



(10) **DE 11 2011 102 151 T5** 2013.07.11

(12) **Veröffentlichung**

der internationalen Anmeldung mit der
 (87) Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2011/161620**
 in deutscher Übersetzung (Art. III § 8 Abs. 2 IntPatÜG)
 (21) Deutsches Aktenzeichen: **11 2011 102 151.8**
 (86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/IB2011/052702**
 (86) PCT-Anmeldetag: **21.06.2011**
 (87) PCT-Veröffentlichungstag: **29.12.2011**
 (43) Veröffentlichungstag der PCT Anmeldung
 in deutscher Übersetzung: **11.07.2013**

(51) Int Cl.: **C12N 15/29 (2013.01)**
C12N 15/82 (2013.01)
A01H 5/00 (2013.01)

(30) Unionspriorität:
61/358,428 **25.06.2010** **US**
61/411,967 **10.11.2010** **US**

(74) Vertreter:
Herzog Fiesser & Partner, 68167, Mannheim, DE

(71) Anmelder:
**BASF Plant Science Company GmbH, 67063,
 Ludwigshafen, DE; Crop Functional Genomics
 Center, Seoul, KR**

(72) Erfinder:
**Shin, Jeong Sheop, Seoul, KR; Jung, Kwang
 Wook, Seoul, KR; Kim, Ju Kon, Seoul, KR; Choi,
 Yang Do, Seoul, KR; Park, Youn-Il, Seoul, KR;
 Reuzeau, Christophe, La Chapelle Gonaguet, FR;
 Song, Ji-Young, Daejeon, KR**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen und Verfahren zu deren Herstellung**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein das Gebiet der Molekularbiologie und betrifft ein Verfahren zur Steigerung verschiedenener Ertragsmerkmale von ökonomischer Bedeutung in Pflanzen durch Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-(Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1)-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-(Nicotinamidphosphoribosyltransferase)-Polypeptid codiert, in einer Pflanze. Genauer gesagt, betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen durch Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid oder ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Pflanzen mit einer modulierten Expression einer für ein LEJ1-(Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1)-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-(Nicotinamidphosphoribosyltransferase)-Polypeptid oder ein AP2-26-ähnliches Polypeptid oder ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure, wobei diese Pflanzen gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu entsprechenden Pflanzen vom Wildtyp oder anderen Kontrollpflanzen aufweisen. Die Erfindung stellt außerdem Konstrukte bereit, die sich für die erfindungsgemäßen Verfahren eignen, oder stellt bisher unbekannte für AP2-26-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäuren bereit sowie Konstrukte, die diese umfassen. Die Erfindung stellt auch für HD8-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäuren enthaltende Konstrukte bereit, die bei der Durchführung der Verfahren der Erfindung von Nutzen sind.

MGSISLSNSMPITRLPLLTSLYHQSFPLPISSSSFLPLSNRRRSSTFSPSITVSAFFAAPASVN

NNNSVPAKNGGYTVGDFMTPRONLHVVKPSTSVDDALELLVEKKVTGLPVIDDNWTLVGVVSDYD

LLALDSISGRSQNDTNLFPDVDSTWKTFNELQKLSKTYGKVVGDLMTPSPLVVRDSINLEDAAR

LLLETKFRRLPVVDADGKLGILTRGNVVRALQIKRETENST

-----6-----|

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein das Gebiet der Molekularbiologie und betrifft ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen durch Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1(Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1)-Polypeptid oder ein AP2-26-ähnliches (APETALA2-like transcription factor) Polypeptid codiert, in einer Pflanze. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Pflanzen mit einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid oder ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wobei die Pflanzen gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu entsprechenden Wildtyp-Pflanzen oder anderen Kontrollpflanzen aufweisen. Die Erfindung stellt auch Konstrukte bereit, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind.

[0002] Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein das Gebiet der Molekularbiologie und betrifft ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen durch Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid oder ein HD8-ähnliches (Homeodomäne-8-ähnliches) Polypeptid codiert, in einer Pflanze. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Pflanzen mit einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid oder ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wobei die Pflanzen gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu entsprechenden Wildtyp-Pflanzen oder anderen Kontrollpflanzen aufweisen. Die Erfindung stellt auch Konstrukte bereit, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind.

[0003] Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein das Gebiet der Molekularbiologie und betrifft ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen durch Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase, die hier auch als NMPRT bezeichnet wird, codiert, in einer Pflanze. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Pflanzen mit einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, wobei die Pflanzen gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu entsprechenden Wildtyp-Pflanzen oder anderen Kontrollpflanzen aufweisen. Die Erfindung stellt auch Konstrukte bereit, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind.

[0004] Die stetig anwachsende Weltbevölkerung und die schwindende Reserve an anbaufähigem Land, das für die Landwirtschaft zur Verfügung steht, treibt die Forschung hin zur Erhöhung der Effizienz der Landwirtschaft. Herkömmliche Methoden für Verbesserungen bei Nutzpflanzen und Gartenpflanzen wenden selektive Züchtungstechniken zum Identifizieren von Pflanzen mit wünschenswerten Merkmalen an. Allerdings weisen derartige selektive Züchtungstechniken mehrere Nachteile dahingehend auf, dass diese Techniken typischerweise arbeitsintensiv sind und zu Pflanzen führen, welche häufig heterogene genetische Komponenten enthalten, welche nicht immer dazu führen können, dass die erwünschte Eigenschaft von Elternpflanzen weitergegeben wird. Die Fortschritte in der Molekularbiologie haben es der Menschheit erlaubt, das Keimplasma von Tieren und Pflanzen zu modifizieren. Die gentechnische Manipulation von Pflanzen beinhaltet die Isolierung und Manipulierung von genetischem Material (typischerweise in der Form von DNA oder RNA) und die anschließende Einbringung dieses genetischen Materials in eine Pflanze. Diese Technologie weist das Vermögen auf, Nutzpflanzen oder Pflanzen mit verschiedenen verbesserten wirtschaftlichen, landwirtschaftlichen oder gärtnerischen Eigenschaften zur Verfügung zu stellen.

[0005] Eine Eigenschaft von besonderem wirtschaftlichem Interesse ist ein erhöhter Ertrag. Der Ertrag ist normalerweise als der messbare Gewinn von ökonomischem Wert aus einer Nutzpflanze definiert. Dies kann in Bezug auf die Quantität und/oder Qualität definiert sein. Der Ertrag ist direkt von mehreren Faktoren, wie zum Beispiel der Anzahl und Größe der Organe, der Pflanzenarchitektur (zum Beispiel der Anzahl an Verzweigungen), der Samenproduktion, der Blatt-Seneszenz und sonstigem, abhängig. Wurzelentwicklung, Nährstoffaufnahme, Stresstoleranz und Jungpflanzenvitalität können ebenfalls bedeutende Faktoren bei der Bestimmung des Ertrags sein. Das Optimieren der oben erwähnten Faktoren kann daher zu einer Erhöhung des Nutzpflanzenertrags beitragen.

[0006] Der Samenertrag ist ein besonders wichtiges Merkmal, da die Samen vieler Pflanzen für die menschliche und tierische Ernährung wichtig sind. Nutzpflanzen, wie Mais, Reis, Weizen, Canola und Sojabohne machen über die Hälfte der gesamten menschlichen Kalorienaufnahme aus, ob durch direkten Verzehr der Samen selbst oder durch Verzehr von Fleischprodukten, welche auf Grundlage verarbeiteter Samen erzeugt wurden. Sie stellen ebenfalls eine Quelle für Zucker, Öle und viele Arten von Metaboliten, die in industriellen Verfahren verwendet werden, dar. Samen enthalten einen Embryo (die Quelle von neuen Sprossen und Wurzeln) sowie ein Endosperm (die Quelle von Nährstoffen für das Embryowachstum während der Keimung und während des frühen Wachstums der Setzlinge). Die Entwicklung eines Samens beteiligt zahlreiche Gene und erfordert den Transfer von Metaboliten aus den Wurzeln, Blättern und Stängeln in den wachsenden Samen. Das Endosperm

assimiliert im Besonderen die Stoffwechselläufer von Kohlenhydraten, Ölen und Proteinen und synthetisiert sie zu Speichermakromolekülen, um das Korn auszufüllen.

[0007] Eine andere bedeutende Eigenschaft für viele Nutzpflanzen ist die Jungpflanzenvitalität. Die Verbesserung der Jungpflanzenvitalität ist ein wichtiges Ziel bei modernen Reis-Züchtungsprogrammen sowohl in gemäßigten als auch tropischen Reis-Kultivaren. Lange Wurzeln sind wichtig für eine korrekte Bodenverankerung bei in Wasser ausgesätem Reis. Falls Reis direkt in überflutete Ackerfelder ausgesät wird und falls die Pflanzen rasch durch das Wasser auftauchen müssen, stehen längere Sprosse mit der Wuchskraft in Zusammenhang. Wo eine Aussaat mit Drillvorrichtung praktiziert wird, sind längere Mesokotyle und Koleoptile für eine günstige Setzlingsemergenz bedeutsam. Die Fähigkeit, Jungpflanzenvitalität künstlich in Pflanzen einzubringen, wäre für die Landwirtschaft von großer Bedeutung. Zum Beispiel war eine geringe Jungpflanzenvitalität eine Einschränkung bei der Einführung von Mais-(*Zea Mais L.*)-Hybriden auf der Basis von "Corn Belt"-Keimplasma im europäischen Atlantikraum.

[0008] Ein weiteres wichtiges Merkmal ist das einer verbesserten Toleranz gegenüber abiotischem Stress. Abiotischer Stress ist eine Hauptursache für weltweiten Ernteverlust, wobei die Durchschnittserträge für die meisten wichtigen Nutzpflanzen um mehr als 50% reduziert werden (Wang et al., *Planta* 218, 1–14, 2003). Abiotische Stressfaktoren können durch Dürre, Salzgehalt, Temperaturextreme, chemische Toxizität und oxidativen Stress verursacht werden. Die Fähigkeit zur Verbesserung der Pflanzentoleranz gegenüber abiotischem Stress wäre weltweit für Landwirte von großem wirtschaftlichen Vorteil und würde den Anbau von Nutzpflanzen während ungünstiger Bedingungen sowie in Territorien, auf welchen eine Kultivierung von Nutzpflanzen ansonsten nicht möglich sein kann, gestatten.

[0009] Der Nutzpflanzenertrag kann daher durch Optimieren von einem der oben erwähnten Faktoren erhöht werden.

[0010] Abhängig von der Endanwendung kann die Modifikation bestimmter Ertragseigenschaften gegenüber anderen bevorzugt sein. Beispielsweise kann für Anwendungen wie Futtermittel- oder Holzproduktion oder Biotreibstoff-Ressourcen ein Zuwachs bei den vegetativen Teilen einer Pflanze wünschenswert sein, und für Anwendungen wie Mehl-, Stärke- oder Ölproduktion kann ein Zuwachs hinsichtlich der Samenparameter besonders erwünscht sein. Sogar unter den Samenparametern können, abhängig vom Verwendungszweck, manche gegenüber anderen bevorzugt sein. Verschiedene Mechanismen können zur Erhöhung des Samenertrags beitragen, ungeachtet dessen, ob diese in Form einer erhöhten Samengröße oder einer erhöhten Samenzahl vorliegen.

[0011] Ein möglicher Ansatz zur Erhöhung des Ertrags (Samenertrag und/oder Biomasse) in Pflanzen kann durch Modifikation der inhärenten Wachstumsmechanismen einer Pflanze erfolgen, wie etwa des Zellzyklus oder verschiedener Signalleitungswege, die am Pflanzenwachstum oder an Abwehrmechanismen beteiligt sind.

[0012] Es wurde nun gefunden, dass sich verschiedene Ertragsmerkmale in Pflanzen verbessern lassen, indem man in einer Pflanze die Expression einer Nukleinsäure, die in einer Pflanze für ein LEJ1 (Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1)-Polypeptid oder ein AP2-26-ähnliches (APETALA2-like transcription factor) Polypeptid codiert, moduliert.

[0013] Weiterhin wurde jetzt auch gefunden, dass sich verschiedene Ertragsmerkmale in Pflanzen verbessern lassen, indem man in einer Pflanze die Expression einer Nukleinsäure, die in einer Pflanze für ein ExbB-Polypeptid oder ein HD8-ähnliches (Homeodomäne-8-ähnliches) Polypeptid codiert, moduliert.

Hintergrund LEJ1-Polypeptid (Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1 polypeptide)

[0014] LEJ1 wurde bislang noch nicht funktionell charakterisiert. Kleffmann et al. (*Curr Biol.* 1, 354–362, 2004) berichteten, dass das LEJ1-Protein eine Cystathionin-beta-Synthase (CBS)-Domäne umfasst; die CBS-Domäne als solche hat keine definierte(n) Funktion(en), es wurde jedoch postuliert, dass sie bei vielen Enzymen eine regulierende Rolle spielt und somit zur Aufrechterhaltung des intrazellulären Redox-Gleichgewichts beiträgt. Man nimmt an, dass das Protein im Stroma des Plastids lokalisiert ist (Zybailov et al. *PLoS One.* 3(4): e1994, 2008, Rutschow et al. *Plant Physiol.* 148, 156–75, 2008).

Hintergrund ExbB-Polypeptid

[0015] Es ist bekannt, dass ExbB zum TonB-abhängigen Übertragungskomplex gehört. Der TonB-Komplex bedient sich des Protonengradienten über die innere Bakterienmembran, um große Moleküle über die äußere Bakterienmembran zu transportieren.

[0016] Das TonB-ExbB-System und auch das Tol-Pal-System sind dazu in der Lage, den Protonengradienten über die Zytoplasmamembran mit Prozessen, die Energie benötigen, zu koppeln und so die für einen aktiven Transport über die Außenmembran benötigte Energie bereitzustellen.

[0017] In *E.coli* und verwandten gramnegativen Bakterien enthalten beide Systeme, die in Operonen organisiert sind, drei homologe integrale Plasmamembranproteine: TonB/TolA, ExbB/TolQ und ExbD/TolR.

[0018] Fang et al. (*Molecular & Cellular Proteomics* 1.12 (2002): 956–966) identifizierten putative Homologe von ExbB/TolQ und von ExbD/TolR in den Plasmamembranen von Cyanobakterien. Im Genom von *Synechocystis* wurde kein TonB/TolA-Homolog gefunden. ExbB/TolQ hat drei vorhergesagte Transmembranhelices, und ExbD/TolQ hat eine, wobei es sich um die gleiche Membrantopologie wie bei den entsprechenden *E.coli*-Proteinen handelt. *sll1405* ist Teil eines Operons (*sll1404/sll1405/sll1406*), der für die ExbB- und ExbD-Proteine und das FhuA-Protein, bei dem es sich um den Außenmembranteil des TonB-ExbB-Systems handelt, codiert. *Slr0677* ist Teil eines anderen Operons *slr0677/slr0678*, der aus den Genen besteht, die für ExbB- und ExbD-ähnliche Proteine codieren.

[0019] ExbB und TolQ haben die gleiche Transmembrantopologie. Ausgehend vom N-Terminus im Periplasma überspannen sie die Zytoplasmamembran drei Mal (Transmembransegmente in ExbB zwischen den Resten 16 und 39, 128 und 155 sowie 162 und 199, Gesamtlänge 244 Reste).

[0020] Suzuki et al. (*Molecular Microbiology* (2001) 40(1): 235–244) beschreiben, dass alle den Transport von Biopolymeren ermöglichenden Elemente sich bei *Synechocystis* in einem Cluster in einem Operon befinden. ExbB, d. h. *sll1404*, ist eines der Elemente.

[0021] Agarwal et al. (*Journal of Proteomics* 73 (2010): 976–991) lokalisieren ExbB in den Thylokoidmembranen von Chloroplasten in *Synechocystis* 6803.

Hintergrund Nicotinamidphosphoribosyltransferase(NMPRT)-Polypeptid

[0022] Es wurde jetzt gefunden, dass sich verschiedene Ertragsmerkmale in Pflanzen verbessern lassen, indem man in einer Pflanze die Expression einer in einer Pflanze für ein NMPRT(Nicotinamidphosphoribosyltransferase)-Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und insbesondere indem man in einer Pflanze die Expression einer für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase codierenden Nukleinsäure moduliert.

[0023] Die vorliegende Erfindung ist auf Nukleinsäuren gerichtet, die für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase codieren, und auf Anwendungen davon bei Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

[0024] In der Enzymologie ist eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase, die zur EC-Klasse 2.4.2.12 gehört, ein Enzym, das die folgende chemische Reaktion katalysiert: Nicotinamid-D-ribonukleotid + Diphosphat \rightleftharpoons Nicotinamid + 5-Phospho-alpha-D-ribose-1-diphosphat. Die beiden Substrate dieses Enzyms sind somit i) Nicotinamid-D-ribonukleotid und ii) Diphosphat, während es sich bei den beiden Produkten um i) Nicotinamid und ii) 5-Phospho-alpha-D-ribose-1-diphosphat handelt. Dieses Enzym gehört zur Familie der Glycosyltransferasen, genauer gesagt zur Familie der Pentosyltransferasen. Der systematische Name dieser Enzymklasse ist Nicotinamidnukleotid:Diphosphat-phospho-alpha-D-ribosyltransferase. Andere Namen, die gewöhnlich zur Bezeichnung dieser Enzymklasse verwendet werden, schließen NMN-Pyrophosphorylase, Nicotinamidmononukleotidpyrophosphorylase, Nicotinamidmononucleotidsynthetase und NMN-Synthetase ein. Dieses Enzym ist am Nicotinat- und Nicotinamidmetabolismus beteiligt.

[0025] Biosynthese, Wiedergewinnung und Recycling von NAD(P)-Cofaktoren ist wichtig im Hinblick auf ihre zahlreichen Rollen. NAD ist an unzähligen Redoxreaktionen einschließlich Photosynthese und Atmung beteiligt und als Cosubstrat an einer Reihe von metabolischen und regulatorischen Prozessen. Im Stand der Technik gibt es Studien zum mikrobiellen NAD-Metabolismus.

[0026] Zum Beispiel offenbaren Gazzaniga et al. (2009; *Microbiol Mol Biol Rev* 73: 529–541), dass NAD ein Coenzym für Redoxreaktionen und ein Substrat von NAD-verbrauchenden Enzymen einschließlich ADP-Ribosyltransferasen, mit Sir2 verwandten Proteinlysineacetyltransferasen und bakteriellen DNA-Ligasen ist. Es wurden Mikroorganismen identifiziert, die NAD aus nur einer bis zu sogar fünf der sechs identifizierten biosynthetischen Vorstufen synthetisieren. Die de-novo-NAD-Synthese aus Aspartat oder Tryptophan ist weder universell noch streng aerobisch. Es wurde beschrieben, dass die NAD-Wiedergewinnungssynthese von Nicotinamid, Nicotinsäure, Nicotinamidribosid und Nicotinsäureribosid über Module verschiedener Gene stattfindet. Die Nicotinamid-Wiedergewinnungsgene *nadV* und *pncA*, die sich in unterschiedlichen Bakterien finden, scheinen sich über einen horizontalen Gentransfer über den Baum des Lebens ausgebreitet zu haben.

[0027] Darüber hinaus sei angemerkt, dass Gerdes et al. (2006, *JOURNAL OF BACTERIOLOGY* 3012–3023 Band 188, Nr. 80021) die Biosynthese von NAD(P)-Faktoren in Cyanobakterien unter Anwendung einer vergleichenden Genomics-Analyse mit Verifikationsexperimenten im *Synochocystis* sp.-Stamm PCC 8803 untersuchten. Sie offenbarten, dass das Produkt des *slr0788*-Gens dieses Stammes eine Nicotinamid-bevorzugende Phosphoribosyltransferase NMPRT ist, die am ersten Schritt der zweistufigen nicht deamidierenden Verwertung von Nicotinamid (NMN-Shunt; siehe [Fig. 1](#) von Gerdes et al) beteiligt ist. Die physiologische Rolle dieses durch einen konservierten Gencluster, *slr0787–slr0788*, codierten Pfades liegt wahrscheinlich beim Recycling von endogen erzeugtem Nicotinamid, was durch die Unfähigkeit dieser Cyanobakterien zur Verwertung von exogen bereitgestelltem Niacin, welches auch als Vitamin B3 oder Nicotinsäure bekannt ist, gestützt wird.

Hintergrund AP2-26-ähnliches Polypeptid

[0028] Transkriptionsfaktoren steuern die Transkription von Genen. Es lassen sich drei allgemeine Kategorien von Transkriptionsfaktoren unterscheiden: die, die sich an RNA-Polymerase binden, die, die sich an einen anderen Transkriptionsfaktor binden, und die, die sich an spezifische DNA-Sequenzen binden. Die letzte Gruppe bindet meistens stromaufwärts vom Target-Gen in der Promotorsequenz. AP2 (APETALA2) und EREBPs (Ethylene-Responsive Element Binding Proteins, oder ERF, Ethylene Response Factors) sind prototypische Mitglieder einer Familie von Transkriptionsfaktoren, die nur in Pflanzen vorkommen und deren Unterscheidungsmerkmal ist, dass die die so genannte AP2 DNA-Bindungsdomäne enthalten. AP2/EREBP-Gene bilden eine große Multigenfamilie (die AP2/ERF-Superfamilie), und sie spielen verschiedene Rollen während des Lebenszyklus der Pflanze: vom Schlüssel-Steuerungsglied bei mehreren Entwicklungsprozessen wie der Festlegung der Identität des Blütenorgans oder der Steuerung der Identität von Epidermiszellen in Blättern zur Beteiligung an Mechanismen, die von Pflanzen als Reaktion auf verschiedene Arten von biotischem und Umweltstress angewendet werden. Innerhalb der AP2/ERF-Superfamilie unterscheidet man 3 große Familien: die AP2-Familie mit zwei AP2/ERF-Domänen, die ERF-Familie mit einer einzelnen AP2/ERF-Domäne und die RAV-Familie, die eine DNA-Bindungsdomäne vom B3-Typ umfasst. Nakano et al. (*Plant Physiology* 140, 411–432, 2006) untersuchten die ERF-Genfamilie in Arabidopsis und Reis und teilten die Arabidopsis-ERF-Genfamilie in 12 Gruppen (die als Gruppe I bis X und eine VI-ähnliche Gruppe und eine Xb-ähnliche Gruppe bezeichnet wurden), während man beim Reis 15 Gruppen unterschied. Die Arabidopsis-Proteine der Gruppe VII sind durch ein konserviertes N-terminales Motiv, das als Konserviertes Motiv VII-1 (CMVII-1) bezeichnet wird, gekennzeichnet. Beim Reis umfasst die Gruppe VII mehr Proteine als die Arabidopsis-Gruppe VII, und obwohl die VII-Gruppen von Reis und Arabidopsis viele Motive gemein haben, wurde eine separate Reis-Gruppe VIIb für eine Sequenz, der dieses typische CMVII-1-Motiv fehlt, erstellt. Es wurde beschrieben (zum Beispiel in WO 2003007699), dass Mitglieder der Gruppe VII funktionell bei Reaktionen auf osmotischen Stress und Krankheiten beteiligt sind. Durch eine ektopische Überexpression von Tomaten-JERF3 in Tabak wurde die Salztoleranz der transgenen Produkte erhöht (Wang et al., *Plant Molecular Biology* 58, 183–192, 2004), und eine Überexpression des Transkriptionsfaktors CaPF1 aus Paprika führte zu einer erhöhten osmotischen Toleranz von Kiefern (Tang et al, *Plant Cell Rep.* 26, 115–124, 2007), jedoch auch zu einer erhöhten Pathogenresistenz in Arabidopsis (Yi et al., *Plant Physiol.* 136, 2862–2874, 2004). Eine ähnliche Beobachtung wurde bei Gersten-HvRAF gemacht (Jung et al., *Planta Epub* 26 August 2006). Weiterhin kam ein ERF-Protein vom Typ der Gruppe VII bei einem Verfahren zur Herstellung von Methionin zur Anwendung (EP2005003297).

Hintergrund HD8-ähnliches Polypeptid

[0029] HD-ZIP-Transkriptionsfaktoren (TF) gehören zu einer großen Superfamilie, die weiterhin PHD-Finger-TF, BELL, ZF-HD-TF, WOX- und KNOX-Transkriptionsfaktoren umfasst. HD-ZIP-TF sind an einer Reihe von physiologischen Prozessen und Entwicklungsprozessen wie Reaktionen auf Umweltbedingungen, der Entwicklung von Organen und Gefäßen, der Meristemregulierung und der hormonellen Signalvermittlung beteiligt. Die Familie der HD-ZIP-Proteine lässt sich in 4 Unterfamilien (I bis IV) unterteilen. Die DNA-Sequenzen, die das Ziel der TF der HD-ZIP-Unterfamilie IV sind, sind durch eine TAAA-Kernsequenz gekennzeichnet.

Zusammenfassung LEJ1-Polypeptid (Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1 polypeptide)

[0030] Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, erhält.

[0031] Gemäß einer Ausführungsform wird ein Verfahren zur Verbesserung von Ertragsmerkmalen wie hier bereitgestellt in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereitgestellt, bei dem man die Expression einer für ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze moduliert.

Zusammenfassung ExbB-Polypeptid

[0032] Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere einem erhöhten Ertrag und ganz insbesondere einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, erhält.

[0033] Gemäß einer Ausführungsform wird ein Verfahren zur Verbesserung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereitgestellt, bei dem man die Expression einer für ein ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze moduliert.

Zusammenfassung Nicotinamidphosphoribosyltransferase-(NMPRT)-Polypeptid

[0034] Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass man durch Modulieren der Expression einer für eine NMPRT oder Homologe davon, wie hier beschrieben, codierenden Nukleinsäure Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere einem erhöhten Ertrag und ganz insbesondere einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, erhält.

[0035] Gemäß einer Ausführungsform wird ein Verfahren zur Verbesserung von Ertragsmerkmalen wie hier bereitgestellt in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereitgestellt, bei dem man die Expression einer für ein wie hier definiertes NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze moduliert. Gemäß anderen Ausführungsformen stellt die Erfindung auch Nukleinsäuren und Polypeptide und Anwendungen davon insbesondere zur Verbesserung von Ertragsmerkmalen, wie hier angegeben, in Pflanzen relativ zu Kontrollpflanzen; Konstrukte; Zellen; und transgene Organismen wie transgene Pflanzen bereit.

Zusammenfassung AP2-26-ähnliches Polypeptid

[0036] Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere Jungpflanzenvitalität und/oder einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, erhält.

[0037] Es wurde außerdem gefunden, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, erhält.

[0038] Gemäß einer Ausführungsform wird ein Verfahren zur Verbesserung von Ertragsmerkmalen wie hier bereitgestellt in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereitgestellt, bei dem man die Expression einer für ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze moduliert.

Zusammenfassung HD8-ähnliches Polypeptid

[0039] Gemäß einer Ausführungsform wird ein Verfahren zur Verbesserung von Ertragsmerkmalen wie hier bereitgestellt in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereitgestellt, bei dem man die Expression einer für ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze moduliert.

[0040] Die Titel und Überschriften in der vorliegenden Beschreibung dienen lediglich zum Zweck der Übersichtlichkeit und für Verweise und sollen die Bedeutung bzw. Interpretation der vorliegenden Beschreibung in keiner Weise beeinträchtigen.

Definitionen

[0041] Die folgenden Definitionen werden in der gesamten vorliegenden Erfindung verwendet.

Polypeptid(e)/Protein(e)

[0042] Die Begriffe "Polypeptid" und "Protein" werden hierin austauschbar verwendet und betreffen Aminosäuren in einer polymeren Form von beliebiger Länge, welche durch Peptidbindungen miteinander verbunden sind.

Polynukleotid(e)/Nukleinsäure(n)/Nukleinsäuresequenz(en)/Nukleotidsequenz(en)

[0043] Die Begriffe "Polynukleotid(e)", "Nukleinsäuresequenz(en)", "Nukleotidsequenz(en)", "Nukleinsäure(n)", "Nukleinsäuremolekül" werden hierin austauschbar verwendet und beziehen sich auf Nukleotide, entweder Ribonukleotide oder Desoxyribonukleotide oder eine Kombination von beiden, in einer polymeren unverzweigten Form von beliebiger Länge.

Homolog(e)

[0044] "Homologe" eines Proteins umfassen Peptide, Oligopeptide, Polypeptide, Proteine und Enzyme, welche Aminosäuresubstitutionen, -deletionen und/oder -insertionen im Vergleich zum betreffenden unmodifizierten Protein aufweisen und eine ähnliche biologische und funktionelle Aktivität wie das unmodifizierte Protein, aus dem sie abgeleitet sind, besitzen.

[0045] Eine Deletion bezieht sich auf die Entfernung von einer oder mehreren Aminosäuren aus einem Protein.

[0046] Eine Insertion bezieht sich darauf, dass ein oder mehrere Aminosäurereste in eine vorbestimmte Stelle in einem Protein eingeführt werden. Insertionen können N-terminale und/oder C-terminale Fusionen sowie Intra-Sequenz-Insertionen einzelner oder mehrerer Aminosäuren umfassen. Im Allgemeinen werden Insertionen innerhalb der Aminosäuresequenz kleiner als N- oder C-terminale Fusionen, und zwar in der Größenordnung von etwa 1 bis 10 Resten, sein. Zu Beispielen für N- oder C-terminale Fusionsproteine oder -peptide zählen die Bindungsdomäne oder Aktivierungsdomäne eines Transkriptionsaktivators, wie im Hefe-Zwei-Hybrid-System verwendet, Phagen-Hüllproteine, (Histidin)-6-Tag, Glutathion-S-Transferase-Tag, Protein A, Maltose-Bindungsprotein, Dihydrofolatreduktase, Tag-100-Epitop, c-myc-Epitop, FLAG[®]-Epitop, lacZ, CMP (Calmodulinbindendes Peptid), HA-Epitop, Protein-C-Epitop und VSV-Epitop.

[0047] Eine Substitution bezieht sich auf die Ersetzung von Aminosäuren des Proteins mit anderen Aminosäuren mit ähnlichen Eigenschaften (wie etwa einer ähnlichen Hydrophobizität, Hydrophilizität, Antigenizität, Neigung zur Bildung oder Aufbrechung von α -helikalen Strukturen oder β -Blatt-Strukturen). Aminosäuresubstitutionen sind typischerweise an Einzelresten vorhanden, aber können abhängig von den funktionellen Erfordernissen, welche dem Polypeptid auferlegt sind, gehäuft vorliegen und können im Bereich von 1 bis 10 Aminosäuren liegen; Insertionen werden üblicherweise eine Größenordnung von etwa 1 bis 10 Aminosäureresten aufweisen. Die Aminosäuresubstitutionen sind vorzugsweise konservative Aminosäuresubstitutionen. Tabellen mit konservativen Substitutionen sind im Stand der Technik gut bekannt (siehe zum Beispiel Creighton (1984) Proteins. W. H. Freeman and Company (Hrsg.) und Tabelle 1 unten).

Tabelle 1: Beispiele für konservierte Aminosäuresubstitutionen

Rest	Konservative Substitutionen	Rest	Konservative Substitutionen
Ala	Ser	Leu	Ile; Val
Arg	Lys	Lys	Arg; Gln
Asn	Gln; His	Met	Leu; Ile
Asp	Glu	Phe	Met; Leu; Tyr
Gln	Asn	Ser	Thr; Gly
Cys	Ser	Thr	Ser; Val
Glu	Asp	Trp	Tyr

Gly	Pro	Tyr	Trp; Phe
His	Asn; Gln	Val	Ile; Leu
Ile	Leu, Val		

[0048] Aminosäuresubstitutionen, -deletionen und/oder -insertionen können mit Hilfe von auf dem Fachgebiet allgemein bekannten Peptidsynthesetechniken, wie etwa der Festphasen-Peptidsynthese und dergleichen, oder durch rekombinante DNA-Manipulation leicht ausgeführt werden. Verfahren für die Manipulierung von DNA-Sequenzen zur Erzeugung von Substitutions-, Insertions- oder Deletionsvarianten eines Proteins sind auf dem Fachgebiet allgemein bekannt. Zum Beispiel sind Techniken zur Herstellung von Substitutionsmutationen an vorbestimmten Stellen in der DNA dem Fachmann auf dem Gebiet allgemein bekannt und schließen M13-Mutagenese, T7-Gen-in-vitro-Mutagenese (USB, Cleveland, OH), QuickChange-ortsgerichtete Mutagenese (Stratagene, San Diego, CA), PCR-vermittelte ortsgerichtete Mutagenese oder sonstige ortsgerichtete Mutagenese-Protokolle ein.

Derivate

[0049] "Derivate" beinhalten Peptide, Oligopeptide, Polypeptide, welche im Vergleich zur Aminosäuresequenz der natürlich vorkommenden Form des Proteins, wie dem Protein von Interesse, Substitutionen von Aminosäuren mit nicht natürlich vorkommenden Aminosäureresten, oder Additionen von nicht-natürlich vorkommenden Aminosäureresten, umfassen können. "Derivate" eines Proteins beinhalten außerdem Peptide, Oligopeptide, Polypeptide, welche natürlich vorkommende, veränderte (glykosylierte, acylierte, prenylierte, phosphorylierte, myristoylierte, sulfatierte etc.) oder nicht-natürlich veränderte Aminosäurereste im Vergleich zu der Aminosäuresequenz einer natürlich vorkommenden Form des Polypeptids umfassen. Ein Derivat kann außerdem eine (n) oder mehrere Nicht-Aminosäure-Substituenten oder -Additionen im Vergleich zu der Aminosäuresequenz, aus der es abgeleitet ist, wie zum Beispiel ein Reportermolekül oder einen anderen Liganden, der kovalent oder nicht-kovalent an die Aminosäuresequenz gebunden ist, wie etwa ein Reportermolekül, das gebunden ist, um dessen Nachweis zu erleichtern, sowie nicht-natürlich vorkommende Aminosäurereste im Vergleich zur Aminosäuresequenz eines natürlich vorkommenden Proteins umfassen. Ferner zählen zu "Derivaten" ebenfalls Fusionen der natürlich vorkommenden Form des Proteins mit Tagging-Peptiden, wie FLAG, HIS6 oder Thioredoxin (für einen Übersichtsartikel über Tagging-Peptide, siehe Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523–533, 2003).

Ortholog(e)/Paralog(e)

[0050] Orthologe und Paraloge umfassen evolutionäre Konzepte, die zur Beschreibung der ancestralen Beziehungen von Genen zur Anwendung kommen. Paraloge sind Gene innerhalb derselben Spezies, welche aus der Duplikation eines ancestralen Gens hervorgegangen sind; Orthologe sind Gene aus unterschiedlichen Organismen, welche durch Speziation hervorgegangen sind, und sind ebenfalls von einem gemeinsamen ancestralen Gen abgeleitet.

Domäne, Motiv/Consensus-Sequenz/Signatur

[0051] Der Begriff "Domäne" bezieht sich auf einen Satz von Aminosäuren, welche an spezifischen Positionen entlang eines Alignments von Sequenzen evolutionär verwandter Proteine konserviert sind. Während Aminosäuren an anderen Positionen zwischen Homologen variieren können, deuten Aminosäuren, welche an spezifischen Positionen hochkonserviert sind, auf Aminosäuren hin, die wahrscheinlich in der Struktur, Stabilität oder Funktion eines Proteins wesentlich sind. Identifiziert durch das hohe Ausmaß ihrer Konservierung in alignierten Sequenzen einer Familie von Proteinhomologen können sie als Identifikatoren verwendet werden, um zu ermitteln, ob ein beliebiges betreffendes Polypeptid einer bereits identifizierten Polypeptidfamilie angehört.

[0052] Der Begriff "Motiv" oder "Consensus-Sequenz" oder "Signatur" bezieht sich auf eine kurze konservierte Region in der Sequenz von evolutionär verwandten Proteinen. Motive sind häufig hochkonservierte Teile von Domänen, aber können ebenfalls lediglich einen Teil der Domäne einschließen oder außerhalb einer konservierten Domäne liegen (wenn alle Aminosäuren des Motives außerhalb einer definierten Domäne liegen).

[0053] Es gibt Spezialdatenbanken für die Identifizierung von Domänen, zum Beispiel SMART (Schultz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5857–5864; Letunic et al. (2002) Nucleic Acids Res 30, 242–244), InterPro (Mulder et al., (2003) Nucl. Acids. Res. 31, 315–318), Prosite (Bucher und Bairoch (1994), A generalized profile syntax for biomolecular sequences motifs and its function in automatic sequence interpretation. (In

ISMB-94; Proceedings 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D., Hrsg., S. 53–61, AAAI Press, Menlo Park; Hulo et al., Nucl. Acids. Res. 32: D134–D137, (2004)), oder Pfam (Bateman et al., Nucleic Acids Research 30(1): 276–280 (2002)). Eine Auswahl an Werkzeugen für die Analyse von Proteinsequenzen in silico ist auf dem ExPASy-Proteomics-Server (Schweizer Institut für Bioinformatik; Gasteiger et al., ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis, Nucleic Acids Res. 31: 3784–3788 (2003)) verfügbar. Domänen oder Motive können auch unter Anwendung von Routinetechniken, wie etwa durch Sequenzalignment, identifiziert werden.

[0054] Verfahren für das Alignment von Sequenzen zum Vergleich sind im Fachgebiet allgemein bekannt, wobei GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA und TFASTA zu derartigen Verfahren zählen. GAP verwendet den Algorithmus von Needleman und Wunsch ((1970) J. Mol. Biol. 48: 443–453) zur Ermittlung des globalen (d. h. die vollständigen Sequenzen überspannenden) Alignments von zwei Sequenzen, welches die Anzahl an Übereinstimmungen maximiert und die Anzahl an Lücken minimiert. Der BLAST-Algorithmus (Altschul et al. (1990) J Mol Biol 215: 403–10) berechnet die prozentuale Sequenzidentität und führt eine statistische Analyse der Ähnlichkeit zwischen den zwei Sequenzen durch. Die Software zum Ausführen der BLAST-Analyse ist über das National Centre for Biotechnology Information (NCBI) öffentlich verfügbar. Homologe können leicht identifiziert werden, indem zum Beispiel der ClustalW-Multiple-Sequenz-Alignment-Algorithmus (Version 1.83) mit den vorgegebenen paarweisen Alignment-Parametern und einer Bewertungsmethode in Prozent angewandt wird. Die globalen Prozentsätze der Ähnlichkeit und Identität können auch unter Anwendung eines der Verfahren ermittelt werden, die im MatGAT-Software-Paket (Campanella et al., BMC Bioinformatics. 10. Juli 2003; 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences) verfügbar sind. Zur Optimierung des Alignments zwischen konservierten Motiven kann eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt werden, wie es dem Fachmann auf dem Gebiet offensichtlich sein wird. Darüber hinaus können, anstatt der Verwendung von Vollängensequenzen zur Identifizierung von Homologen, auch spezifische Domänen verwendet werden. Die Sequenzidentitätswerte können über die gesamte Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenz oder über ausgewählte Domänen oder konservierte(s) Motiv(e) hinweg bestimmt werden, wobei die oben erwähnten Programme unter Anwendung der Standardparameter verwendet werden. Für lokale Alignments ist der Smith-Waterman-Algorithmus besonders nützlich (Smith TF, Waterman MS (1981) J. Mol. Biol 147(1); 195–7).

Reciprocal BLAST

[0055] In der Regel beinhaltet dies einen ersten BLAST, der das BLASTen einer Suchsequenz (zum Beispiel unter Verwendung einer beliebigen der in Tabelle A, F und J des Beispiels aufgeführten Sequenzen) gegen eine beliebige Sequenzdatenbank, wie der öffentlich verfügbaren NCBI-Datenbank, mit sich bringt. Man benutzt im Allgemeinen BLASTN oder TBLASTX (unter Verwendung standardmäßiger Vorgabewerte), wenn von einer Nukleotidsequenz aus begonnen wird, und BLASTP oder TBLASTN (unter Verwendung standardmäßiger Vorgabewerte), wenn von einer Proteinsequenz aus begonnen wird. Die BLAST-Ergebnisse können gegebenenfalls gefiltert werden. Die Vollängensequenzen entweder der gefilterten Ergebnisse oder der nicht-gefilterten Ergebnisse werden dann (zweiter BLAST) gegen Sequenzen aus dem Organismus, aus dem die Abfragesequenz abgeleitet ist, zurückgeBLASTet. Die Ergebnisse der ersten und zweiten BLASTs werden dann verglichen. Ein Paralog wird identifiziert, wenn ein hoch eingestuftter Übereinstimmungstreffer aus dem ersten Blast von derselben Spezies stammt, wie jene, aus der die Abfragesequenz abgeleitet ist, wobei ein zurückgerichteter BLAST danach idealerweise dazu führt, dass die Abfragesequenz zu den höchsten Übereinstimmungstreffern zählt; ein Ortholog wird identifiziert, wenn ein hoch eingestuftter Treffer im ersten BLAST nicht aus derselben Spezies stammt, wie jene, aus der die Abfragesequenz abgeleitet ist, und bei zurückgerichtetem BLAST vorzugsweise dazu führt, dass die Abfragesequenz zu den höchsten Treffern zählt.

