(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-512046
(P2025-512046A)
(43)公表日　令和7年4月16日(2025.4.16)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）	
Ａ０１Ｈ	*1/00 (2006.01)*	Ａ０１Ｈ	1/00	Ｚ ＺＮＡ	４Ｂ０４３
Ｃ１２Ｎ	*15/09 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/09	Ｚ	４Ｂ０６５
Ｃ１２Ｎ	*15/29 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/29		４Ｂ１６２
Ａ０１Ｈ	*5/00 (2018.01)*	Ａ０１Ｈ	5/00	Ａ	
Ａ０１Ｈ	*5/12 (2018.01)*	Ａ０１Ｈ	5/12		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全104頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-560391(P2024-560391)
(86)(22)出願日　令和5年4月13日(2023.4.13)
(85)翻訳文提出日　令和6年12月9日(2024.12.9)
(86)国際出願番号　PCT/GB2023/050994
(87)国際公開番号　WO2023/199065
(87)国際公開日　令和5年10月19日(2023.10.19)
(31)優先権主張番号　2205562.8
(32)優先日　令和4年4月14日(2022.4.14)
(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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
最終頁に続く

(71)出願人　519138265
ニコベンチャーズ トレーディング リミテッド
Ｎｉｃｏｖｅｎｔｕｒｅｓ Ｔｒａｄｉｎｇ Ｌｉｍｉｔｅｄ
イギリス， ダブリューシー２アール ３エルエー， ロンドン， ウォーター ストリート １， グローブ ハウス
Ｇｌｏｂｅ Ｈｏｕｓｅ， １ Ｗａｔｅｒ Ｓｔｒｅｅｔ，ＷＣ２Ｒ ３ＬＡ Ｌｏｎｄｏｎ，Ｕｎｉｔｅｄ Ｋｉｎｇｄｏｍ
(74)代理人　100107984
弁理士　廣田 雅紀
(74)代理人　100182305
弁理士　廣田 鉄平
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　タバコのアルカロイド含有量を調節する方法

(57)【要約】
本発明は、植物（例えば、タバコ植物）のアルカロイド含有量を調節する方法であって、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。本発明はまた、本発明に従って得ることができる植物、並びにタバコ細胞、植物、植物増殖材料、収穫葉、処理されたタバコ、又はタバコ製品のアルカロイド含有量を調節するための、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の使用も提供する。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
タバコ植物若しくはその一部又はタバコ植物細胞のアルカロイド含有量を調節する（例えば、減少させる）方法であって、ポリペプチドの活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、前記植物又は植物細胞を改変するステップを含み、前記ポリペプチドが、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
前記方法。
【請求項２】
タバコ植物又はその植物部分又はタバコ植物細胞におけるＴＳＮＡ又はＴＳＮＡの前駆体の含有量を調節する（例えば、減少させる）方法であって、ポリペプチドの活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、前記植物又は植物細胞を改変するステップを含み、前記ポリペプチドが、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
前記方法。
【請求項３】
アルカロイド含有量が調節された（例えば、減少した）、植物若しくはその一部、細胞、若しくは細胞培養物、植物増殖材料、葉、カットされた収穫葉、処理葉又はカットされた処理葉を生成する方法であって、ポリペプチドの活性又は発現を調節するために、前記植物又は細胞培養物を改変するステップを含み、前記ポリペプチドが、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
前記方法。
【請求項４】
タバコ細胞又はタバコ植物若しくはその一部のアルカロイド含有量を調節するための、ポリペプチドをコードする少なくとも１つの遺伝子の使用であって、前記ポリペプチドが、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモ

ログによってコードされる、
前記使用。
【請求項５】
アルカロイド含有量が、前記ポリペプチドの活性又は発現を調節するために改変されていない植物又は細胞培養物と比較して調節されて（例えば、減少して）いる、請求項１～４のいずれかに記載の方法又は使用。
【請求項６】
ポリペプチドの活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ように改変されている、タバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物であって、前記ポリペプチドが、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされ、
前記タバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物が、未改変の植物又は未改変の細胞若しくは細胞培養物と比較して、減少したアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体の含有量を有する、
前記タバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物。
【請求項７】
請求項６に記載の植物から、或いは請求項１～５のいずれかに記載の方法又は使用によって生成された植物又は細胞若しくは細胞培養物から得ることができる（例えば、得られた）植物増殖材料。
【請求項８】
植物のアルカロイド含有量が、ポリペプチドの活性又は発現を調節するように改変されていない植物又は細胞培養物と比較して減少している、請求項１～５のいずれかに記載の方法若しくは使用、或いは請求項６に記載の植物若しくはその一部又は細胞若しくは細胞培養物、或いは請求項７に記載の植物増殖材料。
【請求項９】
ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナバシン、ミオスミン、及びアナタビンから選択される１種又は２種以上のアルカロイドの含有量が、調節されて（例えば、減少して）いる、好ましくは、ニコチン、ノルニコチン、及び／又はＰＯＮの含有量が、調節されて（例えば、減少して）いる、請求項１～５及び８のいずれかに記載の方法又は使用、請求項６若しくは８に記載のタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物、或いは請求項７に記載の植物増殖材料。
【請求項１０】
ニコチン含有量が減少している、請求項９に記載の方法又は使用、請求項９に記載のタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくはタバコ細胞培養物、或いは請求項９に記載の植物増殖材料。
【請求項１１】
植物を育種するための、請求項６及び８～１０のいずれかに記載のタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物、或いは請求項１～５及び８～１０のいずれかに記載の方法によって生成された植物の使用。
【請求項１２】
製品の製造のための、請求項６及び８～１０のいずれかに記載のタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物、或いは請求項１～５及び８～１０のいずれかに記載の方法によって生成された植物の使用。
【請求項１３】

作物を作るための、請求項６及び８～１０のいずれかに記載のタバコ植物若しくはその一部、又は請求項１～５及び８～１０のいずれかに記載の方法によって生成された植物の使用。
【請求項１４】
葉を生産するための、請求項６及び８～１０のいずれかに記載のタバコ植物若しくはその一部、又は請求項１～５及び８～１０のいずれかに記載の方法によって生成された植物の使用。
【請求項１５】
請求項６及び８～１０のいずれかに記載の植物の収穫葉、又は請求項７～１０のいずれかに記載の増殖材料から増殖させた植物から得ることができる、又は請求項４～５及び８～１０のいずれかに記載の使用によって得られた植物から得ることができる、又は請求項１～５及び８～１０のいずれかに記載の方法によって生成された植物から得ることができる収穫葉。
【請求項１６】
カットされた収穫葉である、請求項１５に記載の植物の収穫葉。
【請求項１７】
請求項４～５及び８～１０のいずれかに記載の使用から得ることができる植物から得ることができる（例えば、得られた）か、
請求項６及び８～１０のいずれかに記載の植物を処理することによって得ることができる（例えば、得られた）か、
請求項７～１０のいずれかに記載の植物増殖材料から増殖させた植物から得ることができる（例えば、得られた）か、又は
請求項１５若しくは１６に記載の植物の収穫葉を処理することによって得ることができる（例えば、得られた）か、又は
請求項１～５及び８～１０のいずれかに記載の方法によって生成された植物から得ることができる（例えば、得られた）、
処理葉、好ましくは、タバコの処理葉、好ましくは、生育不能なタバコの処理葉。
【請求項１８】
葉が、乾燥させること、発酵させること、低温殺菌すること又はそれらの組合せによって処理される、請求項１７に記載の処理葉。
【請求項１９】
カットされた処理葉である、請求項１７又は１８に記載の処理葉。
【請求項２０】
請求項６及び８～１０のいずれかに記載の植物若しくはその一部、又は請求項１５若しくは１６に記載の収穫葉、又は請求項１７～１９のいずれかに記載の処理葉から作製された乾燥タバコ材料。
【請求項２１】
請求項２０に記載の乾燥タバコ材料を含むタバコブレンド。
【請求項２２】
請求項６及び８～１０のいずれかに記載のタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物、
請求項７に記載のタバコ植物増殖材料から増殖させたタバコ植物若しくはその一部、
請求項１５若しくは１６に記載の植物の収穫葉、
請求項１７～１９のいずれかに記載の処理葉
から調製されたタバコ産業製品。
【請求項２３】
可燃性喫煙物品である、請求項２２に記載のタバコ産業製品。
【請求項２４】
無煙タバコ製品である、請求項２２に記載のタバコ産業製品。
【請求項２５】

非可燃性エアロゾル供給システム、例えば、タバコ加熱デバイス又はエアロゾル生成デバイスである、請求項２２に記載のタバコ製品。
【請求項２６】
請求項６及び８～１０のいずれかに記載の植物若しくはその一部又はその抽出物（例えば、タバコ抽出物）、或いは請求項６及び８～１０のいずれかに記載のタバコ細胞培養物、或いは請求項２０に記載の乾燥タバコ材料、或いは請求項２１に記載のタバコブレンドを含む、可燃性喫煙物品、非可燃性エアロゾル供給システム、無煙タバコ製品、又はタバコ加熱デバイス。
【請求項２７】
アルカロイド含有量が調節された（例えば、低減した）及び／又はＴＳＮＡ若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量が調節された（例えば、低減した）植物を選択するための、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の使用であって、前記ヌクレオチド配列が、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログをコードする、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む、
前記使用。
【請求項２８】
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログをコードする、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む
ヌクレオチド配列中に遺伝的変異を保持する植物の変異体であって、
前記遺伝的変異が、ａ）及び／又はｂ）の活性又は発現を調節し（例えば、減少させ）、
前記変異体植物が、前記遺伝的変異を保持しない比較できる植物と比較して、調節された（例えば、減少した）アルカロイド含有量及び／又は調節されたＴＳＮＡ若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量を有する、前記変異体。
【請求項２９】
請求項２８に記載の遺伝的変異を保持する変異体植物の後代又は種子。
【請求項３０】
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログをコードする、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む
ヌクレオチド配列中に改変を含む植物から生成された収穫葉、処理葉、又は乾燥タバコ材料であって、
前記改変が、前記アミノ酸配列又は前記核酸配列によってコードされるアミノ酸配列の活性又は発現を調節し（例えば、減少させ）、前記植物が、ポリペプチド中の前記改変を保持しない比較できる植物と比較して、調節された（例えば、減少した）アルカロイド含有量及び／又は調節されたＴＳＮＡ若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量を有する、
前記収穫葉、処理葉、又は乾燥タバコ材料。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】

本発明は、植物若しくはその一部又は細胞又は細胞培養物のアルカロイド含有量を調節する方法に関する。本発明はまた、植物内のアルカロイド含有量を調節するポリペプチドの発現及び／又は活性を調節する方法に及ぶ。或いは、本発明は、植物内のアルカロイド含有量を調節するポリペプチドをコードする遺伝子の発現及び／又は活性を調節する方法を提供する。本発明はまた、ポリペプチドを調節するために使用できるコンストラクトに及ぶ。本発明はさらに、アルカロイド含有量の調節を達成するように改変された植物細胞及び植物に関する。本発明はまた、このような調節された植物から処理され、収穫葉及び可燃性喫煙物品を含むタバコ産業製品におけるその使用に関する。

【背景技術】

【０００２】

アルカロイドは、主に塩基性窒素原子を含有し、細菌、真菌、植物及び動物を含む多種多様な生物によって産生される、天然に存在する化合物の群である。

【０００３】

アルカロイドは、炭素骨格の類似性に従い、例えば、インドール様、イソキノリン様及びピリジン様に分類できる。ピリジン誘導体は、単量体アルカロイドの１つのクラスであり、このクラスは、ピリジンの簡単な誘導体、多環縮合及び非縮合ピリジン誘導体及びセスキテルペンピリジン誘導体を含む。例として、ニコチン、ノルニコチン、シュードオキシニコチン、アナバシン、ミオスミン（myosmine）及びアナタビンがある。

【０００４】

アルカロイドの既知の生物学的機能のほとんどは、防御に関連する。向神経活性分子、例えば、カフェイン、コカイン、モルヒネ及びニコチンは、侵入する捕食者に対する防御化合物として作用する。これらのアルカロイドの蓄積は、遺伝子発現、酵素活性及びアルカロイド濃度をモニタリングするシグナル伝達カスケードの結果である。植物中のアルカロイド含有量の微調整には、ネガティブフィードバックループ及び分解経路が含まれる。

【０００５】

ニコチンは、数種類の植物では天然に生じるが、タバコ植物において最高レベルで見られる。栽培タバコは、総乾燥重量の２～４％のアルカロイドを産生する。ニコチンは、野生及び栽培されたタバコ属（Nicotiana）の種において産生され、草食動物及び昆虫に対する植物防御において重要な役割を果たす（参照により本明細書に組み込まれる、Voelckel et al. (2001) Oecologia 127(2): 274-280）。ニコチンは総アルカロイド含有量の約９０％を占める。アルカロイドプールの残りの１０％は、大部分は構造的に関連する化合物ノルニコチン、アナタビン、アナバシン及びシュードオキシニコチン（ＰＯＮ，pseudooxynicotine）によって構成される。

【０００６】

タバコにおけるアルカロイド含有量の調節は複雑である。遺伝子型、環境、施肥及び農業的慣行（例えば、摘花（topping））を含むいくつかの因子は、タバコ植物におけるアルカロイドレベルに影響を及ぼす。ニコチン生合成のいくつかの重要な調節因子は、十分に特徴付けられており、例えば、この経路において極めて重要な役割を果たすプトレシンＮ－メチルトランスフェラーゼ（ＰＭＴ，putrescine N-methyltransferase）は、エチレン応答性因子（ＥＲＦ，ethylene responsive factor）スーパーファミリー、タバコゲノム中の最大の転写因子ファミリーのメンバーによって活性化される（参照により本明細書に組み込まれるRushton et al. (2008) Plant Physiol. 147(1): 280-295）。

【０００７】

タバコピリジンアルカロイドは、採取後の葉の乾燥（curing）の間に形成されるタバコ特異的ニトロソアミン（ＴＳＮＡ，tobacco-specific nitrosamine）の前駆体である。乾燥タバコ葉に見られる４種の主要なＴＳＮＡとして、Ｎ’－ニトロソノルニコチン（ＮＮＮ，N'-nitrosonornicotine）、Ｎ’ニトロソアナタビン（ＮＡＴ，N'nitrosoanatabine）、Ｎ’－ニトロソアナバシン（ＮＡＢ，N'-nitrosoanabasine）及び４－（メチルニトロソアミノ）－１－（３－ピリジル）－１－ブタノン（ＮＮＫ，4-(methy

l nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone）がある。採取後の葉の乾燥の間に、ピリジンアルカロイドとニトロソ化種の間の反応は、ＴＳＮＡの形成につながる。ＰＯＮは、ＴＳＮＡ　ＮＮＫの合成において直接前駆体として機能する可能性が高い（参照によって本明細書に組み込まれる、Bush et al., 2001）。ＴＳＮＡの産生及び蓄積の低減は、極めて重要である。ニコチンデメチラーゼ遺伝子のＣＹＰ８２Ｅファミリーは、ニコチンのノルニコチンへの変換の主要な調節因子のうちの１つであり、その活性又は蓄積を変更することは、ＮＮＮレベルの減少をもたらす可能性がある。

【０００８】

実施例に記載されるように、本発明者らは、植物においてアルカロイド含有量を調節する、例えば、タバコにおいてＴＳＮＡ含有量を減少させる目的でアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体合成に関与する遺伝子を調査しようとした。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００９】

【非特許文献１】Voelckel et al. (2001) Oecologia 127(2): 274-280

【非特許文献２】Rushton et al. (2008) Plant Physiol. 147(1): 280-295

【非特許文献３】Bush et al., 2001

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１０】

驚くべきことに、本発明によるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質（Myc-type, basic helix-loop-helix protein）の活性又は発現を調節することによって、植物のアルカロイド含有量及び／又はＴＳＮＡ含有量若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量を調節できることがわかった。本明細書において教示される遺伝子（複数可）、例えばＮｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２は、栽培タバコにおけるアルカロイド及びＴＳＮＡ前駆体含有量の調節因子である。特に、本明細書において教示される遺伝子（複数可）、例えばＮｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２は、栽培タバコにおけるアルカロイド含有量の調節因子である。Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２は、本発明によるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする。Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２のホモログを表１中に提供する。

【００１１】

本発明によれば、アルカロイド含有量が調節され、タバコ産業製品の消費者が望む商業的に望ましい形質を有するタバコ産業製品を製造できる。一部の例では、消費者は、低レベルのアルカロイド含有量を有する製品を望む場合がある。一部の例では、消費者は、低レベルのＴＳＮＡ前駆体を有する製品を望む場合がある。

【００１２】

本発明は、植物（タバコ及び他のタバコ属（Nicotiana）の種など）が、タンパク質、ペプチド及び代謝産物の生成のために、例えば、治療薬及び医薬品、例えば、抗生物質、ウイルス様粒子又は栄養補助食品（neutraceuticals）又は小分子の生成のために使用される植物分子農業の分野において特に有用であり得る。タバコは、ＰｈａｒｍＰｌａｎｔと呼ばれるＥＵの出資によるプロジェクトにおいてＨＩＶ中和抗体の開発のために使用されており、またＭｅｄｉｃａｇｏ社、Ｃａｎａｄａは、インフルエンザワクチン製造のためのウイルス様粒子の生成のためのタバコベースのプラットフォームに取り組んできた。

【００１３】

したがって、本発明による植物をニコチン性アルカロイドの存在を低減又は除去するための分子農業のために使用できる。低ニコチン植物又は台木（rootsock）の使用は、分子農業において有益であり、精製と関連する下流処理コストを低減するであろう。

【００１４】

本発明者らは、驚くべきことに、本発明によるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、植物（例えば、タバコ植物）のアルカロイド含有量を調節する（例えば、減少させる）方法を決定した。植物（例えば、タバコ植物）のアルカロイド含有量（例えば、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナバシン、アナタビン又はミオスミンのうち１又は２以上の含有量、適切には、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナバシン又はアナタビンのうち１又は２以上の含有量）は、本発明によるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少させることによって減少させることができる、或いは本発明によるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大させることによって増加させることができる。

【００１５】

本発明の前には、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現の調節を使用して、アルカロイド含有量を調節できる、又はＴＳＮＡ前駆体含有量、特に、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナバシン及び／又はアナタビン含有量を調節できるであろうということは知られていなかった。

【００１６】

一態様では、本発明は、タバコ植物若しくはその一部又はタバコ植物細胞のアルカロイド含有量を調節する（例えば、減少させる）方法であって、ポリペプチドの活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、前記植物又は植物細胞を改変するステップを含み、前記ポリペプチドが、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、

ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、

方法を提供する。

【００１７】

一態様では、本発明は、タバコ植物又はその植物部分又はタバコ植物細胞におけるＴＳＮＡ又はＴＳＮＡの前駆体の含有量を調節する（例えば、減少させる）方法であって、ポリペプチドの活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、前記植物又は植物細胞を改変するステップを含み、前記ポリペプチドが、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、

ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、

方法を提供する。

【００１８】

一態様では、本発明は、アルカロイド含有量が調節された（例えば、減少した）、植物若しくはその一部、細胞、若しくは細胞培養物、植物増殖材料、葉、カットされた収穫葉、処理葉又はカットされた処理葉を生成する方法であって、ポリペプチドの活性又は発現を調節するために、前記植物又は細胞培養物を改変するステップを含み、前記ポリペプチドが、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、

ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
方法を提供する。

【００１９】

一態様では、本発明は、タバコ細胞又はタバコ植物若しくはその一部のアルカロイド含有量を調節するための、ポリペプチドをコードする少なくとも１つの遺伝子の使用であって、前記ポリペプチドが、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、

ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
使用を提供する。

【００２０】

適切には、アルカロイド含有量は、前記ポリペプチドの活性又は発現を調節するように改変されていない植物又は細胞培養物と比較して調節されて（例えば、減少して）いてよい。

【００２１】

一態様では、本発明は、ポリペプチドの活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ように改変されている、タバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物であって、前記ポリペプチドが、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、

ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされ、
タバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物が、未改変の植物又は未改変の細胞若しくは細胞培養物と比較して、減少したアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体の含有量を有する、タバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物を提供する。

【００２２】

一態様において、本発明は、本発明による植物から、或いは、本発明による方法又は使用によって生成された植物又は細胞若しくは細胞培養物から得ることができる（例えば、得られる）、植物増殖材料を提供する。

【００２３】

適切には、植物のアルカロイド含有量は、前記ポリペプチドの活性又は発現を調節するように改変されていない植物又は細胞培養物と比較して減少していてよい。

【００２４】

適切には、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナバシン、ミオスミン、及びアナタビンから選択される１種又は２種以上のアルカロイドの含有量は、調節されて（例えば、減少して）いてもよく、好ましくは、ニコチン、ノルニコチン、及び／又はＰＯＮの含有量は、調節されて（例えば、減少して）いる。

【００２５】

適切には、ニコチン含有量は減少していてよい。

【００２６】
一態様では、本発明は、植物を育種するための、本発明によるタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物、或いは本発明による方法によって生成された植物の使用を提供する。
【００２７】
一態様では、本発明は、製品の製造のための、本発明によるタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞若しくは細胞培養物、或いは本発明による方法によって生成された植物の使用を提供する。
【００２８】
一態様では、本発明は、作物を作るための、本発明によるタバコ植物若しくはその一部の、又は本発明による方法によって生成された植物の使用を提供する。
【００２９】
一態様では、本発明は、葉を生産するための、本発明によるタバコ植物若しくはその一部の、又は本発明による方法によって生成された植物の使用を提供する。
【００３０】
一態様では、本発明は、本発明による植物の、又は本発明による増殖材料から増殖させた植物から得ることができる、又は本発明による使用によって得られた植物から得ることができる、又は本発明による方法によって生成された植物から得ることができる収穫葉を提供する。
【００３１】
適切には、収穫葉は、カットされた収穫葉であり得る。
【００３２】
一態様では、本発明は、
本発明による使用から得ることができる植物から得ることができる（例えば、得られた）、
本発明に従って植物を処理することによって得ることができる（例えば、得られた）、
本発明による植物増殖材料から増殖させた植物から得ることができる（例えば、得られた）、又は
本発明による植物の収穫葉を処理することによって得ることができる（例えば、得られた）、又は
本発明による方法によって生成された植物から得ることができる（例えば、得られた）処理葉、好ましくは、処理されたタバコの葉、好ましくは、生育不能な処理されたタバコの葉を提供する。
【００３３】
適切には、葉は、乾燥させること、発酵させること、低温殺菌すること又はそれらの組合せによって処理され得る。
【００３４】
適切には、処理葉は、カットされた処理葉であり得る。
【００３５】
一態様では、本発明は、本発明による植物若しくはその一部、又は本発明による収穫葉、又は本発明による処理葉から作製された乾燥タバコ材料を提供する。
【００３６】
一態様では、本発明は、本発明による乾燥タバコ材料を含むタバコブレンドを提供する。
【００３７】
一態様では、本発明は、
本発明によるタバコ植物若しくはその一部又はタバコ細胞又は細胞培養物、
本発明によるタバコ植物増殖材料から増殖させたタバコ植物若しくはその一部、
本発明による植物の収穫葉、
本発明による処理葉、

から調製されたタバコ産業製品を提供する。
【００３８】
適切には、タバコ製品は、可燃性喫煙物品であり得る。
【００３９】
適切には、タバコ製品は、無煙のタバコ製品であり得る。
【００４０】
適切には、タバコ製品は、非可燃性エアロゾル供給システム、例えば、タバコ加熱デバイス又はエアロゾル生成デバイスであり得る。
【００４１】
一態様では、本発明は、本発明による植物若しくはその一部若しくはその抽出物（例えば、タバコ抽出物）又は本発明によるタバコ細胞培養、或いは本発明による乾燥タバコ材料、或いは本発明によるタバコブレンドを含む、可燃性喫煙物品、非可燃性エアロゾル供給システム、無煙タバコ製品、又はタバコ加熱デバイスを提供する。
【００４２】
一態様では、本発明は、アルカロイド含有量が調節された（例えば、低減した）及び／又はＴＳＮＡ若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量が調節された（例えば、低減した）植物を選択するための、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の使用であって、前記ヌクレオチド配列が、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログをコードする、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む、前記使用を提供する。
【００４３】
一態様では、本発明は、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログをコードする、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含むヌクレオチド配列中に遺伝的変異を保持する植物の変異体であって、
前記遺伝的変異が、ａ）及び／又はｂ）の活性又は発現を調節し（例えば、減少させ）、変異体植物が、前記遺伝的変異を保持しない比較できる植物と比較して、調節された（例えば、減少した）アルカロイド含有量及び／又は調節されたＴＳＮＡ若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量を有する、変異体を提供する。
【００４４】
一態様では、本発明は、本発明による遺伝的変異を保持する変異体植物の後代又は種子を提供する。
【００４５】
一態様では、本発明は、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログをコードする、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含むヌクレオチド配列中に改変を含む植物から生成された収穫葉、処理葉、又は乾燥タバコ材

料であって、
前記改変が、前記アミノ酸配列又は前記核酸配列によってコードされるアミノ酸配列の活性又は発現を調節し（例えば、減少させ）、前記植物が、前記ポリペプチド中の前記改変を保持しない比較できる植物と比較して、調節された（例えば、減少した）アルカロイド含有量及び／又は調節されたＴＳＮＡ若しくはＴＳＮＡの前駆体の含有量を有する、
収穫葉、処理葉、又は乾燥タバコ材料を提供する。
【００４６】
一態様では、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
少なくとも１つのポリペプチドに加えて、少なくとも１つのＮｉｃ１　ＥＲＦ遺伝子（図５中のもののうちの任意の１種若しくは２種以上など）及び／又は少なくとも１つのＮｉｃ２　ＥＲＦ遺伝子（図６中のもののうちの任意の１種若しくは２種以上など）の活性又は発現が調節される。
【００４７】
適切には、前記少なくとも１つのＮｉｃ１　ＥＲＦ及び／又はＮｉｃ２　ＥＲＦ遺伝子は、その発現及び／又は活性を減少させる変異を含み得る。一態様では、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
少なくとも１つのポリペプチドの調節（例えば、活性及び／又は発現の減少）に加えて、ＥＲＦ１９９（例えば、配列番号３２～３５のうちの少なくとも１つ）の活性が調節される（例えば、減少する）。
【００４８】
一態様では、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
少なくとも１つのポリペプチドの調節（例えば、活性及び／又は発現の減少）に加えて、ＥＲＦ１８９（例えば、配列番号３６～３９のうちの少なくとも１つ）の活性が調節される（例えば、減少する）。
【００４９】
一態様では、
ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２

の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
少なくとも１つのポリペプチドの調節（例えば、活性及び／又は発現の減少）に加えて、ＥＲＦ１９９（例えば、配列番号３２～３５のうちの少なくとも１つ）及びＥＲＦ１８９（例えば、配列番号３６～３９のうちの少なくとも１つ）の活性が調節される（例えば、減少する）。

【００５０】

ＥＲＦ１９９及びＥＲＦ１９９の典型的な配列を図５～６中に提供する（配列番号３２～３９）。その全体で参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１８２３７１０７号も参照されたい。

【図面の簡単な説明】

【００５１】

本発明の実施形態を、添付の図面を参照して、一例として以下に記載する。

【図１】Ｎｉｔａｂ４．５＿００００６１１ｇ００８０．２についてサイレンシングした５週齢のＴＮ９０葉のアルカロイド含有量を示す図である。含有量はコントロールと比較して表されており、一元配置ＡＮＯＶＡ及びTukeyの多重比較事後検定によって分析された３つの生物学的反復を含む。値は平均±ＳＥＭとして示されている。アスタリスクは、Ｐ値が０．００１以下の統計上の有意性を示す。ピリジンアルカロイド：ニコチン、ノルニコチン、アナバシン（ＡＮＡＢ，anabasine）、アナタビン（ＡＮＡＴ，anatabine）、及びシュードオキシニコチン（ＰＯＮ）。

【図２】Ｎｉｔａｂ４．５＿００００６１１ｇ００８０．２（配列番号１）のゲノム配列を示す図である。

【図３】Ｎｉｔａｂ４．５＿００００６１１ｇ００８０．２（配列番号２）のコード配列を示す図である。

【図４】Ｎｉｔａｂ４．５＿００００６１１ｇ００８０．２（配列番号３）のアミノ酸配列を示す図である。

【図５】Ｎｉｃ１　ＥＲＦの表を提供する図である。

【図６】Ｎｉｃ２　ＥＲＦの表を提供する図である。

【図７】～

【図１４】ＥＲＦ１９９（配列番号３２～３５）及びＥＲＦ１８９（配列番号３６～３９）の配列を示す図である。

【図１５－１】～

【図１５－５】実施例１において使用したＴＲＶ１配列、配列番号４０を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【００５２】

本明細書において開示されている一部の配列は、ヌクレオチド配列中に「Ｘ」又は「Ｎ」を含有する。「Ｘ」又は「Ｎ」は、任意のヌクレオチド、又は１若しくは２以上のヌクレオチドの欠失若しくは挿入であり得る。例えば、一部のケースでは、一続きの「Ｘ」又は「Ｎ」が示されている。「Ｘ」又は「Ｎ」の数は、その位置にあるヌクレオチドの実際の数と必ずしも相関しない。配列中で「Ｘ」又は「Ｎ」として示されているものより多くの又は少ないヌクレオチドが存在し得る。

【００５３】

Ｎｉｔａｂ４．５＿００００６１１ｇ００８０．２は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックス（ｂＨＬＨ，basic helix-loop-helix）タンパク質の遺伝子をコードするとして特徴付けられている。

【００５４】

このタンパク質は、ジャスモン酸（ＪＡ，jasmonate）シグナル伝達経路に関与している転写因子のＭＹＣ２／（ｂＨＬＨ）ファミリーに属する。この経路は、草食動物又は真菌病原体などの非生物的ストレス及び生物的ストレスに応答して、いくつかの異なる代

謝プロセスの発現を調節する。これらの調節されるプロセスのうちの１つが、アルカロイド合成経路である。

【００５５】

アルカロイドは、植物種において広く見られる窒素含有の二次代謝物である。タバコ植物（ニコチアナ・タバカムＬ．（Nicotiana tabacum L.））では、ニコチン、ノルニコチン、アナタビン、アナバシン、及びシュードオキシニコチンなどのピリジンアルカロイドは、タバコの感覚受容的及び薬理学的な特性に寄与し、タバコ特異的ニトロソアミン（ＴＳＮＡ）の前駆体である。

【００５６】

ＪＡは、２つの異なる転写因子、すなわち、ＮＩＣ２座位のエチレン応答性因子（ＥＲＦ）及びＭＹＣ２／ｂＨＬＨを通じて、アルカロイド合成に関与するいくつかの遺伝子の発現を調節する。ＪＡ又はＪＡ－Ｉｌｅなどのその活性誘導体の非存在下では、ＭＹＣ２／ｂＨＬＨはＪＡＺタンパク質と結合しており、これは、ＭＹＣ２／ｂＨＬＨ因子がアルカロイド生合成遺伝子の転写又はＢ座位ＥＲＦの増強を刺激することを妨げる（Dewey and Xie, 2017）。ＪＡの存在下では、ＪＡＺは、２６Ｓプロテアソーム複合体を介して認識され、分解される。ＪＡＺリプレッサーが分解された後、ＭＹＣ２／ｂＨＬＨ転写因子はアルカロイド生合成遺伝子を活性化する。さらに、ＭＹＣ２／ｂＨＬＨは、ニコチン生合成遺伝子プロモーターと結合するＥＲＦ転写因子の産生をもたらし、転写のさらなる増強を刺激する。

【００５７】

Ｍｙｃ型（ｂＨＬＨ）とＪＡシグナル伝達経路を通じたアルカロイド合成との間の直接の関係性は、アルカロイドレベルを調節し、ＭＹＣ２（ｂＨＬＨ）をコードする遺伝子の発現を変更することができるという仮説を導く。本発明者らは、Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２の発現を低減させることが、ピリジンアルカロイドの有意な低減をもたらすことを初めて実証した（図１）。

【００５８】

本発明者らは、植物（例えば、タバコ植物）又は細胞（例えば、タバコ細胞）における、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、

ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、

本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節することによって、植物（若しくは処理された植物）又は細胞のアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体の含有量を調節できることを、初めて示した。

【００５９】

本発明者らは、Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２のノックアウトがタバコ植物におけるピリジンアルカロイド含有量を低減させることを初めて示した。

【００６０】

本発明は、植物若しくはその一部のアルカロイド含有量を調節する（例えば、減少させる）方法であって、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節すること（例えば、減少させること）によって、前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【００６１】

また、タバコ植物又はその植物の一部においてＴＳＮＡ前駆体の含有量を調節する（例えば、減少させる）方法が提供され、方法は、本明細書において記載される少なくとも１

つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、前記植物を改変するステップを含む。

【００６２】

本発明による少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３で示されるアミノ酸配列、又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、或いは配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログから選択され、或いは、配列番号１若しくは２で示される配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含むポリヌクレオチドによってコードされる。

【００６３】

一実施形態では、配列番号３で示されるアミノ酸配列又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、或いは配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含むポリペプチドをコードする遺伝子、或いは、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含むＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の群から選択される、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも２つの遺伝子が改変される。

【００６４】

一実施形態では、少なくとも３種、例えば、少なくとも４種、例えば、少なくとも５種、例えば、少なくとも６種、例えば、少なくとも７種、例えば、少なくとも８種、例えば、少なくとも９種、例えば、１０種のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質が調節され、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質が、配列番号３で示されるアミノ酸配列又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、或いは配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む。

【００６５】

一態様では、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列で示されるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、或いは、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む。

【００６６】

一態様では、少なくとも１つのさらなる遺伝子の活性又は発現が調節される。適切には、表１から選択される少なくとも２種（又は少なくとも３種若しくは少なくとも４種若しくは少なくとも５種若しくは少なくとも６種若しくは少なくとも７種若しくは少なくとも８種若しくは少なくとも９種）の追加の遺伝子、或いはそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列も調節され得る。

【００６７】

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の「発現」は、転写、翻訳、すなわち、タンパク質発現のレベルを指す場合がある。

【００６８】

遺伝子産物のレベル又は量の測定は、いかなる適切な方法によっても、例えば、改変さ

れた植物と、本発明に従って改変されていない比較できる植物の間のｍＲＮＡ転写物レベル、タンパク質若しくはペプチドレベル及び／又は植物の表現型の比較によって実施できる。

【００６９】

本明細書において定義される「比較できる製品」という用語は、本発明に従って改変されていないが、すべての他の関連特徴（例えば、植物種、成長条件、植物、例えばタバコを処理する方法など）が同一である植物（例えば、タバコ植物）に由来するものであろう。本発明による比較できる製品は、例えば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性又は発現を調節するように、本発明に従って改変されていない植物から得ることができる、又は得られた、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部、例えば、葉（例えば、タバコの葉）、収穫葉（例えば、タバコの収穫葉）、カットされた収穫葉（例えば、カットされたタバコの収穫葉）、処理葉（例えば、タバコの処理葉）又は植物増殖材料（例えば、タバコ植物増殖材料）又は前記植物若しくはその一部（part therefore）を含む製品、例えば、タバコ産業製品又はそれらの組合せを意味し得る。一実施形態では、比較できる製品は、その活性又は発現が調節されているＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子を含まないものである。

【００７０】

「改変する」又は「改変された」という用語は、本明細書で使用される場合、変更された、若しくは変化した植物（例えば、タバコ植物）又は核酸配列を意味する。本発明は、植物の遺伝子改変又は植物の非遺伝子改変のための技術を使用する植物の改変を含む。このような方法は、当技術分野で周知であり、遺伝子改変技術の例として、形質転換、トランスジェニック、シスジェニック及び遺伝子編集方法が挙げられる。非遺伝子改変技術の例として、高速中性子突然変異誘発、化学的突然変異誘発、例えば、メタンスルホン酸エチル（ＥＭＳ）突然変異誘発及び最新の集団分析アプローチが挙げられる。

【００７１】

一実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする改変遺伝子を有する天然バリアントが選択され、その形質又は遺伝子が、商業的に望ましい形質を有し得る第２の植物に育種される。

【００７２】

一実施形態では、本発明による植物は、トランスジェニック植物である。一実施形態では、本発明による植物は、非トランスジェニック植物である。

【００７３】

本明細書において定義される「未改変植物」という用語は、例えば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節するように、又はＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の核酸配列を改変するように、本発明に従って改変されていない、すべての他の関連特徴（例えば、植物種、成長条件、タバコを処理する方法など）が同一である植物（例えば、タバコ植物）であろう。一実施形態では、未改変植物は、その活性又は発現が調製されているＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子を含まないものである。一実施形態では、未改変植物は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子をコードする改変された核酸配列を含まないものである。

【００７４】

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質

「Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質」とは、本明細書で使用される場合、ｂＨＬＨタンパク質のＭＹＣ群に属する配列特異的ＤＮＡ結合タンパク質を指す。Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックス構造モチーフを含む。

【００７５】

タバコ由来の本発明によるタンパク質の例示的な配列を配列番号３に示す。

【００７６】

本発明による使用に適切なタンパク質は、問題のタンパク質のアミノ酸配列を配列番号３のアミノ酸配列と比較することによって同定できる。

【００７７】

タンパク質のアミノ酸配列内のドメインは、当分野で知られているドメイン予測ソフトウェアを使用して同定できる。ドメインはまた、タンパク質データベース、例えば、ＵｎｉｐｒｏｔＫＢにも記載されている。

【００７８】

理論に拘束されることを望まないが、植物細胞における本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の含有量を調節すること、又は植物における本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を調節することは、アルカロイド及びＴＳＮＡ前駆体を産生する代謝経路を変更し、調節されたアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体の含有量をもたらすであろうという仮説が立てられている。

【００７９】

一実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列又はそのホモログを含む。適切には、配列番号３のホモログは、表１中に提供されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む群から選択され得る。

【００８０】

一実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性（好ましくは、それに対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、若しくは少なくとも９９％の同一性）を有する配列を含む。一実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、表１中に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性（好ましくは、それに対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、若しくは少なくとも９９％の同一性）を有する配列を含む。

【００８１】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸を含む、又はそれからなる。一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、表１中に示されるアミノ酸を含む、又はそれからなる。

【００８２】

適切には、タンパク質は、ニコチアナ・タバカム（Nicotiana tabacum）に由来し得る。

【００８３】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、遺伝子（変異前）が、配列番号１として示されるポリヌクレオチド配列、若しくはそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又はそのホモログを含む、ポリヌクレオチド配列によってコードされる。適切には、配列番号１のホモログは、表１中に提供されるポリヌクレオチド配列又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む群から選択され得る。

【００８４】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、配列番号１として示されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性（好ましくは、それに対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、若しくは少なくとも９９％の同一性）を有する配列によってコードされる。一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、表

１中に示されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性（好ましくは、それに対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、若しくは少なくとも９９％の同一性）を有する配列によってコードされる。

【００８５】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、配列番号１として示されるポリヌクレオチド配列を含む、又はそれからなるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、表１中に示されるポリヌクレオチド配列を含む、又はそれからなるポリヌクレオチド配列によってコードされる。

【００８６】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、遺伝子（変異前）が、配列番号２として示されるポリヌクレオチド配列、若しくはそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又はそのホモログを含む、ポリヌクレオチド配列によってコードされる。適切には、配列番号２のホモログは、表１中に提供されるポリヌクレオチド配列又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む群から選択され得る。

【００８７】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、配列番号２として示されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性（好ましくは、それに対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、若しくは少なくとも９９％の同一性）を有する配列によってコードされる。一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、表１中に示されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性（好ましくは、それに対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、若しくは少なくとも９９％の同一性）を有する配列によってコードされる。

【００８８】

一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、配列番号２として示されるポリヌクレオチド配列を含む、又はそれからなるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施形態では、本発明による使用のためのタンパク質は、表１中に示されるポリヌクレオチド配列を含む、又はそれからなるポリヌクレオチド配列によってコードされる。

【表１】

表１．配列番号１、２及び３のホモログ

配列番号	配列
4	>Nitab4.5_0007742g0010.1　Nitab4.5_0007742:10658-11923　94　8e-18 CAGTGGATGCTTCCGAGAACATCCTACCTCTTATTTAACAGATGCAAATGAAATATTTTAAGTTATTAAATTGTTACAACGGTAATTATAAACATAT ATTTAAATCAAAGATAAGATAAAAACGAATATTATGACCGCCATGAATTGATCCCAAAAAACTATTCCCGCTTTCAGTTTGGACCCCAACCTAGCACA AAAAATAATTTGAAGTCACATCGGGCTTAGGATTTTATCTTTGACCAAACGCCACGCGGCGACTCCCCATTTGTTGGAAAGAGTGGACCCACTGTACTA ATGTTTTCTATTTATTTATGTGCTCCCCCTTCTCATATAATGCCACCGGGGCATGCAGTGTCTCCTGCTGCTTACTGCTACACTAAACAATGGATACAC TGCGCTGCTATAATGCCAAGCTTTTTTAGCTAATCTTTTTGCACTATTCACAAGGCATCCCTTCAAACCCTAGCTATAGCCCATAACCGCCCCCCCTCTT TTCTCTCTCTTGTCTTCATTTGTAGTAGTAGAGTATATAATTTTTGATATATTCTGTAGACGTTACGTTTCTTCTCTCCCTAGAAAAAACTTGCATG TACGCCAAAAAATGGCTTCAGCTTGCGTAAACAAAATGGGTATGTCGCCGGAGAAGTTTCTAGATTGTTCTCCGGCTGCGAAATACCACCAGTCCTTTGG TTGGCTAAGTCCAAGAATGTCATTCAGTAGGGAGTTTCAGGACGACGTTGTCGGCGACTCTTCCAAGGTTGCTGCCGGAGCAAAGCACACTTCTTCTTC ACCACATATTGAGAAGAAGAGTAGTGTTAAAGATAAGGCAGAGGAATTAGATCCAGAAGTTTCCAAAGATATGGTAGCTGATTTCGAGTTTCGACTTGA AGATCCGGTGACTATGCTGCCAGCCGACGAGCTCTTCTCCGATGGGAAGCTCGTGCCGCTGCATCTCTCCATGGTCCGTCCGGCCACCACACTATTTC CGCCGGAGTTAGATCGCCGGATACACCTCAGCTTAGAATGAGAAATGAGATTTTGATTTCGAATGCGGATCCGTACTTGTTCTCTCCTAAGGCGCCGAG GTGTACTACGCGGTGGAGGGAGCTTTTAGGGTTGAAGAAACAGCAGCATCAAAACAACAACGCTAAGCAAGAAACACAGAGAAGCGTCTTCATTACC TAGCAGTACTAGTGCTCATAAAATCCTTGAAAAATTATTTTCATCGCAGCTCTAAATCCTTAAGTGCTTCTTTAGACTCGTCTCTTAACCTTCCGTTGCT GCAAAAAGACTCCGATAACGAGTCCGTTTCAATTTCTTCTAGATTATCACTTTCGTCCTCCTCTTCAGGCCATGACCACGATGATCTTCCTAGGCTTTC CCTCGATTCGGATAAACCAAGCAATTTCTCTCGAAATATAATGACTAATCCTCGCAGGGTACGATTGGTGAAGCATAGGGTATCATCGTCTGAAGCCGC GAGAGTGGGCCGAAGCCCGGTTCGCAGACAACCGGCCGCAGACTCTAGTAGTGCTGTTACAACCCATGCCAGAGGAGTCTCTGTTGATAGTCCTCGCAT GAACTCGTCGGGGAAGATTGTATTCCACAGCCTAGAGAGAAGCTCAAGCAGTCCCAGCACCTTTAATGGTGGGCCTAGGTATAAGCACAGAGGAATGGA GAGATCTTATTCAGCTAATGTCCGTGTTACTCCTGTTCTCAATGTTCCAGTTTGTTCCTTAAGAGGGTCTTCAAAATTTGGATTTCCTTTGTTTTCTTC TTCATCCTCATCATCCCAACAGAAGAAGAAGGCACAAGTTCTAATTCCTATAACATCAGGTCCAGAACAGATCGCATTAAGGAATGAGTTCCGTTAGA TTTTTGAGGGTAGTGTTATGGGTATTTTCTTGATTTTTCTGATTCGACAGGCTTAGAAAATTATGTAAATATGTTCTTTCTTCCTTTTGTTTTGCTA ACTCTGATGGTGAAAGCAGCTAATGTTTTTGAAAATTTCAACTTTTTGTGGGCATTGAATCTGAGTAGTACTTTGATAATATATCTTCTTGTACCTG AAAG
5	>b2d74410-9798-4073-ad56-a08cf3a6e68a （配列：exon） 1266 個の残基[Nitab4.5_0007742:10658-11923 -鎖] [cds]ATGGCTTCAGCTTGCGTAAACAAAATGGGTATGTCGCCGGAGAAGTTTCTAGATTGTTCTCCGGCTGCGAAATACCACCAGTCCTTTGGTTGGC TAAGTCCAAGAATGTCATTCAGTAGGGAGTTTCAGGACGACGTTGTCGGCGACTCTTCCAAGGTTGCTGCCGGAGCAAAGCACACTTCTTCTTCACCAC ATATTGAGAAGAAGAGTAGTGTTAAAGATAAGGCAGAGGAATTAGATCCAGAAGTTTCCAAAGATATGGTAGCTGATTTCGAGTTTCGACTTGAAGATC CGGTGACTATGCTGCCAGCCGACGAGCTCTTCTCCGATGGGAAGCTCGTGCCGCTGCATCTCTCCATGGTCCGTCCGGCCACCACACTATTTCCGCCG GAGTTAGATCGCCGGATACACCTCAGCTTAGAATGAGAAATGAGATTTTGATTTCGAATGCGGATCCGTACTTGTTCTCTCCTAAGGCGCCGAGGTGTA CTACGCGGTGGAGGGAGCTTTTAGGGTTGAAGAAACAGCAGCATCAAAACAACAACGCTAAGCAAGAAACACAGAGAAGCGTCTTCATTACCTAGCA GTACTAGTGCTCATAAAATCCTTGAAAAATTATTTTCATCGCAGCTCTAAATCCTTAAGTGCTTCTTTAGACTCGTCTCTTAACCTTCCGTTGCTGCAAA

	AAGACTCCGATAACGAGTCCGTTTCAATTTCTTCTAGATTATCACTTTCGTCCTCCTCTTCAGGCCATGACCACGATGATCTTCCTAGGCTTTCCCTCG ATTCGGATAAACCAAGCAATTTCTCTCGAAATATAATGACTAATCCTCGCAGGGTACGATTGGTGAAGCATAGGGTATCATCGTCTGAAGCCGCGAGAG TGGGCCGAAGCCCGGTTCGCAGACAACCGGCCGCAGACTCTAGTAGTGCTGTTACAACCCATGCCAGAGGAGTCTCTGTTGATAGTCCTCGCATGAACT CGTCGGGGAAGATTGTATTCCACAGCCTAGAGAGAAGCTCAAGCAGTCCCAGCACCTTTAATGGTGGGCCTAGGTATAAGCACACAGAGGAATGGAGAGAT CTTATTCAGCTAATGTCCGTGTTACTCCTGTTCTCAATGTTCCAGTTTGTTCCTTAAGAGGGTCTTCAAAATTTGGATTTCCTTTGTTTCTTCTTCAT CCTCATCATCCCAACAGAAGAAAGAAGGCACAAGTTCTAATTCCTATAACATCAGGTCCAGAACAGATCGCATTAAGGAATGA
6	>b2d74410-9798-4073-ad56-a08cf3a6e68a (配列:exon)421 個の残基[Nitab4.5_0007742:10658-11923 -鎖] [ペプチド] MASACVNKMGMSPEKFLDCSPAAKYHQSFGWLSPRMSFSREFQDDVVGDSSKVAAGAKHTSSSPHIEKKSSVKDKAEELDPEVSKDMVADFEFRLED PVTMLPADELFSDGKLVPLHLSMVRPATTTISAGVRSPDTPQLRMRNEILISNADPYLFSPKAPRCTTRWRELLGLKKQQQHQNNNAKQETQRTSSLPS STSAHKSLKNYFHRSSKSLSASLDSSLNLPLLQKDSDNESVSISSRLSLSSSSSGHDHDDLPRLSLDSDKPSNFSRNIMTNPRRVRLVKHRVSSSEAAR VGRSPVRRQPAADSSSAVTTHARGVSVDSPRMNSSGKIVFHSLERSSSSPSTFNGGPRYKHRGMERSYSANVRVTPVLNVPVCSLRGSSKFGFPLFSSS SSSSQQKKEGTSSNSYNIRSRTDRIKE
7	**>Nitab4.5_0001749g0060.1 Nitab4.5_0001749:477228-478484 94 8e-18** **T**CAAAGTTAAATTAAAAGCAAAGCAGGCGCCAGTGGCCAGTACGCAGCTCAGTGGATGCTTCAGAGAAACATCCTACCTCTTTATTTAGTCAAATATTTT AAGTTACTAAATTGTTACAACGGTAAATACATAGGATTATTTAATAGAATACAGTAGTATGTAATTTATAAACATATATAATTGAATCAAAGATAAGAT AAAAACGAATATTATGACCGCCATGAATTGATCCCAAAAGCTATTCCCGCTTTCAGTTTGGCTTTGCACCCAAAAAACAAAATAAAAAAAATTGAAG TCACGCTTTTTTATCTTTGACCAAACGCCACGCGGCGACTCCCCATTTGTTGGAAAGAGTGGACCCACTGTACTAATGTTTTCTATTTATGTGCTCCCCC TTGTCTGTCATATAATGCCACTGGGGCACAGTCTCCTGCTGCTTACTGTTACACTAAACAATGGAGCGCCACATACACTGCTAGCTACTACTATAATGC TAAGCTTTTTTAGCTAATCTTTTTGCACTATTCACAAGGCATCCTTCAAACCCTAGCTATAGCCTTTAACCACACTCCCTTCTCTCTCTCTAGTATAAT TTTTGGGGTCCTTCGCTTCTATATATTCGGTAGACGTTACGTTTCTTCTCTCTCTAGACTAGAAAAAACTTGCATGTACGCCAAAAATGGCTTCAGC TTGCGTAAACAAAATGGGTATGTCGCCGGAGAAGTTCTAGATTGTTCTCCGGCTGCGAAATACCACCAGTCCTATGGTTGGCTAAGTCCAAGAATGTC ATTCAGTAGGGACTTTCAGGACGACGTTGTCGGCGACTCTTCCAAGGTTGCCGCCGGAGCAAAGCACACTTCTTCACCATCTATTGAGATGAAGAGTAG TGTTAAAGATAAGGCAGAGGAATTAGATCCAGAAGTTTCTAAAGATATGGTAGCTGATTTCGAGTTTCGACTTGAAGATCCGGTGATTATGCTGCCAGC CGACGAGCTCTTCTCCGACGGAAAGCTCGTGGCGCCGCTGCATCTCTCCATGGTCCGCCCGGCCACCACGTCGGCTACTATCTCCGCCGGAGTTAG ATCGCCGGATACACCTCAGCTTCGAATGAGAAATGAGATTTTGATTTCAAATGCGGATCCGTACTTGTTCTCTCCTAAGGCGCCGAGGTGTACTACACG GTGGAGGGAGCTTTTAGGCTTGAAGAAACAGCAGCATCAAAATAACAATGCTAAGCAAGAAACACAGAGAACGTCTCTTCATTACCTAGCAGTAGTGCTCA TAAATCCTTGAAAAATTATTTTCATCGCAGCTCTAAATCATTGAGCGCTTCTTTAGACTCGTCTCTTAACCTTCCGTTGCTGCCGAAAGACTGGGATAA CGAGTCCGTTTCAATTTCTTCTCGATTGTCCCTTTCATCATCTTCGTCAGGCCATGACCACGATGATCTTCCTAGGCTTTCCCTTGATTCGGATAAACC AAACAGTTTCTCTCGAAATGCAATGACGACTAATCCTCGCAGGGTACGATTGGTGAAGCATAGGGTATCATCGTCTGAAGCCACGAGAGTGGGCCGAAG CCCTGTTCGTAGACAACAGGCCGCAGACTCTGCTACTGTTACAACTCATGCCCGAGGAGTCTCTGTTGATAGTCCTCGCATGAACTCGTCGGGGAAGAT TGTATTCCACAGCCTAGAGAGAAGCTCAAGCAGTCCCAGCACCTTTAATGGTGGGCCTAGGTATAAGCACACAGAGGAATGGAGAGATCTTATTCAGCTAA TGTCCGTGTTCACCTGTTCTCAATGTTCCAGTTTGTTCCTTAAGAGGGTTCTTCAAAATTTGGATTTCCTTTGTTTCTTCTTCATCCTCATCCCAACA GAAGAAATTAGAAGGCACTGCTTCTTAATTCCTATAGCAGCAGGTCCAGAAAGGGAATGAGAGTTTTAGGCTTAGAGAAGTTGGTAATCCTTCAACCCCCT TTTTCCGTTACATTTTTTAGGGTTGTGTTGTGGCTATTTTCTTGTTTTTTCTGATTCGACAGGCTTAAAAAATTATGTAAATATGTTCTTTATCCTTTT

