な遺伝子」には、共通遺伝子から進化せず、単に類似した

機能を有する遺伝子も含まれている。

[0046] 上述したような配列番号で特定される塩基配列及びアミノ酸配列からなるCC-NBS-LRR遺伝子に類似する遺伝子としては、これらアミノ酸配列に対する類似度(Similarity)が例えば70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、最も好ましくは95%以上であるアミノ酸配列を有し、配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列を有するCC-NBS-LRR活性を有するタンパク質をコードする遺伝子を挙げることができる。ここで、類似度の値は、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) プログラムを実装したコンピュータプログラム及び遺伝子配列情報を格納したデータベースを用いてデフォルトの設定で求められる値を意味する。

[0047] また、上述したような配列番号で特定される塩基配列及びアミノ酸配列からなるCC-NBS-LRR2C遺伝子に類似する遺伝子は、植物ゲノム情報が明らかとなっていない場合には、対象となる植物からゲノムを抽出するか或いは対象となる植物のcDNAライブラリーを構築し、上述したような配列番号で特定される塩基配列及びアミノ酸配列からなるCC-NBS-LRR遺伝子の少なくとも一部に対して、ストリンジентな条件下でハイブリダイズするゲノム領域或いはcDNAを単離することで同定することができる。ここで、ストリンジентな条件とは、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいう。例えば、45°C、6×SSC (塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム) でのハイブリダイゼーション、その後の50~65°C、0.2~1×SSC、0.1%SDSでの洗浄が挙げられ、或いはそのような条件として、65~70°C、1×SSCでのハイブリダイゼーション、その後の65~70°C、0.3×SSCでの洗浄を挙げることができる。ハイブリダイゼーションは、J. Sambrook et al. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory (1989)に記載されている方法等、従来公知の方法で行うことができる。

[0048] 本発明に係る植物体は、配列番号3及び2に示すアミノ酸配列からなる2つの共通配列を有するCC-NBS-LRRをコードする遺伝子を植物体内に導入する

か、内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変することによって、バイオマス量が野生型と比較して有意に向上するとともに塩ストレス耐性を有するものとなる。このCC-NBS-LRR遺伝子を植物体内に導入する手法としては、植物体内で発現を可能とするプロモーターの制御下に外因性のCC-NBS-LRR遺伝子を配置した発現ベクターを導入する手法をあげることができる。内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変する手法としては、対象とする植物体における内在性のCC-NBS-LRR遺伝子のプロモーターを改変する手法を挙げることができる。

[0049] 一例としては、植物体内で発現を可能とするプロモーターの制御下に上述したCC-NBS-LRR遺伝子を配置した発現ベクターを対象の植物に導入する手法が好ましい。

[0050] 発現ベクター

発現ベクターは、植物体内で発現を可能とするプロモーターと、上述したCC-NBS-LRR遺伝子とを含むように構築する。発現ベクターの母体となるベクターとしては、従来公知の種々のベクターを用いることができる。例えば、プラスミド、ファージ、またはコスミド等を用いることができ、導入される植物細胞や導入方法に応じて適宜選択することができる。具体的には、例えば、pBR322、pBR325、pUC19、pUC119、pBluescript、pBluescriptSK、pBI系のベクター等を挙げることができる。特に、植物体へのベクターの導入法がアグロバクテリウムを用いる方法である場合には、pBI系のバイナリーベクターを用いることが好ましい。pBI系のバイナリーベクターとしては、具体的には、例えば、pBIG、pBIN19、pBI101、pBI121、pBI221等を挙げることができる。

[0051] プロモーターは、植物体内でCC-NBS-LRR遺伝子を発現させることが可能なプロモーターであれば特に限定されるものではなく、公知のプロモーターを好適に用いることができる。かかるプロモーターとしては、例えば、カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター（CaMV35S）、各種アクチン遺伝子プロモーター、各種ユビキチン遺伝子プロモーター、ノパリン合

成酵素遺伝子のプロモーター、タバコのPR1a遺伝子プロモーター、トマトのリブ羅斯1, 5-ニリン酸カルボキシラーゼ・オキシダーゼ小サブユニット遺伝子プロモーター、ナピン遺伝子プロモーター等を挙げることができる。この中でも、カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター、アクチン遺伝子プロモーター又はユビキチン遺伝子プロモーターをより好ましく用いることができる。上記各プロモーターを用いれば、植物細胞内に導入されたときに任意の遺伝子を強く発現させることが可能となる。

[0052] また、プロモーターとしては、植物における部位特異的に発現させる機能を有するものを使用することもできる。このようなプロモーターとしては、従来公知の如何なるプロモーターを使用することができる。このようなプロモーターを使用して、上記CC-NBS-LRR遺伝子を部位特異的に発現させることによって、発現した植物器官を野生型と比較して増大させることができる。

[0053] なお、発現ベクターは、プロモーター及び上記CC-NBS-LRR遺伝子に加えて、さらに他のDNAセグメントを含んでいてもよい。当該他のDNAセグメントは特に限定されるものではないが、ターミネーター、選別マーカ、エンハンサー、翻訳効率を高めるための塩基配列等を挙げることができる。また、上記組換え発現ベクターは、さらにT-DNA領域を有していてもよい。T-DNA領域は特にアグロバクテリウムを用いて上記組換え発現ベクターを植物体に導入する場合に遺伝子導入の効率を高めることができる。

[0054] 転写ターミネーターは転写終結部位としての機能を有していれば特に限定されるものではなく、公知のものであってもよい。例えば、具体的には、ノパリン合成酵素遺伝子の転写終結領域（Nosターミネーター）、カリフラワーモザイクウイルス35Sの転写終結領域（CaMV35Sターミネーター）等を好ましく用いることができる。この中でもNosターミネーターをより好ましく用いることができる。上記組換えベクターにおいては、転写ターミネーターを適当な位置に配置することにより、植物細胞に導入された後に、不必要に長い転写物を合成し、強力なプロモーターがプラスミドのコピー数を減少させるといった現象の発生を防止することができる。

- [0055] 形質転換体選別マーカーとしては、例えば薬剤耐性遺伝子を用いることができる。かかる薬剤耐性遺伝子の具体的な一例としては、例えば、ハイグロマイシン、ブレオマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン、クロラムフェニコール等に対する薬剤耐性遺伝子を挙げることができる。これにより、上記抗生物質を含む培地中で生育する植物体を選択することによって、形質転換された植物体を容易に選別することができる。
- [0056] 翻訳効率を高めるための塩基配列としては、例えばタバコモザイクウイルス由来の *omeg a* 配列を挙げることができる。この *omeg a* 配列をプロモーターの非翻訳領域（5' UTR）に配置させることによって、上記融合遺伝子の翻訳効率を高めることができる。このように、上記組換え発現ベクターには、その目的に応じて、さまざまなDNAセグメントを含ませることができる。
- [0057] 組換え発現ベクターの構築方法についても特に限定されるものではなく、適宜選択された母体となるベクターに、上記プロモーター、上記CC-NBS-LRR遺伝子、および転写抑制転換ポリヌクレオチド、並びに必要なに応じて上記他のDNAセグメントを所定の順序となるように導入すればよい。例えば、上記CC-NBS-LRR遺伝子とプロモーターと（必要に応じて転写ターミネーター等）とを連結して発現カセットを構築し、これをベクターに導入すればよい。発現カセットの構築では、例えば、各DNAセグメントの切断部位を互いに相補的な突出末端としておき、ライゲーション酵素で反応させることで、当該DNAセグメントの順序を規定することが可能となる。なお、発現カセットにターミネーターが含まれる場合には、上流から、プロモーター、上記CC-NBS-LRR遺伝子、ターミネーターの順となっていればよい。また、発現ベクターを構築するための試薬類、すなわち制限酵素やライゲーション酵素等の種類についても特に限定されるものではなく、市販のものを適宜選択して用いればよい。
- [0058] また、上記発現ベクターの増殖方法（生産方法）も特に限定されるものではなく、従来公知の方法を用いることができる。一般的には大腸菌を宿主

として当該大腸菌内で増殖させればよい。このとき、ベクターの種類に応じて、好ましい大腸菌の種類を選択してもよい。

[0059] 形質転換

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

[0060] 発現ベクターを直接植物細胞に導入する方法としては、例えば、マイクロインジェクション法、エレクトロポレーション法（電気穿孔法）、ポリエチレングリコール法、パーティクルガン法、プロトプラスト融合法、リン酸カルシウム法等を用いることができる。

[0061] また、DNAを直接植物細胞に導入する方法を採るなら、対象とする遺伝子の発現に必要な転写ユニット、例えプロモーターや転写ターミネーターと、対象とする遺伝子を含んだDNAあれば十分であり、ベクター機能が必須ではない。さらに、転写ユニットを有さない対象とする遺伝子のタンパク質コード領域のみを含むDNAであっても、宿主の転写ユニット無いにインテグレートし、対象となる遺伝子を発現することができればよい。

[0062] 上記発現ベクターや、発現ベクターを含まず対象となる遺伝子を含んだ発現カセットが導入される植物細胞としては、例えば、花、葉、根等の植物器官における各組織の細胞、カルス、懸濁培養細胞等を挙げるができる。

ここで、発現ベクターは、生産しようとする種類の植物体に合わせて適切なものを適宜構築してもよいが、汎用的な発現ベクターを予め構築しておき、それを植物細胞に導入してもよい。

- [0063] 発現ベクターの導入対象となる植物、換言するとバイオマス増産対象の植物としては、特に限定されない。すなわち、上述したCC-NBS-LRR遺伝子を導入することによって、あらゆる植物体についてバイオマス増産効果を期待することができる。対象となる植物としては、例えば、双子葉植物、単子葉植物、例えばアブラナ科、イネ科、ナス科、マメ科、ヤナギ科等に属する植物（下記参照）が挙げられるが、これらの植物に限定されるものではない。
- [0064] アブラナ科：シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)、アブラナ (*Brassica rapa*、*Brassica napus*)、キャベツ (*Brassica oleracea* var. *capitata*)、ナタネ (*Brassica rapa*、*Brassica napus*)、ナノハナ (*Brassica rapa*、*Brassica napus*)、ハクサイ (*Brassica rapa* var. *pekinensis*)、チンゲンサイ (*Brassica rapa* var. *chinensis*)、カブ (*Brassica rapa* var. *rapa*)、ノザワナ (*Brassica rapa* var. *hakabura*)、ミズナ (*Brassica rapa* var. *lancinifolia*)、コマツナ (*Brassica rapa* var. *peruviridis*)、パクチョイ (*Brassica rapa* var. *chinensis*)、ダイコン (*Brassica Raphanus sativus*)、ワサビ (*Wasabia japonica*) など。
- [0065] ナス科：タバコ (*Nicotiana tabacum*)、ナス (*Solanum melongena*)、ジャガイモ (*Solaneum tuberosum*)、トマト (*Lycopersicon lycopersicum*)、トウガラシ (*Capsicum annuum*)、ペチュニア (*Petunia*) など。
- [0066] マメ科：ダイズ (*Glycine max*)、エンドウ (*Pisum sativum*)、ソラマメ (*Vicia faba*)、フジ (*Wisteria floribunda*)、ラッカセイ (*Arachis hypogaea*)、ミヤコグサ (*Lotus corniculatus* var. *japonicus*)、インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*)、アズキ (*Vigna angularis*)、アカシア (*Acacia*) など。
- [0067] キク科：キク (*Chrysanthemum morifolium*)、ヒマワリ (*Helianthus annuus*) など。