[0056] Hoch eingestufte Übereinstimmungstreffer sind diejenigen mit einem niedrigen E-Wert. Je niedriger der E-Wert, umso signifikanter die Wertung (oder in anderen Worten, umso niedriger die Wahrscheinlichkeit, dass der Treffer durch Zufall gefunden wurde). Wie man den E-Wert berechnet, ist im Stand der Technik bekannt. Zusätzlich zu E-Werten werden Vergleiche auch durch den Prozentsatz der Identität bewertet. Der Prozentsatz der Identität bezieht sich auf die Zahl an identischen Nukleotiden (oder Aminosäuren) zwischen den zwei verglichenen Nukleinsäuresequenzen (oder Polypeptidsequenzen) über eine bestimmte Länge hinweg. Im Fall von großen Familien kann ClustalW eingesetzt werden, gefolgt von einem Nachbarkopplungs- bzw. "Neighbour-joining"-Baum, um bei der Visualisierung der Clusterung verwandter Gene zu helfen und Orthologe und Paraloge zu identifizieren.

Hybridisierung

[0057] Der Begriff "Hybridisierung", wie hierin definiert, ist ein Verfahren, in dem im Wesentlichen homologe komplementäre Nukleotidsequenzen sich aneinander anlagern. Das Hybridisierungsverfahren kann vollständig in Lösung stattfinden, d. h. beide komplementären Nukleinsäuren liegen in Lösung vor. Das Hybridisierungsverfahren kann ebenfalls stattfinden, wenn eine der komplementären Nukleinsäuren an eine Matrix, wie magnetische Kügelchen, Sepharose-Kügelchen oder ein beliebiges anderes Harz, immobilisiert ist. Das Hybridisierungsverfahren kann ferner stattfinden, wenn eine der komplementären Nukleinsäuren an einem festen Träger immobilisiert ist, wie etwa einer Nitrozellulose- oder Nylonmembran, oder z. B. durch Photolithographie beispielsweise an einem silikatischen Glasträger immobilisiert ist (wobei man letzteres als Nukleinsäure-Arrays oder Mikroarrays oder als Nukleinsäure-Chips kennt). Um zu ermöglichen, dass eine Hybridisierung stattfindet, werden die Nukleinsäuremoleküle im Allgemeinen thermisch oder chemisch denaturiert, um einen Doppelstrang in zwei Einzelstränge aufzuschmelzen und/oder Haarnadeln oder andere Sekundärstrukturen aus einzelsträngigen Nukleinsäuren zu entfernen.

[0058] Der Begriff "Stringenz" bezieht sich auf die Bedingungen, unter denen eine Hybridisierung stattfindet. Die Stringenz einer Hybridisierung wird von Bedingungen, wie der Temperatur, Salzkonzentration, Ionenstärke und der Hybridisierungspuffer-Zusammensetzung, beeinflusst. Im Allgemeinen werden Niederstringenzbedingungen so gewählt, dass sie um etwa 30°C niedriger als der thermische Schmelzpunkt (T_m) für die spezifische Sequenz bei einer definierten Ionenstärke und einem definierten pH-Wert sind. Mittlere Stringenzbedingungen liegen vor, wenn die Temperatur 20°C unterhalb von T_m liegt, und Hochstringenzbedingungen liegen vor, wenn die Temperatur 10°C unterhalb von T_m liegt. Hochstringenz-Hybridisierungsbedingungen werden in der Regel zum Isolieren von hybridisierenden Sequenzen angewandt, die eine hohe Sequenzähnlichkeit zur Ziel-Nukleinsäuresequenz aufweisen. Allerdings können Nukleinsäuren hinsichtlich der Sequenz abweichen und aufgrund der Degeneriertheit des genetischen Codes immer noch ein im Wesentlichen identisches Polypeptid codieren. Deshalb können manchmal mittelstringente Hybridisierungsbedingungen erforderlich sein, um derartige Nukleinsäuremoleküle zu identifizieren.

[0059] Der T_m ist die Temperatur bei definierter Ionenstärke und definiertem pH-Wert, bei welcher 50% der Zielsequenz an eine perfekt passende Sonde hybridisieren. Der T_m ist von den Lösungsbedingungen und der Basenzusammensetzung sowie der Länge der Sonde abhängig. Zum Beispiel hybridisieren längere Sequenzen spezifisch bei höheren Temperaturen. Die maximale Rate der Hybridisierung wird bei etwa 16°C bis 32°C unter dem T_m erhalten. Das Vorhandensein von einwertigen Kationen in der Hybridisierungslösung verringert die elektrostatische Abstoßung zwischen den zwei Nukleinsäure-Strängen, wodurch die Hybridbildung gefördert wird; dieser Effekt ist für Natriumkonzentrationen von bis zu 0,4 M sichtbar (für höhere Konzentrationen kann dieser Effekt vernachlässigt werden). Formamid senkt die Schmelztemperatur von DNA-DNA- und DNA-RNA-Doppelsträngen um 0,6 bis 0,7°C für jedes Prozent an Formamid, und die Zugabe von 50% Formamid gestattet, dass die Hybridisierung bei 30 bis 45°C durchgeführt werden kann, obwohl die Rate der Hybridisierung vermindert wird. Basenpaar-Fehlpaarungen verringern die Hybridisierungsrate und die thermische Stabilität der Doppelstränge. Im Durchschnitt, und für große Sonden, sinkt der T_m um etwa 1°C je Prozent an Basenfehlpaarung. Der T_m kann mit Hilfe der folgenden Gleichungen, abhängig von den Typen der Hybride, berechnet werden:

1) DNA-DNA-Hybride (Meinkoth und Wahl, Anal. Biochem., 138: 267–284, 1984):

$$T_m = 81,5^\circ\text{C} + 16,6 \times \log_{10}[\text{Na}^+]^a + 0,41 \times \%[\text{G}/\text{C}^b] - 500 \times [\text{L}^c]^{-1} - 0,61 \times \% \text{Formamid}$$

2) DNA-RNA- oder RNA-RNA-Hybride:

$$T_m = 79,8^\circ\text{C} + 18,5(\log_{10}[\text{Na}^+]^a) + 0,58(\% \text{G}/\text{C}^b) + 11,8(\% \text{G}/\text{C}^b)^2 - 820/\text{L}^c$$

3) Oligo-DNA- oder Oligo-RNA^d-Hybride:

Für < 20 Nukleotid e:

$$T_m = 2 (I_n)$$

Für 20–35 Nukleotide:

$$T_m = 22 + 1,46 (I_n)$$

- a oder für ein sonstiges einwertiges Kation, aber nur exakt im Bereich von 0,01–0,4 M.
- b nur exakt für %GC im Bereich von 30% bis 75%.
- c L = Länge des Duplex in Basenpaaren.
- d Oligo, Oligonukleotid; I_n = effektive Länge des Primers = $2 \times (\text{Anz. v. G/C}) + (\text{Anz. v. A/T})$.

[0060] Nicht-spezifische Bindung kann unter Anwendung einer von vielen bekannten Techniken reguliert werden, wie zum Beispiel Blockieren der Membran mit proteinhaltigen Lösungen, Zusetzungen von heterologer RNA, DNA und SDS zum Hybridisierungspuffer und Behandlung mit Rnase. Für nicht-homologe Sonden kann eine Serie von Hybridisierungen durchgeführt werden mittels Variieren von (i) progressivem Senken der Annealing-Temperatur (zum Beispiel von 68°C auf 42°C) oder (ii) progressivem Senken der Formamidkonzentration (zum Beispiel von 50% auf 0%). Der Fachmann auf dem Gebiet kennt verschiedene Parameter, welche während einer Hybridisierung verändert werden können und welche die Stringenzbedingungen entweder aufrechterhalten oder verändern.

[0061] Neben den Hybridisierungsbedingungen hängt die Spezifität der Hybridisierung in der Regel auch von der Funktion von Nach-Hybridisierungs-Waschschritten ab. Um den aus nicht-spezifischer Hybridisierung resultierenden Hintergrund zu entfernen, werden Proben mit verdünnten Salzlösungen gewaschen. Zu den kritischen Faktoren bei derartigen Waschschritten zählen die Ionenstärke und Temperatur der letztendlichen Waschlösung: je niedriger die Salzkonzentration und je höher die Waschttemperatur, umso höher ist die Stringenz des Waschschritts. Die Waschbedingungen werden typischerweise bei oder unter der Hybridisierungsstringenz durchgeführt. Eine positive Hybridisierung ergibt ein Signal, welches mindestens das Zweifache von demjenigen des Hintergrundes ist. Im Allgemeinen sind geeignete Stringenzbedingungen für Nukleinsäure-Hybridisierungsassays oder Genamplifikations-Nachweisverfahren wie oben angegeben beschaffen. Auch können mehr oder weniger stringente Bedingungen gewählt werden. Der Fachmann auf dem Gebiet kennt verschiedene Parameter, welche während des Waschens abgeändert werden können und welche die Stringenzbedingungen entweder aufrechterhalten oder verändern.

[0062] Zum Beispiel umfassen typische Hochstringenz-Hybridisierungsbedingungen für DNA-Hybride, die länger als 50 Nukleotide sind, die Hybridisierung bei 65°C in 1 × SSC oder bei 42°C in 1 × SSC und 50% Formamid, gefolgt von Waschen bei 65°C in 0,3 × SSC. Beispiele für Mittelstringenz-Hybridisierungsbedingungen für DNA-Hybride, die länger als 50 Nukleotide sind, umfassen Hybridisierung bei 50°C in 4 × SSC oder bei 40°C in 6 × SSC und 50% Formamid, gefolgt von Waschen bei 50°C in 2 × SSC. Die Länge des Hybrids ist die vorhergesehene Länge für die hybridisierende Nukleinsäure. Wenn Nukleinsäuren von bekannter Sequenz hybridisiert werden, kann die Hybridlänge bestimmt werden durch Alignieren der Sequenzen und Identifizieren der hierin beschriebenen konservierten Regionen. 1 × SSC steht für 0,15 M NaCl und 15 mM Natriumcitrat; die Hybridisierungslösung und Waschlösungen können zusätzlich 5 × Denhardt-Reagens, 0,5–1,0% SDS, 100 µg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA, 0,5% Natriumpyrophosphat enthalten.

[0063] Für die Zwecke des Definierens der Höhe der Stringenz kann auf Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: a laboratory manual, 3. Ausgabe, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, New York oder auf Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989 und jährliche Aktualisierungen) Bezug genommen werden.

Spleißvariante

[0064] Der Begriff "Spleißvariante", wie hierin verwendet, umfasst Varianten einer Nukleinsäuresequenz, in welchen ausgewählte Introns und/oder Exons herausgeschnitten, ersetzt, verschoben oder hinzugefügt worden sind oder in welchen Introns verkürzt oder verlängert worden sind. Derartige Varianten werden solche sein, in denen die biologische Aktivität des Proteins im Wesentlichen erhalten bleibt; dies kann durch selektives Beibehalten von funktionellen Segmenten des Proteins bewirkt werden. Derartige Spleißvarianten können in der Natur vorgefunden werden oder vom Menschen erzeugt sein. Verfahren zum Vorhersagen und Isolieren derartiger Spleißvarianten sind auf dem Fachgebiet allgemein bekannt (siehe zum Beispiel Foissac und Schiex (2005) BMC Bioinformatics 6: 25).

Allelvariante

[0065] Allele oder Allelvarianten sind alternative Formen eines gegebenen Gens, welche an der gleichen chromosomalen Position lokalisiert sind. Allelvarianten umfassen Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) sowie "kleine Insertions/Deletions-Polymorphismen" (INDELs). Die Größe von INDELs beträgt in der Regel weniger

als 100 Bp. SNPs und INDELS bilden die größte Gruppe von Sequenzvarianten in natürlich vorkommenden polymorphen Stämmen der meisten Organismen.

Endogenes Gen

[0066] Die Bezugnahme hierin auf ein "endogenes" Gen bezieht sich nicht nur auf das betreffende Gen, wie es in einer Pflanze in seiner natürlichen Form (d. h. ohne dass irgendein menschlicher Eingriff stattgefunden hat) vorgefunden wird, sondern bezieht sich außerdem auf das gleiche Gen (oder ein(e) im Wesentlichen homologe (s) Nukleinsäure/Gen) in einer isolierten Form, welches anschließend in eine Pflanze (wieder)eingeführt wird (ein Transgen). Zum Beispiel kann eine transgene Pflanze, die ein derartiges Transgen enthält, eine erhebliche Reduktion der Transgen-Expression und/oder eine erhebliche Reduktion der Expression des endogenen Gens erfahren. Das isolierte Gen kann aus einem Organismus isoliert werden oder vom Menschen, zum Beispiel durch chemische Synthese, erzeugt werden.

[0067] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kann der Ausdruck "isolierte Nukleinsäure" oder "isoliertes Polypeptid" in einigen Fällen als Synonym für eine "rekombinante Nukleinsäure" bzw. ein "rekombinantes Polypeptid" angesehen werden und sich auf eine Nukleinsäure bzw. ein Polypeptid beziehen, die bzw. das sich nicht in ihrer/seiner natürlichen genetischen Umgebung befindet und/oder die bzw. das durch rekombinante Methoden modifiziert wurde.

Gen-Shuffling/gerichtete Evolution

[0068] Gen-Shuffling oder gerichtete Evolution besteht aus Iterationen des DNA-Shuffling, gefolgt von einem geeigneten Screening und/oder Selektieren, um Varianten von Nukleinsäuren oder Abschnitten davon zu erzeugen, welche Proteine mit einer modifizierten biologischen Aktivität codieren (Castle et al., (2004) Science 304(5674): 1151-4; U.S.-Patente 5 811 238 und 6 395 547).

Konstrukt

[0069] Zusätzliche Steuerungselemente können Transkriptions- sowie Translationsverstärker einschließen. Dem Fachmann werden für eine Verwendung bei der Durchführung der Erfindung geeignete Terminator- und Verstärkersequenzen bekannt sein. Zur Erhöhung der Menge an reifer Nachricht, die sich im Zytosol anreichert, kann man in der 5'-untranslatierten Region (UTR) oder in der Codierungssequenz außerdem eine Intronsequenz einfügen, wie im Definitionsabschnitt beschrieben. Bei anderen Steuerungssequenzen (neben Promotor, Verstärker, Silencer, Intronsequenzen, 3'UTR- und/oder 5'UTR-Regionen) kann es sich um Protein- und/oder RNA-stabilisierende Elemente handeln. Solche Sequenzen sollten dem Fachmann bekannt sein oder sollten sich von diesem leicht in Erfahrung bringen lassen.

[0070] Die genetischen Konstrukte der Erfindung können ferner eine Replikationsursprung-Sequenz enthalten, welche für die Beibehaltung und/oder Replikation in einem spezifischen Zelltyp erfordert wird. Ein Beispiel besteht in dem Fall, dass ein genetisches Konstrukt in einer Bakterienzelle als ein episomales genetisches Element (z. B. Plasmid- oder Cosmid-Molekül) gehalten werden muss. Bevorzugte Replikationsursprünge schließen, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, den f1-ori und colE1 ein.

[0071] Für den Nachweis des erfolgreichen Transfers der Nukleinsäuresequenzen, wie in den Verfahren der Erfindung verwendet, und/oder die Selektion von transgenen Pflanzen, welche diese Nukleinsäuren umfassen, ist es vorteilhaft, Markergene (oder Reportergene) zu verwenden. Deshalb kann das genetische Konstrukt gegebenenfalls ein selektierbares Markergen umfassen. Selektierbare Marker sind hierin im Abschnitt "Definitionen" ausführlicher beschrieben. Die Markergene können aus der transgenen Zelle entfernt oder herausgeschnitten werden, sobald sie nicht länger benötigt werden. Techniken zur Markerentfernung sind auf dem Fachgebiet bekannt, wobei nützliche Techniken oben im Abschnitt "Definitionen" beschrieben sind.

Regulatorisches Element/Steuerungssequenz/Promotor

[0072] Die Begriffe "regulatorisches Element", "Steuerungssequenz" und "Promotor" werden hierin alle austauschbar verwendet und beziehen sich, wobei sie in einem weiten Kontext zu verstehen sind, auf regulatorische Nukleinsäuresequenzen, die zum Bewirken der Expression der Sequenzen in der Lage sind, an welche sie ligiert sind. Der Begriff "Promotor" bezieht sich typischerweise auf eine Nukleinsäure-Steuerungssequenz, welche sich stromaufwärts vom transkriptionellen Start eines Gens befindet und welche an der Erkennung und Bindung von RNA-Polymerase und anderen Proteinen beteiligt ist, wodurch die Transkription einer funk-

tionsfähig verbundenen Nukleinsäure gesteuert wird. Bei den zuvor erwähnten Begriffen sind transkriptionelle regulatorische Sequenzen eingeschlossen, die aus einem klassischen eukaryontischen genomischen Gen abgeleitet sind (einschließend die TATA-Box, welche für eine exakte Transkriptionsinitiation erforderlich ist, mit einer CCAAT-Box-Sequenz oder ohne), sowie weitere regulatorische Elemente (d. h. "Upstream-aktivierende Sequenzen", "Enhancer" und "Silencer"), welche die Genexpression als Reaktion auf entwicklungsmäßige und/oder externe Stimuli oder in einer gewebespezifischen Weise verändern. Ebenfalls im Begriff eingeschlossen ist eine transkriptionelle regulatorische Sequenz eines klassischen prokaryontischen Gens, wobei er in diesem Fall eine -35-Box-Sequenz und/oder transkriptionsregulierende -10-Box-Sequenzen einschließen kann. Der Begriff "regulatorisches Element" beinhaltet außerdem ein synthetisches Fusionsmolekül oder Derivat, welches die Expression eines Nukleinsäuremoleküls in einer Zelle, einem Gewebe oder einem Organ herbeiführt, aktiviert oder steigert.

[0073] Ein "Pflanzenpromotor" umfasst regulatorische Elemente, welche die Expression eines codierenden Sequenzsegments in Pflanzenzellen vermitteln. Folglich muss ein Pflanzenpromotor nicht von pflanzlichem Ursprung sein, sondern kann aus Viren oder Mikroorganismen stammen, beispielsweise aus Viren, welche Pflanzenzellen angreifen. Der "Pflanzenpromotor" kann auch aus einer Pflanzenzelle stammen, z. B. aus der Pflanze, welche mit der Nukleinsäuresequenz transformiert wird, die im erfindungsgemäßen Verfahren exprimiert werden soll und hierin beschrieben ist. Dies gilt auch für andere regulatorische "Pflanzen"-Signale, wie etwa "pflanzliche" Terminatoren. Die Promotoren stromaufwärts der Nukleotidsequenzen, welche in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlich sind, können durch eine oder mehrere Nukleotidsubstitution(en), -insertion(en) und/oder -deletion(en) modifiziert sein, ohne die Funktionalität oder Aktivität von entweder den Promotoren, dem offenen Leserahmen (ORF) oder der 3'-regulatorischen Region, wie Terminatoren oder sonstigen 3'-regulatorischen Regionen, welche sich entfernt vom ORF befinden, zu stören. Es ist weiterhin möglich, dass die Aktivität der Promotoren durch die Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist oder dass sie vollständig durch aktivere Promotoren ersetzt sind, selbst Promotoren aus heterologen Organismen. Für die Expression in Pflanzen muss das Nukleinsäuremolekül, wie oben beschrieben, funktionsfähig mit einem geeigneten Promotor verbunden sein oder diesen umfassen, welcher das Gen zum richtigen Zeitpunkt und mit dem erforderlichen räumlichen Expressionsmuster exprimiert.

[0074] Für die Identifizierung von funktionell äquivalenten Promotoren können die Promotorstärke und/oder das Expressionsmuster eines Kandidaten-Promotors analysiert werden, zum Beispiel durch funktionsfähiges Verknüpfen des Promotors mit einem Reportergen und Testen des Expressionsspiegels und -musters des Reportergens in verschiedenen Geweben der Pflanze. Zu geeigneten, allgemein bekannten Reportergenen zählen zum Beispiel Beta-Glucuronidase oder Beta-Galactosidase. Die Promotoraktivität wird durch Messen der enzymatischen Aktivität der Beta-Glucuronidase oder Beta-Galactosidase getestet. Die Promotorstärke und/oder das Expressionsmuster können dann mit denjenigen eines Referenzpromotors verglichen werden (wie etwa jenem, der in den Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet wird). Alternativ kann die Promotorstärke durch Quantifizieren von mRNA-Konzentrationen oder durch Vergleich von mRNA-Konzentrationen der in den Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendeten Nukleinsäure mit mRNA-Konzentrationen von Haushaltsgenen, wie etwa 18S-rRNA, untersucht werden, wobei im Fachgebiet bekannte Verfahren, wie Northern-Blotting mit densitometrischer Analyse von Autoradiogrammen, quantitative Echtzeit-PCR oder RT-PCR (Heid et al., 1996 Genome Methods 6: 986–994) zur Anwendung kommen. Mit "schwacher Promotor" wird im Allgemeinen ein Promotor bezeichnet, der die Expression einer codierenden Sequenz auf einem geringen Niveau antreibt. Mit "geringes Niveau" sind Niveaus von etwa 1/10000 Transkripten bis etwa 1/100000 Transkripten bis etwa 1/5000000 Transkripten pro Zelle gemeint. Demgegenüber treibt ein "starker Promotor" die Expression einer codierenden Sequenz bei einem hohen Niveau oder bei etwa 1/10 Transkripten bis etwa 1/100 Transkripten bis etwa 1/1000 Transkripten pro Zelle an. Mit "mittelstarker Promotor" ist im Allgemeinen ein Promotor gemeint, der die Expression einer codierenden Sequenz bei einem niedrigeren Niveau als ein starker Promotor antreibt, insbesondere bei einem Niveau, welches in allen Fällen unterhalb von demjenigen liegt, der unter der Steuerung eines 35S-CaMV-Promotors erhalten wird.

Funktionsfähig verbunden

[0075] Der Begriff "funktionsfähig verbunden", wie hierin verwendet, bezieht sich auf eine funktionale Verknüpfung zwischen der Promotorsequenz und dem Gen von Interesse, so dass die Promotorsequenz in der Lage ist, die Transkription des Gens von Interesse zu initiieren.

Konstitutiver Promotor

[0076] Ein "konstitutiver Promotor" bezieht sich auf einen Promotor, der während der meisten, aber nicht notwendigerweise allen, Phasen des Wachstums und der Entwicklung, sowie unter den meisten Umweltbedingungen, in mindestens einer/einem Zelle, Gewebe oder Organ transkriptionell aktiv ist. Die nachstehende Tabelle 2a gibt Beispiele für konstitutive Promotoren an.

Tabelle 2a: Beispiele für konstitutive Promotoren

Genquelle	Literaturstelle
Aktin	McElroy et al., Plant Cell, 2: 163–171, 1990
HMGP	WO 2004/070039
CAMV 35S	Odell et al., Nature, 313: 810–812, 1985
CaMV 19S	Nilsson et al., Physiol. Plant. 100: 456–462, 1997
GOS2	de Pater et al., Plant J. Nov.; 2(6): 837–44, 1992, WO 2004/065596
Ubiquitin	Christensen et al., Plant Mol. Biol. 18: 675–689, 1992
Reis-Cyclophilin	Buchholz et al., Plant Mol. Biol. 25(5): 837–43, 1994
Mais-H3-Histon	Lepetit et al., Mol. Gen. Genet. 231: 276–285, 1992
Luzerne-H3-Histon	Wu et al. (Plant Mol. Biol. 11: 641–649, 1988
Aktin 2	An et al., Plant J. 10(1); 107–121, 1996
34S FMV	Sanger et al., Plant Mol. Biol., 14, 1990: 433–443
kleine Rubisco-Untereinheit	US 4,962,028
OCS	Leisner (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85(5): 2553.
SAD1	Jain et al., Crop Science, 39 (6), 1999: 1696.
SAD2	Jain et al., Crop Science, 39 (6), 1999: 1696.
nos	Shaw et al. (1984) Nucleic Acids Res. 12(20): 7831–7846
V-ATPase	WO 01/14572
Super-Promotor	WO 95/14098
G-Box-Proteine	WO 94/12015

Ubiquitärer Promotor

[0077] Ein ubiquitärer Promotor ist in im Wesentlichen allen Geweben oder Zellen eines Organismus aktiv.

Entwicklungsmäßig regulierter Promotor

[0078] Ein entwicklungsmäßig regulierter Promotor ist während bestimmter Entwicklungsstadien oder in Teilen der Pflanze, die entwicklungsbedingten Änderungen unterliegen, aktiv.

Induzierbarer Promotor

[0079] Ein induzierbarer Promotor zeigt induzierte oder erhöhte Transkriptionsinitiation als Reaktion auf eine Chemikalie (ein Übersichtsartikel findet sich bei Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. (Plant Mol. Biol., 48: 89–108), einen umweltmäßigen oder physikalischen Stimulus, oder kann "stressinduzierbar" sein, d. h. aktiviert werden, wenn eine Pflanze verschiedenen Stressbedingungen ausgesetzt wird, oder "pathogeninduzierbar" sein, d. h. aktiviert werden, wenn eine Pflanze der Exposition an verschiedene Pathogene ausgesetzt wird.

Organspezifischer/gewebespezifischer Promotor

[0080] Ein organspezifischer oder gewebespezifischer Promotor ist ein solcher, der fähig ist, die Transkription in bestimmten Organen oder Geweben präferentiell zu initiieren, wie etwa Blättern, Wurzeln, Samengew-

be etc. Zum Beispiel ist ein "wurzel-spezifischer Promotor" ein Promotor, der vorwiegend in Pflanzenwurzeln transkriptionell aktiv ist, im Wesentlichen unter Ausschluss beliebiger sonstiger Teile einer Pflanze, obgleich noch eine beliebige Leckexpression in diesen sonstigen Pflanzenteilen zugelassen wird. Promotoren, die zum Initiieren der Transkription nur in bestimmten Zellen fähig sind, werden hierin als "zellspezifisch" bezeichnet.

[0081] Beispiele für wurzel-spezifische Promotoren sind in der nachstehenden Tabelle 2b aufgeführt:

Tabelle 2b: Beispiele für wurzel-spezifische Promotoren

Genquelle	Literaturstelle
RCc3	Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237–48
Arabidopsis PHT1	Koyama et al. J Biosci Bioeng. 2005 Jan; 99(1): 38–42 Mudge et al. (2002, Plant J. 31: 341)
Medicago-Phosphat-Transporter	Xiao et al., 2006, Plant Biol (Stuttg). 2006 Jul; 8(4): 439–49
Arabidopsis Pyk10	Nitz et al. (2001) Plant Sci. 161(2): 337–346
wurzelexprimierbare Gene	Tingey et al., EMBO J. 6: 1, 1987.
Tabakauxin-induzierbares Gen	Van der Zaal et al., Plant Mol. Biol. 16, 983, 1991.
β-Tubulin	Oppenheimer et al., Gene 63: 87, 1988.
tabakwurzelspezifische Gene	Conkling et al., Plant Physiol. 93: 1203, 1990.
B. napus G1-3b-Gen	US-Patent Nr. 5 401 836
SbPRP1	Suzuki et al., Plant Mol. Biol. 21: 109–119, 1993.
LRX1	Baumberger et al. 2001, Genes & Dev. 15: 1128
BTG-26 Brassica napus	US 20,050,044,585
LeAMT1 (Tomate)	Lauter et al. (1996, PNAS 3: 8139)
LeNRT1-1 (Tomate)	Lauter et al. (1996, PNAS 3: 8139)
Klasse I Patatin-Gen (Kartoffel)	Liu et al., Plant Mol. Biol. 17(6): 1139–1154
KDC1 (Daucus carota)	Downey et al. (2000, J. Biol. Chem. 275: 39420)
TobRB7-Gen	W. Song (1997) Doktorarbeit, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA
OsRAB5a (Reis)	Wang et al. 2002, Plant Sci. 163: 273
ALF5 (Arabidopsis)	Diener et al. (2001, Plant Cell 13: 1625)
NRT2; 1Np (N. plumbaginifolia)	Quesada et al. (1997, Plant Mol. Biol. 34: 265)

[0082] Ein samenspezifischer Promotor ist hauptsächlich in Samengewebe transkriptionell aktiv, jedoch nicht notwendigerweise ausschließlich in Samengewebe (in Fällen von Leckexpression). Der samenspezifische Promotor kann während der Samenentwicklung und/oder während der Keimung aktiv sein. Der samenspezifische Promotor kann Endosperm/Aleuron/Embryo-spezifisch sein. Beispiele samenspezifischer Promotoren (Endosperm/Aleuron/Embryo-spezifisch) sind in Tabelle 2c bis Tabelle 2f nachstehend gezeigt. Weitere Beispiele samenspezifischer Promotoren sind in Qing Qu und Takaiwa (Plant Biotechnol. J. 2, 113–125, 2004) beschrieben, deren Offenbarung hierin durch den Bezug darauf einbezogen ist, als ob sie vollständig dargestellt wäre.

Tabelle 2c: Beispiele für samenspezifische Promotoren

Genquelle	Literaturstelle
samenspezifische Gene	Simon et al., Plant Mol. Biol. 5: 191, 1985;
	Scotfield et al., J. Biol. Chem. 262: 12202, 1987.;
	Baszczynski et al., Plant Mol. Biol. 14: 633, 1990.
Paranuss-Albumin	Pearson et al., Plant Mol. Biol. 18: 235–245, 1992.

Legumin	Ellis et al., Plant Mol. Biol. 10: 203–214, 1988.
Glutelin (Reis)	Takaiwa et al., Mol. Gen. Genet. 208: 15–22, 1986;
	Takaiwa et al., FEBS Letts. 221: 43–47, 1987.
Zein	Matzke et al., Plant Mol. Biol., 14(3): 323–32 1990
napA	Stalberg et al., Planta 199: 515–519, 1996.
Weizen LMW- und HMW-Glutenin-1	Mol. Gen. Genet. 216: 81–90, 1989; NAR 17: 461–2, 1989
Weizen SPA	Albani et al., Plant Cell, 9: 171–184, 1997
Weizen, α , β , γ -Gliadine	EMBO J. 3: 1409–15, 1984
Gerste Itr1-Promotor	Diaz et al. (1995) Mol. Gen. Genet. 248(5): 592–8
Gerste B1, C, D, Hordein	Theor. Appl. Gen. 98: 1253–62, 1999; Plant J. 4: 343–55, 1993; Mol. Gen. Genet. 250: 750–60, 1996
Gerste DOF	Mena et al., The Plant Journal, 116(1): 53–62, 1998
blz2	EP99106056.7
synthetischer Promotor	Vicente-Carbajosa et al., Plant J. 13: 629–640, 1998.
Reis Prolamin NRP33	Wu et al., Plant Cell Physiology 39(8) 885–889, 1998
Reis α -Globulin Glb-1	Wu et al., Plant Cell Physiology 39(8) 885–889, 1998
Reis OSH1	Sato et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117–8122, 1996
Reis α -Globulin REB/OHP-1	Nakase et al. (Plant Mol. Biol. 33: 513–522, 1997
Reis ADP-Glucose-Pyrophosphorylase	Trans. Res. 6: 157–68, 1997
Mais ESR-Genfamilie	Plant J. 12: 235–46, 1997
Sorghum α -Kafirin	DeRose et al., Plant Mol. Biol 32: 1029–35, 1996
KNOX	Postma-Haarsma et al., Plant Mol. Biol. 39: 257–71, 1999
Reis-Oleosin	Wu et al, J. Biochem. 123: 386, 1998
Sonnenblumen-Oleosin	Cummins et al., Plant Mol. Biol. 19: 873–876, 1992
PRO0117, putatives Reis 40S-ribosomales Protein	WO 2004/070039
PRO0136, Reis Alanin-Aminotransferase	unveröffentlicht
PR00147, Trypsininhibitor ITR1 (Gerste)	unveröffentlicht
PRO0151, Reis WSI18	WO 2004/070039
PRO0175, Reis RAB21	WO 2004/070039
PRO005	WO 2004/070039
PRO0095	WO 2004/070039
α -Amylase (Amy32b)	Lanahan et al., Plant Cell 4: 203–211, 1992; Skriver et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7266–7270, 1991
Cathepsin β -ähnliches Gen	Cejudo et al., Plant Mol. Biol. 20: 849-856, 1992
Gerste Ltp2	Kalla et al., Plant J. 6: 849–60, 1994
Chi26	Leah et al., Plant J. 4: 579–89, 1994
Mais B-Peru	Selinger et al., Genetics 149; 1125–38, 1998

Tabelle 2d: Beispiele für endospermspezifische Promotoren

Genquelle	Literaturstelle
Glutelin (Reis)	Takaiwa et al., (1986) Mol. Gen. Genet. 208: 15–22 Takaiwa et al. (1987) FEBS Letts. 221: 43–47
Zein	Matzke et al., (1990) Plant Mol. Biol. 14(3): 323–32
Weizen LMW- und HMW-Glutelin-1	Colot et al. (1989) Mol. Gen. Genet. 216: 81–90 Anderson et al. (1989) NAR 17: 461–2
Weizen SPA	Albani et al. (1997) Plant Cell 9: 171–184
Weizen Gliadine	Rafalski et al. (1984) EMBO 3: 1409–15
Gerste Itr1-Promotor	Diaz et al. (1995) Mol. Gen. Genet. 248(5): 592–8
Gerste B1, C, D, Hordein	Cho et al. (1999) Theor. Appl. Genet. 98: 1253–62; Muller et al. (1993) Plant J. 4: 343–55; Sorenson et al. (1996) Mol. Gen. Genet. 250: 750–60
Gerste DOF	Mena et al., (1998) Plant J. 116(1): 53–62
blz2	Onate et al. (1999) J. Biol. Chem. 274(14): 9175–82
synthetischer Promotor	Vicente-Carbajosa et al. (1998) Plant J. 13: 629–640
Reis Prolamin NRP33	Wu et al., (1998) Plant Cell Physiol. 39(8) 885–889
Reis Globulin Glb-1	Wu et al. (1998) Plant Cell Physiol. 39(8) 885–889
Reis Globulin REB/OHP-1	Nakase et al. (1997) Plant Mol. Biol. 33: 513–522
Reis ADP-Glucose-Pyrophosphorylase	Russell et al. (1997) Trans. Res. 6: 157–68
Mais ESR-Genfamilie	Opsahl-Ferstad et al. (1997) Plant J. 12: 235–46
Sorghum Kafirin	DeRose et al. (1996) Plant Mol. Biol. 32: 1029–35

Tabelle 2e: Beispiele für embryosezifische Promotoren:

Genquelle	Literaturstelle
Reis OSH1	Sato et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117–8122, 1996
KNOX	Postma-Haarsma et al., Plant Mol. Biol. 39: 257–71, 1999
PRO0151	WO 2004/070039
PRO0175	WO 2004/070039
PRO005	WO 2004/070039
PRO0095	WO 2004/070039

Tabelle 2f: Beispiele für aleuronspezifische Promotoren:

Genquelle	Literaturstelle
α -Amylase (Amy32b)	Lanahan et al., Plant Cell 4: 203–211, 1992; Skriver et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7266–7270, 1991
Cathepsin β -ähnliches Gen	Cejudo et al., Plant Mol. Biol. 20: 849–856, 1992
Gerste Ltp2	Kalla et al., Plant J. 6: 849–60, 1994
Chi26	Leah et al., Plant J. 4: 579–89, 1994
Mais B-Peru	Selinger et al., Genetics 149: 1125–38, 1998

[0083] Ein für grünes Gewebe spezifischer Promotor, wie hierin definiert, ist ein Promotor, der vorwiegend in grünem Gewebe transkriptionell aktiv ist, im Wesentlichen unter Ausschluss beliebiger sonstiger Teile einer Pflanze, obgleich noch eine beliebige Leckexpression in diesen sonstigen Pflanzenteilen zugelassen wird.

[0084] Beispiele für für grünes Gewebe spezifische Promotoren, welche zur Ausführung der Verfahren der Erfindung verwendet werden können, sind in der nachstehenden Tabelle 2g gezeigt.

Tabelle 2: Beispiele für für grünes Gewebe spezifische Promotoren

Gen	Expression	Literaturstelle
Mais, Orthophosphat-Dikinase	blattspezifisch	Fukavama et al., Plant Physiol. 2001 Nov; 127(3): 1136–46
Mais, Phosphoenolpyruvat-Carboxylase	blattspezifisch	Kausch et al., Plant Mol Biol. 2001 Jan; 45(1): 1–15
Reis, Phosphoenolpyruvat-Carboxylase	blattspezifisch	Lin et al., 2004 DNA Seq. 2004 Aug; 15 (4): 269–76
Reis, kleine Rubisco-Untereinheit	blattspezifisch	Nomura et al., Plant Mol Biol. 2000 Sep; 44(1): 99–106
Reis, beta-Expansin EXBP9	sprossspezifisch	WO 2004/070039
Straucherbse, kleine Rubisco-Untereinheit	blattspezifisch	Panguluri et al., Indian J Exp Biol. 2005 Apr; 43(4): 369–72
Erbse RBCS3A	blattspezifisch	

[0085] Ein weiteres Beispiel eines gewebespezifischen Promotors ist ein meristemspezifischer Promotor, der vorwiegend in meristematischem Gewebe transkriptionell aktiv ist, im Wesentlichen unter Ausschluss beliebiger sonstiger Teile einer Pflanze, obgleich noch eine gewisse Leckexpression in diesen sonstigen Pflanzenteilen zugelassen wird. Beispiele für für grünes Meristem spezifische Promotoren, welche zur Ausführung der Verfahren der Erfindung verwendet werden können, sind in der nachstehenden Tabelle 2h gezeigt.

Tabelle 2h: Beispiele für meristemspezifische Promotoren

Genquelle	Expressionsmuster	Literaturstelle
Reis OSH1	Spross-Apikalmeristem, vom globulären Embryostadium bis zum Setzlingsstadium	Sato et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117–8122
Reis Metallothionein	meristemspezifisch	BAD87835.1
WAK1 & WAK2	Spross- und Wurzel-expandierenden Blättern und Kelchblättern	Wagner & Kohorn (2001) Plant Cell Apikalmeristeme, und in 13(2): 303–318

Terminator

[0086] Der Begriff "Terminator" beinhaltet eine Steuerungssequenz, welche eine DNA-Sequenz am Ende einer Transkriptionseinheit ist, welche die 3'-Prozessierung und Polyadenylierung eines Primärtranskripts und die Termination der Transkription signalisiert. Der Terminator kann aus dem natürlichen Gen, aus einer Vielzahl anderer Pflanzengene oder aus T-DNA abgeleitet sein. Der hinzuzufügende Terminator kann zum Beispiel aus den Nopalinn-Synthase- oder Octopinn-Synthase-Genen oder alternativ aus einem anderen Pflanzengen oder, weniger bevorzugt, aus einem beliebigen anderen eukaryontischen Gen abgeleitet sein.