10

20

30

40

50

	TGTTTTTCCTAACTCTGATGGTGAAAGCTAATGTTTTTTGAAATTTTTCAACTTTTTGTGGGCATTGAATTCTTTATTAGTAGTAGTAGTACTT TGATGTATTTTTCTTTGTACCTGAAAGCTATGGAATCTCTCTGATACTTTTTTAAGCTTTTCTCCCTTGTTTAAATGATGACATGATGTTTGC TAGTGTGTTTTGAAAGCCACGCGCCTTGTGTGGCTGTGGGTGATGCTTTTAAGGGCTGTAGCAGTTTTCAGGGCAGAAAGGAGGAGGTAACGTGACATG CATTGGCATCTTTCTCTGCCCCTTTCCATAATGCTTTACTGGAAATAAAATAGTGATATTCATTTTTTTCGTTACTACTTCAATTATTGCATTTTTATTAC TTTCTAATGGCGAAATGACGACAAGTTTTTTGAATACACACTGAGGAACTGCCAGGCCAGCTTTGCTGATCAATCTGCTTTTTGCACGACAGTCT GATGTCTACTACACCTTAAGAGCTTCTATGGATGTGAATTTCTTTTTTGATCTGTTTTTATAAAGCAGAGCAAAATATTTTAAGTGTGTGAA AACACAAGTATTATATAACGGAAAATAACAACAGCCCAAGCTTCAATATAATTGGTTTTTAATTTTATAGACTTATTGTTTAAAGAAGTTCTACAGGTCAGG TGGCTTACAAGCAAAACAATATTTAACCTGAAAACAAAGTAATTTGTTT
8	a1618ec7-2e62-4951-95fc-e80d97742e95 （配列:exon） 1257 個の残基[Nitab4.5_0001749:477228-478484 +鎖] [cds]ATGGCTTCAGCTTGCGTAAACAAAATGGGTATGTCGCCGGAGAAGTTTCTAGATTGTTCTCCGGCTGCGAAATACCACCAGTCCTATGGTTGGC TAAGTCCAAGAATGTCATTCAGTAGGGACTTTCAGGACGACGTTGTCGGCGACTCTTCCAAGGTTGCCGCCGGAGCAAAGCACACTTCTTCACCATCTA TTGAGATGAAGAGTAGTGTTAAAGATAAGGCAGAGGAATTAGATCCAGAAGTTTCTAAAGATATGGTAGCTGATTTCGAGTTTCGACTTGAAGATCCGG TGATTATGCTGCCAGCCGACGAGCTCTTCTCCGACGGAAAGCTCGTGGCGCCGCTGCATCTCTCCATGGTCCGCCCGGCCACCACCAGTCGGCTACTA TCTCCGCCGGAGTTAGATCGCCGGATACACCTCAGCTTCGAATGAGAAATGAGATTTTGATTTCAAATGCGGATCCGTACTTGTTCTCCTAAGGCGC CGAGGTGTACTACACGGTGGAGGGAGCTTTTAGGCTTGAAGAAACAGCAGCATCAAAATAACAATGCTAAGCAAGAAACACAGAGAACGTCTTCATTAC CTAGCAGTAGTGCTCATAAAATCCTTGAAAAATTATTTTCATCGCAGCTCTAAATCATTGAGCGCTTCTTTAGACTCGTCTCTTAACCTTCCGTTGCTGC CGAAAGACTGGGATAACGAGTCCGTTTCAATTTCTTCTCGATTGTCCCTTTCATCATCTTCGTCAGGCCATGACCACGATGATCTTCCTAGGCTTTCCC TTGATTCGGATAAACCAAACAGTTTCTCTCGAAATGCAATGACGACTAATCCTCGCAGGGTACGATTGGTGAAGCATAGGTTATCATCGTCTGAAGCCA CGAGAGTGGGCCGAAGCCCTGTTCGTAGACAACAGGCCGCAGACTCTGCTACTGTTACAACTCATGCCCGAGGAGTCTCTGTTGATAGTCCTCGCATGA ACTCGTCGGGGAAGATTGTATTCCACAGCCTAGAGAGAAGCTCAAGCAGTCCCAGCACCTTTAATGGTGGGCCTAGGTATAAGCACAGAGGAATGGAGA GATCTTATTCAGCTAATGTCCGTGTTACACCTGTTCTCAATGTTCCAGTTTGTTCTTTAAGAGGTTCTTCAAAATTTGGATTTCCTTTGTTTCTTCTT CATCCTCATCCCAACAGAAGAAATTAGAAGGCACTGCTTCTAATTCCTATAGCAGCAGGTCCAGAAAGGAATGA
9	>a1618ec7-2e62-4951-95fc-e80d97742e95(配列:exon)418 個の残基[Nitab4.5_0001749:477228-478484 +鎖][ペプチド] MASACVNKMGMSPEKFLDCSPAAKYHQSYGWLSPRMSFSRDFQDDVVGDSSKVAAGAKHTSSPSIEMKSSVKDKAEELDPEVSKDMVADFEFRLEDP VIMLPADELFSDGKLVAPLHLSMVRPATTTSATISAGVRSPDTPQLRMRNEILISNADPYLFSPKAPRCTTRWRELLGLKKQQHQNNNAKQETQRTSSL PSSSAHKSLKNYFHRSSKSLSASLDSSLNLPLLPKDWDNESVSISSRLSLSSSSSGHDHDDLPRLSLDSDKPNSFSRNAMTTNPRRVRVLVKHRVSSSEA TRVGRSPVRRQQAADSATVTTHARGVSVDSPRMNSSGKIVFHSLERSSSSPSTFNGGPRYKKHRGMERSYSANVRVTPVLNVPVCSLRGSSKFGFPLFSS SSSSQQKKLEGTASNSYSSRSRKE
10	**>Nitab4.5_0000736g0030.1 Nitab4.5_0000736:234309-237205 44 0.007** **A**TGGGTTTAATTCCACCAGAACTGAGTTTGGATTGTAGACCCAAAACTTACATTCCCCACACGATTATTGAATTTCTTCAAGAAGTTTCGACGATGGAT AATAGCGTGTACGAGAAAACGTTGAAGATTGAAGATTACGTGAAAAGACTTGAAGATGAAATGAAGAAAATTGATTCTTTCAAACGCGAGCTCCCCCTT TGTTTGCTTCTTGTTAATGATGGTAATTTTCCCCCTTTTGTGTTACTTATTCTGAGCTTGGTGGGGTTCTCTCTCAATTTATCTATCTGTATTTCATAGT TCCAAACTTGGGTAAACAAGGAGCGTTAACGAGCAGTGTTAGATATAGTTTAACTGTTATAATACTTTCGAGTATATTGAAGAAAATTGATTTAGAGTA

10

20

30

40

50

11	>555078a7-ffd0-4208-bc12-9b685349b169 （配列:mRNA） 1248 個の残基[Nitab4.5_0000736:234309-237205 -鎖] [cds]ATGGGTTTAATTCCACCAGAACTGAGTTTGGATTGTAGACCCCAAAACTTACATTCCCCACACGATTATTGATTTCTTCAAGAAGTTTCGACGA TGGATAATAGCGTGTACGAGAAAACGTTGAAGATTACGTGAAAAGACTTGAAGATGAAATTGATTCTTTCAAACGCGAGCTCC CCCTTTGTTTGCTTCTTGTTAATGATGCGATTATGGCTTTGAGAGAAGAATCTACACAGTATAAGAAAAAATGAGTTGGATGAGCTCTGTGCAGCTCT TACCATTGAAGAAGATTTCCCTTAAAGATGATAAAGTTGAAATGAACAAAGATAATGATAGTAGAGAAAAAATGAGTTGGATGAGCTCTGTGCAGCTCT GGGACAGTGATCCTCAAAACCCAAATACTGATATTCATAACAGTAAAAAAAGTTCTAAATCCGAGCCAAAGAAGATACCCCCCCAAGGAGGAGATAACT CAGGATCATATGATCCATTTCAATCTTGTAAATCCAGGAATATGGGAAAGGCATTTTCCCCTTTCAATGGGTATTCTGGATTCCGTGAAAGTGGATC GGAAAGAAGATAAAGATGATCTACCAGGATTGACACTTCCTACTCCTGGAATAAAAAATCTCGAGGATTCAATGATCAATGGCTTGTCTTCAAAACCCC GTGATAACAGTGTCACTTCATCTATTATAGTAAGTTATCGGTCAAATATACACATAACATCACAGCTTCAGCAGCAGCAGACTGCTAGAAAGCAAA GGAGATGCTGGTCACCTGAGTTACATAGGCGATTTATTGACGCACTCAAGCAACTTGGGGGTTCACAAGAGCTTATGCAAGTGGATGGCTTAACCAATG

	ATGAAGTGAAGAGTCATTTGCAAAAGTATCGACTTCATATACGAAAACTTTCCGATACACAGACCCCATCAACGAGTGAATCTGTTGTATTGGGAACA TATGGTTGCCTCAAGACCAATATGGTGAATCCTCAAAGCATAGCAGTTCTCAGTCTGGTTCTCCTCATTGTCCCCTTCAGTTAGGGGGTAGCTCTCGAG GTACTTCCATGACTCTGGGAGATAGCATGGAAGAGGAAGATGATGAAAGATCTGAGAGTCACAGCTGGAAAGTTCAAATGTCTAAGAAAAATCGATGTAC AGATGTCCACCATGAATTTTGAAGATAAAAGTATACATGGGGATGAATTGATCACTATAAAAATGA
12	>550078a7-ffd0-4208-bc12-9b685349b169(配列:mRNA)415 個の残基[Nitab4.5_0000736:234309-237205 -鎖][ペプチド]MGLIPPELSLDCRPKTYIPHTIIEFLQEVSTMDNSVYEKTLKIEDYVKRLEDEMKKIDSFKRELPLCLLLVNDAIMALREESTQYKKPIVKPVFEESIPLKKISLKDDKVEMNKDNDSREKMSWMSSVQLWDSDPQNPNTDIHNSKKSKSEPKKIPPQGGDNSGSYDPFQSCKSRNMGKAFSPFNGYSGFPVKVDRKEDKDDLPGILTLPTPGIKNLEDSMINGLSSKPRDNSVTSSIIVSYRSNIHITSQLQQQQQTARKQRRCWSPELHRRFIDAIKQLGGSQELMQVDGLTNDEVKSHLQKYRLHIRKLSDTQTPSTSESVVLGNIWLPQDQYGESSKHSSSQSGSPHCPLQLGGSSRGTSMTLGDSMEEDDERSESHSWKVQMSKKIDVQMSTMNFEDKSIHGDELITIK
13	**>Nitab4.5_0000234g0040.1 Nitab4.5_0000234:87476-135170 44 0.007** **A**TGGCCGAGGAGATGAAAATGGAGACCCCCTTTAACCAACATTTCAAGGGAAAGAACATCAACGAACTCGATGTTAGGCAACCGAAGGTTTGCTAAAGC TATTTGATGTGAAGAGGGCTAAAATTGAAGAAAGAAAGAAACAACTGAATCAACAACTAGTAGATGAGGGTGTTGAAAGTCAAAGCAGTGCTATAGGGC TTGGAGAATCAGAAGGTAACGCTAATGATGATGGAGAGAAGAATGATGGGCATCCTAAGGACCTTGATTGAGCATGCAATACGTTTATTTCCCTATCTT TATCATTTTATCTTATAGTCGATCCTAACTTGTTAGGATTGAGACATAGTTGTTGTATCGTCGTTTTAGTTGTTGTCGTCATTGTCA TTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTCATTA TCATTGTTGTTGTCGTTGCTATTTTTCTTGTCATTTCATTGTTGTTGTCATTGCTAAAGTTGTTGTTTTTGATTTTGTTGTTGTCTTGTTATTGG CAACTTTTAATTGCTTATTGTTTATCCATTTATATTATCGTTATCATTTTAATGATATATGAAGGTTATTCTATTAAGATTCAGTCAACCTAGTTATAT GTATAAAATTTTAGATTTTACTGGTCAAACCTATTTGTGTAACAAAAAAGTATACCAATCTCATCCGATCTAAAGAATATCATTAATTAATCAATAAATA ACTATTTCCCTTACTTCGACTGAATAAAGTCATTAGTTGTTCTAGAAAGTACAAATCTCCCATTAACCGAGTGAGCATTTATTGAAGAAGGATAATATG GTGAACGAGGCAAACCCGAAAATAAATCTCTGATACCACTGTTTTGTCGAGGAAGAGGCAAATCATAAAATAAAGAAGATAAAGAACACCAAATTTTTAA TATGAAAACCCTTCAAATCGAAGGTAAAAACCACGGGATCACACAAAGATCCAAAAAGTTGCACTATAACAATAAGAAGATTATATAAAAGTTCTCCAAATTA TTGTCATGACCCCAATTTTTCTCCGTAGGATGTCGTGATGGCACCTAGTCTCTAAGACTAGGTAAGCCTAACATTCATGCAGAAATAACTGAAATAATG ATTAAAGGCTCAATAACTCAACTACTAATATATAAAGGAAACTCTGCAACTCATATATACAACTTCCCAAAACCCGACGAATACAAGTCACAAGCTCTATA AGATGGTACTGAACATCCCTATACATCAGTGTCTATAAAAGGATAATAAAAATAAAATAGTTTAGATAGAGGGGACTCCGAGGCCTGCGGACGCCGGCA GGTATACCTTGAAGTCTCCGAACTGAGCTCGCCTCACTGGTGTCTGAACTGGTAGGAGGTACCCGGATCTGCACAAAAAGATATGCAGAAGCATAGCAT GAGTACACCACAACGGTACCAAGTAAGTGCCAAGCCTAACCTCGGTAGAGTAGTGACGTGGTCAGGTCCTACTGGAATAAATAAGAAACTGAA CGAGTAATTACAATGTAATAATAATACGATGGAAATGAAACAAGTAAGAAATATTCCAAGATTAACTACACTGAACTAAGATAAATTCATCACG GAAGAAAACAAGGGATGTTATGCCAAGGAAGCAAAAAAACCAAACACAAGTGATGTAATAGAGAAGTATCAACAAGAGTCACTACCGAGGTACCACCTC GTAATCTCAAATCACAAAACAATTCATAATCTTTCCATATATCACCGCGGGAGCCTTGCATTTAGTTTTGAAAATTATTTTTTCCGAAATAGCATCCCG CATTTTAGCCCACCTTATCACACCGCATGGCTTCAAGTAGTTCGCCTACTAGCAACACGCATATCAAGACCACCTTATCTCACTGCATGTGTTTCAACC CCAAAATCTTATACCACCACACATGCGTATCAATATCACACAACGTATCACAAATCGCACCTCAAGTGCCCAATATCACAACTTGCAAAAGAAATCAACAATA ATGGTGTTTTCACAGTAAATAGCCCATGGCTCAACCATAATGTACACAAGAGTCTCAATAGTAGCAACCTGAGGTAAATAACTCAACAAGAATAGTATT TCATAACTTAACATTTTGCCTCAATTGAATCACGACTTTTATAACTCAATACCAATTTTTAACAACAAGATATTCCAAGAATAACAACTTCTAGTAAAG

10

20

30

40

50

TATTCAACGGTTAAATATTGAATATGGAATAAAGAAAACAAGAACTTTAACTAAACATGTAGAGAAATTAACAAGTAAGAGATAAGACAAGTAGAACAT
GTCAAAATAGACTAATGATGACAAATATAAACATGTTAAGATAACTCAATTACGGCATGAAAGAAATCTACAGAGCTGAAATGGGTAAATTTCCATATTT
AGCCCATGTACACACTCATTACCTTGCATATACGGCTTCCACACATCACAATTATCACAAAATAACACCAATCCCCCACAAAGTTAGGCAAGACACTTA
CCTCAAAACACGCTAACTCAATCCACTAGTAAGCTTTTCCCTCGGTTATCTAACTCCGAACTGCTCGAATTTAGTCAAAACAACTGCATACCATAAATA
TAAACTATAGGAAACTATTTCGAACAATAAAGTTACGATTTTTGCAAAGAAACAAAAAGTCAACTCAAAAAGTCAACCCGGGCTCGCGTTTCAGAATCT
GACCAAAATTACAAAATCCGAACACCCATTCGATAACGAGTCCAACCATATAATAATTACTCAAATTCGACCTCAAATCGCCTTTCTAAACTCCAAAAT
TTAGCCTAAGAAGTTTTCACAATATTTCCCCAAATCTTTAACTCAAATTATTTAATTAGATCACGAAAATAACAATAGATTCATAGAATAAAGTCAAAT
CCGGGTTAGAATCACTTACCCGATGAATTTCTTGAAAATCTCTCGAATAATCGCCACAAATCCGAGGTCTCTAGCTCAAAATATGAAAAATAGGTTCA
AACCATCGATTTTGATATTTAACGCTGTTGCCCAGTGATTCCTCTTCGTGATCGCAGAAGTCCCTCGCGTTTGCAAGAACAAAAATGCTGCCCTCAC
GAAATGACCTACGCGAACGCACTCCACAGGTCACGAACGCGGTGAGTAAAACTCCAAAGCTACGCGACCGCGGTCACACTTATGCGATCGCGTAGAGCA
ACGCGTCAGCCTTCCCAGGCCTCCTCTTCCTTCGCCGCGAACGTGGCACCACTCATGCGTTCGCAGAGCTATAACTTCCCAAACTTTGCGATCGCAGTC
CCGTCCTCGCGAACGCGTAGAACAACTTCACACCTGCCAGTCTTAAAGCTTCGCGATCGCGGCCCCCCTTACGCGATCACATAAGAGGAAACCAGACTC
GGAAAACCAGCAATCCCACAAAGCAAAGAATGAAGTCGAACTTGATCCGAATCACTCCTAAGCCCACCGGACCCCGTCTGAACATACCGACACAAGACCTA
AAACACGATACGAACTTAGTCAAGGCCTCAAATCACATCAAACAACATAAAAAAACATGAATCACAATCCAATTCAAGTCTATTGATACTATGAACTTAC
GAATTCCAAAACTAATGCCGATTCATACCAAAAACAATTCCGATTGACTTTAAATTTGCACATAAGTCATAAATGACATGAAAGACCTATTCCAACTTC
CGAAATCAGAATTCAACCTCGATATCAATAAAGTCAACTCCATGTCAATCTTTCCAACCTTCCAAACCTTCAACTTTCTAACTTTGCCAATTCAAGCT
AAAACGACCTACGGACCTCCAAATCGACATTCGGACATGCTCCTCAAGTCTAAAATCGCCATACGGATCTATTGAAACGGTTAAAACTCCATTCCAGAGT
CATCTACAAAAGTAAAAATGCGGTCAACTCTTTCAACTTAAACCTCCAACTTAGGGATATGTGTTCCATTTCACTCCGAACTCACCCGAAACCAAAACC
AAACACCTCGGAAAGTCATATAAACATAATATAACATAGAGGAGGCTATAAAATAGAGGATTAAGGCTAAAATACTCAAAATAACCGGTTGGGTCATTAC
AATTATCTACATAACAAGTGCCAAACAGAGAGCAACAATACCAACACAAGAGCAACAAATCAATTGAAGTAAGAGGAGATGTCACAAAAAATAGAGCTG
TTATTCGGGTCTCTAAATCGGATGCTACGAGCCTCTAAATCCGAGTTGTTGCTCTATTTTTAGATAATGAATGGTGCTTTCTCTTAAAGCCAAAACCAA
CTCTAAATAGGAATAAAAATCGAAATTCAATTTCGAATAGGAATGGGAACCAAACGAGATATAGGATTAGTCCATTGGGCATTTAGCTGGACAACATGGG
CATGGGCCCAACAAACTCCCCCCTCTAGCCAAGGGTCCCAAATATGTCTTCAAGTAGGGGAACTATTGACAAGCTTCATGCCATCCAATTTTTTGCAAAAC
ACATGCTTATCTATGAAGTCCTCAGGGTGATCCATATAAATCTCTTCATCTAAATAACCATGAATAAAAATAGTCTTTACATCCATCTTCTCAATCTCT
AAATCTAGATTCGCGACTAATCCTAGAACCACATGAATTGAAGACATCTTGTTCACAACAGGGGAGAAAATTTCATCAAATTCCAACTCCCTTCTTCTTG
CCAAAACCTTTAACAACTAACCTCGCCTTGTACCTAGGCGCATAGGTATGGTTAGCTTGATTTACTCTGAATATCCATTTGCTTTAATAAAGCTATCTT
ACCTTTCAGCAATTTCACTTACTCATATGTGCCATTCTCATGGAGTGACTTCATCTCATCTTCCATGGCTTCTATCCGATGATATTTGTGAGTATCTTG
CATGGCTTCATTATAACTCTCAGGTTCTTCCATGTCAGTCAAAAGTACATACTCATCAGGAGGATAACACATGGATTTTTGCTTTCCCTTGTAGATCT
TCTAAGAAAGGATTCAGGAGCATTCGAAGTAGTTACGCAGGAATTGGTTACTGATCAACCACAACTTCATCAACTGGAGCATCCATAACATCTACACCA
TGATGATCATTTTGATCTTGATCACTATCTTCATTATTGTATTAGGTTCCTTCATGTGCAATAGGTGCCTTAGCAATAGAAAAAAGTTCAATATCAACT
AAGCTCTCATTACTCTGAGGATATATCTTCTCAGCTTTGTCAATATCGTCAATAGTCTGGTCCTCAAAGAATATTGCATCATGACTTCTAATAAGTTTA
TTGTCAACTGGATCATAAAAAACGATACACACAAACTCATCTTGACCATAATCGATAAAGATGAACTGCTTAGTTTTGACATCACATTTGATCTCTCATCT
TTAGGAACATACATACAAGCTTTACACCCAAAAACTTTCAAGTGATCATAAGAAGCATCTTTGACAAGCCAAACTCTGTCAGGGACGTCAACATCCAAA
GCAACACAACAGGAGACAAATTGATAGCATAAGTAACAGTGTTAAGTGCTTCCGCCCAAAATGTATTTAGCCTATGAAAGAAAGAATCTAACT
CTCTAACTAGAGTTATATTCATCCTATCTACAAACCATTCAATTGAGGTATCTTGGGCGGATTTTGATGACGAATTCCTTGTTCTTTGCAATAGTTATC
AAAGGGACCACAATATTCACCGCTATTTTCAGTGTGAATACATTTTAATTGTTCCCCATCTGTATCTCAGTTAATGCCTGAAATTCTTTAAACGTGCC
AAGTGCTTGATCTTTGGATTTCAAAGGATACACCTAGTGCTCGCGTGAATGATCATCAATGAAGGTCACAAATTAAAGTGCACCACCTTTGACTTTAT

10

20

30

40

50

TTCAAAAGGACCACATGTGATGATCCGATATGTCATTTTTAAGTTTTAGCCTTTATATTCTATATTCTGAGACCTTGAATAGCTCTGTTTAGCCTTCCTCG
ATTTGCATGCACAAACCGTGTCTTTTTCTGGAAACTTTTTTATGTGAAAAATTAAGAAAATGTAAAATTTTACCTTAAAACTCATTTGAGTTTGAATAC
GATCAACGTTTTATGTCAACGGATCCGGATCAGTATTTTGACAATCCCGGTGGGTCCATATCGGGATTTGGACTTGCATATGCTCGGAATCAAATT
CGAAAGTCCCTAACTTAATTTAACGTTATTTGTTGAAAATTAGTAAATTCAAGGCTAAAAGAATTCTTAAGTTTGACCATAGGTTGACTTTGTTACTAC
CGGGTTTGGATTTCGGTTTCAGGACTTGGTATAGATTCATTTCGCTATTTATGACTTGCATACAAAATGTGGTGAAAAACGGAGTTGATTTGACGTGAT
TCGGACATCCGGTTGTTAAATTGAAAGTTCTTAAGTTTTTTTGAAAAATTTCATTCGTTTTGGTATCCGATTCGTAGTTCTAGGTGTTATTTTAGCATTT
TGATTGTGCGGGCGAGTTAGTATGATGTTATTACAGTTGTGTGCATATTTGGTTTGGAGCCCGAGGGCTCGGGTGAGTTTCGGATAGTCTATAGTGTA
ATTTTTGGACTTAGGCAATTGTTGGTTTTAGGGATTCTGGTGTCTGGTGCATTGTGCTTTGCGATTGCGAAGCATTGGGGGGCTTACCCTTCACGAACG
CAACCACACCCTCATGAACGCGAAAGTTTATGGGATCCTGGGGGGAGCTGGTCGGTAACTCTATGCGAACACGAGCTCGGGCTCACGAACGCGAAGTCC
AGGAGGGCAGGCCATCGTGAACGCGAAGGCCACTGGCCGCTGCACTTCGTGATCGCGTTCAGGCCGTTCGCGAATGCGAAGATGGCTTGTCACCCAGT
GACTTAAATGTTCAATAGACGGGGTTTTGCTTCATTTTTCACTATCTTCACATTAGAGCTCAGCCTAGAGGCGATTTTGAAGAAGAATTTTATCCCCAA
TTCGTAGGTTAGTATACTTTAACTTGTTTTCTTCCATTTCCAACAACCCACTGATTTCTAACCCTAATTTATGCTCTTTCATGGTAGAAAATTAGGT
ATTTGGGTATAATTGAGAGTTTTTATAAACTTGAGATTTAGAGCTCAAATTGAGGTTGACTTTTTGTTGAAACTAATCACATAATTCGAAACTTAACTTTATC
GGTAATTGGGTTTTGGTCCGAATCTCAGTTTTTGACAAATCGAGCCTAGGGTTGACTTTTTGTTGGAAAAAATTATAAAGATCTTAACTTTATC
TATTGTAATTGATTTTCCTAGCATTATTTGATGATATTGAGTCAATTTTGGTTAGATTCAATAGGTTTTGGAGGCGAATTTTAGAGGAAAGGCCCCGGTT
GAGATTTGCTTTGCTTGCGTAGCGAGGTAAATGTTGGGTCTAACCTTGATTTGAGAGAATTAGGAACCCTTGAACTATATGTTATGTGAATTACATGTG
TAACAACGTATATTCGTAGGTGACGAGTGTATATACGCAGTCAAAATAATTCTTCCATGCTTTCCCATATTTCATTAATTATCTTATTCCATGTCTTA
ACTGTTACATGCTTTAATTGCTTCTACGTCGTAACTTGTTACTTGTCATTAATTATCCTTGTATTGAAATATTCGTTTCTTCCATGATTCCATGATTA
ATTGCTACTTGTCTTAATTGTCTTACTTGTACACTTTGTACATATTTAGCTTGTCTTGTTGCTTTGTATTAGTTGTGTATTAGTTTGTGATTTGGT
ACCGGGTTTCTTTATTACTTTGCTTTCATATTCCTTTAATCATAGAGATTCTTGTGAATTGAGTTGTTGGATTGATTACACTTATTGTTTATG
GATCGGGTTGCACGCCGCAACGGTTGTGATATGGTGGAATAAGGGAGGATTTGATATTGATATGGTGGGATCGGGTTGCGCGCTGCAACAGATTTTTACA
TGTGATTTGATATTGATATGGTGAAATAAGGAAGGATATTAATATTGATTATGATTATACGGTGGGATCGGGTTGCGCGTCGCAACGGATTATGTGTGT
TGCACTCATTGTTGTGTATTGTTAGCTTTCAGTATTTTCAGATGATATTCTGAGGAAGGATATTTCTGGATTCACTGATTTCGAGGATTGACTTTGCTT
TCATTAGTTAACTGTTTTGCCGTCATTTTCTATTTTCCTTCCTATTATTATCATTATACTGAATACATGATATTATATGTGACCCACCTTAACCTCGT
CACTACTTCGTCGAGGTTAGGCTCGACACTTACAGAGTACATGGGGTCAGTTGTACTCATACTACACTCTGCACTTCTAATGCAGATTTTAGAGTCTAT
CCTAGTGGCGGTCAGTAGATTGCTCGGATTCGGTGCTTGATGGAGACTTGAGGTACAACTGCACGACGTTCGCAGCCCTGAAGTCCCCTTCTACATCAC
TCTAATTGTTTATTTCAATTTCAGATAGTTATGCTTTCATTCGGACTTTTATTTGTAGCACTATAGTCGCTCGTATACTTGTGACACTAGTTCTGGGAT
TGTATCTAGATATCGCTATGATTTTAGTTTACTCACTCTATTTCAGTTTATTCATTTAATTTGAATTATTAAAATGGCTAAAAAAC
TATTCTAATATTGGTTGGCCTAGAAAGTGAAATGTTAGGTGCCATCACGGTCCCGAGGGTGGGAATTGCGGGTCGTGACAAGTTGGTATCAGAGAACTA
GGTTTCCTAGGTCTCACGAGTCACGAGCAAGCTTAGTAGAGTTTGGATGATCGGTACGGAGACATCTATACTTATCTTCTAGAGGCTATGGAGTTTAGG
AAAAATTTCACTTCTTTTCTTCTCTATCGTGCGACTTTATTATATAATTGATGATTAAACCATTCTATTCTTGTTTTTCTCGCAAATGGAGAGAACAAGC
ACAACACTACAGTTGGACAGGAGCCCCCTGTGGCAGCTACTACTAGGGATAGAGGTAGAGGCATAGTCTCAGTCTAGAGCTCGAGCAGAAACAC
CCACAATGGAGCCTCAGATTGATCACGATGAGGAGGTTCCAGCTCAGACTGGACCCGTTAAACCAGCTTAGGTCCCGGAGGGGTTCATAGCCACTCCAG
CACTTCAAGACGCTCTAGTCCGCTTGGTTGGCCTTATGGTGAGTGTGGCCTAGACCGGTGCATTCTCGGTGGCACCAACCATATTTCGATCTAGGGTAG
GAGCACTGTCTCCCACTACTCACACCCCGGAGCAGGAGACTCCCCCAGTATTTGACTCCAGCATCCCAGCCAGTTGGGGTGGTTCAGCCAGTTGTTGCGG
CACAGGCCAGTGATAGGCCCGCTATGTCTTCGGAGGCCTTGTTGAGGTTGGAGAAGTTTACCAAGATCTTCCCTATTCATTTCAGTGGTGCACCTTTTG
AGGACCCACAGGATTATCTGGACCGTTTCCATGAGGTGTTGCGCAACATTAGTATAGTTGAGACCAATGTGGTCGATTTTGCAGTTTTCAGATGATCC

GCCAAGAGATGGTGGAGAGATTATATGTTGACTAGACCAGCTGGTTCGCCTGCACTTACCTAGGATTAGTTTTCACATCTATTTCTAGAGAAGTTCATC
CCTGTCACTCTGAGAGAGGATTACCGCAAGCAGTTTGGGCGTCTTCAGCCGAGTAGTATGACTGTTACCCAGTATGAGACTCGATTTGTGGACCTAACT
TACCACACCATTATCTTGCTCCCTACTGAGAGGGAAAGAGTGGGGAGATTCATTGATGGCTCACTTTCACTATCGGGCTACAGATGGCCAAGGAGACT
GGAGATGATATTACTTTCCAGAGGGCCGTAGAAATTGCTAGACGGGCCGAGATGGTTCGTGGTCAGGAGAGGGGGCCGGTGTCTGATAAGAGGCCTCAT
CATTTCGGTAGACTTAGTGGTGCCTCATCTGGAGGAAGGGGTATTTTTGGTAGAGGCCATCCTCCCTGGCCATTTCAGTCAGCTCTTCAGGCATCTCGC
AGTGTTTCAGGGAGTCGTGGTCCTTATGTATCTCATTCTGGGCAGCCAACCTGCACTGCACCATCAGCTCCTATCAGTGCACCTCCGATCCAGAGCTAT
CACCGTCGTTATGTGTCATGATGATCCAAAATTCAACTAGTCATGATGGCACCTAACCCAGCCAGCTACATAAGCCAATTAACAATAAATGATAAGAGTCAA
AAAATGAAATAACTGAATTTTATACAATTCCTCAAGGANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

CATTTTGTGCAATACCCATTTGGGCTTGAAAAATCCAAATTGGGCAAAACCACACTCTCTGACCGAGAGGTAATTGAGTAATTGAGAGTTGATAGCTA
TAATACACCCCGATCAATAAAACAAGTATTAAGGTTTATATCCCCATTAGGCAAACACCTAGGTGATGCTCATACCTAGGCTTTTTACAAACTTGAAAAA
TAACAAAACCGATTATCTTAGTTTTTATTTCTTAACTTTGCAATCATAGTTTTTAAAAATAGAAAAAGAAACAAAACCAATTTGTGAAAGTGTAAATTAAG
ATAGTTCAAACTCACGTACTAGAATATATACTCCTAACTCCCATATAAACTCCATGTGGATTCGATCCCGACTCTTTGTTGGGTTACTATTATTGCAAT
CGACCGTTTCATATCCTTTTTTTGAGGTGTGATTTGGACGAGATCACCTAGCGTGTGCGTCACCTCAACACCAAACGCATAACATGTATATATTCATACCC
TCAGCACCAAGTTTAGAAGTGTTACTTATCTCGAAAAAGCCGAATCCAATACCGAGCAAGCCAAATAATACTCTGGAAATGCCATCCCCCGCGTACTGA
CTTGCGAACGGATCAAAACAAGCCAAAAGCAACTCAAGAATATCAAATAATGCCAAAAGAAACAAACCAATTCTATAAAGGTGGAATCTTTAATCAAAA
GCCCAAAGTCAACCAAAAAGTGAAACCCGGGCCCTCACCTCGGAATCTGACGAAACACATAAAATTCGACAACCAATTCAATTATAAGTACAACCAATG
TTTCACTCAAATCCGACCCCGAATCGATGTTCAAAACTCAAAAATCCACCTTTATGAAATTTTAGACAAAACCCCCCAAATTTCACTTTGAAATCATTA
ATCAAATGCCAAAACGAAGATGGATTAATGAAATATAACCAAAACCGAATATAGAACACTTACCCCAATCTATGTGATGAAAATCACCTCCCAAAATCGC
CCATATCCGAGCTCCCCAACTCAAAATATGCCCAAATGAACAAACTCTCGATAGTATATTCTCCTGTCAAGTTGTTCTACCTCGTTTCTTATGCCAAAA
GATCCCAAAACTTTCTTTTGATTCCTCTAATGGATTCCTCATGAAAGTTTAGTCAATTTAGGCTTTTGAATCACTCCATTTGACCTTATAATGAAGGAG
ATATGTTGGTTTTTAATATTTGAAAAATAGTGCAGATTTTTAAATACGAATTGAGTGGCAATTGCATAATTAATCTAAACAAAATTCTAGCAACCCAATTC
TTAGTAAAATGACCATAAATTCCGCAGACGATGTCGAAACTTGATGATTCAGTTGCTATGGTTTCAAAATTACGATACAGATATAATGGTTTAGTCAA
AATATGAATCAAAGGCCGTTTGCTCAATATGGTAGCCTTTATGCTCAAATCGATGTCGAAATCGAAAACACAATCACCATACAATCCAAACTTATCCAAAAA
CTCATCAGAATTTAGCCAAACTTGTAGACTTGTCCAAAATCATCATACAAACCTATTGGAATAATTAAAACCCAATTTCGAGTCCGTTTACTCAAAAG
TCAAACCTTGGTCAACTCTTCCAACTTAAAGCTTCTAAAACGAGAATCATTCTTCTAAATCAATCCCGAACCGCTCGAAAATCGAAACCAACCATATAC
GCACGTCTTAATACATAATATGAAGCTACTCAAAGTCTCAAACCACCGAATGGAAAGCTAACGCTCAAAACGACTGGCCGAGTTGTTACATTCTCCCCT
ACTTAAACATATGTTCGTCCTTGAACGTGCCAAGAGTCGTTCTAAATCCATCAAATCGCCATATAACCTCACCATACACATAAACATGGGTGATACCAC
GTCACCCCAATCCATATAAGCCCGACAATACCAGCTAACAGAGGATCCTTACTTCAACCTAAGTCCATAAACCTTAAAACTCAAATCCCCAACATCCGA
AACTCATTATATGACCCGATTATTGTATCTATGCACCGTATAACTCTGAACAAGCTATATCAATCCATAACCATATCTCAAGACATAATCACATAATAT
TCAACATAACTCAAATACTCATAGCAATAACTTTTGACCGCAATAGTTGCTCGATAACTAACCCGACACCAATAACAAACCTCATATCAACAAAAACCT
CGTTCTAAAACCTTCGTACACTGCCGATGATGAAAGAAACATGTAGAAACTCATAACCACTTATCAGATCAACAAATCATGGAGCCCTCTCTCATCCGA
CAAGAACCAAAGCCAAATCCTAAGCCGACTTTCGATATTATTCCTCCATACATACTGTAATCAAATTCGATAGTACCCATTCTAGGTCGAATGACCTCA
TCTCATCAAACACAACCATTCTATTGACATGCCACACCAATACAACCTAAAGCCACAAACCGTGCAATCCATGCACCAATAAGCAACAATTCAAATGTA
ATCAATCATGGAAAATAACTCAAATGAGAGAACCGTCTCGCAAGCTAAACAAGTACCACCACAACGCAATGCTATGAACCTATCACACATAGTAGGACC
AAGACACATGAATCTAACACAAAGGATCATATCCCAATATAGCCCCGCTACAATGTATTACCCATCCAAACATCGGTCCATATGAAATACCTCAAGCCA
CAATGCTCAAAATCAACACAACTACACATAATTCTACATCAAGTACACGAAGTGCATGACCATAACCATGGAGAAGCAATAACATAATATACCACTACCCG
AAAAGAACATTGATAATAGGCTATAATTGCGTGTTTTAGTTGCTTATCGCACTTTAATTTACTGCACTTTAATTGAGTTGAGCTTTAATCGCTAGTGTT
TTGCACTAATTATGTGTTTTATGCCTTGTAGGAGTGATTCCAAGCTATGTAGATTTTATGAGGTGATTTCACGCTATGTTGGAGCTTTGAAGTTTGAGT
AAAAGCCCAATGTCTTAGTTGAGATCGAGTTCAGGGATCAACGGACACTAGTGCATTCAAAGAGAGATGAAGAATCGAGCCGGGCGTCACCCAGGTGCG
CAAGCGCGCACTGGGCACGCATGTGAGGTAGTGTACTATGCAAAATGCGCGACTAAGTGTGCAAGCACATCTCTAGGTGCGCGGCCGCATGTCCCCT
TCCTTAAAGAGTCATATTTCGCGTAGGAGAATGTGTGGTCGTTTAGGCCTGACCCTACTTGGTATATATACATGGAAAAATGGTATTTTTGGGACTTTT
GACACATCTAAGACCTGAGGAGGCTAACGAGAAGTGGGAGAAGCAAGAGCACAAAGATTTCATCATTCAATTCCTAACTCAATACACAAGGGTTTGAATTAT
TTTATGTTTTCCTTTAACTTAAACTTAACGTGATGAATTACTCCATATATATAGAGTAGTTCTCTTTAGTGATTGATGGATTTGGTGTATTGAGAAGT
GATTGTTGATATTAACTCTAGTTTTTATGTATTGAATCGTTTTGGGTATTTTAATTGTTGCATTTATTTTCACATGTTCATGTAATTGAAATAGGCATA
ACTCATGATGTTTTTGCATTATCTTGTTGGTTAAATTCATTGATTCTTCTTAGTAATCGAAAGAGGCTAGTTGAATTATTGTTTAGACCTAGTTAGGAT

10

20

30

40

50

GATAATCGAAAGAGGTTCTCCTAAAGGCCAATCCACTACGAATTCTTGCATATCTTCACCGAGCATAAATTGGTTCATATTATGAGGTTGAGACTTAAT
CGAGAGAGGAGTTTCTACTGCACGTTTGAACTAATAATTGAGTGAATTCGAGAGACTCACTTGAATCCTAGGAGTGAATTAGCTAGAGTTAAATCCCAG
ACAAATATATTACGCCTATCCAATTAACCTCTATTTCTCCCCATTGATATCTCTTCTTACTCATTGTTGCGATTGTCATTAGTCTTTAAACTCTT
AGTTTAAATTTTAGTGTTAATCAAACAAATTTCAATTGTTGATCATCTTGGATAGCGATCAAGCTATAAACTACTATAAAAATACTACTATTTAACTCCAATCCAT
GTGGATACGATATTTTATTATACTGTATTCGACTAGAGAGCATATTTAAGTGTGTGTTTTGCACTTGTCAATTTTGGCGTCGTTGCCAGGGATTGGCAA
TTAATAGTGTTTGAAATAGTTTGAAGTGCTAATTCAGGAATTTTTCTTTTTATTTTTTCTCTTTTTATGTTTGGTGTTACTTGATTGTGCGCAG
GCTACAAGTTAGATTGGTGTATGACTCGATCCTCTGGGAAGGAAGTACTCCCCATACGAACTAGAAATCGAGAAACAACTACGACAGTTGAGGAAGGAAA
TAGATCTTCTCGAGAAATACAGAGAAGGTTGGGCAATCCTCAACCAAGGAAGTTATGGCGGGAGATGAGGATAATGTTGATTTGGCTGCAAAGAGGCAGC
CCAACAAAGAGAAAAAGCTGCACGAGATGCTGAGGAGATAGCTCTTCGAAATGCATAACTTGCCTATGAAGAGGAGAAGGCTCAGAGAATTGCTCAGAA
TCTACCTTTGGGTGCTGACCAATTCATAAATATAGCTCTCGGTGCTGGGCTACCACTGGGTGATTATGTTAGAGCGTTCTACAACCAAGGATTATCAAG
TGTGACACCACTTCCAGTTGAAACTAATAATTTTGAGCTGAAGCAAGGGTTGCTCCCAAACTCTTCAAAATAGCTGCGTTTTCAGAGGAAAGATGAACGA
AGATCCAAAAAATCATTTGATGGACTTCGAGGAGATTATGAACACATTTCAATATAATGGTGTGTCACAAGATTCAATTTACTTAAGGGCATTCCCTTT
CACTCTCAAAGATGATGCAAAGCACTGGCTTCGAATCTTGCCAAAATGGATCGATTAGAACATGGGATGAGGAGTTTGGGAGAGGTTTAAGGAGAT
TTCATCAGCTAAGACAGGCAATTTTAGAAGAGAAATCCATAACTTCTGCCAAAACGAGACTGAAACTGTGTTTGAAGCTTGGGAGAGGTTTAAGGAGAT
AGTGCGAAAGTATCAACATAACAGAATTGAACTCTGGATGCAACTCCAAGATTTTTGGGATGGATTGACACCAGCCTCACGTAGAACATTGAGCAATGC
AGCTGGAGGCCCGTTGATGAAAAAGACTATAGAGGAGATAATCACAATTCTAGATGAGTTATCTGAAGACGCAAATCAGTGGCACTCTAAAATTGCTGA
AAGAAGAATATCAACTGGTATTCACCAAGTTGACACTAACACAACGGTGCAGGTACAACTTGATGCCATGGCCAAAGAAGTAAGGAAGCCGACCTTAGC
TTCGATACATAATGAGTCGCATGCAGCGTGTGACATATGTGGAAGAGGACACCCTCATCATGAGTGTCAAGCCTCAATGGAGGAAGTTAATACTGTTGG
GAATTATAGCTTCAATGCAATGGGTCAGAAGCACCCCGATATTTCATGGAGTTCACCTGGGGGTACTGCAAATGCATGGCAATAAAACAATCCTAGATT
TCAAGGACAAACAGCTCCTGGTTTTGTGAATCAGCCGAGGCCGTAGTTCCAGCCTCAACAGCAAATTCAGTCTAGGTTAGAAGATCTAATGAAGTCCTT
CATTGTCAAGACAGATGAGAGATTAGATGCTCATGGTTCAGCTATCAAAGAACTTGGCACTGGTTTGCGAAATTTGGAGAAGCAAGTGGGACAAATTGC
AACTGTATTGTCTGAGATAATCCCAGGTACTCTACCAGCTAACACTGAAAGAAACCTCAAAGAAACGATAAATGTTGTGACCTTGAGAAGTGGACAAGT
GTTGAAAGATCCCACTCCAGTCCAAAAAGAGGTGGTACATGAAAAAGAAGTTGAGAAGCAGCTGAAAAATGATAAGAAGAATAAAGGTAAGAA
AGGAGTTGAGAAAAAAAAAGGAGGAAATTTTAAGAAGGGGGAATTTAATGAGAGCGAGCATATGCATTGCTTTATATTTTCCCCAAAAGATGTATATAGAG
AAAAGCTAGACAAGCAGTTTGAGAGATTCTTAGAGATGCTGAGACAGGTTAAATGTAACTTGCCATTTACAGAAGTTCTCTCATAAATGCCAGCTTATG
CCAAGTTCTTGAAGGAGATCCTTACAAAGAAAAGGAAAATAGATCGATGAGACATTGGTAGTCAAGCTCACCGAGCAATATAACGCAATCTTGCAAAAG
AAACTCCCACAAAAGTGTAGAAATCCAAGGAGTTCTACTATACCTTGCTTGTCAGGTACTCTTAATTTTGATAAGTCTTTGTGTGATTCTGGTGCCTCA
ATTAATTTAATTCCATTGTCTATTTATAGGAAATTGGAGAAATGAGCTTGGAGAGATAAGGTCTGTGCCAATATCTTTGCAGCTGGTAGACCAAACAACT
ATAATACCCGAGGAGATAGTGGAAGATGTCTTAGTTCGGGTGGATAAGTTTATTCCTGTCGATTTCATAGTGGTGAAGATGGAGGAGAAATAAAGAGGT
CCCCCTTAATTTAGGAAGACCATTCTTAGCGACGGGCAAAGCAATATTAGACATACATGATAGAAAGCTCATGCTTAGAGTAGGTAAGGAGACGATGAC
TTTCGAGATGAATGTGGAGATGGGGTGAGAAAGCAGAAGCCAACTGCGAGTGTAGAGTGGAGAGTAAAAAGCTTGAAAGAGGTAAAGAATGGAGCCCGGCTTTGACT
AAAGACAAGTGTGGGGTGTACCCCAAAAGGCTGAGAAGAAGCTGTCTGCATGGATGTGCGCCTTAGTTCGAAGGTAAAGAATGGAGCCCGGCTTTGACT
CAGACCCCGACTAGACATTCAGGGAAGTTTCTCTACCTTATGCTTTTTAATTGTGTGTCATAGGGACATGCCACACAACTTAAAGTGTAGGGTGTGGGAT
ATTTGTATGTTGTATGTATACTAGTTTTAGTGTAACGACCCGGACGACCGTTTTAAGAATTTAAGTCCCATTCGGAGGAATAAGGTCTTGAGCAACTTC
GTATTATGTGTATTGACTTGCGTGCGTGGTCGATTTCAGTTACCGGATGATTTGGAGTCAAATCGGAAGAAGGATTCTAGTTTTGGAAGCTTAAGGGGT
AAGAGTTGACCGAAATTTGACTTTTGTGTAAACGACTCCAGAATGGGTTTTGGATGATTTCAACAGCTTCGTATGATGATTTTGGACTTAAGCGTGCGT
CCAGATTTGGATTTGGAGGTCCGTAGGGTGATTTGAAGCATTTCGGCAAAAGTTGGAAAAGTTGGAAGAGGTGGAAGAGGTTTGACCAACTATTG