- [0068] ヤシ科：アブラヤシ (*Elaeis guineensis*、*Elaeis oleifera*)、ココヤシ (*Cocos nucifera*)、ナツメヤシ (*Phoenix dactylifera*)、ロウヤシ (*Copernicia*)
- ウルシ科：ハゼノキ (*Rhus succedanea*)、カシューナットノキ (*Anacardium occidentale*)、ウルシ (*Toxicodendron vernicifluum*)、マンゴー (*Mangifera indica*)、ピスタチオ (*Pistacia vera*)
- ウリ科：カボチャ (*Cucurbita maxima*、*Cucurbita moschata*、*Cucurbita pepo*)、キュウリ (*Cucumis sativus*)、カラスウリ (*Trichosanthes cucumeroides*)、ヒョウタン (*Lagenaria siceraria* var. *gourda*)
- バラ科：アーモンド (*Amygdalus communis*)、バラ (*Rosa*)、イチゴ (*Fragaria*)、サクラ (*Prunus*)、リンゴ (*Malus pumila* var. *domestica*) など。
- [0069] ナデシコ科：カーネーション (*Dianthus caryophyllus*) など。
- [0070] ヤナギ科：ポプラ (*Populus trichocarpa*、*Populus nigra*、*Populus tremula*)
- イネ科：トウモロコシ (*Zea mays*)、イネ (*Oryza sativa*)、オオムギ (*Hordeum vulgare*)、コムギ (*Triticum aestivum*)、タケ (*Phyllostachys*)、サトウキビ (*Saccharum officinarum*)、ネピアグラス (*Pennisetum purpureum*)、エリアンサス (*Erianthus ravenae*)、ミスキャンタス (ススキ) (*Miscanthus virgatum*)、ソルガム (*Sorghum*) スイッチグラス (*Panicum*) など。
- [0071] ユリ科：チューリップ (*Tulipa*)、ユリ (*Lilium*) など。
- [0072] なかでも、サトウキビやトウモロコシ、なたね、ひまわり等のバイオ燃料の原料となりうるエネルギー作物を対象とすることが好ましい。エネルギー作物のバイオマスを増産することによって、バイオエタノール、バイオディーゼル、バイオメタノール、バイオDME、バイオGTL (BTL) 及びバイオブタノール等のバイオ燃料の低コスト化を実現できるからである。
- [0073] また、上述したように、本発明で使用可能なCG-NBS-LRR遺伝子は、種々の植物から単離して使用することができるが、バイオマス増産対象の植物の種類に応じて、適宜選択して用いることができる。すなわち、バイオマス増産対象の植物が単子葉植物である場合には、CG-NBS-LRR遺伝子として単子葉植

物から単離したものを導入することが好ましい。

[0074] なお、本発明においては、バイオマス増産対象の植物が単子葉植物であったとしても、双子葉植物由来のCC-NBS-LRR遺伝子を導入しても良い。すなわち、例えば、シロイヌナズナ由来のCC-NBS-LRR遺伝子（配列番号4）は、双子葉植物に限らず、広く単子葉植物に分類される植物に発現するように導入されてもよい。

[0075] その他の工程、その他の方法

上述した形質転換処理後、植物体のなかから適切な形質転換体を選抜する選抜工程を、従来公知の方法で行うことができる。選抜の方法は特に限定されるものではなく、例えば、ハイグロマイシン耐性等の薬剤耐性を基準として選抜してもよいし、形質転換体を育成した後に、植物体そのもの、または任意の器官や組織の重量を測定して野生型と比較して有意に増産しているものを選抜してもよい。

[0076] また、形質転換処理で得られた形質転換植物から定法に従って後代植物を得ることができる。上記CC-NBS-LRR遺伝子が導入された形質又は内在する当該CC-NBS-LRR遺伝子の発現制御領域が改変された形質を保持した後代植物を、そのバイオマス量を基準として選抜することによって、上記形質を有することでバイオマス量が増産された安定的な植物系統を作出することができる。なお、形質転換植物やその子孫から、植物細胞や種子、果実、株、カルス、塊茎、切穂、塊等の繁殖材料を得て、これらを基に上記形質を有することでバイオマス量が増産された安定的な植物系統を量産することも可能である。

[0077] なお、本発明における植物体とは、成育した植物個体、植物細胞、植物組織、カルス、種子の少なくとも何れかが含まれる。つまり、本発明では、最終的に植物個体まで成育させることができる状態のものであれば、全て植物体とみなす。また、上記植物細胞には、種々の形態の植物細胞が含まれる。かかる植物細胞としては、例えば、懸濁培養細胞、プロトプラスト、葉の切片等が含まれる。これらの植物細胞を増殖・分化させることにより植物体を

得ることができる。なお、植物細胞からの植物体の再生は、植物細胞の種類に応じて、従来公知の方法を用いて行うことができる。

[0078] 以上説明したように、本発明によれば、上述した特定の共通配列を有するCC-NBS-LRR遺伝子を植物体内に導入する、又は内在する当該CC-NBS-LRR遺伝子の発現制御領域を改変することで、野生型の植物体と比較して、個体あたりのバイオマス量が有意に増産し、且つ塩ストレス耐性を有する植物体を提供することができる。ここで、バイオマス量が有意に増産するとは、野生型と比較して一個体あたりの総重量が統計的に有意に大となっていることを意味する。このとき、植物体の一部の組織が特異的に大となり、他の組織が野生型と同等であったとしても、植物体全体についての総重量が大であればバイオマス量が増産したと判断する。また、塩ストレス耐性とは、生育可能な塩濃度の上限値が野生型と比較して有意に大となることを意味する。換言すれば、塩ストレス耐性とは、土壌や培地といった生育環境に含まれる塩濃度が、野生型植物では発育不良又は枯殺される程に高濃度であっても、発育不良や故殺を生じさせないことを意味する。具体的には、上述した特定の共通配列を有するCC-NBS-LRR遺伝子を導入した、又は内在する当該CC-NBS-LRR遺伝子の発現制御領域を改変した植物体においては、300mM、好ましくは250mM、より好ましくは200mM、最も好ましくは150mMの塩濃度の培地においても生育可能であるといった塩ストレス耐性を示すこととなる。

[0079] 本発明によれば、植物体のバイオマス量が増産するため、植物体全体を生産目的とした場合及び植物体の一部の組織（例えば種子など）やその含有成分を生産目的とした場合のいずれにおいても生産性の向上を達成することができる。例えば、植物種子に含まれる油脂を生産目的とした場合、作付け面積あたりで回収できる油脂量を大幅に向上させることができる。ここで油脂としては、特に限定されず、例えば、大豆油、ごま油、オリーブ油、椰子油、米油、綿実油、ひまわり油、コーン油、べに花油及び菜種油等の植物由来の油脂を例示することができる。また、製造した油脂は、家庭用途や工業用途に広く利用することができ、更にはバイオディーゼル燃料の原料としても

使用することができる。すなわち、本発明によれば上記CG-NBS-LRR遺伝子が導入された、又は内在する当該CG-NBS-LRR遺伝子の発現制御領域が改変された植物体を利用することによって、上述した家庭用途又は工業用途の油脂や、バイオディーゼル燃料等を低コストに製造することができる。

[0080] さらに、本発明によれば、植物体の塩ストレス耐性が向上するため、野生型の植物体であれば生育不可能であった高塩濃度土壌における生育が可能となる。高塩濃度土壌としては、沿岸部の土壌を挙げることができる。これにより、従来においては作付けが不可能と判断されていた土壌における作付けが可能となり、上述したバイオマスの増産効果と相俟って植物体の高生産が可能となる。また、植物種子に含まれる油脂を生産目的とした場合でも、高塩濃度土壌を利用した高生産、更には上述した家庭用途又は工業用途の油脂やバイオディーゼル燃料等を低コストに製造することができる。

実施例

[0081] 以下、実施例により本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

[0082] 〔実施例 1〕

1. 材料および方法

1-1. 実験材料

実験材料にはシロイヌナズナ変異体 (Activation-tag T-DNA lines: Weigel T-DNS lines、計20072系統) の種子を用いた。なお、種子はNottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC) より購入した。実験材料として使用した種子についてはWeigel, D., et al., Plant Physiol., 122, 1003-1013 (2000)を参考とすることができる。

[0083] 1-2. 方法

1-2-1. 塩耐性変異体の選抜

Weigel T-DNA linesの種子を、NaCl 125 mMあるいは150 mMを含む改変MS寒天 (1%) 培地 [B5培地のビタミン、ショ糖10 g/l、寒天 (細菌培地用; 和光純薬工業社製) 8 g/L] に無菌播種し、22°C、30~100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ の照明下 (

16時間明期/8時間暗期のサイクル)で培養した。播種後2~4週間後、塩耐性変異体候補を選抜した。なお、MS培地はMurashige, T. et al. (1962) *Physiol. Plant.*, 15, 473-497を参照する。また、B5培地についてはGamborg, O. L. et al. (1968) *Experimental Cell Research*, 50, 151-158を参照する。

[0084] 1-2-2. DNA調製

選抜した耐塩性シロイヌナズナ系統のゲノムへのT-DNA挿入部位を、TAIL-PCR法により決定した。まず、栽培したシロイヌナズナから幼葉を採取し、液体窒素凍結下で粉碎した。QIAGEN社製DNA調製キット (DNeasy Plant Mini Kit) を用いてキット添付の標準プロトコルに従ってDNAを調製した。

[0085] 1-2-3. TAIL-PCR法及びT-DNA挿入部位の推定

Weigel T-DNA linesで用いられているアクティベーションタギング用ベクター (pSKI015 : GenBank accession No. AF187951) の左のT-DNA配列 (T-DNA left border) 付近に3種類の特異的プライマーTL1、TL2及びTL3を設定し、任意プライマーP1を用いて、以下のPCR反応液及び反応条件下でTAIL-PCR (島本功、佐々木卓治監修, 新版, 植物のPCR実験プロトコル, 2000, 83-89pp, 秀潤社, 東京、Genomics, 25, 674-681, 1995、Plant J., 8, 457-463, 1995) を行い、T-DNAに隣接するゲノムDNAを増幅した。

[0086] プライマーTL1、TL2、TL3及びP1の具体的な配列は以下の通りである。

[0087] TL1: 5'-TGC TTT CGC CAT TAA ATA GCG ACG G-3' (配列番号6)

TL2: 5'-CGC TGC GGA CAT CTA CAT TTT TG-3' (配列番号7)

TL3: 5'-TCC CGG ACA TGA AGC CAT TTA C-3' (配列番号8)

P1: 5'-NGT CGA SWG ANA WGA A-3' (配列番号9)

なお、配列番号9において、nは、a、g、c又はtを表し(存在位置: 1及び11)、またsは、g又はcを表し(存在位置: 7)、さらにwは、a又はtを表す(存在位置: 8及び13)。

[0088] 1回目のPCR反応液組成及び反応条件をそれぞれ表1及び表2に示す。

[表1]

鋳型(ゲノム DNA)	:10ng
10XPCR バッファー(タカラバイオ社製)	:2 μ l
2.5mM dNTPs(タカラバイオ社製)	:1.6 μ l
1 個目の特異的プライマー(TL1:配列番号6)	:0.5pmol
任意プライマーP1(配列番号9)	:100 pmol
TaKaRa Ex Taq(タカラバイオ社製)	:1.0 unit
総容量	20 μ l

[表2]

- #1 : 94°C(30 秒)/ 95°C(30 秒)
 #2 : 94°C(30 秒)/ 65°C(30 秒)/72°C(1 分)を 5 サイクル
 #3 : 94°C(30 秒)/ 25°C(1 分)→3 分で 72°Cへ/72°C(3 分)を 1 サイクル
 #4 : 94°C(15 秒)/ 65°C(30 秒)/72°C(1 分)
 94°C(15 秒)/ 68°C(30 秒)/72°C(1 分)
 94°C(15 秒)/ 44°C(30 秒)/72°C(1 分)を 15 サイクル
 #5 : 72°C(3 分)

[0089] 2 回目のPCR反応液組成及び反応条件をそれぞれ表 3 及び表 4 に示す。

[表3]

鋳型(1回目の PCR 産物 50 倍希釈)	:1 μ l
10XPCR バッファー(タカラバイオ社製)	:2 μ l
2.5mM dNTPs(タカラバイオ社製)	:1.5 μ l
2 個目の特異的プライマー(TL2:配列番号7)	:5pmol
任意プライマーP1(配列番号9)	:100 pmol
TaKaRa Ex Taq(タカラバイオ社製)	:0.8 unit
総容量	20 μ l

[表4]

- #6 : 94°C(15 秒)/ 64°C(30 秒)/72°C(1 分)
 94°C(15 秒)/ 64°C(30 秒)/72°C(1 分)
 94°C(15 秒)/ 44°C(30 秒)/72°C(1 分)を 12 サイクル
 #5 : 72°C(5 分)