Selektierbares Marker(gen)/Reportergen

[0087] Unter "selektierbarer Marker", "selektierbares Markergen" oder "Reportergen" ist ein beliebiges Gen eingeschlossen, welches einer Zelle, in der es exprimiert wird, einen Phänotyp verleiht, so dass die Identifizierung und/oder Selektion von Zellen erleichtert wird, die mit einem Nukleinsäurekonstrukt der Erfindung transfiziert oder transformiert sind. Diese Markergene ermöglichen die Identifizierung eines erfolgreichen Transfers der Nukleinsäuremoleküle durch eine Reihe unterschiedlicher Prinzipien. Geeignete Marker können aus Mar-

kern ausgewählt werden, welche Antibiotikum- oder Herbizid-Resistenz vermitteln, welche eine neue metabolische Eigenschaft einbringen oder welche eine visuelle Selektion zulassen. Zu Beispielen von selektierbaren Markergenen zählen Gene, die Resistenz gegen Antibiotika (wie etwa nptII, das Neomycin und Kanamycin phosphoryliert, oder hpt, das Hygromycin phosphoryliert, oder Gene, welche Resistenz zum Beispiel gegen Bleomycin, Streptomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Ampicillin, Gentamycin, Geneticin (G418), Spectinomycin oder Blasticidin vermitteln) sowie gegen Herbizide vermitteln (zum Beispiel bar, das Resistenz gegen Basta® vermittelt; aroA oder gox, welche Resistenz gegen Glyphosat vermitteln, oder die Gene, welche zum Beispiel Resistenz gegen Imidazolinon, Phosphinothricin oder Sulfonylharnstoff vermitteln), oder Gene, die ein metabolisches Merkmal bereitstellen (wie etwa manA, das Pflanzen gestattet, Mannose als einzige Kohlenstoffquelle zu verwenden, oder Xylose-Isomerase für die Verwertung von Xylose, oder antinutritive Marker, wie die Resistenz gegen 2-Desoxyglucose). Die Expression von visuellen Markergenen führt zur Erzeugung von Farbe (zum Beispiel β -Glucuronidase, GUS oder β -Galactosidase mit seinen gefärbten Substraten, beispielsweise X-Gal), Lumineszenz (wie etwa das Luciferin/Luciferase-System) oder Fluoreszenz (grünfluoreszierendes Protein, GFP, und Derivate davon). Diese Liste repräsentiert nur eine kleine Anzahl von möglichen Markern. Der Fachmann auf dem Gebiet ist mit derartigen Markern vertraut. Es werden, abhängig von dem Organismus und dem Selektionsverfahren, unterschiedliche Marker bevorzugt.

[0088] Es ist bekannt, dass bei einer stabilen oder transienten Integration von Nukleinsäuren in Pflanzenzellen nur eine Minderheit der Zellen die Fremd-DNA aufnimmt und, falls gewünscht, diese in ihr Genom integriert, was vom verwendeten Expressionsvektor und der angewandten Transfektionstechnik abhängig ist. Um diese Integrierten zu identifizieren und zu selektieren, wird üblicherweise ein Gen, das für einen selektierbaren Marker codiert (wie diejenigen, die oben beschrieben sind), zusammen mit dem Gen von Interesse in die Wirtszellen eingebracht. Diese Marker können zum Beispiel in Mutanten verwendet werden, in denen diese Gene, beispielsweise aufgrund von Deletion durch herkömmliche Verfahren, nicht funktionsfähig sind. Darüber hinaus können Nukleinsäuremoleküle, die für einen selektierbaren Marker codieren, auf demselben Vektor, der die Sequenz umfasst, welche die erfindungsgemäßen oder in den Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptide codiert, oder ansonsten in einem separaten Vektor in eine Wirtszelle eingebracht werden. Zellen, welche stabil mit der eingebrachten Nukleinsäure transfiziert worden sind, können zum Beispiel durch Selektion identifiziert werden (beispielsweise überleben Zellen, welche den selektierbaren Marker integriert haben, wohingegen die anderen Zellen sterben).

[0089] Da die Markergene, insbesondere Gene für Resistenz gegen Antibiotika und Herbizide, in der transgenen Wirtszelle nicht länger erforderlich oder unerwünscht sind, sobald die Nukleinsäuren erfolgreich eingebracht worden sind, wendet das erfindungsgemäße Verfahren zum Einbringen der Nukleinsäuren in vorteilhafter Weise Techniken an, welche die Entfernung oder Exzision dieser Markergene ermöglichen. Ein derartiges Verfahren ist die sogenannte Co-Transformation. Das Co-Transformations-Verfahren verwendet zwei Vektoren gleichzeitig für die Transformation, wobei ein Vektor die erfindungsgemäße Nukleinsäure trägt und ein zweiter das/die Markergen(e) trägt. Ein großer Anteil an Transformanten empfängt oder, im Fall von Pflanzen, umfasst (bis zu 40% oder mehr der Transformanten) beide Vektoren. Im Fall der Transformation mit Agrobakterien empfangen die Transformanten in der Regel nur einen Teil des Vektors, d. h. die von der T-DNA flankierte Sequenz, welche üblicherweise die Expressionskassette repräsentiert. Die Markergene können anschließend durch Ausführen von Kreuzungen aus der transformierten Pflanze entfernt werden. In einem anderen Verfahren werden in ein Transposon integrierte Markergene für die Transformation gemeinsam mit der gewünschten Nukleinsäure verwendet (bekannt als Ac/Ds-Technologie). Die Transformanten können mit einer Transposase-Quelle gekreuzt werden, oder die Transformanten werden mit einem Nukleinsäurekonstrukt, welches die Expression einer Transposase vermittelt, transient oder stabil transformiert. In einigen Fällen (ungefähr 10%) springt das Transposon aus dem Genom der Wirtszelle heraus, sobald die Transformation erfolgreich stattgefunden hat, und geht verloren. In einer weiteren Anzahl von Fällen springt das Transposon an eine andere Stelle. In diesen Fällen muss das Markergen durch Ausführen von Kreuzungen eliminiert werden. In der Mikrobiologie wurden Techniken entwickelt, welche das Detektieren derartiger Ereignisse ermöglichen oder erleichtern. Ein weiteres vorteilhaftes Verfahren beruht auf sogenannten Rekombinationssystemen; deren Vorteil besteht darin, dass auf die Eliminierung durch Kreuzung verzichtet werden kann. Das am besten bekannte System dieses Typs ist das sogenannte Cre/lox-System. Cre1 ist eine Rekombinase, welche die zwischen den loxP-Sequenzen befindlichen Sequenzen entfernt. Wenn das Markergen zwischen den loxP-Sequenzen integriert ist, wird es entfernt, sobald die Transformation erfolgreich stattgefunden hat, und zwar durch die Expression der Rekombinase. Weitere Rekombinationssysteme sind das HIN/HIX-, FLP/FRT- und REP/STB-System (Tribble et al., J. Biol. Chem., 275, 2000: 22255–22267; Velmurugan et al., J. Cell Biol., 149, 2000: 553–566). Eine ortsspezifische Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen in das Pflanzengenom ist möglich. Selbstverständlich können diese Verfahren auch auf Mikroorganismen, wie Hefe, Pilze oder Bakterien, angewandt werden.

Transgen/Transgen/Rekombinant

[0090] Für die Zwecke der Erfindung bedeuten "transgen", "Transgen" oder "rekombinant", zum Beispiel in Hinsicht auf eine Nukleinsäuresequenz, eine Expressionskassette, ein Genkonstrukt oder einen Vektor, der die Nukleinsäuresequenz umfasst, oder einen Organismus, der mit den Nukleinsäuresequenzen, Expressionskassetten oder Vektoren gemäß der Erfindung transformiert ist, alle diejenigen Konstruktionen, die durch rekombinante Verfahren bewerkstelligt werden, in welchen entweder

- (a) die Nukleinsäuresequenzen, die in den Verfahren der Erfindung nützliche Proteine codieren, oder
- (b) genetische Steuerungssequenz(en), welche funktionsfähig mit der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz verknüpft ist/sind, wie beispielsweise ein Promotor, oder
- (c) a) und b),

nicht in ihrer natürlichen genetischen Umgebung lokalisiert sind oder durch rekombinante Verfahren modifiziert worden sind, wobei es möglich ist, dass die Modifikation zum Beispiel die Form einer Substitution, Addition, Deletion, Inversion oder Insertion von einem oder mehreren Nukleotidresten annimmt. Es versteht sich, dass mit der natürlichen genetischen Umgebung der natürliche genomische oder chromosomale Genort in der Ursprungspflanze oder das Vorhandensein in einer genomischen Bibliothek gemeint ist. Im Falle einer genomischen Bibliothek wird die natürliche genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz vorzugsweise zumindest teilweise beibehalten. Die Umgebung flankiert die Nukleinsäuresequenz mindestens auf einer Seite und besitzt eine Sequenzlänge von mindestens 50 Bp, vorzugsweise mindestens 500 Bp, besonders bevorzugt mindestens 1000 Bp, ganz besonders bevorzugt mindestens 5000 Bp. Eine natürlich vorkommende Expressionskassette – zum Beispiel die natürlich vorkommende Kombination des natürlichen Promotors der Nukleinsäuresequenzen mit der entsprechenden Nukleinsäuresequenz, welche ein in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützliches Polypeptid codiert, wie oben definiert – wird zu einer transgenen Expressionskassette, wenn diese Expressionskassette durch nicht-natürliche, synthetische ("künstliche") Verfahren, wie zum Beispiel mutagene Behandlung, modifiziert wird. Geeignete Verfahren sind zum Beispiel in US 5 565 350 oder WO 00/15815 beschrieben.

[0091] Es versteht sich daher, dass mit einer transgenen Pflanze für die Absichten der Erfindung, wie oben, gemeint ist, dass die im Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuren nicht im Genom der Pflanze vorliegen oder daher stammen bzw. im Genom der Pflanze vorliegen, sich jedoch nicht an ihrem natürlichen Genort im Genom der Pflanze befinden, wobei es möglich ist, dass die Nukleinsäuren homolog oder heterolog exprimiert werden. Wie erwähnt, bedeutet "transgen" jedoch ebenfalls, dass, obwohl die erfindungsgemäßen oder im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren an ihrer natürlichen Position im Genom einer Pflanze vorliegen, die Sequenz im Hinblick auf die natürliche Sequenz modifiziert worden ist und/oder dass die regulatorischen Sequenzen der natürlichen Sequenzen modifiziert worden sind. Es versteht sich, dass "transgen" vorzugsweise die Expression der Nukleinsäuren gemäß der Erfindung an einem unnatürlichen Genort im Genom, d. h. homolog, bedeutet oder dass vorzugsweise eine heterologe Expression der Nukleinsäuren stattfindet. Bevorzugte transgene Pflanzen sind hierin erwähnt.

Modulierung

[0092] Der Begriff "Modulierung" bedeutet in Bezug auf Expression oder Genexpression ein Verfahren, in welchem der Expressionsspiegel durch die Genexpression im Vergleich zur Kontrollpflanze verändert wird, wobei der Expressionsspiegel erhöht oder verringert werden kann. Die ursprüngliche, nicht modulierte Expression kann jede Art von Expression einer strukturellen RNA (rRNA, tRNA) oder mRNA mit anschließender Translation sein. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung kann die ursprüngliche, nicht modulierte Expression auch das Fehlen jeglicher Expression bedeuten. Der Begriff "Modulieren der Aktivität" soll jedwede Änderung der Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen oder codierten Proteine bedeuten, welche zu einem erhöhten Ertrag und/oder erhöhten Wachstum der Pflanzen führt. Die Expression kann von null (nicht vorhandene oder nicht messbare Expression) auf eine bestimmte Menge zunehmen oder von einer bestimmten Menge auf unmessbar kleine Mengen oder null abnehmen.

Expression

[0093] Der Begriff "Expression" oder "Genexpression" bedeutet die Transkription eines spezifischen Gens oder spezifischer Gene oder eines spezifischen genetischen Konstrukts. Der Begriff "Expression" oder "Genexpression" bedeutet insbesondere die Transkription von einem Gen oder Genen oder einem genetischen Konstrukt zu struktureller RNA (rRNA, tRNA) oder zu mRNA mit oder ohne anschließende Translation der

Letzteren in ein Protein. Das Verfahren beinhaltet die Transkription von DNA und die Prozessierung des resultierenden mRNA-Produkts.

Erhöhte Expression/Überexpression

[0094] Der Begriff "erhöhte Expression" oder "Überexpression", wie hierin verwendet, bedeutet eine beliebige Art von Expression, welche zusätzlich zum ursprünglichen Wildtyp-Expressionsniveau erfolgt. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung kann das ursprüngliche, beim Wildtyp beobachtete Expressionsniveau auch null sein, d. h. nicht vorhandene oder nicht messbare Expression.

[0095] Verfahren zur Erhöhung der Expression von Genen oder Genprodukten sind im Fachgebiet gut dokumentiert und beinhalten zum Beispiel die durch geeignete Promotoren angetriebene Überexpression, die Verwendung von Transkriptions-Enhancern oder von Translations-Enhancern. Isolierte Nukleinsäuren, welche als Promotor- oder Enhancer-Elemente dienen, können in einer geeigneten Position (typischerweise stromaufwärts) einer nicht-heterologen Form eines Polynukleotids eingebracht werden, so dass die Expression einer Nukleinsäure, welche das Polypeptid von Interesse codiert, hochreguliert wird. Beispielsweise können endogene Promotoren in vivo durch Mutation, Deletion und/oder Substitution verändert werden (siehe Kmiec, US 5 565 350; Zarling et al., WO9322443), oder isolierte Promotoren können in der richtigen Orientierung und im richtigen Abstand zu einem Gen der vorliegenden Erfindung in eine Pflanzenzelle eingebracht werden, so dass die Expression des Gens gesteuert wird.

[0096] Wenn eine Polypeptidexpression gewünscht wird, ist es im Allgemeinen wünschenswert, eine Polyadenylierungsregion am 3'-Ende einer codierenden Polynukleotidregion einzuschließen. Die Polyadenylierungsregion kann aus dem natürlichen Gen, aus einer Vielzahl anderer Pflanzengene oder aus T-DNA abgeleitet sein. Die 3'-End-Sequenz, welche hinzugefügt werden soll, kann zum Beispiel aus den Genen für Nopalin-Synthase oder Octopin-Synthase oder alternativ dazu aus einem anderen Pflanzengen, oder, weniger bevorzugt, aus einem beliebigen sonstigen eukaryontischen Gen abgeleitet sein.

[0097] Auch eine Intronsequenz kann an die 5'-untranslatierte Region (UTR) oder die codierende Sequenz der partiellen codierenden Sequenz hinzugefügt werden, um die Menge der reifen Botschaft zu erhöhen, welche sich im Cytosol akkumuliert. Der Einschluss eines spleißbaren Introns in der Transkriptionseinheit sowohl in pflanzlichen als auch tierischen Expressionskonstrukten erhöht gezeigtermaßen die Genexpression sowohl auf der mRNA- als auch der Protein-Ebene bis zu 1000-fach (Buchman und Berg (1988) Mol. Cell Biol. 8: 4395–4405; Callis et al. (1987) Genes Dev. 1: 1183–1200). Eine derartige Intron-Verstärkung der Genexpression ist typischerweise am größten bei Platzierung nahe dem 5'-Ende der Transkriptionseinheit. Die Verwendung der Mais-Introns Adh1-S-Intron 1, 2 und 6 sowie des Bronze-1-Introns sind im Fachgebiet bekannt. Für allgemeine Informationen siehe: The Maize Handbook, Kapitel 116, Freeling und Walbot, Hrsg., Springer, N.Y. (1994).

Verringerte Expression

[0098] Eine Bezugnahme hierin auf "verringerte Expression" oder "Reduktion oder wesentliche Eliminierung" von Expression wird verwendet, um eine Verringerung der endogenen Genexpression und/oder der Polypeptidspiegel und/oder der Polypeptidaktivität im Vergleich zu Kontrollpflanzen zu bezeichnen. Die Reduktion oder wesentliche Eliminierung beträgt, mit zunehmender Präferenz, mindestens 10%, 20%, 30%, 40% oder 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% oder 95%, 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Verringerung im Vergleich zu derjenigen von Kontrollpflanzen.

[0099] Für die Reduktion oder wesentliche Eliminierung der Expression eines endogenen Gens in einer Pflanze wird eine ausreichende Länge von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden einer Nukleinsäuresequenz benötigt. Um ein "Gensilencing" durchzuführen, kann diese so gering wie 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10 oder weniger Nukleotide sein, wobei sie alternativ so groß sein kann wie das gesamte Gen (einschließlich der 5'- und/oder 3'-UTR, entweder zum Teil oder insgesamt). Die Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden kann aus der Nukleinsäure, welche das Protein von Interesse codiert (Zielgen), oder aus einer beliebigen Nukleinsäure, die zum Codieren eines Orthologs, Paralogs oder Homologs des Proteins von Interesse in der Lage ist, abgeleitet sein. Vorzugsweise ist die Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden in der Lage, Wasserstoffbrücken mit dem Zielgen (entweder Sense- oder Antisense-Strang) zu bilden, und weiter bevorzugt besitzt die Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden, mit zunehmender Präferenz, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% Sequenzidentität zum Zielgen (entweder Sense- oder Antisense-Strang). Eine Nukleinsäuresequenz,

welche ein (funktionales) Polypeptid codiert, ist keine Voraussetzung für die verschiedenen hierin erörterten Verfahren zur Reduktion oder wesentlichen Eliminierung der Expression eines endogenen Gens.

[0100] Diese Reduktion oder wesentliche Eliminierung der Expression kann unter Anwendung von routinemäßigen Hilfsmitteln und Techniken erzielt werden. Ein bevorzugtes Verfahren für die Reduktion oder wesentliche Eliminierung von endogener Genexpression erfolgt durch Einbringen und Exprimieren, in einer Pflanze, eines genetischen Konstrukts, in welches die Nukleinsäure (in diesem Fall eine Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden, abgeleitet aus dem Gen von Interesse oder aus einer beliebigen Nukleinsäure, die zum Codieren eines Orthologs, Paralogs oder Homologs von einem beliebigen Protein von Interesse in der Lage ist) als ein invertierter Repeat (teilweise oder vollständig), getrennt durch einen Abstandhalter (nicht-codierende DNA), einkloniert ist.

[0101] In einem derartigen bevorzugten Verfahren wird die Expression des endogenen Gens reduziert oder im Wesentlichen eliminiert durch RNA-vermitteltes Silencing unter Verwendung eines "Inverted Repeat" einer Nukleinsäure oder eines Teils davon (in diesem Fall einer Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden, abgeleitet aus dem Gen von Interesse, oder aus einer beliebigen Nukleinsäure, die zum Codieren eines Orthologs, Paralogs oder Homologs des Proteins von Interesse in der Lage ist), welcher vorzugsweise zur Ausbildung einer Haarnadelstruktur fähig ist. Der "Inverted Repeat" wird in einen Expressionsvektor kloniert, der Steuerungssequenzen umfasst. Eine nicht-codierende DNA-Nukleinsäuresequenz (ein Abstandhalter, zum Beispiel ein Matrix-Anheftungs-Region-Fragment (MAR), ein Intron, ein Polylinker etc.) befindet sich zwischen den zwei invertierten Nukleinsäuren, welche den "Inverted Repeat" bilden. Nach der Transkription des "Inverted Repeat" wird eine chimäre RNA mit einer selbstkomplementären Struktur gebildet (teilweise oder vollständig). Diese doppelsträngige RNA-Struktur wird als die Haarnadel-RNA (hpRNA) bezeichnet. Die hpRNA wird von der Pflanze zu siRNAs prozessiert, welche in einen RNA-induzierten Silencing-Komplex (RISC) eingebaut werden. Der RISC spaltet die mRNA-Transkripte weiter, wodurch die Anzahl von mRNA-Transkripten, die zu Polypeptiden translatiert werden sollen, wesentlich verringert wird. Für weitere allgemeine Details siehe zum Beispiel Grierson et al. (1998) WO 98/53083; Waterhouse et al. (1999) WO 99/53050).

[0102] Die Ausführung der Verfahren der Erfindung beruht nicht auf dem Einführen und Exprimieren, in einer Pflanze, von einem genetischen Konstrukt, in welches die Nukleinsäure als ein "Inverted Repeat" einkloniert ist, sondern es können ein oder mehrere beliebige von einigen, allgemein bekannten "Gen-Silencing"-Verfahren zur Anwendung kommen, um die gleichen Effekte zu erzielen.

[0103] Ein derartiges Verfahren für die Reduktion der endogenen Genexpression ist das RNA-vermittelte Silencing von Genexpression (Herunterregulieren). Das Silencing wird in diesem Fall in einer Pflanze von einer doppelsträngigen RNA-Sequenz (dsRNA) ausgelöst, welche im Wesentlichen ähnlich zum endogenen Zielgen ist. Diese dsRNA wird von der Pflanze zu etwa 20 bis etwa 26 Nukleotiden weiterprozessiert, welche als kurze interferierende RNAs (siRNAs) bezeichnet werden. Die siRNAs werden in einen RNA-induzierten Silencing-Komplex (RISC) eingebaut, welcher das mRNA-Transkript des endogenen Zielgens spaltet, wodurch die Anzahl von mRNA-Transkripten, die in ein Polypeptid translatiert werden sollen, wesentlich verringert wird. Vorzugsweise entspricht die doppelsträngige RNA-Sequenz einem Zielgen.

[0104] Ein anderes Beispiel eines RNA-Silencing-Verfahrens beinhaltet das Einbringen von Nukleinsäuresequenzen oder Teilen davon (in diesem Fall einer Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden, abgeleitet aus dem Gen von Interesse, oder aus einer beliebigen Nukleinsäure, die zum Codieren eines Orthologs, Paralogs oder Homologs des Proteins von Interesse in der Lage ist) in einer Sense-Orientierung in eine Pflanze. "Sense-Orientierung" bezieht sich auf eine DNA-Sequenz, welche homolog zu einem mRNA-Transkript davon ist. Deswegen wird man in eine Pflanze mindestens eine Kopie der Nukleinsäuresequenz einführen. Die zusätzliche Nukleinsäuresequenz wird die Expression des endogenen Gens verringern, was zur Entstehung eines Phänomens führt, welches als Co-Suppression bekannt ist. Die Reduktion der Genexpression wird noch erheblicher sein, wenn mehrere zusätzliche Kopien einer Nukleinsäuresequenz in die Pflanze eingebracht werden, da eine positive Korrelation zwischen hohen Transkriptspiegeln und der Auslösung von Co-Suppression besteht.

[0105] Ein anderes Beispiel eines RNA-Silencing-Verfahrens beinhaltet die Verwendung von Antisense-Nukleinsäuresequenzen. Eine "Antisense"-Nukleinsäuresequenz umfasst eine Nukleotidsequenz, welche zu einer "Sense"-Nukleinsäuresequenz, die für ein Protein codiert, komplementär ist, d. h. komplementär zum codierenden Strang eines doppelsträngigen cDNA-Moleküls oder komplementär zu einer mRNA-Transkriptsequenz ist. Die Antisense-Nukleinsäuresequenz ist vorzugsweise komplementär zu dem endogenen Gen, welches abgeschaltet werden soll. Die Komplementarität kann in der "codierenden Region" und/oder in der "nicht-

codierenden Region" eines Gens lokalisiert sein. Der Begriff "codierende Region" bezieht sich auf eine Region der Nukleotidsequenz, welche Codons umfasst, die in Aminosäurereste translatiert werden. Der Begriff "nicht-codierende Region" bezieht sich auf 5'- und 3'-Sequenzen, welche die codierende Region flankieren und welche transkribiert, jedoch nicht in Aminosäuren translatiert werden (ebenfalls bezeichnet als 5'- und 3'-untranslatierte Regionen).

[0106] Antisense-Nukleinsäuresequenzen können gemäß den Regeln der Watson-und-Crick-Basenpaarung entworfen werden. Die Antisense-Nukleinsäuresequenz kann zur gesamten Nukleinsäuresequenz (in diesem Fall eine Strecke von im Wesentlichen zusammenhängenden Nukleotiden, abgeleitet aus dem Gen von Interesse, oder aus einer beliebigen Nukleinsäure, die zum Codieren eines Orthologs, Paralogs oder Homologs des Proteins von Interesse in der Lage ist) komplementär sein, aber kann ebenfalls ein Oligonukleotid sein, welches den Antisense zu lediglich einem Teil der Nukleinsäuresequenz (einschließlich der 5'- und 3'-UTR der mRNA) darstellt. Zum Beispiel kann die Antisense-Oligonukleotidsequenz komplementär zu der Region sein, welche die Translationsstartstelle eines mRNA-Transkripts umgibt, das ein Polypeptid codiert. Die Länge einer geeigneten Antisense-Oligonukleotidsequenz ist im Fachgebiet bekannt und kann bei etwa 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 oder 10 Nukleotiden Länge oder weniger beginnen. Eine Antisense-Nukleinsäuresequenz gemäß der Erfindung kann unter Anwendung von chemischer Synthese und enzymatischen Ligationsreaktionen mit Hilfe von auf dem Fachgebiet bekannten Verfahren konstruiert werden. Zum Beispiel kann eine Antisense-Nukleinsäuresequenz (z. B. eine Antisense-Oligonukleotidsequenz) chemisch synthetisiert werden, wobei natürlich vorkommende Nukleotide oder verschiedenartig modifizierte Nukleotide verwendet werden, entworfen zur Erhöhung der biologischen Stabilität der Moleküle oder zur Erhöhung der physikalischen Stabilität des zwischen den Antisense- und Sense-Nukleinsäuresequenzen gebildeten Duplex, wobei z. B. Phosphorthioat-Derivate und acridinsubstituierte Nukleotide verwendet werden können. Beispiele von modifizierten Nukleotiden, welche zum Erzeugen der Antisense-Nukleinsäuresequenzen verwendet werden können, sind im Fachgebiet allgemein bekannt. Zu bekannten Nukleotidmodifikationen zählen Methylierung, Cyclisierung und 'Caps' sowie Substitution von einem oder mehreren der natürlich vorkommenden Nukleotide mit einem Analog, wie etwa Inosin. Andere Modifikationen von Nukleotiden sind im Fachgebiet allgemein bekannt.

[0107] Die Antisense-Nukleinsäuresequenz kann biologisch unter Verwendung eines Expressionsvektors hergestellt werden, in welchen eine Nukleinsäuresequenz in einer Antisense-Orientierung subkloniert worden ist (d. h., die von der insertierten Nukleinsäure transkribierte RNA wird bezüglich einer Zielnukleinsäure von Interesse eine Antisense-Orientierung aufweisen). Vorzugsweise findet die Erzeugung von Antisense-Nukleinsäuresequenzen in Pflanzen mittels eines stabil integrierten Nukleinsäurekonstrukts statt, das einen Promotor, ein funktionsfähig verbundenes Antisense-Oligonukleotid und einen Terminator umfasst.

[0108] Die zum Silencing in den Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuremoleküle (ob in eine Pflanze eingeführt oder in situ erzeugt) hybridisieren oder binden an für ein Polypeptid codierende genomische DNA und/oder mRNA-Transkripte, um dadurch die Expression des Proteins zu inhibieren, z. B. durch Inhibieren von Transkription und/oder Translation. Die Hybridisierung kann durch herkömmliche Nukleotidkomplementarität unter Bildung eines stabilen Duplex erfolgen oder, zum Beispiel im Fall einer Antisense-Nukleinsäuresequenz, welche an DNA-Duplexe bindet, durch spezifische Wechselwirkungen in der großen Furche der Doppelhelix. Antisense-Nukleinsäuresequenzen können durch Transformation oder direkte Injektion an einer spezifischen Gewebestelle in eine Pflanze eingebracht werden. Alternativ dazu können Antisense-Nukleinsäuresequenzen modifiziert sein, um ausgewählte Zellen anzuzielen, und dann systemisch verabreicht werden. Für die systemische Verabreichung können Antisense-Nukleinsäuresequenzen zum Beispiel so modifiziert werden, dass sie spezifisch an Rezeptoren oder Antigene, die auf einer ausgewählten Zelloberfläche exprimiert werden, binden, z. B. durch Verknüpfen der Antisense-Nukleinsäuresequenz an Peptide oder Antikörper, welche an Zelloberflächen-Rezeptoren oder Antigene binden. Die Antisense-Nukleinsäuresequenzen können Zellen auch unter Verwendung der hierin beschriebenen Vektoren zugeführt werden.

[0109] Gemäß einem weiteren Aspekt ist die Antisense-Nukleinsäuresequenz eine a-anomere Nukleinsäuresequenz. Eine a-anomere Nukleinsäuresequenz bildet spezifische doppelsträngige Hybride mit komplementärer RNA, in welchen, im Gegensatz zu den gewöhnlichen b-Einheiten, die Stränge parallel zueinander verlaufen (Gaultier et al. (1987) Nucl. Ac. Res. 15: 6625–6641). Die Antisense-Nukleinsäuresequenz kann außerdem ein 2'-o-Methylribonukleotid (Inoue et al. (1987) Nucl. Ac. Res. 15, 6131–6148) oder ein chimäres RNA-DNA-Analog (Inoue et al. (1987) FEBS Lett. 215, 327–330) umfassen.

[0110] Die Reduktion oder wesentliche Eliminierung von endogener Genexpression kann auch unter Verwendung von Ribozymen durchgeführt werden. Ribozyme sind katalytische RNA-Moleküle mit Ribonuklease-Aktivität, welche zum Spalten einer einzelsträngigen Nukleinsäuresequenz, wie einer mRNA, zu der sie eine

komplementäre Region aufweisen, in der Lage sind. Somit können Ribozyme (z. B. Hammerkopf-Ribozyme; beschrieben in Haselhoff und Gerlach (1988) *Nature* 334, 585–591) verwendet werden, um ein Polypeptid codierende mRNA-Transkripte katalytisch zu spalten, wodurch die Anzahl an mRNA-Transkripten, welche in ein Polypeptid translatiert werden sollen, wesentlich verringert wird. Ein Ribozym mit Spezifität für eine Nukleinsäuresequenz kann entworfen werden (siehe zum Beispiel: Cech et al. US-Patent Nr. 4 987 071; und Cech et al. US-Patent Nr. 5 116 742). Alternativ dazu können mRNA-Transkripte, welche einer Nukleinsäuresequenz entsprechen, verwendet werden, um eine katalytische RNA mit einer spezifischen Ribonuklease-Aktivität aus einem Pool von RNA-Molekülen zu selektieren (Bartel und Szostak (1993) *Science* 261, 1411–1418). Die Verwendung von Ribozymen für das Gen-Silencing in Pflanzen ist im Fachgebiet bekannt (z. B. Atkins et al. (1994) WO 94/00012; Lenne et al. (1995) WO 95/03404; Lutziger et al. (2000) WO 00/00619; Prinsen et al. (1997) WO 97/13865 und Scott et al. (1997) WO 97/38116).

[0111] Gen-Silencing kann auch durch Insertionsmutagenese (beispielsweise T-DNA-Insertion oder Transposon-Insertion) oder durch Strategien erzielt werden, wie sie unter anderem von Angell und Baulcombe ((1999) *Plant J.* 20(3): 357–62), (Amplicon VIGS WO 98/36083) oder Baulcombe (WO 99/15682) beschrieben werden.

[0112] Gen-Silencing kann auch auftreten, wenn eine Mutation auf einem endogenen Gen und/oder eine Mutation auf einem/einer isolierten Gen/Nukleinsäure, welche(s) anschließend in eine Pflanze eingebracht wird, vorhanden ist. Die Reduzierung oder wesentliche Eliminierung kann durch ein nicht-funktionelles Polypeptid verursacht werden. Zum Beispiel kann das Polypeptid an verschiedene interagierende Proteine binden; eine oder mehrere Mutation(en) und/oder Verkürzung(en) können daher ein Polypeptid vorsehen, das noch zum Binden an interagierende Proteine (wie etwa Rezeptorproteine) in der Lage ist, aber seine normale Funktion nicht aufzeigen kann (wie etwa Signalleitungs-Ligand).

[0113] Ein weiteres Vorgehen für das Gen-Silencing besteht im Targeting von Nukleinsäuresequenzen, die zur regulatorischen Region des Gens (z. B. dem Promotor und/oder Enhancern) komplementär sind, wodurch tripelhelikale Strukturen gebildet werden, welche die Transkription des Gens in Zielzellen verhindern. Siehe Helene, C., *Anticancer Drug Res.* 6, 569–84, 1991; Helene et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 660, 27–36 1992; und Maher, L. J. *Bioassays* 14, 807–15, 1992.

[0114] Andere Verfahren, wie etwa die Verwendung von Antikörpern, die gegen ein endogenes Polypeptid gerichtet sind, zum Inhibieren von dessen Funktion in planta oder zum Eingreifen in den Signalleitungsweg, an dem ein Polypeptid beteiligt ist, werden dem Fachmann allgemein bekannt sein. Insbesondere kann es in Betracht gezogen werden, dass vom Menschen geschaffene Moleküle zum Inhibieren der biologischen Funktion eines Zielpolypeptids oder zur Störung des Signalleitungsweges, an dem das Zielpolypeptid beteiligt ist, nützlich sein können.

[0115] Alternativ dazu kann ein Screening-Programm angesetzt werden, um natürliche Varianten eines Gens in einer Pflanzenpopulation zu identifizieren, wobei die Varianten Polypeptide mit verringerter Aktivität codieren. Solche natürlichen Varianten können beispielsweise auch zur Ausführung von homologer Rekombination angewandt werden.

[0116] Künstliche und/oder natürliche MicroRNAs (miRNAs) können verwendet werden, um Genexpression und/oder mRNA-Translation auszuknocken. Endogene miRNAs sind einzelsträngige, kleine RNAs mit einer Länge von typischerweise 19–24 Nukleotiden. Sie funktionieren vorwiegend zum Regulieren der Genexpression und/oder mRNA-Translation. Die meisten pflanzlichen MicroRNAs (miRNAs) weisen eine perfekte oder beinahe perfekte Komplementarität zu ihren Zielsequenzen auf. Allerdings gibt es natürliche Ziele mit bis zu fünf Fehlpaarungen. Sie werden aus längeren nicht-codierenden RNAs mit charakteristischen Rückfaltungsstrukturen durch doppelstrangspezifische RNAsen der Dicer-Familie prozessiert. Nach der Prozessierung werden sie in den RNA-induzierten Silencing-Komplex (RISC) durch Binden an dessen Hauptkomponente, ein Argonaut-Protein, eingebaut. MiRNAs dienen als die Spezifitätskomponenten des RISC, da sie mit Zielnukleinsäuren, vorwiegend mRNAs, im Cytoplasma eine Basenpaarung eingehen. Anschließend regulatorische Ereignisse beinhalten die Ziel-mRNA-Spaltung und Zerstörung und/oder die Translationsinhibition. Effekte der miRNA-Überexpression spiegeln sich deshalb häufig in verringerten mRNA-Spiegeln von Zielgenen wider.

[0117] Artificielle MikroRNAs (amiRNAs), welche typischerweise eine Länge von 21 Nukleotiden besitzen, können in spezifischer Weise gentechnisch erzeugt werden, um die Genexpression von einzelnen oder mehreren Genen von Interesse negativ zu regulieren. Determinanten der Pflanzen-MikroRNA-Zielauswahl sind im Fachgebiet allgemein bekannt. Empirische Parameter für die Zielerkennung sind definiert worden und können angewandt werden, um beim Entwurf von spezifischen amiRNAs zu helfen (Schwab et al., *Dev. Cell* 8, 517–

527, 2005). Zweckdienliche Hilfsmittel für den Entwurf und die Erzeugung von amiRNAs und ihren Vorläufern sind ebenfalls öffentlich verfügbar (Schwab et al., *Plant Cell* 18, 1121–1133, 2006).

[0118] Für eine optimale Leistung erfordern die Gen-Silencing-Techniken, die zum Reduzieren der Expression eines endogenen Gens in einer Pflanze angewandt werden, die Verwendung von Nukleinsäuresequenzen aus monokotylen Pflanzen für die Transformation monokotyler Pflanzen und aus dikotylen Pflanzen für die Transformation dikotyler Pflanzen. Vorzugsweise wird eine Nukleinsäuresequenz aus einer beliebigen gegebenen Pflanzenspezies in dieselbe Spezies eingebracht. Zum Beispiel wird eine Nukleinsäuresequenz aus Reis in eine Reispflanze transformiert. Allerdings ist es kein absolutes Erfordernis, dass die einzuführende Nukleinsäuresequenz aus derselben Pflanzenspezies stammt, wie die Pflanze, in welche sie eingeführt wird. Es ist ausreichend, dass eine wesentliche Homologie zwischen dem endogenen Zielgen und der einzuführenden Nukleinsäure besteht.

[0119] Beispiele verschiedener Verfahren für die Reduzierung oder wesentliche Eliminierung der Expression eines endogenen Gens in einer Pflanze sind oben beschrieben. Ein Fachmann auf dem Gebiet wird ohne weiteres in der Lage sein, die oben genannten Verfahren zum Silencing so anzupassen, dass eine Reduzierung der Expression eines endogenen Gens in einer gesamten Pflanze oder in Teilen davon erreicht wird, beispielsweise durch Verwenden eines geeigneten Promotors.

Transformation

[0120] Der Begriff "Einbringung" oder "Transformation", wie hierin darauf Bezug genommen wird, beinhaltet den Transfer eines exogenen Polynukleotids in eine Wirtszelle, ungeachtet des für den Transfer angewandten Verfahrens. Pflanzengewebe, das zur anschließenden klonalen Vermehrung in der Lage ist, ob durch Organogenese oder Embryogenese, kann mit einem genetischen Konstrukt der vorliegenden Erfindung transformiert und eine gesamte Pflanze daraus regeneriert werden. Das gewählte jeweilige Gewebe wird abhängig von den klonalen Propagationssystemen variieren, welche für die zu transformierende jeweilige Spezies verfügbar und am besten geeignet sind. Beispielhafte Gewebeziele schließen Blattscheiben, Pollen, Embryos, Kotyledonen, Hypokotyle, Megagametophyten, Callusgewebe, existierendes meristematisches Gewebe (z. B. Apikalmeristem, Achselknospen und Wurzelmeristeme) und induziertes Meristemgewebe (z. B. Kotyleristem und Hypokotyleristem) ein. Das Polynukleotid kann transient oder stabil in eine Wirtszelle eingebracht und kann nicht-integriert, zum Beispiel als ein Plasmid, beibehalten werden. Alternativ dazu kann es in das Wirtsgenom integriert werden. Die resultierende transformierte Pflanzenzelle kann dann zum Regenerieren einer transformierten Pflanze auf eine Weise, welche dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt ist, verwendet werden.