ACTTTGGTGATATCGGGGTTGGAATTCGATTCTGAGAGTTGGAATAGCTCCGTTATGTCATTTGGGACTTGCATGCAGAATTTGACGTCATTCCGGGTT
GATTAGATAGGTTTCGGCACGAGTTTTAGAAATTGGAAGATTTAAAAGTTCACAAGTTCGATTCTTGGTGTGATTCATAATTTCGACGTTATTTGGTGT
GATTTGAGGCCTCGAGTAGGTTTGTGTTGTGGTATGTTCGAACGAGGTCTCGAGTGGCTTGGGTGAGTTTCGGATAGGTTTAGG
TTGTGTTGCGCTTGTTTTTTATGCTTCGTCGTCATTTCTTCAAGCATAAAATGGTACCAAATTAATCAAATAAGCTCCAAATTCAGTTTTTATTAAATC
ATTAGATCCGTATCGTAATTACGGAGCCATAGCAAAAAGAATCGTCCAATTTGGACATCGTATGAGGGAGTTATGCTCATTTCCGTGTTGGAGAGACTG
CTCGTTTTTGGTGTGGTCGCAATTGCGAACATTTCTATCGCAATTGCGATGCCCAGTTCGCAAATTGCAAAATTTTTGTTGCAAATGCGACCTTTTCCAG
CCCTGTTCTTGTTCACAATTGCGAAGGCTTCTTCGCTTTTGCGAGGGTTCGCAAATGCGACCTATGCAGCTTGTTTTCAGCTGTGTAATTCGGGTTTTT
GCTTCATTTTGTGATATTTTTGAACCCTAGGTCCGTGAGTGGGCGATTTTGAGAGAGGAGAATTTTATCTACAATCATTGGGTAAGTGCCCTTGATCAATT
TCTAAGTATACTTCATGATATTTGAGTTTTAACATCAAAATGGTGAGAATCAAAGTGAAAAATTTGGGAAAACTTGAAAACATTTTCAAAAAGAAAAAT
GATGATTTGAGGGACCAAATGGTATTGAAATTTGATAATTTTATATGGTTGAGTTCGTATCGGAATGGGTGTTCGGATTTTGTGAAATTTGTCAGGTT
CCGAGGTGTGGGCCGAGGGTCGACTTTTGGGTTGATTTTTAGTTTTTGATAAAGATTGATGCTTTATGATCCGGAATAGTTTCTTATGAGTTTTATATA
TGATTTGAAGTTATTTTGTCTAGATTTGAGCCGTCCGGAAGTTATTTCACCCGAGAAGTTCATTTTTGAGTATCCGTTGTCTTTCTTTGAGGTAAGTAT
CTTGCCTAACCTTGTGTGGGGGACCTATCCCTTAGGATTTGAGTCTTCTATGCTAATTGTATCTTGTGAAGTCCGTGTACGCGAGTGACGAGTACGTG
CTCCGGCTTATTTGTGGAAAGTTGGCCTTTTAGGGTTCTTAGGTCCTTGTATTCACTGAGTATGAAGTTGTTTTGTAATTGATTTTCTTAAATTAC
TAGTCTCACTTATACCTTCTTTAATTGGAATTAATTGCTTCATGATCCATTCTTATTGCCTATTTGACTCTTATATAACTTAATTGAAGATTTTACCT
CTCATATTGCCATGCTATCTTTCCTAACTACTTATCTTTACTCGAAATTATTATATCTCTTCTGTAATTGTTCATCCTTAATTGAGGTTATGATTAT
CTTTATGCTGCCTATCCTTAATTGAATTTGTAGTATTTCTTTCGTGATTGCTCAACCTTAAAAGAAGTTTAGGTATCCTATATCTTAGTTAACTTATCC
TTATTAGAATTATTGACTCGTGATATCTCCCTTGTTGTTGAACTGTACTTTGTAGGACCGTTGTTACATATTATTTTCTCCCTTGTTGAGTTGTTCTTA
TTATGACTAGCATTCTCTATTGTGGCTATTCCTTGTGAACTAGTTCTTCCATTTCTTTGAGTTCTAGAATTTCTGAGTTGATTTAATTGCCATACTCCA
GTATTATTGTCATTGTTGATGTTGTACTTGTTATTGTGATGCACGAGGTTTCTACCGTGCGGTTGTTATTGTAATGCACGAGGTTTCTGTCGTGCGGTT
GTTATTGTGACGTACGAAGTTTCCGTCTTGTGGTGTTATCGGGTTGCACGAGGTTTTTGCCGTGCTATTGTTACTATTGATATTTGCACATGCGCTGTG
ACAAGATGGGATATATATATATATATATGGGTTGCGCATGTGGAGAGACAAGGTGGGAACATTATTATGAACGTGTGATGAGACAAGGCAGGCATTTAC
TTTACTAATTGCACACGTGGCGAGACAAGGTGGGCTATGTCAGGGATTGATTTGTGGTGACTTGCGATGGCCTGGGAGCATTCTTGTTGTTGATATTTG
TGTAGTGGTGTACTTACCTGTGCGATTTTATCTTGTGGAAAAATTGTGGGAAAACATTTTATGTGCTGTCCATTTTCTCTATACTTACTAGCTGGCATGA
ACTATGTTAGAACACTTGCACACAAGCATACACGCAATTAATCACTCTTATCGGTTAATAGGATGGATCTTGATATTATTGATACACACCCTCG
TCTGGTTCTATTGGCACGTGAGTCATCCGTGCAATTATTGTTTGTAGCGAAGGCAAAGGATGCCAAGTGTTTAGGGTTCACAAATTGGAACCTGTGAAT
TATGAATATTTTGAGGTTCGGTGCCTCATGGTGATTATTGGATAAAACCTGATGTGAAAGCGGTTATTTTCATCTAGTTGATACCTATCCTTCTTTTAG
TTGTGTTCTCCGGGTTTAGACTGTGCCCAACTTACCCTACTGTGTTGTTACTTGTTGTGTTCCTCTGCTAATTGTTGTTTCTATTTCTTATTGCAATTA
CCATATTATCGTTGTCATTATGCAAAGCTTTATAGAGATATCGTATTCCTGTTAGTCATACACTTATACTTGTTCAGGTTATTTAGTCCAGTAGGTGTC
TTGACTATCCCTTGTCACTACTCCACCGAGGTTAGTCTTGATACTTGCTGGGTACCGCTGTGGTGTACTCATACTACACTTTTGCATATTTTTGTGCAG
ATCCAGATATTGCGAAGTCAGTCGATCGTTAGCTAGCTGTTCAGATCTTGTGGTTGAGACTCAAGGTAAACCTGCTGCTGCATTCGCAGGCTTCGGAGT
CACCTTCTAGTTTTTTTGTATTTACACTATCTACTCCTATTTCGGAACAGATGTATTTTGAGGTTTTCTAGCAAACTCTGTAGAGCTTATGACTTGTAC
TACCGGTTTTGGGATTGTAATACTAGTATAGAGAATTCTAAATTTGGAATTGCTAATATTTATTTTGTTATTTTCAGAAGTTGTTAGGCTTA
ACTAGTCCCTAAGACTTAGTGCCATCACGACACCCAACGGAGGGAAATTTGGGTCGTGAAAAGTTGGTATCAGAGCTCTAGGTTCATAGATGCTACGAG
TCATAACCAAATTTAGTAGAGTCTTGCAGATCGGTGCGGAGACATCTGCACTTATCTTCGAGAGGCAACGGAACTATTAGGACAGTTTCACTTCCTTCA
TTCCTATCGTGAAAGTTTAATGATCTCAAAGTTTGAGCTTTTATCATTCCATTCTCTCACAGATGGTGAGGACATGTGTTGCAGTTACCGATGACGCTG
CTCCCGGAGCAAGTGTCGCTAGAGGCAGAGCTAGAGCCTGACGAGGAGAACATGCCACAGCTAGAGCGCTACCAGAGCAGCAGTTGAGGAGCCGCCAAT

10

20

30

40

50

AGCTCTAGTTGGGGGGCGGGTACCGGAGGCGCCTGCCGTTTCTCCCCGGACTTCAGGAGACCTTAGCATAATTCTTGTGCATGTTTGGTACATTGGTTCA
GGCAGGGTTGATTCCGGTTGCACCAACTACTTCACAGACCGGGGGAGGAACTAAGACTTCCGCCGCCCCATACTCTAGAGCAGCGAGTTCGCGTTGGTCA
GGTTCCAGGTGTTATGGCGACACAGCCTATGGTTCCAGTCCCGTGGTTAGGTCACCAGCATCTAAGGAAGAATAACTTAGATCTTTAGAGGTATAA
GAAGTACCACCCTCCTACCTTCAGTGGATTGGCGACAGATGATTCCCATGGTTTCTGGAGGAGTGTCACCGCATTCCTCCGTACTATGGGTATCGTGGA
AATGAGCTGGGTTGCTTTTAATACGTTCCAGCTTAGGGGAGCGGCTTATCAGTGGTGGCGGGCATATGAGTTGGGTAGCCCGGCCAAGCAGCTTCACTT
ACATGGGTTCAATTTTTTGAAATGTTCTTGAGAGAGTTTGTACCTCAGTCCCTTCGGGATGCATGACGCGCGGAGTTTGAGCAGTTGTGCCAGGGCGCT
ATGTCAGTATCAAAGTATGCCATTAGATTTAGTGATTTGGCCAGACATGCACCTTCTTTGGTCACTACAGTTAGAGAGCGTGTCCGCAGATTCATTGAG
GGGCTCAGGCACGATATTTGGTTCAGCATGGCTCTGGAGTTGGAGTCAGATGTTTCATTTCAGCAGGTGATAGGGATCGCTCGCCGATTGAAGAGCATG
TAGGACCAGGAGAAAGTTGACAGGCGGGGCCAGGAGAGAGAGGTCAGGAGAGGACAGGGAGGCTAGGAGGCCTCGTAGGTCGGAGAGATCTACTA
GTCCTTATTTTGGAGGTAGGGTACAGCATGGTAGATGTTTTATTGGTCAGCCAGTTCAGTTTGCACTTCAGGCTTCGCACGGTGTTTCAGGTACTCATG
GGTCTCAGAGTACCCGTACCGCACAGTTCCCATAGCCACGTCAGCAGAGGAGTAGCTTTGAGTGTGGAGATACCAGCCACATAGTGAGAGATTATCCCA
GACTCCGGACAAATGTGTCACAATGGGGTATTCAGGCGAGTAGAGGGCGCCCAAGAGGGGAGGCCCGGCCCGTTGATATGTTTCATATAGTAGGCATG
ACGCCGCTACGCCAGATGATGTCATACAGGTATGCTTTTGATTGTTATAGAGGGGCACCATTCGTATTTTGTTTCGGTTCTGCTTATCGGGGCGAGTT
CCCTTATTTGTTGCTTCATTTATGAGTGAGTTTCATGATTAGTATACTCTGCTTATGTATTTACCATTGTTGGGAGATTCTATGAGTGGTAGCCCGTGTCT
ATCGTTTGTTTTTTATTGATTATTGAGAGTTTACGAGGCTAGAAGTGAATTCTTGTTGTCCATTATGGTAGTTTTGATGTGATTCCTGAGTAATTTGGTT
ACGATTTGTAATTTGGATGTTGTACCAGGGTGAGAGTTTAGTAAGTATTGTGATTTTATTGGCAGAATTGAGTTAGTGGAAGGTTTCAATTGGTATGAT
GTGTATTCGACTTGTTATTCAGAGTTGAGGGTGAAACCCTCGTGATTCCATGTGATTTGATATGTTTGAGCCGGGCTGCCGCGCTGGAAGTTATA
TCAGGATGAGATCCTTGTGATTTGTTCATATACTTTAATTTTTCCTTTTAAATTGATTCGTAGGATGGTACTAATTGAGATGGTGAAAATGTT
TTTGATATTTCTCTTATGCATTTCTCCTTACATGTTCAGTCATTTTCATTTTGTGCTTCCTGAGTTTTAGCTTGCGGGGCGTGTGCCCGGAGGTGTTAG
TTGTGACTTGTTGATCCGGGCGTATAGTTATGAGGTATTCGTGTTTCTTACATCATTGTCAGCGTTGTGGAAGTTTGAAACAGGGTTCTAATGGATATG
AGGCTAATTGTCGATGCTGGATTTGATTACGGGCAGCTATTGTGATCAAAACTGTTATTATGGGCCTATGTGTGATGTGGTTGTACT
CTATGGATGTAGGAATAAGTGGTTGCAGCTAGTTGAGACTGATATCGGGAGTGGATTTAAAATCGGGTCTTTTGAAGACGAACGGATGGTGGAAATGTT
GACTCTAAGGCTTATTGATGTTGGTGGAAGGGATAAATTACAGTTGAGATGGTGTCGTCAGGCTTATGTGGGTTGACGTGGGGTCACCCGCGGG
TGTATGTTGGATGTGTGCATTATGTGATTTGACGGCATCGAGGCAATTCTTGGCACGTTCGAGGACGAACGTTTGCTTAAGAGAGGGAGGATGTAAAGA
CCCGTCCAATACTTTTGAGAATTTAAGTCTCGTTCGGTGGCATAAGGTCTTGAACAGCTTTGTATTATGTGTATTGACTTGCGTGCATGGTCGAGTTCA
GTTACTGGATGATTCGGAGTCAAATCGGAAGAAGGATTCTAGTTTTGGAAACTTAAGCGGTAAGAGTTGACCGGAATTTGGCTTTTGTGTAAACGGCTC
TGGAATGAGTTTTGGATGATTTCAACAGTTTCGTATGGTGATTTTGGACTTAGGCGTGCGTCCGGATTTGGATTTGGAGGTCCGTAGGGTGATTTGAAG
CATTTCGGCAAAAGTTGGAAAAGTTAAAGTTTGGAAGGTGGAGAGGTTTGACCAATAGTTGACTTTGGTGATATAGGGGTCGGAAATGCTATTCCGAGAG
TTGGAACAGCTACGTTATATGTCATTTGGGACTTGCCTGCAAAATTTGACGTCATTCCGGGTTGACTAGATAGGTTTCGGCACGAGTTTTAGAAGTTGGAA
GATTTGAAAGTTTCATAAATTTCGATTCTTGGTGCGATTCATAATTTCGACATTATTTGATGTGATTTGAGGCCTCGAGTAGGTTCGTGTTGTGTTACGAG
ACTTGTTGGTATGTTCGGACGAGGTCTCAAGTGGCTTGGGTGAGTTTCGGTTTGTTGCGCTTGTTTTTATGCTTCGTCGTCGTTTCT
TCAAGCATAAATGGTACCACATTAAGTAAATAAGCTCCAAATTCAGTTTTTATTGAATCATTAGATCCGTATCGTAATTACGGAGCCATATCAAAAAGA
ATCATCCAATTTGGACATCGTATGAGGGAGTTATGCTCATTTCCGTGGCGGGGAGACTGCTCGTTTCTGGTGTGGTCGCAATTGCGAATATTTCTATCG
CAATTGCGATGCCCAGTTCGCAATTGCAAACTTTTGTTGCAAATGCGACCTTTCCAACCCTGTTCTTGTTCACAATTGCGAAGGCTTCTTCGCTTTT
GCGAGGATTCGCAATTCCCTGGATCGCAAATGCGACATCTGCAGCTTGTTTTCAGCTGTGTAATTCGGGTTTTCGCTTCATTTTGTGATATTTTTGAAC
CCTAGGTCCGAGAGTGGGCGATTGTGAGAGAGGAATTTCATCTACAATCGTTGGGTAAGTTCCCTTGATCAATTTCTAAGTATACTTCATGATTTTACT
TGAGTTTTAACATCAAAATGGTGAGAATCAAAGTGAAAAAATTGGGAAAAAATTGTAAAAACTTTTAAAATGAAAAATGATGAATTGAGGGACCAAATGG

10

20

30

40

50

TATCGGAATTTGATAATTTTATATAGTTGAGCTCGTATCGGAATGGGTGTTCGGATTTTGTGAAAATTTGTTGGGTTCCGAGGTGTGGGCCCGGGGTCG
ACTTTTGGGTTGATTTTTAGTTTTTGATAAAGATTGATCTTTATGATCCGGAATAGTTTCTTATGAGTTTTATATTTATGCTTTGAAGTTATTTTGTCTA
GATTTGAGCCGTCCGTAGGTTATTTCATCCAAGAAGTTCATTTTTGAGTATCGATTTGTCTTCTTTGAGGTAAGTATCTTGCCTAACCTTGTGTAGGGG
AACTACCCCTTAGGATTTGAGTCTCTATGCTAATTGTATCTTGTGAAGTCCGTGTACGCGAGGTGACGAGTACGTCGGGCTTATTTGTGGAAAGT
TGGCCTTTTAGGGTTCTTAGGTCCTTGAATTTACTGAGTATGAAGTTGTTTTGTATTGAATTGTTTCTTAATTACTAGTCTCACCTATACCTACTTT
AATTGGAATTAATTGCTTCATGATCCACTCTTATTGCCTATTTGACTCTTATATAACTTAACTGAAGATGTTTACCTCCTCCTATTGCCATGCTATCTTT
TCCTAACTACTTATCTTTACTCGAAATTATTGTTATCTCTTCTGTAATTATTCATCCTTAATTGAATTTGTACTATTTTTTTCGTGATATCTCAACCTT
AAAAGAAGTTTAGGTATCCTATATCTTAGTTGACTTATCCTTATTGGAATTATTGACTCGTGATATATCCCTTGTTGTTGAACTGTTACTTTGTTGGACC
GTTGTTACATATTATTTTCTCCCTTGTTGAGTTGTTCTTATTATGACTAGCATTCTCTCTATTGTGGCTATTCCTTGTGAACTAGTTCTTCCATTTCTTTG
AGTTCTAGAATTTCTGAGTTGATTTAATTGCCATACTCCAGTATTATTGTCATTGTTGTTGTTGTACTTGTTGTTGATGCACGAGGTTTCTACC
ATGCGATTGTTATTGTGATGCACGAGGTTTCTACTGTGCGGTTGTTATTGTGATGCATGAGGTTTCTACCGTGTGGTTGTTATTGTGATGCACGAGGTT
TTTGTCGTGCGGTGTTATCGGGTTGCACGAGGTTTCTGCCGTGCTATTGTTACTATTTATATTTGCACATGCGGTGTGACAAGGCGGGATATATATATG
TGGGTTGCGCATGTAGCGAGATAAGGTGGGAACATTATTATGCACGTGTGGCGAGACAAGGCGGGCATTCTACTTTACTAATTGCACATGTGGCGAGACA
AAGTAGGCTATGTTCAAGGATTAATTTGTGATGATTTGCGATGGCCTGGGGGCATTCTTGTTGTTGATATTTGTGTAGTGGTGCACTTACATGTGCGATT
TTATCTTGTGAAAAAATTGTGGAAAAACATTTTTATATGTTGTCCATTTTCTCTATATACTTGTTTCAGGTTATTTAGTCAAGTAGGTGTCTTGACTA
TCCCTTGTCACTACTCCACCGAGGTTAGTCTTGATACTTGTTGGGTACCACTATGGTGTACTCATACTACACTTTTGTGCAGATCCAGG
TATTGCGGAGTCAGTCGATTGTTAGCTAGCTGTTCATATCTTGCGGTGGAGACTCAAGGTAAACCTGCTACTGCGTTCGCAGGCTTCGGAGTCACCTTC
TAGTTATTTTGTATTTACACTGTTTACTCCTATTTCGGAATAGATGTATTTAGAGGTTTTCTAGCAAACTCTGTAGACTTGTTACTACTGAT
TTTGGGATTGTAATACTTGTATAGAGAAATTCTAAATTTGGAATTGCTAATCTTTATTTATTATTATTTTCAGAAGTTGTTAGGCTTACCTACTC
CCTAAGACTAGGTTACGACACCCAACGGAGGGAAATTTGGGTCGTGACATTTAGTTTTACCTTTGTTATTTGTAGTTAGAGATAGAAAATAAATTT
AAAAAAATCATTACAATTTTAAAATTTTCGATTTTTCCCGACGATAGATATCATTCGACAGATTTCTTGAGGGATTAAAATTGAAAAAGAAAAACACAAA
AAGATTTTATTTTGTTAGGTAGTGTATTAATTCCCCCTTGATTTTTCTTTGTGCCGCGGTTCTTTTCCAAAGGTTTTGTTTGAACCGGGTATAGTAGTTT
TTAATTTTCGTTAGTAATAGGAAACCGTGTGCTATGATTTCAAATGAAAGCAATATTCTTGACTCTATCATGCCTTGAGAATAGTGAGTGCTTTAGC
AGTGATACTTATGCTCAGATTTTGACTCTTGTATAAGTACCTTAAACGGTTTGATCTTAACTTTGCTTAACTGCTTTGACTAGAATGTCGTGATGAGTC
AGATCCCGAGTGAGTTATGTGCCATGTGTGTGAGAGGTTTTGTATTATTCGGTGTATTGCATTTGATGTCTAGAACTTGCCCCGTGTGTTTGCAAAGCG
AAATAGTAGTTTTATTCAGTCTTGAAAGTGATATAGGCATTTCTTTGTTGAGCCAGTTATATGCTTTTACCCACCTAATTGTTATGTATCGTGGTTAAC
TCCTTTGAGCTTGTAATCATGTTTCTTTGGCAACCACATTACAAGCCTTACTCATTTATTTGAATTAACCATCTATTTGAGCCATTTACCTCTCATGAG
CACTTGAAATTATATGAACTTTGTAAAAGTTGAAGTGTGGGATAATTGGGTTGGTTTTTGTGTGAAGCTAATAAAATTAAGGAGAAAGGTGCATTGTTTT
GAAAAAGTAAGAGCCACTTAAATTGAAAAAAAAAATATGCATAGTGTATTGTTGTGAAAATTATTCATTGATAAGTGGTAACTCTTGATGTATTTATGC
TTAAAGAAGTTGGGAGTTAATGTAAATTAATGTGAAGGTGGAGTATTGGTTTGACATAAGTGTGGGGTTTAACATTGAGATGTATGTAAAGTACTT
AGGGAGGTGTAATCACTCTTATATCTATATGTATCCTACCCGTCCCATAACTTAAATTCCTACTTGATACTTGATTGAATGAAC
TCAATTAGTGGAGTAATACACTACGGGCAAGCCTATGGTTTATCTTTTGTGGCATATGAATGTTATTTTTGAGAGTGAGTGAATTCTGTCTATCTTGAG
TTCCTATTTGTTCTTAATGTTTATTTGTGTGGAACTACTCCTGTTGTTGAGGGAACTTGATTCATAAAGGAAAGGTTAATGTCGTTGACCTCTATG
TTGGAGTAAGTGAGCGGGTTATAAATAATGCGTGGTACTTGTGAATCAAACTTGAGGTGAAGATGTTTACACTATTGTGCTTAGTTTTAAATATTTC
TTGGTATGAGGAGTTATGATAGTTGTTTTAAAAAGGTCGTGGCTTTATAAAGTGTAGTTTGATTGCTCGAGGACGAGCAATGGTTTAAGTGTGGGGTATT
GCTGGTAGGCTATAATTGCGTGTTTTAGTTGGTTATCGCACTCTAAATTTACTGCACTTTAATTGAGTTAAGCTTTAATTGCTAGTGTTTTGCACTAATT
ATGTGTTTTATACCTTGTACAAGTGATTCCAAGCTATGTAGATGTTATGGGATGATTTTACGCTATGTTGGAGCTTTGAAGTCTGAGTAAAAGCCCAAG

10

20

30

40

50

ATCTTAGTTGAGATCGAGTTCGGGGATCAACAAACACTAGTGCTTTCAAAGAGAGATGACGAATCGAGCTGGGCGTCACCCAGGTGCGCGAGCGCAC
ACTGGGTGCACATGTGAGGCGGTGTACTGTGCAAAATGCGCGACCAAGTGTGCGGCCGTGCACGTCCCCTTCTGGAAAAAGTCCTATTTCTTGTAGGAG
AAGGTGTGTTCGTTTGGGCCTAACTCTACTTGGTATATATACATGTAAAAATGGTATTTTTGGGACTTTTGACACATCTAAGACCTGAGGAGGCTAACG
AGAAGTGGGAGAAGCAAGAGCACAAGGATTTTATCATTCAATCCTAACTTAATACAAGGGTTTGAATTATTTTATGTTTTCCTTTAAACTTAAATCTTAAT
TGTGATGAATTACTCCATATCTATGGAGTAGTTCTCTTTAGTGATTGGATTTGTTGTGATATTGAGAATTGTTTGTTGATTAACTCTAGTTTTTATG
TATTGAATCGTTTTTGGGTGTTTTTAATTATTGCATTTATTTTCACATGTTCATGTAATTGAAATAGGCATAACTCATGATGTTTTTGCATTATCTTGTTG
GTTATATTCATTGATTCTTCTTAGTAATCGAAAGAGGCTAGTTGAATTATTGTTTAGACATAGTTAGGAGGATAATCGAAAGAGGTTCTCCTAAAGACC
AATCCACTACGAATTCTTGCATATCTTCACCGAGCATAAATTGGTTCATATTATGAGATTGAGACTTAATCGAGAGAGGAGTTTCTACTGCACGTTTGA
ACTAATAATTGAATGAATTCAAGAGACTCACTTGAACCTTAGGAGTGAATTAGCTAGAGTTAAATCCCAGACAAATATCTTGAACCTATCCAATCAACC
CCTGTTTTCTCCCATTGATATCTTCTTTACTCATTACTGTGATTGTCATTAGTCAATAGTTTAAACTCTTAGTTAAATTTTAGTGTTAATCAAACAAAT
CTCAATTGTTGATCATCTTGGATAGCGATCACGCTATAAACTACAAAAAATACTGTTTAACTCCAATCCTTGTGGATACGATATTTTATTATACTATATT
CGACTTGCGAGCATATTTAAGTGTGTTTTGCTCTCATCAAACATAACCAAGACGCAACAAACCATTCAAAACCCCAATAACACAATCTCGCTCGAATTT
CGCTGCAAGGCCCAAACAGAACCGCATCATGTGTGTACATAACCAATAAATCACACAACCCTTCGTAGCATAGAAGAGTAACTGATAGAACATATCCGAAC
ACTAACAAGATCAACTCTAACTGAATGCCACACACCCCTCAACATAAAATAGTTCTGAGTAAACAAATCTGACCTGGTGTAGAATACACATCCTCATTGGGC
CTACCAATGAGCCCCCAGATTAACTCTGATTATCCCCAAATGGTTAAAATAGCCCCTCCAAAAGTCCACAATGATCTAACCATTACATGTACCACCATCTA
GCTAACTTTGGCCTTATCTTCATAGTCCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
GCAGTCAATCAACCAAGCAAGTACCGCAATACCAATGAAGCATCTGTAAGTCAAAACATAATGCGCCTTCTGAAATGCGCACCCTTCTCAGGAATTACC
AATTAGTTATAGCATTCATTGAAACATCATAAACCGTCCATGCTTCTTAAGAATTCATGACCTTTCCTTGAAAATTGAATTTTGACCTTGCACATGAAT
ATCTCAATCCTATGCGACGCACCACATCTATCATGCCATCATGTGAAAAGCACACAAAAATCTCATTAACAACTCTGACTCACAAGCTAAATACATACCCG
ATCAGCCAGAAACCTTTCACTTGATCCCATCCAGGAGAAAATTACACAACACACAACATACCTCTCATACCTGTAGATAATATCCATCTCAAATTGTGGCA
GAAATTATCGAGAACACTTCGAAGCCCATTTGCACATAACCAAGCCATCAGAACTGAATCTCTCTAACTCAACCAAGCCACGCAGGTCGCCAAACCCAA
GAGTATAGCCACTAAACACCCTTATAGACTCAACACATCATAAGTACCCAAAGAACTGATCATACCCATTACCGTACTGATCCAACCTACTACCAAGTG
TCATATTTCTCTGAGTTCCTTTCGAATTACCCTCAAGTTGAAACTTTTCTTTGCCAGAACACCATGATTCTTACCCAAAGTTCACCACAAGAGATCCTA
GCATAAAGCCACACCGCCCTAAGGCCCATAAGACGTTGTTATTCCCTCTTAAGCACCCCAAAAGTACCACACAATCGAGACACCCACTCTGAAGAGACCTTT
TGTGAATCTGAAGTCATTTGCTTCACCTTCTTGATACTGAAATGTAGAATCCATAATGATATAGAAATACTTTGAGTCTCGACACCATCCAATGTAAAT
CTTAGATTCTAGCCATATACAAATCCGAAAAATTATCAATTGCCACATATAAATCTTGAATCCATTAAAACCCTCTCAAGAGGCATCCACACTCCTTAA
ATCTCAATTGCACCACCCAAACGGGCCAAATGACTTGTGCCCCATTAGCATACAAGACCCAAAGAAGTAACCCTACCTTAACGCAACCGGGTAGATTC
TTACTCTATGCGTATTACATCCGTCTCGAATAACAACTCAAATCACTCCATGATTTCTATATACCCATAAAGTGTTAATATAACTTGTATCTAGAAAATTT
CCTTACTCGAGTCATCCTTGGTCTCAACCTCTGCAAGTCATAATTGATTAGCAAGTATGCCTCAAACCGAAACTAGTACAACACATAACCATGCAATCA
AATCGTCGATAGCAGACTCCCTACTTAGCTCAAAGCTATAGAATAAAACATTTGATACTCACAATACCCATACTCTATTACTGCCATAATCCCACAC
TGAAATTCAACTAAATATTTCATAAGCTCATGTAACACAAACCATATAATACCTCAAATCATCTGCTAAGCTCGCATTCATCCTCGTGACGGTCAGGTC
AACTTTCTAAACCAATCCAAACTCAAATCGCAACACCTATAACCCACTGGTAGAAAGAAACCCTCCACACAACATCATAAGGATCACACATCTGTAGA
TTACTCCGCATGCGATAACCCACCTGCTTAGCCTCAAACTGACATCTCTTTATAACCTTTCACAGCCACAACTGCTACGCAATCAATTAATCTTCCTGA
GTCTGAACTCATCAACAAGACATGAAAATCTAATTCATTCCATAAGTGAAATAACACACAAAGAATCTATCAAAACCCTTCATAACTCAAGACTGTATGA

10

20

30

40

50

CATATCCACACAAATGGAGCATCCAATAGTCTTTTTCGCATCTCAAGCAAACTCTTCCTGTCATATTCAAACCATCTGAAAAATATCCCATAGTCACATC
CTACTCATCATAGAGTCATCCAACCAATCACCGAGCCACCAGTCCCACTCATAGGGACACCACTAGACATAGAAGTCCCAAAAGCACATGCTCACACAAC
TGAACTACCGAACCTAAGCTGTGGTCCAAACCAGGCCTCAAGTCCTCTAGATTGGCCTATCACCAACACACAGAAAACACATCTTGTACCTCATCCAAG
GAATCCACAAGCCATACTGATATCGAGGGCTCGCATGCGCATACGAGTGAGTGGAAGTAATTCAAAGAAATATGCTCCAACCTGAATCAATACTGCACA
ATTAGGAAAGAGAGATGGAAAGTTTATTCTAAATGCCCGGTAGCCTCTCGAAGATAGGCATGGATGTCATCATACCGATCCGTAAGACTCCACTAGACA
CTTGCTCATGACTCGTAGAACCTATGAAGCCTCTGATACCAACTTGTCACGACCCAAAATTCAATTAGTCGTGATTGGCACCTAACCCAATCCGC
TAGGTAAGCCAATTAACAATAAACCATAATATAATGATAATGAAGAGCCAAAAAATGAAATAACTGAATTTTATAAAAATTTCGCAAGGACTAGTAGTA
CAAATCATGAGCTTCTAAGACATAGAGTTTACAAAGCTGGTATGAAATAAATACATCACATGTTCTATATGTACATAACTAGATTTATAAATCTAAAGC
TACCAAGAAGAAGAGGCAGTTATAATCGGAACGCAAGTATGTCTTCAATGCTAGCTCCCGCCACTCACAGCAATAACAACTCCCAAAATCTGCATGCAA
AGTGTAGAAGTGTAGTATGAGTACAACCGACCCCGTGTACTCAGTAAGTAACAAACCTAATCTTAGGTTGAAAGCAGTGACGAGCTTGGACAACGGTCA
GAGTATTCAACCTCACTCAGCACGCTCAATCACTCAGCACCTCCCCAATCACTCACTCCAACACTCTCAATCACTCGGCACTCACACTCATACTCGCA
GAGTCCAACACCAATAACCAAGATCGACTCGTAACAATATATAAAAGCAGCATAAGTAATAACTCAAAGATATGATGCTCAGCTTGTTCACAGTTACG
CGCATCGGTACCTGTGCTCACTGCTGGTATGTCAGACTCTAGAGAGGAAGATCCCTACCCAAGCGCTAATATAAGCCAATCATGGCATGCTGCGGCGTGC
GCAAAATAGGTATGTTTTTCAGGTATATAAAAGTAAAACCCAAATCTTTCGCCGAAATTACCAAAATATGAGTAAATCAGAAAGCTGTGATTTTTTCCAAA
AGCCTGATCCCATCATAAATTAATAAAGCCTGCTGCGACGTGTAGCCCGATCCCATATAAATATCACTCATAATCAGGCCCTCGACCTCACTCAGTCATCA
AACTTTCAATAATAGATAAGAAATATTTCATTCTCTCAGATAGCATGAGAAAAGTATATCTCCACCTACATGTCCAATGTCCTACCCTAATCCAGATA
ATCTCTCCAGTCTATCGGGCTCATAAAATCTCATGCCAATCAGCCAAAACAATGATAACATGATATGAGAATGAATGCTATCCCGCACGTA
TGCAAATAAATGAATATGACTTAGTATGTAATTTAAGCAAATAACTCAACAGCAGAAATGACCTCAATGGGTCCTAACATAATAAGTATATGGC
CTAAACATGATTTCTAACATGGATCACAACTTAATTTCTCTAACACGTAGGATTTCATGGATAGAAACAAGATAGATTAACTACACAGTACCACAGAATC
AACCGAGTCATAATTCACACGGTGCACGCCCACACGCCCGTCACCTAGCATGTGCGTCACCTCAACACCATAACACACGTATATTCAGGGTTCAT
ACCCTAGGCACCAAGTTTAGAAATGTTACTTACCTCGAACAAGCCAAATCTAATATCGAGCAAGCTAAACAATACTCTAGAAATGCTATCCCGCACGTA
CGGACCTTCGAACGACTCAAAACTAGCCAAAAGCAACTCAAGAACATCAAATAATGTGCAAAGGAAACAAACTCAATCAAGAGGTGGAATCTTTAATC
AAAATCCCAAAGTTAACCAAAAAGTCAAACCCCGGCCCGCACCTCATAATCTAACGAAACTCATAAAATATGACAACCCATTCAATTACGAGTCCAACC
ATACTAGTTTCACTCAAATCCGATGATGTTCAAAACTCAAAAATTTACTTTATGAAATTTTAGACAAACCCCCCCCCCCCCCCAAATTTTACTTTGAA
ATCATCAATCAAATACCAAAACAAAGATGGATTAAAAAATATAACCAAAACCGAGTATAGAACGCTTACCCTAATCCATATTATGATGAAAATCGCCTTCAC
AATCGCCTAAATCTGAGCTCCCCAACTCAAAATATGACCAAATGAACAAACCCTCAATATTATATGCTTCTGCCCAGCTGTTCTTCTTCGTTTCTTATG
CCAACAATCCCAAAACCCGCTTTTAATGGCTCCAATAGATTCCTCATGAAATTCCAGTCAAGTAAGGCTTTTGAATCACTCCCATTTGACCTTATAATGA
AGGAGATATGTTGGTTTCAATATTTTGAAATAATGCAGAATTTCAGTGGTAATTTCATAATTAATCTGAAAAAATCTGGCAACCCAAT
TCTTAGTAAAATGACCATAAATTTCTCATAAGATGTCAAAACTTGATGATTTCAGTTTTTATGGTTCCAAAATTACGAACAGATATAATGGTTTGGTCA
AAATACGAATCAAAGGCTGTTTGCTCAATATGGTAACCGTTATGCTCAAATCGATGTCGAAACCGAAAACAATCCACCATACAATTCAAACTTATCTAAA
ACTCATCGAAATTTAGCCAAACTTTGTGGACATGTCCAAAATCATCATACAAACCTATTGGAATAATTAAAACCCAATTTCGAGTCCGTTTACCCAAAA
GTCAAGCCTTGGTCAACTCTTCCAACTTAAAGCTTCTAAAACGAGAATTATACCTCCAAATCAATCTTGAGCCACTCGAAAATCGAAACCAACCATACA
CGCAAGTCATAATACATAATATGAAGCTACTCAAAGTCTCAAACCACCGAATGGAATGCTAAATCTCAAAATGACCGGTTGGGTCGTTATATTATTCGA
CCCGCTTGGGTCAGCTTCCTTTTAGTAGCCACACAACAGCAGGATGGGTATTTTGAGTGTGGAGGTTACTTTTCATATCATGAGGTTCTGTCCGAGATTGT
TGTTCGGCAAAACACAACAGAGTTCTCGTGCCATGGTCTCGGTGCCAGTTGCTCCACCACCCGCTCAACCAGCTAGAGAAAGAGGCCAGGCAGCCAGAG
GTAGAGGTCAAGCCGTTAAAGGTGGAGGTCAGGCCATTAGAGGTGGAGGCCATCCAGCTAGAGGCCGTCCTAGAGACGTAGGTCAGAGTGGTGGGCCT

10

20

30

40

50

AGCCCTAATTTTATGCTTTCCCAACTAGACCTGAGGCTGAGTCATCTGACGTCATTATCACATGTATTGTTTCAGTTTCATATAGATGCTTCAGTTC
TATTTGATTCGGGCTCTACTTATTCTTATGTGTCATCCCTATTTTGCTTCATATCTGGTTGTGCCTCGTTGAGTGCTCAAGTGTATGTGTCCA
CGCCTGTGGGAGATTCTATTGTTGAAGATCGTGTCTATCGCTGTTGTGTGATTACTATTGGGAGTCTTGACTAGTGTAGATCTTCTACGTCTTTATA
TGGTAGATTTTGATGTTATCTTGTTTATGGATTGTTACCTTATCATGCTATATTGGATTGTCATGCCAAGATGGCGACCTTTGCCATGCTGGGGT
TGCCTCGATTAGAGTGGAGAGGGACTCCTGGCCAATCTTCCAGCATGGTTATTTCTTATGTGAAGGCTCGACGTATGGTCGGGAATGGATGCCTAGCTT
ATTTGGCCTATGTTTCATATTTCGAGTGCGGAGGTTCCTTCCATGGATTCAGTACCTGTTGTGCGTGAGTTTCCAGAGGTGATTTCTGCAGATTTGTCGG
GGATGCCACCCAACAGAGATATTGGCTTCTGTATTGATTTGGCTCCGAGCACTCGGTCAATTTTTATTCCACCATACCGTATAGCCTTGAAGGAATTGA
AGGAGCAATTGCAAGATCTGCTTGATAAAGGATTCACTATACCAAGTGTCTCGCCCTTGGGCACGCCCGTGTTATTCGTAAAGAAGAAAGATGGGTTGA
TGAGGATGTTTATAGACTATCGGTAGTTGAACAAAGTCATTATCAAGAACAAGTATCCGTTGTTGAGGATTGATGACTTATTTGATCAGCTTCAAGGTG
CCAAGGTATTTTCAAAGATTGATTTGAGGTGTGGCTACCATCAATTGAAGATTAGGCATCGGATGTCCCTAAGATGACTTTTCGAACTCGGTANNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

GTTCGAGGACTAAAGTTTATTTTAGAGTTGGAGAATGTGATGACCCGATAGGTCATATTCAATTTTAGCCTTCATTTTTGTGTTTTGAGAGCTCGAATA
GCTCCATTTAGTCTTCCTCGATTTACGTGTGCAGTCCGTGTCTTTTTCTGAAAAACTTTTAAGTGAAACATTGAAGAAAATGTGACATTTTGCCTTAAA
ACTCATTTGAGTTGACTACGTTCAAAGTTTTATGTAAATGGATCCGGATTAGTATTTTGACAATCCCGGTGGGTCAGTAATCGTGATTTGGGACTTAGGC
ATATGCCCGGAATCGAATTTGGAAGTCCCTAACTTGATTTAATGTGATTTGTTGAAAACTAGTAAATTGAAGGCTAAAAGAATTCCTAAACGTGACCGT
AGGTTGACTTTGTTGCTACCGAGTTTGGATTTCGGTTCCGGAACTTGGTATAGATTCATTTTTCTATTAAAGACTTGCCTGCAAATTTTGGTGCAAAAT
GGAGTTGGTTTGATGTGATTCAGACGTCTGGTTGTTAAATTCAAAGTTCTTTAAGTTTCTTTGAAAATTTCATTCGTTTTGGTGTCTGATTCGTAGTTTT
AGGTGTTATTTTGGCGTTTTGATCATTCGAGCGAGTTCATATGATGTTATTACACTAATGTGCATGTTTGGTTTGAAACTCGAGGGGCTTGGTTGAGTT
TCGGATAGGCTATAAAGTGATTTTTGGACTTAGGCAATTCCCGATTTCAGGGATTCTGGTGTCTGGTGCATTATGATTCGTGATCGCAAAGGGGAACTT
GGGGTTGGGTGGATTTCTTCTACACGAACGCGGGGAAATGGTCGCGAAGCATTGGGGGACTTACCCTTCGTGAACGCGACCACACCCTCGCGA
ACGCGAAGGTTTATGGGATACTGGGGGGAGCTGGTCAGTAACTCTATGCGAACACGAGCCCAGGCTCGTGAACGCGAAGGCCCGGGGGAGGCCATCAC
GAATGTGTAGCATTCCTCGCGAACGCGAAGGCCACTTAGGACGCTGCACTTCGCGATCGCGTCAGGCCCTTCGCGAATGCGAAGAAGGCCTGATGCCCA
GTGACTTAAATGTTCAAAAGATGGGATTTTCTTCATTTTTCACCATCTTCACATTAGAGCTCGGCCTAGAGACGATTTTGAAGAAGAATTTCATCCCCA
CTTCGTAGGTTAGTATACGTTAACTCATTTTCTTCCATTTCCATCAACACCCACTGATTTCTAACCTTAATTTATGCTCTTTCTTGGTAGAAAAATTAGG
GATTTGGGTAGAATTGAGGGTTTTTATAAAAATTGAGATTTAGATCTCAAATTGAGGTCGGATTTCGAAACTAATCACATAATCGGGCTCGAGGGTGAAT
GGGTAATTGGGTTTTGGTCCGAATCTCAGGTTTTGACCAATCAAGTCTGGGGTTGACTTTTGTTGACTTTTTGGGAAAAGTGTAAAGATCTTAACTTTA
TCTATTGTAATTGATTTCCTAGAATTGTTTGATGATATTGAGTCAATTTTGGTTTAGATTCAATTGGTTTGGAGGCGAATTTTAGAGGAAAGGCCCGG
TTGAGGTTTGATTTGCTTGCGGAGCAAGGTAAGTGTTGGGTCTAACCTTGATTTGAGGGAATTAGGAACCCTTGAACTATATGTTATTCATTGAATTATGTG
TGTAACAGTGTATATGCAAGGTGACGAGTGTATATACGCTGTCAAAAATAATTTCTTCCCATGCTTTCCCATATTTCATTAATTATCTTATTCCATGTCTT
AACTGTTACATGGTTTAATTGCTTTCTACGCCGTAACTTGTTACTTGTCATTAATTATCCTTGTATTGAATTGTTCGTTTCTTCCATGATTAATTGCTA
CTTGCCTTAATTGTCTTACTTGTATAACTGTCATATATTTGACTTGTCTTTGTTGCTTTGTATTAATTGTAGCATTTTTTTTATTTGGTACGTGGTTCCTT
TATTACTTTGCTTTCATATTCCTTTAATTGTAGAGATTCTTGTGAATTGATTACACTTTATTAAATTTTTTATGGATCGGGTTGCACGCCGCAATGGTTG
GCCGCAATGGTTGTAATATGGTGGAATAAGGGAGGATTTGATATTGATATGGTGGGATCGGGTTGCGTGCTGCAACAGATTTTACATGTGATTTGATAT
TGATATGGTGAAATAAGGGAGGATATTGATATTGATTATACGGTGGGTTCGGGTGCACGACGCAATGGATTGTGTGTTGTACTCATTGTTT
TATTGTGTTAGCTTTCAGTATTTTCATATAATATTCGGAGGAATGATATTTCTGGATTGACTGATTTTGAGGATTTGATTTTCATTAGTTAGTTG
TTTTGCCGTCATTTCCTGTTTTGCCTTCCTATTATTATCATTATATTGTGTACAAGTTACTAAGTTACCCACCTTAGCCTCGTCACTACTTCGTCGAGG
TTAGGCTCTGCACTTACAGAGTACATGGGGTCGGTTGTACTCATACTACACTCTGCACTTATTGTGCAGCTTTTGGAGTCGGTCCTAGTGGTGGTCAGT
AGATTTCTCAGATTCGGTGCTTGACGGAGACTTGAGGTATAACTGTACGACGTTCACAGCGCTGAAGTCCCCTTCTACATCATTCTAGTTGTTTATTTC
ATTTCAGACAGTTATGCTTTCATTCAGACTTTTATTTGTAGTACTCTAGTCGCTCGTGTATTTGTGACACCAGTTCTAGGATTGTATCTAGATATCGCT
GTTATTTTAGTTTTACTCACTCTATTTCAGTTTATTCATTTACTTTAAATTGTTAAAAATAGCTAAAAACTATTCTAATGTTGGCT
TGCCTAGCAAGTGAAATATTAGGCGCCATCACGGTCCCGAGGGTGGGAATTTCGGGTCGTGACACCACACAAATCAGAGTGACTGGCTCCAATAAATTC
GGGCTTTCTTGAAGGAGGATGGCTATGAAAGGAAACCCTTTATGTTTGACAACTAAACAATGGATAGACCAATTCAGATTTGCTTGTTTCACTCCAGA
AAGCAAACTTTCGTAGCCAAACACGTAATCTCTCTCGCTCATATGACACAGTCTTCTATGCCACAATTCTGATAAAGTGTCATTTTCTACCAGATTTA
AGGAGTCATTAAGAATAGAGCCCTGTTTCATATATAAATGAAAAGACTTGACTCCTCGAGCCACTACTAACTAGCCTTTGGTGAGCTTCCATTGGACAT
TACAGAGGGCATTATGGTAACCTTCATCATCTAATCTTCCCGCGGAGAATAAATTAAAGGAAAGTCTGGAGCATGTTTGACATTCTAAAGAACTAGCG
TTGAACCGTTATTATTTTCAAACGAACTGTGCCAACACAAATACCTTAACTTCACTGGCATTGCCCATCTTTAACACTCTAGAATCAACACAGGAGTATA
AGATGAGAAAAAGTCTTTCTTGGTGTGACATGTGAGGTAGCTCCAAAATCTACTATCCAGCTCGTCTCATGGGATACTAAAGCAAAAAGAAGGTCATC
TCGAACAATAGAAGCAACATTGTTCTCGTTATTTTTAACTTTCTTCCTTCTTTAGTGTCTTGCTTCAACTTTTGGCAGAACCTTTTGATATGTCCTTT

10

20

30

40

50

	CTTGCCAAAGTGGTTGCACGTAATATTACGGTATTTGGACCTTGACTTACTTTTGTTTTTACCTCTATTCCTCAAACCTCTTATTCTATATCTTCCTCG
	GTCTTTTGTAGCCAAGATATCTGATTGTGAGTACGAACCCTGAGATTTTCTCCTTACTTCCTCGTTCAACACACCACTCTTGACATATTCCATGGTCAC
	CTTACCACCAGGAGCTGAATTTGTCAAAGAAACATAAAACGTTTCCCCAAGATTCTGGCAGAGTATTAAGAAATCAAAGTCCTTGTATCTCATCATCAAA
	ATTAACTCCCATTCCAGACAGTTGATCAATGACACCCTGAAAATTATTTGTATGATCAAGGATAGGACTGCCCTTCTTGTATTTAAAGGTCATCAATTA
	CTTTAGTAGGAATAACTTGTTGTCCCCAGTTTTTGAAGCATAAAGAGTCTCTAGCTTTTCCCTCAATGATCTCATATGTATCTTATTCACAATATAGTT
	GCGAACATTATTTTTCAATCCATTGTCATATATATCCACATACTTGTTGGTGCTCAAAATCCCAATCTTCATCAAATATAGTCTCGGGTATATGAGCTGC
	AAACACTAGTAGATGCATCTTGTTCACGAACAATAAATCTTTCATATTGCTTCTCCCAAATATTATAATTGCTCCCATTTAAATATACCATCTTGCTCAT
	ATTTGCTTCCATTTCGTAAAAATCCGGATAAATAACCAAGGCTCTGATACCACTATTATAACCGAAATAATCAGGTGTCATGCGAAAGCTAGTAAAGTA
	AATTTTGAACGACGATAAATCAGACAATAAAAGAGAAATATACCAAAGGAGACACAAATAGTTAACGTGGTTCGGTCAATTGACCTACATCCACGGGCA
	GAGATGAGCAATCCACTATATAAAAGAGAGTACAAAAATATCGAAAGAACAACCTCACAAAGAGGCACACACAAGTGTCAGGCTAACACTTGTTCCAAAA
	GTTCTCCCCCTAAACAAGACTCTTAAGTCCCTTATGGCTACATTGTGGATGTTGCTAAATGAGAAGGAATGATCATCAATTTATAGAAGTAAAAACTTT
	TTCTTCCAAGAAAAAGAACTAGCCAAATAAATATGGGAGATTTATATAATCCTTCTAAGAAGAGGAAAATTCAATTAAGGTAAATATGTTGTCCTTTCC
	TTCAAGAGATAGGAAAATTAAATATGATAAAAAAGTCAGGACAAACACCTACTCGTTTCTGTGTGAAATCTGATTAAACAGTTGGCAATAGTAACATAT
	CCAATTCCTAATTCAACAACTGCTCATGTATGAGTACTAACCGAAACTACTAGAAGTACCAAACTACCAAGTTGATCACTACATTCTAATTGTTTGTTA
	TATGCATTCCTTAAAAGTAATTTATAGTTTGCATATGATCTTTTTCACTGTTTTTAACTCTTTGTAGGAACTATGA
14	>Nitab4.5_0003861g0020.1 Nitab4.5_0003861:75786-82595 42 0.027
	ATGTCACAAGATTCTGAGGAGATAAAGACCATTGGAGAACACTGGAAATGGTCTGAAATGCAAGGCCTAGAACTTGTTGTCTCTGAACACAATAATAAC
	AACTCTATTAAAGCCAACCATCAAATTCAAGAAACCACACACACAACACAACACAAGAAAGAGAAAAACAAGAAATGGAGGTTTCTGAA
	GGGAAAAAAGAAGGGAATGAAAAGCCAAGTACTCAACCACAAGCAGTTGGTTTTGGGAGTTATTCAGATTTGCTGATGGTTTAGACTATGTACTAATG
	TCAATTGGTTCACTTGGTGCTTTTGTACATGGCTGTTCTTTACCTTTGTTCCTTAGATTCTTTGCTGATCTTGTTAATTCATTTGGCTCTTATGCTAAT
	GATGTTGATAAGATGACTCAAGAAGTTTTAAAGGTAAACCAACCTCAAATTCACTTATAAAAAACACAATTAAACAAAGCTAATTCCTTTTTCTTCCCTT
	TCTTCTTGATAATGTTTTGGTTTTCTTTACTTTGCAGTATGCATTTTACTTTTTAGTTGTGGGTGCTGCTATATGGGCATCTTCTTGGGCAGGTAAAAA
	AAATTCATAAAAATTGAATCTTTATTATAAAGATTGAATCTTTATTATAAAGATTGAATTTTTATTGTAAAAATTGAATCTTTTTTGGTTCAAGAAATTG
	GTTTTTAGGATTCTTGATTGTAATGGCTTTGCAGAGATATCATGTTGGATGTGGACTGGAGAGAGACAAACAACAAAGATGAGGATTAAATATTTGGAA
	GCTGCTTTGAACCAAGATATTCAATACTTTGATACTGAAGTTAGAACTTCTGATGTTGTCTTTGCAATTAACACTGATGCTGTTATGGTCCAAGATGCC
	ATTAGTGAGAAGGTGAACATACTATAAAAAATTGATTCTTTTTCATTTTTTGGATAATGGGTGTGGAGTTAGGATCTGATTTTTTTTTTCGTTTTTTGT
	GCAGTTGGGTAATTTCATTCATTATATGGCTACATTTGTATCTGGATTTGTGGTAGGATTTACAGCAGTGTGGCAACTAGCTCTTGTTACTCTTGCTGT
	AGTTCCTCTAATTGCTGTAATTGGTGCTATTCACACTATTACATTAGCTAAGCTCTCTGGAAAGAGTCAAGAAGCACTTTCAAAGGCAGGGAACATTGT
	TGAACAGGTAAAAAGATAAATGGTAGTACAAATTATGTGAAATTAAGCTCGGTTAAGAATGGGAGCCTTGGCGTAGCTGTTAAAGTTGCTGCCATGTGA
	CCGGGAGGTCACGGGTTCAAGTCGTGGAAACGGTCTCTTGCAGAAATGCAGAATAAGACTGCGTAGGTTAAGGCTGCGTATAATAGACCCTTGTGGTCC
	GGCCTTTCCCTGACCTCGCGCATAGCGGGAGCTTAGTGCATCGGACTGTTTTTTTTTTAAGCTCAGTTAAGATAATATCCTCTGCATTTTTCTAT
	TGGTTTACTGAAGTGTAGCAAAATTGCAGACAGTAGTTCAAATTAGGACAGTACTGGCATTTGTTGGTGAGTCAAAAGCAATGCAAGCATACTCAGCAG
	CACTTAAAGTGTCTCAAAAGATTGGTTATAGAGATGGATTCTCAAAAGGATTAGGACTTGGGCTACATATTTCACTGTTTTCTGTTGCTATGCTCTTC
	TTCTATGGTACGGCGGCTATTTGGTTAGGCATCATTATACCAATGGTGGACTTGCCATTGCAACAATGTTTGCTGTTATGATAGGTGGACTGTAAGTAC
	TTAGCATTGTACAATAACGTGTCGAATTCGTTTACTTTTTTTTAAAGAAGCTTAATTGCTTAAAGATTTTTACTTTATCGATAGGGCTTTGGGACAAAT
	CTGCTCCTAGTATGACTGCATTTGCAAAGGCCAGAGTTGCAGCATCCAAGATTTTCCGAATTATCGATCATAAACCGAGCGTCGACAGAAACACCAAAA