[0090] 3 回目のPCR反応液組成及び反応条件をそれぞれ表 5 及び表 6 に示す。

[表5]

鋳型(2回目のPCR産物50倍希釈)	: 1 μ l
10XPCRバッファー(タカラバイオ社製)	: 5 μ l
2.5mM dNTPs(タカラバイオ社製)	: 0.5 μ l
3個目の特異的プライマー(TL3:配列番号8)	: 10pmol
任意プライマーP1(配列番号9)	: 100 pmol
TaKaRa Ex Taq(タカラバイオ社製)	: 1.5 unit
総容量	50 μ l

[表6]

#7	: 94°C(30秒)/44°C(30秒)/72°C(1分)を20サイクル
#5	: 72°C(3分)

[0091] 次いで、2回目と3回目の反応産物をアガロースゲルで電気泳動した後、増幅の有無と反応産物の特異性を確認した。また、3回目の増幅産物は、特異的プライマーTL3を用いて、直接BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit Ver. 3.1 (アプライドバイオシステム社製) でシーケンス反応を行い、ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (アプライドバイオシステム社製) によって塩基配列の決定を行った。

[0092] その結果、5種類の塩基配列を決定した。すなわち、538bpの配列情報、311bpの配列情報、498bpの配列情報、633bpの配列情報及び448bpの配列情報が得られた。得られた配列情報を、順に配列番号10~14に示した。

[0093] これら得られた配列情報を用いて、The Arabidopsis Information Resource (TAIR: <http://www.arabidopsis.org/>) のBLASTにより検索したところ、T-DNA挿入部位は、それぞれ順に、シロイヌナズナ1番染色体の遺伝子 [AGI (The Arabidopsis Genome Initiative gene code) コード: At1g69990] と遺伝子 [AGI (The Arabidopsis Genome Initiative gene code) コード: At1g70000] 間、シロイヌナズナ5番染色体の遺伝子 [AGI (The Arabidopsis Genome Initiative gene code) コード: At5g39400]、シロイヌナズナ3番染色体の遺伝子 [AGI (The Arabidopsis Genome Initiative gene code) コード: At3g05630]、シロイヌナズナ2番染色体の遺伝子 [AGI (The Arabidopsis Genome Initiative gene code) コード: At2g33110] 及びシロイヌナズナ1番染色

体の遺伝子 [AGI (The Arabidopsis Genome Initiative gene code) コード : At1g58520] と判明した。

[0094] 1-2-4. 活性化されている遺伝子の予測

アクティベートされている遺伝子を、1-2-3. により判明した各々のT-DN A挿入部位 (At1g69990とAt1g70000間、At5g39400、At3g05630、At2g33110及びAt1g58520) 近傍10Kb以内に存在する推定Open reading frame(ORF) 遺伝子の配列から予測した。

[0095] 1-2-5. 予測した遺伝子を導入した変異体の作製

1-2-4. でアクティベート (活性化) されていると予測した、LRR-RLK (leucine-rich repeat receptor-like protein kinase) 遺伝子 (AT1G69990)、LRR-RLK (leucine-rich repeat receptor-like protein kinase) 遺伝子 (AT5G39390)、LRR (leucine-rich repeat) タンパク質遺伝子(AT3G05650) 及びLRR (leucine-rich repeat) タンパク質遺伝子(AT2G33080) のORF領域を含む断片を増幅するために、TAIR (<http://www.arabidopsis.org/home.html>) で公開されている配列情報を基にしてそれぞれ一对のプライマーを設計・合成した (表7)。なお、これら一对のプライマーには、発現ベクターへ導入するときに必要な制限酵素サイトを付加するように設計した (表7)。

[表7]

遺伝子	Forward	Reverse	制限酵素サイト	
AT1G69990	5'-ACG CGT CGA CCC ATC ATG AAA ACG ATC TCA ATC TTC TTC GTC-3' (配列番号15)	5'-TGT ACA TGT ACA AGT GAG AAC GGT AGA TAA GTA AGT GG-3' (配列番号16)	Sal I	BsrG I
AT5G39390	5'-ACG CGT CGA CCA AAC GAC GTA TCT CAT AAG TCG ACG CA-3' (配列番号17)	5'-TGT ACA TGT ACA GGA GAA CTT TGA AGA TCA TCG AGA GG-3' (配列番号18)	Sal I	BsrG I
AT3G05650	5'-ACG CGT CGA CCC ATC ACA CAC ACA TAC ACA CAC-3' (配列番号19)	5'-TGT ACA TGT ACA CAG CGT AAA TGA AGA ACA CCC CAA ACT GAA C-3' (配列番号20)	Sal I	BsrG I
AT2G33080	5'-ACG CGT CGA CAT GTC AGG ATC ACA TCT GCG TTT GC-3' (配列番号21)	5'-TGT ACA TGT ACA TCA GCA CTT GCT CCT GTT CTT CG-3' (配列番号22)	Sal I	BsrG I

[0096] また、CC (coiled-coil) -NBS (nucleotide binding site) -LRR (leucine-rich repeat) タンパク質遺伝子(AT1G58602)のORF領域を含む断片を増幅するために、TAIR (<http://www.arabidopsis.org/home.html>) で公開されている配列情報を基にしてそれぞれ三組のプライマーを設計・合成した(表8)。なお、これら三組のプライマーの内、Forward 1とReverse 3のプライマーには、発現ベクターへ導入するときに必要な制限酵素サイトを付加するように設計した(表8)。

[表8]

遺伝子	Forward	Reverse	制限酵素サイト	
AT1G58602	Forward 1 5'-ACG CGT CGA CAT GGC AGG GGA ACT TGT GTC GTT TGC-3' (配列番号 2 3)	Reverse 1 5'-CCT TCT TCC ATA TGT CGT CGA GG-3' (配列番号 2 4)	Sal I	
	Forward 2 5'-CCT CGA CGA CAT ATG GAA GAA GG-3' (配列番号 2 5)	Reverse 2 5'-CCA TAT TCC TCC TCA CCA GCT CCT CTA TG-3' (配列番号 2 6)		
	Forward 3 5'-CAT AGA GGA GCT GGT GAG GAG GAA TAT GG-3' (配列番号 2 7)	Reverse 3 5'-AAG GAA AAA AGC GGC CGC CTC TGT GAT TGC TGA GAG CAT TCC TAG TCG TCG -3' (配列番号 2 8)		Not I

[0097] 1-2-2. 記載の方法に従って、野生型シロイヌナズナ、Col-0エコタイプから鋳型DNAを調製した。酵素としてTakara Ex Taq (タカラバイオ社製)、Platinum Pfx DNA Polymerase (Invitrogen社製) 又はPhusion High-Fidelity DNA Polymerase (NEW ENGLAND BioLabs : NEB社製)、プライマーとして、表7に示した一対のプライマーを用いた。PCRの反応液組成、および反応条件は、各酵素に添付のプロトコールに従った。またCC-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)については、表8に示した三組のプライマー、酵素としてPlatinum Pfx DNA Polymerase (Invitrogen社製) を用いてPCRを行い、3つのPCR増幅産物を得た。各PCR増幅産物を2%アガロースゲル(TAEバッファー)で電気泳動し、エチジウムブロマイドにより断片を染色した。目的断片を含むゲルをメスで切り出し、GFX PCR DNA and GEL Band Purification Kit (Amersh

am社製) を用いて目的のDNA断片を溶出・精製した。得られた3つのDNA断片を鋳型とし、プライマーとしてForward 1 とReverse 3 を用いてオーバーラップPCRを行った。

[0098] 各PCR増幅産物を、上記と同様にアガロースゲルで電気泳動後、切り出し精製した。得られたDNA断片に、A-Addition Kit (QIAGEN社製) を用いてにアデニンを付加した。アデニンを付加した増幅DNAを、TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen社製) を用いて、TA-Cloning用pCR2.1ベクターにライゲーション後、キット添付のコンピテントセル (E. coli TOP 10) に形質転換した。形質転換後、50 μ l/mlのカナマイシンを添加したLB培地で培養し、形質転換体を選抜した。出現したコロニーを50 μ l/mlのカナマイシンを添加したLB培地で液体培養し、得られた菌体からQIAGEN 社製Plasmid Mini Kitを用いてプラスミドDNA を調製した。

[0099] 得られたLRR-RLK遺伝子 (AT1G69990) のORFを含む断片をクローニングしたベクター、LRR-RLK遺伝子 (AT5G39390) のORFを含む断片をクローニングしたベクター、LRR (タンパク質遺伝子 (AT3G05650) のORFを含む断片をクローニングしたベクター、LRRタンパク質遺伝子 (AT2G33080) のORFを含む断片をクローニングしたベクター及びCC-NBS-LRRタンパク質遺伝子 (AT1G58602) のORFを含む断片をクローニングしたベクターの塩基配列決定及び配列解析をそれぞれ行った。

[0100] 1-2-6. 植物発現用ベクターの作製

タバコモザイクウイルス由来の *omeg a* 配列を含む植物発現用ベクター-pBI121に、LRR-RLK遺伝子 (AT1G69990)、LRR-RLK遺伝子 (AT5G39390)、LRRタンパク質遺伝子 (AT3G05650)、LRRタンパク質遺伝子 (AT2G33080)、CC-NBS-LRRタンパク質遺伝子 (AT1G58602) のORFを含む断片を挿入したコンストラクトの作製を行った。

[0101] まず、1-2-5. でLRR-RLK遺伝子 (AT1G69990) のORFを含む断片をクローニングしたpCR2.1ベクターを、制限酵素Sal I及びBsrG Iで処理した。

[0102] 次に、同様に *omeg a* 配列を含むpBI121を制限酵素Sal I及びBsrG Iで処

理した。これら制限酵素消化産物について0.8%アガロースゲル電気泳動を行い、GFX PCR DNA and GEL Band Purification Kit (Amersham) を用いて、ゲルより約1850bpのLRR-RLK遺伝子 (AT1G69990) のORFを含む断片及び *omeg a* 配列を含むpBI121を、それぞれ分取・精製した。

[0103] *omeg a* 配列を含むpBI121の断片をベクターとしてLRR-RLK遺伝子 (AT1G69990) のORFを含む断片を導入するため、ベクター：インサート比が1：10になるように混合し、等量のTaKaRa Ligation Kit ver.2 (タカラバイオ社製) を用いて16°Cで一晩ライゲーション反応を行った。

[0104] 反応液の全量を100 μ lのコンピテントセル (E. coli strain DH5 α , TOYOBO) に添加し、キット添付のプロトコルに従って形質転換を行った。50 μ g/mlのカナマイシンを含むLB寒天培地に塗布し一晩培養し、出現したコロニーを50 μ g/mlのカナマイシンを添加したLB培地で液体培養し、得られた菌体からPlasmid Mini Kit (QIAGEN社製) を用いてプラスミドDNAを調製した。

[0105] 得られたLRR-RLK遺伝子 (AT1G69990) のORFを含む断片をサブクローニングした発現ベクターの塩基配列決定および配列解析を行った。

[0106] なお、LRR-RLK遺伝子 (AT5G39390) 及びLRRタンパク質遺伝子 (AT2G33080) については、使用したプライマーを表7に記載したものを使用した以外は上述した方法に準じて発現ベクターに組み込み、塩基配列決定及び配列解析を行った。LRRタンパク質遺伝子 (AT3G05650) については、TA-Cloning用pCR2.1ベクターにクローニング後、制限酵素EcoR Iで処理後、DNA Blunting Kit (タカラバイオ社製) を用いて平滑末端化し、フェノールクロロフォルム処理後、制限酵素BsrG Iで処理した。*omeg a* 配列を含むpBI121は制限酵素Sal Iで処理後、DNA Blunting Kit (タカラバイオ社製) を用いて平滑末端化し、フェノールクロロフォルム処理後、制限酵素BsrG Iで処理した。上述した方法に準じて発現ベクターに組み込み、塩基配列決定及び配列解析を行った。C-C-NBS-LRRタンパク質遺伝子 (AT1G58602) については、制限酵素Not Iで処理後、DNA Blunting Kit (タカラバイオ社製) を用いて平滑末端化し、フェノールクロロフォルム処理後、制限酵素Sal Iで処理した。同様に *omeg a* 配列