[0121] Der Transfer von Fremdgenen in das Genom einer Pflanze wird Transformation genannt. Die Transformation von Pflanzenspezies ist heutzutage eine durchaus routinemäßige Technik. In vorteilhafter Weise kann ein beliebiges von mehreren Transformationsverfahren angewandt werden, um das Gen von Interesse in eine geeignete Vorfahrenzelle einzubringen. Die für die Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengeweben oder Pflanzenzellen beschriebenen Verfahren können für transiente oder für stabile Transformation angewandt werden. Transformationsverfahren beinhalten die Verwendung von Liposomen, Elektroporation, Chemikalien, welche die Aufnahme freier DNA erhöhen, direkte Injektion der DNA in die Pflanze, Beschuss mit einer Partikelkanone, Transformation unter Verwendung von Viren oder Pollen sowie Mikroprojektion. Man kann Verfahren auswählen unter dem Calcium/Polyethylenglykol-Verfahren für Protoplasten (Krens, F. A. et al., (1982) *Nature* 296, 72–74; Negrutiu, I., et al. (1987) *Plant Mol. Biol.* 8: 363–373); der Elektroporation von Protoplasten (Shillito R. D. et al. (1985) *Bio/Technol.* 3, 1099–1102); der Mikroinjektion in Pflanzenmaterial hinein (Crossway, A., et al., (1986) *Mol. Gen. Genet.*, 202: 179–185); dem Beschuss mit DNA- oder RNA-beschichteten Teilchen (Klein TM et al., (1987) *Nature* 327: 70), der Infektion mit (nicht-integrierenden) Viren und dergleichen. Transgene Pflanzen, einschließlich transgener Nutzpflanzen, werden vorzugsweise durch Agrobacterium-vermittelte Transformation hergestellt. Ein vorteilhaftes Transformationsverfahren ist die Transformation in planta. Zu diesem Zweck ist es zum Beispiel möglich, den Agrobakterien zu gestatten, auf Pflanzensamen einzuwirken, oder das Pflanzenmeristem mit Agrobakterien zu inokulieren. Es hat sich gemäß der Erfindung als besonders zweckmäßig erwiesen zu gestatten, dass eine Suspension transformierter Agrobakterien auf die intakte Pflanze oder zumindest auf die Blütenanlagen einwirkt. Die Pflanze wird anschließend weiter wachsen gelassen, bis die Samen der behandelten Pflanze erhalten werden (Clough und Bent, *Plant J.* (1998) 16, 735–743). Verfahren für die Agrobacterium-vermittelte Transformation von Reis schließen allgemein bekannte Verfahren für die Reistransformation ein, wie etwa diejenigen, welche in einem beliebigen von Folgenden beschrieben sind: Europäische Patentanmeldung EP 1198985 A1, Aldemita und Hodges (*Planta* 199: 612–617, 1996); Chan et al. (*Plant Mol. Biol.* 22 (3): 491–506, 1993), Hiei et al. (*Plant J.* 6 (2): 271–282, 1994), deren Offenbarungen hierin durch den Bezug darauf einbezogen sind, als ob sie vollständig dargestellt

wären. Im Falle einer Mais-Transformation ist das bevorzugte Verfahren so beschaffen, wie entweder in Ishida et al. (Nat. Biotechnol 14(6): 745–50, 1996) oder Frame et al. (Plant Physiol. 129(1): 13–22, 2002) beschrieben ist, deren Offenbarungen hierin durch den Bezug darauf einbezogen sind, als ob sie vollständig dargestellt wären. Die Verfahren sind beispielhaft ferner in B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. S. D. Kung und R. Wu, Academic Press (1993) 128–143 und in Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205–225) beschrieben. Die Nukleinsäuren oder das Konstrukt, welche(s) exprimiert werden soll/sollen, wird/werden vorzugsweise in einen Vektor kloniert, der zum Transformieren von *Agrobacterium tumefaciens* geeignet ist, zum Beispiel pBin19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 8711). Mit einem derartigen Vektor transformierte Agrobakterien können dann auf bekannte Weise für die Transformation von Pflanzen verwendet werden, wie etwa Pflanzen, welche als Modell herangezogen werden, wie *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* wird innerhalb des Umfangs der vorliegenden Erfindung nicht als Nutzpflanze betrachtet), oder Nutzpflanzen, wie zum Beispiel Tabakpflanzen, beispielsweise durch Eintauchen von zerquetschten Blättern oder zerhackten Blättern in einer Agrobakterienlösung und danach Kultivieren derselben in geeigneten Medien. Die Transformation von Pflanzen mittels *Agrobacterium tumefaciens* ist zum Beispiel von Höfgen und Willmitzer in Nucl. Acids Res. (1988) 16, 9877, beschrieben oder ist unter anderem aus F. F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg.: S. D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15–38, bekannt.

[0122] Zusätzlich zur Transformation von somatischen Zellen, welche dann zu intakten Pflanzen regeneriert werden müssen, ist es ebenfalls möglich, die Zellen von Pflanzenmeristemen und insbesondere diejenigen Zellen, welche sich zu Gameten entwickeln, zu transformieren. In diesem Fall folgen die transformierten Gameten der natürlichen Pflanzenentwicklung, wodurch es zur Entstehung transgener Pflanzen kommt. So werden beispielsweise Samen von *Arabidopsis* mit Agrobakterien behandelt, und Samen werden aus den sich entwickelnden Pflanzen erhalten, von denen ein gewisser Anteil transformiert und somit transgen ist [Feldman, KA, und Marks, MD (1987). Mol. Gen. Genet. 208: 1–9; Feldmann, K., (1992). in: C. Koncz, N-H. Chua und J. Shell (Hrsg.), Methods in Arabidopsis Research. World Scientific, Singapur, S. 274–289]. Alternative Verfahren basieren auf der wiederholten Entfernung der Infloreszenzen und der Inkubation der Schnittstelle im Zentrum der Rosette mit transformierten Agrobakterien, wodurch in ähnlicher Weise transformierte Samen zu einem späteren Zeitpunkt erhalten werden können (Chang (1994). Plant J. 5: 551–558; Katavic (1994). Mol. Gen. Genet., 245: 363–370). Ein besonders effektives Verfahren ist jedoch das Vakuuminfiltrationsverfahren mit seinen Modifikationen, wie dem "Floral dip"-Verfahren. Im Falle von Vakuuminfiltration von *Arabidopsis* werden intakte Pflanzen unter verringertem Druck mit einer Agrobakteriensuspension behandelt [Bechthold, N. (1993). C. R. Acad. Sci. Paris Life Sci., 316: 1194–1199], wohingegen im Fall des "Floral dip"-Verfahrens das sich entwickelnde Blütengewebe kurz mit einer tensidbehandelten Agrobakteriensuspension inkubiert wird [Clough, SJ, und Bent, AF (1998) The Plant J. 16, 735–743]. In beiden Fällen wird ein gewisser Anteil an transgenen Samen geerntet, und diese Samen können von nicht-transgenen Samen durch Kultivieren unter den oben beschriebenen selektiven Bedingungen unterschieden werden. Darüber hinaus besitzt die stabile Transformation von Plastiden Vorteile, weil Plastide in den meisten Nutzpflanzen maternal vererbt werden, was das Risiko eines Transgen-Flusses durch Pollen verringert oder eliminiert. Die Transformation des Chloroplastengenoms wird im Allgemeinen durch ein Verfahren bewirkt, das in Klaus et al., 2004 [Nature Biotechnology 22 (2), 225–229] schematisch geschildert worden ist. Kurz gesagt werden die zu transformierenden Sequenzen zusammen mit einem selektierbaren Markergen zwischen flankierende Sequenzen, die homolog zum Chloroplastengenom sind, kloniert. Diese homologen flankierenden Sequenzen lenken die ortsspezifische Integration in das Plastom. Plastidale Transformation ist für viele verschiedene Pflanzenspezies beschrieben worden, und eine Übersicht findet man in Bock (2001) "Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology". J. Mol. Biol. 21. Sep. 2001; 312 (3): 425–38, oder Maliga, P. (2003) "Progress towards commercialization of plastid transformation technology". Trends Biotechnol. 21, 20–28. In jüngster Zeit ist über einen weiteren biotechnologischen Fortschritt in Form von markerfreien Plastidentransformanten, welche mittels eines transienten, cointegrierten Markergens hergestellt werden können, berichtet worden (Klaus et al., 2004, Nature Biotechnology 22(2), 225–229).

[0123] Die genetisch modifizierten Pflanzenzellen können durch alle Verfahren regeneriert werden, mit denen der Fachmann vertraut ist. Geeignete Verfahren können in den oben erwähnten Veröffentlichungen von S. D. Kung und R. Wu, Potrykus oder Höfgen und Willmitzer gefunden werden.

[0124] Nach einer Transformation werden Pflanzenzellen oder Zellgruppierungen im Allgemeinen hinsichtlich Gegenwart von einem oder mehreren Markern selektiert, welche von pflanzlich exprimierbaren Genen codiert werden, die mit dem Gen von Interesse co-transferiert werden, wonach das transformierte Material zu einer ganzen Pflanze regeneriert wird. Um transformierte Pflanzen zu selektieren, wird das in der Transformation erhaltene Pflanzenmaterial in der Regel selektiven Bedingungen unterworfen, so dass transformierte Pflanzen

von nicht-transformierten Pflanzen unterschieden werden können. Zum Beispiel können die in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Samen eingepflanzt und nach einer anfänglichen Wachstumsperiode einer geeigneten Selektion durch Besprühen unterworfen werden. Eine weitere Möglichkeit besteht im Wachsenlassen der Samen, zutreffendenfalls nach Sterilisation, auf Agarplatten unter Anwendung eines geeigneten Selektionsmittels, so dass nur die transformierten Samen zu Pflanzen heranwachsen können. Alternativ werden die transformierten Pflanzen hinsichtlich der Gegenwart eines selektierbaren Markers, wie derjenigen, die oben beschrieben sind, gescreent.

[0125] Im Anschluss an DNA-Transfer und Regeneration können vermeintlich transformierte Pflanzen auch, zum Beispiel unter Anwendung von Southern-Analyse, hinsichtlich der Gegenwart des Gens von Interesse, der Kopienzahl und/oder der genomischen Organisation untersucht werden. Alternativ oder zusätzlich können Expressionsspiegel der neu eingeführten DNA unter Anwendung von Northern- und/oder Western-Analyse überwacht werden, wobei beide Techniken dem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet allgemein bekannt sind.

[0126] Die erzeugten, transformierten Pflanzen können durch eine Vielzahl von Methoden vermehrt werden, wie etwa durch klonale Propagation oder klassische Züchtungstechniken. So kann zum Beispiel eine transformierte Pflanze der ersten Generation (oder T1) geselbstet und homozygote Transformanten der zweiten Generation (oder T2) können selektiert werden, und die T2-Pflanzen können dann durch klassische Züchtungstechniken weiter vermehrt werden. Die erzeugten transformierten Organismen können eine Vielzahl von Formen annehmen. Zum Beispiel können sie Chimären von transformierten Zellen und nicht-transformierten Zellen; klonale Transformanten (wobei z. B. alle Zellen transformiert sind, um die Expressionskassette zu enthalten); Propfungen von transformierten und nicht-transformierten Geweben (z. B. in Pflanzen, in denen ein transformierter Wurzelstock an einen nicht-transformierten Spross gepfropft wird) sein.

T-DNA-Aktivierungs-Tagging

[0127] T-DNA-Aktivierungs-Tagging (Hayashi et al. Science (1992) 1350–1353) beinhaltet die Insertion von T-DNA, üblicherweise enthaltend einen Promotor (es kann sich auch um einen Translations-Enhancer oder ein Intron handeln), in die genomische Region des Gens von Interesse oder 10 kb stromaufwärts oder stromabwärts der codierenden Region eines Gens in einer derartigen Konfiguration, dass der Promotor die Expression des angezielten Gens steuert. Typischerweise wird die Regulierung der Expression des angezielten Gens durch seinen natürlichen Promotor gestört, und das Gen kommt unter die Kontrolle des neu eingebrachten Promotors. Der Promotor ist typischerweise in einer T-DNA eingebettet. Diese T-DNA wird statistisch in das Pflanzengenom inseriert, zum Beispiel durch Agrobacterium-Infektion, und führt zur modifizierten Expression von Genen nahe der inserierten T-DNA. Die resultierenden transgenen Pflanzen zeigen dominante Phänotypen aufgrund der modifizierten Expression von Genen nahe dem eingebrachten Promotor.

TILLING

[0128] Der Begriff "TILLING" ist eine Abkürzung für "Targeted Induced Local Lesions In Genomes" und bezieht sich auf eine Mutagenesetechnologie, die zum Erzeugen und/oder Identifizieren von Nukleinsäuren nützlich ist, welche Proteine mit modifizierter Expression und/oder Aktivität codieren. TILLING erlaubt auch die Selektion von Pflanzen, welche derartige Mutantenvarianten tragen. Diese Mutantenvarianten können eine modifizierte Expression aufzeigen, entweder hinsichtlich Stärke oder Lokalisierung oder Zeitgebung (wenn die Mutationen zum Beispiel den Promotor betreffen). Diese Mutantenvarianten können eine höhere Aktivität aufzeigen als sie von dem Gen in seiner natürlichen Form aufgewiesen wird. TILLING vereinigt Hochdichte-Mutagenese mit Hochdurchsatz-Screeningverfahren. Die beim TILLING typischerweise befolgten Schritte sind: (a) EMS-Mutagenese (Redei, GP und Koncz, C (1992), in: Methods in Arabidopsis Research, Koncz, C, Chua, NH, Schell, J (Hrsg.) Singapur, World Scientific Publishing Co, S. 16–82; Feldmann et al., (1994) in: Meyerowitz, EM, Somerville, CR (Hrsg.), "Arabidopsis". Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, S. 137–172; Lightner, J. und Caspar, T. (1998) in: J. Martinez-Zapater, J. Salinas, (Hrsg.), Methods in Molecular Biology, Band 82. Humana Press, Totowa, NJ, S. 91–104); (b) DNA-Präparation und Poolen der Individuen; (c) PCR-Amplifikation einer Region von Interesse; (d) Denaturieren und Annealen, um die Bildung von Heteroduplexen zu gestatten; (e) DHPLC, wobei die Gegenwart eines Heteroduplex in einem Pool als ein Extra-Peak im Chromatogramm nachgewiesen wird; (f) Identifikation des Mutanten-Individuums; und (g) Sequenzieren des Mutanten-PCR-Produkts. Verfahren für TILLING sind im Fachgebiet allgemein bekannt (McCallum et al., (2000) Nat. Biotechnol. 18: 455–457; übersichtmäßig zusammengefasst von Stemple (2004) Nat. Rev. Genet. 5(2): 145–50).

Homologe Rekombination

[0129] Homologe Rekombination gestattet die Einbringung einer gewählten Nukleinsäure in einem Genom an einer definierten gewählten Position. Homologe Rekombination ist eine Standardtechnologie, die in den biologischen Wissenschaften für niedere Organismen, wie Hefe oder das Moos *Physcomitrella*, routinemäßig angewandt wird. Verfahren zur Durchführung homologer Rekombination in Pflanzen sind nicht nur für Modellpflanzen beschrieben worden (Offringa et al. (1990) *EMBO J.* 9(10): 3077–84), sondern auch für Nutzpflanzen, zum Beispiel Reis (Terada et al. (2002) *Nat. Biotech.* 20(10): 1030–4; Iida und Terada (2004) *Curr. Opin. Biotech.* 15(2): 132–8), und es existieren Vorgehensweisen, welche, ungeachtet des Zielorganismus, allgemein anwendbar sind (Miller et al., *Nature Biotechnol.* 25, 778–785, 2007).

Ertragsmerkmale

[0130] Ertragsmerkmale sind Merkmale bzw. Charakteristika, die mit dem Pflanzenertrag in Zusammenhang stehen. Ertragsmerkmale können eines oder mehrere der folgenden nicht einschränkenden Liste von Merkmalen umfassen: frühe Blütezeit, Ertrag, Biomasse, Samenertrag, Früh-Wuchskraft, Grünheitsindex, erhöhte Wachstumsrate, verbesserte agronomische Eigenschaften (wie z. B. verbesserte Flutungstoleranz (was bei Reis zu einem höheren Ertrag führt), Wasserausnutzungseffizienz (Water Use Efficiency, WUE), verbesserte Stickstoffausnutzungseffizienz (Nitrogen Use Efficiency, NUE) usw.).

Ertrag

[0131] Der Begriff "Ertrag" bedeutet im Allgemeinen einen messbaren Gewinn von wirtschaftlichem Wert, typischerweise in Bezug auf eine spezifizierte Nutzpflanze, ein Gebiet und eine Zeitperiode. Individuelle Pflanzenteile tragen auf Basis ihrer Anzahl, Größe und/oder ihres Gewichts direkt zum Ertrag bei, oder die tatsächliche Ausbeute ist der Ertrag pro Quadratmeter für eine Nutzpflanze und pro Jahr, was mittels Dividieren der Gesamtproduktion (einschließend sowohl geerntete als auch geschätzte Produktion) durch die bepflanzten Quadratmeter bestimmt wird. Die Begriffe "Ertrag" einer Pflanze und "Pflanzenertrag" werden hier austauschbar verwendet und sollen sich auf vegetative Biomasse wie Wurzel- und/oder Sprossbiomasse, auf die reproduktiven Organe und/oder auf Verbreitungseinheiten wie Samen dieser Pflanze beziehen.

[0132] Nimmt man Mais als Beispiel, so kann sich eine Ertragserhöhung unter anderem in einem oder mehreren der Folgenden zeigen: einer Erhöhung der Anzahl an Pflanzen, welche pro Quadratmeter hervorgebracht werden, einer Erhöhung der Anzahl von Ähren pro Pflanze, einer Erhöhung der Anzahl an Ackerreihen, der Anzahl der Kerne pro Reihe, des Kerngewichts, des Tausendkerngewichts, der Ährenlänge/des Ährendurchmessers, einer Erhöhung der Samenfüllrate (welche die Anzahl an gefüllten Samen dividiert durch die Gesamtzahl an Samen und multipliziert mit 100 ist). Nimmt man Reis als Beispiel, so kann sich eine Ertragserhöhung unter anderem als Erhöhung eines oder mehrerer der Folgenden zeigen: Anzahl an Pflanzen pro Quadratmeter, Anzahl von Rispen pro Pflanze, Rispenlänge, Anzahl an Ährchen pro Rispe, Anzahl an Blüten (Blütchen) pro Rispe, einer Erhöhung der Samenfüllrate (welche die Anzahl an gefüllten Samen dividiert durch die Gesamtzahl an Samen und multipliziert mit 100 ist), einer Erhöhung des Tausendkerngewichts. Bei Reis kann auch eine Flutungstoleranz zu einem erhöhten Ertrag führen.

[0133] Die Blüten von Mais sind unisexuell; männliche Blütenstände (Fahnen) haben ihren Ursprung im apikalen Stamm und weibliche Blütenstände (Ähren) gehen von den Spitzen der Achselknospen aus. Der weibliche Blütenstand produziert ein Paar Ährchen an der Oberfläche einer zentralen Achse (Kolben). Jedes weibliche Ährchen schließt zwei fruchtbare Einzelblüten ein, von denen gewöhnlich eine nach einer Befruchtung zum Maiskorn reift. Nimmt man Mais als Beispiel, so kann sich eine Ertragserhöhung unter anderem in einem oder mehreren der Folgenden zeigen: einer Erhöhung der Anzahl an Pflanzen, welche pro Quadratmeter hervorgebracht werden, einer Erhöhung der Anzahl von Ähren pro Pflanze, einer Erhöhung der Anzahl an Ackerreihen, der Anzahl der Kerne pro Reihe, des Kerngewichts, des Tausendkerngewichts, der Ährenlänge/des Ährendurchmessers, einer Erhöhung der Samenfüllrate (welche die Anzahl an mit Samen gefüllten Einzelblüten (d. h. samenhaltigen Einzelblüten) dividiert durch die Gesamtzahl an Einzelblüten und multipliziert mit 100 ist).

[0134] Blütenstände in Reispflanzen werden als Rispen bezeichnet. Die Rispe trägt Ährchen, bei denen es sich um die Grundeinheit der Rispe handelt und die aus einem Blütenstiel und einer Einzelblüte besteht. Die Einzelblüte befindet sich auf dem Blütenstiel und umfasst eine Blüte, die von zwei Schutzspelzen bedeckt ist: eine größere Spelze (die Deckspelze bzw. das Lemma) und eine kürzere Spelze (die Vorspelze bzw. das Palea). Nimmt man also Reis als Beispiel, so kann sich eine Ertragserhöhung unter anderem als Erhöhung eines oder mehrerer der Folgenden zeigen: Anzahl an Pflanzen pro Quadratmeter, Anzahl von Rispen pro

Pflanze, Rispenlänge, Anzahl an Ährchen pro Rispe, Anzahl an Blüten (bzw. Einzelblüten) pro Rispe, einer Erhöhung der Samenfüllrate (welche die Anzahl an mit Samen gefüllten Einzelblüten (d. h. samenhaltigen Einzelblüten) dividiert durch die Gesamtzahl an Einzelblüten und multipliziert mit 100 ist), einer Erhöhung des Tausendkerngewichts.

Frühe Blütezeit

[0135] Pflanzen mit einer "frühen Blütezeit", so wie der Begriff hier verwendet wird, sind Pflanzen, die eher zu blühen beginnen als Vergleichspflanzen. Dieser Ausdruck bezieht sich daher auf Pflanzen, die eher zu blühen beginnen. Die Blütezeit von Pflanzen lässt sich abschätzen, indem man die Anzahl an Tagen ("Zeit bis zur Blüte") zwischen dem Säen und dem Erscheinen einer ersten Blüte zählt. Die "Blütezeit" einer Pflanze lässt sich zum Beispiel unter Anwendung des in WO 2007/093444 beschriebenen Verfahrens bestimmen.

Jungpflanzenvitalität

[0136] "Jungpflanzenvitalität" bezieht sich auf aktives gesundes, gut ausgewogenes Wachstum, insbesondere während der frühen Stadien des Pflanzenwachstums, und kann aus einer erhöhten Pflanzenfitness resultieren, beispielsweise aufgrund dessen, dass die Pflanzen besser an ihre Umgebung angepasst sind (d. h. Optimieren der Verwendung von Energieressourcen und der Aufteilung zwischen Spross und Wurzel). Pflanzen mit Jungpflanzenvitalität zeigen außerdem erhöhtes Setzling-Überleben und eine bessere Hervorbringung der Nutzpflanze, was häufig zu sehr gleichmäßigen Feldern (wobei die Nutzpflanze in gleichmäßiger Weise wächst, d. h. die Mehrheit der Pflanzen die verschiedenen Stadien der Entwicklung im Wesentlichen zur gleichen Zeit erreicht) und oftmals zu einem besseren und höheren Ertrag führt. Deshalb kann die Jungpflanzenvitalität durch Messen verschiedener Faktoren, wie etwa Tausendkerngewicht, Prozentsatz der Keimung, Prozentsatz der Emergenz, Setzlingswachstum, Setzlingshöhe, Wurzellänge, Wurzel- und Sprossbiomasse und vielen anderen, bestimmt werden.

Erhöhte Wachstumsrate

[0137] Die erhöhte Wachstumsrate kann für einen oder mehrere Teile einer Pflanze (einschließlich Samen) spezifisch sein oder kann im Wesentlichen überall in der gesamten Pflanze herrschen. Pflanzen mit einer erhöhten Wachstumsrate können einen kürzeren Lebenszyklus aufweisen. Der Lebenszyklus einer Pflanze kann so verstanden werden, dass die Zeit gemeint ist, welche benötigt wird, um von einem trockenen reifen Samen bis zu dem Stadium heranzuwachsen, in welchem die Pflanze trockene reife Samen erzeugt hat, die ähnlich zum Ausgangsmaterial sind. Dieser Lebenszyklus kann von Faktoren, wie Keimschnelligkeit, Jungpflanzenvitalität, Wachstumsrate, Grünheits-Index, Blütezeit und Geschwindigkeit der Samenreifung, beeinflusst werden. Die Erhöhung der Wachstumsrate kann an einer oder mehreren Stufen im Lebenszyklus einer Pflanze oder im Wesentlichen während des gesamten Pflanzenlebenszyklus stattfinden. Eine erhöhte Wachstumsrate während der frühen Stadien im Lebenszyklus einer Pflanze kann eine gesteigerte Wuchskraft reflektieren. Die Erhöhung in der Wachstumsrate kann den Erntezyklus einer Pflanze verändern, was gestattet, dass Pflanzen später ausgesät und/oder früher geerntet werden, als es sonst möglich wäre (ein ähnlicher Effekt kann mit einer früheren Blütezeit erreicht werden). Wenn die Wachstumsrate ausreichend erhöht ist, kann sie das weitere Aussäen von Samen derselben Pflanzenspezies ermöglichen (zum Beispiel Säen und Ernten von Reispflanzen, gefolgt von Säen und Ernten weiterer Reispflanzen, alle innerhalb einer herkömmlichen Wachstumsperiode). Wenn die Wachstumsrate ausreichend erhöht wird, kann sie, in ähnlicher Weise, das weitere Aussäen von Samen anderer Pflanzenspezies ermöglichen (zum Beispiel das Säen und Ernten von Maispflanzen, gefolgt zum Beispiel von Aussaat und gegebenenfalls Ernte von Sojabohne, Kartoffel oder einer beliebigen anderen geeigneten Pflanze). Im Falle mancher Nutzpflanzen kann auch das mehrmalige Abernten vom gleichen Wurzelstock möglich sein. Das Ändern des Erntezyklus einer Pflanze kann zu einer Erhöhung der jährlichen Biomasseproduktion pro Quadratmeter führen (aufgrund einer Erhöhung der Mehrmaligkeit (z. B. in einem Jahr), mit der eine beliebige jeweilige Pflanze angebaut und geerntet werden kann). Eine Erhöhung der Wachstumsrate kann auch die Kultivierung transgener Pflanzen in einem weiteren geographischen Gebiet als bei ihren Wildtyp-Gegenstücken zulassen, da die territorialen Eingrenzungen für den Anbau einer Nutzpflanze häufig von nachteiligen Umweltbedingungen entweder zur Zeit des Pflanzens (frühe Jahreszeit) oder zur Zeit des Erntens (späte Jahreszeit) bestimmt werden. Derartige nachteilige Bedingungen können vermieden werden, wenn der Erntezyklus verkürzt wird. Die Wachstumsrate lässt sich durch Ableiten verschiedener Parameter aus den Wachstumskurven bestimmen, wobei es sich bei den Parametern unter anderem um die folgenden handeln kann: T-Mid (die Zeit, die Pflanzen zum Erreichen von 50% ihrer Maximalgröße benötigen) und T-90 (die Zeit, die Pflanzen zum Erreichen von 90% ihrer Maximalgröße benötigen).

Stressresistenz

[0138] Eine Erhöhung des Ertrags und/oder der Wachstumsrate tritt ungeachtet dessen, ob sich die Pflanze unter Nichtstressbedingungen befindet oder ob die Pflanze verschiedenen Stressformen ausgesetzt ist, im Vergleich zu Kontrollpflanzen auf. Pflanzen reagieren in der Regel auf eine Exposition an Stress, indem sie langsamer wachsen. Bei Bedingungen von starkem Stress kann die Pflanze das Wachstum sogar vollständig einstellen. Mäßiger Stress ist demgegenüber hierin als jeglicher Stress definiert, dem eine Pflanze ausgesetzt ist, der nicht dazu führt, dass die Pflanze das Wachstum vollständig ohne Fähigkeit zur Wiederaufnahme des Wachstums einstellt. Mäßiger Stress im Sinne der Erfindung führt zu einer Verringerung des Wachstums der gestressten Pflanzen von weniger als 40%, 35%, 30% oder 25%, weiter bevorzugt weniger als 20% oder 15%, im Vergleich zur Kontrollpflanze unter Nichtstressbedingungen. Auf Grund der Fortschritte in den landwirtschaftlichen Praktiken (Bewässerungs-, Düngungs-, Pestizidbehandlungen) werden starke Stressfaktoren bei kultivierten Nutzpflanzen nicht häufig angetroffen. Als eine Konsequenz ist das von mäßigem Stress induzierte beeinträchtigte Wachstum häufig ein unerwünschtes Merkmal für die Landwirtschaft. Mäßige Stressfaktoren sind die alltäglichen biotischen und/oder abiotischen (umweltbedingten) Stressfaktoren, denen eine Pflanze ausgesetzt ist. Abiotische Stressfaktoren können zurückzuführen sein auf Dürre oder überschüssiges Wasser, anaeroben Stress, Salzstress, chemische Toxizität, oxidativen Stress und heiße, kalte oder Frost-Temperaturen.

[0139] Biotische Stressfaktoren sind typischerweise diejenigen Stressarten, welche von Pathogenen wie Bakterien, Viren, Pilzen, Nematoden und Insekten hervorgerufen werden.

[0140] Der abiotische Stress kann ein osmotischer Stress sein, der von einem Wasserstress (z. B. wegen Dürre), Salzstress oder einem Froststress verursacht wird. Bei abiotischem Stress kann es sich auch um oxidativen Stress oder Kältestress handeln. "Froststress" soll sich auf Stress aufgrund von Frosttemperaturen, d. h. Temperaturen, bei denen verfügbare Wassermoleküle gefrieren und zu Eis werden, beziehen. "Kältestress", der auch als "Kühlstress" bezeichnet wird, soll sich auf kalte Temperaturen, z. B. Temperaturen unter 10°, oder vorzugsweise unter 5°C, bei denen Wassermoleküle jedoch nicht gefrieren, beziehen. Wie von Wang et al. (Planta (2003) 218: 1–14) berichtet, führt abiotischer Stress zu einer Reihe von morphologischen, physiologischen, biochemischen und molekularen Veränderungen, welche Pflanzenwachstum und Produktivität nachteilig beeinflussen. Dürre, Salzgehalt, extreme Temperaturen und oxidativer Stress sind bekanntermaßen miteinander verbunden und können Wachstums- und Zellschaden durch ähnliche Mechanismen herbeiführen. Rabbani et al. (Plant Physiol (2003) 133: 1755–1767) beschreiben ein besonders hohes Ausmaß an "Wechselverbindung" zwischen Dürre-Stress und Stress durch hohen Salzgehalt. Zum Beispiel manifestieren sich Dürre und/oder Versalzung hauptsächlich als osmotischer Stress, was zur Zerstörung von Homeostase und Ionenverteilung in der Zelle führt. Oxidativer Stress, welcher Stress durch hohe oder niedrige Temperatur, Salzgehalt oder Dürre oft begleitet, kann die Denaturierung von funktionellen Proteinen und Strukturproteinen verursachen. Als Konsequenz aktivieren diese verschiedenartigen Umwelt-Stressfaktoren häufig ähnliche Zell-Signalwege und zelluläre Antworten, wie etwa die Produktion von Stressproteinen, die Heraufregulierung von Antioxidantien, die Akkumulierung von kompatiblen gelösten Stoffen und einen Wachstumsstillstand. Der Begriff "Nichtstress"bedingungen, wie hierin verwendet, bezeichnet diejenigen Umweltbedingungen, welche ein optimales Wachstum von Pflanzen gestatten. Der Fachmann auf dem Gebiet kennt normale Bodenbedingungen und klimatische Bedingungen für eine gegebene Örtlichkeit. Pflanzen mit optimalen Wachstumsbedingungen (die unter Nichtstressbedingungen kultiviert wurden) ergeben typischerweise, mit zunehmender Präferenz, mindestens 97%, 95%, 92%, 90%, 87%, 85%, 83%, 80%, 77% oder 75% der durchschnittlichen Produktion einer solchen Pflanze in einer gegebenen Umgebung. Die durchschnittliche Produktion kann auf der Grundlage von Ernte und/oder Saison berechnet werden. Der Fachmann auf dem Gebiet kennt Durchschnittsertrags-Produktionen einer Nutzpflanze.

[0141] Die Verfahren der vorliegenden Erfindung können insbesondere unter Nichtstressbedingungen durchgeführt werden. In einem Beispiel können die Verfahren der vorliegenden Erfindung unter Nichtstressbedingungen wie milder Dürre durchgeführt werden, wodurch man Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält.

[0142] Bei einer anderen Ausführungsform können die Verfahren der vorliegenden Erfindung unter Stressbedingungen durchgeführt werden.

[0143] In einem Beispiel können die Verfahren der vorliegenden Erfindung unter Stressbedingungen wie Dürre durchgeführt werden, wodurch man Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält.

[0144] In einem anderen Beispiel können die Verfahren der vorliegenden Erfindung unter Stressbedingungen wie Nährstoffmangel durchgeführt werden, wodurch man Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält.

[0145] Ein Nährstoffmangel kann aus einem Mangel an Nährstoffen wie unter anderem Stickstoff, Phosphaten und anderen phosphorhaltigen Verbindungen, Kalium, Calcium, Magnesium, Mangan, Eisen und Bor resultieren.

[0146] In noch einem anderen Beispiel können die Verfahren der vorliegenden Erfindung unter Stressbedingungen wie Salzstress durchgeführt werden, wodurch man Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält. Der Begriff Salzstress ist nicht auf Kochsalz (NaCl) beschränkt, sondern kann sich unter anderem auch auf eine oder mehrere der folgenden Substanzen beziehen: NaCl, KCl, LiCl, MgCl₂, CaCl₂.

[0147] In noch einem anderen Beispiel können die Verfahren der vorliegenden Erfindung unter Stressbedingungen wie Kältestress oder Froststress durchgeführt werden, wodurch man Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält.

Erhöhen/Verbessern/Steigern

[0148] Die Begriffe "erhöhen", "verbessern" oder "steigern" sind austauschbar und sollen im Sinne der Patentanmeldung mindestens 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% oder 10%, vorzugsweise mindestens 15% oder 20%, weiter bevorzugt 25%, 30%, 35% oder 40% mehr Ertrag und/oder Wachstum im Vergleich zu Kontrollpflanzen, wie hierin definiert, bedeuten.

Samenertrag

[0149] Erhöhter Samenertrag kann sich als eines oder mehrere der Folgenden manifestieren:

- (a) eine Zunahme bei der Samenbiomasse (Gesamtsamengewicht), welche auf Einzelsamenbasis und/oder pro Pflanze und/oder pro Quadratmeter bezogen sein kann;
- (b) eine erhöhte Anzahl an Blüten pro Pflanze;
- (c) eine erhöhte Anzahl an Samen und/oder eine erhöhte Anzahl an gefüllten Samen;
- (d) eine erhöhte Samenfüllrate (welche als das Verhältnis zwischen der Zahl gefüllter Samen, dividiert durch die Gesamtzahl an Samen ausgedrückt wird);
- (e) ein erhöhter Ernteindex, welcher als ein Verhältnis des Ertrags an erntefähigen Teilen, wie Samen, dividiert durch die Biomasse der oberirdischen Pflanzenteile, ausgedrückt wird; und
- (f) ein erhöhtes Tausendkerngewicht (TKW), welches aus der gezählten Anzahl gefüllter Samen und ihrem Gesamtgewicht extrapoliert wird. Ein erhöhtes TKW kann aus erhöhter Samengröße und/oder erhöhtem Samengewicht resultieren und kann auch aus einer Erhöhung der Embryo- und/oder Endospermgröße resultieren.

[0150] Die Ausdrücke "gefüllte Einzelblüten" und "gefüllte Samen" können als Synonyme betrachtet werden.

[0151] Eine Erhöhung im Samenertrag kann sich auch als eine Erhöhung in Samengröße und/oder Samenvolumen manifestieren. Ferner kann sich eine Erhöhung des Samenertrags auch als eine Erhöhung bei Samenfläche und/oder Samenlänge und/oder Samenbreite und/oder Samenumfang manifestieren.

Grünheits-Index

[0152] Der "Grünheits-Index", wie hierin verwendet, wird aus Digitalbildern von Pflanzen berechnet. Für jedes Pixel, das zu dem Pflanzenobjekt auf dem Bild gehört, wird das Verhältnis des Grünwerts gegenüber dem Rotwert (im RGB-Modell zum Codieren von Farbe) berechnet. Der Grünheits-Index wird als der Prozentsatz an Pixeln ausgedrückt, für den das Grün-zu-Rot-Verhältnis einen gegebenen Schwellenwert übersteigt. Unter normalen Wachstumsbedingungen, unter Salzstress-Wachstumsbedingungen und unter Wachstumsbedingungen mit verringerter Nährstoffverfügbarkeit wird der Grünheits-Index von Pflanzen in der letzten Abbildung vor dem Aufblühen gemessen. Im Gegensatz dazu wird der Grünheits-Index von Pflanzen unter Dürrestress-Wachstumsbedingungen in der ersten Abbildung nach der Dürre gemessen.

Biomasse

[0153] Der Ausdruck "Biomasse" soll sich, so wie er hier verwendet wird, auf das Gesamtgewicht einer Pflanze beziehen. Bei der Definition von Biomasse kann man einen Unterschied zwischen der Biomasse eines oder mehrerer Teile einer Pflanze machen, welche Folgendes einschließen können:

- oberirdische (erntbare) Teile wie z. B., jedoch nicht darauf beschränkt, Sprossbiomasse, Samenbiomasse, Blattbiomasse usw. und/oder
- unterirdische (erntbare) Teile wie z. B., jedoch nicht darauf beschränkt, Wurzelbiomasse usw., und/oder
- vegetative Biomasse wie Wurzelbiomasse, Sprossbiomasse usw., und/oder
- Fortpflanzungsorgane und/oder
- Diasporen wie Samen.

Markerunterstützte Züchtungsprogramme

[0154] Solche Züchtungsprogramme erfordern manchmal das Einbringen von allelischer Variation durch mutagene Behandlung der Pflanzen, wobei zum Beispiel EMS-Mutagenese angewandt wird; alternativ dazu kann das Programm mit einer Sammlung von Allelvarianten mit unabsichtlich verursachtem sogenanntem "natürlichen" Ursprung beginnen. Die Identifizierung von Allelvarianten findet dann zum Beispiel mittels PCR statt. Hierauf folgt ein Schritt zur Selektion von höhenwertigen Allelvarianten der betreffenden Sequenz, welche erhöhten Ertrag ergeben. Die Selektion wird in der Regel durch Überwachen der Wachstumsleistung von Pflanzen, die verschiedene Allelvarianten der betreffenden Sequenz enthalten, ausgeführt. Die Wachstumsleistung kann in einem Gewächshaus oder auf dem Feld überwacht werden. Weitere wahlfreie Schritte beinhalten das Kreuzen von Pflanzen, in denen die höherwertige Allelvariante identifiziert worden ist, mit einer anderen Pflanze. Dies könnte beispielsweise angewandt werden, um eine Kombination interessanter phänotypischer Merkmale zu erzeugen.

Verwendung als Sonden beim Genkartieren

[0155] Die Verwendung von für das interessierende Protein codierenden Nukleinsäuren zur genetischen und physikalischen Kartierung der Gene erfordert lediglich eine Nukleinsäuresequenz von mindestens 15 Nukleotiden Länge. Diese Nukleinsäuren können als Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus(RFLP)-Marker verwendet werden. Southern-Blots (Sambrook J., Fritsch, EF., und Maniatis, T., (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*) von restriktionsverdauter pflanzlicher genomischer DNA können mit den für das interessierende Protein codierenden Nukleinsäuren sondiert werden. Die resultierenden Bandenmuster können dann genetischen Analysen mit Hilfe von Computerprogrammen wie MapMaker (Lander et al. (1987) *Genomics* 1: 174–181) unterzogen werden, um eine genetische Karte zu erstellen. Darüber hinaus können die Nukleinsäuren verwendet werden, um Southern-Blots zu sondieren, die mit Restriktionsendonuklease behandelte genomische DNAs aus einer Auswahl von Individuen enthalten, welche Eltern und Nachkommen einer definierten genetischen Kreuzung repräsentieren. Die Segregation der DNA-Polymorphismen wird aufgezeichnet und verwendet, um die Position der für das interessierende Protein codierenden Nukleinsäure in der genetischen Karte zu berechnen, welche zuvor unter Verwendung dieser Population erhalten wurde (Botstein et al. (1980) *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314–331).

[0156] Die Herstellung und Anwendung von pflanzenabgeleiteten Sonden zur Verwendung in der genetischen Kartierung ist in Bernatzky und Tanksley (1986) *Plant Mol. Biol. Reporter* 4: 37–41 beschrieben. Zahlreiche Veröffentlichungen beschreiben die genetische Kartierung von spezifischen cDNA-Klonen unter Anwendung der oben geschilderten Methodik oder Variationen davon. Zum Beispiel können F2-Intercross-Populationen, Rückkreuzungs-Populationen, wahllos gekreuzte Populationen, beinahe isogene Linien und andere Individuengruppierungen für die Kartierung verwendet werden. Derartige Methodiken sind dem Fachmann allgemein bekannt.

[0157] Die Nukleinsäuresonden können auch für eine physikalische Kartierung verwendet werden (d. h. Platzierung von Sequenzen auf physikalischen Karten; siehe Hoheisel et al. in: *Non-mammalian Genomic Analysis: A Practical Guide*, Academic Press 1996, S. 319–346, und darin zitierte Literaturstellen).

[0158] In einer anderen Ausführungsform können die Nukleinsäuresonden bei der direkten Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung(FISH)-Kartierung verwendet werden (Trask (1991) *Trends Genet.* 7: 149–154). Obwohl derzeitige Verfahren zur FISH-Kartierung die Verwendung großer Klone begünstigen (mehrere kb bis einige hundert kb; siehe Laan et al. (1995) *Genome Res.* 5: 13-20), können Verbesserungen der Empfindlichkeit eine Ausführung der FISH-Kartierung unter Verwendung kürzerer Sonden erlauben.