CGGGCTTGGAATTGGACTCCGTTAGTGGGCAACTAGAGCTTAAAGATGTTGATTTCTCCTACCCTTCAAGGCCAGAAATCAAGATTCTCGACAATTTCA
ACCTCATTGTTCCGGCCGGAAAGACCATTGCTTTAGTTGGAAGCAGTGGTTCTGGAAAAAGCACTGTGGTCTCCCTTATTGAAAGATTTTATGATCCCA
CCTCAGGTTAGCTCAACTCTGCACAATTACCTCACTATTGAACTCAATATCAGCAATGTGCCTTTATAAATTGGATAAATTACACATTTTTGGGCCGCCCTA
AAAAATAATAGCCGGCAAATGTATATGTTGTGTATTAAGTATAAATATATATCTAGTATACATAAATATACATAGTGATATAT
GTGTTGTATATTTTGGCGAGCGCCCGTAATTAATTTCGGCTGATGGGCCAAAAATGTGAAAAAGTGCCTTTATACATTCACACATCATGTGATGGGCATCT
TAATGAAATGTTTGGTAGTTGAAGTGAATTCCATGTGTTTATGTGGAGACATGTTTTGGAATGAGAATCTCAGCTAATAATTAGTTTGTATGCAGGACA
ACTTCTGCTTGATGGGAATGACATAAAGACACTGAAGTTGAAATGGCTGAGACAGCAAATTGGGCTTGTGAGCCAAGAACCAGCACTCTTTGCCACCAG
CATCAAAGAAAACATATTATTAGGACGGCCGGATGCAACTCAAATTGAAATCGAAGAAGCTGCTAGAGTTGCCAATGCACATTCTTTCATAATCAAGCT
TCCTGATGGTTTTGATACTCAGGTTAGTTAATTATTCCAAATCCTTAATTTTTTGGGAAATTTGCATTGTATAGCCGCCCTCCAAAATAATAGCCGGTA
AATTTTATTGTTATTTTGTATATTAATATATAATGTACATATGTTATACATAATTTGTATAATTTGGCTAGCGGTTGTAATTATATTC
GCCTGACCGGCCAAATGTGTTAAAATTCTTGAACCAAAAAGAAATTTAGCTACTTTAGACTCAACTAATTATGTTGCATTAAAGATCTAGCAGATATAT
CATTAAATGTTTTAAATTTCTTCTACATTCCATATGCTATTAAATGTGTGTGACATTTATATTACTCATGTTGGGTCCCACCAGTTTGTGGAAGATG
GATTGGATATAAGTTTGATGGTAGAGAATGCCTCAGAGTGAGCTCTAAAATAAGGTTGATGTTTTTTCTTTTTGCTGTATTTTCCCTTAGTCAATGGG
CATAAAAAGAAATCGTTTTTTTCTTCATATAAAGGATGACTTTAGCCTTAGGCAAAGGCAAATTCGGTGGCTTTGTTGAATGGTCAAAGTTTATGTCT
TACAAGGTACATTTTGATTGTAAATCATTTCACAAAGATGCTTTCATTAGTCTCACTTGTATTGGTTTTTTGTGTCTAAATTGTTTTTGTTGGTCAACA
AACAAACCTTATATTTTTTAGTGAAGTCAATGTTTGTAGGGGGACTGGTCATTCATTTAAGAAATAGGTAACATGGGTTTCAGTCAACAATGCATGTG
CAGGAACAAGTTTTTATTTTATCTATGCATGTGAAAAACAAAAGACTTGTTGTAACCCTTTAGTAGTTGGAGAGATGACAAAAAACAAATTAGAAAAAA
CATGTAGGGTTATCGGTTGGATTATAAATTTATAATAAGCCTGATATCCAAAAAACAAATAAATATTTTTCTTGGAATTTATGGTTTTCACAGGATATA
AGGGACACTTCTTTGGATAGGTAAAAAAAAGTAAAAAAAAATAAAAAGTTGAATGGGAAGTTAGCAAAGGGACACAAGTTGATAAAAGCTAGAGATAATT
ACCTATGTTGTGCGGACTCTCAAAAATACTGCCGCATCCGTAAGATACACTACTTTGGAGGATCTGACACGTACTCACTAACATTTTTGGAGAGTCCG
AGCAACATAGATAATTGCTGGACTGTTATAACAGTTCTATTTTATGAATAAATTTCATAATAGAATTTGGCCTTGATCTTTTTATAAGATGTTTAATAAT
CAAGATCAAACTTTTATTTGTTAATTTGAGCGAAAAATGACACTTAGTTCTGCATTGCATATAGTAATTGATTTTGGTGTTTCTTTGTTCAAGTTAGACCAACA
GAAACTCATGTGTAGCTGGACATTGCAGGTAGGGGAGAGAGGAGTACAATTATCAGGTGGACAGAAGCAGAGGATTGCAATAGCAAGGGCCATGCTTAA
GAATCCAGCAATCCTTCTCTTAGATGAGGCGACTAGTGCTTTAGATTCTGAATCAGAAAAACTAGTGCAAGAGGCTCTAGACAGGTTTCATGATTGGACG
AACGACTCTCGTAATTGCTCATCGCCTGTCTACCATCCGAAAGGCTGATCTAGTGGCCGTACTACACAACAAGGCAGTGTTTCTGAAATTGGATCGCATGA
TGAGCTTATGAGTAAAGGAGAGAATGGTATGTACGCTAAGCTCATCAAAATGCAAGAAACAGCTCTTAATAATGCCAGAAAGAGCAG
TGCGAGGTATCTAATACACCTTATAACGCGGTCTTGACCTTTGTTGTCAACAAGAATTTAATGTTCTTCAACATTTTCTTTTTTGCAGGCCCTCGAGCG
CAAGGAACTCCGTAAGCTCACCAATCATCACTAGAAACTCTTCCTACGGTCGATCACCATACTCCCGCCGGTTGTCTGACTTTTCTACATCGGACTTCA
GCCTCTCCCCTCGATGCTGCATATTCTAGTTACCGACATGAAAAGCTTGCATTCAAGGACCAAGCTAGTTCGTTCGGCCGGCTTGCAAAGATGAACTCTC
CTGAGTGGACTTACGCTTTAGTTGGTTCCATCGGTTCTGTCATTTGTGGTTCACTTAGTGCTGTTCTTTGCATATGTCCTGAGTGCTGTTCTTAGCGTGT
ATTACAATCCTGACCATGCTTACATGAGCAAACAAATTGCAAAATACTGTTACCTTTTGATTGGAGTTTCATCGGCTGCGCTCATTTTCAATACTCTAC
AGCATTTCTTCTGGGATGTAGTGGGGGAGAATTTGACAAAACGGGTGCGAGAGAAATGCTGGACGCCGTGCTTAAAATGGCATGGTTTGATC
AGGAAGAGAATGACAGTTCAAGAATTGCAGCAAGGCTAGCTCCGACGCCAACAATGTTAGGTCAGCCATTGGAGATAGAATCCCGTCATTATGCAGA
ACTCGGCTCTCATGCTAGTTGCATGCACTGCAGGATTTGTACTGCAGTGGCGTCTCGCCCTTGTCCTCATTGCTGTCTTCCCTGTGGTTGTTGCGGCAA
CTGTTTTACAGGTGAGTTCACAGAAATTCAACTCAATTTGCATAGCATGTTAATTAATCAGTTAGCAAATTCTTCAGATAAAGACCAACAGTCTCCACT
GTAGAACATGTATTTAGGTTATTATGGTTTACATTAGTTTTAGATTATATTTTCGTAGTGTGCTGAATAGTCTGTATTCTCCACCAGAAAATGTTCATG
ACGGGATTCTCGGGAGACCTAGAAGCTGCTCATGCCAAAGCAACACAACTTGCAGGGGAAGCTGTAGCTAACGTAAGAACAGTCGCTGCCTTCAATTCT

	GAAACAAAAATCGTCAACCTTTTCAACTCCAGCCTCCAAACTCCACTTAGGCGCTGCTTCTGGAAAGGACAGATTGCAGGAAGCGGTTATGGGATAGCT CAATTCTTGCTTTATGCTTCCTATGCCCTTGGCTTGTATGCCTCGTGGCTTGTCAAGCACGGGATATCTGACTTCTCGAAGACTATCCGTGTTTTC ATGGTCCTCATGGTTTCTGCTAACGGTGCAGCTGAAACGTTAACCTTAGCCCCCGACTTCATCAAAGGTGGCCGAGCAATGCGCTCAGTGTTCGACCTC CTTGACCGTAAAACAGAAGTTGAGCCTGATGATCCAGATGCCACCGCTGCCCCTGATCGTCTTCGCGGTGAAGTGGAATTTAAGCATGTAGACTTTTCA TATCCCACTAGGCCCGATGTGTCAATATTCCGTGATTTAAATCTCCGTGCTCGAGCTGGAAAGACTCTTGCTCTCGTTGGACCAAGTGGGTGTGGAAAG AGCTCGGTCATTGCACTAATCGAGCGGTTTTATGAGCCATCATCCGGACGTGTCATGATTGATGGCAAAGATATTCGAAAGTACAACCTTAAGTCTTTG AGAAAACACATTGCCGTGGTGCCACACAAGAACCTTGCCTCTTTGCTACCACCATCTACGAGAACACATTGCTTATGGACATGAATCAGCAACTGAAGCTGAG ATAATCGAAGCAGCAACCTTGGCAAACGCCCACAAGTTTGTATCTGCATTGCCTGATGGCTACAAAACATTTGTCGGAGAAAGGGAGTTCAGTTGTCC GGTGGACAAAAGCAAAGAATTGCCATCGCTCGTGCTTTCCTAAGGAAAGCAGAGCTAATGTTGCTAGACGAAGCAACAAGTGCTCTCGATGCAGAGTCT GAAAAATGTGTACAAGAAGCACTGGATCGCGCCTGTGCAGGAAAGACGACCATTGTGGTTGCACATAGGCTATCCACAATCAGAAATGCACATGTAATC GCGGTGATAGATGACGGGAAAGTAGCAGAACAAGGTTCTCATTCTCATCTGTTGAAAAACTACGCGGACGGAATTTATGCACGTATGATACAACTACAA AGATTTACACATGGTGAAGCTGTGAATATGGCAACAGGCTCCACTTCTTCTGCACGTCCCAAGGAAGATCAAGATTGA
15	>dffc6ea7-ba42-4fd8-a7f0-fa802cb8f541 （配列:mRNA） 435 個の残基[Nitab4.5_0000234:87476-135170 +鎖] [cds]ATGGCCGAGGAGATGAAAATGGAGACCCCCTTTAACCAACATTTCAAGGGAAAGAACATCAACGAACTCGATGTTAGGCAACCGAAGAGGGCTA AAATTGAAGAAAGAAAGAAACAACTGAATCAACAACTAGTAGATGAGGGTGTTGAAAGTCAAAGCAGTGCTATAGGCTTGGAGAATCAGAAGTCGATC CTAACTTGTTAGGATTGAGACATAGTTGTTGTATCGTCGTTTTAGTTGTTGCTATTGTTGTTGTCGTCATTGTCATTGTTGTTGTTGTTGTTGTTG TTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTT TTCTTGTCATTTCATTGTTGTTGTCATTGCTAAAGAACTATGA
16	>dffc6ea7-ba42-4fd8-a7f0-fa802cb8f541(配列:mRNA) 144 個の残基[Nitab4.5_0000234:87476-135170 +鎖][ペプチド]MAEEMKMETPFNQHFKGKNINELDVRQPKRAKIEERKKQLNQQLVDEGVESQSSAIGLGESEVDPNLLGLRHSCCIVVLVVAIVVVVIVIVVVVVVV VVVVVVVVVVVVVVVVVVVVVVFVVIIIVVVVVAIFLVIFIVVVIAKEL
17	**>Nitab4.5_0000465g0030.1 Nitab4.5_0000465:133943-138749 40 0.11** **A**TGTTTCAACTCAGTTCTATTTCTGTCCATCGTCTCAACCCCTTCATTATTACTATATAAATAGCCAAATCCAAAGCTAATTCCCACGCCCTTCTCT TCCCCAATAACCCATTTCCCAACTCATTAACCAAATCCATTATTCCTTTTCGATCCTCTGTTTCGTCACTTCCTTCAATTCTTGCTCACAAAGTAAGT CTATTCTGCCTTTTCGCATTTGCTTTTCCTCATTTGTACTTTTTGTTTAATCAGTTTTTGGTCATTATAAATTTGTATTAACGAACCATAGAGTTGTT TTTTTAATTAAATAATAGGTTGATCACGGGGTCATAATCTGATAACAGAGAAAACCAATCTAGCTGATGTTTACCTTAAAAGATAGCAGTAAATCT TTTAAAATAAACACTAGTTATGATTAATTGGTCTGTTTTCTATTCTCACCTTAATTTATGACGCTGAACATGCCCCGGCGCATTAAGTTTTACTGGTTTA AACAGCTCGAATCCATGACCTCCTCGTCACATGGGTTACGCCAAGGCTCACTTTCAATTTATGACCCTGAACATAAATTACTCAAATTGGGTATATTAT AAGTTATGGAATTACTAATTACTGTTTATTATACGAGATTGTTTAAATATTTTTTGTACTGTCAGTGCATAAAACTTAAATTCCATAGTTAAATAGCTC TCTGCCTACTCGTTGTTATTAATTGAAGAATTAACCCAAATAGTTGCGAACCCAATCTCTTAAACTGAAAATAGCCGACGAACATATAATATGCATA ACTGATGTATACTATATGTATAACTATGTATAATCTATGTATACCGGCTAGAAAAAGTAAATAGTAAATATGGCCGGCTATTTGTGTAACAATCCCTTC TTATTTTAACTCCATTAGTGGGAAAAGATTCTTATTATAGCATGGTGATAAAAGATTATATAATTTGGTTTTTGATTTTTTTTCCTTTTTAGGGAAGTGAA GTTGAGTTTGAGAAGGAGGTCGAGGAGGAGGAATCCGCTATGACGATTACTCCAGCGATTAGAATTTCCAATAGGAAGCTGGTGATAAAAGACAGAACA ATATTAACGAATGTACCAGACAATGTAATTACCACTTCTGGTGCAGCATCAGGTCCAGTGGAAGGTGTATTTATAGGTGCGGAATTCGATCAAGAAAAC

10

20

30

40

50

AGCCGCCATGTCGTGCCGTTAGGAAAATTACAGGATGTTAAATTCTTATCTTGTTTCAGGTTCAAATTATGGTGGATGGCTCAAAAAATGGGTGACAAA
GGAAGTGAGATTCCACTGGAAACCCAATTTTTACTTGTCGAAACCAAAGATGGGTCCCACCTCGGATCCGATAACAACAACAATGACAATAATATT
GTTTATGCGGTTTTCCTTCCATTAATTGAAGGTTCATTTCGAGCTGTTCTTCAAGGGAATCCTGAAGACGAGCTCGAATTGTGCCTCGAGAGCGGGGAT
AAGGATACTGTCGGCTCGGCATTTAATCAAGCAGTTTATGTGCATGCTGGCTGTGATCCGTTTATTGTTACAGAGGCGATAAGGGCAGTGAAATTA
CACCTCAAGACTTTCCGGCAACGGCATGAGAAGAAACTCCCCGGAATTGTTGATTACTTCGGGTGGTGTACGTGGGATGCTTTTTACCAAGAAGTTACT
CAAGAAGGCGTTGAAGCCGGCCTTGAAAGTCTCACTGCCGGCGGAGTACCGCCAAAGTTCGTCATCATCGATGACGGTTGGCAATCCGTCGGCGCAGAC
ATGGAAGTTGAAAAGCCGTTAATGAGACTTACTGGATTAAAAGAAAATGAGAAGTTTCAGAAGAACAAAGATCCAACCGTGGGGATTAAAAACATTGTG
AATATAGCTAAAGAAAAATACGGATTGAATTACGTGTGTACGTGGCACGCGATAACAGGTTATTGGGGCGGGTCCGACCCGGAGTGAAGGGGATGGAG
GAATACGGGTCGGTTATGAAGTATCCGGAGATTACGAAAGGGGTGATGGAAAACGAACCGGGTTGGAAAACGGATGCGATTGCGGTTCAGGGTTTAGGT
TTGGTTAACCCGAAAAGTGCTTATAAAGTTTTATAATGAAATGCATAGTTATTTGGCATCAGCTGGGGTAGATGGATTGAAGGTGGATGTTCAGTGTATA
TTGGAGACCCTAGGGGGTGGCTTAGGGGGTCGGGTTGAACTCACAAAACAGTATCATCAAGCTCTTGATGCTTCTGTTTCTAAGAACTTCCCCGATAAAT
GGTTGCATTGCTTGCATGAGTCACAGCACTGATGCACTTTACTGGTATGTTCACTTTCTATTTTGGTTAAATATTTTTGATCTTTTTATACTGATTCAT
GGTTAAGAAGTTAGGATCTAGTTTACCATTTATAAGTGTTTTCTATTTACTTATTTTGTTTATGTTTCTCATGTTATCCACTAATTTTTGGTCAGTTTCTTG
TAAATCTTAAAAGCTGAAATTTAGTTCTAAGTTATTCATGTGATGTTAGCATGATCTGTATTTCTCATGTTATCCACTAATTTTTGGTCAGTTTCTTG
AAAATGTTGAGATATTTATTGATTTTGGGAAGTAAAGGCAATTTATAATGGGTAAAGATCTGATTTTTGAGACTATCCTGTGGTGGTGTCTTGATTATC
TTTAACGAAGAAATAGAATATTTCTAATATTTAAGTAAATTATATTACGATCTCAAACAGTTTCTTGTTTGTTTAAAGTTTTTCTTTTCGTAAGAATGATC
ATTCAATATGATACATGACCGATGTGTCTCTTCTTGATTTCTCAATGTCAATCATATATGTGACTAATGTGGTAGTTGAGCTAGAACTTATGGCATATA
GTATGAAGCTATTGCAGTTGCAGATTCTATAAACTTATTTTAATGTTGAAATTCTGAACTATACTGATATATTGTGTTTGGATCATTGAATGAAACAGCT
CAAAGCAGACAGCTGTTGTTAAGAGCATCAGATGACTTCTATCCAAGAGATCCAATCTCACACACCATTCACATTGCTTGTGTGGCATACAACACAGTGTGT
TCCTTGGAGAAATTATGGTGCCTGATTGGGACATGTTCCACTCCCTTCATCCAGCTGCCGAGTATCACGGCTCGGCCAGGGCGTTGAGTGGTGGACCTG
TCTATGTTAGGTAAGAAATTATATCTCACAAGCATCCTTTTTTTTTTAATAACCGTGGTGTCCGGGCCAGCTTGCCCGCACCTCGACTAATTCCACGGA
ATAACTACCACCTCCCACCAGCAACAGGTACCAGGTAACACTATCCACCAAGGCTTGGATAGATGGGAATAAATCATCTAGTGTTTTTGCCTCCGCTGG
GATTTGACGAGTATCTGTGAATCCTTTTTTTTGTAACGATGAATCAAATGATGATTTGCGACAAGTTTCTAATTTTGTTGTTGTCTGAATTGACAGTGA
TGCACCTGGCAAGCACAACTTTGATGTCCTAAGGAAGCTTGTTCTCCGAGATGGTTCAATTCTTCGAGCTCGTTTGCCTGACCTACAAAGGATTCC
CCTTTCTTCCGATCCTTCTCGGGATGGTGTTAGGTAAGCATTTCATTTTCAAAATCAATGCTATTTACAGTAAGTTTGCTTTAGGTGGTCCTTAATTTT
GAATTTTTCAAGCGATAAACTTTATTTGATCAGAGTGAAAAGGAACGGTAAAGTTGTGTCGTGTGACCTATAGGTCACAGTTCTAGCCATGGAAGTAG
CCATTAATGCTTGTATTAGGGTAGACTTTCTACATCACACCCTTGGGGTGTGACCCTTCCCCCAACCCTGTGTGAATGCGGAATTCTTTGTGCACCGG
GCTGCTATTTCAGTGAAAACGAAACTAGTAGAATCCATTGCTTCAGACTCGAACCAAATATGCATATGCAAAAAAGAAAAAGGGTGTAATGGTAGTGTA
CTTTAACCACAAAAAGGTGCAATTAGACTCTTCTCTACTTGTCTTTTGAAGTTTTAACTATGATGTTTATTTGGCTGGAAATGAGCAATGAACTGTTTT
CTTAATTTGATTGCCATGGCGTGAATAGCATCTAACTAATCTAATATAATGTGTTTCAGCCTCTTGAAGATATGGAACATGAACAAATACACTGGTGTGCT
TGGAGTATACAACTGCCAAGGTGCAGCATGGAACACAGTTGAAAGGAAGAACACATTCCACCAAACTAATTCCGAGGCGATAACAGGCTATGTTAGGGG
CCGCGATGTCCATTTCATATCTGAAGCTTCCGTAGACCCCAACTGGATTGGAGACTGTGCTCTTTACTCCAATGTGCGCGCTGAGCTTGTTGTTCTCCC
TCACAATGCAGCGATTCCTATTTCTTTGAAGGTCCTCGAGCACGAGACGTACACTGTTACACCTATTCAGGTCTTGGCACCTGGCTTCAGCTTTGCACC
ATTGGGGCTCATTGACATGTACAATGCTGGTGGGGCAATCGAGGGACTAAAATACGAGGTAAAGGCAGGCGCAGAATTGTCTGAACTAGAGACTGGATA
CCAAGGCGAAGGAAATCTTGTTGCTGAAGATAGAATCGAGAACTTGAGCACAGAAGCAGTTGCAGTAGTGTCGATGGAAGTAAAGGGGTGTCATCGATT
TGGTGCTTACTCGTCTGTCAAGCCAAGGAAGTGCACTGTTGGTAGAAATATGGTTGACTTTGCCTACGACTCAGATTCTGGTTTGTTAACTCTGAATCT
TGATGGTATGCCTCCAGTTGATCAGAAAGTGCATCTCATTGAAGTTGAAGTATAG

18	>bdb258ab-11cf-458e-a55a-6ed24788b3a3 (配列:mRNA) 2541 個の残基[Nitab4.5_0005465:133943-138749 -鎖] [cds]ATGTTTCAACTCAGTTCTATTTCTGTCCATCGTCTCAACCCCTTCATTATACTACTATAAATAGCCAAATCCAAAAGCTAATTCCCACGCCCT TCTCTTCCCCAATAACCCATTTTCCCAACTCATTAACCAAATCCATTATTCCTTTTCGATCCTCTGTTTCGTCACTTCCTTCAATTCTTGCTCACAAAG GAAGTGAAGTTGAGTTTGAGAAGGAGGAGGTCGAGGAGGAATCCGCTATGACGATTACTCCAGCGATTAGAATTTCCAATAGGAAGCTGGTGATAAAAG ACAGAACAATATTAACGAATGTACCAGACAATGTAATTACCACTCTGGTGCAGCATCAGGTCCAGTGGAAGGTGTATTTATAGGTGCGGAATTCGATC AAGAAAACAGCCGCCATGTCGTGCCGTTAGGAAAATTACAGGATGTTAAATTCTTATCTTGTTTCAGGTTCCAAATTATGGTGGATGGCTCAAAAAATGG GTGACAAAGGAAGTGAGATTCCACTGGAAACCCAATTTTTACTTGTCGAAACCAAAGATGGGTCCCACCTCGGATCCGATTAACAACAACAATGACA ATAATATTGTTTATGCGGTTTTCCTTCCATTAATTGAAGGTTCATTTCGAGCTGTTCTTCAAGGGAATCCTGAAGACGAGCTCGAATTGTGCCTCGAGA GCGGGGATAAGGATACTGTCGGCTCGGCATTTAATCAAGCAGTTTATGTGCATGCTGGCTGTGATCCGTTTATTGTTATTACAGAGGCGATAAGGGCAG TGAAATTACACCTCAAGACTTTCCGGCAACGGCATGAGAAGAAACTCCCCGGAATTGTTGATTACTTCGGGTGGTGTACGTGGGATGCTTTTTACCAAG AAGTTACTCAAGAAGGCGTTGAAGCCGGCCTTGAAAGTCTCACTGCCGGCGGAGTACCGCCAAAGTTCGTCATCATCGATGACTTCTGTTCTAAGAACTTCC GCGCAGACATGGAAGTTGAAAAGCCGTTAATGAGACTTACTGGATTAAAAGAAAATGAGAAGTTTCAGAAGAACAAAGATCCAACCGTGGGGATTAAAA ACATTGTGAAATATAGCTAAAGAAAAATACGGATTGAATTACGTGTACGTGGCACGCGATAACAGGTTATTGGGCGCGGGTCCCGACCCGGAGTGAAGG GGATGGAGGAATACGGGTCGGTTATGAAGTATCCGGAGATTACGAAAGGGGTGATGGAAACCGAACCGGGTTGGAAAACGGATGCGATTGCGGTTCAGG GTTTAGGTTTGGTTAACCCGAAAAGTGCTTATAAGTTTTATAATGAAATGCATAGTTATTGGCATCAGCTGGGTAGATGGATTGAAGGTGGATGTTC AGTGTATATTGGAGACCCTAGGGGGTGGCTTAGGGGGTCGGGTTGAACTCACAAAACAGTATCATCAAGCTCTTGATGCTTCTGTTTCTAAGAACTTCC CCGATAATGGTTGCATTGCTTGCATGAGTCACAGCACTGATTGCACTTTACTGCTCAAAGCAGACAGCTGTTGTAAGAGCATCGACTTCTATCCAA GAGATCCAATCTCACACACCATTCACATTGCTTGTGTGGCATACACAACAGTGTGTTCCTTGGAGAAATTATGGTGCCTGATTGGGACATGTTCCACTCCC TTCATCCAGCTGCCGAGTATCACGGCTCGGCCAGGGCTGATGCACCTGGCAAGCACACAACTTTGATGTCCTAAGGAAGCTTGTTCTCCGAGATGGTTCAA TTCTTCGAGCTCGTTTGCCTGGTCGACCTACAAAGGATTCCCTTTTCTCCGGATCCTTCTCGGGATGGTGTTAGCCTCTTGAAGATATGGAACATGAACA AATACACTGGTGTGCTTGGAGTATACAACTGCCAAGGTGCAGCATGGAACACAGTTGAAAGGAAGAACACATTCCACCAAACTAATTCCGAGGCGATAA CAGGCTATGTTAGGGGCCGCGATGTCCATTTCATATCTGAAGCTTCCGTAGACCCCAACTGGATTGGAGACTGTGCTCTTTACTCCAATGTGCGCGCTG AGCTTGTTGTTCTCCCTCACAATGCAGCGATTCCTATTTCTTTGAAGGTCCTCGAGCACGAGACGTACACTGTTACACCTATTCAGGTCTTGGCACCTG GCTTCAGCTTTGCACCATTGGGGCTCATTGACATGTACAATGCTGGTGGGGCAATCGAGGGACTAAAATACGAGGTAAAGGCAGGCGCAGAATTGTCTG AACTAGAGACTGGATACCAAGGCGAAGGAAATCTTGTTGCTGAAGATAGAATCGAGAACTTGAGCACAGAAGCAGTTGCAGTAGTGTCGATGGAAGTAA AGGGGTGTCATCGATTTGGTGCTTACTCGTCTGTCAAGCCAAGGAAGTGCACTGTTGGTAGAAATATGGTTGACTTTGCCTACGACTCAGATTCTGGTT TGTTAACTCTGAATCTTGATGGTATGCCTCCAGTTGATCAGAAAGTGCATCTCATTGAAGTTGAAGTATAG
19	>bdb258ab-11cf-458e-a55a-6ed24788b3a3(配列:mRNA)846 個の残基[Nitab4.5_0005465:133943-138749 -鎖][ペプチド]MFQLSSISVHRLNPFIITTINSQIQKLIPTPFSSPITHFPNSLTKSIIPFRSSVSSLPSILAHKGSEVEFEKEVEEESAMTITPAIRISNRKLVIK DRTILTNVPDNVITTSGAASGPVEGVFIGAEFDQENSRHVVPLGKLQDVKFLSCFRFKLWWMAQKMGDKGSEIPLETQPLLVETKDGSHLGSDNNNNND NNIVYAVFLPLIEGSFRAVLQGNPEDELELCLESGDKDTVGSAFNQAVYVHAGCDPFIVITEAIRAVKLHLKTFRQHEKKLPGIVDYFGWCTWDAFYQ EVTQEGVEAGLESLTAGGVPPKFVIIDDGWQSVGADMEVEKPLMRLTGLKENEKFQKNKDPTVGIKNIVNIAKEKYGLNYVYVWHAITGYWGGVRPGVK GMEEYGSVMKYPEITKGVMENEPGWKTDAIAVQGLGLVNPKSAYKFYNEMHSYLASAGVDGLKVDVQCILETLGGGLGGRVELTKQYHQALDASVSKNF PDNGCIACMSHSTDALYCSKQTAVVRASDDFYPRDPISHTIHIACVA

10

20

30

40

50

	YNSVFLGEIMVPDWDMFHSLHPAAEYHGSARADAPGKHNFDVLRKLVLRDGSILRARLPGRPTKDSLFSDPSRDGVSLLKIWNMNKYTGVLGVYNCQGA AWNTVERKNTFHQTNSEAITGYVRGRDVHFISEASVDPNWIGDCALYSNVRAELVVLPHNAAIPISLKVLEHETYTVTPIQVLAPGFSFAPLGLIDMYN AGGAIEGLKYEVKAGAELSELETGYQGEGNLVAEDRIENLSTEAVAVVSMEVKGCHRFGAYSSVKPRKCTVGRNMVDFAYDSDSGLLTLNLDGMPPVDQ KVHLIEVEV
20	**>Nitab4.5_0006415g0050.1 Nitab4.5_0006415:50786-51348 40 0.11** **A**CTACAACTGGAGGAAGAGGTAGGGGAATATGGAGGGGTACTACAACTGGAAGAAGAGGTAATGGAATACGGAAGGGTACTACTGCTGGAGGAAGAGAC ATAGGAATAGGGAGGGGGTACTACTGCTGGAATGAAGAGAGAAAGGAAACGTGCTTCTAAAGATGGATACAGGGGGCCATGTATTTCAGTAAGAGAACCA ACTGATGTATGAGGAGGAGTTAGAGGACAAAAGAGACAAAACACAAACTGGATATGGATTATATATGTAGACCCTGAATCATCAAGGACAATACTAAGTGTA AGTAAACCATGACTTTTTAAATTTACCTGAATATGATGCTTACAATTGGAACTGATGACGTGAAAATATTTGTGATACTTCAGCCTGGTACAACTAGTG AAAGATTTATCATGGGTGGAACTTCTTTTACGAGTGCATCTGGTACCAATATTGACACTAGATTTAAACCACATGGCTTGAAATGGAATGGAAGAAAGG CAGTAACAACTGCCCAACTACAACAGATGAAAGTGTCAACAAGAAAAAGCAACACAACACAACTCCA
21	>35497343-5222-4e58-a0dd-1036e4330ed4 （配列:mRNA） 387 個の残基[Nitab4.5_0006415:50786-51348 -鎖] [cds]ACTACAACTGGAGGAAGAGGTAGGGGAATATGGAGGGGTACTACAACTGGAAGAAGAGGTAATGGAATACGGAAGGGTACTACTGCTGGAGGAA GAGACATAGGAATAGGGAGGGGTACTACTGCTGGAATGAAGAGAGAAAGGAAACGTGCTTCTAAAGATGGATACAGGGGGCCATGTATTTCAGTAAGAG AACCAACTGATCCTGGTACAACTAGTGAAAGATTTATCATGGGTGGAACTTCTTTTACGAGTGCATCTGGTACCAATATTGACACTAGATTTAAACCAC ATGGCTTGAAATGGAATGGAAGAAAGGCAGTAACAACTGCCCAACTACAACAGATGAAAGTGTCAACAAGAAAAAGCAACACAACACAACTCCA
22	>35497343-5222-4e58-a0dd-1036e4330ed4 (配列:mRNA) 129 個の残基[Nitab4.5_0006415:50786-51348 -鎖][ペプチド]TTTGGRGRGIWRGTTTGRRGNGIRKGTTAGGRDIGIGRGTTAGMKRERKRASKDGYRGPCISVREPTDPGTTSERFIMGGTSFTSASGTNIDTRFKP HGLKWNGRKAVTTAQLQQMKVSTRKSNTTTTP
23	**>Nitab4.5_0000278g0160.1 Nitab4.5_0000278:1174341-1175314 40 0.11** **A**TACTGGGTATTGAAAGAAAATGGAAACTTTGTGGGCTACGTCGCTTATACCAAATTCAAGCTGGATGATGGAACAGAGGAAAAGCAGTGAATGGG ACACAAGAAGAGAACAAGAAATTTGAAAGTGCACTTGCAATATACGATGAGAGAACTCCAAATAGATGGTTTAAGGTGGCGGATTTGATCCCTGGGAAG ACAGTATATGATGTGATGAAACAGTACAAAGAATTAGCAGCAGATGTAAGTGACATAGAAGCTGGCTTGTTCCCAGTTCCTCCTTCGTCTTTTATGCTT GAGTTGGTCGATGATAATCGCGGTGTTCAAGCGTTTAGAAAGAGGGGCAGATCTTTTGATCAAGAGAGAAAAAAGGTGTCCCATGGACTGAGGAAGAA CACAGGTGCACAACCTTTTCTAATTTTACTATCTTCTGTTATGCAGTGTAACATGTGAATTAAGAGTCAATTCCAATTCTGATTGCATATCATCCATAG ATTGGTAATGTAAATGACCTGATCTCAATAGATATAAGTTAAACTCTTAATAACTGAGAACTGGTTGATTTTGATGTTAACAAACAATGGTGTTATTGG GTTATAGGAGGTTTCTGATGGGACTTGACAAGCATGGGAAAGGGGATTGGAGGAACATATCAAGGAATTTTGTGATCTCAAAAACGCCAACGCAAGTGG CAAGTCATGCTCAAAAATACTATCTGAGACAGCTTTCAGGAGGGAAAGATAAGAGGAGACCTAGCATCCATGACATTACTACTGTCAATCTCACGAACA TCGACTTGTCCGACAACAATCTAAACAGCAACAACAACACAACAATAAATTTCCATCTTCGTTCGCGGTTAACAACCCGTTGCAGAATTCTAAATG ATGGAGCGTTGATGGCTTTTGGATCGTCTTATAACAGCAGCTCCTACCCCTATGAGTTTGGTTCAGTAAACATATGGAACTGA

10

20

30

40

50

24	>188ea1d5-d61e-4c54-8965-dd28b5ff39e8 (配列:mRNA) 774 個の残基[Nitab4.5_0000278:1174341-1175314 +鎖] [cds]ATACTGGGTATTGAAAGAAAATGGAAACTTTGTGGCTACGTCGCTTATACCAAATTCAAGCTGGATGATGGAACACAGAGGAAAAGCAGTG AATGGACACAAGAAGAGAACAAGAAATTTGAAAGTGCACTTGCAATATACGATGAGAGAACTCCAAATAGATGGTTTAAGGTGGCGGATTTGATCCCTG GGAAGACAGTATATGATGTGATGAACACAGTACAAAGAATTAGCAGCAGATGTAAGTGACATAGAAGCTGGCTTGTTCCCAGTTCCTCCTTCGTCTTTTA TGCTTGAGTTGGTCGATGATAATCGCGGTGTTCAAGCGTTTAGAAAGAGGGGCAGATCTTTTGATCAAGAGAGAAAAAAAGGTGTCCCATGGACTGAGG AAGAACACAGGAGGTTTCTGATGGGACTTGACAAGCATGGGAAAGGGGATTGGAGGAACATATCAAGGAATTTTGTGATCTCAAAAACGCCAACGCAAG TGGCAAGTCATGCTCAAAAATACTATCTGAGACAGCTTTCAGGAGGGAAAGATAAGAGGAGACCTAGCATCCATGACATTACTACTGTCAATCTCACGA ACATCGACTTGTCCGACAACAATCTAAACAGCAACAACAACAACAATAAATTTCCATCTTCGTTCGCGGTTTAACAACCCGTTGCAGAATTCTA ATGATGGAGCGTTGATGGCTTTTGGATCGTCTTATAACAGCAGCTCCCTACCCCTATGAGTTTGGTTCAGTAAACATATGGAACTGA
25	>188ea1d5-d61e-4c54-8965-dd28b5ff39e8 (配列:mRNA) 257 個の残基[Nitab4.5_0000278:1174341-1175314 +鎖][ペプチド] ILGIEKKMETLWATSLIPNSSWMMMEQRKSSEWTQEENKKFESALAIYDERTPNRWFKVADLIPGKTVYDVMKQYKELAADVSDIEAGLFPVPPSSFML ELVDDNRGVQAFRKRGRSFDQERKKGVPWTEEEHRRFLMGLDKHGKGDWRNISRNFVISKTPTQVASHAQKYYLRQLSGGKDKRRPSIHDITTVNLTNI DLSDNNLNSNNNNNNNKFPSSFAVNNPLQNSNDGALMAFGSSYNSSSYPYEFGSVNIWN
26	**>Nitab4.5_0000121g0050.1 Nitab4.5_0000121:119449-120792 40** **0.11A**TGGACAAGAAGATAATATTACTGTCTTTCCTGTGCATTAGTCTGCAGCTAGCAATTGTCTCATCTCAACTTCAAGTTGGTTTTTATAATACTAA AGCTAGATGTCCACGAGCAGAAACCATAGTTCGAGATACGGTTCGAAGCCGGTTCTTTGCGGATCGTTCCATCACGGCGGCATTGTTGCGGATGTATTT TCATGACTGTTTCGTGAGGGTAAGGAATTTATATATATGCTTGTTGCCATTGTAATTTAACAAATTATAGCATTGGACAAGACAGTAATTCACCTAAT TTCTGCTTTTTCAGGGTTGCGATGCTTCAATATTGATAGACTCCCAAAAACACAAAGAACAAACAGTCAGAAAAAAATGCAGGAGCAAATGGGTCAGTACG AGGATACGAGCTGATTGATCAGATAAAGAGTAAATTAGAGGCTACATGTGCTATGACAGTATCTTGTGCAGACATCATTGCATTAGCCACCCGAGATGC AGTGGCATTAGCTGGAGGACCGAGCTACAGCATCCCCACTGGTAGGCGCGATGGGCTAGTGTCAGACCCATCACAAGTGAACTTGCCGGGCCCTAGTGT AACCGTGCCACAAGCATTTCAAATTTTTCAAAAACACAAAGGCTTTACTATAAATGACATGGTGACTCTTTTAGGTGGCCACACCGTCGGAATTACACATTG TAGTTTGTTTCAAGCCGATAGGCTATCAAGGGCCGATGGCAGCATGGATACTAACTTGTTTAACCGTCTTAGAAAGACATGTTCTTCTAGAGGTGACCC ATCTGTATTCTTGGACCAAAACACTTCATTTGTTGTCGATAACTCCTTCTACAAACAGCTAAGGTTGAAGAAAGGAATATTGAAAGTTGATCAGTTACT TGCATCTGACAAATCAACCGCTGGGATTGTGGCGAATTTTGCCTCTAATCCAAGAGCCTTCCAACAAGCTTTTGCAAAGGCATTGATCAAGTTAGGTAA CACTCAAGTTCTAATGGGGAAATCAGGAGAAATTGTAGAGCCTTTAATCCTCCTCAACTTAAGAGCCCTCCTCCCCCCAAAATCTT AAAGAGTCCTCCCCCTCCTCCTAAGATCTTAAAGAGTCCTCCTCCCCCACACCCACACCAAAGTCTCCATTCCTCCTCCTCACCACACCCAAAGTTTCCGT TCCTCCTCCTCCTCCACCCAAAGTTTCCTTCTTCCTCCCCCACACCTAAGGTTTCAGTTCCTCCACCATCACTACCTAAATTCTTGACTCCTCCC TCCTCCTCCTCCTTCAGTTGTTTAATAGTTCACCGCTACTTGTGACTGCTCCAGCAGCTTAA
27	>d953d67f-5c73-43ce-aa6f-2318d568e111 (配列:mRNA) 1251 個の残基[Nitab4.5_0000121:119449-120792 -鎖] [cds]ATGGACAAGAAGATAATATTACTGTCTTTCCTGTGCATTAGTCTGCAGCTAGCAATTGTCTCATCTCAACTTCAAGTTGGTTTTTATAATACTA AAGCTAGATGTCCACGAGCAGAAACCATAGTTCGAGATACGGTTCGAAGCCGGTTCTTTGCGGATCGTTCCATCACGGCGGCATTGTTGCGGATGTATT TTCATGACTGTTTCGTGAGGGGTTGCGATGCTTCAATATTGATAGACTCCCAAAAACACAAAGAACAAACAGTCAGAAAAAAATGCAGGAGCAAATGGGT

10

20

30

40

50

	CAGTACGAGGATACGAGCTGATTGATCAGATAAAGAGTAAATTAGAGGCTACATGTGCTATGACAGTATCTTGTGCAGACATCATTGCATTAGCCACCC GAGATGCAGTGGCATTAGCTGGAGGACCGAGCTACAGCATCCCCACTGGTAGGCGCGATGGGCTAGTGTCAGACCCATCACAAGTGAACTTGCCGGGCC CTAGTGTAACCGTGCCACAAGCATTTCAATTTTTCAAAAACAAAGGCTTTACTATAAATGACATGGTGACTCTTTTAGGTGGCCACACCGTCGGAATTA CACATTGTAGTTTGTTTCAAGCCGATAGGCTATCAAGGGCCGATGGCAGCATGGATACTAACTTGTTTAACCGTCTTAGAAAGACATGTTCTTCTAGAG GTGACCCATCTGTATTCTTGGACCAAAACACTTCATTTGTTGTCGATAACTCCTTCTACAAACAGCTAAGGTTGAAGAAAGGAATATTGAAAGTTGATC AGTTACTTGCATCTGACAAATCAACCGCTGGGATTGTGGCGAATTTTGCCTCTAATCCAAGAGCCTTCCAACAAGCTTTTGCAAAGGCATTGATCAAGT TAGGTAACACTCAAGTTCTAATGGGGAAATCAGGAGAAATCAGAAGAAATTGTAGAGCCTTTAATCCTCCTCAACTTAAGAGCCCTCCTCCTCCCCCA AAATCTTAAAGAGTCCTCCCCCTCCTCCTAAGATCTTAAAGAGTCCTCCTCCCCCACACCCAAAGTCTCCATTCCTCCTCCACCACACCCAAAG TTTCCGTTCCTCCTCCTCCTCCACCCAAAGTTTCCTTCTTCCTCCCCCACACCTAAGGTTTCAGTTCCTCCACCATCACCACTACCTAAATTCTTGA CTCCTCCTCCTCCTCCTCCTTCAGTTGTTAATAGTTCACCGCTACTTGTGACTGCTCCAGCAGCTTAA
28	>d953d67f-5c73-43ce-aa6f-2318d568e111 (配列:mRNA) 416個の残基[Nitab4.5_0000121:119449-120792 -鎖][ペプチド]MDKKIILLSFLCISLQLAIVSSQLQVGFYNTKARCPRAETIVRDTVRSRFFADRSITAALLRMYFHDCFVRGCDASILILDSKNTKNKQSEKNAGANGSVRGYELIDQIKSKLEATCAMTVSCADIIALATRDAVALAGGPSYSIPTGRRDGLVSDPSQVNLPGPSVTVPQAFQFFKNKGFTINDMVTLLGGHTVGITHCSLFQADRLSRADGSMDTNLFNRLRKTCSSRGDPSVFLDQNTSFVVDNSFYKQLRLKKGILKVDQLLASDKSTAGIVANFASNPRAFQQAFAKALIKLGNTQVLMGKSGEIRRNCRAFNPPQLKSPPPPPKILKSPPPPPPKVSIPPPPPPPPPKVSVPPPPPKVSFLPPPPPKFLTPPPPPPSVVNSSPLLVTAPAA
29	**>Nitab4.5_0004932g0010.1 Nitab4.5_0004932:24371-30301** **40** **0.11A**AAAGAGATGATGAAGAGGAAGACAACGCTGCCATGGGAATAACAAGTACACCACCTCGTCCTTCTATTGTTACATCTCATAATTCAAAGGGTCA CATTAATCCAACAATTCTTCATCAACTCTCGGATAATCTCAATTCTATGTCCCAAGATTATCATCACCAAAGTCTTTTCAGTTTCCCGAATGGGTTCGA GAGATCACAAGCGGAACAACAGCAGCAGCAGCAACACACATGGCTCAACAGATCCGTCGAGATAAATTACGAGTGCAAGGATTTGAACCCCA ACCGTTTGAAGAAGAAACGAGTGGGCTTCCAGTTTATGATCAGACCGCTGGAATGTTATCTGAAATGTTTAGTTTCCCACCCGGCACGTCATCGGAGTT GTTGGAGGCCCAATTCAACCCGAATTACAGACACCCGAACCCGAATCAACGGTCTCAGCCACAGCAGATTCCCACCTCCCGCCGGCATGGGAAACGAGTG GTTCGGGAACCGACAAGGAATGGTAGTAGTACCATTGGGATATGCAAAAAATCATAACAATCAGATATCAAGTGCTGGTATTAATGCGGCGGAGTCCATGCA ACTTTTTCTTATGAATCCACAGCCAAGGTCACCTTCACCTTCTCCTTCTCATCCTCCTCCTTCAACTAATTCTTCTACTCTTCACATGTTGTT ACCAAATCCATCATCTACTTCAACTATAGAAGGGTTTCCCAATCCAGCTGAAGGATCTTTTGGTCAATTCACATGGGGTAATAATGGAGGTGCAAGTGC CAGTCTCAATACCCCTAATGAAATCGGAGCTGGAGTAAATCATGTTGTAGAAAGCCAAGGCCTTTCTTTATCTTTATCATCTTCATTACAGCACAAGGT CGAGGAATTAAGGATGGGCGAAGAAAGTGGAATGTTATTTTTCAATCAAGGAGGAGGAGGGTCTACTACTTCTGGACAATTTCGATACAAGAATTTGAA TATTGGTAACAGTGGAGTAGTAGGCCAAAACATTCATCAACAAGTCCATGTTGGGTATGGCTCTTCTTTAGGAGTGGTGAATGTGTTGAGAAATTCCAA GTATGCTAAAGCAGCCCAAGAACTACTGGAAGAATTTTGCAGTGTTGGGAGGGGTAAATTCAAGAAGAATAACAAAGCAACAGCCGCTAACCCTAATTC TAATAACCCTAGTGGCGGCACTAATGGTGGCGGCGGTAACAATAATACTTCATCGTCTTCATCAAAGGATCTGCCTCCTTTGTCAGCTGCTGATAGGAT TGAACATCAGAGAAGGAAGGTCAAACTTTTATCTATGCTTGATGAGGCACGTATCCTTTCTCTCTCTCTCTTAGGGTCAATAAGCAATCATTGTTG TTTATTTAGTCTCTTAATTAAAGAAAAATATCTACAGAAAGTTACGGCATTTTTCGTGGAATATTTTATAAATTAAAAATTAAGCCGGCTAGGGGAATA GGTTTCGTCATTTCACATAGATTGAGTTTGTTGAGTTTTAAGTAGATTCTAATTAAGAAATCTGTATTTTGTTAATTAAGGAGTGATTCGACGGGTGGG

10

20

30

40

50

TCACTAAGCTACGTATTTGATTTAATTTCCGACGAGTAGAACAAATAAGTGATCAGAAACTTTCCTTATTTAAGTGTGAAAACATAGGTTTGTATTAGGG
AAATATGTTCCATTATTGTCGTAATTAATATTAATTTGGTCGCAAGCTACCATCAGACTAAAGCCTCAAACAAGGAATAAGCAAGTGCGATGATATTAG
AATACACTTAAAAGTCCATCGTGGTTGGTTTGAGCTGACCTTAATTTTGATTTCTTCAATTGCTTATGTAAATACTAATACGCTGATATTTACGTGTT
GGCTGTATTGATAGAAACCCAAGACAAAGCAGGAATAACTCAAATAGGATATTTCAGTTCACATCAACGTTCATTTCAGCGTCTAATGATCATTTCCC
AGCTTCTACCTTTTTCCCCTCCTATTAGTTTTCTTCTTTTTTTAATGCTCTTATCTAATTCTCCGCATTGAAAATTATTTGAGACGCTTAAGTCAC
TCCAAATTGGAATTTGATCCTTCTTACTATTTGAAGTGTTGATCTTGGATTTCTCTTTGTTTCCCCGGACCCCGCACATAGCAGAAGCTTGGTGCACCG
GACTATCATTATTTATATTTTTAGCGCTTAAATATCCACTTTTTAAACAAATTAGAGTATTCTCTTTTGTATCATAATAATTTTTTTTATTTGCAAG
CAGGTAGATAGGAGGTACAATCATTACTGCGAGCAAATGCAAATGGTGGTAAACTCGTTTGATCTAGTGATGGGTTTCGGTGCAGCAATTCCTTACACA
GCACTTGCACAGAAGGCTATGTCAAGACACTTCAGGTGTTTGAAGGATGCAATAACAGCACAATTGAAACACAGTTGTGAACTGCTGGGAGATAAAGAT
GCCGGCACTTCAGGATTGACTAAAGGAGAAACTCCAAGGCTTAAGATGCTTGAGGCAGCAAAGAGCCTTTCACCAAATGGGAATGATG
GAACAAGAAGCTTGGAGACCCCAAAGAGGCTTACCTGAACGCTCTGTCAACATTTTAAGAGCTTGGCTTTTTGAGCATTTCCTCCACCCGTACGTCTTT
CTCTCTACTCTATCCTACATTAAGAGTTGGATTCAATCTCTATACATTGACTAAAGTGTACAAATTATTAATACTATCTCAGTACTACTGAAACATTGT
CTTTTTTATCTCCTTGAACCGAGAGTCTAACGGAAACAGCCTCTCTACCCCTTGGGGTAGGGGTAAGGTTTGCGTATACTTTACCCACCTCAAACCCCA
CTTGTAAGATTTTATTGGGTTGTTTTATCTTAGCATACTTCTTAACTTATTATTGCTAGTAATATGTCCTACTTTCCAAGTTACTAATCTTAATTTTAGTT
GAACTGATAGTGTACAAATTCTTGAGACGGACTATTATTTTTTAAAAAATAGTGTAGAATTTTTTTTTTATAACATCAGGATAATGTCAATTGAAAGTAAATT
TAGTAACTTAGGAAATAAGTAATGTGCTATATAATAAGTTTAGTCAAAAATTCGGTTTTTAAAGTTTTTTTAATCCGCTGCATCGTGCTCCTATACTTAATTCTG
TTGACCATAATAAAGTCTAACCTTTTTTTTCAATCCCCATGTCTTAACTCCCTAACACCGATGGGAATCTGAATCTTCTTACATTTACTGTATAAACAAA
AGTAGAAACCCTATTACTCCTATTATGGAATTATGAAGGGACAAAATGAAGCTTCACACCCATCAATCAACTTTTATTAGTCTAAGACACATTTCCAAC
ATCACTTTATAGCTTTTTCTTTTTTTCTTTTTCCCTTGCAGTGTCTGATTTTAAAGGAACCCGAATTCAGTGTCCTTTCATGAATAAAGTAAATTTTA
GCTCTTTCTCCTGGATCCAATGCGCTAGTGCTGTCTCCTGCTGACATAGGCATGATTTGAAGATGGAAAAGAAAAGAACCTATTCAATAAGCTGACAT
GCATATAGAAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATGAATAATGAT
AAAAGCAGCTTGGGGAGCTACTAGACAAAAGAAATAAAATTGTATCTAAAAATGAATGTTATGAACAAGATGAGTGCATGCATTTTTTTTTCTGCCTTT
ACTTCTGTTACTAGTGGCAGAGAGGTACCGCTGCTATTGCTGTTTTTCATGGATTGTCACGCCCATGCAGAGAAAAGAAAGCAAGAAAGTGTCAA
TTCACATCTACGGATAAAGAAAGTTTAGTCATCTCTTTATACGGTTTTGGTAATGAGTCTGATGTTTTTATTTTTTTCTTGGGGTCATGACTTTTCTCA
GGTATCCAAGCGATGCTGATAAGCATCTGTTGGCAAGACAGACTGGTCTCTCAAGGAACCAGGTTCGCTCATCGTCTCTTCTTTCTCTTCAAGTTTTC
TTATTCATATTATTATGCATATGCTGGATCTAGAATTTAAATCTAAATATTCTGTTCCTTACAGTAGCTATTTTTTTGTTTTTTTCCGGGGAAATTTTAAG
TACTTAATGTTAATCCCTACAATATTAAGGAATTGTTACAACATATGACCTGAGCTATTTTTTTAATAATTTATTTGTTTCAAAAACAAGTTATAAAAT
ATATAGTAATTTATTTAACTGAAGTAAACATCGAATTAATTACTGATAAACAGATAGTAGTATTAGATAATGAGGTTGTTGTGTTGTACATTGCCA
CCGGCTTGGATATTAAAAGTTACTTCTTTACTCGGTAAAAAAAACGTTACTAATAGCTTGGGATGCATGGATTTTTCTTTTTTAAAAAACTTTGGGATTTT
GCAAAGGGAGGGAACTGTGGAATTGAACCCCATACTAATTGTGCGAAAACGCCAAACGATAACACTAGACTTGTAGTGATTGCATGGATTTTTGGTTTT
GGTTCTCCACCTTCCTTTTTTTTTTTAACCTAATTGGGGCATGGCAAGAGCCTTTTATTTTTCCTTTCCTACAAAGACATAAATTTCTAGAT
TTAAAAAGAAAATCTAGGAATAGTAAGTGCAGAGGGAAAAGCATATGAAGTCCAATCACACGTCAATTAATTAAATGCGATAGGTAGCGAATTTTTATTT
CACGGAACTAAATATGGTCATGCATGTTGACTCTCTACACTGAAAGATGAATCACAGTAGTATCCACTCCTTACTCCATCACTTCATTCTTC
CCTGAAAATTGTGTTTATTCAACTCTATGGTGCGTATATGGTATATTAGTACTGTCTGTATACTAGAACTGAGTAAAGATGGTATGATAAACTCTCTTTT
ACACCGTTATTATGAAAAAAGTTAAATTCTTTATTGAAAATGATTGAGCTTATATATATTCATTGTATAAGAGAATTTCACACTATATGTGTAAATTGA
CATTTTGTAGCAAATTATCTGCATTATATTTTAGAATATATCAATTAATCATGTGATGTTACCTGTAATTATCTATTAAGTGACTGATAATGT
AAAAGATTTTTTTACGTGGTCAGTATATAGAAATTAAATCTGATGTAACCTCTCGTATCTTTCAAACGTTGTTGAATTCTTTCTGTTAACAATTCTCAG