を含むpBI121を制限酵素BsrG Iで処理後、DNA Blunting Kit（タカラバイオ社製）を用いて平滑末端化し、フェノールクロロフォルム処理後、制限酵素Sal Iで処理した。上述した方法に準じて発現ベクターに組み込み、塩基配列決定及び配列解析を行った。

[0107] 1-2-7. アグロバクテリウム法を用いたシロイヌナズナへの遺伝子導入

1-2-6. で作製した各植物発現用ベクターをエレクトロポレーション法（Plant Molecular Biology Manual, Second Edition, B. G. Stanton A. S. Robbert, Kluwer Academic Publishers 1994）により、アグロバクテリウム・ツメファシエンス（*Agrobacterium tumefaciens*）C58C1株に導入した。次いで植物発現用ベクターが導入されたアグロバクテリウム・ツメファシエンスを、Cloughらにより記載された浸潤法（Plant J. 16, 735-743, 1998）により、野生型シロイヌナズナ エコタイプCol-0に導入した。

[0108] カナマイシン含有培地で形質転換体を選抜し、自家受粉によりT2世代の植物を作製した。

[0109] 1-2-8. 形質転換体の表現形の確認

耐塩性試験：

1-2-7. で作製した各々の種子と、対象として非組換えの野生型シロイヌナズナの種子を、150mM NaClを含むMS寒天培地に無菌播種した。これを22℃、16時間明期8時間暗期、光強度約30~45 $\mu\text{E}/\text{cm}^2$ で10日間培養し、塩耐性試験を行った。

[0110] バイオマス量測定：

1-2-7. で作製した各T2種子を50mg/Lのカナマイシンと0.5%ショ糖を含むMS寒天培地に無菌播種し、2週間後パーミキュライト混合土を入れた直径50mmのポットに移植した。対象には、0.5%ショ糖を含むMS寒天培地に無菌播種した非組換えシロイヌナズナを移植した。これを23℃、8時間明期16時間暗期（短日条件）、光強度約160 $\mu\text{E}/\text{cm}^2$ で栽培し、移植後合計6週間栽培した。栽培後、地上部の植物体を紙袋に入れ、22℃、湿度60%の条件で2週間乾燥させた後に、全バイオマス量を電子天秤で秤量した。

[0111] 2. 結果

上記1-2-8. の耐塩性試験結果として、野生型及びCC-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)のORFを含む断片を導入した形質転換植物体のプレートを撮影した写真を図2に示した。図2から、CC-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)のORFを含む断片を導入した形質転換植物体では、高塩濃度培地において発芽、生育しており野生型と比較して耐塩性が向上していることが明らかとなった。

[0112] また、上記1-2-8. のバイオマス量測定の結果として、野生型及びCC-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)のORFを含む断片を導入した形質転換植物体の地上部を撮影した写真を図3に示す。また、野生型の植物体、LRR-RLKタンパク質遺伝子(AT1G69990)を導入した形質転換植物体、LRR-RLKタンパク質遺伝子(AT5G39390)を導入した形質転換植物体、LRRタンパク質遺伝子(AT3G05650)を導入した形質転換植物体、LRRタンパク質遺伝子(AT2G33080)を導入した形質転換植物体及びCC-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)を導入した形質転換植物体について、それぞれ地上部の全バイオマス量を測定した結果を図4に示す。

[0113] 図3及び図4から、CC-NBS-LRRタンパク質遺伝子(AT1G58602)のORFを含む断片を導入した形質転換植物体では、地上部の全バイオマス量が野生型と比較して大幅(約1.5倍)に向上していることが明らかとなった。一方、LRR-RLK遺伝子(AT1G69990)、LRR-RLK遺伝子(AT5G39390)、LRR(タンパク質遺伝子(AT3G05650)又はLRRタンパク質遺伝子(AT2G33080)を導入した形質転換植物体では、野生型の植物体とほぼ同等のバイオマス量であることが明らかとなった。

[0114] 以上の結果から、AT1G58602遺伝子を導入した植物体は、塩ストレス耐性を示すとともにバイオマス量が大幅に向上したものとなることが明らかとなった。

[0115] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

請求の範囲

- [請求項1] 配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入した、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変した植物体。
- [請求項2] 上記タンパク質は、配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列を、上記配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列のN末端側に更に有することを特徴とする請求項1記載の植物体。
- [請求項3] 上記遺伝子は、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920からなる群から選ばれる少なくとも1種の遺伝子若しくは当該遺伝子に機能的に等価な遺伝子であることを特徴とする請求項1記載の植物体。
- [請求項4] 上記遺伝子が、以下の(a)～(c)のいずれかのタンパク質をコードすることを特徴とする請求項1記載の植物体。
- (a) 配列番号5に示すアミノ酸配列を含むタンパク質
 - (b) 配列番号5に示すアミノ酸配列において1又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質
 - (c) 配列番号4に示す塩基配列の相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドに対してストリンジントな条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質
- [請求項5] 上記機能的に等価な遺伝子は、シロイヌナズナ以外の生物由来のコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有

するタンパク質をコードする遺伝子であることを特徴とする請求項3記載の植物体。

[請求項6] 上記シロイヌナズナ以外の生物は、ブドウであることを特徴とする請求項5記載の植物体。

[請求項7] 双子葉植物であることを特徴とする請求項1乃至6いずれか一項記載の植物体。

[請求項8] アブラナ科植物であることを特徴とする請求項1乃至6いずれか一項記載の植物体。

[請求項9] シロイヌナズナであることを特徴とする請求項1乃至6いずれか一項記載の植物体。

[請求項10] 配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号2に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入する、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変するバイオマス量を増産させ且つ植物体に塩ストレス耐性を付与する方法。

[請求項11] 上記タンパク質は、配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列を、上記配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列のN末端側に更に有することを特徴とする請求項10記載の方法。

[請求項12] 上記遺伝子は、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920からなる群から選ばれる少なくとも1種の遺伝子若しくは当該遺伝子に機能的に等価な遺伝子であることを特徴とする請求項10記載の方法。

[請求項13] 上記遺伝子が、以下の(a)～(c)のいずれかのタンパク質をコードすることを特徴とする請求項10記載の方法。

(a) 配列番号5に示すアミノ酸配列を含むタンパク質

(b) 配列番号 5 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質

(c) 配列番号 4 に示す塩基配列の相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドに対してストリンジントな条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質

[請求項14] 上記機能的に等価な遺伝子は、シロイヌナズナ以外の生物由来のコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子であることを特徴とする請求項 1 2 記載の方法。

[請求項15] 上記シロイヌナズナ以外の生物は、ブドウであることを特徴とする請求項 1 4 記載の方法。

[請求項16] バイオマスが双子葉植物であることを特徴とする請求項 1 0 乃至 1 5 いずれか一項記載の方法。

[請求項17] バイオマスがアブラナ科植物であることを特徴とする請求項 1 0 乃至 1 5 いずれか一項記載の方法。

[請求項18] バイオマスがシロイヌナズナであることを特徴とする請求項 1 0 乃至 1 5 いずれか一項記載の方法。

[請求項19] 配列番号 3 に示すアミノ酸配列からなる共通配列及び配列番号 2 に示すアミノ酸配列からなる共通配列をN末端側からこの順で有する、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子を導入した、又は内在する当該遺伝子の発現制御領域を改変した形質転換植物を準備する工程と、

前記形質転換植物の後代植物のバイオマス量及び塩ストレス耐性を測定し、当該バイオマス量が有意に向上するとともに塩ストレス耐性を示した系統を選抜する工程とを含む、植物体の製造方法。

- [請求項20] 上記タンパク質は、配列番号1に示すアミノ酸配列からなる共通配列を、上記配列番号3に示すアミノ酸配列からなる共通配列のN末端側に更に有することを特徴とする請求項19記載の製造方法。
- [請求項21] 上記遺伝子は、AT1G59124、AT1G58807、AT1G59218、AT1G58848、AT1G58602、AT1G58410、AT1G58400、AT1G58390、AT1G59620、AT1G59780、AT1G50180、AT1G53350、AT5G43470、AT5G48620、AT5G35450及びAT1G10920からなる群から選ばれる少なくとも1種の遺伝子若しくは当該遺伝子に機能的に等価な遺伝子であることを特徴とする請求項19記載の製造方法。
- [請求項22] 上記遺伝子が、以下の(a)～(c)のいずれかのタンパク質をコードすることを特徴とする請求項19記載の製造方法。
- (a) 配列番号5に示すアミノ酸配列を含むタンパク質
 - (b) 配列番号5に示すアミノ酸配列において1又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含み、コイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質
 - (c) 配列番号4に示す塩基配列の相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドに対してストリンジントな条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質
- [請求項23] 上記機能的に等価な遺伝子は、シロイヌナズナ以外の生物由来のコイルドコイル構造と核酸結合部位とロイシンリッチリピート構造を有するタンパク質をコードする遺伝子であることを特徴とする請求項21記載の製造方法。
- [請求項24] 上記シロイヌナズナ以外の生物は、ブドウであることを特徴とする請求項23記載の製造方法。
- [請求項25] 双子葉植物であることを特徴とする請求項19乃至24いずれか一項記載の製造方法。

[請求項26] アブラナ科植物であることを特徴とする請求項19乃至24いずれか一項記載の製造方法。

[請求項27] シロイヌナズナであることを特徴とする請求項19乃至24いずれか一項記載の製造方法。

[図1-1]

CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

```

AT1G59124  -----MAGELISFGIQNLWNLLSQECELFGQVEDQVTELKRDLNMLSSFLKDANAKKHTS
AT1G58807  -----MAGELISFGIQNLWNLLSQECELFGQVEDQVTELKRDLNMLSSFLKDANAKKHTS
AT1G59218  -----MAGELISFGIQNLWNLLSQECELFGQVEDQVTELKRDLNMLSSFLKDADAKKHTS
AT1G58848  -----MAGELISFGIQNLWNLLSQECELFGQVEDQVTELKRDLNMLSSFLKDADAKKHTS
AT1G58602  -----MAGELVSFAVNKLWDLLSHEYTLFQGVEDQVAELKSDLNLLKSFLKDADAKKHTS
AT1G58410  -----MELVSFGVEKLWDRLSQEYDQFKGVEDQVTELKSNLNLKSFLKDADAKKHIS
AT1G58400  -----MVEAIVSFGVEKLWDRLTQEYEQFQGVEDRIAELKSNLNLKSFLKDAEAKKNTS
AT1G58390  -----MAGELVSFGIKKLWDLLSQECEQFQGVEDQVTGLKRDLNMLSSFLKDADAKKHIT
AT1G59620  -----MAETLLSFGVEKLWDLVRESDRFQGVKKQFNELRSDLNKLRCFLEDADAKKHQS
AT1G59780  MQDLYMVDIVSFGVEKLWKLSSQEYERFQGVVEEQITELRDDLKMLMAFLSDADAKKQTR
AT1G50180  -----MAEAVVSFGVEKLWELLSRESARLNGIDEQVDGLKRQLGRLQSLKADAKKNET
AT1G53350  -----MAEAVVSFGVEKLWELLSRESARLNGIDEQVDGLKRQLGRLQSLKADAKKNET
AT5G43470  -----MAEAFVSFGLEKLWDLSSRESERLQGIDGQLDGLKRQLRSLQSLKADAKKHGS
AT5G48620  -----MAEGFVSFGLEKLWDLSSRESERLQGIDGQLDGLKRQLRSLQSLKADAKKHGS
AT5G35450  -----MAEGVVSFGVQKLWALLNRESERLNGIDEQVDGLKRQLRGLQSLKADAKKHGS
AT1G10920  -----