[0159] Eine Vielzahl von auf Nukleinsäure-Amplifikation basierenden Verfahren zur genetischen und physikalischen Kartierung kann unter Verwendung der Nukleinsäuren durchgeführt werden. Zu Beispielen zählen die allelspezifische Amplifikation (Kazazian (1989) J. Lab. Clin. Med 11: 95–96), Polymorphismus von PCR-amplifizierten Fragmenten (CAPS; Sheffield et al. (1993) Genomics 16: 325–332), allelspezifische Ligation (Landegren et al. (1988) Science 241: 1077–1080), Nukleotid-Verlängerungsreaktionen (Sokolov (1990) Nucleic Acid Res. 18: 3671), Radiation Hybrid Mapping bzw. Bestrahlungs-Hybridkartierung (Walter et al. (1997) Nat. Genet. 7: 22–28) und Happy Mapping (Dear und Cook (1989) Nucleic Acid Res. 17: 6795–6807). Für diese Verfahren wird die Sequenz einer Nukleinsäure verwendet, um Primerpaare zur Verwendung in der Amplifikationsreaktion oder in Primerverlängerungsreaktionen zu entwerfen und herzustellen. Das Entwerfen derartiger Primer ist dem Fachmann auf dem Gebiet allgemein bekannt. In Verfahren unter Anwendung von PCR-basierter genetischer Kartierung kann es notwendig sein, DNA-Sequenzunterschiede zwischen den Eltern der Kartierungskreuzung in der Region zu identifizieren, die der vorliegenden Nukleinsäuresequenz entspricht. Dies ist jedoch im Allgemeinen für Kartierungsverfahren nicht notwendig.

Pflanze

[0160] Der Begriff "Pflanze", wie hierin verwendet, beinhaltet ganze Pflanzen, Vorfahren und Nachkommen der Pflanzen sowie Pflanzenteile, einschließlich Samen, Sprosse, Stängel, Blätter, Wurzeln (einschließlich Knollen), Blüten und Gewebe und Organe, wobei jedes der Zuvorgenannten das Gen/die Nukleinsäure von Interesse umfasst. Der Begriff "Pflanze" beinhaltet außerdem Pflanzenzellen, Suspensionskulturen, Callusgewebe, Embryos, meristematische Regionen, Gametophyten, Sporophyten, Pollen und Mikrosporen, wobei wiederum jedes der Zuvorgenannten das Gen/die Nukleinsäure von Interesse umfasst.

[0161] Zu Pflanzen, welche in den Verfahren der Erfindung besonders nützlich sind, zählen alle Pflanzen, die der Superfamilie Viridiplantae angehören, insbesondere monokotyle und dikotyle Pflanzen, einschließlich Viehfutter- oder Grünfutter-Leguminosen, Zierpflanzen, Nahrungspflanzen, Bäume oder Sträucher, die aus der Liste ausgewählt sind, die unter anderem *Acer* spp., *Actinidia* spp., *Abelmoschus* spp., *Agave sisalana*, *Agropyron* spp., *Agrostis stolonifera*, *Allium* spp., *Amaranthus* spp., *Ammophila arenaria*, *Ananas comosus*, *Annona* spp., *Apium graveolens*, *Arachis* spp., *Artocarpus* spp., *Asparagus officinalis*, *Avena* spp. (z. B. *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida*), *Averrhoa carambola*, *Bambusa* sp., *Benincasa hispida*, *Bertholletia excelsa*, *Beta vulgaris*, *Brassica* spp. (z. B. *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [Canola, Ölsamenraps, Rübsen]), *Cadaba farinosa*, *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis sativa*, *Capsicum* spp., *Carex elata*, *Carica papaya*, *Carissa macro carpa*, *Carya* spp., *Carthamus tinctorius*, *Castanea* spp., *Ceiba pentandra*, *Cichorium endivia*, *Cinnamomum* spp., *Citrullus lanatus*, *Citrus* spp., *Cocos* spp., *Coffea* spp., *Colocasia esculenta*, *Cola* spp., *Corchorus* sp., *Coriandrum sativum*, *Corylus* spp., *Crataegus* spp., *Crocus sativus*, *Cucurbita* spp., *Cucumis* spp., *Cynara* spp., *Daucus carota*, *Desmodium* spp., *Dimocarpus longan*, *Dioscorea* spp., *Diospyros* spp., *Echinochloa* spp., *Elaeis* (z. B. *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*), *Eleusine coracana*, *Eragrostis tef*, *Erianthus* sp., *Eriobotrya japonica*, *Eucalyptus* sp., *Eugenia uniflora*, *Fagopyrum* spp., *Fagus* spp., *Festuca arundinacea*, *Ficus carica*, *Fortunella* spp., *Fragaria* spp., *Ginkgo biloba*, *Glycine* spp. (z. B. *Glycine max*, *Soja hispida* oder *Soja max*), *Gossypium hirsutum*, *Helianthus* spp. (z. B. *Helianthus annuus*), *Hemerocallis fulva*, *Hibiscus* spp., *Hordeum* spp. (z. B. *Hordeum vulgare*), *Ipomoea batatas*, *Juglans* spp., *Lactuca sativa*, *Lathyrus* spp., *Lens culinaris*, *Linum usitatissimum*, *Litchi chinensis*, *Lotus* spp., *Luffa acutangula*, *Lupinus* spp., *Luzula sylvatica*, *Lycopersicon* spp. (z. B. *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*), *Macrotyloma* spp., *Malus* spp., *Malpighia emarginata*, *Mammea americana*, *Mangifera indica*, *Manihot* spp., *Manilkara zapota*, *Medicago sativa*, *Melilotus* spp., *Mentha* spp., *Miscanthus sinensis*, *Momordica* spp., *Morus nigra*, *Musa* spp., *Nicotiana* spp., *Olea* spp., *Opuntia* spp., *Ornithopus* spp., *Oryza* spp. (z. B. *Oryza sativa*, *Oryza latifolia*), *Panicum miliaceum*, *Panicum virgatum*, *Passiflora edulis*, *Pastinaca sativa*, *Pennisetum* sp., *Persea* spp., *Petroselinum crispum*, *Phalaris arundinacea*, *Phaseolus* spp., *Phleum pratense*, *Phoenix* spp., *Phragmites australis*, *Physalis* spp., *Pinus* spp., *Pistacia vera*, *Pisum* spp., *Poa* spp., *Populus* spp., *Prosopis* spp., *Prunus* spp., *Psidium* spp., *Punica granatum*, *Pyrus communis*, *Quercus* spp., *Raphanus sativus*, *Rheum rhabarbarum*, *Ribes* spp., *Ricinus communis*, *Rubus* spp., *Saccharum* spp., *Salix* sp., *Sambucus* spp., *Secale cereale*, *Sesamum* spp., *Sinapis* sp., *Solanum* spp. (z. B. *Solanum tuberosum*, *Solanum integrifolium* oder *Solanum lycopersicum*), *Sorghum bicolor* *Spinacia* spp., *Syzygium* spp., *Tagetes* spp., *Tamarindus indica*, *Theobroma cacao*, *Trifolium* spp., *Tripsacum dactyloides*, *Triticosecale rimpai*, *Triticum* spp. (z. B. *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum*, *Triticum monococcum* oder *Triticum vulgare*), *Tropaeolum minus*, *Tropaeolum majus*, *Vaccinium* spp., *Vicia* spp., *Vigna* spp., *Viola odorata*, *Vitis* spp., *Zea mays*, *Zizania palustris*, *Ziziphus* spp. umfasst.

Kontrollpflanze(n)

[0162] Die Auswahl von geeigneten Kontrollpflanzen ist ein routinemäßiger Teil eines experimentellen Ansatzes und kann entsprechende Wildtyp-Pflanzen oder entsprechende Pflanzen ohne das Gen von Interesse einschließen. Die Kontrollpflanze stammt typischerweise aus der gleichen Pflanzenart oder sogar aus der gleichen Varietät wie die zu untersuchende Pflanze. Die Kontrollpflanze kann auch eine Nullizygote der zu untersuchenden Pflanze sein. Nullizygoten sind Individuen, denen das Transgen aufgrund von Segregation fehlt. Eine "Kontrollpflanze", wie hierin verwendet, bezieht sich nicht nur auf ganze Pflanzen, sondern auch auf Pflanzenteile, einschließlich Samen und Samentteile.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

LEJ1-Polypeptid – ExbB-Polypeptid – NMPRT-Polypeptid

[0163] Überraschenderweise wurde nun festgestellt, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält. Gemäß einer ersten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und gegebenenfalls auf Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen selektiert.

[0164] Weiterhin wurde nun überraschenderweise festgestellt, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält. Gemäß einer zweiten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für ein ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und gegebenenfalls auf Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen selektiert.

[0165] Überraschenderweise wurde nun festgestellt, dass man durch Modulieren der Expression einer für eine wie hier definierte NMPRT codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält. Gemäß einer dritten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für eine wie hier definierte NMPRT codierenden Nukleinsäure moduliert.

[0166] Gemäß einer anderen Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zur Kontrollpflanzen bereit, welches die folgenden Schritte umfasst:

- (i) Modulieren der Expression einer für ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze und
- (ii) Selektieren hinsichtlich Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen.

[0167] Bei einem bevorzugten Verfahren zum Modulieren (vorzugsweise Erhöhen) der Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure bringt man eine für ein LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze ein und exprimiert sie dort. Bei einem bevorzugten Verfahren zum Modulieren, vorzugsweise Erhöhen, der Expression einer für ein ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure bringt man ebenfalls eine für ein ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze ein und exprimiert sie dort, und bei einem bevorzugten Verfahren zum Modulieren, vorzugsweise Erhöhen, der Expression einer für ein wie hier definiertes NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure bringt man eine für die NMPRT codierende Nukleinsäure in eine Pflanze ein und exprimiert sie dort.

[0168] Es sei angemerkt, dass die Ausdrücke "Nukleinsäuresequenz" und "Nukleinsäure" im Rahmen der vorliegenden Erfindung austauschbar verwendet werden. Auch die Ausdrücke "Aminosäuresequenz" und "Aminosäure" werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung austauschbar verwendet.

[0169] Gemäß einer Ausführungsform soll im Folgenden ein Verweis auf ein "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignetes Protein" so verstanden werden, dass damit ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid gemeint ist. Jeder Verweis auf eine "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäure" soll im Folgenden so verstanden werden, dass damit eine Nukleinsäure gemeint ist, die dazu fähig ist, für ein solches LEJ1-Polypeptid zu codieren. Bei der in eine Pflanze einzuführenden (und daher für die Durchführung der erfindungs-

gemäß Verfahren geeigneten) Nukleinsäure handelt es sich um eine beliebige Nukleinsäure, die für den im Folgenden beschriebenen Proteintyp codiert und die im Folgenden auch als "LEJ1-Nukleinsäure" oder "LEJ1-Gen" bezeichnet wird.

[0170] Ein wie hier definiertes "LEJ1-Polypeptid" bezieht sich auf ein beliebiges Polypeptid, welches eine Cystathionine-beta-Synthasedomäne (Interpro-Eintrag IPR000644, PFAM-Eintrag PF00571) oder mindestens eine, vorzugsweise zwei, CBS-Domäne(n) (ProfileScan PS51371 oder SMART SM00116) umfasst. Vorzugsweise umfasst das LEJ1-Polypeptid außerdem eine Lokalisierungssignalsequenz für den Chloroplasten.

[0171] Weiterhin bevorzugt umfasst das LEJ1-Polypeptid außerdem eines oder mehrere der folgenden Motive:

Motiv 1 (SEQ ID NR: 205):

HVVKP[TS]T[TS]VD[ED]ALE[AL]LVE[HKN][KR][IV]TG[FL]PV[IV]DD[DN]W[KTN]LVG[VL]
VSDYDLLALDSISG

Motiv 2 (SEQ ID NR: 206):

T[NS][ML]FP[ED]VDSTWKT[FNE][VIL]QKL[LI]SKT[NY]GKV[VI]GD[LV]MTP[AS]PLVVR

Motiv 3 (SEQ ID NR: 207):

NLEDAARLLLETK[YF]RRLPVVD[SA][DE]GKL[VI]GI[IL]TRGNV

Motiv 4 (SEQ ID NR: 208):

P[AG][KR]N[GE]GYTVGDFMT[GP][RK]Q[HN]LHVVKPSTSVDDALELLVEKKVTGLPVIDD[DN]W

Motiv 5 (SEQ ID NR: 209):

[GR][RS]SQN[DE]TN[LM]FP[ND]VDS[TS]WKT[FNE]LQKLISK[T][HY]G[KQ]VVGDLMTSP[LV]VVR[GD]ST

Motiv 6 (SEQ ID NR: 210):

NLEDAARLLLETKFRRLPVVD[SA]DGKILIGILTRGNVVRAALQIKRETE[NK]S[TA]

[0172] Die wie hier verwendeten Begriffe "LEJ1" oder "LEJ1-Polypeptid" sollen auch wie hier unter "LEJ1-Polypeptid" definierte Homologe einschließen.

[0173] Die Motive 1 bis 6 wurden unter Anwendung des MEME-Algorithmus (Bailey und Elkan, Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994) abgeleitet. Bei den einzelnen Positionen innerhalb eines MEME-Motivs sind die Reste gezeigt, die in dem abgefragten Satz von Sequenzen mit einer Häufigkeit von mehr als 0,2 vorhanden sind. Reste in eckigen Klammern stellen Alternativen dar.

[0174] Besonders bevorzugt umfasst das LEJ1-Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 2, mindestens 3, mindestens 4, mindestens 5 oder alle 6 Motive.

[0175] Zusätzlich oder alternativ dazu hat das Homologe eines LEJ1-Proteins mit zunehmender Präferenz mindestens 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Gesamtsequenzidentität zur Aminosäure gemäß SEQ ID NR: 2, mit der Maßgabe, dass das homologe Protein eines oder mehrere der wie oben umrissenen konservierten Motive umfasst. Die Gesamtsequenzidentität wird unter Anwendung eines globalen Alignment-Algorithmus, wie dem Needleman-Wunsch-Algorithmus im Programm GAP (GCG Wisconsin Package, Accelrys), vorzugsweise mit Standardparametern und vorzugsweise mit Sequenzen reifer Proteine (d. h. ohne Berücksichtigung von Sekretionssignalen oder Transitpeptiden), ermittelt. Im Vergleich zu der Gesamtsequenzidentität wird die Sequenzidentität im Allgemeinen höher sein, wenn lediglich konservierte Domänen oder Motive betrachtet werden. Vorzugsweise haben die Motive in einem LEJ1-Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einem oder mehreren der durch SEQ ID NR: 205 bis SEQ ID NR: 210 wiedergegebenen Motive (Motive 1 bis 6).

[0176] Gemäß einer anderen Ausführungsform soll im Folgenden ein Verweis auf ein "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignetes Protein" so verstanden werden, dass damit ein wie hier definiertes ExbB-Polypeptid gemeint ist. Jeder Verweis auf eine "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäure" soll im Folgenden so verstanden werden, dass damit eine Nukleinsäure gemeint ist, die dazu fähig ist, für ein solches ExbB-Polypeptid zu codieren. Bei der in eine Pflanze einzuführenden (und daher für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren geeigneten) Nukleinsäure handelt es sich um eine beliebige Nukleinsäure, die

für den im Folgenden beschriebenen Proteintyp codiert und die im Folgenden auch als "ExbB-Nukleinsäure" oder "ExbB-Gen" bezeichnet wird.

[0177] Ein wie hier definiertes "ExbB-Polypeptid" bezieht sich auf ein beliebiges Polypeptid mit einer MotA/ TolQ/ExbB-Protonenkanaldomäne mit dem InterPro-Zugang IPR002898, was der PFAM-Zugangsnummer PF 01618 entspricht, und welches nicht von einem Wirbeltier stammt. Der Ausdruck eines Ursprungs "nicht von einem Wirbeltier" soll sich, so wie er hier verwendet wird, auf einen Ursprung beziehen, der sich von Wirbeltieren unterscheidet, und schließt beispielsweise, wobei dies nicht einschränkend ist, einen Ursprung aus Algen, Bakterien, Pilzen, Hefe oder Pflanzen ein.

[0178] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das ExbB-Polypeptid eine oder mehrere transmembrane Domänen.

[0179] Dem Fachmann sind Algorithmen zur Bestimmung von transmembranen Domänen gut bekannt. Ein Beispiel für einen solchen Algorithmus ist TMHMM, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark.

[0180] Bei einer bevorzugten Ausführungsform bezieht sich "ExbB" bzw. "ExbB-Polypeptid", so wie der Ausdruck hier verwendet wird, auf ein beliebiges ExbB-Polypeptid prokaryotischen Ursprungs.

[0181] Zusätzlich oder alternativ dazu hat das Homolog eines ExbB-Proteins mit zunehmender Präferenz mindestens 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Gesamtsequenzidentität zur Aminosäure gemäß SEQ ID NR: 212, mit der Maßgabe, dass das homologe Protein eine oder mehrere der wie oben umrissenen transmembranen Domänen umfasst. Die Gesamtsequenzidentität wird unter Anwendung eines globalen Alignment-Algorithmus, wie dem Needleman-Wunsch-Algorithmus im Programm GAP (GCG Wisconsin Package, Accelrys), vorzugsweise mit Standardparametern und vorzugsweise mit Sequenzen reifer Proteine (d. h. ohne Berücksichtigung von Sekretionssignalen oder Transitpeptiden), ermittelt. Im Vergleich zu der Gesamtsequenzidentität wird die Sequenzidentität im Allgemeinen höher sein, wenn lediglich konservierte Domänen oder Motive betrachtet werden.

[0182] Gemäß einer anderen Ausführungsform soll im Folgenden ein Verweis auf ein "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignetes Protein" so verstanden werden, dass damit eine wie hier definierte NMPRT gemeint ist. Eine "NMPRT" ist, so wie der Begriff hier verwendet wird, auch unter dem Namen "nadV-Polypeptid" bekannt. Gemäß dieser Ausführungsform soll im Folgenden jeder Verweis auf eine "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäure" so verstanden werden, dass damit eine Nukleinsäure gemeint ist, die dazu fähig ist, für eine wie hier definierte NMPRT zu codieren. Bei der in eine Pflanze einzuführenden (und daher für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren geeigneten) Nukleinsäure handelt es sich um eine beliebige Nukleinsäure, die für den im Folgenden beschriebenen Proteintyp codiert. Diese Nukleinsäure wird hier auch als "NMPRT-Nukleinsäure" oder "NMPRT-Gen" bezeichnet.

[0183] Eine "NMPRT" oder ein "NMPRT-Polypeptid" oder ein "NMPRT-Protein" bezieht sich, so wie der Ausdruck hier verwendet wird, auf ein beliebiges Polypeptid mit Nicotinamiphosphoribosyltransferaseaktivität, welches vorzugsweise nicht von einem Wirbeltier stammt. Der Ausdruck eines Ursprungs "nicht von einem Wirbeltier" soll sich, so wie er hier verwendet wird, auf einen Ursprung beziehen, der sich von Wirbeltieren unterscheidet, und schließt beispielsweise, wobei dies nicht einschränkend ist, einen Ursprung aus Algen, Bakterien, Pilzen, Hefe oder Pflanzen ein. Bei einer bevorzugten Ausführungsform bezieht sich eine "NMPRT" oder ein "NMPRT-Polypeptid", so wie der Ausdruck hier verwendet wird, auf ein beliebiges Polypeptid prokaryotischen Ursprungs und vorzugsweise cyanobakteriellen Ursprungs.

[0184] Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform bezieht sich eine "NMPRT" oder ein "NMPRT-Polypeptid", so wie der Ausdruck hier verwendet wird, auf ein beliebiges wie oben bereitgestelltes Polypeptid, welches weiterhin Folgendes umfasst:

- (i) eine Domäne mit einem InterPro-Zugang IPR016471 und
- (ii) mindestens 50% Aminosäuresequenzidentität zu einer Domäne gemäß SEQ ID NR: 315.

[0185] Gemäß einer anderen bevorzugten Ausführungsform weist eine NMPRT mindestens 64%, und zum Beispiel mindestens 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Aminosäuresequenzidentität zu einem oder mehreren der folgenden Motive auf:

- (i) Motiv 7: FKLHDFGARGVSSGESSGIGGLAHLVNFQGSDTV (SEQ ID NR: 318),
- (ii) Motiv 8: AAYSIPAAEHSTITAWG (SEQ ID NR: 319),
- (iii) Motiv 9: AVVSDSYDL (SEQ ID NR: 320),
- (iv) Motiv 10: VIRPDSGDP (SEQ ID NR: 321),
- (v) Motiv 11: VRVIQGDGV (SEQ ID NR: 322),
- (vi) Motiv 12: NLAFGMGGALLQKVNDRD (SEQ ID NR: 323).

[0186] In anderen Worten, es wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für eine wie hier angeführte Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NMPRT) codierenden Nukleinsäure moduliert, bereitgestellt, wobei die NMPRT eines oder mehrere der folgenden Motive umfasst:

- (i) Motiv 7: FKLHDFGARGVSSGESSGIGGLAHLVNFQGSDTV (SEQ ID NR: 318), wobei mit abnehmender Präferenz höchstens 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 oder 10 Aminosäure-Fehlpaarungen oder -Austausche erlaubt sind;
- (ii) Motiv 8: AAYSIPAAEHSTITAWG (SEQ ID NR: 319), wobei mit abnehmender Präferenz höchstens 1, 2, 3, 4 oder 5 Aminosäure-Fehlpaarungen oder -Austausche erlaubt sind;
- (iii) Motiv 9: AWSDSYDL (SEQ ID NR: 320), wobei mit abnehmender Präferenz höchstens 1, 2 oder 3 Aminosäure-Fehlpaarungen oder -Austausche erlaubt sind;
- (iv) Motiv 10: VIRPDSGDP (SEQ ID NR: 321), wobei mit abnehmender Präferenz höchstens 1, 2 oder 3 Aminosäure-Fehlpaarungen oder -Austausche erlaubt sind;
- (v) Motiv 11: VRVIQGDGV (SEQ ID NR: 322), wobei mit abnehmender Präferenz höchstens 1, 2 oder 3 Aminosäure-Fehlpaarungen oder -Austausche erlaubt sind; und
- (vi) Motiv 12: NLAFGMGGALLQKVNDRD (SEQ ID NR: 323), wobei mit abnehmender Präferenz höchstens 1, 2, 3, 4 oder 5 Aminosäure-Fehlpaarungen oder -Austausche erlaubt sind.

[0187] Besonders bevorzugt umfasst das NMPRT-Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 2, mindestens 3, mindestens 4, mindestens 5 oder alle 6 der oben beschriebenen Motive. Die Begriffe "Domäne" und "Motiv" sind im Abschnitt "Definitionen" hierin definiert.

[0188] Die wie hier verwendeten Begriffe "NMPRT" oder "NMPRT-Polypeptid" sollen auch wie hier unter "NMPRT" definierte Homologe einschließen.

[0189] Zusätzlich oder alternativ dazu hat ein Homolog eines NMPRT-Proteins mit zunehmender Präferenz mindestens 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Gesamtsequenzidentität zur Aminosäure gemäß SEQ ID NR: 282, mit der Maßgabe, dass das homologe Protein eine Domäne umfasst, wie sie durch SEQ ID NR: 315 und/oder eines oder mehrere der wie oben umrissenen Motive 7 bis 12 umfasst. Die Gesamtsequenzidentität wird unter Anwendung eines globalen Alignment-Algorithmus, wie dem Needleman-Wunsch-Algorithmus im Programm GAP (GCG Wisconsin Package, Accelrys), vorzugsweise mit Standardparametern und vorzugsweise mit Sequenzen reifer Proteine (d. h. ohne Berücksichtigung von Sekretionssignalen oder Transitpeptiden), ermittelt. Im Vergleich zu der Gesamtsequenzidentität wird die Sequenzidentität im Allgemeinen höher sein, wenn lediglich konservierte Domänen oder Motive betrachtet werden. Vorzugsweise haben die Motive in einem NMPRT-Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einer Domäne, die durch SEQ ID NR: 315 wiedergegeben wird, und/oder zu einem oder mehreren der durch SEQ ID NR: 318 bis SEQ ID NR: 323 wiedergegebenen Motive (Motive 7 bis 12).

[0190] Gemäß einer anderen Ausführungsform betrifft die Erfindung Verfahren, bei denen ein NMPRT-Polypeptid eine konservierte Domäne (oder ein konserviertes Motiv) mit mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einer konservierten Domäne der Aminosäurekoordinaten 1 bis 461 von SEQ ID NR: 282 umfasst. Gemäß einer anderen Ausführungsform betrifft die Erfindung Verfahren, bei denen ein NMPRT-Polypeptid eine konservierte Domäne (oder ein konserviertes Motiv)

mit mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einer konservierten Domäne der Aminosäurekoordinaten 64 bis 459 von SEQ ID NR: 282 umfasst.

[0191] Die Begriffe "Domäne", "Signatur" und "Motiv" sind im Abschnitt "Definitionen" hierin definiert.

[0192] Vorzugsweise bildet die LEJ1-Polypeptidsequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums, wie demjenigen, der in [Fig. 3](#) abgebildet ist, verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe der LEJ1-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 2 (At4g34120, eingerahmt) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0193] Vorzugsweise bildet die EXbB-Polypeptidsequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums, wie demjenigen, der in [Fig. 9](#) abgebildet ist, verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe der ExbB-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 212 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0194] Weiterhin sind ExbB-Polypeptide (zumindest in ihrer nativen Form) wie oben beschrieben an Membranen lokalisiert.

[0195] Vorzugsweise bildet die NMPRT-Polypeptidsequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums, wie demjenigen, der in Gazzaniga et al. 2009 abgebildet ist, verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von NMPRT-Polypeptiden der Cyanobakterien, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 282 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0196] Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform bezieht sich eine "NMPRT" oder ein "NMPRT-Polypeptid" oder ein "NMPRT-Protein", so wie der Ausdruck hier verwendet wird, auf eine "Nicotinamidphosphoribosyltransferase", die auch als NMPRT, NMPRTase oder NAMPRTase bezeichnet wird (internationale Nomenklatur: E.G. 2.4.2.12), bei der es sich um ein Schlüsselenzym in der Nicotinamidadenyldinukleotid(NAD)-Biosynthese aus dem natürlichen Vorläufer Nicotinamid handelt. NMPRT-Polypeptide verfügen (zumindest in ihrer nativen Form) typischerweise über enzymatische Aktivität. Werkzeuge und Techniken zum Messen ihrer Nicotinamidphosphoribosyltransferaseaktivität sind im Stand der Technik gut bekannt. Die NMPRT-Enzymaktivität lässt sich zum Beispiel wie in Beispiel 6 gezeigt messen.

[0197] Darüber hinaus liefern LEJ1-Polypeptide, wenn sie gemäß den Verfahren der vorliegenden Erfindung wie in den Beispielen 7 und 8 umrissen in Reis exprimiert werden, Pflanzen mit erhöhten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhter Füllrate und erhöhtem Ernteindex.

[0198] Darüber hinaus liefern ExbB-Polypeptide, wenn sie wie hier im Beispielteil umrissen gemäß den Verfahren der vorliegenden Erfindung in Reis exprimiert werden, Pflanzen mit erhöhten Ertragsmerkmalen, insbesondere ausgewählt aus einem erhöhtem Samenertrag, dem Tausendkerngewicht, dem Ernteindex, der Anzahl an gefüllten Samen, dem Gesamtsamengewicht; ganz insbesondere einer signifikanten Erhöhung der Anzahl an gefüllten Samen.

[0199] Darüber hinaus liefern NMPRT-Polypeptide, wenn sie gemäß den Verfahren der vorliegenden Erfindung wie in den Beispielen 7 und 8 umrissen in Reis exprimiert werden, Pflanzen mit erhöhten Ertragsmerkmalen, einschließlich einem erhöhten Wurzel-/Sprossindex, einem erhöhten Gesamtsamenertrag, einer erhöhten Füllrate, einer erhöhten Anzahl an Blüten pro Rispe, einer erhöhten Anzahl gefüllter Samen, einem erhöhten Tausendkerngewicht.

[0200] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NMPRT) aus dem *Synechocystis*-sp.-Stamm PCC 6803 codierenden Nukleinsäure moduliert, wobei es sich bei dieser Nukleinsäure insbesondere um das slr 0788-Gen des *Synechocystis*-sp.-Stamms PCC 6803 handelt, welches durch SEQ ID NR: 281 wiedergegeben wird.

[0201] Gemäß einer anderen Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NMPRT) aus dem *Synechococcus elongatus*-Stamm PCC 7942 codierenden Nukleinsäure moduliert, wobei es sich bei dieser Nukleinsäure insbesondere um das

als 2328 bezeichnete Gen des *Synechococcus-elongatus*-Stamms PCC 7942 handelt, welches durch SEQ ID NR: 309 wiedergegeben wird.

[0202] Was LEJ1-Polypeptide betrifft, so wird die vorliegende Erfindung durch Transformieren von Pflanzen mit der Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 1, die für die Polypeptidsequenz von SEQ ID NR: 2 codiert, erläutert. Die Durchführung der Erfindung ist jedoch nicht auf diese Sequenzen beschränkt; die Verfahren der Erfindung lassen sich vorteilhaft mit einer beliebigen wie hier definierten für LEJ1 codierenden Nukleinsäure oder einem beliebigen wie hier definierten LEJ1-Polypeptid durchführen.

[0203] Beispiele für für LEJ1-Polypeptide codierende Nukleinsäuren sind hier in Tabelle A1 des Beispiels angeführt. Solche Nukleinsäuren eignen sich zum Durchführen der Verfahren der Erfindung. Die in Tabelle A1 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen sind Beispielsequenzen von Orthologen und Paralogen des LEJ1-Polypeptids gemäß SEQ ID NR: 2, wobei die Begriffe "Orthologe" und "Paraloge" wie hier definiert sind. Weitere Orthologe und Paraloge können leicht durch Ausführen einer sogenannten reziproken Blast-Suche, wie sie im Definitionsabschnitt beschrieben ist, identifiziert werden; handelt es sich bei der Abfragesequenz um SEQ ID NR: 1 oder SEQ ID NR: 2, erfolgt der zweite BLAST (back-BLAST) daher gegen *Arabidopsis thaliana*-Sequenzen.

[0204] Was ExbB-Polypeptide betrifft, so wird die vorliegende Erfindung durch Transformieren von Pflanzen mit der Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 211, die für die Polypeptidsequenz von SEQ ID NR: 212 codiert, erläutert. Die Durchführung der Erfindung ist jedoch nicht auf diese Sequenzen beschränkt; die Verfahren der Erfindung lassen sich vorteilhaft mit einer beliebigen wie hier definierten für ein ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder einem beliebigen wie hier definierten ExbB-Polypeptid durchführen.

[0205] Beispiele für für ExbB-Polypeptide codierende Nukleinsäuren sind hier in Tabelle A2 des Beispiels angeführt. Solche Nukleinsäuren eignen sich zum Durchführen der Verfahren der Erfindung. Die in Tabelle A2 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen sind Beispielsequenzen von Orthologen und Paralogen des ExbB-Polypeptids gemäß SEQ ID NR: 212, wobei die Begriffe "Orthologe" und "Paraloge" wie hier definiert sind. Weitere Orthologe und Paraloge können leicht durch Ausführen einer sogenannten reziproken Blast-Suche, wie sie im Definitionsabschnitt beschrieben ist, identifiziert werden; handelt es sich bei der Abfragesequenz um SEQ ID NR: 211 oder SEQ ID NR: 212, würde der zweite BLAST (back-BLAST) daher gegen *Synechocystis*-Sequenzen erfolgen.

[0206] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so wird die vorliegende Erfindung durch Transformieren von Pflanzen mit der Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 281, die für die Polypeptidsequenz von SEQ ID NR: 282 codiert. Die Durchführung der Erfindung ist jedoch nicht auf diese Sequenzen beschränkt; die Verfahren der Erfindung lassen sich vorteilhaft mit einer beliebigen wie hier definierten für ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder einem beliebigen wie hier definierten NMPRT-Polypeptid durchführen.

[0207] Beispiele für für NMPRT-Polypeptide codierende Nukleinsäuren sind hier in Tabelle A3 des Beispiels angeführt. Solche Nukleinsäuren eignen sich zum Durchführen der Verfahren der Erfindung. Die in Tabelle A3 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen sind Beispielsequenzen von Orthologen und Paralogen des NMPRT-Polypeptids gemäß SEQ ID NR: 282, wobei die Begriffe "Orthologe" und "Paraloge" wie hier definiert sind. Weitere Orthologe und Paraloge können leicht durch Ausführen einer sogenannten reziproken Blast-Suche, wie sie im Definitionsabschnitt beschrieben ist, identifiziert werden; handelt es sich bei der Abfragesequenz um SEQ ID NR: 281 oder SEQ ID NR: 282, würde der zweite BLAST (back-BLAST) daher gegen *Synechocystis*-Sequenzen erfolgen.

[0208] Auch Nukleinsäurevarianten können bei der Ausübung der Verfahren der Erfindung nützlich sein. Zu Beispielen solcher Varianten zählen Nukleinsäuren, welche für Homologe und Derivate von einer beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codieren, wobei die Begriffe "Homolog" und "Derivat" wie hier definiert sind. Außerdem sind Nukleinsäuren in den Verfahren der Erfindung nützlich, die für Homologe und Derivate von Orthologen oder Paralogen von einer beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codieren. Homologe und Derivate, die in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlich sind, besitzen im Wesentlichen die gleiche biologische und funktionelle Aktivität wie das unmodifizierte Protein, aus dem sie abgeleitet sind. Weitere für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeignete Varianten sind Varianten, bei denen der Codon-Einsatz optimiert ist oder bei denen miRNA-Targetstellen entfernt sind.

[0209] Ferner zählen zu den bei der Ausübung der Verfahren der Erfindung nützlichen Nukleinsäurevarianten Abschnitte von Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, Nukleinsäuren, die mit Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, hybridisieren, Spleißvarianten von Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide codieren, Allelvarianten von Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, sowie Varianten von Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, welche durch Gen-Shuffling erhalten werden. Die Begriffe Hybridisierungssequenz, Spleißvariante, Allelvariante und Gen-Shuffling sind wie hierin beschrieben beschaffen.

[0210] Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, müssen nicht Volllängennukleinsäuren sein, da die Ausführung der Verfahren der Erfindung nicht auf der Verwendung von Nukleinsäuresequenzen mit voller Länge beruht. Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einem Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenes Nukleinsäuresequenzen oder einem Abschnitt von einer für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von einer beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenes Aminosäuresequenzen codierenden Nukleinsäure.

[0211] Ein Abschnitt einer Nukleinsäure kann zum Beispiel durch Vornehmen einer oder mehrerer Deletionen an der Nukleinsäure hergestellt werden. Die Abschnitte können in isolierter Form verwendet werden oder sie können an andere codierende (oder nicht-codierende) Sequenzen fusioniert sein, um zum Beispiel ein Protein zu erzeugen, das mehrere Aktivitäten vereint. Sofern es an andere codierende Sequenzen fusioniert ist, kann das resultierende Polypeptid, das nach Translation produziert wird, größer sein als jenes, das für den Proteinabschnitt vorhergesagt wird.

[0212] Was LEJ1-Polypeptide betrifft, codieren Abschnitte, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, für ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid und weisen im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie die in Tabelle A1 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen auf. Vorzugsweise ist der Abschnitt ein Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispiels angegebenen Nukleinsäuren oder ist ein Abschnitt einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Vorzugsweise weist der Abschnitt eine Länge von mindestens 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850 aufeinanderfolgenden Nukleotiden auf, wobei die aufeinanderfolgenden Nukleotide aus einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispiels angegebenen Nukleinsäuresequenzen stammen oder aus einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Ganz besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Abschnitt um einen Abschnitt der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 1. Vorzugsweise codiert der Abschnitt für ein Fragment einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 3](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von LEJ1-Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 2 (At4g34120, eingerahmt) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe bildet und/oder eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 umfasst und/oder mindestens 37% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 2 aufweist.

[0213] Was ExbB-Polypeptide betrifft, codieren Abschnitte, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, für ein wie hier definiertes ExbB-Polypeptid und weisen im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie die in Tabelle A2 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen auf. Vorzugsweise ist der Abschnitt ein Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle A2 des Beispiels angegebenen Nukleinsäuren oder ist ein Abschnitt einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A2 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Vorzugsweise weist der Abschnitt eine Länge von mindestens 150, 200, 250, 300, 350, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900 aufeinanderfolgenden Nukleotiden auf, wobei die aufeinanderfolgenden Nukleotide aus einer beliebigen der in Tabelle A2 des Beispiels angegebenen Nukleinsäuresequenzen stammen oder aus einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A2 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Ganz besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Abschnitt um einen Abschnitt der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 211. Vorzugsweise codiert der Abschnitt für ein Fragment einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von ExbB-Polypeptiden bakteriellen Ursprungs, die vorzugsweise die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 212 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe bildet.

[0214] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, codieren Abschnitte, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, für ein wie hier definiertes NMPRT-Polypeptid und weisen im Wesentlichen die gleiche biologische Akti-

vität wie die in Tabelle A3 des Beispielteils angeführten Aminosäuresequenzen auf. Vorzugsweise ist der Abschnitt ein Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle A3 des Beispielteils angegebenen Nukleinsäuren oder ist ein Abschnitt einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A3 des Beispielteils angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Vorzugsweise weist der Abschnitt eine Länge von mindestens 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600 aufeinanderfolgenden Nukleotiden auf, wobei die aufeinanderfolgenden Nukleotide aus einer beliebigen der in Tabelle A3 des Beispielteils angegebenen Nukleinsäuresequenzen stammen oder aus einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A3 des Beispielteils angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Ganz besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Abschnitt um einen Abschnitt der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 281. Vorzugsweise codiert der Abschnitt für ein Fragment einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von NMPRT-Polypeptiden bakteriellen Ursprungs, die vorzugsweise die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 281 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe bildet.

[0215] Eine andere für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäurevariante ist eine Nukleinsäure, die unter Bedingungen verringerter Stringenz, vorzugsweise unter stringenteren Bedingungen, zum Hybridisieren mit einer Nukleinsäure, die für ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert, oder mit einem wie hier definierten Abschnitt in der Lage ist.

[0216] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, bei dem man in eine Pflanze eine zum Hybridisieren mit einer der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispielteils angeführten Nukleinsäuren fähige Nukleinsäure einführt und dort exprimiert oder bei dem man in eine Pflanze eine zum Hybridisieren mit einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog einer der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispielteils angeführten Nukleinsäuresequenzen codiert, fähige Nukleinsäure einführt und dort exprimiert.

[0217] Was LEJ1-Polypeptide betrifft, so codieren Hybridisierungssequenzen, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, für ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid, mit im Wesentlichen der gleichen biologischen Aktivität wie die in Tabelle A1 des Beispielteils angeführten Aminosäuresequenzen. Vorzugsweise ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispielteils aufgeführten Nukleinsäuren oder mit einem Abschnitt einer dieser Sequenzen, wobei ein Abschnitt wie oben definiert ist, in der Lage, oder die Hybridisierungssequenz ist zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispielteils angeführten Aminosäuresequenzen codiert, fähig. Ganz besonders bevorzugt ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 1 oder mit einem Abschnitt davon in der Lage.

[0218] Vorzugsweise codiert die Hybridisierungssequenz für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie vollständig ist und bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 3](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von LEJ1-Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 2 (At4g34120, eingerahmt) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe bildet und/oder eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 umfasst und/oder mindestens 37% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 2 aufweist.

[0219] Was ExbB-Polypeptide betrifft, so codieren Hybridisierungssequenzen, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, für ein wie hier definiertes ExbB-Polypeptid, mit im Wesentlichen der gleichen biologischen Aktivität wie die in Tabelle A2 des Beispielteils angeführten Aminosäuresequenzen. Vorzugsweise ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer beliebigen der in Tabelle A2 des Beispielteils aufgeführten Nukleinsäuren oder mit einem Abschnitt einer dieser Sequenzen, wobei ein Abschnitt wie oben definiert ist, in der Lage, oder die Hybridisierungssequenz ist zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A2 des Beispielteils angeführten Aminosäuresequenzen codiert, fähig. Ganz besonders bevorzugt ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 211 oder mit einem Abschnitt davon in der Lage.

[0220] Vorzugsweise codiert die Hybridisierungssequenz für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie vollständig ist und bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von ExbB-Polypeptiden bakteriellen Ursprungs bildet, die vorzugsweise die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 212 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0221] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so codieren Hybridisierungssequenzen, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, für ein wie hier definiertes NMPRT-Polypeptid, mit im Wesentlichen der gleichen biologischen Aktivität wie die in Tabelle A3 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen. Vorzugsweise ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer beliebigen der in Tabelle A3 des Beispiels angeführten Nucleinsäuren oder mit einem Abschnitt einer dieser Sequenzen, wobei ein Abschnitt wie oben definiert ist, in der Lage, oder die Hybridisierungssequenz ist zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle A3 des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen codiert, fähig. Ganz besonders bevorzugt ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nucleinsäure gemäß SEQ ID NR: 281 oder mit einem Abschnitt davon in der Lage.