10

20

30

40

50

	TTAAATGGAATATCCCCGAAATGTAACAAATGAGTGAAAAAAGCGTAATAAAATACGTCATAATGGTAGTTAATTAATGATGGGCTATTTTTTGTGTAT GAATGTGCTTTTTTTTTCAGGTATCAAACTGGTTCATAAATGCCAGGGTGCGGTTGTGGAAACCCATGGTAGAAGATGTATCAACAAGAAGCCAAAGA AGAAGAGGAGGAAGATGATGAAAGAGAGAATAGCCAAAACCAAAATAGTGGCAATAATGCACAAACACCAACGCCTAATATGAGTAACTCTTCTTCTAC TAATATGACCACAACTACGACAGCACTAGGAGCAGCTGCAGCAGCAGAGACAGGAACAGCTGCCACTGCCACAACAGCAACAGCAGCATCCACATT AGGCAAAAGATCCGAAATCAATGCCCCTGAAAACGACCCTTCACTCGTTGCAATCAATTCCCACATTTCCTTCTCGGAAAACCAAGCAACTTTCCCGAC CAATATTCATGACTCCGACGCCGCGGCATGCCGTCGCGGCGGCAAGTTCTTCGGTGATGATTATGGGACCACCACCAACGCTGATGTGGGATCCACCAT GATAAGATTTGGGACCACTTCTGGTGATGTGTCACTCACCTTAGGGTTACGCCATGCAGGAAATTTACCAGAGAATACTCATTTCTTTGGTTAA
30	>498f4940-bb05-408c-a3af-9607ea1a902b （配列:mRNA） 2316 個の残基[Nitab4.5_0004932:24371-30301 +鎖] [cds]AAAAGAGATGATGAAGAGGAAGACAACGCTGCCATGGGAATAACAAGTACACCACCTCGTCCTTCTATTGTTACATCTCATAATTCAAAGGGTC ACATTAATCCAACAATTCTTCATCAACTCTCGGATAATCTCAATTCTATGTCCCAAGATTATCATCACCAAAGTCTTTTCAGTTTCCCGAATGGGTTCG AGAGATCACAAGCGGAACAACAGCAGCAACAGCAGCAACAACACATGGCTCAACAGATCCGTCGAGATAAATTACGAGTGCAAGGATTTGAACCCC AACCGTTTGAAGAAGAAACGAGTGGGCTTCCAGTTTATGATCAGACCGCTGGAATGTTATCTGAAATGTTTAGTTTCCCACCCGGCACGTCATCGGAGT TGTTGGAGGCCCAATTCAACCCGAATTACAGACACCCGAACCCGAATCAACGGTCTCAGCCACAGCAGATTCCACCTCCCGCCGGCATGGGAAACGAGT GGTTCGGGAACCGACAAGGAATGGTAGTACCATTGGGATATGCAAAAAATCATAACAATCAGATATCAAGTGCTGGTATTAATGCGGCGGAGTCCATGC AACTTTTCTTATGAATCCACAGCCAAGGTCACCTTCACCTTCTCCTCATCCTCCTCCTTCAACTAATTCTTCTACTCTTCACATGTTGT TACCAAATCCATCATCTACTTCAACTATAGAAGGGTTTCCCAATCCAGCTGAAGGATCTTTGGTCAATTCACATGGGGTAATAATGGAGGTGCAAGTG CCAGTCTCAATACCCCTAATGAAATCGGAGCTGGAGTAAATCATGTTGTAGAAAGCCAAGGCCTTTCTTTATCTTCATTACAGCACAAGG TCGAGGAATTAAGGATGGGCGAAGAAAGTGGAATGTTATTTTTCAATCAAGGAGGAGGAGGGTCTACTACTTCTGGACAATTTCGATACAAGAATTTGA ATATTGGTAACAGTGGAGTAGTAGGCCAAAACATTCATCAACAAGTCCATGTTGGGTATGGCTCTTCTTTAGGAGTGGTGAATGTGTTGAGAAATTCCA AGTATGCTAAAGCAGCCCAAGAACTACTGGAAGAAATTTTGCAGTGTTGGGAGGGGTAAATTCAAGAAGAATAACAAAGCAACAGCCGCTAACCCTAATT CTAATAACCCTAGTGGCGGCACTAATGGTGGCGGCGGTAACAATAATACTTCATCAAAGGATCTGCCTCCTTGTCAGCTGCTGATAGGA TTGAACATCAGAGAAGGAAGGTAGATAGGAGGTACAATCATTACTGCGAGCAAATGCAAATGGTGGTAAACTCGTTTGATCTAGTGATGGGTTTCGGTG CAGCAATTCCTTACACAGCACTTGCACAGAAGGCTATGTCAAGACACTTCAGGTGTTTGAAGGATGCAATAACAGCACAATTGAAGTCTGAGGCAGCAAAGAGCCTTTC TGCTGGGAGATAAAGATGCCGGCACTTCAGGATTGACTAAAGGAGAAACTCCAAGGCTTAAGATGCTTGAACAAAGTCTGAGGCAGCAAAGAGCCTTTC ACCAAATGGGAATGATGGAACAAGAAGCTTGGAGACCCCAAAGAGGCTTACCTGAACGCTCTGTCAACATTTTAAGAGCTTGGCTTTTTGAGCATTTCC TCCACCCGTATCCAAGCGATGCTGATAAGCATCTGTTGGCAAGACAGACTGGTCTCTCAAGGAACCAGGTATCAAACTGCCAGGGTGC GGTTGTGGAAACCCATGGTAGAAGAGATGTATCAACAAGAAGCCAAAGAAGAGGAGGAAGATGATGAAAGAGAGAATAGCCAAAACCAAAATAGTG GCAATAATGCACAAACACCAACGCCTAATATGAGTAACTCTTCTTCTACTAATATGACCACAACTACGACAGCACTAGGAGCAGCTGCAGCAGCAG AGACAGGAACAGCTGCCACTGCCACAACAGCAACAGCATCCACATTAGGCAAAAGATCCGAAATCAATGCCCCTGAAAACGACCCTTCACTCGTTG CAATCAATTCCCACATTTCCTTCTCGGAAAACCAAGCAACTTTCCCGACACCAATATTCATGACTCCGACGCCGCGGCGGCAAGTTCT TCGGTGATGATTATGGGACCACCACCAACGCTGATGTGGGATCCACCATGATAAGATTTGGGACCACTTCTGGTGATGTGTCACTCACCTTAGGGTTAC GCCATGCAGGAAATTTACCAGAGAATACTCATTTCTTTGGTTAA
31	>498f4940-bb05-408c-a3af-9607ea1a902b (配列:mRNA) 771 個の残基[Nitab4.5_0004932:24371-30301 +鎖][ペプチド]KRDDEEEDNAAMGITSTPPRPSIVTSHNSKGHINPTILHQLSDNLNSMSQDYHHQSLFSFPNGFERSQAEQQQQQQQQHMAQQIRRDKLRVQGFEP

QPFEEETSGLPVYDQTAGMLSEMFSFPPGTSSELLEAQFNPNYRHPNPNQRSQPQQIPPPAGMGNEWFGNRQGMVVPLGYAKNHNNQISSAGINAAESM QLFLMNPQPRSPSPSPSHPPPPPSTNSSTLHMLLPNPSSTSTIEGFPNPAEGSFGQFTWGNNGGASASLNTPNEIGAGVNHVVPSQGLSLSLSSSLQHK VEELRMGEESGMLFFNQGGGGSTTSGQFRYKNLNIGNSGVVGQNIHQQVHVGYGSSLGVVNVLRNSKYAKAAQELLEEFCSVGRGKFKKNNKATAANPN SNNPSGGTNGGGGNNNTSSSSSKDLPPLSAADRIEHQRRKVDRRYNHYCEQMQVVNSFDLVMGFGAAIPYTALAQKAMSRHFRCLKDAITAQLKHSCE LLGDKDAGTSGLTKGETPRLKMLEQSLRQQRAFHQMGMMEQEAWRPQRGLPERSVNILRAWLFEHFLHPYPSDADKHLLARQTGLSRNQVSNWFINARV RLWKPMVEEMYQQEAKEEEEEDDERENSQNQNSGNNAQTPTPNMSNSSSTNMTTTTTALGAAAAAAETGTAATATTATAASTLGKRSEINAPEENDPSLV AINSHISFSENQATFPTNIHDSDAAACRRGGKFFGDDYGTTTNADVGSTMIRFGTTSGDVSLTLGLRHAGNLPENTHFFG

【００８９】

適切には、本発明による使用のためのタンパク質は、ニコチアナ・タバカムに由来するポリヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【００９０】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞（例えば、植物細胞）のアルカロイド含有量を減少させる方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【００９１】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部又は植物細胞のアルカロイド含有量を減少させる方法であって、前記方法は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含み、前記少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含み、或いはＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む、前記方法を提供する。

【００９２】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部（例えば、葉）においてＴＳＮＡ前駆体の含有量を減少させる方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。適切には、その方法は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含み、前記少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含み、或いは、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む。

【００９３】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部（例えば、葉）においてＴＳＮＡ前駆体の含有量を減少させる方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【００９４】

一態様では、本発明は、処理葉、例えば、乾燥葉においてＴＳＮＡの含有量を減少させる方法であって、

少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって植物を改変するステップ、

前記植物から葉を採取するステップ、

及び処理するステップ、例えば、前記収穫葉を乾燥させるステップ

を含む方法を提供する。

【００９５】

適切には、処理葉においてＴＳＮＡの含有量を減少させる方法は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含む場合があり、前記少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含み、或いはＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む。「減少させること」又は「阻害すること」（例えば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を阻害すること）という用語は、本明細書で使用される場合、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性又は発現が、比較できる製品における遺伝子の活性又は発現と比較して低いか又は減少していることを

意味する。

【００９６】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞（例えば、植物細胞）のアルカロイド含有量を増加させる方法であって、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の活性又は発現を増大又は増強することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【００９７】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部又は植物細胞のアルカロイド含有量を増加させる方法であって、前記方法は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大又は増強することによって前記植物を改変するステップを含み、前記少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含み、或いはＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む、方法を提供する。一態様では、本発明は、植物若しくはその一部（例えば、葉）においてＴＳＮＡ前駆体の含有量を増加させる方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大又は増強することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【００９８】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部（例えば、葉）においてＴＳＮＡ前駆体の含有量を増加させる方法であって、前記方法は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大又は増強することによって前記植物を改変するステップを含み、前記少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含み、或いはＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む、方法を提供する。

【００９９】

「増大させること」又は「増強すること」（例えば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性又は発現を増大させること）という用語は、本明細書で使用される場合、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性又は発現が、比較できる製品における遺伝子の活性又は発現と比較して、より高い又は増大していることを意味する。

【０１００】

本発明によれば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現が調節される。

【０１０１】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞（例えば、植物細胞）のアルカロイド含有量を調節する（すなわち、増加させる又は減少させる）方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を調節する（すなわち、増大させること又は減少させること）によって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【０１０２】

「活性」という用語は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質のいかなる機能性も指す。

【０１０３】

例えば、ＤＮＡと結合する及び／又は転写因子などの転写調節において機能する、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の能力である。そのような活性、例えばＤＮＡ結合を測定する方法は当分野で知られている。例えば、ＤＮＡ－タンパク質の相互作用を決定する技術としては、フットプリントアッセイ、電気泳動移動度シフトアッセイ、サウスウエスタンブロッティング、酵母ワンハイブリッドアッセイ、及びクロマチン免疫沈降が挙げられる。

【０１０４】

本発明に従って、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は非機能的にされ得る。例えば、非機能的なＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、ＤＮＡと結合し、転写リプレッサーの結合を妨げる又は低減させ得る。

【０１０５】

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性の調節は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を増大させること又は減少させることを必要とし得る。

【０１０６】

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を増大させることは、本発明に従って改変されていない植物におけるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質と比較して、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の特定の機能を実施する能力を増強又は改善することを指す。

【０１０７】

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を減少させることは、本発明に従って改変されていない植物におけるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質と比較して、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の特定の機能を実施する能力を低減、阻害又は破壊することを指す。Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性は、活性が妨げられる又は除去されるような程度に低減され得る。

【０１０８】

一部の実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性は、本発明に従って改変されていない植物（例えば、タバコ植物）におけるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性と比較して、少なくとも約１０％　２０％　３０％又は４０％、適切には、少なくとも約５０％、６０％、７０％、より適切には、少なくとも約８０％、９０％、９５％又は１００％調節され得る（すなわち、増大され得る又は減少され得る）。適切には、活性は減少していてよい。

【０１０９】

一部の実施形態では、調節されたＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、未改変Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質と比較して増大した又は減少した活性を呈示する。調節されたＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、未改変Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質と比較して、少なくとも約１％、少なくとも約３％、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％又は少なくとも約９０％増大した又は減少した活性を呈示し得る。

【０１１０】

タンパク質活性を測定するための技術は、当技術分野で公知である。例えば、ＤＮＡ結合活性を測定するためのアッセイが知られている。

【０１１１】

一態様では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞（例えば、植物細胞）のアルカロイド含有量を調節する（すなわち、増加させる又は減少させる）方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現を調節する

（すなわち、増大させる又は減少させる）ことによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【０１１２】

遺伝子の「発現」とは、遺伝子にコードされる情報が機能性に変換される程度を指す。遺伝子の発現のレベルは、細胞又は生物中に存在する遺伝子の産物の量と同じと考えることができる。遺伝子の発現を調節する（すなわち、増大させる又は減少させる）改変とは、未改変植物又は細胞と比較して、植物又は細胞中のその遺伝子の産物の量を増大させるものである。

【０１１３】

一部の実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質遺伝子の発現が、本発明に従って改変されていない植物（例えば、タバコ植物）におけるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の発現と比較して、調節される（すなわち、増大される又は減少される）。

【０１１４】

一部の実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質遺伝子の発現が、本発明に従って改変されていない植物（例えば、タバコ植物）におけるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の発現と比較して、少なくとも約１０％、２０％、３０％又は４０％、適切には、少なくとも約５０％、６０％、７０％、より適切には、少なくとも約８０％、９０％、９５％又は１００％調節され得る（すなわち、増大され得る又は減少され得る）。適切には、発現は減少していてよい。

【０１１５】

一部の実施形態では、調節されたＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、未改変のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質と比較して増大又は減少した発現を呈示する。調節されたＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、未改変のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質と比較して、少なくとも約１％、少なくとも約３％、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、又は少なくとも約９０％増大又は減少した発現を呈示し得る。適切には、発現は減少していてよい。

【０１１６】

典型的に、遺伝子はｍＲＮＡに転写され、これが、タンパク質、最終遺伝子産物に翻訳される。タンパク質は、細胞ストア（cellular stores）に隔離され、及び／又は分解される場合がある。遺伝子の発現は、これらのステップのいずれか又はすべてを調節することによって調節され得る。したがって、一部の実施形態では、改変は、以下の方法のうちの１つでＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の発現を調節する（例えば、減少させる）：

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子からの転写を調節する（例えば、減少させる）こと、

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子からのｍＲＮＡの翻訳を調節する（例えば、減少させる）こと、

細胞内ストア（intracellular stores）からのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の放出を調節する（例えば、減少させる）こと、

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の分解の速度を調節する（例えば、増大させる）こと、及び／又は

その活性を減少若しくは増大させる、例えば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質活性を減少させるために、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質のアミノ酸配列を改変させる変異を導入すること。

【０１１７】

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする特定の遺伝子

の発現は、遺伝子の転写及び／又は翻訳を測定することによって測定できる。転写を測定する方法は、当技術分野で周知であり、中でも、ノーザンブロット、ＲＮＡ－Ｓｅｑ、in situハイブリダイゼーション、ＤＮＡマイクロアレイ及びＲＴ－ＰＣＲが挙げられる。
或いは、遺伝子の発現は、遺伝子産物、例えば、前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを測定することによって間接的に測定できる。例えば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現は、ウエスタンブロットによってＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質に特異的な抗体を使用してタンパク質の存在を測定することによって決定できる。

【０１１８】

改変

植物又は細胞は、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節するいかなる方法でも改変できる。遺伝子の活性又は発現を調節する植物及び細胞への改変の種類並びにそれらの改変を達成するための技術は、当技術分野で公知である。

【０１１９】

一部の実施形態では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞（例えば、植物細胞）のアルカロイド含有量を減少させる方法であって、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【０１２０】

一部の実施形態では、本発明は、タバコ植物又はその植物部分におけるＴＳＮＡ又はＴＳＮＡの前駆体の含有量を減少させる方法であって、本明細書中に記載した少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少させることによって、前記植物又は細胞培養物を改変するステップを含む方法を提供する。

【０１２１】

遺伝子又はタンパク質の活性又は発現を減少させる又は阻害する当技術分野で公知のいかなる方法も、本発明による方法において使用できる。

【０１２２】

適切には、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性又は発現は、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子のタンパク質活性、発現、又は機能が検出できないように、低減され、部分的に不活性化され、阻害され、除去され、ノックアウトされ、又は喪失され得る。

【０１２３】

一態様では、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子がノックアウトされる。言い換えれば、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子は、完全に無効にされている。

【０１２４】

例として、本方法は、

・配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする核酸配列中に変異を提供するステップ、

・配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質の発現を制御することに寄与する調節領域（例えば、プロモーター又はエンハンサー）中に変異を提供するステップ、

・配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする核酸配列のレベルを低減するアンチセンスＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ又はｍｉＲＮＡを提供するステップ

を含み得る。

【０１２５】
上記のアプローチの各々は、タンパク質の活性又は発現の低減又は阻止をもたらし、前記タンパク質は、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、或いは少なくとも１つの遺伝子は、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含むということは認められよう。
【０１２６】
本明細書において、「変異」という用語は、天然の遺伝子バリアント又は操作されたバリアントを包含する。特に、「変異」という用語は、配列番号３として示される配列、又はそれに対して少なくとも８０％（好ましくは、少なくとも８５％、好ましくは、少なくとも９０％、好ましくは、少なくとも９３％、好ましくは、少なくとも９５％、好ましくは、少なくとも９８％、好ましくは、少なくとも９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列と比較される、アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列中の、又はアミノ酸配列中の変動（variation）を指す場合がある。
【０１２７】
一実施形態では、変異は、植物のアルカロイド含有量を減少させる。別の実施形態では、変異は、植物若しくはその一部又は葉、例えば、収穫された若しくは処理された葉において、少なくとも１つのＴＳＮＡ前駆体の含有量を減少させる。一実施形態では、変異は、ＮＮＮ、ＮＮＫ、ＮＡＴ、ＮＡＢから選択される１つ又は２つ以上のＴＳＮＡの含有量を減少させる、好ましくは、処理葉においてＮＮＫ及び／又はＮＮＫ含有量が減少する。適切には、比較できる製品との関連で、ＴＳＮＡ含有量が低減される。
【０１２８】
一実施形態では、本発明による方法は、植物若しくはその一部又は植物細胞に核酸配列を提供するステップを含む場合があり、前記核酸は、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現の低減又は除去をもたらす。
【０１２９】
一実施形態では、本発明による方法は、植物若しくはその一部又は植物細胞に核酸配列を提供するステップを含む場合があり、前記核酸は、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の核酸配列の改変をもたらす。
【０１３０】
適切には、前記核酸配列は、植物若しくはその一部又は細胞に導入され得る。適切には、植物若しくはその一部又は細胞中の内因性核酸配列は、本発明によるポリペプチドをコードするように改変され得る（例えば、遺伝子編集によって）。例えば、内因性ヌクレオチド配列は、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少するように改変され得る。
【０１３１】
好ましい実施形態では、植物中に存在する、配列番号３として示される配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含む、或いは少なくとも１つの遺伝子が、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む、タンパク質をコードする核酸配列の各コピーが、本明細書において定義されるように改変される、例えば、変異される（例えば、植物中の前記タンパク質をコードする遺伝子の各ゲノムコピーが変異される）。例えば、ニコチアナ・タバカムの異質四倍体ゲノム中の遺伝子の各コピーが変異され得る。
【０１３２】
好ましい実施形態では、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質のホモログのいくつか又はすべてが、改変される、例えば、阻

害される又は変異される。適切には、表１中に列挙されたホモログのいくつか若しくはすべて、又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する対応する配列が、改変される、例えば、阻害される又は変異される。

【０１３３】

一部の実施形態では、本発明による植物又は植物細胞は、ホモ接合性である。適切には、植物又は植物細胞は、改変、例えば、阻害又は変異についてホモ接合性であり得る。

【０１３４】

一部の実施形態では、本発明による植物又は植物細胞は、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする改変された、例えば、変異された核酸のみを発現する。言い換えれば、一部の実施形態では、本発明による植物中に本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする内因性（又は内因性及び機能性タンパク質）は存在しない。言い換えれば、いかなる内因性タンパク質が存在する場合も、不活性の形態であることが好ましい。

【０１３５】

一実施形態では、本方法は、配列番号１若しくは２として示される核酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは配列番号２のホモログ中に変異を提供するステップを含み得る。

【０１３６】

変異は、配列番号３として示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列、又は配列番号３のホモログを含むタンパク質をコードする核酸配列が、完全に若しくは部分的に欠失される、又はそうでなければＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を阻害又は除去するように改変されるように、植物ゲノムを変更し得る。一部の実施形態では、変異は、タンパク質のレベル又は発現を変更しないが、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を低減、阻害、又は除去する。

【０１３７】

適切には、少なくとも１つの変異は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の非細胞質ドメイン、細胞質ドメイン、又は膜貫通ドメイン中にあり得る。適切には、少なくとも１つの変異は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質のＤＮＡ結合ドメイン中にあり得る。適切には、少なくとも１つの変異は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の二量体化ドメイン中にあり得る。

【０１３８】

変異は、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列、又は配列番号３のホモログを含むタンパク質をコードする核酸配列を中断する場合がある。

【０１３９】

中断は、転写及び／又は翻訳されない核酸配列を引き起こし得る。

【０１４０】

核酸配列は、例えば、核酸配列のＡＴＧ開始コドンを欠失することによって、又はそうでなければ改変することによって中断される場合があり、その結果、タンパク質の翻訳は低減される、又は妨げられる。

【０１４１】

核酸配列は、タンパク質の発現を低減する若しくは妨げる、又はタンパク質輸送に影響を及ぼす１つ又は２つ以上のヌクレオチド変化を含み得る。例えば、タンパク質の発現は、オープンリーディングフレーム中に１つ又は２つ以上の未熟終止コドン（pre-mature stop codon）、フレームシフト、スプライス変異又は許容されないアミノ酸置換を導入することによって低減する又は妨げることができる。

【０１４２】

未熟終止コドンとは、オープンリーディングフレーム中に終止コドンを導入し、アミノ

酸配列全体の翻訳を妨げる変異を指す。未熟終止コドンは、ＴＡＧ（「アンバー（ａｍｂｅｒ）」）、ＴＡＡ（「オーカー」）又はＴＧＡ（「オパール」又は「アンバー（ｕｍｂｅｒ）」）コドンであり得る。

【０１４３】

フレームシフト変異（フレーミングエラー又はリーディングフレームシフトとも呼ばれる）は、３で割り切れない核酸配列中のいくつかのヌクレオチドの挿入欠失（挿入又は欠失）によって引き起こされる変異である。コドンによる遺伝子発現のトリプレット性のために、挿入又は欠失は、リーディングフレームを変化させ、元とは完全に異なる翻訳をもたらし得る。フレームシフト変異は、変異後のコドンのリーディングが異なるアミノ酸をコードすることを引き起こすことが多い。フレームシフト変異は、一般に未熟終止コドンの導入をもたらす。

【０１４４】

スプライス変異は、成熟メッセンジャーＲＮＡへの前駆体メッセンジャーＲＮＡのプロセシングの際にスプライシングが起こる指定の部位において、いくつかのヌクレオチドを挿入、欠失又は変化させる。スプライシング部位の欠失は、成熟ｍＲＮＡ中に残存する１つ又は２つ以上のイントロンをもたらし、異常タンパク質の生成につながり得る。

【０１４５】

許容されないアミノ酸置換とは、タンパク質において非同義アミノ酸置換を引き起こす変異を指し、これは、タンパク質の低減された又は取り除かれた機能をもたらす。

【０１４６】

核酸配列中に変異を提供するための当技術分野で公知のいかなる方法も、本発明による方法において使用できる。例えば、関連核酸配列が変異され、植物又は植物細胞を形質転換するために使用されるベクターが作出される相同組換えを使用できる。次いで、変異された配列を発現する組換え植物又は植物細胞が選択され得る。

【０１４７】

一実施形態では、変異は、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含むタンパク質中に許容されないアミノ酸置換を導入する。

【０１４８】

一部の実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現又は活性を減少させる変異を含有し得る。

【０１４９】

変異は、欠失、スプライス変異体又は許容されないアミノ酸置換をコードするコドンであり得る。

【０１５０】

一実施形態では、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする核酸配列は、全体的に又は部分的に欠失され得る。欠失は、連続である場合も、配列の複数のセクションを含む場合もある。欠失は、好ましくは、核酸配列がもはや機能的なＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードしないような十分な量のヌクレオチド配列を除去する。欠失は、比較できる未改変植物の対応するゲノムと比較された場合に、核酸配列のコーディング部分の１００％が存在しない場合に完全であり得る。欠失は、例えば、核酸配列のコーディング部分の少なくとも５０、６０、７０、８０又は９０％を除去し得る。適切には、タンパク質の少なくとも一部が欠失され得る。欠失は、例えば、タンパク質のコーディング部分の少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０又は９０％を除去し得る。

【０１５１】

欠失は、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質から少なくとも１０個のアミノ酸（例えば、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少

なくとも８０個、少なくとも９０個のアミノ酸）を除去し得る。適切には、欠失は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の少なくとも１０個のアミノ酸（例えば、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、少なくとも９０個のアミノ酸）を除去する場合があり、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の配列は、配列番号３とアラインされる。適切には、欠失は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質から少なくとも１０個のアミノ酸（例えば、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、少なくとも９０個のアミノ酸）を除去する場合があり、欠失の前のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３で示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む。適切には、欠失の前のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質は、配列番号３で示されるアミノ酸配列を含む。

【０１５２】

適切には、本発明による使用のためのタンパク質は、本明細書において記載される末端切断型Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質を含み得る。適切には、末端切断型タンパク質は、配列番号３で示されるアミノ酸配列の末端切断型バージョン又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログであり得る。適切には、切断されたタンパク質は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質から少なくとも１０個のアミノ酸（例えば、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、少なくとも９０個のアミノ酸、少なくとも１００個のアミノ酸、最後に１１０個のアミノ酸）を欠く。

【０１５３】

欠失は、ドメインの少なくとも一部を除去し得る。欠失は、例えば、ドメインの少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０又は９０％を除去し得る。適切には、欠失は、ドメインの少なくとも５個のアミノ酸、少なくとも１０個のアミノ酸、少なくとも１５個、少なくとも２０個、少なくとも２５個、少なくとも３０個のアミノ酸、少なくとも４０個のアミノ酸、少なくとも５０個のアミノ酸、少なくとも６０個のアミノ酸、少なくとも７０個のアミノ酸、少なくとも８０個のアミノ酸を除去し得る。適切には、欠失は、ドメインの５個のアミノ酸、１０個のアミノ酸、１５個、２０個のアミノ酸、２５個のアミノ酸、３０個のアミノ酸、４０個のアミノ酸、５０個のアミノ酸、６０個のアミノ酸、７０個のアミノ酸、８０個のアミノ酸を除去し得る。

【０１５４】

欠失は、ドメインの少なくとも一部を除去し得る。欠失は、例えば、ドメインから少なくとも１個又は少なくとも２個のアミノ酸を除去し得る。適切には、ドメインは、完全に欠失され得る。

【０１５５】

植物における核酸配列の欠失のための方法は、当技術分野で公知である。例えば、関連核酸配列（複数可）を欠き、植物又は植物細胞を形質転換するために使用されるベクターが作出される相同組換えを使用できる。次いで、配列の新規部分を発現する組換え植物又は植物細胞が選択され得る。

【０１５６】

本明細書において記載されるベクターで形質転換された植物細胞は、周知の組織培養法に従って、例えば、必要な増殖因子、例えば、アミノ酸、植物ホルモン、ビタミンなどが補給された適切な培養培地で細胞を培養することによって増殖され、維持され得る。

【０１５７】

核酸配列の改変は、標的化突然変異誘発法（標的化ヌクレオチド交換（ＴＮＥ，targeted nucleotide exchange）又はオリゴ指示突然変異誘発（ＯＤＭ，oligo-directed mutagenesis）とも呼ばれる）を使用して行うことができる。標的化突然変異誘発法と

して、制限されるものではないが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、ＴＡＬＥＮ（国際公開第２０１１／０７２２４６号パンフレット及び国際公開第２０１０／０７９４３０号パンフレットを参照されたい）、Ｃａｓ９様、Ｃａｓ９／ｃｒＲＮＡ／ｔｒａｃｒＲＮＡ、Ｃａｓ９／ｇＲＮＡ又は他のＣＲＩＳＰＲシステム（国際公開第２０１４／０７１００６号パンフレット及び国際公開第２０１４／０９３６２２号パンフレットを参照されたい）、メガヌクレアーゼ（国際公開第２００７／０４７８５９号パンフレット及び国際公開第２００９／０５９１９５号パンフレットを参照されたい）を採用するもの又は植物プロトプラストへの遺伝子に対する配列相補性を用いて突然変異誘発を増強するための化学的に修飾されたヌクレオチドをおそらくは含有する変異原性オリゴヌクレオチドを採用する標的化突然変異誘発方法（例えば、ＫｅｙＢａｓｅ（登録商標）又はＴＡＬＥＮ）が挙げられる。

【０１５８】

或いは、ＴＩＬＬＩＮＧ（ゲノミクスにおいて誘発された局所病変を標的とする，Targeting Induced Local Lesions IN Genomics；McCallum et al. (2000) Nat. Biotech. 18:455、及びMcCallum et al. (2000) Plant Physiol. 123, 439-442、両方とも参照により本明細書に組み込まれる）などの突然変異誘発システムを使用して、変異を有するタンパク質をコードする遺伝子を含む植物株を生成できる。ＴＩＬＬＩＮＧは、伝統的な化学的突然変異誘発（例えば、ランダム変異を生成するメタンスルホン酸エチル（ＥＭＳ，ethyl methanesulfonate）突然変異誘発）と、それに続く変異についてのハイスループットスクリーニングを使用する。このように、所望の変異を有する遺伝子を含む植物、種子、細胞及び組織を得ることができる。

【０１５９】

方法は、植物種子を突然変異誘発するステップ（例えば、ＥＭＳ突然変異誘発）、植物個体又はＤＮＡをプールするステップ、目的の領域のＰＣＲ増幅、ヘテロ二本鎖形成及びハイスループット検出、変異体植物の同定、変異体ＰＣＲ産物のシーケンシングを含み得る。他の突然変異誘発及び選択方法も同等に使用して、このような改変された植物を生成できるということは理解される。例えば、種子を放射線照射又は化学的処置でき、植物を改変された表現型についてスクリーニングできる。

【０１６０】

高速中性子欠失突然変異誘発を、逆遺伝学の意味で（すなわち、ＰＣＲを用いて）使用して、内因性遺伝子中に欠失を保持する植物株を同定できる。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Ohshima et al. (1998) Virology 213:472-481；Okubara et al. (1994) Genetics 137:867-874；及びQuesada et al. (2000) Genetics 154:421-4315を参照されたい。

【０１６１】

別のアプローチでは、優性変異体を使用して、遺伝子逆位及び重複した遺伝子座の組換えによってＲＮＡサイレンシングを誘因することができる。例えば、Kusaba et al. (2003) Plant Cell 15:1455-1467（参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０１６２】

改変された植物は、分子的方法、例えば、ＤＮＡ中に存在する変異（複数可）によって、及び改変された表現型の特性によって改変されていない植物、すなわち、野生型植物と区別することができる。改変された植物は、改変についてホモ接合性である場合も、ヘテロ接合性である場合もある。好ましくは、改変された植物は、改変についてホモ接合性である。

【０１６３】

一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列、又は配列番号３のホモログを含むタンパク質の活性又は発現を低減する又は妨げる方法は、化学物質（例えば、農業化学品）を用いて植物を処置するステップを含まない。

【０１６４】
発現を低減する又は妨げる他の方法は、当業者に明らかであり、ウイルス誘導性遺伝子サイレンシング（ＶＩＧｓ，virus-induced gene silencing）、マイクロＲＮＡサイレンシング、ＲＮＡｉ、アンチセンス、ｔＤＮＡ挿入又はドミナントネガティブコンストラクト（又はアンチモルフ変異）の使用が含まれる。
【０１６５】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、ウイルス誘導性遺伝子サイレンシングによって低減又は除去され得る。
【０１６６】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、マイクロＲＮＡによって低減又は除去され得る。
【０１６７】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、ＲＮＡｉによって低減又は除去され得る。
【０１６８】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、アンチセンス抑制によって低減又は除去され得る。
【０１６９】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、センス抑制によって低減又は除去され得る。
【０１７０】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、ｔＤＮＡ挿入によって低減又は除去され得る。
【０１７１】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、ドミナントネガティブコンストラクト（又は、アンチモルフ変異）によって低減又は除去され得る。
【０１７２】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、標的化突然変異誘発ベースのシステムによって低減又は除去され得る。
【０１７３】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、遺伝子編集、例えば、ＣＲＩＳＰＲベースのシステムによって低減又は除去され得る。

【０１７４】
一実施形態では、配列番号３として示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子等のＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、ＴＡＬＥＮ、メガヌクレアーゼ、変異原性オリゴヌクレオチド又はＴＩＬＬＩＮＧによって低減又は除去され得る。
【０１７５】
一部の実施形態では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞（例えば、植物細胞）のアルカロイド含有量を増加させる方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大又は増強することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。
【０１７６】
遺伝子の活性又は発現を増大又は増強するための当技術分野で公知のいかなる方法も、本発明による方法において使用できる。
【０１７７】
一部の実施形態では、方法は、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子を過剰発現させるステップを含み得る。適切には、方法は、植物又は細胞においてＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の１つ又は２つ以上のさらなるコピーを発現させることを含み得る。適切には、方法は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の内因性コピーを、その発現が増大されるように改変するステップを含み得る。方法は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子のコード配列を変異させることを含み得る。方法は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の発現を調節する調節配列を変異させることを含み得る。
【０１７８】
適切には、方法は、配列番号３で示されるアミノ酸配列、又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含むタンパク質等の、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする、或いは、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子が、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む、或いは、少なくとも１つの内因性Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質を促進又は増強可能であるタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む遺伝子コンストラクトで、植物（例えば、タバコ植物）の細胞を形質転換するステップを含み得る。これらの選択肢の各々は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質によってコードされるポリペプチドの活性及び発現の増大をもたらすということは認められよう。方法は、形質転換された細胞から植物を再生するステップを含み得る。コンストラクトで形質転換された植物若しくはその一部又は細胞においてアルカロイド含有量（例えば、ニコチン含有量）を増加させるための、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子によってコードされるポリペプチドの活性及び／又は発現を増大可能である遺伝子コンストラクトの使用が提供される。
【０１７９】
遺伝子コンストラクトは、アミノ酸配列番号３又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含むポリペプチドをコードし得る、或いは配列番号１若しくは２で示されるヌクレオ

チド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含む。

【０１８０】

別の実施形態では、本発明は、植物若しくはその一部又は細胞のアルカロイド含有量を増加させる方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性を増大させることによって前記植物又は細胞を改変するステップを含む方法に関する。

【０１８１】

一実施形態では、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の活性は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子に変異を導入する（又は提供する）ことによって増大され得る。

【０１８２】

適切には、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子の活性は、配列番号３で示されるアミノ酸配列又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、或いは、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子が、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列を含むＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子に変異を導入することによって増大され得る。

【０１８３】

一部の実施形態では、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大させ、それによって以下：

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子からの転写を調節する（例えば、増大させる）こと、

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少なくとも１つの遺伝子からのｍＲＮＡの翻訳を調節する（例えば、増大させる）こと、

細胞内ストアからのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の放出を調節する（例えば、増大させる）こと、及び／又は

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の分解の速度を調節する（例えば、減少させる）こと

のうちの１つによって、アルカロイド含有量を増加させる改変。

【０１８４】

アルカロイド含有量

一実施形態では、本発明は、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部のアルカロイド含有量を調節する方法であって、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節することによって前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。

【０１８５】

「調節すること」という用語は、増加させること又は減少させることのいずれかを意味するように本明細書において使用される。

【０１８６】

「アルカロイド含有量を増加させること」という用語は、本発明の製品（例えば、植物、その一部（例えば葉）、処理葉又は植物から作製された製品（例えば、タバコ産業製品））中のアルカロイド含有量が、本発明に従って改変されていない比較できる製品と比較して高いことを意味するように本明細書において使用される。

【０１８７】

「アルカロイド含有量を減少させること」という用語は、本発明の製品（例えば、植物、その一部（例えば葉）、処理葉又は植物から作製された製品（例えば、タバコ産業製品））中のアルカロイド含有量が、本発明に従って改変されていない比較できる製品と比較して低いことを意味するように本明細書において使用される。

【０１８８】

一部の実施形態では、アルカロイド含有量の調節とは、アルカロイド含有量の増加を指し、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現が増大される（例えば、タンパク質が過剰発現される）。

【０１８９】

一部の実施形態では、アルカロイド含有量の調節とは、アルカロイド含有量の減少を指し、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の発現が減少又は阻害又は除去される。

【０１９０】

さらなる態様において、アルカロイド含有量は、葉から測定される。一態様では、アルカロイド含有量は、緑色葉から測定される。さらなる態様において、アルカロイド含有量は、乾燥葉から、例えば、空気乾燥（air-cured）、熱気送管乾燥（flue-cured）、火力乾燥（fire-cured）又は日光乾燥（sun-cured）葉から測定される。さらなる態様において、アルカロイド含有量は、熱気送管乾燥葉から測定される。さらなる態様において、アルカロイド含有量は、空気乾燥葉から測定される。

【０１９１】

「アルカロイド含有量」という用語は、アルカロイドとして分類される化合物の群全体の濃度及び／若しくは総量又はアルカロイドとして分類される１つ又は２つ以上の化合物の濃度及び／若しくは総量を意味するように本明細書において使用される。タバコ中に典型的に存在するアルカロイドとして、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン、ニコチン及びミオスミンが挙げられる。一部の実施形態ではニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン及びミオスミンから選択される１種又は２種以上のアルカロイド、例えば、２種又は３種以上のアルカロイド、例えば、３種又は４種以上のアルカロイド、例えば、４種又は５種以上のアルカロイド、例えば、５種又は６種以上のアルカロイド、例えば、６種すべてのアルカロイドの含有量が調節される。一部の実施形態では、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン及びミオスミンから選択される１種又は２種以上のアルカロイド、例えば、２種又は３種以上のアルカロイド、例えば、３種又は４種以上のアルカロイド、例えば、４種又は５種以上のアルカロイド、例えば、５種又は６種以上のアルカロイド、例えば、６種すべてのアルカロイドの含有量が増加する。一部の実施形態では、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン及びミオスミンから選択される１種又は２種以上のアルカロイド、例えば、２種又は３種以上のアルカロイド、例えば、３種又は４種以上のアルカロイド、例えば、４種又は５種以上のアルカロイド、例えば、５種又は６種以上のアルカロイド、例えば、６種すべてのアルカロイドの含有量が減少する。一部の実施形態では、植物又は細胞の総アルカロイド含有量が調節される。一部の実施形態では、総アルカロイド含有量が増加する。一部の実施形態では、総アルカロイド含有量が増加する。

【０１９２】

アルカロイドの濃度及び／又は総含有量を決定するための当技術分野で公知のいかなる方法も使用できる。アルカロイド含有量を分析するための１つの好ましい方法には、ガスクロマトグラフィー－水素炎イオン化検出方法（ＧＣ－ＦＩＤ，gas chromatography-flame ionization detection）による分析又はタンデム質量分析を備えた逆相高性能液体クロマトグラフィー（ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ，liquid chromatography with tandem mass spectrometry）による分析が含まれる。

【０１９３】

一実施形態では、アルカロイド含有量が調節された本発明の植物によって得ることができる、又は得られた、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部、植物増殖材料（例えば

、タバコ植物増殖材料）、細胞（例えば、タバコ細胞）、葉（例えば、タバコの葉）、収穫葉（例えば、タバコの収穫葉）、カットされた収穫葉（例えば、カットされたタバコの収穫葉）、処理葉（例えば、タバコの処理葉）、カットされ処理葉（例えば、カットされ処理されたタバコの葉）、前記植物若しくは又はその一部を含む製品（例えば、タバコ産業製品）又はそれらの組合せを生成する方法であって、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節するように前記植物を改変するステップを含む方法を提供する。調節されたアルカロイド含有量は、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部、植物増殖材料（例えば、タバコ植物増殖材料）、細胞（例えば、タバコ細胞）、葉（例えば、タバコの葉）、収穫葉（例えば、タバコの収穫葉）、カットされた収穫葉（例えば、カットされたタバコの収穫葉）、処理葉（例えば、タバコの処理葉）、カットされ処理葉（例えば、カットされたタバコの処理葉）、本発明の植物若しくはその一部を含む製品、例えば、タバコ産業製品又はそれらの組合せ中のアルカロイド含有量を、比較できる製品と比較することによって決定できる。

【０１９４】

適切には、植物、例えば、タバコ植物、例えば、改変されたタバコ植物においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、葉（例えば、タバコの葉、例えば、改変されたタバコ植物からのタバコの葉）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、収穫葉（例えば、改変されたタバコ植物からのタバコの収穫葉）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、カットされた収穫葉（例えば、改変されたタバコ植物からのカットされたタバコの収穫葉）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、処理葉（例えば、処理されたタバコの葉、例えば、改変されたタバコ植物からの処理されたタバコの葉）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、カットされ処理葉（例えば、カットされ処理されたタバコの葉、例えば、改変されたタバコ植物からのカットされ処理されたタバコの葉）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、乾燥葉（例えば、改変されたタバコ植物からの乾燥タバコ葉）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、緑色葉（例えば、改変されたタバコ植物からの緑色タバコ葉）の抽出物においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、本発明の植物若しくはその一部を含む製品（例えば、タバコ産業製品、例えば、改変されたタバコ植物若しくはその一部から生成されたタバコ産業製品）においてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、上記の製品のうちのいずれか又はそれらの組合せにおいてアルカロイド含有量を調節できる。適切には、上記のアルカロイド含有量の調節は、アルカロイド含有量の増加であり得る。適切には、上記のアルカロイド含有量の調節は、アルカロイド含有量の減少（例えば、ノルニコチン及び／又はＰＯＮ含有量の減少）であり得る。

【０１９５】

一実施形態では、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン及びアナバシンから選択される１つ又は２つ以上のアルカロイドの含有量が減少する。一実施形態では、ノルニコチンの含有量が減少する。一実施形態では、ＰＯＮの含有量が減少する。一実施形態では、アナタビンの含有量が減少する。一実施形態では、アナバシンの含有量が減少する。

【０１９６】

一実施形態では、改変された植物（例えば、タバコ植物）、植物増殖材料（例えば、タバコ植物増殖材料）、葉（例えば、タバコの葉）、収穫葉（例えば、タバコの収穫葉）、カットされた収穫葉（例えば、カットされたタバコの収穫葉）、処理葉（例えば、タバコの処理葉）、カットされた処理葉（例えば、カットされたタバコの処理葉）又は改変されたタバコ植物からのタバコ産業製品のニコチン含有量は、実質的に減少しない。適切には、ニコチン含有量は、比較できる製品のニコチン含有量の少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％、例えば、少なくとも９５％、例えば、少なくとも９８％、例えば、少なくとも９９％）である。

【０１９７】

一実施形態では、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部のアルカロイド含有量は、それぞれ、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする少な

くとも１つ遺伝子の活性又は発現を調節するように改変されていない、同様の成長条件下で生育された植物（例えば、タバコ植物）又はその一部のアルカロイド含有量と比較した場合に、少なくとも０．５、１．５、２、３又は４倍調節され得る。適切には、アルカロイド含有量は、約０．５倍～約４倍調節され得る。適切には、アルカロイド含有量は、約４倍調節され得る。適切には、改変は、アルカロイド含有量の増加又は減少であり得る。適切には、調節は、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン及びミオスミンから選択される１つ又は２つ以上のアルカロイドのものであり得る。適切には、調節は、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン及びアナバシンから選択される１つ又は２つ以上のアルカロイドのものであり得る。適切には、ノルニコチン含有量が低減され得る。適切には、ＰＯＮ含有量が低減され得る。適切には、アナタビン含有量が低減され得る。適切には、アナバシン含有量が低減され得る。

【０１９８】

本発明の一実施形態では、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部のアルカロイド含有量は、本発明に従って改変されていない植物（例えば、タバコ植物）又はその一部と比較して、少なくとも１％、２％、５％、８％、１０％、１２％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は１００％調節され得る。一実施形態では、アルカロイド含有量は、未改変植物若しくはその一部と比較して少なくとも３０％調節され得る。一実施形態では、アルカロイド含有量は、未改変植物若しくはその一部と比較して少なくとも４０％調節され得る。一実施形態では、アルカロイド含有量は、未改変植物若しくはその一部と比較して少なくとも５０％調節され得る。一実施形態では、アルカロイド含有量は、未改変植物若しくはその一部と比較して少なくとも６０％調節され得る。調節は、未改変植物（例えば、タバコ植物）又はその一部と比較した場合のアルカロイド含有量の増加又は減少であり得る。

【０１９９】

適切には、調節は、総アルカロイド含有量の調節であり得る。適切には、調節は、ノルニコチン、ニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン及びミオスミンから選択される１つ又は２つ以上のアルカロイドのものであり得る。適切には、調節は、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン及びアナバシンから選択される１つ又は２つ以上のアルカロイドのものであり得る。適切には、調節は、ノルニコチン含有量の調節、例えば、ノルニコチン含有量の減少であり得る。適切には、調節は、アナバシン含有量の調節、例えば、アナバシン含有量の減少であり得る。適切には、調節は、ＰＯＮ含有量の調節、例えば、ＰＯＮ含有量の減少であり得る。適切には、調節は、アナタビン含有量の調節、例えば、アナタビン含有量の減少であり得る。

【０２００】

適切には、調節は、ニコチン、ノルニコチン、ＰＯＮ、アナタビン、アナバシン及びミオスミンから選択される１種より多いアルカロイド、例えば、２種又は３種以上のアルカロイド、例えば、３種又は４種以上のアルカロイド、例えば、４種又は５種以上のアルカロイド、例えば、５種又は６種以上のアルカロイド、例えば、６種すべてのアルカロイドのものであり得る。

【０２０１】

一部の実施形態では、植物のアルカロイド含有量は、約５％から約１００％の間、約１０％から約９０％の間、約２０％から約８０％の間、約３０％から約７０％の間、約４０％から６０％の間、約４０％から５０％の間又は約５０％から６０％の間調節され得る。

【０２０２】

タバコ特異的ニトロソアミン（ＴＳＮＡ）含有量

一実施形態では、本発明は、植物（例えば、タバコ植物）又はその一部において、又はタバコ細胞において少なくとも１つのＴＳＮＡ前駆体の含有量を減少させる方法を提供する。適切には、方法は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節することによって前記植物を改変するステップを含み得る。一実施形態では、本発明は、ＴＳＮＡ含有量が減少した（例えば、比較できる製品

に対して）処理葉を生成する方法を提供する。ＴＳＮＡ含有量が減少した処理葉を生成する方法は、
少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害することによって植物を改変するステップ、
前記植物から葉を採取するステップ、
及び、前記収穫葉を処理する、例えば、乾燥させるステップ
を含み得る。

【０２０３】

ＴＳＮＡは、処理されたタバコ、例えば、乾燥タバコ又は再構成されたタバコにおいて測定できる。一実施形態では、ＴＳＮＡ含有量は、乾燥タバコ植物若しくはその一部において（例えば、乾燥タバコ葉において）測定され、及び／又は改変される（例えば、低減される）。

【０２０４】

「タバコ特異的ニトロソアミン」又は「ＴＳＮＡ」という用語は、本明細書で使用される場合、当技術分野におけるその通常の意味、すなわち、タバコ産業製品又は他のニコチン含有製品においてのみ見出されるニトロソアミンを有する。適切には、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミンは、Ｎ’－ニトロソノルニコチン（ＮＮＮ）、４－（メチルニトロソアミノ）－１－（３－ピリジル）－１－ブタノン（ＮＮＫ）、Ｎ’－ニトロソアナタビン（ＮＡＴ）又はＮ－ニトロソアナバシン（ＮＡＢ）であり得る。