```

```

AT1G59124  AVVKNCVEEIKEI IYDGEDTIETFVLEQNLGKTSGIKKSIRRLACI IPDRRRYALGIGGL
AT1G58807  AVVKNCVEEIKEI IYDGEDTIETFVLEQNLGKTSGIKKSIRRLACI IPDRRRYALGIGGL
AT1G59218  AVVKNCVEEIKEI IYDGEDTIETFVLEQNLGKTSGIKKSIRRLACI IPDRRRYALGIGGL
AT1G58848  AVVKNCVEEIKEI IYDGEDTIETFVLEQNLGKTSGIKKSIRRLACI IPDRRRYALGIGGL
AT1G58602  ALVRYCVEEIKDIVYDAEDVLETFVQKEKLGTTSGIRKHIKRLTCI VDRREI ALYIGHV
AT1G58410  EMVRHCVEEIKDIVYDTEI IETFILKEKVMKRGIMKRIKRFASIMDRRELASDIGGI
AT1G58400  QMVRHCVEEIKEI IYDTEI IETFILKEAARKRSGI IRRITKLT C I KVHRWEFASDIGGI
AT1G58390  AVVRNVVEEIKEI IYDAEDI IETYLKELWKTSGIKMIRRHACI ISDRRRNALDVGGI
AT1G59620  AMVSNVKEVKEI IYDTEI IETFLLRKKQLGRTRGMKKRIKEFACVLPDRRKIAIDMEGL
AT1G59780  ALARNCLBEEIKEI IYDAEDI IEFLLKGSVN-----M RSLACFPGGRREI ALQITSI
AT1G50180  ERVRNFLEDVKDI VYDADDI IESFLLNELRGKEKGIKKQVRTLACFLVDRRKVFASDIEGI
AT1G53350  ERVRNFLEDVKDI VYDADDI IESFLLNELRGKEKGIKKQVRTLACFLVDRRKVFASDIEGI
AT5G43470  DRVRNFLEDVKDL VFDAEDI IESYVLNKLSGKGGVKKHVRRLARFLDRHKVVASDIEGI
AT5G48620  DRVRNFLEDVKDL VFDAEDI IESYVLNKLSGKGGVKKHVRRLARFLDRHKVVASDIEGI
AT5G35450  DRVRNFLEDVKDL VFDAEDI IESYVLNKLSGKGGVKKHVRRLARFLDRHKVVASDIEGI
AT1G10920  -----

```

```

AT1G59124  SNRISKVIRDMQSFVQQAIVDGG-YKQPQGDK--QREMRFKSKDDSDVFGLEANVKK
AT1G58807  SNRISKVIRDMQSFVQQAIVDGG-YKQPQGDK--QREMRFKSKDDSDVFGLEANVKK
AT1G59218  SNRISKVIRDMQSFVQQAIVDGG-YKQPQGDK--QREMRPFSKDDSDVFGLEANVKK
AT1G58848  SNRISKVIRDMQSFVQQAIVDGG-YKQPQGDK--QREMRPFSKDDSDVFGLEANVKK
AT1G58602  SKRITRIVIRDMQSFVQQAIVDGG--YMHPLRNR--EREIRRTFPKDNESGFVALEENVKK
AT1G58410  SKRISKVIQDMQSFVQQAIVDGG--YMHPLRNR--EREIRRTFPKDNESGFVALEENVKK
AT1G58400  SKRISKVIQDMHSGVQQAIVDGG--YMHPLRNR--EREIRRTFPKDNESGFVALEENVKK
AT1G58390  RTRISDVIRDMQSFVQQAIVDGG-YMQPQGDR--QREMRQTFSDYSDVFGLEVNVKK
AT1G59620  SKRIAKVICDMQSLGVQ-----QENVKK
AT1G59780  SKRISKVIQVMQNLGIKSDIMDGV-DSHAQLER--KRELRTFSSESESNLVGLEKNVEK
AT1G50180  TKRISEVIVGMQSLGIQHIADGGGRSLSLQER--QREIRQTFSRNSSESLVGLDQSVVEE
AT1G53350  TKRISEVIVGMQSLGIQHIADGGGRSLSLQER--QREIRQTFSRNSSESLVGLDQSVVEE
AT5G43470  TKRISEVIGEMQSFVQQAIVDGG--YMHPLRNR--EREIRRTFPKDNESGFVALEENVKK
AT5G48620  TKRISDVIGEMQSFVQQAIVDGG--YMHPLRNR--EREIRRTFPKDNESGFVALEENVKK
AT5G35450  TKRISKVIGEMQSLGIQQAIVDGG--YMHPLRNR--EREIRRTFPKDNESGFVALEENVKK
AT1G10920  -----M KSLGIQE-IIDGASSMSLQERQREKQEI RQTFANSSSESLVFGVEQSVVEE

```

.:::

:.*:

[図1-2]

(1)

AT1G59124	LVGYLVDEAN-VQVVSITGMGGLGKTTLAKQVFNHE	DVKHQFDGLSWVCVSQDFTRMNVW
AT1G58807	LVGYLVDEAN-VQVVSITGMGGLGKTTLAKQVFNHE	DVKHQFDGLSWVCVSQDFTRMNVW
AT1G59218	LVGYLVDEAN-VQVVSITGMGGLGKTTLAKQVFNHE	DVKHQFDGLSWVCVSQDFTRMNVW
AT1G58848	LVGYLVDEAN-VQVVSITGMGGLGKTTLAKQVFNHE	DVKHQFDGLSWVCVSQDFTRMNVW
AT1G58602	LVGYFVEEDN-YQVVSITGMGGLGKTTLARQVFNHD	MVTKKFDKLAWVSVSQDFTLKKNVW
AT1G58410	LVGYLVDEAN-VQVVSITGMGGLGKTTLARQVFNHD	MVTKKFDKLAWVSVSQDFTLKKNVW
AT1G58400	LVGYLVEEDD-IQIVSVTGMGGLGKTTLARQVFNHE	DVKHQFDRLAWVCVSQEFTRKNVW
AT1G58390	LVGYLVDEEN-VQVVSITGMGGLGKTTLARQVFNHE	DVKHQFDRLAWVCVSQEFTRKNVW
AT1G59620	LVGHLVEVEDSSQVVSITGMGGLGKTTLARQVFNHE	IVKSHFAQLAWVCVSQQFTRKYVW
AT1G59780	LVEELVGNDS-SHGVSITGLGGLGKTTLARQIFDHD	KVKSHFDGLAWVCVSQEFTRKDVW
AT1G50180	LVDHLVENDS-VQVVSISGMGGLGKTTLARQVFHHD	IVRRHFDGFSWVCVSQQFTRKDVW
AT1G53350	LVDHLVENDS-VQVVSISGMGGLGKTTLARQVFHHD	IVRRHFDGFSWVCVSQQFTRKDVW
AT5G43470	LVGHLVENDV-HQVVSISGMGGLGKTTLARQVFHHD	IVRRHFDGFAWVCVSQQFTQKHVW
AT5G48620	LVGHLVENDI-YQVVSISGMGGLGKTTLARQVFHHD	IVRRHFDGFAWVCVSQQFTQKHVW
AT5G35450	LVGPMVEIDN-IQVVSISGMGGLGKTTLARQIFHHD	IVRRHFDGFAWVCVSQQFTQKHVW
AT1G10920	LAGHLVENDN-IQVVSISGMGGLGKTTLARQVFHHD	MVQRHFDGFAWVFSQQFTQKHVW

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

AT1G59124	QKILRDLKPKEE-----EKKIMEMTQDTLQGELIRLLETSSKSLIVLDDIWEKEDWELIKP
AT1G58807	QKILRDLKPKEE-----EKKIMEMTQDTLQGELIRLLETSSKSLIVLDDIWEKEDWELIKP
AT1G59218	QKILRDLKPKEE-----EKKIMEMTQDTLQGELIRLLETSSKSLIVLDDIWEKEDWELIKP
AT1G58848	QKILRDLKPKEE-----EKKIMEMTQDTLQGELIRLLETSSKSLIVLDDIWEKEDWELIKP
AT1G58602	QNILGDLKPKEEETKEEKKILEMTEYTLQRELYQLLEMSKSLIVLDDIWKEDWEVIKIP
AT1G58410	QTILQNLTSKER-----KDEIQNMKEADLHDDLFRLESSTLIVLDDIWEKEDWDLIKP
AT1G58400	QMILQNLTSRET-----KDEILQMEEAELHDELFLLETSSKSLIVFDDIWEKEDWGLINP
AT1G58390	QMILQNLTSREK-----KDEILQMEEAELHDKLFQLETSKSLIVFDDIWKEDWDLIKP
AT1G59620	QTILRKVGPEYIK-----LEMTDELQEKLFRLGTRKALIVLDDIWRREDWDMIEP
AT1G59780	KTILGNLSPKYD-----SDLPEDDIQKKLFQLETKKALIVFDDLWKREDWYRIAP
AT1G50180	QRILQDLRPYDEG-----IIQMDEYTLQGELFELLESGRYLLVLDDVWKEEDWDRIKA
AT1G53350	QRILQDLRPYDEG-----IIQMDEYTLQGELFELLESGRYLLVLDDVWKEEDWDRIKA
AT5G43470	QRILQELQPHGD-----ILQMDYALQKLFQLEAGRYLVLDDVWKKEDWDVIKA
AT5G48620	QRILQELQPHDGN-----ILQMDESALQPKLFQLEAGRYLVLDDVWKKEDWDRIKA
AT5G35450	QRILQELRPHDGE-----ILQMDYTIQKLFQLEAGRYLVLDDVWKEEDWDRIKE
AT1G10920	QRIWQELQPQNGD-----ISHMDEHILQKLFKLEAGRYLVLDDVWKEEDWDRIKA

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

AT1G59124	IFPPTKG-WKVLLTSRNE SVAMRRNTSYINFKPECLTTEDSWTLFQRIALPM-KDAAEFK
AT1G58807	IFPPTKG-WKVLLTSRNE SVAMRRNTSYINFKPECLTTEDSWTLFQRIALPM-KDAAEFK
AT1G59218	IFPPTKG-WKVLLTSRNE SVAMRRNTSYINFKPECLTTEDSWTLFQRIALPM-KDAAEFK
AT1G58848	IFPPTKG-WKVLLTSRNE SVAMRRNTSYINFKPECLTTEDSWTLFQRIALPM-KDAAEFK
AT1G58602	IFPPTKG-WKLLTSRNE SVIAPTNTKYFNFKPECLKTDSSWKLQRIAPPI-NDASEFE
AT1G58410	IFPPKKG-WKVLLTSRTE SIAMRGDTTYSFKPKCLSIPDSWTLFQSIAMPR-KDTSEFK
AT1G58400	IFPPKK-----ETIAMHGNNRYVNFKPECLTILES WILFQRIAMPR-VDESEFK
AT1G58390	IFPPNKG-WKVLLTSQNE SVAVRGDIKYLNFKPECLAIEDSWTLFQRIAPFK-KDASESK
AT1G59620	IFPLGKG-WKVLLTSRNE GVALRANPNGFIFKPDCLTPEESWTFRRIVFPG-ENTTEYK
AT1G59780	MFPERKAGWKVLLTSRND AIHPHCVT----FKPELLTHDECWKLQRIAFSKQKITGYI
AT1G50180	VFPHKRG-WKMLLTSRNE GLHADPTCFRPRILTPEQSWKLFERIVSSR-RDKTEF-
AT1G53350	VFPHKRG-WKMLLTSRNE GLHADPTCFRPRILTPEQSWKLFERIVSSR-RDKTEF-
AT5G43470	VFPRKRG-WKMLLTSRNE GVIHADPTCLTFRASILNPEESWKL CERIVFPR-RDETEVR
AT5G48620	VFPRKRG-WKMLLTSRNE GVIHADPTCLTFRASILNPEESWKL CERIVFPR-RDETEVR
AT5G35450	VFPRKRG-WKMLLTSRNE GVLHADPTCLSFRRARILNPKESWKL FERIV-PR-RNETEY-
AT1G10920	VFPRKRG-WKMLLTSRNE GVIHADPKSFGFKTRILTPEESWKLCEKIVFHR-RDETGL

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

[図1-3]