[0222] Vorzugsweise codiert die Hybridisierungssequenz für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie vollständig ist und bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in Gazzaniga et al. 2009 gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von NMPRT-Polypeptiden cyanobakteriellen Ursprungs, d. h. der Cyanobakterien, die Aminosäuresequenzen gemäß SEQ ID NR: 282 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe, und besonders bevorzugt mit den NMPRT-Polypeptiden aus *Synechocystis* sp.

[0223] Eine andere Nucleinsäurevariante, die in den Verfahren der Erfindung von Nutzen ist, ist eine Spleißvariante, die für ein wie hier definiertes LEJ1-Polypeptid codiert, wobei eine Spleißvariante wie hier definiert ist.

[0224] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Spleiß-Variante von einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispiels angegebenen Nucleinsäuresequenzen oder einer Spleißvariante von einer für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von einer beliebigen der in Tabelle A1 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codierenden Nucleinsäure.

[0225] Bevorzugte Spleißvarianten sind Spleißvarianten einer Nucleinsäure gemäß SEQ ID NR: 1 oder eine Spleißvariante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 2 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Spleißvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 3](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von LEJ1-Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 2 (*At4g34120*, eingerahmt) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe und/oder eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 umfasst und/oder mindestens 37% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 2 aufweist.

[0226] Eine andere Nucleinsäurevariante, die bei der Ausführung der Verfahren der Erfindung von Nutzen ist, ist eine Allelvariante einer Nucleinsäure, die für ein wie oben definiertes LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert, wobei eine Allelvariante wie hier definiert ist.

[0227] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zum Steigern von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Allelvariante einer beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenen Nucleinsäuren oder umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Allelvariante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert.

[0228] Was LEJ1-Polypeptide betrifft, so haben die von in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlichen Allelvarianten codierten Polypeptide im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie das LEJ1-Polypeptid von SEQ ID NR: 2 und beliebige der in Tabelle A1 des Beispiels gezeigten Aminosäuren. Allelvarianten kommen in der Natur vor, und zu den Verfahren der vorliegenden Erfindung gehört auch die Verwendung dieser natürlichen Allele. Vorzugsweise ist die Allelvariante eine Allelvariante von SEQ ID NR: 1 oder eine Allelvariante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 2 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Allelvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 3](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von LEJ1-Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 2 (*At4g34120*, eingerahmt) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe und/oder eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 umfasst und/oder mindestens 37% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 2 aufweist.

[0229] Was ExbB-Polypeptide betrifft, so haben die von in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlichen Allelvarianten codierten Polypeptide im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie das ExbB-Polypeptid von SEQ ID NR: 212 und beliebige der in Tabelle A2 des Beispiels gezeigten Aminosäuren.

Allelvarianten kommen in der Natur vor, und zu den Verfahren der vorliegenden Erfindung gehört auch die Verwendung dieser natürlichen Allele. Vorzugsweise ist die Allelvariante eine Allelvariante von SEQ ID NR: 211 oder eine Allelvariante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 212 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Allelvariante codierte Aminosäuresequenz lieber Cluster mit ExbB-Polypeptiden bakteriellen Ursprungs, die vorzugsweise die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 212 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0230] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so haben die von in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlichen Allelvarianten codierten Polypeptide im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie das NMPRT-Polypeptid von SEQ ID NR: 282 und beliebige der in Tabelle A3 des Beispiels gezeigten Aminosäuren. Allelvarianten kommen in der Natur vor, und zu den Verfahren der vorliegenden Erfindung gehört auch die Verwendung dieser natürlichen Allele. Vorzugsweise ist die Allelvariante eine Allelvariante von SEQ ID NR: 281 oder eine Allelvariante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 282 codiert. Vorzugsweise bildet die von der Allelvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in Gazzaniga et al. 2009 gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von NMPRT-Polypeptiden cyanobakteriellen Ursprungs, d. h. der Cyanobakterien, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 282 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe, und besonders bevorzugt mit den NMPRT-Polypeptiden aus *Synechocystis* sp.

[0231] Gen-Shuffling oder gerichtete Evolution können ebenfalls zur Anwendung kommen, um Varianten von Nukleinsäuren zu erzeugen, welche für wie oben definierte LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, wobei der Begriff "Gen-Shuffling" wie hier definiert ist.

[0232] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Variante einer beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenen Nukleinsäuresequenzen oder umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Variante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von beliebigen der in Tabelle A1 oder Tabelle A2 oder Tabelle A3 des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert, wobei die Nukleinsäurevariante durch Genshuffling erhalten wird.

[0233] Was LEJ1-Polypeptide betrifft, so bildet die von der durch Genshuffling erhaltenen Nukleinsäurevariante codierte Aminosäuresequenz vorzugsweise, wenn sie in der Erstellung eines phylogenetischen Baums verwendet wird, wie demjenigen, der in [Fig. 3](#) abgebildet ist, lieber Cluster mit der Gruppe der LEJ1-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 2 (At4g34120, eingerahmt) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe und/oder umfasst eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 und/oder weist mindestens 37% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 2 auf.

[0234] Was ExbB-Polypeptide betrifft, so bildet die von der durch Genshuffling erhaltenen Nukleinsäurevariante codierte Aminosäuresequenz vorzugsweise, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe der ExbB-Polypeptide bakteriellen Ursprungs, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 212 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0235] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so bildet die von der durch Genshuffling erhaltenen Nukleinsäurevariante codierte Aminosäuresequenz vorzugsweise, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in Gazzaniga et al. 2009 gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von NMPRT-Polypeptiden cyanobakteriellen Ursprungs, d. h. der Cyanobakterien, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 282 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe, und besonders bevorzugt mit den NMPRT-Polypeptiden aus *Synechocystis* sp.

[0236] Weiterhin lassen sich Nukleinsäurevarianten auch durch ortsgerichtete Mutagenese erhalten. Zum Erzielen einer ortsgerichteten Mutagenese sind mehrere Verfahren verfügbar, wobei die üblichsten PCR-basierte Verfahren sind (Current Protocols in Molecular Biology. Wiley, Hrsg.).

[0237] Für LEJ1-Polypeptide codierende Nukleinsäuren lassen sich aus einer beliebigen natürlichen oder künstlichen Quelle gewinnen. Die Nukleinsäure kann von ihrer nativen Form hinsichtlich Zusammensetzung und/oder genomischer Umgebung durch absichtlichen menschlichen Eingriff modifiziert werden. Vorzugsweise stammt die für das LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure aus einer Pflanze, weiter bevorzugt aus einer dikotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Brassicaceae, ganz besonders bevorzugt stammt die Nukleinsäure aus *Arabidopsis thaliana*.

[0238] Für ExbB-Polypeptide codierende Nukleinsäuren lassen sich aus einer beliebigen natürlichen oder künstlichen Quelle gewinnen. Die Nukleinsäure kann von ihrer nativen Form hinsichtlich Zusammensetzung und/oder genomischer Umgebung durch absichtlichen menschlichen Eingriff modifiziert werden. Vorzugsweise stammt die für das ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure aus Cyanobakterien, besonders bevorzugt aus einer *Synechocystis*-Art, ganz besonders bevorzugt aus *Synechocystis* sp. PCC6803.

[0239] Für NMPRT-Polypeptide codierende Nukleinsäuren lassen sich aus einer beliebigen natürlichen oder künstlichen Quelle gewinnen. Die Nukleinsäure kann von ihrer nativen Form hinsichtlich Zusammensetzung und/oder genomischer Umgebung durch absichtlichen menschlichen Eingriff modifiziert werden.

[0240] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen. Insbesondere erhält man durch die Durchführung der Verfahren der Erfindung Pflanzen mit einem erhöhten Ertrag, insbesondere einem erhöhten Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Die Begriffe "Ertrag" und "Samenertrag" sind hier ausführlicher im Abschnitt "Definitionen" beschrieben.

[0241] Was LEJ1-Polypeptide und NMPRT-Polypeptide betrifft, so soll hier ein Verweis auf gesteigerte Ertragsmerkmale eine Erhöhung der Jungpflanzenvitalität und/oder der Biomasse (Gewicht) von einem oder mehreren Teilen einer Pflanze bedeuten, was oberirdische (erntefähige) Teile und/oder (erntefähige) Teile im Erdboden einschließen kann. Insbesondere handelt es sich bei derartigen erntefähigen Teilen um Samen, und die Durchführung der Verfahren der Erfindung führt zu Pflanzen, welche einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zum Samenertrag von Kontrollpflanzen aufweisen.

[0242] Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Erhöhung von Ertragsmerkmalen, insbesondere des Samenertrags von Pflanzen, im Vergleich zu Kontrollpflanzen, bereit, wobei das Verfahren die Modulation der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0243] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so wird gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Erhöhung des Samenertrags bereitgestellt, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für ein wie hier definiertes NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert, und wobei es sich bei diesem erhöhten Samenertrag um eines oder mehrere der Folgenden handelt:

- (i) eine erhöhte Füllrate,
- (ii) eine erhöhte Anzahl an Blüten pro Rispe und
- (iii) ein erhöhtes Tausendkerngewicht (TKW).

[0244] Gemäß einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird ein Verfahren zur Erhöhung mindestens eines Ertragsparameters bereitgestellt, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für ein wie hier definiertes NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert, und wobei es sich bei diesem erhöhten Ertragsparameter um einen erhöhten Wurzel-/Sprossindex handelt.

[0245] Da die transgenen Pflanzen gemäß der vorliegenden Erfindung erhöhte Ertragsmerkmale aufweisen, ist es wahrscheinlich, dass diese Pflanzen eine erhöhte Wachstumsrate (wenigstens während eines Teils ihres Lebenszyklus) im Vergleich zur Wachstumsrate von Kontrollpflanzen bei einem entsprechenden Stadium in ihrem Lebenszyklus aufzeigen.

[0246] Gemäß einem bevorzugten Merkmal der vorliegenden Erfindung ergibt die Durchführung der Verfahren der Erfindung Pflanzen mit einer erhöhten Wachstumsrate im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Erhöhen der Wachstumsrate von Pflanzen bereitgestellt, wobei das Verfahren die Modulation der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0247] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Nichtstressbedingungen oder unter milden Dürrebedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Nichtstressbedingungen oder unter milden Dürrebedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0248] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Nährstoffmangelbedingungen, insbesondere unter Stickstoffmangelbedingungen, herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter

vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Nährstoffmangelbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0249] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Salzstressbedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Salzstress herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0250] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Dürrestressbedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Dürrestress herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0251] Die Erfindung stellt außerdem genetische Konstrukte und Vektoren zum Erleichtern des Einbringens und/oder der Expression von für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codierenden Nukleinsäuren in Pflanzen bereit. Die Genkonstrukte können in Vektoren inseriert werden, welche kommerziell erhältlich sein können, die für das Transformieren in Pflanzen hinein geeignet sind und für die Expression des Gens von Interesse in den transformierten Zellen geeignet sind. Die Erfindung stellt ebenfalls die Verwendung eines wie hier definierten Genkonstrukts in den Verfahren der Erfindung bereit.

[0252] Genauer stellt die vorliegende Erfindung ein Konstrukt bereit, umfassend:

- (a) eine für ein wie oben definiertes LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder eine NMPRT codierende Nukleinsäure;
- (b) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (a) in der Lage sind; und gegebenenfalls
- (c) eine Transkriptionsterminationssequenz.

[0253] Vorzugsweise ist die für ein wie oben definiertes LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codierende Nukleinsäure wie oben definiert. Die Begriffe "Steuerungssequenz" und "Terminationssequenz" sind wie hierin definiert.

[0254] Die Erfindung stellt weiterhin mit einem wie oben beschriebenen Konstrukt transformierte Pflanzen bereit. Die Erfindung stellt insbesondere mit einem wie oben beschriebenen Konstrukt transformierte Pflanzen bereit, die wie hier beschriebene erhöhte Ertragsmerkmale haben.

[0255] Pflanzen werden mit einem Vektor transformiert, der jedwede der oben beschriebenen Nukleinsäuren umfasst. Der Fachmann auf dem Gebiet ist mit den genetischen Elementen gut vertraut, welche auf dem Vektor vorhanden sein müssen, um Wirtszellen, welche die Sequenz von Interesse enthalten, erfolgreich zu transformieren, zu selektieren und zu vermehren. Die Sequenz von Interesse ist funktionsfähig mit einer oder mehreren Steuerungssequenzen (mindestens mit einem Promotor) verbunden.

[0256] Vorteilhafterweise kann zur Steuerung der Expression der Nukleinsäuresequenz ein beliebiger Promotortyp verwendet werden, gleich ob natürlich oder synthetisch, vorzugsweise ist der Promotor jedoch pflanzlichen Ursprungs. Ein konstitutiver Promotor eignet sich besonders für die Verfahren. Vorzugsweise handelt es sich bei dem konstitutiven Promotor um einen ubiquitären konstitutiven Promotor mittlerer Stärke. Definitionen der verschiedenen Promotortypen finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".

[0257] Was LEJ1-Polypeptide betrifft, so sollte klar sein, dass die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung nicht auf die für das LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 1 beschränkt ist, noch ist die Anwendbarkeit der Erfindung auf die Expression einer für das LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors beschränkt.

[0258] Was ExbB-Polypeptide betrifft, so sollte klar sein, dass die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung nicht auf die für das ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 211 beschränkt ist, noch ist

die Anwendbarkeit der Erfindung auf die Expression einer für das ExbB-Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors oder unter der Kontrolle eines wurzelspezifischen Promotors beschränkt.

[0259] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so sollte klar sein, dass die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung nicht auf die für das NMPRT-Polypeptid codierende Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 281 beschränkt ist, noch ist die Anwendbarkeit der Erfindung auf die Expression einer für ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors beschränkt.

[0260] Bei dem konstitutiven Promotor handelt es sich vorzugsweise um einen Promotor mittlerer Stärke. Besonders bevorzugt handelt es sich um einen von Pflanzen abgeleiteten Promotor wie einen GOS2-Promotor oder einen Promotor mit im Wesentlichen der gleichen Stärke und im Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster (einem funktionell äquivalenten Promotor), besonders bevorzugt um den GOS2-Promotor aus Reis. Weiter bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 201 oder SEQ ID NR: 275 oder SEQ ID NR: 324 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch SEQ ID NR: 201 oder SEQ ID NR: 275 oder SEQ ID NR: 324 wiedergegeben. Weitere Beispiele konstitutiver Promotoren finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".

[0261] Gegebenenfalls können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere Terminatorsequenzen eingesetzt werden. Vorzugsweise umfasst das Konstrukt eine Expressionskassette, die einen GOS2-Promotor aus Reis umfasst, im Wesentlichen ähnlich SEQ ID NR: 201, und die für das LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure. Besonders bevorzugt umfasst die Expressionskassette die Sequenz gemäß SEQ ID NR: 202 (pGOS2::LEJ1::t-Zeinsequenz). Weiterhin können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere für selektierbare Marker codierende Sequenzen vorhanden sein.

[0262] Was ExbB-Polypeptide betrifft, so handelt es sich bei dem konstitutiven Promotor vorzugsweise um einen Promotor mittlerer Stärke. Besonders bevorzugt handelt es sich um einen von Pflanzen abgeleiteten Promotor wie einen GOS2-Promotor oder einen Promotor mit im Wesentlichen der gleichen Stärke und im Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster (einem funktionell äquivalenten Promotor); besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Promotor um den GOS2-Promotor aus Reis. Weiter bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 275 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch SEQ ID NR: 275 wiedergegeben. Weitere Beispiele konstitutiver Promotoren finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".

[0263] Gemäß einem anderen bevorzugten Merkmal der Erfindung ist die für ein ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure funktionsfähig mit einem wurzelspezifischen Promotor verbunden. Bei dem wurzelspezifischen Promotor handelt es sich vorzugsweise um einen RCc3-Promotor (Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237-48) oder einen Promotor von im Wesentlichen der gleichen Stärke und mit im Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster (einem funktionell äquivalenten Promotor), besonders bevorzugt stammt der RCc3-Promotor aus Reis, noch mehr bevorzugt wird der RCc3-Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 276 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der Promotor durch SEQ ID NR: 276 wiedergegeben. Beispiele weiterer wurzelspezifischer Promotoren, die sich ebenfalls zur Durchführung der Verfahren der Erfindung einsetzen lassen, sind oben in Tabelle 2b im Abschnitt "Definitionen" gezeigt.

[0264] Gegebenenfalls können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere Terminatorsequenzen eingesetzt werden. Vorzugsweise umfasst das Konstrukt eine Expressionskassette, die einen konstitutiven Promotor umfasst, im Wesentlichen ähnlich SEQ ID NR: 275, und die für das ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure. Besonders bevorzugt umfasst die Expressionskassette die Sequenz gemäß SEQ ID NR: 279 (pGOS2::ExbB::Terminatorsequenz). Weiterhin können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere für selektierbare Marker codierende Sequenzen vorhanden sein.

[0265] Gemäß einer anderen bevorzugten Ausführungsform umfasst das Konstrukt eine Expressionskassette, die einen wurzelspezifischen Promotor umfasst, im Wesentlichen ähnlich SEQ ID NR: 276, und die für das ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure. Besonders bevorzugt umfasst die Expressionskassette die Sequenz gemäß SEQ ID NR: 280 (pRs::ExbB::Terminatorsequenz). Weiterhin können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere für selektierbare Marker codierende Sequenzen vorhanden sein.

[0266] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so handelt es sich bei dem konstitutiven Promotor vorzugsweise um einen Promotor mittlerer Stärke. Besonders bevorzugt handelt es sich um einen von Pflanzen abgeleiteten Promotor wie einen GOS2-Promotor oder einen Promotor mit im Wesentlichen der gleichen Stärke und im

Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster, d. h. einem funktionell äquivalenten Promotor; besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Promotor um den GOS2-Promotor aus Reis. Weiter bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 324 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch SEQ ID NR: 324 wiedergegeben. Weitere Beispiele konstitutiver Promotoren finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".

[0267] Gegebenenfalls können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere Terminatorssequenzen eingesetzt werden. Vorzugsweise umfasst das Konstrukt eine Expressionskassette, die einen Promotor umfasst, der im Wesentlichen ähnlich SEQ ID NR: 324 ist, und die für das NMPRT-Polypeptid codierende Nukleinsäure. Besonders bevorzugt umfasst die Expressionskassette die Sequenz gemäß SEQ ID NR: 327 (pGOS2::NMPRT::Terminator). Weiterhin können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere für selektierbare Marker codierende Sequenzen vorhanden sein. Ein Beispiel dafür findet sich in Beispiel 7.

[0268] Gemäß einem bevorzugten Merkmal der Erfindung ist die modulierte Expression eine erhöhte Expression. Verfahren zur Erhöhung der Expression von Nukleinsäuren oder Genen oder Genprodukten sind im Fachgebiet gut dokumentiert, und Beispiele sind im Abschnitt "Definitionen" angegeben.

[0269] Wie oben erwähnt, wird ein bevorzugtes Verfahren zur Modulierung der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert, durchgeführt, indem man eine für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze einbringt und dort exprimiert; allerdings können die Effekte der Durchführung des Verfahrens, d. h. die Steigerung von Ertragsmerkmalen, auch unter Verwendung anderer gut bekannter Techniken erzielt werden, einschließlich, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, T-DNA-Aktivierungs-Tagging, TILLING, homologer Rekombination. Eine Beschreibung dieser Techniken ist im Abschnitt "Definitionen" angegeben.

[0270] Die Erfindung stellt außerdem ein Verfahren zur Produktion von transgenen Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, wobei das Verfahren die Einführung und Expression einer beliebigen Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0271] Die vorliegende Erfindung stellt genauer gesagt ein Verfahren zur Herstellung transgener Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhtem Ertrag, ganz insbesondere erhöhtem Samenertrag, bereit, wobei das Verfahren Folgendes umfasst:

- (i) Einführen und Exprimieren eines LEJ1-Polypeptids oder eines ExbB-Polypeptids, einer -Nukleinsäure oder eines eine für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure umfassenden genetischen Konstrukts in einer Pflanze oder Pflanzenzelle; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

[0272] Die Nukleinsäure von (i) kann eine beliebige der Nukleinsäuren sein, die zum Codieren eines LEJ1-Polypeptids oder eines ExbB-Polypeptids, wie hierin definiert, in der Lage sind.

[0273] Was NMPRT-Polypeptide betrifft, so stellt die vorliegende Erfindung genauer gesagt ein Verfahren zur Herstellung von transgenen Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen bereit, insbesondere einem erhöhten Samenertrag und besonders bevorzugt einem oder mehreren der Folgenden: (i) einer erhöhten Füllrate; (ii) einer erhöhten Anzahl an Blüten pro Rispe; und (iii) einem erhöhten Tausendkerngewicht (TKW), wobei das Verfahren Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer für ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder eines genetischen Konstrukts, welches eine für ein NMPRT-Polypeptid codierende Nukleinsäure umfasst, in einer Pflanze oder Pflanzenzelle; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

[0274] Gemäß einer anderen Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung transgener Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhter Wurzelbiomasse, z. B. ausgedrückt als erhöhter Wurzel-/Spross-Index, bereit, wobei das Verfahren Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer für ein NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder eines genetischen Konstrukts, welches eine für ein NMPRT-Polypeptid codierende Nukleinsäure umfasst, in einer Pflanze oder Pflanzenzelle; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

[0275] Die Nukleinsäure von (i) kann eine beliebige der Nukleinsäuren sein, die zum Codieren eines NMPRT-Polypeptids, wie hierin definiert, in der Lage sind.

[0276] Die Nukleinsäure kann direkt in eine Pflanzenzelle oder in die Pflanze selbst eingebracht werden (einschließlich Einbringung in ein Gewebe, Organ oder einen beliebigen anderen Teil einer Pflanze). Gemäß einem bevorzugten Merkmal der vorliegenden Erfindung wird die Nukleinsäure vorzugsweise durch Transformation in eine Pflanze eingebracht. Der Begriff "Transformation" ist ausführlicher im Abschnitt "Definitionen" hierin beschrieben.

[0277] Die vorliegende Erfindung erstreckt sich in deutlicher Weise auf eine beliebige Pflanzenzelle oder Pflanze, welche durch ein beliebiges der hierin beschriebenen Verfahren hergestellt wurde, sowie auf alle Pflanzenteile und Fortpflanzungskeime davon. Die vorliegende Erfindung umfasst Pflanzen oder Teile davon (einschließlich Samen), die durch die Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung erhältlich sind. Die Pflanze oder Teile davon umfassen ein Nukleinsäuretransgen, das für ein wie oben definiertes LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert. Die vorliegende Erfindung erstreckt sich ferner dahingehend, dass die Nachkommenschaft eines/einer primär transformierten oder transfizierten Zelle, Gewebes, Organs oder ganzen Pflanze, welche(s) durch ein beliebiges der zuvor erwähnten Verfahren hergestellt worden ist, beinhaltet ist, wobei die einzige Anforderung darin besteht, dass die Nachkommen dasselbe/dieselben genotypische(n) und/oder phänotypische(n) Merkmal(e) aufzeigen, wie diejenigen, welche von der Elternform in den Verfahren gemäß der Erfindung hervorgebracht werden.

[0278] Die Erfindung umfasst außerdem Wirtszellen, die eine isolierte Nukleinsäure, die für ein wie oben definiertes LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert, enthalten. Bevorzugte Wirtszellen gemäß der Erfindung sind Bakterienzellen, Hefezellen, Pilzzellen oder Pflanzenzellen. Wirtspflanzen für die Nukleinsäuren oder den Vektor, welche in dem Verfahren gemäß der Erfindung verwendet werden, die Expressionskassette oder das Konstrukt oder der Vektor sind im Prinzip in vorteilhafter Weise alle Pflanzen, welche zum Synthetisieren der im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptide in der Lage sind.

[0279] Die erfindungsgemäßen Verfahren sind vorteilhaft auf alle Pflanzen, insbesondere auf alle wie hier definierten Pflanzen, anwendbar. Zu Pflanzen, die in den Verfahren der Erfindung besonders nützlich sind, zählen alle Pflanzen, die der Superfamilie Viridiplantae angehören, insbesondere monokotyle und dikotyle Pflanzen einschließlich Viehfutter- oder Grünfutter-Leguminosen, Zierpflanzen, Nahrungspflanzen, Bäume oder Sträucher.

[0280] Gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze eine Nutzpflanze. Beispiele für Kulturpflanzen schließen Endivie, Karotte, Maniok, Klee, Sojabohne, Rübe, Zuckerrübe, Sonnenblume, Canola, Luzerne, Raps, Flachs, Baumwolle, Tomate, Kartoffel und Tabak ein, sind jedoch nicht darauf beschränkt.

[0281] Gemäß einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze eine monokotyle Pflanze. Zu Beispielen von monokotylen Pflanzen zählt Zuckerrohr.

[0282] Gemäß einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze ein Getreide. Beispiele für Getreide schließen Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ein.

[0283] Die Erfindung erstreckt sich ebenfalls auf erntefähige Teile einer Pflanze wie, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, Samen, Blätter, Früchte, Blüten, Stängel, Wurzeln, Rhizome, Knollen und Zwiebeln, wobei diese erntefähigen Teile eine rekombinante Nukleinsäure enthalten, die für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert. Die Erfindung betrifft ferner Produkte, die aus einem erntefähigen Teil einer derartigen Pflanze abgeleitet, vorzugsweise direkt abgeleitet, sind, wie etwa trockene Pellets oder Pulver, Öl, Fett und Fettsäuren, Stärke oder Proteine.

[0284] Die vorliegende Erfindung umfasst ebenfalls die Verwendung von Nukleinsäuren, die für wie hier beschriebene LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, und die Verwendung dieser LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide bei der Steigerung beliebiger der oben erwähnten Ertragsmerkmale in Pflanzen. Zum Beispiel können die für ein hier beschriebenes LEJ1-Polypeptid oder ExbB-Polypeptid oder NMPRT-Polypeptid codierenden Nukleinsäuren oder die LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide selbst Anwendung bei Zuchtprogrammen finden, bei denen ein DNA-Marker identifiziert wird, welcher genetisch mit dem Gen verbunden sein kann, welches für ein LEJ1-Polypeptid oder ExbB-Polypeptid oder NMPRT-Polypeptid codiert. Die Nukleinsäuren/Gene oder die

LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide lassen sich zur Definition eines molekularen Markers verwenden. Dieser DNA- oder Proteinmarker kann dann in Züchtungsprogrammen verwendet werden, um Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, wie hierin oben definiert, in den Verfahren der Erfindung zu selektieren. Weiterhin können Allelvarianten einer Nukleinsäure/eines Gens, welche bzw. welches für ein LEJ1-Polypeptid oder ein ExbB-Polypeptid oder ein NMPRT-Polypeptid codiert, Anwendung bei markergestützten Zuchtprogrammen finden. Nukleinsäuren, die für LEJ1-Polypeptide oder ExbB-Polypeptide oder NMPRT-Polypeptide codieren, können auch als Sonden für die genetische und physikalische Kartierung der Gene, von denen sie ein Teil sind, sowie als Marker für mit diesen Genen gekoppelte Merkmale verwendet werden. Derartige Informationen können in der Pflanzenzucht nützlich sein, um Linien mit gewünschten Phänotypen zu entwickeln.

[0285] Es sei angemerkt, dass man die hier bereitgestellten Ausführungsformen miteinander kombinieren kann, wenn nicht ausdrücklich anders angegeben. Die Überschriften dienen lediglich zum Zweck der Übersichtlichkeit und sollen die vorliegende Anmeldung in keiner Weise einschränken bzw. deren Interpretation in keiner Weise beeinträchtigen.

AP2-26-ähnliches Polypeptid

[0286] Überraschenderweise wurde nun festgestellt, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält.

[0287] Gemäß einer ersten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und gegebenenfalls auf Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen selektiert. Gemäß einer anderen Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in dieser Pflanze die Expression einer für ein wie hier beschriebenes AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und gegebenenfalls auf Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen selektiert.

[0288] Bei einem bevorzugten Verfahren zum Modulieren (vorzugsweise Erhöhen) der Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure bringt man eine für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze ein und exprimiert sie dort.

[0289] Im Folgenden soll jeder Verweis auf ein "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignetes Protein" so verstanden werden, dass damit ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid gemeint ist. Jeder Verweis auf eine "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäure" soll im Folgenden so verstanden werden, dass damit eine Nukleinsäure gemeint ist, die dazu fähig ist, für ein solches AP2-26-ähnliches Polypeptid zu codieren. Bei der in eine Pflanze einzuführenden (und daher für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren geeigneten) Nukleinsäure handelt es sich um eine beliebige Nukleinsäure, die für den im Folgenden beschriebenen Proteintyp codiert und die im Folgenden auch als "AP2-26-ähnliche Nukleinsäure" oder "AP2-26-ähnliches Gen" bezeichnet wird.

[0290] Ein wie hier definiertes "AP2-26-ähnliches Polypeptid" bezieht sich auf ein beliebiges Polypeptid, welches eine einzelne AP2-Domäne umfasst (PFam-Eintrag PF00847, siehe auch Beispiel 15) und Transkriptionsfaktoraktivität aufweist. Vorzugsweise umfasst das AP2-26-ähnliche Polypeptid außerdem eines oder mehrere der folgenden Motive:

Motiv 13 (SEQ ID NR: 378):

KLYRGVQRHGWGKVVAEIRLP[**RK**]NRTLRWLGTFTAE[**ED**]AAL[**TA**]YD[**KQ**]AA[**YF**][**RK**]LR

Motiv 14 (SEQ ID NR: 379):

[**GHA**][**ELS**][**YRA**][**GKP**]PL[**DH**][**AS**][**SAT**]VDAKL[**QE**]AIC[**DQ**][**TSN**][**ILM**]

Motiv 15 (SEQ ID NR: 380):

PS[**YVWL**]EIDW

[0291] Die wie hier verwendeten Begriffe "AP2-26-ähnlich" oder "AP2-26-ähnliches Polypeptid" sollen auch wie hier unter "AP2-26-ähnliches Polypeptid" definierte Homologe einschließen.

[0292] Die Motive 13 bis 15 wurden unter Anwendung des MEME-Algorithmus (Bailey und Elkan, Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press,

Menlo Park, Kalifornien, 1994) oder des multiplen Alignments von [Fig. 16](#) abgeleitet. Bei den einzelnen Positionen innerhalb eines MEME-Motivs sind die Reste gezeigt, die in dem abgefragten Satz von Sequenzen mit einer Häufigkeit von mehr als 0,2 vorhanden sind. Reste in eckigen Klammern stellen Alternativen dar.

[0293] Besonders bevorzugt umfasst das AP2-26-ähnliche Polypeptid mit zunehmender Präferenz 1, 2 oder alle 3 Motive.

[0294] Zusätzlich oder alternativ dazu hat das Homolog eines AP2-26-ähnlichen Proteins mit zunehmender Präferenz mindestens 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Gesamtsequenzidentität zur Aminosäure gemäß SEQ ID NO: 329, mit der Maßgabe, dass das homologe Protein eines oder mehrere der wie oben umrissenen konservierten Motive umfasst. Die Gesamtsequenzidentität wird unter Anwendung eines globalen Alignment-Algorithmus, wie dem Needleman-Wunsch-Algorithmus im Programm GAP (GCG Wisconsin Package, Accelrys), vorzugsweise mit Standardparametern und vorzugsweise mit Sequenzen reifer Proteine (d. h. ohne Berücksichtigung von Sekretionssignalen oder Transitpeptiden), ermittelt. Im Vergleich zu der Gesamtsequenzidentität wird die Sequenzidentität im Allgemeinen höher sein, wenn lediglich konservierte Domänen oder Motive betrachtet werden. Vorzugsweise haben die Motive in einem AP2-26-ähnlichen Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einem oder mehreren der durch SEQ ID NR: 378 bis SEQ ID NR: 380 wiedergegebenen Motive (Motive 13 bis 15).

[0295] In anderen Worten: gemäß einer anderen Ausführungsform wird ein Verfahren bereitgestellt, bei dem das AP2-26-ähnliche Polypeptid eine konservierte Domäne (oder ein konserviertes Motiv) mit mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einer konservierten Domäne von Aminosäure 104 bis 152 in SEQ ID NR: 329 umfasst.

[0296] Die Begriffe "Domäne", "Signatur" und "Motiv" sind im Abschnitt "Definitionen" hierin definiert.

[0297] Vorzugsweise bildet die Polypeptidsequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums, wie demjenigen, der in [Fig. 17](#) abgebildet ist, verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe der AP2-26-ähnlichen Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 329 umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0298] Weiterhin verfügen AP2-26-ähnliche Polypeptide (zumindest in ihrer nativen Form) typischerweise über eine DNA-Bindungsaktivität. Werkzeuge und Methoden zum Messen der DNA-Bindungsaktivität sind im Stand der Technik gut bekannt, zum Beispiel Assays zu Änderungen bei der elektrophoretischen Mobilität und Footprinting-Untersuchungen der Motive, die häufig in den Promotorregionen von Pflanzen vorkommen (Gasser 2003, *Plant Mol Biol.* 53(3): 281–95 und dort aufgeführte Literaturstellen; Nieto-Sotelo et al. 1994 *Plant Cell* 6: 287–301; Zhang et al. 2003 *Biochemistry* 42: 6596–6607; Klosterman 2002 *Plant Science* 162, 855–866). Weitere Details finden sich in Beispiel 17.

[0299] Darüber hinaus liefern AP2-26-ähnliche Polypeptide, wenn sie gemäß den Verfahren der vorliegenden Erfindung wie in den Beispielen 18 und 19 umrissen in Reis exprimiert werden, Pflanzen mit erhöhten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhter Jungpflanzenvitalität und erhöhtem Ernteindex.

[0300] Die vorliegende Erfindung wird durch Transformieren von Pflanzen mit der Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 328, die für die Polypeptidsequenz von SEQ ID NR: 329 codiert, veranschaulicht. Die Durchführung der Erfindung ist jedoch nicht auf diese Sequenzen beschränkt; die Verfahren der Erfindung lassen sich vorteilhaft mit einer beliebigen wie hier definierten für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder einem beliebigen wie hier definierten AP2-26-ähnlichen Polypeptid durchführen.

[0301] Beispiele für für AP2-26-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäuren sind hier in Tabelle F des Beispielteils angeführt. Solche Nukleinsäuren eignen sich zum Durchführen der Verfahren der Erfindung. Die in Tabelle F des Beispielteils angeführten Aminosäuresequenzen sind Beispielsequenzen von Orthologen und Paralogen des AP2-26-ähnlichen Polypeptids gemäß SEQ ID NR: 329, wobei die Begriffe "Orthologe" und "Paraloge" wie hier definiert sind. Weitere Orthologe und Paraloge können leicht durch Ausführen einer sogenannten reziproken Blast-Suche, wie sie im Definitionsabschnitt beschrieben ist, identifiziert werden; handelt es sich bei der Abfragesequenz um SEQ ID NR: 328 oder SEQ ID NR: 329, würde der zweite BLAST (back-BLAST) daher gegen Reisssequenzen erfolgen.

[0302] Die Erfindung stellt außerdem bislang unbekannte, für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäuren und AP2-26-ähnliche Polypeptide, die sich dazu eignen, Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen gesteigerte Ertragsmerkmale zu verleihen, bereit.

[0303] Gemäß einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird daher ein isoliertes Nukleinsäuremolekül aus der folgenden Reihe bereitgestellt:

- (i) eine Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 352 und 338;
- (ii) das Komplement einer Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: SEQ ID NR: 352 und 338;
- (iii) eine Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert mit, mit zunehmender Präferenz, mindestens 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu der Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: SEQ ID NR: 353 und 339 und die zusätzlich oder alternativ dazu ein oder mehrere Motive mit, mit zunehmender Präferenz, mindestens 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Sequenzidentität zu den Motiven in SEQ ID NR: 378 bis SEQ ID NR: 380 umfasst und weiterhin vorzugsweise gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu Kontrollpflanzen verleiht;
- (iv) ein Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül von (i) bis (iii) unter hochstringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und vorzugsweise gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu Kontrollpflanzen verleiht.

[0304] Gemäß einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird außerdem ein isoliertes Polypeptid aus der folgenden Reihe bereitgestellt:

- (i) eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: SEQ ID NR: 353 und 339;
- (ii) eine Aminosäuresequenz mit, mit zunehmender Präferenz, mindestens 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu der Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: SEQ ID NR: 353 und 339, und die zusätzlich oder alternativ dazu ein oder mehrere Motive mit, mit zunehmender Präferenz, mindestens 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Sequenzidentität zu den Motiven in SEQ ID NR: 378 bis SEQ ID NR: 380 umfasst und weiterhin vorzugsweise gesteigerte Ertragsmerkmale im Vergleich zu Kontrollpflanzen verleiht;
- (iii) Derivate von beliebigen der Aminosäuresequenzen gemäß (i) oder (ii) oben.

[0305] Auch Nukleinsäurevarianten können bei der Ausübung der Verfahren der Erfindung nützlich sein. Zu Beispielen solcher Varianten zählen Nukleinsäuren, welche für Homologe und Derivate von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispielteils angegebenen Aminosäuresequenzen codieren, wobei die Begriffe "Homolog" und "Derivat" wie hier definiert sind. Außerdem sind Nukleinsäuren in den Verfahren der Erfindung nützlich, die für Homologe und Derivate von Orthologen oder Paralogen von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispielteils angegebenen Aminosäuresequenzen codieren. Homologe und Derivate, die in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlich sind, besitzen im Wesentlichen die gleiche biologische und funktionelle Aktivität wie das unmodifizierte Protein, aus dem sie abgeleitet sind. Weitere für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeignete Varianten sind Varianten, bei denen der Codon-Einsatz optimiert ist oder bei denen miRNA-Targetstellen entfernt sind.

[0306] Ferner zählen zu den bei der Ausübung der Verfahren der Erfindung nützlichen Nukleinsäurevarianten Abschnitte von Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, Nukleinsäuren, die mit Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, hybridisieren, Spleißvarianten von Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, Allelvarianten von Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, sowie Varianten von Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, welche durch Gen-Shuffling erhalten werden. Die Begriffe Hybridisierungssequenz, Spleißvariante, Allelvariante und Gen-Shuffling sind wie hierin beschrieben beschaffen.

[0307] Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, müssen nicht Volllängennukleinsäuren sein, da die Ausführung der Verfahren der Erfindung nicht auf der Verwendung von Nukleinsäuresequenzen mit voller Länge beruht. Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einem Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispielteils angegebenen Nukleinsäuresequenzen oder einem Abschnitt von einer für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispielteils angegebenen Aminosäuresequenzen codierenden Nukleinsäure.

[0308] Ein Abschnitt einer Nukleinsäure kann zum Beispiel durch Vornehmen einer oder mehrerer Deletionen an der Nukleinsäure hergestellt werden. Die Abschnitte können in isolierter Form verwendet werden oder sie können an andere codierende (oder nicht-codierende) Sequenzen fusioniert sein, um zum Beispiel ein Protein zu erzeugen, das mehrere Aktivitäten vereint. Sofern es an andere codierende Sequenzen fusioniert ist, kann das resultierende Polypeptid, das nach Translation produziert wird, größer sein als jenes, das für den Proteinabschnitt vorhergesagt wird.

[0309] Abschnitte, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, codieren für ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid und weisen im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie die in Tabelle F des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen auf. Vorzugsweise ist der Abschnitt ein Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebenen Nukleinsäuren oder ist ein Abschnitt einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Vorzugsweise weist der Abschnitt eine Länge von mindestens 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100 oder mehr aufeinanderfolgenden Nukleotiden auf, wobei die aufeinanderfolgenden Nukleotide aus einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebenen Nukleinsäuresequenzen stammen oder aus einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Ganz besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Abschnitt um einen Abschnitt der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 328. Vorzugsweise codiert der Abschnitt für ein Fragment einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von AP2-26-ähnlichen Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 329 umfassen, als mit einer anderen Gruppe bildet und/oder eines der Motive 13 bis 15 umfasst und/oder DNA-Bindungsaktivität aufweist und/oder mindestens 80% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 329 aufweist.