【０２０５】

「その前駆体」という用語は、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミンと関連して使用される場合、タバコ特異的ニトロソアミンの形成を生じさせるか、又はタバコ特異的ニトロソアミン生成につながるニトロソ化反応に関与している、タバコ植物の１つ又は２つ以上の化学物質又は化合物を指す。

【０２０６】

一実施形態では、ＴＳＮＡは、Ｎ’－ニトロソノルニコチン（ＮＮＮ）、４－（メチルニトロソアミノ）－１－（３－ピリジル）－１－ブタノン（ＮＮＫ）、Ｎ’ニトロソアナタビン（ＮＡＴ）及びＮ’－ニトロソアナバシン（ＮＡＢ）から選択される群のうち１又は２以上であり得る。適切には、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミンは、ＮＮＫ又はＮＮＮであり得る。一実施形態では、タバコ特異的ニトロソアミンは、ＮＮＮである。別の実施形態では、タバコ特異的ニトロソアミンは、ＮＮＫである。

【０２０７】

一実施形態では、ＴＳＮＡの前駆体は、ノルニコチン、アナバシン、アナタビン及びニコチンの酸化派生物、例えば、シュードオキシニコチン（ＰＯＮ）から選択される群のうち１つ又は２つ以上である。

【０２０８】

一実施形態では、ＴＳＮＡは、Ｎ’ニトロソノルニコチン（ＮＮＮ）であり、及び／又は前駆体はノルニコチンである。一実施形態では、ＮＮＮの含有量が減少する。一実施形態では、ノルニコチンの含有量が減少する。一実施形態では、ＮＮＮ及びノルニコチンの含有量が減少する。

【０２０９】

一実施形態では、ＴＳＮＡは、４－（メチルニトロソアミノ）－１－（３－ピリジル）－１－ブタノン（ＮＮＫ）であり、及び／又は前駆体はＰＯＮである。一実施形態では、ＮＮＫの含有量が減少する。一実施形態では、ＰＯＮの含有量が減少する。一実施形態では、ＮＮＫ及びＰＯＮの含有量が減少する。

【０２１０】

一実施形態では、ＴＳＮＡは、Ｎ’ニトロソアナタビン（ＮＡＴ）であり、及び／又は前駆体はアナタビンである。一実施形態では、ＮＡＴの含有量が減少する。一実施形態では、アナタビンの含有量が減少する。一実施形態では、ＮＡＴ及びアナタビンの含有量が減少する。

【０２１１】
一実施形態では、ＴＳＮＡは、Ｎ’－ニトロソアナバシン（ＮＡＢ）であり、及び／又は前駆体はアナバシンである。
【０２１２】
一実施形態では、ＮＡＢの含有量が減少する。一実施形態では、ノルニコチンの含有量が減少する。一実施形態では、ＮＡＢ及びアナバシンの含有量が減少する。
【０２１３】
ＴＳＮＡ（例えば、ＮＮＫ、ＮＮＮ、ＮＡＢ及び／又はＮＡＴ）の前駆体は、例えば、処理の前に、例えば、乾燥の前に緑色のタバコの葉において測定できる。一実施形態では、ＴＳＮＡ（例えば、ＮＮＫ、ＮＮＮ、ＮＡＢ及び／又はＮＡＴ）の前駆体は、例えば、処理の前に、例えば、乾燥の前に緑色のタバコの葉において測定及び／又は改変される（例えば、低減される）。
【０２１４】
一実施形態では、本発明の方法を実施すること及び又は本発明の使用は、本発明に従って改変されていないタバコ植物（又はその一部）と比較した場合に、改変されたタバコ植物（又はその一部）における少なくとも１つのＴＳＮＡ又はその前駆体の低減をもたらす。
【０２１５】
「少なくとも１つのＴＳＮＡ又はその前駆体を低減すること」又は「少なくとも１つのＴＳＮＡ又はその前駆体の低減」という用語は、本発明の製品、方法又は使用における少なくとも１つのＴＳＮＡ又はその前駆体の濃度及び／又は総含有量が、比較できる製品、方法又は使用との関連で低いことを意味するように本明細書において使用される。例えば、比較できるタバコ産業製品は、本発明に従って改変されていないが、すべての他の関連特徴（例えば、植物種、成長条件、タバコを処理する方法など）が同一であるタバコ植物に由来するであろう。
【０２１６】
少なくとも１つのＴＳＮＡ又はその前駆体の濃度及び／又はレベルを決定するための当技術分野で公知のいかなる方法も使用できる。特に、このような方法は、重水素標識された内部標準の付加、水性抽出及び濾過と、それに続くタンデム質量分析の使用の可能性を備えた逆相高性能液体クロマトグラフィー（ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ）を使用する分析を含み得る。タバコ特異的ニトロソアミンの前駆体の濃度及び／又はレベルを決定するための他の例として、参照によりすべて本明細書に組み込まれる、ＣＯＲＥＳＴＡが推奨する方法ＣＲＭ－７２：ＬＣ－ＭＳ／ＭＳによるタバコ及びタバコ製品中のタバコ特異的ニトロソアミンの決定（Determination of Tobacco Specific Nitrosamines in Tobacco and Tobacco Products by LC-MS/MS）；ＩＳＯ／ＤＩＳ　２１７６６に開発されているＣＲＭ又はWagner et al. (2005) Analytical Chemistry 77(4), 1001-1006に詳述されるもののような方法が挙げられる。
【０２１７】
適切には、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体の濃度及び／又は総含有量を、本発明の方法及び／又は使用を実施することによって低減できる。適切には、本発明のタバコ植物（例えば、本発明の方法及び／又は使用によって得ることができる、又は得られた）において、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体の濃度及び／又はレベルを、本発明に従って改変されていないタバコ植物における少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体の濃度及び／又はレベルと比較した場合に低減できる。
【０２１８】
本発明のタバコ植物（又はタバコ植物の一部又はタバコ細胞培養物）から得ることができる、又は得られたタバコの葉、収穫葉、処理されたタバコの葉、タバコ産業製品又はそれらの組合せにおいて、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体の濃度及び／又は総含有量を、本発明に従って改変されていないタバコ植物（又はタバコ植

物の一部又はタバコ細胞培養物）から得ることができる、又は得られたタバコの葉、収穫葉、処理されたタバコの葉、タバコ産業製品又はそれらの組合せと比較した場合に低減できる。

【０２１９】

適切には、処理されたタバコの葉において少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体の濃度及び／又は総含有量を低減できる。

【０２２０】

適切には、タバコ産業製品において少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体の濃度及び／又はレベルを低減できる。

【０２２１】

一実施形態では、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体を、少なくとも約１％、少なくとも約３％、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％又は少なくとも約５０％低減できる。一部の実施形態では、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体を、約５％から約５０％の間、約１０％から約５０％の間、約２０％から約５０％の間、約３０％から約５０％の間又は約４０％から５０％の間低減できる。

【０２２２】

処理された（例えば、乾燥された）タバコの葉（例えば、乾燥された又は再構成された）との関連で、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体を、約５０００ｎｇ／ｇから約５０ｎｇ／ｇの間、約４０００ｎｇ／ｇから約１００ｎｇ／ｇの間、約３０００ｎｇ／ｇから５００ｎｇ／ｇの間又は２０００ｎｇ／ｇから１０００ｎｇ／ｇの間低減できる。一部の実施形態では、少なくとも１つのタバコ特異的ニトロソアミン又はその前駆体を、少なくとも約５０００ｎｇ／ｇ、少なくとも約４０００ｎｇ／ｇ、少なくとも約３０００ｎｇ／ｇ、少なくとも約２０００ｎｇ／ｇ、少なくとも約１０００ｎｇ／ｇ、少なくとも約５００ｎｇ／ｇ、少なくとも約１００ｎｇ／ｇ又は少なくとも約５０ｎｇ／ｇ低減できる。

【０２２３】

バイオマス生成

一部の例では、ニコチンを精製して、例えば、ニコチンを含有する液体を利用するデバイス（例えば、電子タバコ）において、又はタバコ加熱デバイス内で使用するための純粋なニコチン製品を生成できるように、高アルカロイドレベル、例えば、高レベルのニコチン含有量を有する植物又はバイオマスを生成することが望ましいものである場合がある。例えば、この方法でのニコチンの生成は、電子タバコ用の電子リキッドの生成のためのニコチン抽出の費用を低減できるであろう。

【０２２４】

一態様では、本発明は、バイオマスを生成する方法であって、

Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節する（例えば、増大させる）ように操作されている細胞を、バイオマスを生成する条件下で増殖させるステップ

を含む方法を提供する。適切には、濃度及び／又は総ニコチン含有量を増加させるためにＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大できる。

【０２２５】

一実施形態では、本発明は、ニコチンの濃度及び／又は総含有量が改変されている（例えば、増加されている）バイオマスを生成する方法であって、配列番号３で示されるアミノ酸配列又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列又は配列番号３のホモログを含む、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を増大させるように操作されている細胞を増殖させるステップを含み、或いは少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質が、配列番号１若し

くは２で示されるヌクレオチド配列又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列又は配列番号１若しくは２のホモログを含む方法を提供する。

【０２２６】

少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を改変するように、当技術分野で公知のいかなる方法によっても細胞を操作できる。適切には、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする外因性遺伝子を発現させるように細胞を操作できる。適切には、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子を過剰発現させるように細胞を操作できる。

【０２２７】

適切には、バイオマスは、本発明に従って改変されていない比較できる細胞によって産生されたバイオマスと比較して、より高い濃度及び／又は総含有量のニコチンを含有し得る。

【０２２８】

適切には、バイオマス産生において使用するための細胞は、植物細胞、例えば、タバコ細胞であり得る。

【０２２９】

適切には、バイオマス産生において使用するための細胞は、酵母細胞であり得る。

【０２３０】

一実施形態では、細胞（例えば、酵母細胞）を、ニコチン性アルカロイド生合成を増大させる１つ又は２つ以上の配列を含むようにさらに改変できる。適切には、これらの１つ又は２つ以上の配列を、細胞（例えば、酵母細胞）形質転換にとって適切である核酸コンストラクト中に組み込むことができる。１つ又は２つ以上の配列を、細胞（例えば、酵母細胞）において過剰発現させることができる。配列は、以下の遺伝子のうち１つ又は２つ以上から選択され得る。：ＭＰＯ（又はメチルプトレシンオキシダーゼ又はＭＰＯ１又はＭＰＯ２）、Ａ６２２（又はイソフラボンレダクターゼ様タンパク質又はイソフラボンレダクターゼホモログ又はイソフラボンレダクターゼ様タンパク質）、ＢＢＬ（又はベルベリンブリッジ酵素又はベルベリンブリッジ酵素様又はＢＢＥ又はＮＢＢ１）、ＰＭＴ（又はプトレシンＮ－メチルトランスフェラーゼ又はプトレシンメチルトランスフェラーゼ又はＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン：プトレシンＮ－メチルトランスフェラーゼ又はＰＭＴ又はＰＭＴ１又はＰＭＴ２又はＰＭＴ３又はＰＭＴ４）及びＱＰＴ（又はキノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ）。一実施形態では、配列は、以下の遺伝子のうち１つ又は２つ以上から選択され得る：ＢＢＬ、Ａ６２２、ＰＭＴ及びＭＰＯ（ＭＰＯ１又はＭＰＯ２）。この方法での改変にとって適切な遺伝子は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第２０１６０３２２９９号明細書において教示され得る。

【０２３１】

商業的に望ましい形質

一実施形態では、本発明の植物は、風味の特性及び／又は他の商業的に望ましい形質は少なくとも維持されながら、総アルカロイド含有量が改変されている（例えば、増加又は減少している）、及び／又は１つ又は２つ以上のアルカロイドの含有量が改変されている（例えば、増加又は減少している）。適切には、本発明の植物は、風味の特性及び／又は他の商業的に望ましい形質は少なくとも維持されながら、総アルカロイド含有量が減少している、及び／又は１つ又は２つ以上のアルカロイドの含有量が減少している場合がある。

【０２３２】

一実施形態では、本発明の植物は、本発明に従って改変されていない植物と同様の等級及び／又は品質の葉を生成する。

【０２３３】

一実施形態では、本発明の植物は、ノルニコチン及び／又はＰＯＮ及び／又はアナバシ

ン及び／又はアナタビン含有量が低減されているが、植物の風味の特性には大幅な変化を伴わない（例えば、本発明に従って改変されていない同一植物と比較して）。

【０２３４】

一実施形態では、本発明の植物は、ＴＳＮＡ前駆体含有量が減少しているが、植物の他の商業的に望ましい形質の大幅な変化（例えば、減少）は伴わない（例えば、本発明に従って改変されていない同一植物と比較して）。特に、改変された植物の収量は、好ましくは、本発明に従って改変されていない同一植物と比較して低減されない。

【０２３５】

したがって、一実施形態では、本発明の方法及び使用は、風味の特性及び／又は他の商業的に望ましい形質（例えば、収量）を維持しながらのＴＳＮＡ前駆体含有量の減少に関する。

【０２３６】

「商業的に望ましい形質」という用語は、本明細書で使用される場合、収量、成熟植物の高さ、採取可能な葉の数、平均節長、カッター葉の長さ、カッター葉の幅、品質（例えば、葉の品質、適切には、乾燥葉の品質）、非生物的（例えば、干ばつ）ストレス耐性、除草剤耐性及び／又は生物的（例えば、昆虫、細菌又は真菌）ストレス耐性などの形質を含む。

【０２３７】

葉の品質は、例えば、米国農務省（ＵＳＤＡ，United States Department of Agriculture）の等級と基準に従って、乾燥葉の色、質感及び芳香に基づいて測定できる。

【０２３８】

タバコの等級は、それだけには限らないが、葉柄の位置、葉の大きさ、葉色、葉の均一性及び完全性、成熟度、質感、弾性、光沢（葉の呈色の強度及び深度並びに輝きと関連する）、吸湿性（タバコ葉が環境湿度を吸収し、保持する能力）及び緑色の陰影又は外観を含む因子に基づいて評価される。

【０２３９】

葉の等級は、当技術分野で公知の標準方法を使用して、例えば、米国農務省の農業マーケティングサービス局（Agricultural Marketing Service）によって発行された公式基準等級（７ＵＳＣ§５１１）を使用して決定できる。例えば、バーレータバコの公式基準等級（米国タイプ３１及び外来タイプ９３）、１９９０年１１月５日発効（５５　Ｆ．Ｒ．　４０６４５）；熱気送管乾燥タバコの公式基準等級（米国タイプ１１、１２、１３、１４及び外来タイプ９２）、１９８９年３月２７日発効（５４　Ｆ．Ｒ．　７９２５）；ペンシルバニアシードリーフタバコの公式基準等級（米国タイプ４１）、１９６５年１月８日発効（２９　Ｆ．Ｒ．　１６８５４）；オハイオシガーリーフタバコの公式基準等級（米国タイプ４２、４３及び４４）、１９６３年１２月８日発効（２８　Ｆ．Ｒ．　１１７１９及び２８　Ｆ．Ｒ．　１１９２６）；ウィスコンシンシガーバインダータバコの公式基準等級（米国タイプ５４及び５５）、１９６９年１１月２０日発効（３４　Ｆ．Ｒ．　１７０６１）；ウィスコンシンシガーバインダータバコの公式基準等級（米国タイプ５４及び５５）、１９６９年１１月２０日発効（３４　Ｆ．Ｒ．　１７０６１）；ジョージア及びフロリダ日陰栽培シガー－ラッパータバコの公式基準等級（米国タイプ６２）、１９７１年４月発効を参照されたい。ＵＳＤＡ等級指数値は、業界で認められる等級指数に従って決定できる。例えば、Bowman et al. (1988) Tobacco Science, 32:39-40; Legacy Tobacco Document Library (Bates Document #523267826-523267833, July 1, 1988, Memorandum on the Proposed Burley Tobacco Grade Index); and Miller et al. (1990) Tobacco Intern., 192:55-57（すべての前記参考文献はその全文で本明細書に組み込まれる）。

【０２４０】

一態様では、ＵＳＤＡ等級指数は、受け取られた連邦政府等級の０～１００の数値表示であり、すべての葉柄位置の加重平均である。等級指数が高いほど、高い品質を指し示す。或いは、葉の等級は、ハイパースペクトルイメージングによって決定できる。例えば、

国際公開第２０１１／０２７３１５号パンフレット（参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０２４１】

一実施形態では、本発明のタバコ植物は、商業的に許容される等級のタバコを提供する。

【０２４２】

適切には、本発明のタバコ植物は、商業的に許容される等級の乾燥タバコを提供する。

【０２４３】

一実施形態では、本発明のタバコ植物は、同様の成長条件で生育された場合に比較できる植物の葉のＵＳＤＡ等級指数値の少なくとも約７０％のＵＳＤＡ等級指数値を有する葉を生成可能である。適切には、本明細書において開示されるタバコ植物は、同様の成長条件で生育された場合にコントロール植物のＵＳＤＡ等級指数値の少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％又は少なくとも約９８％のＵＳＤＡ等級指数値を有する葉を生成可能であり得る。適切には、本明細書において開示されるタバコ植物は、比較できる植物のＵＳＤＡ等級指数値の６５％から１３０％の間、７０％から１３０％の間、７５％から１３０％の間、８０％から１３０％の間、８５％から１３０％の間、９０％から１３０％の間、９５％から１３０％の間、１００％から１３０％の間、１０５％から１３０％の間、１１０％から１３０％の間、１１５％から１３０％の間又は１２０％から１３０％の間のＵＳＤＡ等級指数値を有する葉を生成可能であり得る。

【０２４４】

一態様では、本発明のタバコ植物は、少なくとも５０のＵＳＤＡ等級指数値を有する葉を生成可能である。適切には、本明細書において開示されるタバコ植物は、５５又はそれ以上、６０又はそれ以上、６５又はそれ以上、７０又はそれ以上、７５又はそれ以上、８０又はそれ以上、８５又はそれ以上、９０又はそれ以上及び９５又はそれ以上のＵＳＤＡ等級指数値を有する葉を生成可能であり得る。

【０２４５】

特に指定されない限り、本明細書において使用される、タバコ収量は、標準の農業及び乾燥慣行に従い標準圃場条件下でのエーカーあたりの乾燥タバコ葉の重量に基づいて計算される乾燥葉収量を指す。

【０２４６】

一態様では、本発明の植物（例えば、タバコ植物）は、同様の圃場条件で生育された比較できる植物の収量の５０％から１５０％の間、５５％から１４５％の間、６０％から１４０％の間、６５％から１３５％の間、７０％から１３０％の間、７５％から１２５％の間、８０％から１２０％の間、８５％から１１５％の間、９０％から１１０％の間、９５％から１０５％の間、５０％から１００％の間、５５％から１００％の間、６０％から１００％の間、６５％から１００％の間、７０％から１００％の間、７５％から１００％の間、８０％から１００％の間、８５％から１００％の間、９０％から１００％の間、９５％から１００％の間、１００％から１５０％の間、１０５％から１５０％の間、１１０％から１５０％の間、１１５％から１５０％の間、１２０％から１５０％の間、１２５％から１５０％の間、１３０％から１５０％の間、１３５％から１５０％の間、１４０％から１５０％の間又は１４５％から１５０％の間の収量を有する。

【０２４７】

別の態様では、本発明の植物（例えば、タバコ植物）の収量は、同様の圃場条件で生育された比較できる植物の収量のおよそ１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９又は３．０倍である。

【０２４８】

別の態様では、本発明のタバコ植物の収量は、同様の圃場条件で生育された場合の熱気送管乾燥された比較できる植物の収量に匹敵する。

【０２４９】
一態様では、本発明のタバコ植物は、約１２００から３５００ポンド／エーカーの間、１３００から３４００ポンド／エーカーの間、１４００から３３００ポンド／エーカーの間、１５００から３２００ポンド／エーカーの間、１６００から３１００ポンド／エーカーの間、１７００から３０００ポンド／エーカーの間、１８００から２９００ポンド／エーカーの間、１９００から２８００ポンド／エーカーの間、２０００から２７００ポンド／エーカーの間、２１００から２６００ポンド／エーカーの間、２２００から２５００ポンド／エーカーの間及び２３００から２４００ポンド／エーカーの間からなる群から選択される収量を提供する。
【０２５０】
別の態様では、本発明のタバコ植物は、約１２００から３５００ポンド／エーカーの間、１３００から３５００ポンド／エーカーの間、１４００から３５００ポンド／エーカーの間、１５００から３５００ポンド／エーカーの間、１６００から３５００ポンド／エーカーの間、１７００から３５００ポンド／エーカーの間、１８００から３５００ポンド／エーカーの間、１９００から３５００ポンド／エーカーの間、２０００から３５００ポンド／エーカーの間、２１００から３５００ポンド／エーカーの間、２２００から３５００ポンド／エーカーの間、２３００から３５００ポンド／エーカーの間、２４００から３５００ポンド／エーカーの間、２５００から３５００ポンド／エーカーの間、２６００から３５００ポンド／エーカーの間、２７００から３５００ポンド／エーカーの間、２８００から３５００ポンド／エーカーの間、２９００から３５００ポンド／エーカーの間、３０００から３５００ポンド／エーカーの間及び３１００から３５００ポンド／エーカーの間からなる群から選択される収量を提供する。
【０２５１】
さらなる態様において、本発明のタバコ植物は、約１２００から３５００ポンド／エーカーの間、１２００から３４００ポンド／エーカーの間、１２００から３３００ポンド／エーカーの間、１２００から３２００ポンド／エーカーの間、１２００から３１００ポンド／エーカーの間、１２００から３０００ポンド／エーカーの間、１２００から２９００ポンド／エーカーの間、１２００から２８００ポンド／エーカーの間、１２００から２７００ポンド／エーカーの間、１２００から２６００ポンド／エーカーの間、１２００から２５００ポンド／エーカーの間、１２００から２４００ポンド／エーカーの間、１２００から２３００ポンド／エーカーの間、１２００から２２００ポンド／エーカーの間、１２００から２１００ポンド／エーカーの間、１２００から２０００ポンド／エーカーの間、１２００から１９００ポンド／エーカーの間、１２００から１８００ポンド／エーカーの間、１２００から１７００ポンド／エーカーの間、１２００から１６００ポンド／エーカーの間、１２００から１５００ポンド／エーカーの間及び１２００から１４００ポンド／エーカーの間からなる群から選択される収量を提供する。
【０２５２】
植物育種
一実施形態では、本発明は、
ａ．改変された（例えば、減少した）ニコチン含有量及び／又は改変された（例えば、減少した）ＴＳＮＡ前駆体の含有量を有するドナー植物であって、配列番号３で示されるアミノ酸配列、又はその機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む少なくとも１つのタンパク質、或いは、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされるタンパク質の活性又は発現が、本発明によるドナー植物において調節されて（例えば、減少して）いる、ドナー植物を、改変されたニコチン含有量又は改変されたＴＳＮＡ前駆体含有量を有さず、かつ商業的に望ましい形質を有するレシピエントタバコ植物と交配させるステップ、

ｂ．前記レシピエント植物と交配した前記ドナー植物の子孫から遺伝物質を単離するステップ、
ｃ．分子マーカーを用いて分子マーカー支援選択を行うステップであって、
ｉ．ａ．で定義されたタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列における、変異を含む遺伝子移入領域を同定するステップ
を含む、分子マーカー支援選択を行うステップ
を含む、アルカロイド含有量が変化した及び／又はＴＳＮＡ前駆体含有量が変化した植物を生成する方法を提供する。

【０２５３】

適切には、前記タンパク質の活性又は発現は、比較できる植物と比較した場合に、ドナー植物において調節されていてよい。適切には、前記方法によってアルカロイド含有量及び／又はＴＳＮＡ前駆体含有量が減少していてよい。適切には、アルカロイド含有量及び／又はＴＳＮＡ前駆体含有量は減少していてよく、前記タンパク質の活性又は発現は減少する又は阻害されていてよい。

【０２５４】

分子マーカー支援選択は、ＰＣＲを行って、配列番号３で示されるアミノ酸配列、又はこれらに対して少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質の活性又は発現を調節する変異を含む遺伝子移入核酸配列を同定することを含み得る。

【０２５５】

タバコ植物

本発明は、植物（例えばタバコ植物）に向けられた方法、使用、並びに、細胞（例えばタバコ細胞）、細胞培養物、植物（例えばタバコ植物）、及び植物増殖材料を提供する。

【０２５６】

本明細書において使用される用語「タバコ植物」は、タバコ産業製品の製造において使用されるタバコ属の植物を指す。適切な「タバコ」植物の非限定的な例としては、Ｎ．タバカム（N. tabacum）及びＮ．ルスティカ（N. rustica）（例えば、Ｎ．タバカムＬ．、ＬＡ　Ｂ２１、ＬＮ　ＫＹ１７１、ＴＩ　１４０６、Ｂａｓｍａ、Ｇａｌｐａｏ、Ｐｅｒｉｑｕｅ、Ｂｅｉｎｈａｒｔ　１０００－１、及びＰｅｔｉｃｏ）が挙げられる。

【０２５７】

タバコ材料は、バーレー種、フルー（flue）又はブライト種、及びダーク種として一般に知られている、様々なニコチアナ・タバカムタイプに由来し得るか又はこれらから得ることができる。一部の実施形態では、タバコ材料は、バーレー、バージニア、又はダークタバコ植物に由来する。タバコ植物は、バーレータバコ、レア（rare）タバコ、スペシャリティー（speciality）タバコ、膨張型（expanded）タバコ、又はそれに類するものから選択され得る。

【０２５８】

タバコ栽培品種及び優良タバコ栽培品種の使用もまた、本明細書において企図される。本明細書において使用するためのタバコ植物はしたがって、タバコ種又は優良タバコ栽培品種であり得る。特に有用なニコチアナ・タバカム種としては、黄色種バージニアタイプ、バーレータイプ、及びオリエンタルタイプが挙げられる。

【０２５９】

一部の実施形態では、タバコ植物は、例えば、以下の種の１又は２以上から選択され得る：Ｌ．栽培品種Ｔ．Ｉ．１０６８、ＡＡ３７－１、Ｂ　１３Ｐ、Ｘａｎｔｈｉ（Ｍｉｔｃｈｅｌｌ－Ｍｏｒ）、ＫＴ　Ｄ＃３ハイブリッド１０７、Ｂｅｌ－Ｗ３、７９－６１５、Ｓａｍｓｕｎ　Ｈｏｌｍｅｓ　ＮＮ、ＢＵ２１×Ｈｏｊａ　Ｐａｒａｄｏの交配に由来するＦ４、系統９７、ＫＴＲＤＣ＃２ハイブリッド４９、ＫＴＲＤＣ＃４ハイブリッド１１０、バーレー２１、ＰＭ０１６、ＫＴＲＤＣ＃５　ＫＹ　１６０　ＳＩ、ＫＴＲＤＣ＃７　ＦＣＡ、ＫＴＲＤＣ＃６　ＴＮ　８６　ＳＩ、ＰＭ０２１、Ｋ　１４９、Ｋ　３２６、Ｋ　３４６、Ｋ　３５８、Ｋ　３９４、Ｋ　３９９、Ｋ　７３０、ＫＹ　１０、ＫＹ　１４、ＫＹ　１６０、ＫＹ　１７、ＫＹ　８９５９、ＫＹ　９、ＫＹ　９０７、ＭＤ　６０

９、ＭｃＮａｉｒ ３７３、ＮＣ ２０００、ＰＧ ０１、ＰＧ ０４、Ｐ０１、Ｐ０２、Ｐ０３、ＲＧ １１、ＲＧ １７、ＲＧ ８、Ｓｐｅｉｇｈｔ Ｇ－２８、ＴＮ ８６、ＴＮ ９０、ＶＡ ５０９、ＡＳ４４、Ｂａｎｋｅｔ Ａ１、Ｂａｓｍａ Ｄｒａｍａ Ｂ８４／３１、Ｂａｓｍａ Ｉ Ｚｉｃｈｎａ ＺＰ４／Ｂ、Ｂａｓｍａ Ｘａｎｔｈｉ ＢＸ ２Ａ、Ｂａｔｅｋ、Ｂｅｓｕｋｉ Ｊｅｍｂｅｒ、Ｃ１０４、Ｃｏｋｅｒ ３１９、Ｃｏｋｅｒ ３４７、Ｃｒｉｏｌｌｏ Ｍｉｓｉｏｎｅｒｏ、ＰＭ０９２、Ｄｅｌｃｒｅｓｔ、Ｄｊｅｂｅｌ ８１、ＤＶＨ ４０５、Ｇａｌｐａｏ Ｃｏｍｕｍ、ＨＢ０４Ｐ、Ｈｉｃｋｓ Ｂｒｏａｄｌｅａｆ、Ｋａｂａｋｕｌａｋ Ｅｌａｓｓｏｎａ、ＰＭ１０２、Ｋｕｔｓａｇｅ Ｅ１、ＫＹ １４×Ｌ８、ＫＹ １７１、ＬＡ ＢＵ ２１、ＭｃＮａｉｒ ９４４、ＮＣ ２３２６、ＮＣ ７１、ＮＣ ２９７、ＮＣ ３、ＰＶＨ ０３、ＰＶＨ ０９、ＰＶＨ １９、ＰＶＨ ２１ １０、Ｒｅｄ Ｒｕｓｓｉａｎ、Ｓａｍｓｕｎ、Ｓａｐｌａｋ、Ｓｉｍｍａｂａ、Ｔａｌｇａｒ ２８、ＰＭ１３２、Ｗｉｓｌｉｃａ、Ｙａｙａｌｄａｇ、ＮＣ ４、ＴＲ Ｍａｄｏｌｅ、Ｐｒｉｌｅｐ ＨＣ－７２、Ｐｒｉｌｅｐ Ｐ２３、Ｐｒｉｌｅｐ ＰＢ １５６／１、Ｐｒｉｌｅｐ Ｐ１２－２／１、Ｙａｋａ ＪＫ－４８、Ｙａｋａ ＪＢ １２５／３、ＴＩ－１０６８、ＫＤＨ－９６０、ＴＩ－１０７０、ＴＷ１３６、ＰＭ２０４、ＰＭ２０５、Ｂａｓｍａ、ＴＫＦ ４０２８、Ｌ８、ＴＫＦ ２００２、ＴＮ ９０、ＧＲ１４１、Ｂａｓｍａ ｘａｎｔｈｉ、ＧＲ１４９、ＧＲ１５３、及びＰｅｔｉｔ Ｈａｖａｎａ。

【０２６０】

種又は栽培品種の非限定的な例は、以下の通りである：ＢＤ ６４、ＣＣ １０１、ＣＣ ２００、ＣＣ ２７、ＣＣ ３０１、ＣＣ ４００、ＣＣ ５００、ＣＣ ６００、ＣＣ ７００、ＣＣ ８００、ＣＣ ９００、Ｃｏｋｅｒ １７６、Ｃｏｋｅｒ ３１９、Ｃｏｋｅｒ ３７１ Ｇｏｌｄ、Ｃｏｋｅｒ ４８、ＣＤ ２６３、ＤＦ９１ １、ＤＴ ５３８ ＬＣ、Ｇａｌｐａｏタバコ、ＧＬ ２６Ｈ、ＧＬ ３５０、ＧＬ ６００、ＧＬ ７３７、ＧＬ ９３９、ＧＬ ９７３、ＨＢ ０４Ｐ、ＨＢ ０４Ｐ ＬＣ、ＨＢ ３３０７ＰＬＣ、ハイブリッド ４０３ＬＣ、ハイブリッド ４０４ＬＣ、ハイブリッド ５０１ ＬＣ、Ｋ １４９、Ｋ ３２６、Ｋ ３４６、Ｋ ３５８、Ｋ３９４、Ｋ ３９９、Ｋ ７３０、ＫＤＨ ９５９、ＫＴ ２００、ＫＴ２０４ＬＣ、ＫＹ１０、ＫＹ１４、ＫＹ １６０、ＫＹ １７、ＫＹ １７１、ＫＹ ９０７、ＫＹ９０７ＬＣ、ＫＴＹ１４ｘＬ８ ＬＣ、Ｌｉｔｔｌｅ Ｃｒｉｔｔｅｎｄｅｎ、ＭｃＮａｉｒ ３７３、ＭｃＮａｉｒ ９４４、ｍｓＫＹ １４ｘＬ８、Ｎａｒｒｏｗ Ｌｅａｆ Ｍａｄｏｌｅ、Ｎａｒｒｏｗ Ｌｅａｆ Ｍａｄｏｌｅ ＬＣ、ＮＢＨ ９８、Ｎ－１２６、Ｎ－７７７ＬＣ、Ｎ－７３７１ ＬＣ、ＮＣ １００、ＮＣ １０２、ＮＣ ２０００、ＮＣ ２９１、ＮＣ ２９７、ＮＣ ２９９、ＮＣ ３、ＮＣ ４、ＮＣ ５、ＮＣ ６、ＮＣ７、ＮＣ ６０６、ＮＣ ７１、ＮＣ ７２、ＮＣ ８１０、ＮＣ ＢＨ １２９、ＮＣ ２００２、Ｎｅａｌ Ｓｍｉｔｈ Ｍａｄｏｌｅ、ＯＸＦＯＲＤ ２０７、ＰＤ ７３０２ ＬＣ、ＰＤ ７３０９ ＬＣ、ＰＤ ７３１２ ＬＣ「Ｐｅｒｉｑ’ｅ」タバコ、ＰＶＨ０３、ＰＶＨ０９、ＰＶＨ１９、ＰＶＨ５０、ＰＶＨ５１、Ｒ ６１０、Ｒ ６３０、Ｒ ７－１ １、Ｒ ７－１２、ＲＧ １７、ＲＧ ８１、ＲＧ Ｈ５１、ＲＧＨ ４、ＲＧＨ ５１、ＲＳ １４１０、Ｓｐｅｉｇｈｔ １６８、Ｓｐｅｉｇｈｔ １７２、Ｓｐｅｉｇｈｔ １７９、Ｓｐｅｉｇｈｔ ２１０、Ｓｐｅｉｇｈｔ ２２０、Ｓｐｅｉｇｈｔ ２２５、Ｓｐｅｉｇｈｔ ２２７、Ｓｐｅｉｇｈｔ ２３４、Ｓｐｅｉｇｈｔ Ｇ－２８、Ｓｐｅｉｇｈｔ Ｇ－７０、Ｓｐｅｉｇｈｔ Ｈ－６、Ｓｐｅｉｇｈｔ Ｈ２０、Ｓｐｅｉｇｈｔ ＮＦ３、Ｔｌ １４０６、Ｔｌ １２６９、ＴＮ ８６、ＴＮ８６ＬＣ、ＴＮ ９０、ＴＮ ９７、ＴＮ９７ＬＣ、ＴＮ Ｄ９４、ＴＮ Ｄ９５０、ＴＲ（Ｔｏｍ Ｒｏｓｓｏｎ）Ｍａｄｏｌｅ、ＶＡ ３０９、ＶＡ３５９、ＡＡ ３７－１、Ｂ １３Ｐ、Ｘａｎｔｈｉ（Ｍｉｔｃｈｅｌｌ－Ｍｏｒ）、Ｂｅｌ－Ｗ３、７９－６１５、Ｓａｍｓｕｎ Ｈｏｌｍｅｓ ＮＮ、ＫＴＲＤＣ ｎｕｍｂｅｒ ２ハイブリッド４９、バーレー ２１、ＫＹ ８９５９、ＫＹ ９、ＭＤ ６０９、ＰＧ ０１、ＰＧ ０４、Ｐ０１、Ｐ０２、Ｐ０３、ＲＧ １ １、ＲＧ ８、ＶＡ ５０９、ＡＳ４４、Ｂａｎｋｅｔ Ａ１、Ｂ

ａｓｍａ Ｄｒａｍａ Ｂ８４／３１、Ｂａｓｍａ Ｉ Ｚｉｃｈｎａ ＺＰ４／Ｂ、Ｂａｓｍａ Ｘａｎｔｈｉ ＢＸ ２Ａ、Ｂａｔｅｋ、Ｂｅｓｕｋｉ Ｊｅｍｂｅｒ、Ｃ１０４、Ｃｏｋｅｒ ３４７、Ｃｒｉｏｌｌｏ Ｍｉｓｉｏｎｅｒｏ、Ｄｅｌｃｒｅｓｔ、Ｄｊｅｂｅｌ ８１、ＤＶＨ ４０５、Ｇａｌｐａｏ Ｃｏｍｕｍ、ＨＢ０４Ｐ、Ｈｉｃｋｓ Ｂｒｏａｄｌｅａｆ、Ｋａｂａｋｕｌａｋ Ｅｌａｓｓｏｎａ、Ｋｕｔｓａｇｅ Ｅ１、ＬＡ ＢＵ ２１、ＮＣ ２３２６、ＮＣ ２９７、ＰＶＨ ２１ １０、Ｒｅｄ Ｒｕｓｓｉａｎ、Ｓａｍｓｕｎ、Ｓａｐｌａｋ、Ｓｉｍｍａｂａ、Ｔａｌｇａｒ ２８、Ｗｉｓｌｉｃａ、Ｙａｙａｌｄａｇ、Ｐｒｉｌｅｐ ＨＣ－７２、Ｐｒｉｌｅｐ Ｐ２３、Ｐｒｉｌｅｐ ＰＢ １５６／１、Ｐｒｉｌｅｐ Ｐ１２－２／１、Ｙａｋａ ＪＫ－４８、Ｙａｋａ ＪＢ １２５／３、ＴＩ－１０６８、ＫＤＨ－９６０、Ｔｌ－１０７０、ＴＷ１３６、Ｂａｓｍａ、ＴＫＦ ４０２８、Ｌ８、ＴＫＦ ２００２、ＧＲ１４１、Ｂａｓｍａ ｘａｎｔｈｉ、ＧＲ１４９、ＧＲ１５３、Ｐｅｔｉｔ Ｈａｖａｎａ。上記のものの、変換の少ない亜種もまた、本明細書において具体的に同定されていなくても、企図される。

【０２６１】

タバコ植物は、バーレー、黄色種バージニア、又はオリエンタルであり得る。

【０２６２】

一実施形態では、植物増殖材料は、本発明の植物（例えばタバコ植物）から得ることができる。

【０２６３】

本明細書において使用される「植物増殖材料」は、さらなる植物がそこから生成され得る植物から得られる、任意の植物体を指す。適切には、植物増殖材料は、種子、植物カルス、及び植物塊から選択され得る。適切には、植物増殖材料は種子であり得る。適切には、植物増殖材料は植物カルスであり得る。適切には、植物増殖材料は植物塊であり得る。

【０２６４】

一実施形態では、細胞（例えばタバコ細胞）、細胞培養物、タバコ植物、及び／又は植物増殖材料は、本発明に従った方法によって得ることができる（例えば得られ得る）。

【０２６５】

適切には、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ように改変されている本発明によるタバコ植物は、未改変タバコ植物と比較した場合に、調節された（例えば、減少した）ニコチン含有量を有し得る。適切には、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害するように改変されている本発明によるタバコ植物は、未改変タバコ植物と比較した場合に、減少したニコチン含有量を有し得る。

【０２６６】

適切には、本発明に従ったタバコ植物は、未改変タバコ植物と比較した場合、ＴＳＮＡ前駆体の含有量が調節されている（例えば減少している）場合があり、この場合、タバコ植物は、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節する（例えば減少させる）ように改変されている。

【０２６７】

適切には、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少又は阻害するように改変されている本発明によるタバコ植物は、未改変タバコ植物と比較した場合に、減少したＴＳＮＡ前駆体含有量を有し得る。

【０２６８】

一実施形態では、本発明に従ったタバコ植物は、本発明のタバコ細胞を含む。

【０２６９】

別の実施形態では、植物増殖材料は、本発明のタバコ植物から得ることができる（例えば得られ得る）。

【０２７０】

一実施形態では、タバコ植物を育種するための、本明細書において記載されるタバコ植物の使用が提供される。

【０２７１】

本発明はまた、別の実施形態では、タバコ産業製品を生成するための、前述の実施形態のタバコ植物の使用も提供する。

【０２７２】

別の実施形態では、作物を作るための、本発明のタバコ植物の使用が提供される。

【０２７３】

一実施形態では、タバコ産業製品を生成するための、前述の実施形態において提供される細胞の使用が提供される。

【０２７４】

一実施形態では、本発明は、細胞培養物（例えばインビトロ培養物）を提供する。

【０２７５】

タバコ細胞培養物は、細胞懸濁液培養物であり得る。インビトロで培養されたこれらの細胞は、タバコ産業製品に、例えば、従来のタバコの粒子、細片、ファインカット若しくはロングカットのタバコ薄片の代替物として、添加物成分として、又は代替物及び添加物の両方として、組み込むことができる。適切には、細胞培養物は、ニコチンを生成し得る。

【０２７６】

一実施形態では、タバコ産業製品を生成するための、本発明に従った細胞培養物、例えば採取及び／又は処理された細胞培養物の使用が提供される。

【０２７７】

インビトロ培養物から採取されたタバコ細胞は、例えば粉末を生成するために、乾燥、例えば凍結乾燥させることができる。

【０２７８】

一実施形態では、細胞培養物はタバコ細胞培養物である。当業者には、タバコ細胞のインビトロ培養物を確立するための公知の方法が認識されよう。ほんの一例として、以下の方法が使用され得る：所望のタバコ植物から（form）種子を回収し、これら種子の外側を滅菌して望ましくない生物を除去すること、前記種子を植え付けて、所望のタバコ植物を成長させること、タバコ植物から（例えばタバコの茎から）組織を取り出して、外植片として使用すること、タバコ外植片からカルス培養物を確立すること、カルス培養物から細胞懸濁液培養物を確立すること、及び培養材料（例えばタバコ細胞を含む）を採取して、タバコ細胞培養物を生成すること。

【０２７９】

タバコ細胞は、濾過、例えば真空濾過を含む、様々な方法によって採取することができる。試料は、水を添加することによってフィルター中で洗浄され得、残っている液体は、濾過、例えば真空濾過によって除去される。

【０２８０】

採取されたタバコ細胞培養物は、さらに処理することができ、例えば乾燥、例えば空気乾燥及び／又は凍結乾燥することができる。採取されたタバコ細胞培養物若しくは乾燥された採取されたタバコ細胞培養物又はこれらの抽出物は、本発明に従ったタバコ産業製品に組み込むことができる。

【０２８１】

一実施形態では、本発明は、分子農業において使用するための植物（例えばタバコ植物）又はその一部分を提供する。適切には、本発明に従って改変された植物若しくはその一部分は、治療物質などのタンパク質、例えば、抗生物質、ウイルス様粒子、ニュートラシューティカルズ、又は低分子の製造において使用することができる。

【０２８２】

一実施形態では、本発明は、タンパク質（例えば、治療用タンパク質）を生成するための方法であって、配列番号３で示されるアミノ酸配列、又はその機能的バリアント若しく

は機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを有するタンパク質等の少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質、或いは、配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログを含む、少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の、活性又は発現を調節する（例えば、減少させる）ことによって、前記タンパク質（例えば、治療用タンパク質）を生成することができる植物又はその一部を改変するステップ及び、前記タンパク質（例えば、治療用タンパク質）の生成を可能にするために十分な条件下で植物を培養するステップを含む方法を提供する。

【０２８３】

製品

本発明はまた、本発明に従った植物から得ることができる又は得られる製品も提供する。Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現が調節されている植物から得ることができる又は得られる製品が提供される。

【０２８４】

一実施形態では、製品は、本明細書において定義される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節する本発明のコンストラクトを含み得る。一実施形態では、製品は、本明細書において定義される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の核酸配列を改変する本発明のコンストラクトを含み得る。

【０２８５】

本発明はまた、本発明に従ったタバコから得ることができる又は得られる製品も提供する。

【０２８６】

一実施形態では、タバコ葉を生産するための本発明のタバコ植物の使用が提供される。

【０２８７】

適切には、タバコ葉は、処理などの下流の適用を受け得る。

【０２８８】

したがって、一実施形態では、前述の実施形態の使用は、処理済のタバコ葉を提供し得る。適切には、タバコ葉は、乾燥、発酵、低温殺菌、又はこれらの組合せを受け得る。別の実施形態では、タバコ葉はカットされ得る。一部の実施形態では、タバコ葉は、乾燥、発酵、低温殺菌、又はこれらの組合せを受ける前又は後にカットされ得る。

【０２８９】

一実施形態では、本発明は、本発明のタバコ植物の収穫葉を提供する。

【０２９０】

さらなる実施形態では、収穫葉は、本発明の増殖材料から増殖させたタバコ植物から得ることができる（例えば得られ得る）。

【０２９１】

別の実施形態では、本発明の方法又は使用から得ることができる収穫葉が提供される。

【０２９２】

適切には、収穫葉は、カットされた収穫葉であり得る。

【０２９３】

一部の実施形態では、収穫葉は、生存しているタバコ細胞を含み得る。他の実施形態では、収穫葉は、さらなる処理を受け得る。

【０２９４】

処理済のタバコ葉も提供される。

【０２９５】

処理済のタバコ葉は、本発明のタバコ植物から得ることができる。適切には、処理済の

タバコ葉は、本発明の任意の方法及び／又は使用に従って得られるタバコ植物から得ることができる。

【０２９６】

適切には、処理済の葉は、ＮＮＮ、ＮＮＫ、ＮＡＴ、及びＮＡＢから選択される１又は２以上のＴＳＮＡの含有量が低減している場合がある。適切には、ＮＮＮの含有量が低減され得る。適切には、ＮＮＫの含有量が低減され得る。適切には、ＮＡＴの含有量が低減され得る。適切には、ＮＡＢの含有量が低減され得る。適切には、ＴＳＮＡ含有量の低減は、本発明に従った改変をされていない同等の製品と比較したものである。

【０２９７】

別の実施形態では、処理済のタバコ葉は、本発明に従ったタバコ植物増殖材料から増殖させたタバコ植物から得ることができる（例えば、得られた）。

【０２９８】

本発明の処理済のタバコ葉は、本発明の収穫葉を処理することによって得ることができる（例えば、得られた）。

【０２９９】

本明細書において使用される用語「処理済のタバコ葉」は、当技術分野においてタバコが受ける１又は２以上の処理ステップを受けているタバコ葉を指す。「処理済のタバコ葉」は、生存細胞を含まないか又は実質的に含まない。

【０３００】

用語「生存細胞」は、増殖することができる及び／又は代謝的に活性な細胞を指す。したがって、細胞が生存していないと言われる場合、「非生存」とも呼ばれるが、細胞は生存細胞の特徴を示さない。

【０３０１】

用語「生存細胞が実質的にない」は、全細胞の約５％未満が生存していることを意味する。好ましくは、全細胞の約３％未満、さらに好ましくは約１％未満、またさらに好ましくは約０．１％未満が生存している。

【０３０２】

一実施形態では、処理済のタバコ葉は、乾燥、発酵、及び／又は低温殺菌の１又は２以上によって処理され得る。

【０３０３】

適切には、処理済のタバコ葉は、乾燥によって処理され得る。

【０３０４】

タバコ葉は、当技術分野において公知のあらゆる方法によって乾燥され得る。一実施形態では、タバコ葉は、空気乾燥、火力乾燥、熱気送管乾燥、及び日光乾燥からなる群から選択される乾燥方法の１又は２以上によって乾燥され得る。

【０３０５】

適切には、タバコ葉は、空気乾燥され得る。

【０３０６】

典型的には、空気乾燥は、良く通気された納屋にタバコ葉を吊るし、乾燥させることによって行われる。これは通常、４～８週間の期間にわたり行われる。空気乾燥は、バーレータバコに特に適している。

【０３０７】

適切には、タバコ葉は、火力乾燥され得る。火力乾燥は、タバコ葉を大きな納屋に吊るし、ここで堅木を連続的な又は断続的な弱い燻煙で燃やし続けることによって典型的には行われ、通常は、処理及びタバコに応じて、３日間～１０週間かかる。

【０３０８】

別の実施形態では、タバコ葉は、熱気送管乾燥され得る。熱気送管乾燥は、タバコ葉をタバコスティックに巻き付けること、及びこれを乾燥用納屋内の階段状のポールから吊るすことを含み得る。納屋は通常、外部で燃料を供給される火室から続いている、送気管を有する。典型的には、これによって、煙に曝露させることなく熱乾燥タバコが得られる。

通常、温度は乾燥の過程でゆっくりと上昇し、処理全体はおよそ１週間かかる。

【０３０９】

適切には、タバコ葉は、日光乾燥され得る。この方法は、典型的には、被覆されていないタバコを日光に曝露させることを伴う。

【０３１０】

適切には、処理済のタバコ葉は、発酵によって処理され得る。

【０３１１】

発酵は、当技術分野において公知の任意の様式で行うことができる。典型的には、発酵の間、タバコ葉は積み重ねられて、水分を保持するために例えばバーラップで被覆されている、乾燥タバコの山（バルク）にされる。葉の内部の残留水分とタバコの重量との組合せによって自然熱が生じ、これがタバコを円熟させる。バルクの中心の温度を、１日に１回モニタリングする。一部の方法においては、毎週、バルク全体を開く。次いで葉を取り出して振とうし、湿らせ、そしてバルクを回転させて、バルクの内側の葉と外側の葉を入れ替え、底の葉を上部にもってくる。これによって、バルク全体での均等な発酵が確実に行われる。葉の上のさらなる水分と、葉自体の実際の回転とによって熱が生じ、タバコの天然アンモニアが放出され、ニコチンが低減し、その一方でまた、色が濃くなり、タバコの芳香が向上する。典型的には、発酵処理は、タバコの種、葉における葉柄の位置、厚さ、及び葉の目的の使用に応じて、最長６カ月間継続する。

【０３１２】

適切には、処理済のタバコ葉は、低温殺菌によって処理され得る。低温殺菌は、無煙タバコ産業製品、最も好ましくはスヌースを作製するためにタバコ葉を使用する場合に、特に好ましい場合がある。

【０３１３】

タバコ葉の低温殺菌は、当技術分野において公知のあらゆる方法によって行うことができる。例えば、低温殺菌は、その教示が参照によって本明細書に組み込まれる、J Foulds, L Ramstrom, M Burke, K Fagerstrom. Effect of smokeless tobacco (snus) on smoking and public health in Sweden Tobacco Control (2003) 12: 349-359において詳述されているように行うことができる。

【０３１４】

スヌースの生成の際に、低温殺菌は、タバコを蒸気で２４～３６時間熱処理する（およそ１００℃の温度に達する）処理によって典型的には行われる。これによって、ほとんど無菌の製品が得られ、理論に拘束されることは望まないが、この結果の１つは、さらなるＴＳＮＡ形成を制限するものであると考えられる。

【０３１５】

一実施形態では、低温殺菌は、蒸気低温殺菌であり得る。

【０３１６】

一部の実施形態では、処理済のタバコ葉はカットされ得る。処理済のタバコ葉は、処理の前又は後にカットされ得る。適切には、処理済のタバコ葉は、処理の後にカットされ得る。

【０３１７】

一実施形態では、前述の実施形態の使用は、再構成タバコを提供し得る。

【０３１８】

一実施形態では、再構成タバコが提供される。

【０３１９】

本明細書において使用される「再構成」は、再利用又は均質化されたシートタバコであるリーコン（recon）とも呼ばれ得、処理後に残ったタバコ葉から生成されるタバコ材料を指す。再構成タバコによって、一貫した、質の高いブレンドの生成が可能となり、個々の構成成分の比率の調整が可能となる。