AT1G59124 ----IDEEKEELGKLMIKHC GGLPLAIRVLGGMLAEKYTSHDWRRLSENIGSHLVGGRTN
 AT1G58807 ----IDEEKEELGKLMIKHC GGLPLAIRVLGGMLAEKYTSHDWRRLSENIGSHLVGGRTN
 AT1G59218 ----IDEEKEELGKLMIKHC GGLPLAIRVLGGMLAEKYTSHDWRRLSENIGSHLVGGRTN
 AT1G58848 ----IDEEKEELGKLMIKHC GGLPLAIRVLGGMLAEKYTSHDWRRLSENIGSHLVGGRTN
 AT1G58602 ----IDEEKEELGKLMIKHC GGLPLAIRVLGGMLAEKYTSHDWRRLSENIGSHLVGGRTN
 AT1G58410 ----VDEEMENMGKMIKHC GGLSLAVKVLGGLLAAKYTLHDWKRLSENIGSHIVERT--
 AT1G58400 ----VDKEMEMMGKQMIKYCGGLPLAVKVLGGLLAAKYTFHDWKRLSENIGCHIVGRTD-
 AT1G58390 ----VDEEMEDMGKQMLKHC GGLPLAIRVLGGMLAAKYTMHDWERLSVNIGSDIVGRT--
 AT1G59620 ----VDEKMEELGKQMIKHC GGLPLALAVKVLGGLLVVFHFLDEWKRIYGNIKSHIVGGTS-
 AT1G59780 ----IDKEMVKMAKEMTKHC KRLPLAVKVLGGLLDAKHTLRQWKLISENIIISHIVVGGTS
 AT1G50180 -----KVDEAMGKEMVTYCGGLPLAVKVLGGLLAKKHTVLEWKRVSNIIVTHIVGKSG-
 AT1G53350 -----KVDEAMGKEMVTYCGGLPLAVKVLGGLLAKKHTVLEWKRVSNIIVTHIVGKSG-
 AT5G43470 ----LDEEMEAMGKEMVTHCGGLPLAVKALGGLLANKHTVPEWKRVSNIIVGSGIIVGGSW-
 AT5G48620 ----LDEEMEAMGKEMVTHCGGLPLAVKALGGLLANKHTVPEWKRVSNIIVGSGIIVGGSC-
 AT5G35450 -----EEMEAIGKEMVTYCGGLPLAVKVLGGLLANKHTASEWKRVSNIIVGSGIIVGKSC-
 AT1G10920 SEVRVDEDMEAMGKEMVTCGGLPLAVKVLGGLLATKHTVPEWKRVDNIGPHLAGRSS-
 : .: * * * .*: **:* .:* :* : ** .:

AT1G59124 FNDDNNNTCNNVLSLSFEELPSYLKHCFLYLAHFPEDYEIKVENLSYYWAAEGIFQPRHY
 AT1G58807 FNDDNNNTCNNVLSLSFEELPSYLKHCFLYLAHFPEDYEIKVENLSYYWAAEGIFQPRHY
 AT1G59218 FNDDNNNTCNNVLSLSFEELPSYLKHCFLYLAHFPDDYEINVKNSYYWAAEGIFQPRHY
 AT1G58848 FNDDNNNTCNNVLSLSFEELPSYLKHCFLYLAHFPDDYEINVKNSYYWAAEGIFQPRHY
 AT1G58602 FNDDNNNSCNVLSLSFEELPSYLKHCFLYLAHFPEDYEIKVENLSYYWAAEIEFQPRHY
 AT1G58410 --SGNNSSIDHVLSVSFEELPNYLKHCFLYLAHFPEDHEIDVEKLHYWAAEGISERRRY
 AT1G58400 FSDGNNSVYHVLSLSFEELPSYLKHCFLYLAHFPEDHNIKVEKLSYCWAAEGISTAEDY
 AT1G58390 --SSNNSIYHVLSMSFEELPSYLKHCFLYLAHFPEDHKINVEKLSYCWAAEGISTAEDY
 AT1G59620 FNDKNMSSVYHILHLSFEELPTYLKHCFLYLAQFPEDFTIDLEKLSYYWAAEGMPRPRYY
 AT1G59780 SNENDSSSVNHVLSLSFEGLPGYLKHCFLYLAHFPEDHEIEIERLSYVWAAEGITYPGNY
 AT1G50180 LSDDNSNSVYRVLSLSYEDLPMQLKHCFFYLAHFPEDYKIDVKILFNYWAAEGIITP--F
 AT1G53350 LSDDNSNSVYRVLSLSYEDLPMQLKHCFFYLAHFPEDYKIDVKILFNYWAAEGIITP--F
 AT5G43470 LDDNSLNSVYRILSLSYEDLPTHLKHCFLNLAHFPEDSEISTYSLFYWAAEGIY-----
 AT5G48620 LDDNSLNSVNRILSLSYEDLPTHLKHFRLYLAHFPEDSKIYTQDLFNYWAAEGIY-----
 AT5G35450 LDDNSLNSVYRILSLSYEDLPTDLKHCFLYLAHFPEDYKIKTRTLYSYWAAEGIY-----
 AT1G10920 LDDN-LNSIYRVLSLSYENLPMCLKHCFLYLAHFPEDYKIDVKILFNYWAAEGIITS--S
 . .: :* :*: ** ***: ** :*: * * .** :

AT1G59124 D-GETIRDVGDVYIEELVRRNMV I SERDVKTSRFET CHLHDMREVCL LKAKEENFLQIT
 AT1G58807 D-GETIRDVGDVYIEELVRRNMV I SERDVKTSRFET CHLHDMREVCL LKAKEENFLQIT
 AT1G59218 D-GEIRDVGDVYIEELVRRNMV I SERDVKTSRFET CHLHDMREVCL LKAKEENFLQIT
 AT1G58848 D-GEIRDVGDVYIEELVRRNMV I SERDVKTSRFET CHLHDMREVCL LKAKEENFLQIT
 AT1G58602 D-GEIRDVGDVYIEELVRRNMV I SERDVKTSRFET CHLHDMREVCL LKAKEENFLQIT
 AT1G58410 D-GETIRDGTGSYIEELVRRNMV I SERDVMTSRFET CRLHDMREICL FKAKEENFLQIV
 AT1G58400 H-GQIRDVGESYIEELVRRNMV I AERDVTTLRFEACHLHDMREVCL LKAKEENFVQIA
 AT1G58390 HNGETIQDVGQSYLEELVRRNMI I WERDATASRFGT CHLHDMREVCL FKAKEENFLQIA
 AT1G59620 D-GATIRKVGDIYIEELVRRNMV I SERDARTTRRFET CHLHDIVREVCL LKAKEENLIETE
 AT1G59780 E-GATIRDVADLYIEELVRRNMV I SERDALTSRFET CQLHDMREICL LKAKEENFLQIV
 AT1G50180 HDGSTIQDTGESYIEELVRRNMV VVEESYLTSRIEY CQHDMREVCL SKAKEENFIRVV
 AT1G53350 HDGSTIQDTGESYIEELVRRNMV VVEESYLTSRIEY CQHDMREVCL SKAKEENFIRVV
 AT5G43470 -DGSTIEDSGEYIEELVRRNLV I ADNNYLSWQSKY CQHDMREVCL SKAKEENFLQII
 AT5G48620 -DGSTIQDSGEYIEELVRRNLV I ADNRYLSLEFNFCQHDMREVCL SKAKEENFLQII
 AT5G35450 -DGLTILDSGEDYIEELVRRNLV I AEAENLSWRLLK CQHDMREVCL SKAKVENFLQII
 AT1G10920 DDGTTIQDKGEDYIEELARRNMI I IDKNYMLRKKHCQHDMREVCL SKAKEENFLEIF
 * * . .: :* :*: ** ***: ** :*: * * .** :



[図1-4]

AT1G59124 S-----SRPSTANLQSTVTSRRFVYQYPTTLHVEKDINNPCLRALVVVT-----LG--SW
 AT1G58807 S-----SRPSTANLQSTVTSRRFVYQYPTTLHVEKDINNPCLRALVVVT-----LG--SW
 AT1G59218 S-----SRTSTGNLSIVTSRRLVYQYPI TL DVEKDINDPKLRSLVVVANTYMFVGGWSW
 AT1G58848 S-----SRTSTGNLSIVTSRRLVYQYPI TL DVEKDINDPKLRSLVVVANTYMFVGGWSW
 AT1G58602 S-----NPPSTANFQSTVTSRRLVYQYPTTLHVEKDINNPCLRALVVVT-----LG--SW
 AT1G58410 S-----NHSPTSNPQTLGASRRFV LHNPTTLHVERYKNNPKLRSLVVVYDDIG---NRRW
 AT1G58400 S-----ILPPTANSQYPGTSRRFVSNQNP TL HVSRDINNPQLQSL LI VVWENR---RKS
 AT1G58390 VKSVGVTSSSTGNSSPCRSRRLVYQCPTTLHVERDINNPCLRSLVVLWHDLW---VENW
 AT1G59620 N-----SKSPSKPRRLVVKGGDKTMEGKLNPKLRSLLFIEELG-----GY
 AT1G59780 TDP---TSSSVHSLASSRRLVYNTSIFSGENDMKNKLRSLLFIPVG-----YSR
 AT1G50180 KVP---TTTSTTINAQSPCRSRRLV L HSGNALHMLGHKDNKKARSVLI FGVEE---KFWKP
 AT1G53350 KVP---TTTSTTINAQSPCRSRRLV L HSGNALHMLGHKDNKKARSVLI FGVEE---KFWKP
 AT5G43470 IDP---TCTS-TINAQSPSRRLS I HSGKAFHILGHKNKTKVRS L I VPRFEE---DYWIR
 AT5G48620 KDP---TSTS-TINAQSPSRRRFS I HSGKAFHILGHRNNPKVRS L I VSRFEE---DFWIR
 AT5G35450 KVP---TSTS-TI I AQSPSRSRRLTVHSGKAFHILGHKK---KVRSLVLGLKE---DLWIQ
 AT1G10920 KVS---TATS-AINARSLSKSRRLSVHGGNALPSLGQTINKKVRSLLYFATED---EFCIL

.** : * : : *

AT1G59124 NLAGSSFTRLELLRVLDLIEVKIKGGKLASCIGKLIHLRYLSLEYAEVTHIPYSLGNLKL
 AT1G58807 NLAGSSFTRLELLRVLDLIEVKIKGGKLASCIGKLIHLRYLSLEYAEVTHIPYSLGNLKL
 AT1G59218 MLLGSSFIRLELLRVLDIHRAKLGGKLASSIGQLIHLRYLNKHAEVTHIPYSLGNLKL
 AT1G58848 MLLGSSFIRLELLRVLDIHRAKLGGKLASSIGQLIHLRYLNKHAEVTHIPYSLGNLKL
 AT1G58602 NLAGSSFTRLELLRVLDLVQAKLGGKLASCIGKLIHLRYLSLEYAEVTHIPYSLGNLKL
 AT1G58410 MLSGSIFTRVKLLRVLDLVQAKFKGGKLPD I GKL IHLRYLSLKDQAVSHLPSSLRNLVL
 AT1G58400 KLLGSSFIRLELLRVLDLYKAKFEGRNLPD I GKL IHLRYLNLDLARVSRPSSLGNLRL
 AT1G58390 KLLGTSFTRKLLRVLDL F YVDFEGMKLPD I GKL IHLRYLSLQDAKVSHLPSSLGNLML
 AT1G59620 RGFVWFTRQLMRVLDLHGVEFGG-ELPSSIGLLIHLRYLSLYRAKASHLPSSMQLNKM
 AT1G59780 FSMGSNFIELPLLRLVLDL D GAKFKGGKLPSSIGKLIHLKYLSLYQASVTYLPSSLRNLKS
 AT1G50180 RG---FQCLPLLRLVLDLSYVQFEGGKLPSSIGDLIHLRFLSLEYAGVSHLPSSLGNLKL
 AT1G53350 RG---FQCLPLLRLVLDLSYVQFEGGKLPSSIGDLIHLRFLSLEYAGVSHLPSSLGNLKL
 AT5G43470 SASV---FHNLTLRLVLDLSWVKFEGGKLPD I GGL IHLRYLSLYEAKVSHLPSTMRNLKL
 AT5G48620 SASV---FHNLTLRLVLDLSRVKFEGGKLPSSIGGLIHLRYLSLYGAVVSHLPSTMRNLKL
 AT5G35450 SASR---FQSLPLLRLVLDLSSVKFEGGKLPSSIGGLIHLRFLSLHQAVVSHLPSTIRNLKL
 AT1G10920 ESTTPCFRSLPLLRLVLDLSRVKFEGGKLPSSIGDLIHLRFLSLHRAWISHLPSSLRNLKL