[0310] Eine andere für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäurevariante ist eine Nukleinsäure, die unter Bedingungen verringerter Stringenz, vorzugsweise unter stringenteren Bedingungen, zum Hybridisieren mit einer Nukleinsäure, die für ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, oder mit einem wie hier definierten Abschnitt in der Lage ist.

[0311] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, bei dem man in eine Pflanze eine zum Hybridisieren mit einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angeführten Nukleinsäuren fähige Nukleinsäure einführt und dort exprimiert oder bei dem man in eine Pflanze eine zum Hybridisieren mit einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angeführten Nukleinsäuresequenzen codiert, fähige Nukleinsäure einführt und dort exprimiert.

[0312] Hybridisierungssequenzen, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind und für ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codieren, haben im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie die in Tabelle F des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen. Vorzugsweise ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angeführten Nukleinsäuren oder mit einem Abschnitt einer dieser Sequenzen, wobei ein Abschnitt wie oben definiert ist, in der Lage, oder die Hybridisierungssequenz ist zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen codiert, fähig. Ganz besonders bevorzugt ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 328 oder mit einem Abschnitt davon in der Lage.

[0313] Vorzugsweise codiert die Hybridisierungssequenz für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie vollständig ist und bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von AP2-26-ähnlichen Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 329 umfassen, als mit einer anderen Gruppe bildet und/oder eines der Motive 13 bis 15 umfasst und/oder DNA-Bindungsaktivität aufweist und/oder mindestens 80% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 329 aufweist.

[0314] Eine andere Nukleinsäurevariante, die in den Verfahren der Erfindung von Nutzen ist, ist eine Spleißvariante, die für ein wie hier definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wobei eine Spleißvariante wie hier definiert ist.

[0315] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Spleißvariante von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebenen Nukleinsäuresequenzen oder einer Spleißva-

riante von einer für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebene Aminosäuresequenzen codierenden Nukleinsäure.

[0316] Bevorzugte Spleißvarianten sind Spleißvarianten einer Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 328 oder eine Spleißvariante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 329 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Spleißvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von AP2-26-ähnlichen Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 329 umfassen, als mit einer anderen Gruppe und/oder umfasst eines der Motive 13 bis 15 und/oder weist DNA-Bindungsaktivität auf und/oder weist mindestens 80% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 329 auf.

[0317] Eine andere Nukleinsäurevariante, die bei der Ausführung der Verfahren der Erfindung von Nutzen ist, ist eine Allelvariante einer Nukleinsäure, die für ein wie oben definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wobei eine Allelvariante wie hier definiert ist.

[0318] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zum Erhöhen von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Allelvariante einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebene Nukleinsäuren oder umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Allelvariante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebene Aminosäuresequenzen codiert.

[0319] Die von in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlichen Allelvarianten codierten Polypeptide haben im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie das AP2-26-ähnliche Polypeptid von SEQ ID NR: 329 und beliebige der in Tabelle F des Beispiels gezeigten Aminosäuren. Allelvarianten kommen in der Natur vor, und zu den Verfahren der vorliegenden Erfindung gehört auch die Verwendung dieser natürlichen Allele. Vorzugsweise ist die Allelvariante eine Allelvariante von SEQ ID NR: 328 oder eine Allelvariante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 329 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Allelvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von AP2-26-ähnlichen Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 329 umfassen, als mit einer anderen Gruppe und/oder umfasst eines der Motive 12 bis 15 und/oder weist DNA-Bindungsaktivität auf und/oder weist mindestens 80% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 329 auf.

[0320] Gen-Shuffling oder gerichtete Evolution können ebenfalls zur Anwendung kommen, um Varianten von Nukleinsäuren zu erzeugen, welche für wie oben definierte AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, wobei der Begriff "Gen-Shuffling" wie hier definiert ist.

[0321] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Variante einer beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebene Nukleinsäuresequenzen oder umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Variante einer Nukleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von beliebigen der in Tabelle F des Beispiels angegebene Aminosäuresequenzen codiert, wobei die Nukleinsäurevariante durch Gen-Shuffling erhalten wird.

[0322] Vorzugsweise bildet die von der durch Gen-Shuffling erhaltenen Nukleinsäurevariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Gruppe von AP2-26-ähnlichen Polypeptiden, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 329 umfassen, als mit einer anderen Gruppe und/oder umfasst eines der Motive 13 bis 15 und/oder weist DNA-Bindungsaktivität auf und/oder weist mindestens 80% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 329 auf.

[0323] Weiterhin lassen sich Nukleinsäurevarianten auch durch ortsgerichtete Mutagenese erhalten. Zum Erzielen einer ortsgerichteten Mutagenese sind mehrere Verfahren verfügbar, wobei die üblichsten PCR-basierte Verfahren sind (Current Protocols in Molecular Biology. Wiley, Hrsg.).

[0324] Für AP2-26-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäuren lassen sich aus einer beliebigen natürlichen oder künstlichen Quelle gewinnen. Die Nukleinsäure kann von ihrer nativen Form hinsichtlich Zusammensetzung und/oder genomischer Umgebung durch absichtlichen menschlichen Eingriff modifiziert werden. Vorzugsweise stammt die für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäure aus einer Pflanze,

weiter bevorzugt aus einer monokotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Poaceae, ganz besonders bevorzugt stammt die Nukleinsäure aus *Oryza sativa*.

[0325] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen. Insbesondere erhält man durch die Durchführung der Verfahren der Erfindung Pflanzen mit einer erhöhten Jungpflanzenvitalität und einem erhöhten Ertrag, insbesondere einem erhöhten Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Die Begriffe "Ertrag" und "Samenertrag" sind hier ausführlicher im Abschnitt "Definitionen" beschrieben.

[0326] Ein Verweis auf gesteigerte Ertragsmerkmale bedeuten hier eine Erhöhung der Jungpflanzenvitalität und/oder der Biomasse (Gewicht) von einem oder mehreren Teilen einer Pflanze, was (i) oberirdische Teile und vorzugsweise oberirdische erntefähige Teile und/oder (ii) Teile im Erdboden und vorzugsweise erntefähige Teile im Erdboden einschließen kann. Insbesondere handelt es sich bei derartigen erntefähigen Teilen um Samen, und die Durchführung der Verfahren der Erfindung führt zu Pflanzen, welche einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zum Samenertrag von Kontrollpflanzen aufweisen.

[0327] Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Erhöhung von Ertragsmerkmalen, insbesondere der Jungpflanzenvitalität und des Samenertrags von Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, wobei das Verfahren die Modulation der Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0328] Gemäß einem bevorzugten Merkmal der vorliegenden Erfindung ergibt die Durchführung der Verfahren der Erfindung Pflanzen mit einer erhöhten Wachstumsrate im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Erhöhen der Wachstumsrate von Pflanzen bereitgestellt, wobei das Verfahren die Modulation der Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0329] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Nichtstressbedingungen oder unter milden Dürrebedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Nichtstressbedingungen oder unter milden Dürrebedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0330] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Nährstoffmangelbedingungen, insbesondere unter Stickstoffmangelbedingungen, herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Nährstoffmangelbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0331] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Salzstressbedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Salzstressbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0332] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Dürrestressbedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Dürrestressbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0333] Die Erfindung stellt außerdem genetische Konstrukte und Vektoren zum Erleichtern des Einbringens und/oder der Expression von für AP2-26-ähnliche Polypeptide codierenden Nukleinsäuren in Pflanzen bereit. Die Genkonstrukte können in Vektoren inseriert werden, welche kommerziell erhältlich sein können, die für das Transformieren in Pflanzen hinein geeignet sind und für die Expression des Gens von Interesse in den transformierten Zellen geeignet sind. Die Erfindung stellt ebenfalls die Verwendung eines wie hier definierten Genkonstrukts in den Verfahren der Erfindung bereit.

- [0334]** Genauer stellt die vorliegende Erfindung ein Konstrukt bereit, umfassend:
- (a) eine Nukleinsäure, die für ein wie oben definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert;
 - (b) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (a) in der Lage sind; und gegebenenfalls
 - (c) eine Transkriptionsterminationssequenz.
- [0335]** Die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure ist vorzugsweise wie oben definiert. Die Begriffe "Steuerungssequenz" und "Terminationssequenz" sind wie hierin definiert.
- [0336]** Die Erfindung stellt weiterhin mit einem wie oben beschriebenen Konstrukt transformierte Pflanzen bereit. Die Erfindung stellt insbesondere mit einem wie oben beschriebenen Konstrukt transformierte Pflanzen bereit, die wie hier beschriebene erhöhte Ertragsmerkmale haben.
- [0337]** Pflanzen werden mit einem Vektor transformiert, der jedwede der oben beschriebenen Nukleinsäuren umfasst. Der Fachmann auf dem Gebiet ist mit den genetischen Elementen gut vertraut, welche auf dem Vektor vorhanden sein müssen, um Wirtszellen, welche die Sequenz von Interesse enthalten, erfolgreich zu transformieren, zu selektieren und zu vermehren. Die Sequenz von Interesse ist funktionsfähig mit einer oder mehreren Steuerungssequenzen (mindestens mit einem Promotor) verbunden.
- [0338]** Vorteilhafterweise kann zur Steuerung der Expression der Nukleinsäuresequenz ein beliebiger Promotortyp verwendet werden, gleich ob natürlich oder synthetisch, vorzugsweise ist der Promotor jedoch pflanzlichen Ursprungs. Ein wurzelspezifischer Promotor eignet sich besonders für die Verfahren. Ebenfalls für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignet ist ein konstitutiver Promotor. Vorzugsweise handelt es sich bei dem konstitutiven Promotor um einen ubiquitären konstitutiven Promotor mittlerer Stärke. Definitionen der verschiedenen Promotortypen finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".
- [0339]** Es sollte klar sein, dass die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung nicht auf die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 328 beschränkt ist, noch ist die Anwendbarkeit der Erfindung auf die Expression einer für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines wurzelspezifischen Promotors oder unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors beschränkt.
- [0340]** Bei dem wurzelspezifischen Promotor handelt es sich vorzugsweise um einen RCc3-Promotor (Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237–48) oder einen Promotor von im Wesentlichen der gleichen Stärke und mit im Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster (einen funktionell äquivalenten Promotor), besonders bevorzugt stammt der RCc3-Promotor aus Reis, noch mehr bevorzugt wird der RCc3-Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 382 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der Promotor durch SEQ ID NR: 382 wiedergegeben. Beispiele weiterer wurzelspezifischer Promotoren, die sich ebenfalls zur Durchführung der Verfahren der Erfindung einsetzen lassen, sind oben in Tabelle 2b im Abschnitt "Definitionen" gezeigt.
- [0341]** Gemäß einem anderen bevorzugten Merkmal der Erfindung ist die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor verbunden. Bei dem konstitutiven Promotor handelt es sich vorzugsweise um einen Promotor mittlerer Stärke. Besonders bevorzugt handelt es sich um einen von Pflanzen abgeleiteten Promotor wie einen GOS2-Promotor oder einen Promotor mit im Wesentlichen der gleichen Stärke und im Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster (einen funktionell äquivalenten Promotor); besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Promotor um den GOS2-Promotor aus Reis. Weiter bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 381 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der konstitutive Promotor durch SEQ ID NR: 381 wiedergegeben. Weitere Beispiele konstitutiver Promotoren finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".
- [0342]** Gegebenenfalls können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere Terminatorsequenzen eingesetzt werden. Vorzugsweise umfasst das Konstrukt eine Expressionskassette, die einen RCc3- oder einen GOS2-Promotor umfasst, im Wesentlichen ähnlich SEQ ID NR: 382 bzw. SEQ ID NR: 381, funktionsfähig verbunden mit der für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäure. Besonders bevorzugt umfasst die Expressionskassette, die die für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäure funktionsfähig mit dem RCc3-Promotor verbunden enthält, die Sequenz gemäß SEQ ID NR: 382. Weiterhin können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere für selektierbare Marker codierende Sequenzen vorhanden sein.

[0343] Gemäß einem bevorzugten Merkmal der Erfindung ist die modulierte Expression eine erhöhte Expression. Verfahren zur Erhöhung der Expression von Nukleinsäuren oder Genen oder Genprodukten sind im Fachgebiet gut dokumentiert, und Beispiele sind im Abschnitt "Definitionen" angegeben.

[0344] Wie oben erwähnt, wird ein bevorzugtes Verfahren zur Modulierung der Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, durchgeführt, indem man eine für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze einbringt und dort exprimiert; allerdings können die Effekte der Durchführung des Verfahrens, d. h. die Steigerung von Ertragsmerkmalen, auch unter Verwendung anderer gut bekannter Techniken erzielt werden, einschließlich, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, T-DNA-Aktivierungs-Tagging, TILLING, homologer Rekombination. Eine Beschreibung dieser Techniken ist im Abschnitt "Definitionen" angegeben.

[0345] Die Erfindung stellt außerdem ein Verfahren zur Produktion von transgenen Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, wobei das Verfahren die Einführung und Expression einer beliebigen Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0346] Die vorliegende Erfindung stellt genauer gesagt ein Verfahren zur Herstellung transgener Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhtem Samenertrag und/oder erhöhter Jungpflanzenvitalität, bereit, wobei das Verfahren Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder eines genetischen Konstrukts, welches eine für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure umfasst, in einer Pflanze oder Pflanzenzelle; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

[0347] Die Kultivierung der Pflanzenzelle unter das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen fördernden Bedingungen kann eine Regeneration und/oder ein Wachstum bis zur Reife beinhalten oder nicht.

[0348] Die Nukleinsäure von (i) kann eine beliebige der Nukleinsäuren sein, die zum Codieren eines AP2-26-ähnlichen Polypeptids, wie hierin definiert, in der Lage sind.

[0349] Die Nukleinsäure kann direkt in eine Pflanzenzelle oder in die Pflanze selbst eingebracht werden (einschließlich Einbringung in ein Gewebe, Organ oder einen beliebigen anderen Teil einer Pflanze). Gemäß einem bevorzugten Merkmal der vorliegenden Erfindung wird die Nukleinsäure vorzugsweise durch Transformation in eine Pflanze eingebracht. Der Begriff "Transformation" ist ausführlicher im Abschnitt "Definitionen" hierin beschrieben.

[0350] Die vorliegende Erfindung erstreckt sich in deutlicher Weise auf eine beliebige Pflanzenzelle oder Pflanze, welche durch ein beliebiges der hierin beschriebenen Verfahren hergestellt wurde, sowie auf alle Pflanzenteile und Fortpflanzungskeime davon. Die vorliegende Erfindung umfasst Pflanzen oder Teile davon (einschließlich Samen), die durch die Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung erhältlich sind. Die Pflanzen oder Teile davon umfassen ein Nukleinsäuretransgen, das für ein wie oben definierte AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert. Die vorliegende Erfindung erstreckt sich ferner dahingehend, dass die Nachkommenschaft eines/einer primär transformierten oder transfizierten Zelle, Gewebes, Organs oder ganzen Pflanze, welche(s) durch ein beliebiges der zuvor erwähnten Verfahren hergestellt worden ist, beinhaltet ist, wobei die einzige Anforderung darin besteht, dass die Nachkommen dasselbe/dieselben genotypische(n) und/oder phänotypische(n) Merkmal(e) aufzeigen, wie diejenigen, welche von der Elternform in den Verfahren gemäß der Erfindung hervorgebracht werden.

[0351] Die Erfindung schließt auch Wirtszellen ein, die eine isolierte Nukleinsäure enthalten, welche für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid, wie hierin oben definiert, codiert. Bevorzugte Wirtszellen gemäß der Erfindung sind Bakterienzellen, Hefezellen, Pilzzellen oder Pflanzenzellen. Wirtspflanzen für die Nukleinsäuren oder den Vektor, welche in dem Verfahren gemäß der Erfindung verwendet werden, die Expressionskassette oder das Konstrukt oder der Vektor sind im Prinzip in vorteilhafter Weise alle Pflanzen, welche zum Synthetisieren der im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptide in der Lage sind.

[0352] Die erfindungsgemäßen Verfahren sind vorteilhaft auf alle Pflanzen, insbesondere auf alle wie hier definierten Pflanzen, anwendbar. Zu Pflanzen, die in den Verfahren der Erfindung besonders nützlich sind, zählen alle Pflanzen, die der Superfamilie Viridiplantae angehören, insbesondere monokotyle und dikotyle Pflanzen

einschließlich Viehfutter- oder Grünfutter-Leguminosen, Zierpflanzen, Nahrungspflanzen, Bäume oder Sträucher.

[0353] Gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze eine Nutzpflanze. Beispiele für Kulturpflanzen schließen Endivie, Karotte, Maniok, Klee, Sojabohne, Rübe, Zuckerrübe, Sonnenblume, Canola, Luzerne, Raps, Flachs, Baumwolle, Tomate, Kartoffel und Tabak ein, sind jedoch nicht darauf beschränkt.

[0354] Gemäß einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze eine monokotyle Pflanze. Zu Beispielen von monokotylen Pflanzen zählt Zuckerrohr.

[0355] Gemäß einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze ein Getreide. Beispiele für Getreide schließen Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ein.

[0356] Die Erfindung erstreckt sich ebenfalls auf erntefähige Teile einer Pflanze wie, ohne jedoch darauf eingeschränkt zu sein, Samen, Blätter, Früchte, Blüten, Stängel, Wurzeln, Rhizome, Knollen und Zwiebeln, wobei diese erntefähigen Teile eine rekombinante Nukleinsäure enthalten, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert. Die Erfindung betrifft ferner Produkte, die aus einem erntefähigen Teil einer derartigen Pflanze abgeleitet, vorzugsweise direkt abgeleitet, sind, wie etwa trockene Pellets oder Pulver, Öl, Fett und Fettsäuren, Stärke oder Proteine.

[0357] Die vorliegende Erfindung umfasst ebenfalls die Verwendung von Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide, wie hierin beschrieben, codieren, und die Verwendung dieser AP2-26-ähnlichen Polypeptide bei der Steigerung beliebiger der oben erwähnten Ertragsmerkmale in Pflanzen. Zum Beispiel können die hierin beschriebenen Nukleinsäuren, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codieren, oder die AP2-26-ähnlichen Polypeptide selbst Anwendung in Züchtungsprogrammen finden, in denen ein DNA-Marker identifiziert wird, der genetisch an ein für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierendes Gen gekoppelt sein kann. Die Nukleinsäuren/Gene oder die AP2-26-ähnlichen Polypeptide selbst können verwendet werden, um einen molekularen Marker zu definieren. Dieser DNA- oder Proteinmarker kann dann in Züchtungsprogrammen verwendet werden, um Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, wie hierin oben definiert, in den Verfahren der Erfindung zu selektieren. Weiterhin können Allelvarianten einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure/eines für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Gens in markergestützten Zuchtprogrammen Anwendung finden. Nukleinsäuren, die für AP2-26-ähnliche Polypeptide codieren, können auch als Sonden für die genetische und physikalische Kartierung der Gene, von denen sie ein Teil sind, sowie als Marker für mit diesen Genen gekoppelte Merkmale verwendet werden. Derartige Informationen können in der Pflanzenzucht nützlich sein, um Linien mit gewünschten Phänotypen zu entwickeln.

HD8-ähnliches Polypeptid

[0358] Gemäß einer anderen Ausführungsform wurde nun festgestellt, dass man durch Modulieren der Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen erhält.

[0359] Gemäß einer ersten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in einer Pflanze die Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und gegebenenfalls auf Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen selektiert. Gemäß einer anderen Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, bei dem man in dieser Pflanze die Expression einer für ein wie hier beschriebenes HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure moduliert und gegebenenfalls auf Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen selektiert.

[0360] Bei einem bevorzugten Verfahren zum Modulieren (vorzugsweise Erhöhen) der Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure bringt man eine für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze ein und exprimiert sie dort.

[0361] Im Folgenden soll jeder Verweis auf ein "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignetes Protein" so verstanden werden, dass damit ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid gemeint ist. Jeder Verweis auf eine "für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nukleinsäure" soll im Folgenden so verstanden werden, dass damit eine Nukleinsäure gemeint ist, die dazu fähig ist, für ein solches HD8-ähnliches Polypeptid

zu codieren. Bei der in eine Pflanze einzuführenden (und daher für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren geeigneten) Nukleinsäure handelt es sich um eine beliebige Nukleinsäure, die für den im Folgenden beschriebenen Proteintyp codiert und die im Folgenden auch als "HD8-ähnliche Nukleinsäure" oder "HD8-ähnliches Gen" bezeichnet wird.

[0362] Ein wie hier definiertes "HD8-ähnliches Polypeptid" bezieht sich auf ein beliebiges Protein, welches zur Unterfamilie IV der HD-ZIP-Transkriptionsfaktoren gehört und eine Homeobox-Domäne (Pfam PF00046) und eine START-Domäne (PF01852) umfasst, siehe auch Beispiel 26. Vorzugsweise umfasst das HD8-ähnliche Polypeptid eines oder mehrere der folgenden Motive:

Motiv 16 (SEQ ID NR: 562):

[EAP][TR]Q[IV]K[YF]WFQN[CR]R[ST][KQ][MI]K[KVA][FRQ][QKSH][ENCD][RNG][AETH][DE][RN][SKNC]
[LAKI][LY][RQK][KRA][QE]N[EAD][EK][LI][RLK][KAC][TE]N[AMI][AER][LI][RKQ][NE][RQA][LMI][KR][NGK]
[VSM]A[TI]C

Motiv 17 (SEQ ID NR: 563).

[KPR][RK]RY[QH][LR][LH]T[MPA][QR]Q[KI][EQ][ETQR][LM][NE][RAS][LAYM][FD][QLK][ESA][CS][PF][NPH]
[FP][LD][ERLD][KNL][DLQ]

Motiv 18 (SEQ ID NR: 564).

[DN]G[CRNHY][CS][QRK][ILMV][YVIT][AW][VLIM][DEV]

[0363] Die wie hier verwendeten Begriffe "HD8-ähnlich" oder "HD8-ähnliches Polypeptid" sollen auch wie hier unter "HD8-ähnliches Polypeptid" definierte Homologe einschließen.

[0364] Die Motive 16, 17 und 18 wurden unter Anwendung des MEME-Algorithmus (Bailey und Elkan, Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994) abgeleitet. Bei den einzelnen Positionen innerhalb eines MEME-Motivs sind die Reste gezeigt, die in dem abgefragten Satz von Sequenzen mit einer Häufigkeit von mehr als 0,2 vorhanden sind. Reste in eckigen Klammern stellen Alternativen dar.

[0365] Besonders bevorzugt umfasst das HD8-ähnliche Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 1, mindestens 2 oder alle 3 Motive.

[0366] Zusätzlich oder alternativ dazu hat das Homolog eines HD8-ähnlichen Proteins mit zunehmender Präferenz mindestens 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Gesamtsequenzidentität zur Aminosäure gemäß SEQ ID NR: 385, mit der Maßgabe, dass das homologe Protein eines oder mehrere der wie oben umrissenen konservierten Motive umfasst. Die Gesamtsequenzidentität wird unter Anwendung eines globalen Alignment-Algorithmus, wie dem Needleman-Wunsch-Algorithmus im Programm GAP (GCG Wisconsin Package, Accelrys), vorzugsweise mit Standardparametern und vorzugsweise mit Sequenzen reifer Proteine (d. h. ohne Berücksichtigung von Sekretionssignalen oder Transitpeptiden), ermittelt. Im Vergleich zu der Gesamtsequenzidentität wird die Sequenzidentität im Allgemeinen höher sein, wenn lediglich konservierte Domänen oder Motive betrachtet werden. Vorzugsweise haben die Motive in einem HD8-ähnlichen Polypeptid mit zunehmender Präferenz mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einem oder mehreren der durch SEQ ID NR: 562 bis SEQ ID NR: 564 wiedergegebenen Motive (Motive 16 bis 18).

[0367] Anders ausgedrückt wird bei einer anderen Ausführungsform ein Verfahren bereitgestellt, bei dem das HD8-ähnliche Polypeptid eine konservierte Domäne (oder ein konserviertes Motiv) mit mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu der konservierten Domäne von Aminosäure 265 bis 500 in SEQ ID NR: 385) umfasst.

[0368] Die Begriffe "Domäne", "Signatur" und "Motiv" sind im Abschnitt "Definitionen" hierin definiert.

[0369] Vorzugsweise bildet die Polypeptidsequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) (Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Unterfamilie IV der HD-ZIP-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 385 (wiedergegeben als Os08g19590) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe.

[0370] Weiterhin verfügen HD8-ähnliche Polypeptide (zumindest in ihrer nativen Form) typischerweise über eine DNA-Bindungsaktivität. Werkzeuge und Verfahren zum Messen der DNA-Bindungsaktivität wie Gelzurückhaltungsassays sind im Stand der Technik gut bekannt (siehe zum Beispiel Sessa et al., EMBO J. 12(9) : 3507–3517, 1993). Weitere Details finden sich in Beispiel 28.

[0371] Darüber hinaus liefern HD8-ähnliche Polypeptide, wenn sie wie in den Beispielen 29 und 30 umrissen gemäß den Verfahren der vorliegenden Erfindung in Reis exprimiert werden, Pflanzen mit erhöhten Ertragsmerkmalen einschließlich Gesamtsamengewicht, Samenfüllrate, Ernteindex und/oder Anzahl an gefüllten Samen.

[0372] Die vorliegende Erfindung wird durch Transformieren von Pflanzen mit der Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 384, die für die Polypeptidsequenz von SEQ ID NR: 385 codiert, erläutert. Die Durchführung der Erfindung ist jedoch nicht auf diese Sequenzen beschränkt; die Verfahren der Erfindung lassen sich vorteilhaft mit einer beliebigen wie hier definierten für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder einem beliebigen wie hier definierten HD8-ähnlichen Polypeptid durchführen.

[0373] Beispiele für für HD8-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäuren sind hier in Tabelle J des Beispiels angeführt. Solche Nukleinsäuren eignen sich zum Durchführen der Verfahren der Erfindung. Die in Tabelle J des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen sind Beispielsequenzen von Orthologen und Paralogen des HD8-ähnlichen Polypeptids gemäß SEQ ID NR: 385, wobei die Begriffe "Orthologe" und "Paraloge" wie hier definiert sind. Weitere Orthologe und Paraloge können leicht durch Ausführen einer sogenannten reziproken Blast-Suche, wie sie im Definitionsabschnitt beschrieben ist, identifiziert werden; handelt es sich bei der Abfragesequenz um SEQ ID NR: 384 oder SEQ ID NR: 385, würde der zweite BLAST (back-BLAST) daher gegen Reissequenzen erfolgen.

[0374] Die Erfindung stellt außerdem bislang unbekannte, für das HD8-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäuren und HD8-ähnliche Polypeptide, die sich dazu eignen, um Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen gesteigerte Ertragsmerkmale zu verleihen, bereit.

[0375] Auch Nukleinsäurevarianten können bei der Ausübung der Verfahren der Erfindung nützlich sein. Zu Beispielen solcher Varianten zählen Nukleinsäuren, welche für Homologe und Derivate von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codieren, wobei die Begriffe "Homolog" und "Derivat" wie hier definiert sind. Außerdem sind Nukleinsäuren in den Verfahren der Erfindung nützlich, die für Homologe und Derivate von Orthologen oder Paralogen von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codieren. Homologe und Derivate, die in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlich sind, besitzen im Wesentlichen die gleiche biologische und funktionelle Aktivität wie das unmodifizierte Protein, aus dem sie abgeleitet sind. Weitere für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeignete Varianten sind Varianten, bei denen der Codon-Einsatz optimiert ist oder bei denen miRNA-Targetstellen entfernt sind.

[0376] Ferner zählen zu den bei der Ausübung der Verfahren der Erfindung nützlichen Nukleinsäurevarianten Abschnitte von Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, Nukleinsäuren, die mit Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, hybridisieren, Spleißvarianten von Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, Allelvarianten von Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, sowie Varianten von Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, welche durch Gen-Shuffling erhalten werden. Die Begriffe Hybridisierungssequenz, Spleißvariante, Allelvariante und Gen-Shuffling sind wie hierin beschrieben beschaffen.

[0377] Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, müssen nicht Volllängennukleinsäuren sein, da die Ausführung der Verfahren der Erfindung nicht auf der Verwendung von Nukleinsäuresequenzen mit voller Länge beruht. Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einem Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Nukleinsäuresequenzen oder einem Abschnitt von einer für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codierenden Nukleinsäure.

[0378] Ein Abschnitt einer Nukleinsäure kann zum Beispiel durch Vornehmen einer oder mehrerer Deletionen an der Nukleinsäure hergestellt werden. Die Abschnitte können in isolierter Form verwendet werden oder sie können an andere codierende (oder nicht-codierende) Sequenzen fusioniert sein, um zum Beispiel ein Protein zu erzeugen, das mehrere Aktivitäten vereint. Sofern es an andere codierende Sequenzen fusioniert ist, kann

das resultierende Polypeptid, das nach Translation produziert wird, größer sein als jenes, das für den Proteinabschnitt vorhergesagt wird.

[0379] Abschnitte, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind, codieren für ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid und weisen im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie die in Tabelle J des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen auf. Vorzugsweise ist der Abschnitt ein Abschnitt von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Nucleinsäuren oder ist ein Abschnitt einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Vorzugsweise weist der Abschnitt eine Länge von mindestens 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, 2000, 2050, 2100, 2150, 2200, 2250, 2300, 2350, 2400, 2450, 2500 aufeinanderfolgenden Nucleotiden auf, wobei die aufeinanderfolgenden Nucleotide aus einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Nucleinsäuresequenzen stammen oder aus einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert. Ganz besonders bevorzugt handelt es sich bei dem Abschnitt um einen Abschnitt der Nucleinsäure von SEQ ID NR: 384. Vorzugsweise codiert der Abschnitt für ein Fragment einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) (Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Unterfamilie IV der HD-ZIP-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 385 (wiedergegeben als Os08g19590) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe bildet und/oder eines oder mehrere beliebige der Motive 16 bis 18 umfasst und/oder DNA-Bindungsaktivität aufweist und/oder mindestens 20% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 385 aufweist.

[0380] Eine andere für die erfindungsgemäßen Verfahren geeignete Nucleinsäurevariante ist eine Nucleinsäure, die unter Bedingungen verringerter Stringenz, vorzugsweise unter stringenten Bedingungen, zum Hybridisieren mit einer Nucleinsäure, die für ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert, oder mit einem wie hier definierten Abschnitt in der Lage ist.

[0381] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, bei dem man in eine Pflanze eine zum Hybridisieren mit einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angeführten Nucleinsäuren fähige Nucleinsäure einführt und dort exprimiert oder bei dem man in eine Pflanze eine zum Hybridisieren mit einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angeführten Nucleinsäuresequenzen codiert, fähige Nucleinsäure einführt und dort exprimiert.

[0382] Hybridisierungssequenzen, die bei den Verfahren der Erfindung von Nutzen sind und für ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codieren, haben im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie die in Tabelle J des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen. Vorzugsweise ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angeführten Nucleinsäuren oder mit einem Abschnitt einer dieser Sequenzen, wobei ein Abschnitt wie oben definiert ist, in der Lage, oder die Hybridisierungssequenz ist zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angeführten Aminosäuresequenzen codiert, fähig. Ganz besonders bevorzugt ist die Hybridisierungssequenz zum Hybridisieren mit dem Komplement einer Nucleinsäure gemäß SEQ ID NR: 384 oder mit einem Abschnitt davon in der Lage.

[0383] Vorzugsweise codiert die Hybridisierungssequenz für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz, die, wenn sie vollständig ist und bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) (Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Unterfamilie IV der HD-ZIP-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 385 (wiedergegeben als Os08g19590) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe bildet und/oder eines oder mehrere beliebige der Motive 16 bis 18 umfasst und/oder DNA-Bindungsaktivität aufweist und/oder mindestens 20% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 385 aufweist.

[0384] Eine andere Nucleinsäurevariante, die in den Verfahren der Erfindung von Nutzen ist, ist eine Spleißvariante, die für ein wie hier definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wobei eine Spleißvariante wie hier definiert ist.

[0385] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Spleiß-Variante von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Nucleinsäuresequenzen oder einer Spleißva-

riante von einer für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebene Aminosäuresequenzen codierenden Nucleinsäure.

[0386] Bevorzugte Spleißvarianten sind Spleißvarianten einer Nucleinsäure gemäß SEQ ID NR: 384 oder eine Spleißvariante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 385 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Spleißvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) (Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Unterfamilie IV der HD-ZIP-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 385 (wiedergegeben als Os08g19590) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe und/oder umfasst eines oder mehrere beliebige der Motive 16 bis 18 und/oder hat DNA-Bindungsaktivität und/oder weist mindestens 20% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 385 auf.

[0387] Eine andere Nucleinsäurevariante, die bei der Ausführung der Verfahren der Erfindung von Nutzen ist, ist eine Allelvariante einer Nucleinsäure, die für ein wie oben definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wobei eine Allelvariante wie hier definiert ist.

[0388] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zum Erhöhen von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Allelvariante einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Nucleinsäuren oder umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Allelvariante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert.

[0389] Die von in den Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlichen Allelvarianten codierten Polypeptide haben im Wesentlichen die gleiche biologische Aktivität wie das HD8-ähnliche Polypeptid von SEQ ID NR: 385 und beliebige der in Tabelle J des Beispiels gezeigten Aminosäuren. Allelvarianten kommen in der Natur vor, und zu den Verfahren der vorliegenden Erfindung gehört auch die Verwendung dieser natürlichen Allele. Vorzugsweise ist die Allelvariante eine Allelvariante von SEQ ID NR: 384 oder eine Allelvariante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog oder Paralog von SEQ ID NR: 385 codiert. Vorzugsweise bildet die durch die Allelvariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) (Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Unterfamilie IV der HD-ZIP-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 385 (wiedergegeben als Os08g19590) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe und/oder umfasst eines oder mehrere beliebige der Motive 16 bis 18 und/oder hat DNA-Bindungsaktivität und/oder weist mindestens 20% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 385 auf.

[0390] Gen-Shuffling oder gerichtete Evolution können ebenfalls zur Anwendung kommen, um Varianten von Nucleinsäuren zu erzeugen, welche für wie oben definierte HD8-ähnliche Polypeptide codieren, wobei der Begriff "Gen-Shuffling" wie hier definiert ist.

[0391] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen bereitgestellt, umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Variante einer beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Nucleinsäuresequenzen oder umfassend das Einbringen und Exprimieren in einer Pflanze von einer Variante einer Nucleinsäure, die für ein Ortholog, Paralog oder Homolog von beliebigen der in Tabelle J des Beispiels angegebenen Aminosäuresequenzen codiert, wobei die Nucleinsäurevariante durch Gen-Shuffling erhalten wird.

[0392] Vorzugsweise bildet die durch die durch Gen-Shuffling erhaltene Nucleinsäurevariante codierte Aminosäuresequenz, wenn sie bei der Erstellung eines phylogenetischen Baums wie dem in [Fig. 17](#) (Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008) gezeigten verwendet wird, lieber Cluster mit der Unterfamilie IV der HD-ZIP-Polypeptide, die die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NR: 385 (wiedergegeben als Os08g19590) umfassen, als mit irgendeiner anderen Gruppe und/oder umfasst eines oder mehrere beliebige der Motive 16 bis 18 und/oder hat DNA-Bindungsaktivität und/oder weist mindestens 20% Sequenzidentität zu SEQ ID NR: 385 auf.

[0393] Weiterhin lassen sich Nucleinsäurevarianten auch durch ortsgerichtete Mutagenese erhalten. Zum Erzielen einer ortsgerichteten Mutagenese sind mehrere Verfahren verfügbar, wobei die üblichsten PCR-basierte Verfahren sind (Current Protocols in Molecular Biology. Wiley, Hrsg.).

[0394] Für HD8-ähnliche Polypeptide codierende Nucleinsäuren lassen sich aus einer beliebigen natürlichen oder künstlichen Quelle gewinnen. Die Nucleinsäure kann von ihrer nativen Form hinsichtlich Zusammenset-

zung und/oder genomischer Umgebung durch absichtlichen menschlichen Eingriff modifiziert werden. Vorzugsweise stammt die für das HD8-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäure aus einer Pflanze, weiter bevorzugt aus einer monokotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Poaceae, ganz besonders bevorzugt stammt die Nukleinsäure aus *Oryza sativa*.

[0395] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen. Insbesondere erhält man durch die Durchführung der Verfahren der Erfindung Pflanzen mit einem erhöhten Ertrag, insbesondere einem erhöhten Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Die Begriffe "Ertrag" und "Samenertrag" sind hier ausführlicher im Abschnitt "Definitionen" beschrieben.

[0396] Ein Verweis auf gesteigerte Ertragsmerkmale bedeutet hier eine Erhöhung der Jungpflanzenvitalität und/oder der Biomasse (Gewicht) von einem oder mehreren Teilen einer Pflanze, was (i) oberirdische Teile und vorzugsweise oberirdische erntefähige Teile und/oder (ii) Teile im Erdboden und vorzugsweise erntefähige Teile im Erdboden einschließen kann. Insbesondere handelt es sich bei derartigen erntefähigen Teilen um Samen, und die Durchführung der Verfahren der Erfindung führt zu Pflanzen, welche einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zum Samenertrag von Kontrollpflanzen aufweisen.

[0397] Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags, insbesondere des Samenertrags von Pflanzen, im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, wobei das Verfahren die Modulation der Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0398] Gemäß einem bevorzugten Merkmal der vorliegenden Erfindung ergibt die Durchführung der Verfahren der Erfindung Pflanzen mit einer erhöhten Wachstumsrate im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Erhöhen der Wachstumsrate von Pflanzen bereitgestellt, wobei das Verfahren die Modulation der Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0399] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Nichtstressbedingungen oder unter milden Dürrebedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Nichtstressbedingungen oder unter milden Dürrebedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0400] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Nährstoffmangelbedingungen, insbesondere unter Stickstoffmangelbedingungen, herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Nährstoffmangelbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0401] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Salzstressbedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Salzstressbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0402] Die Durchführung der Verfahren der Erfindung liefert unter Dürrestressbedingungen herangezogene Pflanzen mit erhöhtem Ertrag im Vergleich zu unter vergleichbaren Bedingungen herangezogenen Kontrollpflanzen. Deshalb wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Erhöhung des Ertrags bei unter Dürrestressbedingungen herangezogenen Pflanzen bereitgestellt, welches die Modulation der Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze umfasst.

[0403] Die Erfindung stellt außerdem genetische Konstrukte und Vektoren zum Erleichtern des Einbringens und/oder der Expression von für HD8-ähnliche Polypeptide codierenden Nukleinsäuren in Pflanzen bereit. Die Genkonstrukte können in Vektoren inseriert werden, welche kommerziell erhältlich sein können, die für das Transformieren in Pflanzen hinein geeignet sind und für die Expression des Gens von Interesse in den transformierten Zellen geeignet sind. Die Erfindung stellt ebenfalls die Verwendung eines wie hier definierten Genkonstrukts in den Verfahren der Erfindung bereit.