【０３２０】

再構成タバコは、ナノファイバーリーコン（ナノファイバーは固体若又は液体形態で抽

出され得る）、紙製リーコン（これは、茎、小片、及び中央脈などを原材料として使用する）、又はスラリータイプリーコン（これは、微紛と、粉に粉砕し水及び植物性結合剤と混合したタバコの茎との混合物を使用し、可溶性残渣が、水を抽出することによってシート状に形成される）であり得る。

【０３２１】

当技術分野において公知のあらゆる方法を、再構成タバコを作製するために使用することができ、例えば、CORESTA Congress, Sapporo, 2012, Smoke Science/Product Technology Groups, SSPT 12（参照によって本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０３２２】

一部の実施形態では、タバコ植物、タバコ植物の収穫葉、及び／又は処理済のタバコ葉は、ニコチンを抽出するために使用することができる。ニコチンの抽出は、当技術分野において公知のあらゆる方法を使用して行うことができる。例えば、タバコからニコチンを抽出するための方法は、参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許第２，１６２，７３８号明細書において教示されている。

【０３２３】

一態様において、本発明は、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分から作製された乾燥タバコ材料を提供する。

【０３２４】

適切には、乾燥タバコは、ＮＮＫ、ＮＮＮ、ＮＡＴ、及びＮＡＢから選択される１又は２以上のＴＳＮＡの含有量が低減している場合がある。適切には、ＮＮＮの含有量が低減され得る。適切には、ＮＮＫの含有量が低減され得る。適切には、ＮＡＴの含有量が低減され得る。適切には、ＮＡＢの含有量が低減され得る。適切には、ＴＳＮＡ含有量の低減は、本発明に従った改変をされていない同等の製品と比較したものである。

【０３２５】

別の態様において、本発明は、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分から又は本発明に従ったタバコ細胞培養物から作製されたタバコ材料を含むタバコブレンドを提供する。一態様において、本発明は、本発明に従った乾燥タバコ材料を含むタバコブレンドを提供する。

【０３２６】

適切には、本発明に従ったタバコブレンドは、およそ１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ１０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ２０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ３０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ４０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ５０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ６０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ７０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ８０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。適切には、タバコブレンドは、およそ９０％の、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分又は本発明に従ったタバコ細胞培養物に由来するタバコを含み得る。

【０３２７】
一態様において、本発明のタバコブレンド製品は、少なくとも約５、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０，又は９５乾燥重量パーセントの、本発明に従ったタバコ植物若しくはその一部分から又は本発明に従ったタバコ細胞培養物から乾燥タバコを含む。
【０３２８】
適切には、乾燥タバコ材料は、空気乾燥され得る。適切には、乾燥タバコ材料は、熱気送管乾燥され得る。適切には、乾燥タバコ材料は、日光乾燥され得る。適切には、乾燥タバコ材料は、火力乾燥され得る。
【０３２９】
本発明に従ったタバコ産業製品又は喫煙用品は、本発明に従ったタバコ材料（例えば、乾燥タバコ材料又は再構成タバコ材料）を含み得る。
【０３３０】
別の態様において、本発明は、タバコ産業製品を提供する。
【０３３１】
一実施形態では、本発明に従ったタバコ産業製品は、ブレンドタバコ産業製品であり得る。適切には、タバコブレンドは、本発明に従った乾燥タバコ材料を含み得る。
【０３３２】
一実施形態では、タバコ産業製品は、本発明のタバコ植物若しくはその一部分から調製することができる。
【０３３３】
適切には、タバコ植物若しくはその一部分は、本発明に従ったタバコ植物増殖材料から増殖させることができる。
【０３３４】
本明細書において使用される用語「その一部分」は、タバコ植物の文脈において、タバコ植物の一部を指す。適切には、「その一部分」は、タバコ植物の葉、根、若しくは茎、又は花であり得る。適切には、「その一部分」は、タバコ植物の葉、根、又は茎であり得る。
【０３３５】
タバコ産業製品
本明細書において使用される場合、用語「タバコ産業製品」は、紙巻タバコ、シガリロ、葉巻タバコ、パイプ用又は手巻き紙巻タバコ用のタバコ（タバコ、タバコ派生物、膨張型タバコ、再構成タバコ、タバコ代替物、又は他の喫煙可能な材料に基づくかにかかわらず）などの可燃性喫煙用品、電子紙巻タバコ、タバコ加熱製品、及び基質材料の組合せからエアロゾルを生成させるためのハイブリッドシステム、例えば、液体又はゲル状又は固体の基質を含有するハイブリッドシステムなどの、燃焼を伴わずに基質材料から化合物を放出させる加熱製品などの、非可燃性エアロゾル供給システムと、これらのエアロゾル供給システムと共に使用されるエアロゾル化可能な基質材料；並びに、薬用キャンディー剤、ガム、パッチ、呼吸可能な粉末を含む用品、並びにスヌース及びスナッフなどの無煙タバコ産業製品などの、ニコチンを送達してもしなくてもよいエアロゾルフリーの送達用品を含むものである。
【０３３６】
一実施形態では、タバコ産業製品は、本発明のタバコ植物若しくはその一部分から調製することができる（例えば、これを含み得る）。
【０３３７】
適切には、タバコ植物若しくはその一部分は、本発明に従ったタバコ植物増殖材料から増殖させることができる。
【０３３８】
本明細書において使用される用語「その一部分」は、タバコ植物の文脈において、タバコ植物の一部を指す。好ましくは、「その一部分」は、タバコ植物の葉である。

【０３３９】
別の実施形態では、タバコ産業製品は、本発明の収穫葉から調製することができる。
【０３４０】
さらなる実施形態では、タバコ産業製品は、本発明の処理済のタバコ葉から調製することができる。
【０３４１】
適切には、タバコ産業製品は、乾燥、発酵、及び／又は低温殺菌の１又は２以上によって処理されたタバコ葉から調製することができる。
【０３４２】
適切には、タバコ産業製品は、前述の実施形態の通りに処理されていてもよい、カットされたタバコ葉を含み得る。
【０３４３】
別の実施形態では、タバコ産業製品は、本発明に従ったタバコ細胞培養物から調製することができる。
【０３４４】
別の実施形態では、タバコ産業製品は、本発明に従った乾燥タバコ材料から調製することができる（例えば、これを含み得る）。
【０３４５】
別の実施形態では、タバコ産業製品は、本発明に従ったタバコブレンドから調製することができる（例えば、これを含み得る）。
【０３４６】
一実施形態では、タバコ産業製品は、喫煙用品であり得る。
【０３４７】
本明細書において使用される場合、用語「喫煙用品」としては、タバコ、タバコ派生物、膨張型タバコ、再構成タバコ、又はタバコ代替物に基づくかにかかわらず、巻きタバコ、紙巻タバコ、葉巻、及びシガリロなどの喫煙可能製品が含まれ得る。
【０３４８】
別の実施形態では、タバコ産業製品は、無煙タバコ産業製品であり得る。
【０３４９】
本明細書において使用される用語「無煙タバコ産業製品」は、煙を出さない及び／又は燃焼されないようにしたタバコ産業製品を指す。
【０３５０】
無煙タバコ産業製品（加熱式材料を含む）は、薄片、フィルム、タブ、発泡体、又はビーズなどの任意の形態の他の成分上に載せられた、それらに混合された、それらによって囲まれた、又はそれらと組み合わされた、乾燥粒子、細片、顆粒、粉末、又はスラリーを含む、任意の形態のタバコを含有し得る。
【０３５１】
一実施形態では、無煙タバコ産業製品としては、スヌース、スナッフ、噛みタバコ、又はそれに類するものが含まれ得る。
【０３５２】
一実施形態では、タバコ産業製品は、紙巻タバコ、シガリロ、及び葉巻タバコからなる群から選択される可燃性喫煙用品である。
【０３５３】
一実施形態では、タバコ産業製品は、フィルター、フィルターロッド、フィルターロッドセグメント、タバコ、タバコロッド、タバコロッドセグメント、付け木、添加物放出部品、例えばカプセル、糸、ビーズ、ペーパー、例えばプラグラップ、チップペーパー、又は紙巻タバコ用の紙などの、可燃性喫煙用品の１又は２以上の部品を含む。
【０３５４】
一実施形態では、タバコ産業製品は、非可燃性エアロゾル供給システムである。
【０３５５】

一実施形態では、タバコ産業製品は、ヒーター及びエアロゾル化可能な基質などの、非可燃性エアロゾル供給システムの１又は２以上の部品を含む。

【０３５６】

一実施形態では、エアロゾル供給システムは、ベイピングデバイスとしても知られている電子紙巻タバコである。

【０３５７】

一実施形態では、電子紙巻タバコは、ヒーター、動力をヒーターに供給し得る動力供給源、液体又はゲルなどのエアロゾル化可能な基質、格納箱を含み、マウスピースを含んでいてもよい。

【０３５８】

一実施形態では、エアロゾル化可能な基質は、基質容器に入っている。一実施形態では、基質容器は、ヒーターと組み合わされているか又はヒーターを含む。

【０３５９】

一実施形態では、タバコ産業製品は、基質材料を燃やすことなく加熱することによって１又は２以上の化合物を放出する、加熱製品である。基質材料は、例えば、ニコチンを含有していてもしていなくてもよいタバコ又は他の非タバコ製品であり得る、エアロゾル化可能な材料である。一実施形態では、加熱製品は、タバコ加熱製品である。

【０３６０】

一実施形態では、加熱製品は電子デバイスである。

【０３６１】

一実施形態では、タバコ加熱製品は、ヒーター、動力をヒーターに供給し得る動力供給源、固体又はゲル状材料などのエアロゾル化可能な基質を含む。

【０３６２】

一実施形態では、加熱製品は非電子用品である。

【０３６３】

一実施形態では、加熱製品は、固体又はゲル状の材料などのエアロゾル化可能な基質、及び、木炭などの燃焼材料を例えば燃やすことによっていかなる電子的手段も用いずに熱エネルギーをエアロゾル化可能な基質に供給し得る熱源を含む。

【０３６４】

一実施形態では、加熱製品はまた、エアロゾル化可能な基質を加熱することによって生じるエアロゾルを濾過し得るフィルターを含む。

【０３６５】

一部の実施形態では、エアロゾル化可能な基質材料は、ベイパー若しくはエアロゾル生成剤、又はグリセロール、プロピレングリコール、トリアセチン、若しくはジエチレングリコールなどの保湿剤を含み得る。

【０３６６】

一実施形態では、タバコ産業製品は、基質材料の組合せを燃やすことなく加熱することによってエアロゾルを生成させるためのハイブリッドシステムである。基質材料は、例えば、ニコチンを含有していてもしていなくてもよい固体、液体、又はゲルを含み得る。一実施形態では、ハイブリッドシステムは、液体又はゲル状の基質及び固体基質を含む。固体基質は、例えば、ニコチンを含有していてもしていなくてもよいタバコ又は他の非タバコ製品であり得る。一実施形態では、ハイブリッドシステムは、液体又はゲル状の基質及びタバコを含む。

【０３６７】

さらなる実施形態では、タバコ産業製品は、タバコ加熱デバイス又はハイブリッドデバイス又は電子紙巻タバコ又はそれに類するものであり得る。

【０３６８】

典型的には、タバコ加熱デバイス又はハイブリッドデバイスにおいて、エアロゾルは、熱源から、熱源の中、周り、又は下流に位置し得る物理的に離れたエアロゾル形成基質又は材料への熱の伝導によって生じる。喫煙の間、熱源からの熱伝導によって揮発性化合物

がエアロゾル形成基質から放出され、喫煙用品を介して吸い込まれた空気と共に運ばれる。放出された化合物が冷却されるにつれ、これら化合物は凝縮してエアロゾルを形成し、これがユーザーによって吸入される。

【０３６９】

タバコ加熱デバイスを消費又は喫煙するためのエアロゾル生成用品及びデバイスは、当技術分野において公知である。これらとしては、例えば、電気的に加熱されるエアロゾル生成デバイスが含まれ得、この場合、エアロゾル生成デバイスの１又は２以上の電気的加熱体からタバコ加熱デバイスのエアロゾル形成基質への熱の伝導によって、エアロゾルが生成される。

【０３７０】

適切には、タバコ加熱デバイスは、エアロゾル生成デバイスであり得る。

【０３７１】

好ましくは、タバコ加熱デバイスは、加熱式デバイスであり得る。加熱式デバイスは当技術分野において公知であり、タバコを燃やすことなく加熱することによって化合物を放出する。

【０３７２】

適切な加熱式デバイスの例は、参照によって本明細書に組み込まれる、国際公開第２０１３／０３４４５９号パンフレット又は英国特許第２５１５５０２号明細書において教示されているものであり得る。

【０３７３】

一実施形態では、タバコ加熱デバイスのエアロゾル形成基質は、本発明に従ったタバコ産業製品であり得る。

【０３７４】

一実施形態では、タバコ加熱デバイスは、ハイブリッドデバイスであり得る。

【０３７５】

ポリヌクレオチド／ポリペプチド／コンストラクト

本発明の特定の実施形態では、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節するコンストラクトが、適切にはプロモーターの指示下で植物細胞に形質転換され得る。

【０３７６】

本発明の特定の実施形態では、本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少させる（すなわち阻害する）コンストラクトが、プロモーターの指示下で植物細胞に形質転換され得る。例えば、遺伝子コンストラクトは、遺伝子編集コンストラクトであり得るか、又は低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ、small interfering RNA）分子若しくは短鎖ヘアピンループ（ｓｈＲＮＡ）分子を含み得るＲＮＡｉ分子を含み得る。

【０３７７】

本発明の特定の実施形態では、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子の活性又は発現を増大させるコンストラクト、例えば、内因性Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質などのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子をコードするコンストラクトを植物細胞中に、適切には、プロモーターの指示下に形質転換できる。

【０３７８】

コンストラクトは、適切なベクター、例えば植物形質転換ベクターによって、本発明に従った植物に導入することができる。植物形質転換ベクターは、転写方向で５’～３’を含む発現カセット、プロモーター配列、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子を標的化するコンストラクト配列を含み得、ＲＮＡポリメラーゼの終止シグナル及びポリアデニラーゼのためのポリアデニル化シグナルを含む３’未翻訳ターミネーター配列を含んでいてもよい。プロモーター

配列は、１又は２以上のコピー内に存在し得、このようなコピーは、上記のようなプロモーター配列と同一であるか又はそのバリアントであり得る。ターミネーター配列は、植物、細菌、又はウイルスの遺伝子から得ることができる。適切なターミネーター配列は、例えば、エンドウｒｂｃＳ　Ｅ９ターミネーター配列、アグロバクテリウム・ツメファシエンス（Agrobacterium tumefaciens）のノパリン合成酵素遺伝子に由来するｎｏｓターミネーター配列、及びカリフラワーモザイクウイルスに由来する３５Ｓターミネーター配列である。当業者には、他の適切なターミネーター配列が容易に認識されよう。

【０３７９】

本発明のコンストラクトはまた、プロモーターの強度を増大させるための遺伝子発現増強メカニズムを含み得る。このようなエンハンサーエレメントの例は、参照によって本明細書に組み込まれる、国際特許出願の国際公開第９７／２００５６号パンフレットの主題である、エンドウプラストシアニン遺伝子のプロモーターの一部に由来するものである。適切なエンハンサーエレメントは、例えば、アグロバクテリウム・ツメファシエンスのノパリン合成酵素遺伝子に由来するｎｏｓエンハンサーエレメント、及びカリフラワーモザイクウイルスに由来する３５Ｓエンハンサーエレメントであり得る。

【０３８０】

これらの調節領域は、プロモーターＤＮＡ配列と同一の遺伝子に由来し得るか、或いは、ニコチアナ・タバカム又は他の生物、例えばナス科植物若しくはヤコウカ亜科（Cestroideae）由来の、異なる遺伝子に由来し得る。すべての調節領域は、形質転換対象の組織の細胞において操作可能であるべきである。

【０３８１】

プロモーターＤＮＡ配列は、所望の遺伝子、例えば、プロモーターが指示しようとしている遺伝子、例えば、本発明に従ったＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子、本発明において使用されるコード配列と同一の遺伝子に由来し得るか、或いは、ニコチアナ・タバカム又は別の生物、例えばナス科植物若しくはヤコウカ亜科由来の、異なる遺伝子に由来し得る。

【０３８２】

発現カセットは、ｐＢＩＮ　１９　Ｐｌｕｓ、ｐＢＩ　１０１、ｐＫＹＬＸ７１：３５Ｓ２、ｐＣＡＭＢＩＡ２３００などの基本的な植物形質転換ベクター、又は当技術分野において公知の他の適切な植物形質転換ベクターに組み込むことができる。このような配列が形質転換処理に必要であるため、植物形質転換ベクターは、発現カセットに加えて、このような配列を含有することになる。これら配列としては、アグロバクテリウムｖｉｒ遺伝子、１又は２以上のＴ－ＤＮＡ境界配列、及び選択可能マーカー、又はトランスジェニック植物細胞を同定する他の手段が含まれ得る。

【０３８３】

用語「発現ベクター又は植物形質転換ベクター」は、インビボ又はインビトロでの発現が可能なコンストラクトを意味する。好ましくは、発現ベクターは、生物のゲノムに組み込まれている。一実施形態では、本発明のベクターは、タンパク質、例えば、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質を発現する。用語「組み込まれる」は、好ましくは、ゲノム内への安定な組込みに関する。

【０３８４】

植物を形質転換するための技術は当技術分野において周知であり、これとしては、例えばアグロバクテリウム媒介性の形質転換が含まれる。遺伝子改変された植物のコンストラクションにおける基本的な原理は、植物ゲノムに遺伝情報を挿入して、挿入された遺伝物質の安定な維持を得ることである。一般的な技術の概要は、参照によって本明細書に組み込まれる、Potrykus（Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol [1991] 42:205-225）及びChriston（AgroFood-Industry Hi-Tech March/April1994 17-27）による記事において見ることができる。

【０３８５】

典型的には、アグロバクテリウム媒介性の形質転換において、所望の外来ＤＮＡ、すな

わち本発明に従ったコンストラクトを有するバイナリーベクターが、アグロバクテリウムと標的植物由来の外植片とを共培養することによって、適切なアグロバクテリウム株から標的植物に移入される。形質転換植物の組織は次いで、選択可能マーカー及び植物成長ホルモンを含んでいる選択培地で再生される。代替方法は、インタクトな植物の花芽を、キメラ遺伝子を含有するアグロバクテリウム株の懸濁液と接触させ、そして、種ができた後、形質転換された個体を発芽させ、選択培地での成長によって同定する、フローラルディップ法（参照によって本明細書に組み込まれる、Clough & Bent, 1998 Plant J. 1998 Dec;16(6):735-43）である。アグロバクテリウムによる植物組織の直接感染は広く利用されている単純な技術であり、これは、参照によって本明細書に組み込まれる、Butcher et al. (1980) Tissue Culture Methods for Plant Pathologists, eds.: D. S. Ingrams and J.P. Helgeson, 203-208において記載されている。

【０３８６】

さらなる適切な形質転換方法としては、例えば、ポリエチレングリコール又はエレクトロポレーション技術、パーティクルガン、マイクロインジェクション、及び炭化ケイ素ファイバーの使用を使用する、プロトプラストへの直接的な遺伝子移入が含まれる。バリスティック形質転換を使用する植物の形質転換、及び炭化ケイ素ウィスカー媒介性の形質転換による繁殖力のあるトランスジェニックトウモロコシ植物の生成が、参照によって本明細書に組み込まれる、Frame et al. (1994) The Plant Journal 6(6): 941-948において教示されており、また、ウイルス形質転換技術が、例えば、参照によって本明細書に組み込まれる、Meyer et al. (1992) Mol. Gen. Genet. 231(3): 345-352において教示されている。植物のためのベクターシステムとしてのキャッサバモザイクウイルスの使用が、参照によって本明細書に組み込まれる、Meyer et al. (1992) Gene 110: 213-217において教示されている。植物の形質転換についてのさらなる教示は、参照によって本明細書に組み込まれる、欧州特許出願公開第０４４９３７５号公報で見ることができる。

【０３８７】

さらなる態様において、本発明は、コンストラクトを有し、植物などの生物、適切にはタバコ植物のゲノムにこれを導入する、ベクターシステムに関する。ベクターシステムは１つのベクターを含み得るが、２つのベクターを含んでいてもよい。２つのベクターのケースでは、ベクターシステムは、バイナリーベクターシステムと通常呼ばれる。バイナリーベクターシステムは、参照によって本明細書に組み込まれる、Gynheung et al. (1980) Binary Vectors, Plant Molecular Biology Manual A3, 1-19において、より詳細に記載されている。

【０３８８】

１つの広く利用されている植物細胞形質転換システムは、参照によって本明細書に組み込まれる、An et al. (1986) Plant Physiol. 81, 301-305、及びButcher et al. (1980) Tissue Culture Methods for Plant Pathologists eds.: D. S. Ingrams and J.P. Helgeson, 203-208によって記載されている、アグロバクテリウム・ツメファシエンス由来のＴｉプラスミド又はアグロバクテリウム・リゾゲネス（Agrobacterium rhizogenes）由来のＲｉプラスミドを使用する。植物における本発明に従った所望の外因性遺伝子の各導入方法の後に、さらなるＤＮＡ配列の存在及び／又は挿入が必要であり得る。植物細胞の形質転換のためのＴ－ＤＮＡの使用は集中的に研究されており、すべて参照によって本明細書に組み込まれる、欧州特許出願公開第１２０５１６号公報、Hoekema (1985) The Binary Plant Vector System, Offset-drukkerij Kanters B. B., Amsterdam Chapter V、Fraley et al. Crit. Rev. Plant Sci. 4:1-46、及びAn et al. (1985) EMBO J 4: 277-284において記載されている。

【０３８９】

本明細書において記載される少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節するコンストラクトを形質転換された植物細胞は、周知の組織培養方法に従って、例えば、アミノ酸、植物ホルモン、ビタミンなどの必

須の増殖因子を添加した適切な培養培地において細胞を培養することによって、増殖させ、維持することができる。

【０３９０】

本発明に関連する用語「トランスジェニック植物」としては、本発明に従った少なくとも１つのＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節するコンストラクトを含むあらゆる植物が含まれる。したがって、トランスジェニック植物は、本発明に従ったコンストラクトを形質転換されている植物である。好ましくは、トランスジェニック植物は、本発明に従った、調節された（例えば、低減された）アルカロイド含有量及び／又は調節された（例えば、低減された）ＴＳＮＡ前駆体含有量を示す。用語「トランスジェニック植物」は、その天然の環境にある、すなわち、そのネイティブなプロモーター（これも同様にその天然の環境にある）の制御下にある、ネイティブなヌクレオチドコード配列は意味しない。

【０３９１】

一態様において、本発明に従ったＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子、コンストラクト、植物形質転換ベクター、又は植物細胞は、単離された形態である。用語「単離された」は、配列が、当該配列が天然の状態において天然において付随している、及び天然で見られる、少なくとも１つの他の構成成分を、少なくとも実質的に有さないことを意味する。

【０３９２】

一態様において、本発明に従ったＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子、コンストラクト、植物形質転換ベクター、又は植物細胞は、精製された形態である。用語「精製された」は、比較的純粋な状態、例えば、少なくとも約９０％の純度、又は少なくとも約９５％の純度、又は少なくとも約９８％の純度であることを意味する。

【０３９３】

本明細書において使用される用語「ヌクレオチド配列」は、オリゴヌクレオチド配列又はポリヌクレオチド配列、並びにこれらのバリアント、ホモログ、断片、及び誘導体（その部分など）を指す。ヌクレオチド配列は、ゲノム由来又は合成由来又は組換え由来のものであり得、これらは、二本鎖、又はセンス鎖若しくはアンチセンス鎖のいずれかに相当する一本鎖であり得る。

【０３９４】

本発明に関連する用語「ヌクレオチド配列」としては、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、合成ＤＮＡ、及びＲＮＡが含まれる。好ましくは、ヌクレオチド配列は、本発明をコードするＤＮＡ配列、さらに好ましくはｃＤＮＡ配列を意味する。

【０３９５】

好ましい実施形態では、本発明の範囲に関する場合、及びそれ自体が本発明の範囲に包含される場合のヌクレオチド配列、すなわち、本発明によるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子としては、その天然の環境にある場合、及び天然において付随している配列（これも同様にその天然の環境にある）に連結している場合のネイティブなヌクレオチド配列が含まれる。参照を容易にするために、本発明者らは、この好ましい実施形態を「ネイティブなヌクレオチド配列」と呼ぶ。この点に関して、用語「ネイティブなヌクレオチド配列」は、そのネイティブな環境にあり、及びそれが天然において付随しているプロモーター（当該プロモーターも同様にそのネイティブな環境にある）全体に機能可能に連結している、ヌクレオチド配列全体を意味する。

【０３９６】

本発明において使用するためのヌクレオチド配列は、適切な宿主生物によるヌクレオチド配列の発現を提供し得る調節配列にヌクレオチド配列が機能可能に連結しているベクター内に存在し得る。本発明において使用するためのコンストラクトは、本発明のポリペプチドの発現を提供するように、本明細書において記載される適切な宿主細胞に形質転換することができる。ベクター、例えばプラスミド、コスミド、又はファージベクターの選択

は、それが導入される宿主細胞に依存することが多い。ベクターは、インビトロで、例えばＲＮＡの生成のために使用することができるか、又は宿主細胞にトランスフェクトする、形質転換する、形質導入する、若しくは感染させるために使用することができる。

【０３９７】

一部の適用において、本発明において使用するためのヌクレオチド配列は、例えば選択された宿主細胞によるヌクレオチド配列の発現を提供し得る調節配列に機能可能に連結している。例として、本発明は、このような調節配列に機能可能に連結している、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子のヌクレオチド配列を含むベクターを網羅し、すなわち、ベクターは発現ベクターである。

【０３９８】

用語「機能可能に連結している」は、記載される構成成分が、それらの目的の様式で機能することを可能にする関係にある、並置を指す。コード配列に「機能可能に連結している」調節配列は、制御配列に適合する条件下でコード配列の発現が行われるように、ライゲーションされている。

【０３９９】

用語「調節配列」としては、プロモーター及びエンハンサー並びに他の発現調節シグナルが含まれる。用語「プロモーター」は、当技術分野の通常の意味で使用され、例えばＲＮＡポリメラーゼ結合部位である。Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードするコンストラクト内のヌクレオチド配列は、少なくとも１つのプロモーターに機能可能に連結していてよい。

【０４００】

用語「コンストラクト」は、「カセット」又は「ベクター」などの用語と同義であるが、これとしては、プロモーターに直接的に又は間接的に結合した、本発明に従って使用するためのヌクレオチド配列が含まれる。

【０４０１】

間接的な結合の例は、プロモーターと本発明のヌクレオチド配列との間にある、Ｓｈ１－イントロン又はＡＤＨイントロンなどのイントロン配列などの適切なスペーサー基の提供である。直接的な又は間接的な結合を含む、本発明に関連する「融合した」という用語でも、同様のことが当てはまる。一部のケースにおいて、この用語は、野生型遺伝子プロモーターと通常結び付いているタンパク質をコードするヌクレオチド配列の天然の組合せ（これらが共に、その天然の環境にある場合）は意味しない。コンストラクトはさらに、マーカーを含有又は発現することもでき、このことによって、遺伝子コンストラクトの選択が可能となる。

【０４０２】

一部の実施形態では、プロモーターは、細胞若しくは細胞培養物又はタバコ植物若しくはその一部分におけるニコチンの濃度及び／又は総含有量を調節するように使用されるコンストラクト又はベクター内のヌクレオチド配列に機能可能に連結していてもよい。

【０４０３】

一部の実施形態では、プロモーターは、構成的プロモーター、組織特異的プロモーター、発生学的に調節されるプロモーター、及び誘導性プロモーターからなる群から選択され得る。

【０４０４】

一実施形態では、プロモーターは、構成的プロモーターであり得る。

【０４０５】

構成的プロモーターは、植物の発生の際に連続的に植物の様々な部分の全体を通して遺伝子の発現を指示するが、遺伝子は、すべての細胞タイプで同一のレベルで発現されなくてもよい。公知の構成的プロモーターの例としては、カリフラワーモザイクウイルス３５Ｓ転写産物（Odell JT, Nagy F, Chua NH. (1985). Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promot

er. Nature. 313 810-2）、イネアクチン１遺伝子（Zhang W, McElroy D, Wu R. (1991). Analysis of rice Act1 5' region activity in transgenic rice plants. Plant Cell 3 1155-65）、及びトウモロコシユビキチン１遺伝子（Cornejo MJ, Luth D, Blankenship KM, Anderson OD, Blechl AE. (1993). Activity of a maize ubiquitin promoter in transgenic rice. Plant Molec. Biol. 23 567-81）に関連するものが挙げられる。カーネーションエッチドリングウイルス（ＣＥＲＶ、Carnation Etched Ring Virus）プロモーターなどの構成的プロモーター（Hull R, Sadler J, LongstaffM (1986) (CaMV/35S), figwort mosaic virus 35S promoter. The sequence of carnation etched ring virus DNA: comparison with cauliflower mosaic virus and retroviruses. EMBO Journal, 5(2):3083-3090）。

【０４０６】

構成的プロモーターは、カーネーションエッチドリングウイルス（ＣＥＲＶ）プロモーター、カリフラワーモザイクウイルス（ＣａＭＶ、cauliflower mosaic virus）３５Ｓプロモーター、イネアクチン１遺伝子又はトウモロコシユビキチン１遺伝子に由来するプロモーターから選択され得る。

【０４０７】

プロモーターは、組織特異的なプロモーターであり得る。組織特異的なプロモーターは、植物の一部分（又はわずかな部分）における遺伝子の発現を、通常はこれら植物部分の生涯を通して、指示するものである。組織特異的プロモーターのカテゴリーとしては、その特異性が絶対的ではないプロモーターも一般に含まれ、すなわち、これらプロモーターは、好ましい組織以外の組織で、より低いレベルでの発現も指示し得る。組織特異的なプロモーターとしては、ファセオリンプロモーター、レグミンｂ４プロモーター、ｕｓｐプロモーター、ｓｂｐプロモーター、ＳＴ－ＬＳ１プロモーター、Ｂ３３（パタチンクラスＩプロモーター）が含まれる。

【０４０８】

別の実施形態では、プロモーターは、発生学的に調節されるプロモーターであり得る。

【０４０９】

発生学的に調節されるプロモーターは、植物の発生の間の特定の時点で植物の１又は２以上の部分における遺伝子の発現における変化を指示する。遺伝子は、その植物部分において、他の時点で、異なる（通常はより低い）レベルで発現し得、他の植物部分においても発現し得る。

【０４１０】

一実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーターであり得る。

【０４１１】

誘導性プロモーターは、誘導因子に応答して遺伝子の発現を指示し得る。誘導因子が非存在であると、遺伝子は発現しない。誘導因子は、プロモーター配列に直接作用し得るか、又はリプレッサー分子の影響に反作用することによって作用し得る。誘導因子は、代謝産物、タンパク質、増殖調節因子（ＯＣＳプロモーターを活性化させるオーキシン及びサリチル酸など）、若しくは毒性要素などの化学物質、熱、光（大豆ＳＳＵプロモーターなど）、傷（例えば、ｎｏｓ、ノパリン合成酵素プロモーター）、若しくは浸透圧などの生理学的ストレス、又は病原体若しくは害虫の作用の間接的な結果であり得る。発生学的に調節されるプロモーターは、植物によって産生される内因性誘導因子又は植物のライフサイクルの特定のポイントでの環境刺激に応答する特定のタイプの誘導性プロモーターとして記載され得る。公知の誘導性プロモーターの例としては、Warner SA、Scott R、Draper J. ((1993) Plant J. 3 191-201)によって記載されるものなどの傷応答に関連するもの、Benfey及びChua (1989) (Benfey, P.N., and Chua, N-H. ((1989) Science 244 174-181)によって開示されている温度応答に関連するもの、並びにGatz ((1995) Methods in Cell Biol. 50 411-424)によって記載されているように化学的に誘発されるものが挙げられる。

【０４１２】
本明細書において定義されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子としての特異的特性を有するタンパク質又は改変に適したタンパク質のいずれかをコードするヌクレオチド配列は、前記タンパク質を産生する任意の細胞又は生物から同定及び／又は単離及び／又は精製することができる。ヌクレオチド配列を同定及び／又は単離及び／又は精製するための様々な方法が、当技術分野において周知である。例として、適切な配列が同定及び／又は単離及び／又は精製されると、２以上の配列を調製するためのＰＣＲ増幅技術を使用することができる。
【０４１３】
またさらなる代替において、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードするヌクレオチド配列は、確立された標準的な方法、例えば、参照によって本明細書に組み込まれる、Beucage et al. (1981) Tetrahedron Letters 22, 1859-1869によって記載されているホスホロアミダイト法、又は参照によって本明細書に組み込まれる、Matthes et al. (1984) EMBO J. 3, 801-805によって記載されている方法によって、合成的に調製することができる。ホスホロアミダイト法において、オリゴヌクレオチドは、例えば自動ＤＮＡ合成機において合成され、精製され、アニーリングされ、ライゲーションされ、そして適切なベクターにクローニングされる。
【０４１４】
本明細書において使用される場合、用語「アミノ酸配列」は、用語「ポリペプチド」及び／又は用語「タンパク質」と同義である。一部の場合において、用語「アミノ酸配列」は、用語「ペプチド」と同義である。一部の場合において、用語「アミノ酸配列」は、用語「酵素」と同義である。
【０４１５】
本発明はまた、本明細書において定義される具体的な特性を有するポリペプチドのアミノ酸配列又は任意のヌクレオチド配列、すなわち、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質をコードする遺伝子と、ある程度の配列同一性又は配列相同性を有する配列（以下、「相同配列」と呼ぶ）の使用も包含する。ここで、用語「ホモログ」は、対象アミノ酸配列及び対象ヌクレオチド配列とある程度の相同性を有する実体を意味する。ここで、用語「相同性」は、「同一性」と同等とみなすことができる。
【０４１６】
相同なアミノ酸配列及び／又はヌクレオチド配列及び／又は断片は、Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の機能的活性を保持する及び／又は活性を増強させるポリペプチドを提供及び／又はコードするべきである。典型的には、相同配列は、例えば対象アミノ酸配列と同一の触媒部位などを含むか、又は同一の触媒部位をコードする。相同性は類似性（すなわち、類似の化学的特性／機能を有するアミノ酸残基）の点で考慮され得るが、本発明の文脈において、相同性を配列同一性の点で表すことが好ましい。相同配列は、典型的には、機能的なドメイン又はモチーフを保持する。
【０４１７】
一実施形態では、相同配列は、対象配列と比較して１、２、又は複数の付加、欠失、及び／又は置換を有するアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を含むものである。
【０４１８】
一実施形態では、配列番号３のホモログが表１中に提供される。本発明は、表１中に列挙したホモログの利用、及びそれに対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列に及ぶ。
【０４１９】
配列同一性
配列同一性の比較は、肉眼によって、又はより一般的には、入手が容易な配列比較プログラムを利用して行うことができる。これらの市販されているコンピュータプログラムは、２又は３以上の配列の間の相同性％を計算することができる。相同性％又は同一性％は、連続する配列にわたって計算され得、すなわち、一方の配列が他方の配列とアラインさ

れ、一方の配列における各アミノ酸が、一度に１残基ずつ、他方の配列における対応するアミノ酸と直接比較される。これは、「アンギャップ（ungapped）」アラインメントと呼ばれる。典型的には、このようなアンギャップアラインメントは、比較的少ない数の残基にわたってのみ行われる。

【０４２０】

これは非常に単純で一貫性のある方法であるが、この方法は、例えば、その他の点では同一の配列対において、１つの挿入又は欠失がその後のアミノ酸残基で生じてアラインメントに狂いが生じることを考慮することができず、したがって、全アラインメントが行われた場合に相同性％を大きく低減させる可能性がある。その結果として、ほとんどの配列比較方法は、考えられる挿入及び欠失を、全相同性スコアに不当なペナルティを与えることなく考慮する、最適なアラインメントをもたらすように設計されている。これは、配列アラインメントに「ギャップ」を挿入して局所的相同性を最大にするようにすることによって達成される。

【０４２１】

しかし、これらのより複雑な方法は、「ギャップペナルティ」を、アラインメントにおいて生じる各ギャップに割り当て、こうして、同一のアミノ酸が同数の場合では、できる限り少ないギャップを有する（これは、２つの比較される配列の間の関連性がより高いことを反映する）配列アラインメントが、多くのギャップを有するものよりも高いスコアを達成する。比較的高いコストをギャップの存在に対して課し、より小さなペナルティをギャップ内のそれぞれの次の残基に課す、「アフィンギャップコスト」が、典型的には使用される。これは、最も一般的に使用されるギャップスコアリングシステムである。高いギャップペナルティは当然、よりギャップが少ない最適化アラインメントを生じさせる。ほとんどのアラインメントプログラムでは、ギャップペナルティを修正することができる。しかし、このようなソフトウェアを配列比較に使用する場合には、デフォルトの値を使用することが好ましい。

【０４２２】

最大相同性％の計算は、したがって、ギャップペナルティを考慮した最適なアラインメントの提供をまず必要とする。このようなアラインメントを行うための適切なコンピュータプログラムは、Vector NTI（Invitrogen Corp.社）である。配列比較を行うことができるソフトウェアの例としては、限定はしないが、例えば、BLASTパッケージ（Ausubel et al. (1999) Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed - Chapter 18を参照されたい）、BLAST2（FEMS Microbiol Lett 1999 174(2): 247-50、FEMS Microbiol Lett 1999 177(1): 187-8、及びtatiana@ncbi.nlm.nih.govを参照されたい）、FASTA（Altschul et al. 1990 J. Mol. Biol. 403-410）、及びAlignXが挙げられる。少なくともBLAST、BLAST2、及びFASTAは、オフライン及びオンライン検索で利用可能である（Ausubel et al. 1999、pages 7-58 to 7-60を参照されたい）。

【０４２３】

最終相同性％を同一性の点で測定することができるが、アラインメント処理自体は典型的には、全か無かの対比較に基づくものではない。逆に、化学的類似性又は進化距離に基づいてスコアを各ペアワイズ比較に割り当てる、スケーリングされた類似性スコアマトリクスが、一般に使用される。一般的に使用されるこのようなマトリクスの例は、BLASTプログラム一式のデフォルトマトリクスである、BLOSUM62マトリクスである。Vector NTIプログラムは通常、公開されているデフォルト値、又は提供される場合には特注のシンボル比較テーブル（さらなる詳細については、ユーザーマニュアルを参照されたい）のいずれかを使用する。一部の適用では、Vector NTIパッケージのデフォルト値を使用することが好ましい。

【０４２４】

或いは、相同性パーセンテージを、CLUSTAL（Higgins DG & Sharp PM (1988), Gene 73(1), 237-244）に類似のアルゴリズムに基づいて、Vector NTI（Invitrog

en Corp.社）における複数のアラインメント特徴を使用して計算することができる。ソフトウェアによって最適なアラインメントがもたらされれば、相同性％、好ましくは配列同一性％を計算することが可能である。ソフトウェアは、典型的には、配列比較の一部としてこれを行い、数値的結果を生成する。

【０４２５】

配列同一性の決定の際にギャップペナルティが使用される場合には、好ましくは、以下のパラメータがペアワイズアラインメントに使用される。

【０４２６】

【表２】

BLAST用	
ギャップオープン	0
ギャップ延長	0

【０４２７】

【表３】

CLUSTAL用	DNA	タンパク質	
ワードサイズ	2	1	Kトリプル
ギャップペナルティ	15	10	
ギャップ延長	6.66	0.1	

【０４２８】

一実施形態では、CLUSTALは、上記に定義したギャップペナルティ及びギャップ伸長のセットと共に使用することができる。一部の実施形態では、BLAST又はCLUSTALアラインメントに使用されるギャップペナルティは、上記で詳述したものと異なり得る。当業者には、BLAST及びCLUSTALアラインメントを行うための標準的なパラメータが定期的に変化し得ること、並びに、その時に、BLAST又はCLUSTALアラインメントアルゴリズムのための詳細な標準的パラメータに基づいて適切なパラメータを選択することが可能であることが理解されよう。

【０４２９】

適切には、ヌクレオチド配列に関する同一性の程度は、少なくとも５０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも６０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも７０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも８０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも９０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも１００の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも１５０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも２００の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも２５０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも３００の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも３５０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも４００の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも４５０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも５００の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも５５０の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも６００の連続するヌクレオチドにわたり、好ましくは少なくとも６５０の連続するヌクレオチドにわたり、又は好ましくは少なくとも７００の連続するヌクレオチドにわたり決定される。

【０４３０】

適切には、ヌクレオチド、ｃＤＮＡ、ｃｄｓ、又はアミノ酸配列に関する同一性の程度は、配列全体にわたり決定され得る。

【０４３１】
配列はまた、サイレントな変化をもたらすアミノ酸残基の欠失、挿入、又は置換も有し得、機能的に同等な物質を生じさせ得る。意図的なアミノ酸置換は、物質の副次的結合活性が保持される限り、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性，及び／又は両親媒性の類似性に基づいて行われ得る。例えば、負に荷電したアミノ酸としてはアスパラギン酸及びグルタミン酸が含まれ、正に荷電したアミノ酸としてはリジン及びアルギニンが含まれ、そして、類似の親水性値を有する非荷電極性頭基を有するアミノ酸としては、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、アラニン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、フェニルアラニン、及びチロシンが含まれる。

【０４３２】
保存的置換は、例えば、以下の表に従って行うことができる。第２列の同じブロック内の、また好ましくは第３列の同じ行のアミノ酸は、互いに置換され得る。

【０４３３】
【表４】

脂肪族	非極性	ＧＡＰ
		ＩＬＶ
	極性－非帯電	ＣＳＴＭ
		ＮＱ
	極性－帯電	ＤＥ
		ＫＲ
芳香族		ＨＦＷＹ

【０４３４】
本発明はまた、生じ得る相同置換（置換及び置き換えはいずれも、代わりの残基での既存のアミノ酸残基の交換を意味するために、本明細書において使用される）、すなわち、塩基性から塩基性、酸性から酸性、極性から極性などの同種交換の置換も包含する。非相同置換、すなわち、あるクラスの残基から別のクラスの残基への置換、又は、その代わりに、オルニチン（以下、Ｚと呼ぶ）、ジアミノ酪酸オルニチン（以下、Ｂと呼ぶ）、ノルロイシンオルニチン（以下、Ｏと呼ぶ）、ピリジルアラニン（pyriylalanine）、チエニルアラニン、ナフチルアラニン、及びフェニルグリシンなどの非天然アミノ酸を含めることを伴う置換もまた生じ得る。

【０４３５】
置き換えはまた、アルファ＊及びアルファ二置換＊アミノ酸、Ｎ－アルキルアミノ酸＊、乳酸＊、天然のアミノ酸のハロゲン化物誘導体、例えば、トリフルオロチロシン＊、ｐ－Ｃｌ－フェニルアラニン＊、ｐ－Ｂｒ－フェニルアラニン＊、ｐ－Ｉ－フェニルアラニン＊、Ｌ－アリル－グリシン＊、β－アラニン＊、Ｌ－α－アミノ酪酸＊、Ｌ－γ－アミノ酪酸＊、Ｌ－α－アミノイソ酪酸＊、Ｌ－ε－アミノカプロン酸＃、７－アミノヘプタン酸＊、Ｌ－メチオニンスルホン＃＊、Ｌ－ノルロイシン＊、Ｌ－ノルバリン＊、ｐ－ニトロ－Ｌ－フェニルアラニン＊、Ｌ－ヒドロキシプロリン＃、Ｌ－チオプロリン＊、フェニルアラニン（Ｐｈｅ）のメチル誘導体、例えば、４－メチル－Ｐｈｅ＊、ペンタメチル－Ｐｈｅ＊、Ｌ－Ｐｈｅ（４－アミノ）＃、Ｌ－Ｔｙｒ（メチル）＊、Ｌ－Ｐｈｅ（４－イソプロピル）＊、Ｌ－Ｔｉｃ（１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－３－カルボン酸）＊、Ｌ－ジアミノプロピオン酸＃、及びＬ－Ｐｈｅ（４－ベンジル）＊を含む非天然アミノ酸によって行うことができる。注釈＊は、誘導体の疎水性を示すために上記の議論を目的として（相同置換又は非相同置換に関する）利用されており、一方、＃は誘導体の親水性を示すために利用されており、＃＊は両親媒性の特徴を示している。

【０４３６】
バリアントアミノ酸配列は、グリシン残基又はβ－アラニン残基などのアミノ酸スペーサーに加えて、配列の任意の２つのアミノ酸残基の間に挿入され得る、メチル、エチル、又はプロピル基などのアルキル基を含む適切なスペーサー基を含み得る。さらなるバリエーション形態は、ペプトイド形態の１又は２以上のアミノ酸残基の存在を伴い、これは当業者に良く理解されるであろう。疑義を避けるために記載すると、「ペプトイド形態」は、残基の窒素原子上にα－炭素ではなくα－炭素置換基があるバリアントアミノ酸残基を指すために使用される。ペプトイド形態のペプチドを調製するための方法は、当技術分野において公知であり、例えば、Simon et al. (1992) PNAS 89(20), 9367-9371、及びHorwell (1995) Trends Biotechnol. 13(4), 132-134である。

【０４３７】
本発明において使用するためのヌクレオチド配列は、その中に、合成の又は修飾されたヌクレオチドを含み得る。オリゴヌクレオチドに対するいくつかの異なるタイプの修飾が、当技術分野において公知である。これらとしては、メチルホスホネート骨格及びホスホロチオエート骨格、並びに／又は分子の３’及び／若しくは５’末端でのアクリジン鎖若しくはポリリジン鎖の付加が含まれる。本発明の目的では、本明細書において記載されるヌクレオチド配列は、当技術分野において利用可能な任意の方法によって修飾され得ることが理解される。このような修飾は、本発明のヌクレオチド配列のインビボ活性又は寿命を増強させるために行うことができる。

【０４３８】
本発明はまた、本発明の核酸配列に相補的な配列、又は、本発明の配列若しくはこの配列に相補的な配列のいずれかにハイブリダイズし得る配列も包含する。本明細書において使用される用語「ハイブリダイゼーション」は、「核酸の鎖が塩基対合を介して相補鎖と結合するプロセス」及びポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ、polymerase chain reaction）技術で行われる増幅プロセスを含む。

【０４３９】
本発明はまた、本発明のヌクレオチド配列（本明細書において提示される配列の相補配列を含む）にハイブリダイズし得るヌクレオチド配列にも関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、ストリンジェンシーな条件下（例えば、５０℃及び０．２×ＳＳＣ｛１×ＳＳＣ＝０．１５MのＮａＣｌ、０．０１５Mのクエン酸Na_3、ｐＨ７．０｝）で決定される。さらに好ましくは、ハイブリダイゼーションは、高いストリンジェンシー条件下（例えば、６５℃及び０．１×ＳＳＣ｛１×ＳＳＣ＝０．１５MのＮａＣｌ、０．０１５Mのクエン酸Na_3、ｐＨ７．０｝）で決定される。

【０４４０】
植物の形質転換に使用される一般的な技術の概説は、参照によって本明細書に組み込まれる、Potrykus et al. (1991) Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42:205-225、及びChristou et al. (1994) Agro-Food-Industry Hi-Tech March/April 17-27などの記事で見ることができる。植物の形質転換についてのさらなる教示は、参照によって本明細書に組み込まれる、欧州特許出願公開第０４４９３７５号公報で見ることができる。

【０４４１】
別段の規定がない限り、本明細書において使用されるすべての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同一の意味を有する。Singleton, et al., DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY, 20 ED., John Wiley and Sons, New York (1994)、及びHale & Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY, Harper Perennial, NY (1991)は、本開示において使用される用語の多くについての一般的な辞書を当業者に提供している。

【０４４２】
本開示は、本明細書において開示されている典型的な方法及び材料によって限定されず

、また、本明細書において記載されるものに類似の又は同等のあらゆる方法及び材料を、本開示の実施形態の実施又は試験において使用することができる。数値範囲は、その範囲を規定する数値を含む。別段の指示がない限り、すべての核酸配列は左から右へ向かって５’から３’の方向で、アミノ酸配列は左から右へ向かってアミノからカルボキシの方向で、それぞれ記載されている。

【０４４３】

本明細書において提供される見出しは、参照によって全体として明細書に含まれ得る本開示の様々な態様又は実施形態を限定するものではない。したがって、次に定義する用語は、明細書を全体として参照することによって、さらに完全に規定される。

【０４４４】

アミノ酸は、アミノ酸の名称、３文字略語、又は１文字略語を使用して、本明細書において記載される。用語「タンパク質」は、本明細書において使用される場合、タンパク質、ポリペプチド、及びペプチドを含む。本明細書において使用される場合、用語「アミノ酸配列」は、用語「ポリペプチド」及び／又は用語「タンパク質」と同義である。一部の場合において、用語「アミノ酸配列」は、用語「ペプチド」と同義である。一部の場合において、用語「アミノ酸配列」は、用語「酵素」と同義である。

【０４４５】

本開示及び特許請求の範囲において、アミノ酸残基の従来の１文字コード及び３文字コードが使用され得る。アミノ酸の３文字コードは、IUPACIUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature（ＪＣＢＮ）に従って定義されている通りである。遺伝子コードの縮重に起因してポリペプチドが２以上のヌクレオチド配列によってコードされ得ることも理解される。

【０４４６】

用語の他の定義は、明細書全体を通して見ることができる。典型的な実施形態をより詳細に記載する前に、本開示が、記載される特定の実施形態に限定されず、したがって、当然のことながら変化し得ることが理解されるべきである。本開示の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書において使用される専門用語は特定の実施形態のみを記載する目的のものであり、限定することを意図したものではないことも理解される。

【０４４７】

値の範囲が提供される場合、文脈から別段のことが明らかに示されない限り、その範囲の上限と下限との間の、下限の単位の１０分の１までの、それぞれの介在している値もまた、具体的に開示される。言及された範囲内の任意の言及された値又は介在する値と、その言及された範囲内の任意の他の言及された値又は介在する値との間の、それぞれのより小さな範囲は、本開示に包含される。これらのより小さな範囲の上限及び下限は、独立してその範囲に含まれ得るか又はその範囲から除外され得、言及された範囲における任意の具体的に除外される限界に従って、そのより小さな範囲内のいずれかの限界が含まれる、いずれの限界も含まれない、又は両限界が含まれる各範囲もまた、本開示に包含される。言及された範囲が限界の一方又は両方を含む場合、含まれる限界のいずれか又は両方を除外している範囲もまた、本開示に含まれる。

【０４４８】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形態「ａ（１つの）」、「ａｎ（１つの）」、及び「ｔｈｅ（その）」は、文脈から別段のことが明らかに示されない限り、複数形の参照を含むことが留意されなくてはならない。したがって、例えば、「酵素」又は「Ｍｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質」への言及は、当業者に公知の複数のこのような候補物質及びこれらの同等物などを含む。

【０４４９】

利点

驚くべきことに、タバコにおけるアルカロイド含有量の正の調節因子として作用する、

ａ）配列番号３で示されるアミノ酸配列、又は配列番号３の機能的バリアント若しく

は機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号３に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列、又は配列番号３のホモログを含む、或いは、
ｂ）配列番号１若しくは２で示されるヌクレオチド配列、又は配列番号１若しくは２の機能的バリアント若しくは機能的断片若しくはオルソログ、又は配列番号１若しくは２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列、又は配列番号１若しくは２のホモログによってコードされる、
少なくとも１つのポリペプチドなどの、本明細書において教示されているＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節することによって、植物のアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体の含有量を調節することができることがわかった。これによって、アルカロイド含有量が調節され（例えば低減し）、及び／又はＴＳＮＡ前駆体含有量が低減し、かつタバコ産業製品の消費者が望む商業的に望ましい形質を有するタバコ産業製品を製造することができる。