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

AT1G59124 LIYLN LASFGR--STFV PNVLMGMQELRYLALPSDMGRKTKLELSNLVKLETLENFSTEN
 AT1G58807 LIYLN LASFGR--STFV PNVLMGMQELRYLALPSDMGRKTKLELSNLVKLETLENFSTEN
 AT1G59218 LIYLN LVILVSG-STLVPNVLKEMQQLRYLALPKDMGRKTKLELSNLVKLETLENFSTKN
 AT1G58848 LIYLN LVILVSG-STLVPNVLKEMQQLRYLALPKDMGRKTKLELSNLVKLETLENFSTKN
 AT1G58602 LIYLN LHISLSSRSNFV PNVLMGMQELRYLALPSLIERKTKLELSNLVKLETLENFSTKN
 AT1G58410 LIYLDIRTDFTD--IFV PNVFMGMRELRYLELPRFMHEKTKLELSNLEKLEALENFSTKS
 AT1G58400 LIYLDINVCTKS--LFV PNVCLMGMHELRYLRLPFNTSKEIKLGLCNLVNLETLENFSTEN
 AT1G58390 LIYLNLDVDTEF--IFV PVDVFMRMHELRYLKLPLHMHKTRLSLRNLVKLETLVYFSTWH
 AT1G59620 LLYLNL CVQESC-YIYIPNFKEMLELKYLSLPLRMDDKSMGEWG-----
 AT1G59780 LLYLNL RINSQQ-LINVPNVFKEMLELRYLSLPWERSLTKLELGNLLKLETLENFSTKD
 AT1G50180 LLCNLGVADRL-LVHVPNVLKEMQELRYLRLPRSM PAKTKLELGD LVNLES L TNFSTKH
 AT1G53350 LLCNLGVADRL-LVHVPNVLKEMQELRYLRLPRSM PAKTKLELGD LVNLES L TNFSTKH
 AT5G43470 LLYLNL RVDTEE-PIHVPNVLKEMIQLRYLSLPLKMDDKTKLELGD LVNLEYL YGFSTQH
 AT5G48620 LFLNL RVDNKE-PIHVPNVLKEMLELRYLSLPQEMDDKTKLELGD LVNLEYL WYFSTQH
 AT5G35450 MLYLNLHVAIGV-PVHVPNVLKEMLELRYLSLPLDMHDKTKLELGD LVNLEYL WCFSTQH
 AT1G10920 LLYLNLGFNG---MVHVPNVLKEMQELRYLQLPMSMHDKTKLELSD LVNLES L MNFSTKY

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

[図1-5]

AT1G59124 SSLEDLCGMVRLSTLNKLI-EETSLETLAASIGGLKYLEKLEIYDHGS---EMRTKEAG
 AT1G58807 SSLEDLCGMVRLSTLNKLI-EETSLETLAASIGGLKYLEKLEIYDHGS---EMRTKEAG
 AT1G59218 CSLEDLRGMVRLRTLTIELR-KETSLETLAASIGGLKYLESLTITDLGS---EMRTKEAG
 AT1G58848 CSLEDLRGMVRLRTLTIELR-KETSLETLAASIGGLKYLESLTITDLGS---EMRTKEAG
 AT1G58602 SSLEDLRGMVRLRTLTIELI-EETSLETLAASIGGLKYLEKLEIDDLS---KMRTKEAG
 AT1G58410 SSLEDLRGMVRLRTLVIILS-EGTSLQTLASVCGLRHLENFKIMENAG---VNRMGEEER
 AT1G58400 SSLEDLRGMVSLRTLITGLF-KHISKETLFASILGMRHLENLSIRTPDGSSKFKRIMEDG
 AT1G58390 SSSKDLCGMTRMLTALIRLT-RVTSTETLSASISGLRNLEYLYIVGTHS---KKMREEG
 AT1G59620 ----DLQFMTRLRALSIIYIR-GRNLNMTLSSSLSKLRDLENLTICYYPMY--APMSGIEG
 AT1G59780 SSVTDLHRMTKLRTLQILISGEGLHMETLSSALSMLGHLEDLTVTPSEN-----
 AT1G50180 GSVTDLLRMTKLSVLNVIFS-GECTFETLLLSLRELRLNETLSFHDFQKVS-VANHGCEL
 AT1G53350 GSVTDLLRMTKLSVLNVIFS-GECTFETLLLSLRELRLNETLSFHDFQKVS-VANHGCEL
 AT5G43470 SSVTDLLRMTKLRYLAVSLS-ERCNFETLSSSLRELRLNETLNFLFSLETY-MVDYMGEF
 AT5G48620 SSVTDLLRMTKLRNLGVLS-ERCNFETLSSSLRELRLNLEMLNVLSPEIV-MVDHMGEF
 AT5G35450 SSVTDLLRMTKLRFFGVFS-ERCTFENLSSSLRQFRKLETLSFIYSRKY-MVDYVGEF
 AT1G10920 ASVMDLLHMTKLRLESLFIT-DGSS-DTLSSSLGQLRSLEVLHLYDRQEP-RVAYHGGEI

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

AT1G59124 IVDFVHLKRLWLKLYMPRLSTEQHFPSHLTTLYLESCRLEEDPMPILEKLLQLKELELG
 AT1G58807 IVDFVHLKRLWLKLYMPRLSTEQHFPSHLTTLYLESCRLEEDPMPILEKLLQLKELELG
 AT1G59218 IVDFVYLKTLTKLYMPRLSKEQHFPSHLTTLYLQHCRLLEEDPMPILEKHLQLKELELR
 AT1G58848 IVDFVYLKTLTKLYMPRLSKEQHFPSHLTTLYLQHCRLLEEDPMPILEKHLQLKELELR
 AT1G58602 IVDFVHLKRLRLELYMPRLSKEQHFPSHLTTLYLQHCRLLEEDPMPILEKLLQLKELELG
 AT1G58410 MVLDFTYLKKLTLSEMPRLPKIQHLPShlTVL.DLSYCCLEEDPMPILEKLELKDLSLD
 AT1G58400 IVLDAIHLKQLNLR.LYMPKLPDEQHFPShlTSISLDGCCLVEDPLPILKLELKEVRLD
 AT1G58390 IVLDFIHLKHLNLDLYMPRQ---QHFPShlTFVKLSECGLEEDPMPILEKLLHLKGVILL
 AT1G59620 LVLDQDLKHLNLR.IYMPRLPDEQHFPShlRNISLAECCLKEDPMPILEKLLQLNEVSL
 AT1G59780 -SVQFKHPK---LIYRPM.LPVQHFPSHLTTISLVYCFLEEDPMPLEKLLQLKVVSLW
 AT1G50180 LVLDFIHLKDLT.LSMHLPRFPDQYRFPPhlAHlW.LIGCRMEEDPMPILEKLLHLKSVYLS
 AT1G53350 LVLDFIHLKDLT.LSMHLPRFPDQYRFPPhlAHlW.LIGCRMEEDPMPILEKLLHLKSVYLS
 AT5G43470 VLDHF.IHLKQLGLAVRMSKIPDQHFPPhlVHLFLIYCGMEEDPMPILEKLLHLKSVRLA
 AT5G48620 VLDHF.IHLKQLGLAVRMSKIPDQHFPPhlAHlVHCVMKEDPMPILEKLLHLKSVALS
 AT5G35450 VLD-FIHLKSLGVHLSKIPDQHQLPPhlAHlYLLFCHMEEDPMPILEKLLHLKSVELR
 AT1G10920 VLN-CIHLKELELAIHMPRFPDQYLFHPShlSHIYLWCCSMEEDPIPI.LRLLHLKSVILT

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

AT1G59124 FESFSGKKMVCSSGGFPQLQRLSLLKLEEWEDWKVEESSMPLLRTLDIQHCR-----
 AT1G58807 FESFSGKKMVCSSGGFPQLQRLSLLKLEEWEDWKVEESSMPLLRTLDIQVCRKQLPDE
 AT1G59218 RKSFSGKEMVCSSGGFPQLQKLSIKGLEEWEDWKVEESSMPLVHTLDIRDCRKLKLPDE
 AT1G58848 RKSFSGKEMVCSSGGFPQLQKLSIKGLEEWEDWKVEESSMPLVHTLDIRDCRKLKLPDE
 AT1G58602 HKSFSGKKMVCSSGGFPQLQKLSISGLKEWEDWKVEESSMPLLLTLNIFDCRKLKLPDE
 AT1G58410 YLSFSGRKMVCSAGGFPQLRKLALDEQEWEWIVEEGSMRSLHTLSIWSS-----
 AT1G58400 FRAFSGKRMVSSDGGFPQLHRLYIWGLAEWEWIVEEGSMRSLHTLTIWNCQ-----
 AT1G58390 KGSYCGRRMVCSSGGFPQLKLEIIVGLNKWEWIVEEGSMPLLETLSILDCE-----
 AT1G59620 HQSFCGKRMVCSGGFPQLKLDLCLGLEWEWIVEEGSMRSLHKLTIWNCQ-----
 AT1G59780 YNAYVGRRMVCTGGFPPLHRLYIWGLDALEWIVEEGSMPLLHTLHIVDCK-----
 AT1G50180 SGAFSGRRMVCSSGGFPQLLALKMSYKKELVEWRVEEGSMPLRSLHTLIDNCK-----
 AT1G53350 SGAFSGRRMVCSSGGFPQLLALKMSYKKELVEWRVEEGSMPLRSLHTLIDNCK-----
 AT5G43470 RKAFLGSRMVCSSGGFPQLCVIEISKESELEWIVEEGSMPLRSLHTLIDNCK-----
 AT5G48620 YGAFSGRRMVCSSGGFPQLCALGISGESELEWIVEEGSMPLRSLHTLIDNCK-----
 AT5G35450 RKAFLGRRMVCSSGGFPQLRALQISEQSELEWIVEEGSMPLRSLHTLIDNCK-----
 AT1G10920 FGAFVGRRMVCSGGFPQLCFLKLELELEWIVEEGRCHFFVL-----

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

[図1-6]

AT1G59124	-----
AT1G58807	HLPshLTSISLFFCCLEKDPLPTLGRlVYLkELQLGFRtFSGRIMVCSGG-----
AT1G59218	HLPshLTSISLFFCCLEEDPMPTLERlVHLkELQLLFRSFSGRIMVCAGSGFPQLHKLKL
AT1G58848	HLPshLTSISLFFCCLEEDPMPTLERlVHLkELQLLFRSFSGRIMVCAGSGFPQLHKLKL
AT1G58602	HLPshLTAISLKKCGLED-PIPTLERlVHLkELSLS-ELCGRIMVCTGGGFPQLHKLDL
AT1G58410	-----
AT1G58400	-----
AT1G58390	-----
AT1G59620	-----
AT1G59780	-----
AT1G50180	-----
AT1G53350	-----
AT5G43470	-----
AT5G48620	-----
AT5G35450	-----
AT1G10920	-----

AT1G59124	-----
AT1G58807	-----GFPQLQKLSIYrLEEWEE-----
AT1G59218	SELDGLEEWIVEDGSMPQLHTLEIRRCPKLKKLPNGFPQLQNLLELEEWEE-----
AT1G58848	SELDGLEEWIVEDGSMPQLHTLEIRRCPKLKKLPNGFPQLQNLLELEEWEE-----
AT1G58602	SELDGLEEWIVEDGSMPRLHTLEIRRCLKlKKLPNGFPQLQNLHLTEVEEWEEGMIVKQG
AT1G58410	-----
AT1G58400	-----
AT1G58390	-----
AT1G59620	-----
AT1G59780	-----
AT1G50180	-----
AT1G53350	-----
AT5G43470	-----
AT5G48620	-----
AT5G35450	-----
AT1G10920	-----

AT1G59124	-----
AT1G58807	-----
AT1G59218	-----
AT1G58848	-----
AT1G58602	SMPLlHTLYIWHCPKLPGEQHFPshLTTVFLlGMYVEEDPMRlEKLLHLKNVSLFQSFS
AT1G58410	-----
AT1G58400	-----
AT1G58390	-----
AT1G59620	-----
AT1G59780	-----
AT1G50180	-----
AT1G53350	-----
AT5G43470	-----
AT5G48620	-----
AT5G35450	-----
AT1G10920	-----

[図1-7]

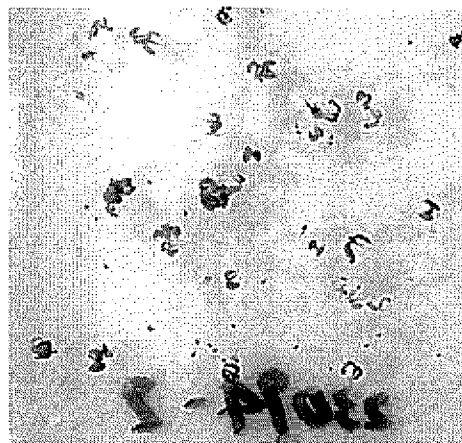
AT1G59124	-----
AT1G58807	-----WIVEQGSMPFLHTLYIDDCPKLKKLPDGLQFIYS
AT1G59218	-----WIVEDGSMPLLHTLRIWNCPKLKQLPDGLRFIYS
AT1G58848	-----WIVEDGSMPLLHTLRIWNCPKLKQLPDGLRFIYS
AT1G58602	GKRMVCSGGGFPQLQKLSIREIEWEEWIVEQGSMPLLHTLYIGVCPNLKELPDGLRFIYS
AT1G58410	-----TLKELPDGLRFIYS
AT1G58400	-----KLKQLPDGLRFIYS
AT1G58390	-----ELKEIPDGLRFIYS
AT1G59620	-----KLKELPDGLKFITS
AT1G59780	-----KLKEIPDGLRFISS
AT1G50180	-----KLKQLPDGLKYVTC
AT1G53350	-----KLKQLPDGLKYVTC
AT5G43470	-----KLKELPDGLKYITS
AT5G48620	-----KLKELPDGLKYITS
AT5G35450	-----KLEELPDGLKYVTS
AT1G10920	-----

AT1G59124	-----
AT1G58807	LKNLKISER---WKERLSEGGEEYKQVQHIPSVEFYHRVLHIFRSVGGDITGRLLMR
AT1G59218	LKNLTPKR---WKKRLSKGGEDYKQVQHIPSVEFY-----
AT1G58848	LKNLTPKR---WKKRLSKGGEDYKQVQHIPSVEFY-----
AT1G58602	LKNLIVSKR---WKKRLSEGGEDYKQVQHIPSVEFDD-----
AT1G58410	LKNLIMGKS---WMERLSEGGEEFYKQVQNIPIKFSS-----
AT1G58400	IKDLMDKK---WKEILSEGGEEYKQVQHIPSVKFEKDYK-----
AT1G58390	LELVMLGTR---WKKKFSVGGEDYKQVQHIPSVEFIGGYLK-----
AT1G59620	LKEVHVILNNWDFKKLSRGGEDYKQVQHIVLVRFL-----
AT1G59780	LKELAIRTNEKVFQKKVSKGGEDYKQVQHIVPLIRYNWPQEPENNEVIYSFSPSII--
AT1G50180	LKELKIERMKREWTERLVIGGEDYKQVQHIPSQVFINCDH-----
AT1G53350	LKELKIERMKREWTERLVIGGEDYKQVQHIPSQVFINCDH-----
AT5G43470	LKELKIEGMKREWKEKLVPGGEDYKQVQHIVDVQFINCDQ-----
AT5G48620	LKELKIERMKREWKEKLVPGGEDYKQVQHIVDVQFINCDL-----
AT5G35450	LKELKIEGMKREWKEKLV--GEDYKQVQHIVDVQFFNCDEQRE-----
AT1G10920	-----

[図2]

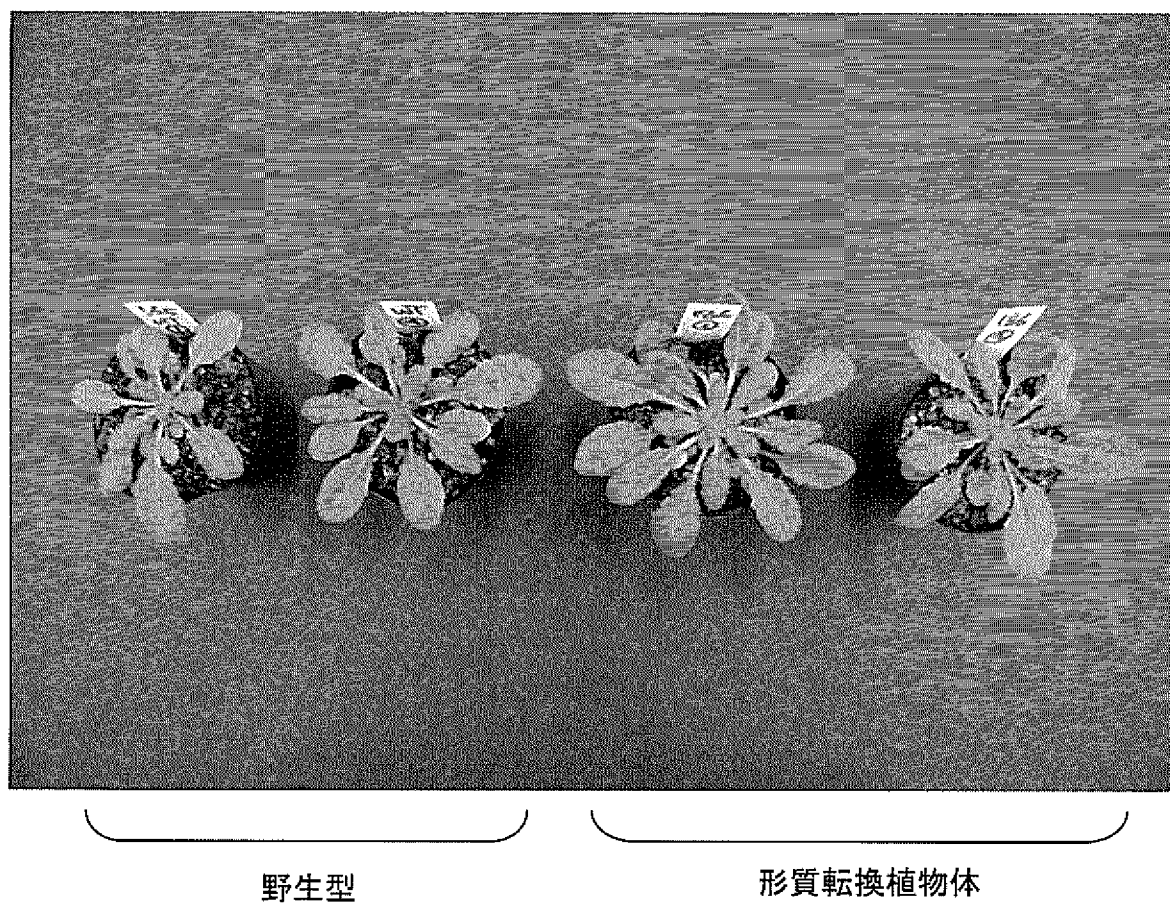


野生型

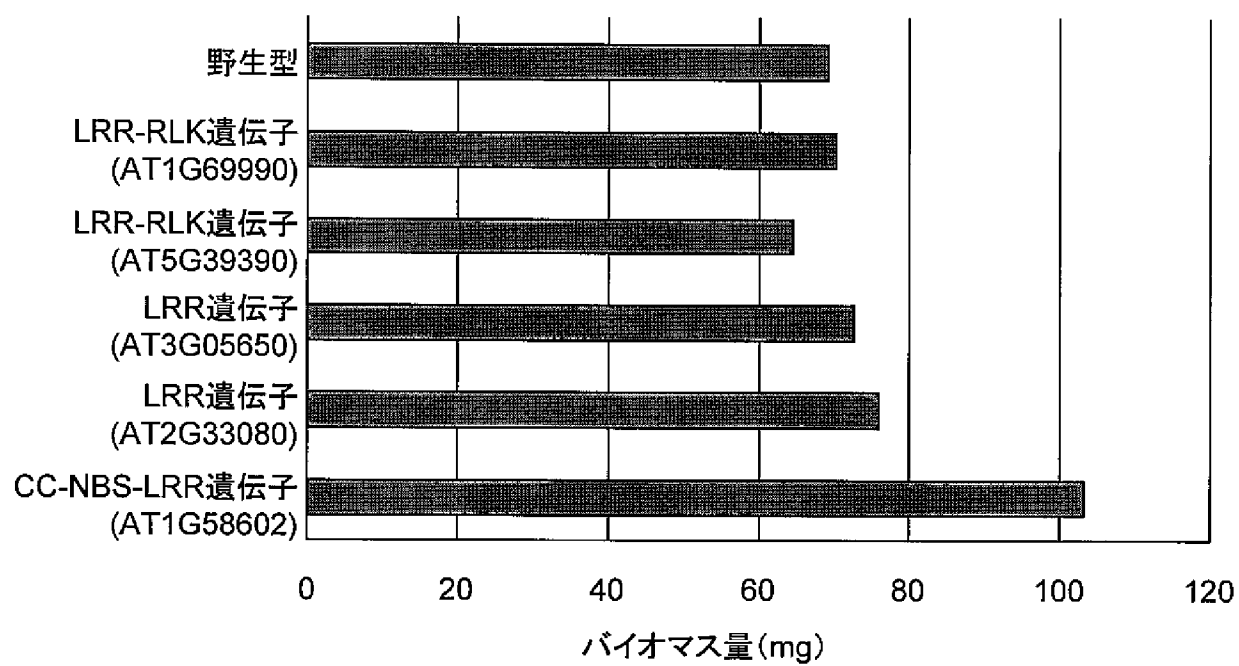


形質転換植物体

[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/066650

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/29(2006.01) i, A01H1/00(2006.01) i, A01H5/00(2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N15/00-15/90, A01H1/00, A01H5/00

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)

WPIDS/CA/BIOSIS/MEDLINE (STN), JSTPlus (JDreamII),

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	WO 2008/061153 A2 (AGRIGENETICS, INC.), 22 May 2008 (22.05.2008), Tables 1, 4; example 3; claims & US 2008/0213457 A1	1-9/10-27
X/Y/A	COOLEY M B et al., Members of the Arabidopsis HRT/RPP8 family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens., Plant Cell, 2000, vol.12, p.663-676	1-9/1-9/ 10-27
X/Y/A	LORANG J M et al., Plant disease susceptibility conferred by a "resistance" gene., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, vol.104, p.14861-14866	1-9/1-9/ 10-27
Y/A	MEYERS B C et al., Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis., Plant Cell, 2003, vol.15, p.809-834	1-9/10-27

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
18 December, 2009 (18.12.09)

Date of mailing of the international search report
28 December, 2009 (28.12.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. C12N15/29(2006.01)i, A01H1/00(2006.01)i, A01H5/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野
 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. C12N15/00 - 15/90, A01H1/00, A01H5/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
 WPIDS/CA/BIOSIS/MEDLINE(STN), JSTPlus(JDreamII), GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, UniProt/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X/A	WO 2008/061153 A2 (AGRIGENETICS, INC.) 2008.05.22, Table1, 4, Example 3 and Claims & US 2008/0213457 A1	1-9/10-27
X/ Y/ A	COOLEY M B et al., Members of the Arabidopsis HRT/RPP8 family of resistance genes confer resistence to both viral and oomycete pathogens., Plant Cell, 2000, vol. 12, p. 663-676	1-9/ 1-9/ 10-27

C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

<p>* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>	<p>の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献</p>
--	---

国際調査を完了した日 18.12.2009	国際調査報告の発送日 28.12.2009
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 中村 正展 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X/ Y/ A	LORANG J M et al., Plant disease susceptibility conferred by a "resistance" gene., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, vol. 104, p. 14861-14866	1-9/ 1-9/ 10-27
Y/ A	MEYERS B C et al., Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis., Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 809-834	1-9/ 10-27