【０４５０】

本発明者らは、驚くべきことに、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を調節することによって、植物（例えばタバコ植物）のアルカロイド含有量及び／又はＴＳＮＡ前駆体含有量を調節するための方法を決定した。植物（例えばタバコ植物）のアルカロイド又はＴＳＮＡ前駆体の含有量は、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現を減少させる又は阻害することによって、減少させることができる。本発明の前に、本明細書において記載されるＭｙｃ型塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックスタンパク質の活性又は発現の調節を使用して、植物（例えばタバコ植物）のアルカロイド及び／又はＴＳＮＡ前駆体の含有量を調節することができることは、知られていなかった。

【０４５１】

本明細書において論じられる刊行物は、本願の出願日前のそれらの開示についてのみ提供されている。本明細書において、このような刊行物が本明細書に添付の特許請求の範囲に対する先行技術を構成するということの承認として、解釈されるものはない。

［実施例］

【実施例１】

【０４５２】

“Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２のウイルス誘導性遺伝子サイレンシング（ＶＩＧＳ）は、葉におけるアルカロイド含有量を減少させる”

ウイルス誘導性遺伝子サイレンシング（ＶＩＧＳ）

ウイルス誘導性遺伝子サイレンシングには、Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２の３００個のヌクレオチドのｃＤＮＡ断片：

ATGACTTCATCAGCTTGCTTAAACAACATCACTATTTCGTCGGAGAATTTTCTCGATTGTCCTCCGACCAAGTACAAGTCCTTCGTCTGGTCCAACAAGACAACTGCTGTGAATAAACCGGAAGTTCTAGATCCAGAACTTTCGGTTAACGAAATGGCGGATTTCGAGTTCCGACTCGAAGATCCGGTGATTATGTTACCGGCCGCCGATGAGCTTTTCTCCGACGGAAAACTCGTGCCTCTACAACTCTCCGCTATCCACACGGCAGCTGCCACCTCTACTTCCGCCGGAGTTAGATCA

（ＴＲＶ２：配列番号４１）

を合成し、In-Fusionクローニングキットを用いてpTV00（EcoRIとXhoI部位の間）内にクローニングした。次いで、プラスミドをエー・ツメファシエンス（A. tumefaciens）ＧＶ３１０１に形質転換させた。

【０４５３】

標的ヌクレオチド配列を含む（ＴＲＶ　ＲＮＡ１、配列番号４０）及び（ＴＲＶ　ＲＮＡ２）をどちらも含むＴＲＶベクターを、エー・ツメファシエンス（A. tumefaciens）において別々に増殖させた。これらの培養物を混合し（１：１）、２週齢のＴＮ９０植物内にシリンジで浸透させた。サイレンシング効果を、ウイルス感染の５週間後に、標的

遺伝子の発現レベルを評価することによって評価した。

【０４５４】

サイレンシング

ＶＩＧＳアッセイを、以前に記載されているように行った（Ratcliff et al., 2001）Ratcliff, F et al., (2001), The Plant Journal, 25: 237-245（参照により本明細書中に組み込まれている）。手短に述べると、ＴＲＶ２及びＴＲＶ１プラスミドを保持するエー・ツメファシエンスＧＶ３１０１の独立した培養物を、適切な抗生物質を補充したＬＢ培地中で一晩増殖させた。培養物をＶＩＧＳ緩衝液（１０ｍＭのモルホリンエタンスルホン酸、ｐＨ５．６、１０ｍＭのＭｇＣＬ$_2$、及び１００μＭのアセトシリンゴン）中に再懸濁させ、光学密度をＯＤ$_{600}$＝１に調節し、一晩、室温、暗所でインキュベートした。これらの培養物を混合し（１：１）、２週齢のＴＮ９０植物内にシリンジで浸透させた。サイレンシング効果を、ウイルス感染の２週間後に、標的遺伝子の発現レベルを評価することによって評価した。ＴＲＶ－ルシフェラーゼをネガティブコントロールとして使用し、ＴＲＶ－ＰＤＳ（サイレンシングされた葉のクロロフィル含有量の低減）を表現型サイレンシングコントロールとして使用した。

【０４５５】

アルカロイド測定

ピリジンアルカロイドの相対的含有量を、タンデム質量分析を伴う逆相高性能液体クロマトグラフィー（ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ）によって決定した。クロマトグラフィー分離は、Ｇemini－ＮＸカラム（１００ｍｍ×３．０ｍｍ、粒子径３μｍ、Phenomenex社）を使用して行い、勾配クロマトグラフィー分離は、６．５ｍＭの酢酸アンモニウムバッファー（ａｑ）（ｐＨ１０）及びメタノールを使用して行った。

【０４５６】

質量分析計は、scheduled ＭＲＭデータ取得を使用して、エレクトロスプレー（ＥＳＩ）ポジティブモードで作動する。２つのＭＲＭトランジションを、各分析物及び同位体標識された内部標準のための一つについてモニタリングした。

【０４５７】

【表５】

分析物	前駆イオン	娘イオン(定量/確認)
ニコチン	163.1	130/106
ニコチン d4	167.1	134.1
アナバシン	163.1	80/120
アナタビン	161.1	144/80
ノルニコチン	149.1	80/130
ノルニコチン d4	153.1	84.1
PON	176.1	106.0/148
PON d4	183.1	110.0

【０４５８】

結果

Ｎｉｔａｂ４．５＿００００６１１ｇ００８０．２についてサイレンシングした５週齢のＴＮ９０葉のアルカロイド含有量。含有量はコントロールと比較して表されており、一元配置ＡＮＯＶＡ及びTukeyの多重比較事後検定によって分析された３つの生物学的反復を含む。値は平均±ＳＥＭとして示されている。アスタリスクは、Ｐ値が０．００１以下の統計上の有意性を示す。ピリジンアルカロイド：ニコチン、ノルニコチン、アナバシ

ン（ＡＮＡＢ）、アナタビン（ＡＮＡＴ）、シュードオキシニコチン（ＰＯＮ）。

【０４５９】

Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２のＶＩＧＳは、葉におけるアルカロイド含有量の減少、特に、ニコチン、ノルニコチン、アナバシン、ＰＯＮ、及びアナタビンの含有量の減少をもたらしている。

【０４６０】

結論

Ｎｉｔａｂ４．５＿０００００６１１ｇ００８０．２は、タバコにおける、アルカロイド含有量、特に葉におけるアルカロイド含有量の正の調節因子であり、ピリジンアルカロイドの調節因子である。

【実施例２】

【０４６１】

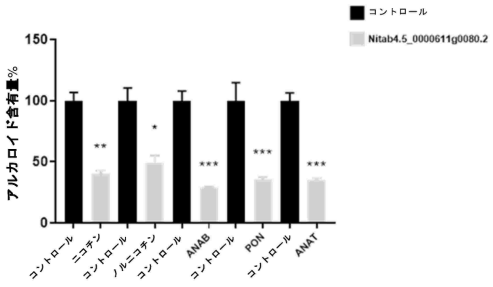
“ホモログ試験”

配列番号３のホモログ、すなわち、表１中に列挙したものの影響を、上記実施例中に記載したアッセイにおいて試験する。

【図面】

【図１】

Figure 1



【図２】

Figure 2

遺伝子:**Nitab4.5_0000611g0080.2**のゲノム配列(配列番号1):

ATTTACAATAGATATTGAAATTTCTTGGTTTCGCCTTTGCTAGTCGCTACACTACACTGCTTCTCCTATAGCTTC
AGGTAAACTCCATAATATTCACAAGCCCCTCTTCTAAACCCTAGCTCTCCCTCAACTTCTCTCTCTCTAAAAACT
TTCTCTCTCTTTCGCACTGCATATATTTCAAGGTGCTTGGAATTCACCGCTTACATTTCCTGCAAAAAGCTACGT
TTCTTCTTTCTGTAGTGAGTCCATGACTTCATCAGCTTGCTTAAACAACATCACTATTTCGTCGGAGAATTTTCT
CGATTGTCCTCCGACCAAGTACAAGTCCTTCGTCTGGTCCAACAAGACAACTGCTGTGAATAAACCGGAAGTTCT
AGATCCAGAACTTTCGGTTAACGAAATGGCGGATTTCGAGTTCCGACTCGAAGATCCGGTGATTATGTTACCGGC
CGCCGATGAGCTTTTCTCCGACGGAAAACTCGTGCCTCTACAACTCTCCGCTATCCACACGGCAGCTGCCACCTC
TACTTCCGCCGGAGTTAGATCACCGGAGACACCGAAATTCCGTACGAGAAATGATCTCATTTCTCGTGCGGACAC
GTGCTTGTTGTTCTCTCCAAAGGCTCCGAGATGTTCGAGTCGGTGGAGAGAACTTTTAGGCTTGAAGAAACAGCA
ACACAACAACAACAACAATGACAAAGAAGAAGGTAAAAAAAATAGCACAAACAACACACATAAATCTCTGAAAAT
TAATTTCCTTAATCGCAGCTCAAAATCCTCCAATTCTTCAACCGACTCATCTCTAATTAACATTCCTTTGCTTAT
TAAGGACTCTGATTACGAGTCAATTTCAATTTCCTCATCTCGATTATCTCTTTCATCATCTTCCTCTTCCGGCCA
CGAACACGACGATCTTCCTAGACTTTCTCTCGATTCTGACAAACCCCTTAGCTTTAGCCATAGCAATGGTCAAAA
CATTGCTAATACTAATCCTCCTAGAATTCGACTAGTGAAACAGAGAGCTTTATCGTCAGAAAATCCAACTACAGG
TACCAGTACTGCAAGAGGTGGAGTGTCGATTGATGATAGTCCGCGCATGAATTCTTCAGGAAAAATTATTTTCCA
CAATTTAGGAAGAAGTTCAAGTAGTCCAAGCAGTTTTAACAATGGTGGAGCAAGGTATAAACATGGAGGAGGAGG
AATGGAGAGATCTTATTCAGCTAATGTTCGTGTTACTCCGGTTTTAAATGTTCCAGTATGTTCTCTAAGAGTCTC
TTCGAAGTCTGGAGTATTTGGATTTTCTCTGTTTTCTTCTTCTCCGCAACAGAAAAAAGATGGTGGTGGTGGTTC
TAATGTTAGTGCTGGAGCCGAAAATAAGAGACATCATCATAGTAGTAGCAAGACTCGCATAGGCTAAAATGGTAT
GAACAATTTCAGTTTTTAAAAGTTAGAGCCTCATTTTTGCTTGCGGTTTGAGTCGTGAAAATAATTTTTTTGCAG
AAATGTTAAGATAGATTTTTTTATCTGACTTTTTTCGGATCCCAAACGAAAGCTTAGTGCACCGAATTTAACCTT
GCAACGTCATTTTGATGATTATGTAATTATGCAGGGAATTAACTCTTGTTTGTTTGGATAATTTTTCACATATTT
TTTGTTTAGCTAACTTTGATGATGTAGAATTTTCAATTTTTATATATTGAATAGTTGGAAGTTCTTAATCGTCTA
TGCTTTTGCTTTACCTGAAATCTATCTGAAATCAG

【図３】

Figure 3

Nitab4.5_0000611g0080.2のコード配列(配列番号2):

ATGACTTCATCAGCTTGCTTAAACAACATCACTATTTCGTCGGAGAATTTTCTCGATTGTCCTCCGACCAAGTAC
AAGTCCTTCGTCTGGTCCAACAAGACAACTGCTGTGAATAAACCGGAAGTTCTAGATCCAGAACTTTCGGTTAAC
GAAATGGCGGATTTCGAGTTCCGACTCGAAGATCCGGTGATTATGTTACCGGCCGCCGATGAGCTTTTCTCCGAC
GGAAAACTCGTGCCTCTACAACTCTCCGCTATCCACACGGCAGCTGCCACCTCTACTTCCGCCGGAGTTAGATCA
CCGGAGACACCGAAATTCCGTACGAGAAATGATCTCATTTCTCGTGCGGACACGTGCTTGTTGTTCTCTCCAAAG
GCTCCGAGATGTTCGAGTCGGTGGAGAGAACTTTTAGGCTTGAAGAAACAGCAACACAACAACACAACACAATGAC
AAAGAAGAAGGTAAAAAAAATAGCACAAACAACACACATAAATCTCTGAAAATTAATTTCCTTAATCGCAGCTCA
AAATCCTCCAATTCTTCAACCGACTCATCTCTAATTAACATTCCTTTGCTTATTAAGGACTCTGATTACGAGTCA
ATTTCAATTTCCTCATCTCGATTATCTCTTTCATCATCTTCCTCTTCCGGCCACGAACACGACGATCTTCCTAGA
CTTTCTCTCGATTCTGACAAACCCCTTAGCTTTAGCCATAGCAATGGTCAAAACATTGCTAATACTAATCCTCCT
AGAATTCGACTAGTGAAACAGAGAGCTTTATCGTCAGAAAATCCAACTACAGGTACCAGTACTGCAAGAGGTGGA
GTGTCGATTGATGATAGTCCGCGCATGAATTCTTCAGGAAAAATTATTTTCCACAATTTAGGAAGAAGTTCAAGT
AGTCCAAGCAGTTTTAACAATGGTGGAGCAAGGTATAAACATGGAGGAGGAGGAATGGAGAGATCTTATTCAGCT
AATGTTCGTGTTACTCCGGTTTTAAATGTTCCAGTATGTTCTCTAAGAGTCTCTTCGAAGTCTGGAGTATTTGGA
TTTTCTCTGTTTTCTTCTTCTCCGCAACAGAAAAAAGATGGTGGTGGTTCTAATGTTAGTGCTGGAGCCGAA
AATAAGAGACATCATCATAGTAGTAGCAAGACTCGCATAGGCTAA

【図４】

Figure 4

Nitab4.5_0000611g0080.2のアミノ酸配列:(配列番号3)

MTSSACLNNITISSENFLDCPPTKYKSFVWSNKTTAVNKPEVLDPELSVNEMADFEFRLEDPVIMLPAADELFSD
GKLVPLQLSAIHTAAATSTSAGVRSPETPKFRTRNDLISRADTCLLFSPKAPRCSSRWRELLGLKKQQHNNNNND
KEEGKKNSTNNTHKSLKINFLNRSSKSSNSSTDSSLINIPLLIKDSDYESISISSSRLSLSSSSSSGHEHDDLPR
LSLDSDKPLSFSHSNGQNIANTNPPRIRLVKQRALSSENPTTGTSTARGGVSIDDSPRMNSSGKIIFHNLGRSSS
SPSSFNNGGARYKHGGGGMERSYSANVRVTPVLNVPVCSLRVSSKSGVFGFSLFSSSPQQKKDGGGGSNVSAGAE
NKRHHHSSSKTRIG

【図５】

Figure 5

識別子	Nic 1 ERF-遺伝子
Nitab4.5_0003090g0020.1	*ERF17L3ΔN*
Nitab4.5_0003090g0030.1	*ERF199*
Nitab4.5_0003665g0040.1	*JRE5L2*
Nitab4.5_0004620g0010.1	*ERF210*
Nitab4.5_0004620g0030.1	*ERF91*
Nitab4.5_0004620g0080.1	*ERF29*
Nitab4.5_0004620g0090.3	*ERF130*
Nitab4.5_0004620g0095.1	*ERF16*
Nitab4.5_0006382g0040.1	*ERF110*

【図６】

Figure 6

識別子	Nic 2 ERF-遺伝子
Nitab4.5_0002924g0010.1	ERF17LI
Nitab4.5_0002924g0020.2	ERF179
Nitab4.5_0002924g0040.2	ERF17
Nitab4.5_0002924g0045.1	ERF168
Nitab4.5_0002924g0050.2	ERF115
Nitab4.5_0006499g0010.1	ERF104
Nitab4.5_0006499g0020.2	ERF221
Nitab4.5_0012667g0020.2	ERF91L1
Nitab4.5_0015055g0010.2	ERF189

【図７】

Figure 7
Nitab4.5_0003090g0030.1 (ERF199)
配列番号32. >Nitab4.5_0003090g0030.1の720個の残基[ゲノム]
ATGGCAATGGAAATGAATCCAGCTGACGAAACCTTGTTTTTCTCCGACTCTCATCTCCTTGAATCGATAAAGCAA
CATCTTCTTGACGATTCAGATTTTTCTGAAATTTTTTCGTCGATGAATTCTAGCAACGAAATATTGCCTAACAGT
CCTAGCTCAAGTTTTAGCAGCTTCGACTTCGACTGCAGCTTCCTTAATTGGGATGAAAACTCTGAGGAAACATTA
ATACCAACTGATCAGAATCCTTCACATGAATCCCATGAAAAGTACTCCGAGTCCGAGGAGAAAACCCAGGGCCCT
GGGGTGGCGCGTGAGAAAAACGCGCCGCGAGATTGGACGCGGTACATAGGAGTGAAACGGCGACCGTGGGGGACG
TTTTCGGCGGAGACAAGAGACCCAAGTAGGAAAGGTGAAGGTGCAAGGCTGTGGTTAGGAACTTACGAGACCGCA
GAGGATGCAGCGTTAGCTTACGATCAAGCCGCTTTCAAAATCCGCGGCTCGAGAGCTCGGCTCAATTTTCCTCAC
TTAATCGGCTCAAACATGCCTAAGCCGGCTAGAGTTACAGCGAGGCGTAGTCGTACGCGCTCACCCGAGCCATCG
TCTTCTTCATCCACCTCATCATCAGAAAATGTACCAAGGAAAAGGAATATAGATGTGATAAATTCCATAGCCAAA
GCCAAATTCCTTTGTCATAGCTTGAATTTACAGAGATTAGCTTAA

【図８】

Figure 8
配列番号33. >Nitab4.5_0003090g0030.1の720個の残基[cdna]
ATGGCAATGGAAATGAATCCAGCTGACGAAACCTTGTTTTTCTCCGACTCTCATCTCCTTGAATCGATAAAGCAA
CATCTTCTTGACGATTCAGATTTTTCTGAAATTTTTTCGTCGATGAATTCTAGCAACGAAATATTGCCTAACAGT
CCTAGCTCAAGTTTTAGCAGCTTCGACTTCGACTGCAGCTTCCTTAATTGGGATGAAAACTCTGAGGAAACATTA
ATACCAACTGATCAGAATCCTTCACATGAATCCCATGAAAAGTACTCCGAGTCCGAGGAGAAAACCCAGGGCCCT
GGGGTGGCGCGTGAGAAAAACGCGCCGCGAGATTGGACGCGGTACATAGGAGTGAAACGGCGACCGTGGGGGACG
TTTTCGGCGGAGACAAGAGACCCAAGTAGGAAAGGTGAAGGTGCAAGGCTGTGGTTAGGAACTTACGAGACCGCA
GAGGATGCAGCGTTAGCTTACGATCAAGCCGCTTTCAAAATCCGCGGCTCGAGAGCTCGGCTCAATTTTCCTCAC
TTAATCGGCTCAAACATGCCTAAGCCGGCTAGAGTTACAGCGAGGCGTAGTCGTACGCGCTCACCCGAGCCATCG
TCTTCTTCATCCACCTCATCATCAGAAAATGTACCAAGGAAAAGGAATATAGATGTGATAAATTCCATAGCCAAA
GCCAAATTCCTTTGTCATAGCTTGAATTTACAGAGATTAGCTTAA

【図９】

Figure 9
配列番号34. >Nitab4.5_0003090g0030.1の720個の残基[cds]
ATGGCAATGGAAATGAATCCAGCTGACGAAACCTTGTTTTTCTCCGACTCTCATCTCCTTGAATCGATAAAGCAA
CATCTTCTTGACGATTCAGATTTTTCTGAAATTTTTTCGTCGATGAATTCTAGCAACGAAATATTGCCTAACAGT
CCTAGCTCAAGTTTTAGCAGCTTCGACTTCGACTGCAGCTTCCTTAATTGGGATGAAAACTCTGAGGAAACATTA
ATACCAACTGATCAGAATCCTTCACATGAATCCCATGAAAAGTACTCCGAGTCCGAGGAGAAAACCCAGGGCCCT
GGGGTGGCGCGTGAGAAAAACGCGCCGCGAGATTGGACGCGGTACATAGGAGTGAAACGGCGACCGTGGGGGACG
TTTTCGGCGGAGACAAGAGACCCAAGTAGGAAAGGTGAAGGTGCAAGGCTGTGGTTAGGAACTTACGAGACCGCA
GAGGATGCAGCGTTAGCTTACGATCAAGCCGCTTTCAAAATCCGCGGCTCGAGAGCTCGGCTCAATTTTCCTCAC
TTAATCGGCTCAAACATGCCTAAGCCGGCTAGAGTTACAGCGAGGCGTAGTCGTACGCGCTCACCCGAGCCATCG
TCTTCTTCATCCACCTCATCATCAGAAAATGTACCAAGGAAAAGGAATATAGATGTGATAAATTCCATAGCCAAA
GCCAAATTCCTTTGTCATAGCTTGAATTTACAGAGATTAGCTTAA

【図１０】

Figure 10
配列番号35. >Nitab4.5_0003090g0030.1の239個の残基[ペプチド]
MAMEMNPADETLFFSDSHLLESIKQHLLDDSDFSEIFSSMNSSNEILPNSPSSSFSSFDFDCSFLNWDENSEETL
IPTDQNPSHESHEKYSESEEKTQGPGVARENAPRDWTRYIGVKRRPWGTFSAETRDPSRKGEGARLWLGTYETA
EDAALAYDQAAFKIRGSRARLNFPHLIGSNMPKPARVTARRSRTRSPEPSSSSSTSSSENVPRKRNIDVINSIAK
AKFLCHSLNLQRLA

【図１１】

Figure 11
Nitab4.5_0015055g0010.2 (ERF189)
配列番号36. >Nitab4.5_0015055g0010.2の699個の残基[ゲノム]
ATGGAAATGAATCTAGCTGACGAAACCTTGTTTTTCTCTGAGTCTCATCTCCTTGAATCGATAAAGCAACATCTT
CTTGATGATTCAGATTTTTCTGAAATTTTTTCGCCGATGAGTTCAAGCAACGAAATATTGCCTAACAGTCCTAGC
TCAAGTTTTAGCAGCTTCGACTGCAGCTTCCTCAATTGGGATGAAAACTTTGAGGAAACATTAATACCAACTGAT
CAAAATCCTTCACATGAGAAGTGCTCCGAGTCCGAGGAGCAAACCCAGGGCCCAGCGGTGGTGCGTGAGAAAAAC
GCGCCGCGAGATTGGACGCGGTATATAGGAGTGAAACGGCGGCCGTGGGGGACGTTTTCGGCGGAGACAAGAGAC
CCAAGTAGGAAAGGTGAAGGTGCAAGGCTGTGGTTAGGAACTTACGAGACCGCAGAGGATGCAGCGTTGGCTTAC
GATCAAGCCGCTTTCAAAATCCGCGGCTCGAGAGCTCGGCTCAATTTTCCCCACTTAATTGGCTCAAACATGCCT
AAGCCGGCTAGAGTAACAGCGAGGCGTAGTCGTACGCGCTCACCCGAGCCATCCTCTTCTTCATCCACTTCATCA
TCAGAAAATGTGCCAAGAAAAAGGAATATAGATGTGATAAATTCCATAGCCAAAGCCAAATTCCTTTGTCATAGC
TTAAATTTACAGAGATTAGCTTAA

【図１２】

Figure 12
配列番号37. >Nitab4.5_0015055g0010.2の699個の残基[cdna]
ATGGAAATGAATCTAGCTGACGAAACCTTGTTTTTCTCTGAGTCTCATCTCCTTGAATCGATAAAGCAACATCTT
CTTGATGATTCAGATTTTTCTGAAATTTTTTCGCCGATGAGTTCAAGCAACGAAATATTGCCTAACAGTCCTAGC
TCAAGTTTTAGCAGCTTCGACTGCAGCTTCCTCAATTGGGATGAAAACTTTGAGGAAACATTAATACCAACTGAT
CAAAATCCTTCACATGAGAAGTGCTCCGAGTCCGAGGAGCAAACCCAGGGCCCAGCGGTGGTGCGTGAGAAAAAC
GCGCCGCGAGATTGGACGCGGTATATAGGAGTGAAACGGCGGCCGTGGGGGACGTTTTCGGCGGAGACAAGAGAC
CCAAGTAGGAAAGGTGAAGGTGCAAGGCTGTGGTTAGGAACTTACGAGACCGCAGAGGATGCAGCGTTGGCTTAC
GATCAAGCCGCTTTCAAAATCCGCGGCTCGAGAGCTCGGCTCAATTTTCCCCACTTAATTGGCTCAAACATGCCT
AAGCCGGCTAGAGTAACAGCGAGGCGTAGTCGTACGCGCTCACCCGAGCCATCCTCTTCTTCATCCACTTCATCA
TCAGAAAATGTGCCAAGAAAAAGGAATATAGATGTGATAAATTCCATAGCCAAAGCCAAATTCCTTTGTCATAGC
TTAAATTTACAGAGATTAGCTTAA

【図１３】

Figure 13
配列番号38. >Nitab4.5_0015055g0010.2の699個の残基[cds]
ATGGAAATGAATCTAGOTGACGAAACCTTGTTTTTCTCTGAGTCTCATCTCCTTGAATCGATAAAGCAACATCTT
CTTGATGATTCAGATTTTTTCTGAAATTTTTTCGCCGATGAGTTCAAGCAACGAAATATTGCCTAACAGTCCTAGC
TCAAGTTTTAGCAGCTTCGACTGCAGCTTCCTCAATTGGGATGAAAACTTTGAGGAAACATTAATACCAACTGAT
CAAAATCCTTCACATGAGAAGTGCTCCGAGTCCGAGGAGCAAACCCAGGGCCCAGCGGTGGTGCGTGAGAAAAAC
GCGCCGCGAGATTGGACGCGGTATATAGGAGTGAAACGGCGGCCGTGGGGGACGTTTTCGGCGGAGACAAGAGAC
CCAAGTAGGAAAGGTGAAGGTGCAAGGCTGTGGTTAGGAACTTACGAGACCGCAGAGGATGCAGCGTTGGCTTAC
GATCAAGCCGCTTTCAAAATCCGCGGCTCGAGAGCTCGGCTCAATTTTCCCCACTTAATTGGCTCAAACATGCCT
AAGCCGGCTAGAGTAACAGCGAGGCGTAGTCGTACGCGCTCACCCGAGCCATCCTCTTCTTCATCCACTTCATCA
TCAGAAAATGTGCCAAGAAAAAGGAATATAGATGTGATAAATTCCATAGCCAAAGCCAAATTCCTTTGTCATAGC
TTAAATTTACAGAGATTAGCTTAA

【図１４】

Figure 14
配列番号39.
>Nitab4.5_0015055g0010.2の232個の残基[ペプチド]
MEMNLADETLFFSESHLLESIKQHLLDDSDFSEIFSPMSSSNEILPNSPSSSFSSFDCSFLNWDENFEETLIPTD
QNPSHEKCSESEEQTQGPAVVREKNAPRDWTRYIGVKRRPWGTFSAETRDPSRKGEGARLWLGTYETAEDAALAY
DQAAFKIRGSRARLNFPHLIGSNMPKPARVTARRSRTRSPEPSSSSSTSSSENVPRKRNIDVINSIAKAKFLCHS
LNLQRL

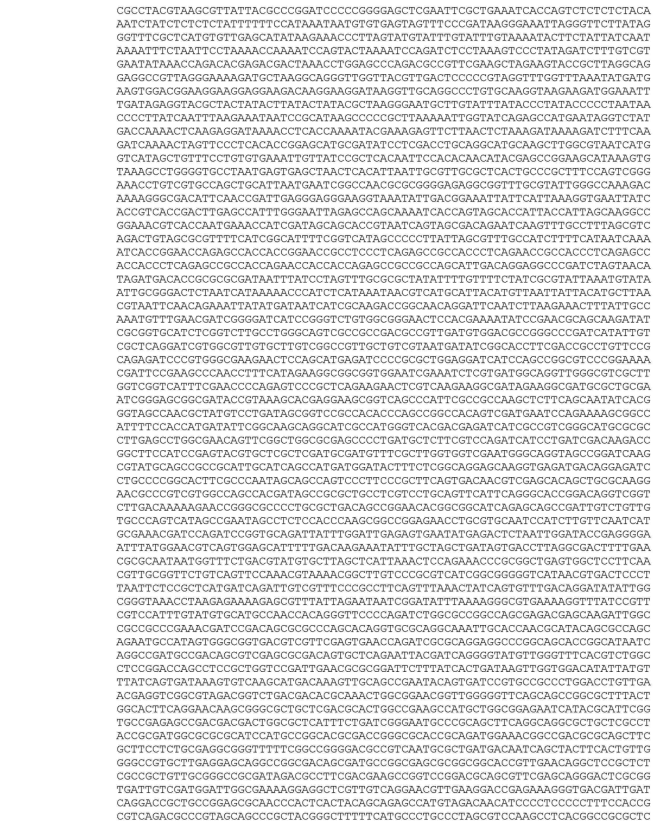
【図１５－１】

Figure 15
TRV1、配列番号40
GATGGTAAGAAGAAAGGCGCGCAGTATGCGATAGCTCTTCACAGCCTGTATGACTTCAAGTTGAAAGACTTGATG
GCTACTATGGTTGAGAAGAAAACTAAAGTGGTTCATGCTGCTATGCTTTTTGCTCCTGAAAGTATGTTAGTGGAC
GAAGGTCCATTACCTTCTGTTGACGGTTACTACATGAAGAAGAACGGGAAGATCTATTTCGGTTTTGAGAAAGAT
CCTTCCTTTTCTTACATTCATGACTGGGAAGAGTACAAGAAGTATCTACTGGGGAAGCCAGTGAGTTACCAAGGG
AATGTGTTCTACTTCGAACCGTGGCAGGTGAGAGGAGACACAATGCTTTTTTCGATCTACAGGATAGCTGGAGTT
CCGAGGAGGTCTCTATCATCGCAAGAGTACTACCGAAGAATATATATCAGTAGATGGGAAAGCATGGTTGTTGTC
CCAATTTTCGATCTGGTCGAATCAACGCGAGAGTTGGTCAAGAAAGACCTGTTTGTAGAGAAACAATTCATGGAC
AAGTGTTTGGATTACATAGCTAGGTTATCTGACCAGCAGCTGACCATAAGCAATGTTAAATCATACTTGAGTTCA
AATAATTGGGTCTTATTCATAAACGGGGCGGCCGTGAAGAACAAGCAAAGTGTAGATTCTCGAGATTTACAGTTG
TTGGCTCAAACTTTGCTAGTGAAGGAACAAGTGGCGAGACCTGTCATGAGGGAGTTGCGTGAAGCAATTCTGACT
GAGACGAAACCTATCACGTCATTGACTGATGTGCTGGGTTAATATCAAGAAAACTGTGGAAGCAGTTTGCTAAC
AAGATCGCAGTCGGCGGATTCGTTGGCATGGTTGGTACTCTAATTGGATTCTATCCAAAGAAGGTACTAACCTGG
GCGAAGGACACACCAAATGGTCCAGAACTATGTTACGAGAACTCGCACAAAACCAAGGTGATAGTATTTCTGAGT
GTTGTGTATGCCATTGGAGGAATCACGCTTATGCGTCGAGACATCCGAGATGGACTGGTGAAAAAACTATGTGAT
ATGTTTGATATCAAACGGGGGGCCCATGTCTTAGACGTTGAGAATCCGTGCCGCTATTATGAAATCAACGATTTC
TTTAGCAGTCTGTATTCGGCATCTGAGTCCGGTGAGACCGTTTTACCAGATTTATCCGAGGTAAAAGCCAAGTCT
GATAAGCTATTGCAGCAGAAGAAAGAAATCGCTGACGAGTTTCTAAGTGCAAAATTCTCTAACTATTCTGGCAGT
TCGGTGAGAACTTCTCCACCATCGGTGGTCGGTTCATCTCGAAGCGGACTGGGTCTGTTGTTGGAAGACAGTAAC
GTGCTGACCCAAGCTAGAGTTGGAGTTTCAAGAAAGGTAGACGATGAGGAGATCATGGAGCAGTTTCTGAGTGGT
CTTATTGACACTGAAGCAGAAATTGACGAGGTTGTTTCAGCCTTTTCAGCTGAATGTGAAAGAGGGGAAACAAGC
GGTACAAAGGTGTTGTGTAAACCTTTAACGCCACCAGGATTTGAGAACGTGTTGCCAGCTGTCAAACCTTTGGTC
AGCAAAGGAAAAACGGTCAAACGTGTCGATTACTTCCAAGTGATGGGAGGTGAGAGATTACCAAAAAGGCCGGTT
GTCAGTGGAGACGATTCTGTGGACGCTAGAAGAGAGTTTCTGTACTACTTAGATGCGGAGAGAGTCGCTCAAAAT
GATGAAATTATGTCTCTGTATCGTGACTATTCGAGAGGAGTTATTCGAACTGGAGGTCAGAATTACCCGCACGGA

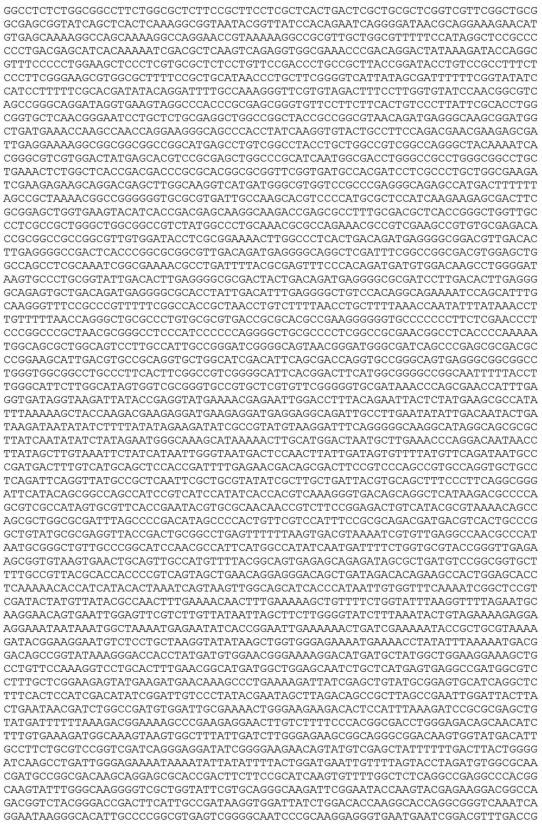
【図１５－２】

CTGGGAGTGTGGGATGTGGAGATGAAGAACTGGTGCATACGTCCAGTGGTCACTGAACATGCTTATGTGTTCCAA
CCAGACAAACGTATGGATGATTGGTCGGGATACTTAGAAGTGGCTGTTTGGGAACGAGGTATGTTGGTCAACGAC
TTCGCGGTCGAAAGGATGAGTGATTATGTCATAGTTTGCGATCAGACGTATCTTTGCAATAACAGGTAATAATCC
TCTCTCTTGATATTTTTAAATTATAGAATTAATTAGTTTACTTTATTCTTTACTATATGATTTAAATAGTTTAAT
CTTGTTTTTGAGTAAACTATTCGATTTTGATATTTGTATTCGTCCTACAAAGTTGGAAATACTGATGATATTTTC
TTTTGAACGTGATACCTACCAATACTAATCTTACGGAATCTTTTAATAGAGCACTAATCAACATGGAACTAAAGA
CCAATTCTTAAGTGTCTCTGTTGTACAGTTCATTTTAGTAGTGCGTTTAAGTATTATTATCTCCCTTCATGCGGG
GCAATTATGTAGATTAAAATCGAAATTATATAAAATTTACATAAGTCTAAGTCTAGGGTCTCCAGCTAATTGTTA
TTTTTTTTAACGATGTTGACTAAAGCAATAACGACGTTGACTTGTGTTAAACAGGTTGATCTTGGACAATTTAAGT
GCCCTGGATCTAGGACCAGTTAACTGTTCTTTTGAATTAGTTGACGGTGTACCTGGTTGTGGTAAGTCGACAATG
ATTGTCAACTCAGCTAATCCTTGTGTCGATGTGGTTCTCTCTACTGGGAGAGCAGCAACCGACGACTTGATCGAG
AGATTCGCGAGCAAAGGTTTTCCATGCAAATTGAAAAGGAGAGTGAAGACGGTTGATTCTTTTTTGATGCATTGT
GTCGATGGTTCTTTAACCGGAGACGTGTTGCATTTCGACGAAGCTCTCATGGCCCATGCTGGTATGGTGTACTTT
TGCGCTCAGATAGCTGGTGCTAAACGATGTATCTGTCAAGGAGATCAGAATCAAATTTCTTTCAAGCCTAGGGTA
TCTCAAGTTGATTTGAGGTTTTCTAGTCTGGTCGGAAAGTTTGACATTGTTACAGAAAAAAGAGAAACTTACAGA
AGTCCAGCAGATGTGGCTGCCGTATTGAACAAGTACTATACTGGAGATGTCAGAACACATAACGCGACTGCTAAT
TCGATGACGGTGAGGAAGATTGTGTCTAAAGAACAGGTTTCTTTGAAGCCTGGTGCTCAGTACATAACTTTCCTT
CAGTCTGAGAAGAAGGAGTTGGTAAATTTGTTGGCATTGAGGAAAGTGGCAGCTAAAGTGAGTACAGTACACGAG
TCGCAAGGAGAGACATTCAAAGATGTAGTCCTAGTCAGGACGAAACCTACGGATGACTCAATCGCTAGAGGTCGG
GAGTACTTAATCGTGGCATTGTCGCGTCACACACAATCACTTGTGTATGAAACTGTGAAAAGAGGACGATGTAAGC
AAAGAGATCAGGGAAAGTGCCGCGCTTACGAAGGCGGCTTTGGCAAGATTTTTTGTTACTGAGACCGTCTTATGA
CGGTTTCGGTCTAGGTTTGATGTCTTTAGACATCATGAAGGGCCTTGCGCCGTTCCAGATTCAGGTACGATTACG
GACTTGGAGATGTGGTACGACGCTTTGTTTCCGGGAAATTCGTTAAGAGACTCAAGCCTAGACGGGTATTTGGTG
GCAACGACTGATTGCAATTTGCGATTAGACAATGTTACGATCAAAAGTGGAAACTGGAAAGACAAGTTTGCTGAA
AAAGAAACGTTTCTGAAACCGGTTATTCGTACTGCTATGCCTGACAAAAGGAAGACTACTCAGTTGGAGAGTTTG
TTAGCATTGCAGAAAAGGAACCAAGCGGCACCCGATCTACAAGAAAATGTGCACGCGACAGTTCTAATCGAAGAG
ACGATGAAGAAGCTGAAATCTGTTGTCTACGATGTGGGAAAAATTCGGGCTGATCCTATTGTCAATAGAGCTCAA
ATGGAGAGATGGTGGAGAAATCAAAGCACAGCGGTACAGGCTAAGGTAGTAGCAGATGTGAGAGAGTTACATGAA
ATAGACTATTCGTCTTACATGTATATGATCAAATCTGACGTGAAACCTAAGACTGATTTAACACCGCAATTTGAA
TACTCAGCTCTACAGACTGTTGTGTATCACGAGAAGTTGATCAACTCGTTGTTCGGTCCAATTTTCAAAGAAATT
AATGAACGCAAGTTGGATGCTATGCAACCACATTTTGTGTTCAACACGAGAATGACATCGAGTGATTTAAACGAT
CGAGTGAAGTTCTTAAATACGGAAGCGGCTTACGACTTTGTTGAGATAGACATGTCTAAATTCGACAAGTCGGCA
AATCGCTTCCATTTACAACTGCAGCTGGAGATTTACAGGTTATTTGGGCTGGATGAGTGGGCGGCCTTCCTTTGG
GAGGTGTCGCACACTCAAACTACTGTGAGAGATATTCAAAATGGTATGATGGCGCATATTTGGTACCAACAAAAG
AGTGGAGATGCTGATACTTATAATGCAAATTCAGATAGAACACTGTGTGCACTCTTGTCTGAATTACCATTGGAG
AAAGCAGTCATGGTTACATATGGAGGAGATGACTCACTGATTGCGTTTCCTAGAGGAACGCAGTTTGTTGATCCG
TGTCCAAAGTTGGCTACTAAGTGGAATTTCGAGTGCAAGATTTTTAAGTACGATGTCCCAATGTTTTGTGGGAAG
TTCTTGCTTAAGACGTCATCGTGTTACGAGTTCGTGCCAGATCCGGTAAAAGTTCTGACGAAGTTGGGGAAAAAG
AGTATAAAGGATGTGCAACATTTAGCCGAGATCTACATCTCGCTGAATGATTCCAATAGAGCTCTTGGGAACTAC
ATGGTGGTATCCAAACTGTCCGAGTCTGTTTCAGACCGGTATTTGTACAAAGGTGATTCTGTTCATGCGCTTTGT
GCGCTATGGAAGCATATTAAGAGTTTTACAGCTCTGTGTACATTATTCCGAGACGAAAACGATAAGGAATTGAAC
CCGGCTAAGGTTGATTGGAAGAAGGCACAGAGAGCTGTGTCAAACTTTTACGACTGGTAATATGGAAGACAAGTC
ATTGGTCACCTTGAAGAAGAAGACTTTCGAAGTCTCAAAATTCTCAAATCTAGGGGCCATTGAATTGTTTGTGGA
CGGTAGGAGGAAGAGACCGAAGTATTTTCACAGAAGAAGAGAAACTGTCCTAAATCATGTTGGTGGGAAGAAGAG
TGAACACAAGTTAGACGTTTTTGACCAAAGGGATTACAAAATGATTAAATCTTACGCGTTTCTAAAGGTAGTAGG
TGTACAACTAGTTGTAACATCACATCTACCTGCAGATACGCCTGGGTTCATTCAAATCGATCTGTTGGATTCGAG
ACTTACTGAGAAAAGAAAGAGAGGAAAGACTATTCAGAGATTCAAAGCTCGAGCTTGCGATAACTGTTCAGTTGC
GCAGTACAAGGTTGAATACAGTATTTCCACACAGGAGAACGTACTTGATGTCTGGAAGGTGGGTTGTATTTCTGA
GGGCGTTCCGGTCTGTGACGGTACATACCCTTTCAGTATCGAAGTGTCGCTAATATGGGTTGCTACTGATTCGAC
TAGGCGCCTCAATGTGGAAGAACTGAACAGTTCGGATTACATTGAAGGCGATTTTACCGATCAAGAGGTTTTCGG
TGAGTTCATGTCTTTGAAACAAGTGGAGATGAAGACGATTGAGGCGAAGTACGATGGTCCTTACAGACCAGCTAC
TACTAGACCTAAGTCATTATTGTCAAGTGAAGATGTTAAGAGAGCGTCTAATAAGAAAAACTCGTCTTAATGCAT
AAAGAAATTTATTGTCAATATGACGTGTGTACTCAAGGGTTGTGTGAATGAAGTCACTGTTCTTGGTCACGAGAC
GTGTAGTATCGGTCATGCTAACAAATTGCGAAAGCAAGTTGCTGACATGGTTGGTGTCACACGTAGGTGTGCGGA
AAATAATTGTGGATGGTTTGTCTGTGTTGTTATCAATGATTTACTTTTGATGTGTATAATTGTTGTGGCCGTAG
TCACCTTGAAAAGTGTCGTAAACGTGTTGAAACAAGAAATCGAGAAATTTGGAAACAAATTCGACGAAATCAAGC
TGAAAACATGTCTGCGACAGCTAAAAAGTCTCATAATTCGAAGACCTCTAAGAAGAAATTCAAAGAGGACAGAGA
ATTTGGGACACCAAAAAGATTTTTAAGAGATGATGTTCCTTTCGGGATTGATCGTTTGTTTGCTTTTTGATTTTA
TTTTATATTGTTATCTGTTTCTGTGTATAGACTGTTTGAGATTGGCGCTTGGCCGACTCATTGTCTTACCATAGG
GGAACGGACTTTGTTTGTGTTGTTATTTTATTTGTATTTTATTAAAATTCTCAATGATCTGAAAAGGCCTCGAGG
CTAAGAGATTATTGGGGGGTGAGTAAGTACTTTTAAAGTGATGATGGTTACAAAGGCAAAAGGGGTAAAACCCCT

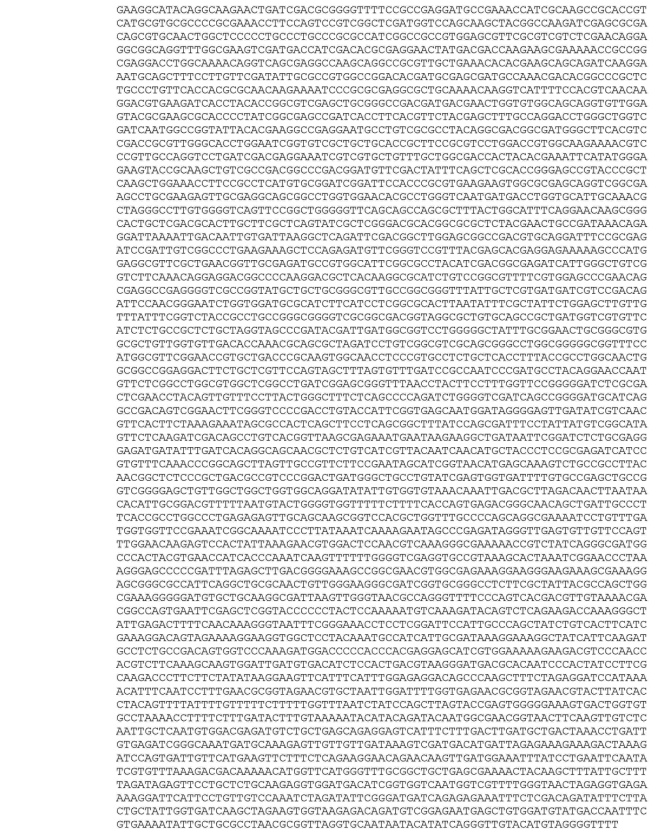
【図１５－３】



【図１５－４】



【図１５－５】



【配列表】

2025512046000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2023/050994

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A01H1/00 A01H5/12 A01H6/82 C12N15/82 C12N9/12
C07K14/415
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)
A01H C12N C07K

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, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE NCBI GenPept [Online] 20 April 2020 (2020-04-20), Anonymous: "uncharacterized protein LOC104093164 [Nicotiana tomentosiformis]", XP093055010, Database accession no. XP_009597177 shows 100% sequence identity to present SEQ ID NO: 3; abstract ----- -/--	1-30

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] 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
23 June 2023	10/07/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Kania, Thomas

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2023/050994

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SUI X. ET AL: "The gene NtMYC2a acts as a 'master switch' in the regulation of JA-induced nicotine accumulation in tobacco", PLANT BIOLOGY, vol. 23, no. 2, 1 March 2021 (2021-03-01), pages 317-326, XP093056907, US ISSN: 1435-8603, DOI: 10.1111/plb.13223 Retrieved from the Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full-xml/10.1111/plb.13223> -----	1-30
A	HAYASHI SHUNYA ET AL: "Genetic Manipulation of Transcriptional Regulators Alters Nicotine Biosynthesis in Tobacco", PLANT AND CELL PHSIOLOGY, vol. 61, no. 6, 1 June 2020 (2020-06-01), pages 1041-1053, XP093056914, UK ISSN: 0032-0781, DOI: 10.1093/pcp/pcaa036 Retrieved from the Internet: URL:https://academic.oup.com/pcp/article-pdf/61/6/1041/33390960/pcaa036.pdf> -----	1-30
A	WANG BINGWU ET AL: "Genetic Factors for Enhancement of Nicotine Levels in Cultivated Tobacco", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 5, no. 1, 1 December 2015 (2015-12-01), XP055821817, DOI: 10.1038/srep17360 Retrieved from the Internet: URL:http://www.nature.com/articles/srep17360.pdf> -----	1-30
A	TODD ANDREA T. ET AL: "A functional genomics screen identifies diverse transcription factors that regulate alkaloid biosynthesis in Nicotiana benthamiana : TFs regulating nicotine biosynthesis", THE PLANT JOURNAL, vol. 62, no. 4, 26 February 2010 (2010-02-26), pages 589-600, XP055818938, GB ISSN: 0960-7412, DOI: 10.1111/j.1365-313X.2010.04186.x ----- -/--	1-30

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2023/050994

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	YAMADA YASUYUKI ET AL: "Basic helix-loop-helix transcription factors and regulation of alkaloid biosynthesis", PLANT SIGNALING & BEHAVIOR, vol. 6, no. 11, 1 November 2011 (2011-11-01), pages 1627-1630, XP93056934, DOI: 10.4161/psb.6.11.17599 -----	1-30
A	YAMADA YASUYUKI ET AL: "Transcription Factors in Alkaloid Engineering", BIOMOLECULES, vol. 11, no. 11, 18 November 2021 (2021-11-18), page 1719, XP93056938, DOI: 10.3390/biom11111719 -----	1-30
A	CN 111 690 661 A (YUNNAN INST TOBACCO AGRI SCI) 22 September 2020 (2020-09-22) -----	1-30
A	WO 2018/237107 A1 (UNIV KENTUCKY RES FOUND [US]) 27 December 2018 (2018-12-27) cited in the application -----	1-30
A	WO 2018/222667 A1 (22ND CENTURY LTD LLC [US]) 6 December 2018 (2018-12-06) -----	1-30

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2023/050994

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2023/050994

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN 111690661 A	22-09-2020	NONE	
WO 2018237107 A1	27-12-2018	AR 112113 A1	18-09-2019
		BR 112019027710 A2	18-08-2020
		CA 3067842 A1	27-12-2018
		CN 111315891 A	19-06-2020
		EP 3642346 A1	29-04-2020
		IL 271516 A	27-02-2020
		JP 2020524508 A	20-08-2020
		JP 2022078014 A	24-05-2022
		PH 12019550294 A1	04-01-2021
		US 2020291413 A1	17-09-2020
		WO 2018237107 A1	27-12-2018
WO 2018222667 A1	06-12-2018	US 2020140875 A1	07-05-2020
		WO 2018222667 A1	06-12-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
A01H	*6/82*	*(2018.01)*	A01H	6/82	
A01H	*5/10*	*(2018.01)*	A01H	5/10	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10	
A24B	*1/00*	*(2006.01)*	A24B	1/00	
A24B	*13/00*	*(2006.01)*	A24B	13/00	
A24F	*40/20*	*(2020.01)*	A24F	40/20	

,MC,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100096482
弁理士 東海 裕作
(74)代理人 100131093
弁理士 堀内 真
(74)代理人 100150902
弁理士 山内 正子
(74)代理人 100141391
弁理士 園元 修一
(74)代理人 100221958
弁理士 篠田 真希恵
(74)代理人 100192441
弁理士 渡辺 仁
(72)発明者 ベン カーレッド サラ
イギリス国 ダブリュシー２アール ３エルエー ロンドン ウォーターストリート１ グローブハウス ニコベンチャーズ トレーディング リミテッド シー／オー
(72)発明者 アナスタシオ デ アブレウ エ リマ フランシスコ
イギリス国 ダブリュシー２アール ３エルエー ロンドン ウォーターストリート１ グローブハウス ニコベンチャーズ トレーディング リミテッド シー／オー
(72)発明者 ガルドン－アルメロ ハビエル
イギリス国 ダブリュシー２アール ３エルエー ロンドン ウォーターストリート１ グローブハウス ニコベンチャーズ トレーディング リミテッド シー／オー

Ｆターム（参考） 4B043 AA31 BA47 BA60 BA80
4B065 AA88X AA89X AB01 BA02 CA18 CA53
4B162 AA02 AA22 AB01 AB12 AC50