- [0404]** Genauer stellt die vorliegende Erfindung ein Konstrukt bereit, umfassend:
- (a) eine Nukleinsäure, die für ein wie oben definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert;
 - (b) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (a) in der Lage sind; und gegebenenfalls
 - (c) eine Transkriptionsterminationssequenz.
- [0405]** Die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure ist vorzugsweise wie oben definiert. Die Begriffe "Steuerungssequenz" und "Terminationssequenz" sind wie hierin definiert.
- [0406]** Die Erfindung stellt weiterhin mit einem wie oben beschriebenen Konstrukt transformierte Pflanzen bereit. Die Erfindung stellt insbesondere mit einem wie oben beschriebenen Konstrukt transformierte Pflanzen bereit, die wie hier beschriebene erhöhte Ertragsmerkmale haben.
- [0407]** Pflanzen werden mit einem Vektor transformiert, der jedwede der oben beschriebenen Nukleinsäuren umfasst. Der Fachmann auf dem Gebiet ist mit den genetischen Elementen gut vertraut, welche auf dem Vektor vorhanden sein müssen, um Wirtszellen, welche die Sequenz von Interesse enthalten, erfolgreich zu transformieren, zu selektieren und zu vermehren. Die Sequenz von Interesse ist funktionsfähig mit einer oder mehreren Steuerungssequenzen (mindestens mit einem Promotor) verbunden.
- [0408]** Vorteilhafterweise kann zur Steuerung der Expression der Nukleinsäuresequenz ein beliebiger Promotortyp verwendet werden, gleich ob natürlich oder synthetisch, vorzugsweise ist der Promotor jedoch pflanzlichen Ursprungs. Ein wurzelspezifischer Promotor eignet sich besonders für die Verfahren. Definitionen der verschiedenen Promotortypen finden sich hier im Abschnitt "Definitionen".
- [0409]** Es sollte klar sein, dass die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung nicht auf die für HD8-ähnliche Polypeptide codierende Nukleinsäure gemäß SEQ ID NR: 384 beschränkt ist, noch ist die Anwendbarkeit der Erfindung auf die Expression einer für das HD8-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines wurzelspezifischen Promotors beschränkt.
- [0410]** Bei dem wurzelspezifischen Promotor handelt es sich vorzugsweise um einen RCc3-Promotor (Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237-48) oder einen Promotor von im Wesentlichen der gleichen Stärke und mit im Wesentlichen dem gleichen Expressionsmuster (einen funktionell äquivalenten Promotor), besonders bevorzugt stammt der RCc3-Promotor aus Reis, noch mehr bevorzugt wird der RCc3-Promotor durch eine Nukleinsäuresequenz wiedergegeben, die im Wesentlichen SEQ ID NR: 565 ähnelt, ganz besonders bevorzugt wird der Promotor durch SEQ ID NR: 565 wiedergegeben. Beispiele weiterer wurzelspezifischer Promotoren, die sich ebenfalls zur Durchführung der Verfahren der Erfindung einsetzen lassen, sind oben in Tabelle 2b im Abschnitt "Definitionen" gezeigt.
- [0411]** Gegebenenfalls können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere Terminatorsequenzen eingesetzt werden. Vorzugsweise umfasst das Konstrukt eine Expressionskassette, die einen RCc3-Promotor umfasst, im Wesentlichen ähnlich SEQ ID NR: 565, funktionsfähig verbunden mit der für das HD8-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäure. Besonders bevorzugt umfasst das Konstrukt einen Zein-Terminator (t-zein), der an das 3'-Ende der HAB1-Codierungssequenz gebunden ist. Ganz besonders bevorzugt umfasst die Expressionskassette die Sequenz gemäß SEQ ID NR: 566 (pRCc3::HD8-like::t-Zeinsequenz). Weiterhin können in dem in eine Pflanze eingeführten Konstrukt eine oder mehrere für selektierbare Marker codierende Sequenzen vorhanden sein.
- [0412]** Gemäß einem bevorzugten Merkmal der Erfindung ist die modulierte Expression eine erhöhte Expression. Verfahren zur Erhöhung der Expression von Nukleinsäuren oder Genen oder Genprodukten sind im Fachgebiet gut dokumentiert, und Beispiele sind im Abschnitt "Definitionen" angegeben.
- [0413]** Wie oben erwähnt, wird ein bevorzugtes Verfahren zur Modulierung der Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, durchgeführt, indem man eine für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure in eine Pflanze einbringt und dort exprimiert; allerdings können die Effekte der Durchführung des Verfahrens, d. h. die Steigerung von Ertragsmerkmalen, auch unter Verwendung anderer gut bekannter Techniken erzielt werden, einschließlich, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, T-DNA-Aktivierungs-Tagging, TILLING, homologer Rekombination. Eine Beschreibung dieser Techniken ist im Abschnitt "Definitionen" angegeben.

[0414] Die Erfindung stellt außerdem ein Verfahren zur Produktion von transgenen Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen bereit, wobei das Verfahren die Einführung und Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid, wie hierin definiert, codiert, in einer Pflanze umfasst.

[0415] Die vorliegende Erfindung stellt genauer gesagt ein Verfahren zur Herstellung transgener Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhtem Samenertrag, bereit, wobei das Verfahren Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure oder eines genetischen Konstrukts, welches eine für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure umfasst, in einer Pflanze oder Pflanzenzelle; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

[0416] Die Kultivierung der Pflanzenzelle unter das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen fördernden Bedingungen kann eine Regeneration und/oder ein Wachstum bis zur Reife beinhalten oder nicht.

[0417] Die Nukleinsäure von (i) kann eine beliebige der Nukleinsäuren sein, die zum Codieren eines HD8-ähnlichen Polypeptids, wie hierin definiert, in der Lage sind.

[0418] Die Nukleinsäure kann direkt in eine Pflanzenzelle oder in die Pflanze selbst eingebracht werden (einschließlich Einbringung in ein Gewebe, Organ oder einen beliebigen anderen Teil einer Pflanze). Gemäß einem bevorzugten Merkmal der vorliegenden Erfindung wird die Nukleinsäure vorzugsweise durch Transformation in eine Pflanze eingebracht. Der Begriff "Transformation" ist ausführlicher im Abschnitt "Definitionen" hierin beschrieben.

[0419] Die vorliegende Erfindung erstreckt sich in deutlicher Weise auf eine beliebige Pflanzenzelle oder Pflanze, welche durch ein beliebiges der hierin beschriebenen Verfahren hergestellt wurde, sowie auf alle Pflanzenteile und Fortpflanzungskeime davon. Die vorliegende Erfindung umfasst Pflanzen oder Teile davon (einschließlich Samen), die durch die Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung erhältlich sind. Die Pflanzen oder Teile davon umfassen ein Nukleinsäuretransgen, das für ein wie oben definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert. Die vorliegende Erfindung erstreckt sich ferner dahingehend, dass die Nachkommenschaft eines/einer primär transformierten oder transfizierten Zelle, Gewebes, Organs oder ganzen Pflanze, welche(s) durch ein beliebiges der zuvor erwähnten Verfahren hergestellt worden ist, beinhaltet ist, wobei die einzige Anforderung darin besteht, dass die Nachkommen dasselbe/dieselben genotypische(n) und/oder phänotypische(n) Merkmal(e) aufzeigen, wie diejenigen, welche von der Elternform in den Verfahren gemäß der Erfindung hervorgebracht werden.

[0420] Die Erfindung schließt auch Wirtszellen ein, die eine isolierte Nukleinsäure enthalten, welche für ein HD8-ähnliches Polypeptid, wie hierin oben definiert, codiert. Bevorzugte Wirtszellen gemäß der Erfindung sind Bakterienzellen, Hefezellen, Pilzzellen oder Pflanzenzellen. Wirtspflanzen für die Nukleinsäuren oder den Vektor, welche in dem Verfahren gemäß der Erfindung verwendet werden, die Expressionskassette oder das Konstrukt oder der Vektor sind im Prinzip in vorteilhafter Weise alle Pflanzen, welche zum Synthetisieren der im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptide in der Lage sind.

[0421] Die erfindungsgemäßen Verfahren sind vorteilhaft auf alle Pflanzen, insbesondere auf alle wie hier definierten Pflanzen, anwendbar. Zu Pflanzen, die in den Verfahren der Erfindung besonders nützlich sind, zählen alle Pflanzen, die der Superfamilie Viridiplantae angehören, insbesondere monokotyle und dikotyle Pflanzen einschließlich Viehfutter- oder Grünfutter-Leguminosen, Zierpflanzen, Nahrungspflanzen, Bäume oder Sträucher.

[0422] Gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze eine Nutzpflanze. Beispiele für Kulturpflanzen schließen Endivie, Karotte, Maniok, Klee, Sojabohne, Rübe, Zuckerrübe, Sonnenblume, Canola, Luzerne, Raps, Flachs, Baumwolle, Tomate, Kartoffel und Tabak ein, sind jedoch nicht darauf beschränkt.

[0423] Gemäß einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze eine monokotyle Pflanze. Zu Beispielen von monokotylen Pflanzen zählt Zuckerrohr. Gemäß einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Pflanze ein Getreide. Beispiele für Getreide schließen Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ein.

[0424] Die Erfindung erstreckt sich ebenfalls auf erntefähige Teile einer Pflanze wie, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, Samen, Blätter, Früchte, Blüten, Stängel, Wurzeln, Rhizome, Knollen und Zwiebeln, wobei

diese erntefähigen Teile eine rekombinante Nukleinsäure enthalten, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert. Die Erfindung betrifft ferner Produkte, die aus einem erntefähigen Teil einer derartigen Pflanze abgeleitet, vorzugsweise direkt abgeleitet, sind, wie etwa trockene Pellets oder Pulver, Öl, Fett und Fettsäuren, Stärke oder Proteine.

[0425] Die vorliegende Erfindung umfasst ebenfalls die Verwendung von Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide, wie hierin beschrieben, codieren, und die Verwendung dieser HD8-ähnlichen Polypeptide bei der Steigerung beliebiger der oben erwähnten Ertragsmerkmale in Pflanzen. Zum Beispiel können die hierin beschriebenen Nukleinsäuren, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codieren, oder die HD8-ähnlichen Polypeptide selbst Anwendung in Züchtungsprogrammen finden, in denen ein DNA-Marker identifiziert wird, der genetisch an ein für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierendes Gen gekoppelt sein kann. Die Nukleinsäuren/Gene oder die HD8-ähnlichen Polypeptide selbst können verwendet werden, um einen molekularen Marker zu definieren. Dieser DNA- oder Proteinmarker kann dann in Züchtungsprogrammen verwendet werden, um Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, wie hierin oben definiert, in den Verfahren der Erfindung zu selektieren. Weiterhin können Allelvarianten einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure/eines für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Gens in markergestützten Zuchtprogrammen Anwendung finden. Nukleinsäuren, die für HD8-ähnliche Polypeptide codieren, können auch als Sonden für die genetische und physikalische Kartierung der Gene, von denen sie ein Teil sind, sowie als Marker für mit diesen Genen gekoppelte Merkmale verwendet werden. Derartige Informationen können in der Pflanzenzucht nützlich sein, um Linien mit gewünschten Phänotypen zu entwickeln.

Ausführungsformen LEJ1-Polypeptid

1. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das LEJ1-Polypeptid mindestens eine, vorzugsweise zwei, CBS-Domäne(n) (SMART-Eintrag SM 00116) umfasst.
2. Verfahren gemäß Ausführungsform 1, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der für das LEJ1-Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze bewirkt wird.
3. Verfahren gemäß Ausführungsform 1 oder 2, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise eine erhöhte Biomasse und/oder einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.
4. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nichtstressbedingungen erhalten werden.
5. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Dürrestressbedingungen, Salzstressbedingungen oder Stickstoffmangelbedingungen erhalten werden.
6. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 5, wobei das LEJ1-Polypeptid eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 (SEQ ID NR: 205 bis SEQ ID NR: 210) umfasst.
7. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 6, wobei die für ein LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure pflanzlichen Ursprungs ist, vorzugsweise aus einer dikotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Brassicaceae, noch mehr bevorzugt aus der Gattung Arabidopsis, ganz besonders bevorzugt aus Arabidopsis thaliana.
8. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 7, wobei die Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle A1 aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.
9. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 7, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle A1 angegebenen Polypeptide codiert.
10. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 7, wobei die für ein LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure SEQ ID NR: 2 entspricht.
11. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 10, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor, vorzugsweise mit einem konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise mit einem Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor aus Reis, verbunden ist.
12. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 11, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiertes LEJ1-Polypeptid codiert.
13. Konstrukt, umfassend:

- (i) eine Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert;
 - (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
 - (iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.
14. Konstrukt gemäß Ausführungsform 13, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen konstitutiven Promotor, vorzugsweise einen konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise einen Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor aus Reis, handelt.
15. Verwendung eines Konstrukts gemäß Ausführungsform 13 oder 14 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag und/oder einer erhöhten Biomasse im Vergleich zu Kontrollpflanzen.
16. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Ausführungsform 13 oder 14 transformiert ist.
17. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag und/oder einer erhöhten Biomasse im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welches Folgendes umfasst:
- (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und
 - (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.
18. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag und/oder einer erhöhten Biomasse, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.
19. Transgene Pflanze gemäß Ausführungsform 12, 16 oder 18, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.
20. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.
21. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Ausführungsform 20 abgeleitet sind.
22. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen des Ertrags, und besonders bevorzugt zum Erhöhen des Samenertrags und/oder zum Erhöhen der Biomasse in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Ausführungsformen ExbB-Polypeptid

1. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das ExbB-Polypeptid eine Protonenkanal-domäne mit InterPro-Zugang IPR002898 MotA/ToIQ/ExbB entsprechend PFAM-Zugangsnummer PF01618 MotA_ExbB-Domäne umfasst.
2. Verfahren gemäß Ausführungsform 1, wobei das ExbB-Polypeptid mindestens eine zusätzliche transmembrane Domäne umfasst.
3. Verfahren gemäß Ausführungsform 1 oder 2, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, in einer Pflanze bewirkt wird.
4. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle A2 aufgelisteten Proteine codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine Nukleinsäure ist, die zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure in der Lage ist.
5. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 4, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle A2 angegebenen Proteine codiert.
6. Verfahren gemäß einer der vorhergehenden Ausführungsformen, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag, vorzugsweise erhöhten Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.

7. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 6, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nichtstressbedingungen erhalten werden.
8. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 6, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Dürrestressbedingungen, Salzstressbedingungen oder Stickstoffmangelbedingungen erhalten werden.
9. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 3 bis 8, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor, vorzugsweise mit einem GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor aus Reis, verbunden ist.
10. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 9, wobei die für ein ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure aus Cyanobakterien stammt, vorzugsweise aus der Art *Synechocystis*, besonders bevorzugt aus *Synechocystis* sp. PCC 6803.
11. Pflanze oder Teil davon, einschließlich Samen, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 10, wobei die Pflanze oder der Teil davon eine rekombinante Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, umfasst.
12. Konstrukt, umfassend:
 - (i) Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, wie in Ausführungsform 1 oder 2 definiert;
 - (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
 - (iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.
13. Konstrukt gemäß Ausführungsform 12, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen konstitutiven Promotor, vorzugsweise einen GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor aus Reis, handelt.
14. Konstrukt gemäß Ausführungsform 12, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen wurzelspezifischen Promotor, vorzugsweise einen wurzelspezifischen Promotor aus Reis, handelt.
15. Verwendung eines Konstrukts gemäß Ausführungsform 12, 13 oder 14 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Ertrag, insbesondere erhöhter Biomasse und/oder erhöhtem Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen.
16. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Ausführungsform 12, 13 oder 14 transformiert ist.
17. Verfahren zur Herstellung einer transgenen Pflanze mit erhöhtem Ertrag, insbesondere erhöhter Biomasse und/oder erhöhtem Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend:
 - (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, wie in Ausführungsform 1 oder 2 definiert, in einer Pflanze; und
 - (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.
18. Transgene Pflanze mit erhöhtem Ertrag, insbesondere erhöhter Biomasse und/oder erhöhtem Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welcher aus der modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, wie in Ausführungsform 1 oder 2 definiert, resultiert, oder eine transgene Pflanzenzelle, die aus der transgenen Pflanze abgeleitet ist.
19. Transgene Pflanze gemäß Ausführungsform 11, 16 oder 18, oder eine daraus abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.
20. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.
21. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Ausführungsform 20 abgeleitet sind.
22. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, bei der Erhöhung des Ertrags, insbesondere bei der Erhöhung des Samenertrags und/oder der Sprossbiomasse in Pflanzen, im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Ausführungsformen NMPRT-Polypeptid

1. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NMPRT) codiert, in einer Pflanze, wobei die NMPRT nicht von einem Wirbeltier stammt und
 - (i) eine Domäne mit einem InterPro-Zugang IPR016471 und
 - (ii) mindestens 50% Aminosäuresequenzidentität und vorzugsweise, mit zunehmender Präferenz, mindestens 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% oder mehr Aminosäuresequenzidentität zu einer Domäne gemäß SEQ ID NR: 315 aufweist.

2. Verfahren gemäß Ausführungsform 1, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der für die NMPRT codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze bewirkt wird.
3. Verfahren gemäß Ausführungsform 1 oder 2, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.
4. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nichtstressbedingungen erhalten werden.
5. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Dürrestressbedingungen, Salzstressbedingungen oder Stickstoffmangelbedingungen erhalten werden.
6. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 5, wobei die NMPRT mindestens 64% Aminosäuresequenzidentität und zum Beispiel mindestens 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Aminosäuresequenzidentität zu einem oder mehreren der folgenden Motive aufweist:
 - (i) Motiv 7: FKLHDFGARGVSSGESSGIGGLAHLVNFQGSDTV (SEQ ID NR: 318),
 - (ii) Motiv 8: AAYSIPAAEHSTITAWG (SEQ ID NR: 319),
 - (iii) Motiv 9: AWSDSYDL (SEQ ID NR: 320),
 - (iv) Motiv 10: VIRPDSGDP (SEQ ID NR: 321),
 - (v) Motiv 11: VRVIQGDGV (SEQ ID NR: 322), (vi) Motiv 12: NLAFGMGGALLQKVNRDT (SEQ ID NR: 323).
7. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 6, wobei die Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, prokaryotischen Ursprungs ist, vorzugsweise cyanobakteriellen Ursprungs, besonders bevorzugt aus der Gattung *Synechocystis*, ganz besonders bevorzugt aus einer *Synechocystis*-Art.
8. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 7, wobei die Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, für ein beliebiges der in Tabelle A3 aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren, vorzugsweise unter hochstringenten Bedingungen, mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.
9. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 8, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle A3 angegebenen Polypeptide codiert.
10. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 9, wobei die für die NMPRT codierende Nukleinsäure SEQ ID NR: 281 entspricht oder SEQ ID NR: 309 entspricht.
11. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 10, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor, vorzugsweise mit einem konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise mit einem Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor aus Reis, verbunden ist.
12. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 11, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiertes NMPRT-Polypeptid codiert.
13. Konstrukt, umfassend:
 - (i) eine Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert;
 - (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
 - (iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.
14. Konstrukt gemäß Ausführungsform 13, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen konstitutiven Promotor, vorzugsweise einen konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise einen Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor aus Reis, handelt.
15. Verwendung eines Konstrukts gemäß Ausführungsform 13 oder 14 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen.
16. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Ausführungsform 13 oder 14 transformiert ist.
17. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welches Folgendes umfasst:
 - (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und
 - (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

18. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samen-ertrag, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein NMPRT-Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.
19. Transgene Pflanze gemäß Ausführungsform 12, 16 oder 18, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.
20. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.
21. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Ausführungsform 20 abgeleitet sind.
22. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein NMPRT-Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 6 bis 10 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen des Ertrags, und besonders bevorzugt zum Erhöhen des Samenertrags in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Ausführungsformen für das AP2-26-ähnliche Polypeptid

1. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das AP2-26-ähnliche Polypeptid eine Pfam PF00847-Domäne umfasst.
2. Verfahren gemäß Ausführungsform 1, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze bewirkt wird.
3. Verfahren gemäß Ausführungsform 1 oder 2, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag und/oder eine erhöhte Jungpflanzenvitalität im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.
4. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nichtstressbedingungen erhalten werden.
5. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 4, wobei das AP2-26-ähnliche Polypeptid eines oder mehrere der folgenden Motive umfasst:
 - (i) Motiv 13:
KLYRGVQRHWGKWVAEIRLP[**RK**]NRTRLWLGTFTAE[**ED**]AAL[**TA**]YD[**KQ**]AA[**YF**][**RK**]LR (SEQ ID NR: 378),
 - (ii) Motiv 14:
[**GHA**][**ELS**][**YRA**][**GKP**]PL[**DH**][**AS**][**SAT**]VDAKL[**QE**]AIC[**DQ**][**TSN**][**ILM**] (SEQ ID NR: 379),
 - (iii) Motiv 15: PS[**YVWL**]EIDW (SEQ ID NR: 380)
6. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 5, wobei die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure pflanzlichen Ursprungs ist, vorzugsweise aus einer dikotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Poaceae, noch mehr bevorzugt aus der Gattung Oryza, ganz besonders bevorzugt aus Oryza sativa.
7. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 6, wobei die Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle F aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.
8. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 7, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle F angegebenen Polypeptide codiert.
9. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 8, wobei die Nukleinsäure für das Polypeptid gemäß SEQ ID NR: 329 codiert.
10. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 9, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem wurzelspezifischen Promotor, vorzugsweise mit einem RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit dem RCc3-Promotor aus Reis, verbunden ist.
11. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 10, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert.
12. Konstrukt, umfassend:
 - (i) eine Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert;

- (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
- (iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.
13. Konstrukt gemäß Ausführungsform 12, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen wurzelspezifischen Promotor, vorzugsweise einen RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt den RCc3-Promotor aus Reis, handelt.
14. Verwendung eines Konstrukts gemäß Ausführungsform 12 oder 13 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhter Jungpflanzenvitalität und/oder erhöhtem Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen.
15. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Ausführungsform 12 oder 13 transformiert ist.
16. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einer erhöhten Jungpflanzenvitalität und/oder einem erhöhten Samenertrag, welches Folgendes umfasst:
- (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.
17. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einer erhöhten Jungpflanzenvitalität und/oder einem erhöhten Samenertrag, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.
18. Transgene Pflanze gemäß Ausführungsform 11, 15 oder 17, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.
19. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Ausführungsform 18, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Samen sind.
20. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Ausführungsform 18 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19 abgeleitet sind.
21. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen der Jungpflanzenvitalität und/oder zum Erhöhen des Samenertrags in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Ausführungsformen für das HD8-ähnliche Polypeptid

1. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das HD8-ähnliche Polypeptid eine Homeodomäne (PF00046) und eine START-Domäne (PF01852) umfasst.
2. Verfahren gemäß Ausführungsform 1, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der für das HD8-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäure in einer Pflanze bewirkt wird.
3. Verfahren gemäß Ausführungsform 1 oder 2, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.
4. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nichtstressbedingungen erhalten werden.
5. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 4, wobei das HD8-ähnliche Polypeptid eines oder mehrere der folgenden Motive umfasst:
- (i) Motiv 16:
[EAP][TR]Q[IV]K[YF]WFQN[CR]R[ST][KQ][MI]K[KVA][FRQ][QKSH][ENCD][RNG][AETH][DE][RN][SKNC][LAKI][LY][RQK][KRA][QE]N[EAD][EK][LI][RLK][KAC][TE]N[AMI][AER][LI][RKQ][NE][RQA][LMI][KR][NGK][VMA][TI]C (SEQ ID NR: 562),
- (ii) Motiv 17: [KPR][RK]RY[QH][LR][LH]T[MPA][QR]Q[KI][EQ][ETQR][LM][NE][RAS][LAYM][FD][QLK][ESA][CS][PF][NPH][FP][LD][ERLD][KNL][DLQ] (SEQ ID NR: 563),
- (iii) Motiv 18: [DN]G[CRNHY][CS][QRK][LMV][YVIT][AW][VLIM][DEV] (SEQ ID NR: 564)
6. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 5, wobei die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure pflanzlichen Ursprungs ist, vorzugsweise aus einer monokotylen Pflanze, besonders

bevorzugt aus der Familie Poaceae, noch mehr bevorzugt aus der Gattung Oryza, ganz besonders bevorzugt aus *Oryza sativa*.

7. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 6, wobei die Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle J aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.

8. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 7, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle J angegebenen Polypeptide codiert.

9. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 8, wobei die Nukleinsäure für das Polypeptid gemäß SEQ ID NR: 385 codiert.

10. Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 9, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem wurzelspezifischen Promotor, besonders bevorzugt mit einem RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit dem RCc3-Promotor aus Reis, verbunden ist.

11. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einer der Ausführungsformen 1 bis 10, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert.

12. Konstrukt, umfassend:

(i) eine Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert;

(ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls

(iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.

13. Konstrukt gemäß Ausführungsform 12, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen wurzelspezifischen Promotor, besonders bevorzugt einen RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt den RCc3-Promotor aus Reis, handelt.

14. Verwendung eines Konstrukts gemäß Ausführungsform 12 oder 13 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

15. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Ausführungsform 12 oder 13 transformiert ist.

16. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welches Folgendes umfasst:

(i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und

(ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

17. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.

18. Transgene Pflanze gemäß Ausführungsform 11, 15 oder 17, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.

19. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Ausführungsform 18, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.

20. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Ausführungsform 18 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Ausführungsform 19 abgeleitet sind.

21. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einer der Ausführungsformen 1 und 5 bis 9 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen des Ertrags, und besonders bevorzugt zum Erhöhen des Samenertrags in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Beschreibung der Figuren

[0426] Die vorliegende Erfindung wird nun unter Bezugnahme auf die folgenden Figuren beschrieben, in denen:

[0427] [Fig. 1](#) die Domänenstruktur von SEQ ID NR: 2 wiedergibt; die Motive 1 bis 3 sind fett gezeigt, die Motive 5 bis 6 kursiv. Die Tandem-CBS-Domänen, die mit dem SMART-Algorithmus identifiziert wurden (siehe Beschreibung für Tabelle B1) sind unterstrichen.

[0428] [Fig. 2](#) ein multiples Alignment verschiedener LEJ1-Polypeptide wiedergibt. Die Sternchen markieren identische Aminosäuren unter den verschiedenen Proteinsequenzen, die Doppelpunkte stellen hochkonservierte Aminosäuresubstitutionen dar, und die Punkte stellen weniger konservierte Aminosäuresubstitutionen dar; in den anderen Positionen gibt es keine Sequenzkonservierung. Diese Alignments lassen sich dazu nutzen, weitere Motive zu definieren, wenn man konservierte Aminosäuren verwendet.

[0429] [Fig. 3](#) phylogenetische Bäume von LEJ1-Polypeptiden zeigt.

[0430] [Fig. 4](#) die MATGAT-Tabelle zeigt, aus der die Homologie zwischen eng miteinander verwandten LEJ1-Proteinen hervorgeht. Die Sequenzidentität ist oberhalb der Diagonale angegeben, und die Sequenzähnlichkeit ist unterhalb der Diagonale angegeben.

[0431] [Fig. 5](#) den für eine erhöhte Expression einer für LEJ1 codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines Reis-GOS2-Promotors (pGOS2) in *Oryza sativa* verwendeten binären Vektor zeigt.

[0432] [Fig. 6](#) Schematische Darstellung der verschiedenen Komponenten der drei angesprochenen ionenpotentialgekoppelten Systeme: das Tol-Pal-System (links); das TonB-exb-System (Mitte) und der Flagellenmotor (rechts). Der schwarze Pfeil zeigt die für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren geeigneten Polypeptide. Gemäß Cascales et al. (*Molecular Microbiology* (2001), 42(3): 795–807) versorgen die TolQ–TolR-Proteine TolA mit Energie und teilen sich Homologien mit den Flagellenmotorproteinen MotA–MotB.

[0433] [Fig. 7](#) ein multiples Alignment von ExbB-ähnlichen Polypeptiden zeigt. Diese Alignments lassen sich dazu nutzen, weitere Motive zu definieren, wenn man konservierte Aminosäuren verwendet.

[0434] [Fig. 8](#) ein alternatives multiples Alignment von ExbB-ähnlichen Polypeptiden unter Anwendung des ClustalW-Programms darstellt. Diese Alignments lassen sich dazu nutzen, weitere Motive zu definieren, wenn man konservierte Aminosäuren verwendet.

[0435] [Fig. 9](#) einen mit ClustalW erstellten, Nachbarn miteinander verbindenden Baum der Sequenzen von Tabelle A darstellt. Der Baum wurde unter Anwendung der Standardeinstellungen erstellt (siehe Beispiel 2).

[0436] [Fig. 10](#) den für eine erhöhte Expression einer für ExbB codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines Reis-GOS2-Promotors (pGOS2) in *Oryza sativa* verwendeten binären Vektor zeigt.

[0437] [Fig. 11](#) die MATGAT-Tabelle zeigt, aus der die Homologie zwischen eng miteinander verwandten ExbB-Proteinen hervorgeht. Die Sequenzidentität ist oberhalb der Diagonale angegeben, und die Sequenzähnlichkeit ist unterhalb der Diagonale angegeben.

[0438] [Fig. 12](#) die Domänenstruktur von SEQ ID NR: 282 mit Angabe der Position der Domäne mit InterPro-Zugang IPR016471 (fett), SEQ ID NR: 315 (unterstrichen) und Angabe der Position der Motive 7 bis 12 zeigt.

[0439] [Fig. 13](#) ein multiples Alignment verschiedener NMPRT-Polypeptide wiedergibt. Die Sternchen markieren identische Aminosäuren unter den verschiedenen Proteinsequenzen, die Doppelpunkte stellen hochkonservierte Aminosäuresubstitutionen dar, und die Punkte stellen weniger konservierte Aminosäuresubstitutionen dar; in den anderen Positionen gibt es keine Sequenzkonservierung. Diese Alignments lassen sich dazu nutzen, weitere Motive zu definieren, wenn man konservierte Aminosäuren verwendet.

[0440] [Fig. 14](#) den für eine erhöhte Expression einer für NMPRT-Polypeptide codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines Reis-GOS2-Promotors (pGOS2) in *Oryza sativa* verwendeten binären Vektor wiedergibt.

[0441] [Fig. 15](#) die Domänenstruktur von SEQ ID NR: 329 zeigt, wobei die konservierten Motive 13 bis 15 fett gekennzeichnet sind und die AP2-Domäne kursiv gezeigt ist.

[0442] [Fig. 16](#) ein multiples Alignment verschiedener A2-26-ähnlicher Polypeptide wiedergibt. Die konservierten Regionen lassen sich leicht aus diesem Alignment ableiten, was sich daher bei Betrachtung konservierter Aminosäuren zur Definition weiterer Motive eignet. Die Sternchen markieren identische Aminosäuren unter

den verschiedenen Proteinsequenzen, die Doppelpunkte stellen hochkonservierte Aminosäuresubstitutionen dar, und die Punkte stellen weniger konservierte Aminosäuresubstitutionen dar; in den anderen Positionen gibt es keine Sequenzkonservierung.

[0443] [Fig. 17](#) phylogenetische Bäume von AP2-26-ähnlichen Polypeptiden zeigt, SEQ ID NR: 329 ist als LOC_Os08g31580 wiedergegeben.

[0444] [Fig. 18](#) die MATGAT-Tabelle von Beispiel 14 zeigt.

[0445] [Fig. 19](#) den für die erhöhte Expression einer für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines RCc3-Promotors aus Reis (pRCc3::AP2-26-like) in *Oryza sativa* verwendeten binären Vektor wiedergibt.

[0446] [Fig. 20](#) die Domänenstruktur von SEQ ID NR: 385 mit der Homeodomäne und der START-Domäne kursiv und den Motiven 16 bis 18 fett wiedergibt.

[0447] [Fig. 21](#) ein multiples Alignment verschiedener HD8-ähnlicher Polypeptide wiedergibt. Die Sternchen markieren identische Aminosäuren unter den verschiedenen Proteinsequenzen, die Doppelpunkte stellen hochkonservierte Aminosäuresubstitutionen dar, und die Punkte stellen weniger konservierte Aminosäuresubstitutionen dar; in den anderen Positionen gibt es keine Sequenzkonservierung. Diese Alignments lassen sich dazu nutzen, weitere Motive oder Signatursequenzen zu definieren, wenn man konservierte Aminosäuren verwendet.

[0448] [Fig. 22](#) einen phylogenetischen Baum von HD8-ähnlichen Polypeptiden zeigt (Jain et al., 2008).

[0449] [Fig. 23](#) die MATGAT-Tabelle von Beispiel 25 zeigt.

[0450] [Fig. 24](#) den für die erhöhte Expression einer für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierenden Nukleinsäure unter der Kontrolle eines RCc3-Promotors aus Reis (pRCc3) in *Oryza sativa* verwendeten binären Vektor wiedergibt.

Beispiel

[0451] Die vorliegende Erfindung wird nun unter Bezugnahme auf die folgenden Beispiele beschrieben, welche allein der Veranschaulichung dienen. Mit den folgenden Beispielen wird nicht beabsichtigt, den Umfang der Erfindung zu begrenzen.

[0452] DNA-Manipulation: Außer es ist anderweitig angegeben, werden rekombinante DNA-Techniken gemäß Standardprotokollen durchgeführt, die in (Sambrook (2001) *Molecular Cloning: a laboratory manual*, 3. Ausgabe, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, New York) oder in den Bänden 1 und 2 von Ausubel et al. (1994), *Current Protocols in Molecular Biology*, Current Protocols, beschrieben sind. Standardmaterialien und -verfahren für molekulares Arbeiten an Pflanzen sind in *Plant Molecular Biology Labfax* (1993) von R. D. D. Croy, veröffentlicht von BIOS Scientific Publications Ltd (Großbritannien) und Blackwell Scientific Publications (Großbritannien), beschrieben.

Beispiel 1: Identifizieren von Sequenzen, die mit der in den Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuresequenz verwandt sind

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0453] Sequenzen (vollständige cDNA, ESTs oder genomisch), die mit SEQ ID NR: 1 und SEQ ID NR: 2 verwandt sind, wurden unter denjenigen, welche in der "Entrez Nucleotides"-Datenbank am National Center for Biotechnology Information (NCBI) bereitgehalten werden, mit Hilfe von Datenbank-Sequenzsuchwerkzeugen wie etwa dem Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 und Altschul et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402) identifiziert. Das Programm wird eingesetzt, um Regionen mit lokaler Ähnlichkeit zwischen Sequenzen durch Vergleichen von Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenzen mit Sequenzdatenbanken und durch Berechnen der statistischen Signifikanz von Übereinstimmungen zu finden. So wurde zum Beispiel das von der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 1 codierte Polypeptid für den TBLASTN-Algorithmus verwendet, mit Standardvorgaben und abgeschaltetem Filter zum Ignorieren von Sequenzen geringer Komplexität. Das Analyse-Ergebnis wurde mittels paarweisem Vergleich betrachtet und

gemäß der Wahrscheinlichkeitswertung (E-Wert) eingestuft, wobei die Wertung die Wahrscheinlichkeit widerspiegelt, dass ein jeweiliges Alignment rein zufällig auftritt (je niedriger der E-Wert, umso signifikanter ist der Übereinstimmungstreffer). Zusätzlich zu E-Werten wurden Vergleiche auch durch den Prozentsatz der Identität bewertet. Der Prozentsatz der Identität bezieht sich auf die Zahl an identischen Nukleotiden (oder Aminosäuren) zwischen den zwei verglichenen Nukleinsäuresequenzen (oder Polypeptidsequenzen) über eine bestimmte Länge hinweg. In einigen Fällen lassen sich die Vorgabeparameter anpassen, um die Stringenz der Suche zu modifizieren. Zum Beispiel kann man den E-Wert erhöhen, so dass weniger stringente Übereinstimmungen angezeigt werden. Auf diese Weise lassen sich kurze, fast exakte Übereinstimmungen identifizieren.

[0454] Tabelle A1 stellt eine Liste von Nukleinsäuresequenzen bereit, die mit SEQ ID NR: 1 und SEQ ID NR: 2 verwandt sind.

Tabelle A1: Beispiele für LEJ1-Nukleinsäuren und -Polypeptide:

Name	Nukleinsäure-SEQ ID NR:	Polypeptid-SEQ ID NR:
A.thaliana_AT4G34120.1#1	1	2
A.lyrata_491262#1	3	4
B.napus_TC96197#1	5	6
B.oleracea_TA10145_3712#1	7	8
B.oleracea_TA9314_3712#1	9	10
B.rapa_DN962218#1	11	12
B.rapa_DN964415#1	13	14
A.lyrata_490898#1	15	16
A.thaliana_AT4G36910.1#1	17	18
Aquilegia_sp_TC20070#1	19	20
Aquilegia_sp_TC26534#1	21	22
B.distachyon_TA1216_15368#1	23	24
B.napus_TC64871#1	25	26
Bruguiera_gymnorhiza_AB429351#1	27	28
C.annuum_TC14856#1	29	30
C.annuum_TC16585#1	31	32
C.clementina_TC16065#1	33	34
C.clementina_TC36326#1	35	36
C.endivia_EL357072#1	37	38
C.intybus_EH692144#1	39	40
C.intybus_TA750_13427#1	41	42
C.reinhardtii_185012#1	43	44
C.sinensis_EY677132#1	45	46
C.sinensis_TC7973#1	47	48
C.solstitialis_EH757631#1	49	50
C.solstitialis_TA2067_347529#1	51	52
C.solstitialis_TA5231_347529#1	53	54
C.vulgaris_68484#1	55	56
E.esula_TC5314#1	57	58
G.hirsutum_EV497842#1	59	60

G.hirsutum_TC130207#1	61	62
G.hirsutum_TC131625#1	63	64
G.hirsutum_TC132155#1	65	66
G.max_Glyma01g39530.1#1	67	68
G.max_Glyma01g39530.2#1	69	70
G.max_Glyma11g05710.1#1	71	72
G.max_TC285505#1	73	74
G.max_TC286772#1	75	76
G.max_TC287707#1	77	78
G.soja_CA782722#1	79	80
H.ciliaris_EL432844#1	81	82
H.exilis_EE655546#1	83	84
H.petiolaris_DY938300#1	85	86
H.petiolaris_TA3105_4234#1	87	88
H.vulgare_TC155851#1	89	90
H.vulgare_TC169422#1	91	92
L.japonicus_TC37102#1	93	94
L.japonicus_TC49381#1	95	96
L.perennis_TA2207_43195#1	97	98
L.saligna_TA1249_75948#1	99	100
L.saligna_TA2654_75948#1	101	102
L.sativa_TC16554#1	103	104
L.sativa_TC20908#1	105	106
L.serriola_TC1188#1	107	108
L.virosa_TA2488_75947#1	109	110
L.virosa_TA2701_75947#1	111	112
M.polymorpha_TA1202_3197#1	113	114
M.truncatula_AC136449_14.5#1	115	116
M.truncatula_CT025837_26.4#1	117	118
Medicago_truncatula_BT053473#1	119	120
N.tabacum_TC41456#1	121	122
N.tabacum_TC46283#1	123	124
N.tabacum_TC72241#1	125	126
Nicotiana_langsdorffii_x_sanderae_EB699100#1	127	128
O.sativa_LOC_Os08g22149.1#1	129	130
O.sativa_LOC_Os09g02710.1#1	131	132
P.patens_TC30132#1	133	134
P.patens_TC37673#1	135	136
P.patens_TC42286#1	137	138
P.patens_TC42494#1	139	140
P.persica_TC10631#1	141	142
P.taeda_TA12827_3352#1	143	144

P.trichocarpa_549923#1	145	146
P.trifoliata_TA8203_37690#1	147	148
P.vulgaris_TC13521#1	149	150
R.communis_TA2199_3988#1	151	152
S.bicolor_Sb06g002220.1#1	153	154
S.bicolor_Sb06g002220.2#1	155	156
S.henryi_DT598835#1	157	158
S.henryi_DT605075#1	159	160
S.henryi_TA1396_13258#1	161	162
S.lycopersicum_TC194328#1	163	164
S.lycopersicum_TC197340#1	165	166
S.lycopersicum_TC205614#1	167	168
S.officinatum_TC88204#1	169	170
S.tuberosum_TC163611#1	171	172
S.tuberosum_TC170837#1	173	174
S.tuberosum_TC177736#1	175	176
S.tuberosum_TC184391#1	177	178
T.aestivum_TC285265#1	179	180
T.aestivum_TC330389#1	181	182
T.cacao_TC4622#1	183	184
T.officinale_TA5844_50225#1	185	186
T.pratense_TA1696_57577#1	187	188
Z.mays_c58992071gm030403@3921#1	189	190
Z.mays_TC462721#1	191	192
Z.mays_TC475890#1	193	194
Zea_mays_BT064440#1	195	196
Zea_mays_DQ244217#1	197	198
Zea_mays_EU962300#1	199	200

[0455] Sequenzen sind durch Forschungsinstitutionen, wie The Institute for Genomic Research (TIGR; beginnend mit TA), provisorisch zusammengetragen und öffentlich zugänglich gemacht worden. Mit der Datenbank "Eukaryotic Gene Orthologs" (EGO) lassen sich derartige verwandte Sequenzen entweder durch Stichwort-Suche oder durch Anwendung des BLAST-Algorithmus mit der Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenz von Interesse identifizieren. Spezielle Nukleinsäuresequenz-Datenbanken wurden für bestimmte Organismen erzeugt, wie etwa vom "Joint Genome Institute". Weiterhin hat der Zugang zu nicht öffentlichen Datenbanken die Identifizierung neuer Nukleinsäure- und Polypeptidsequenzen ermöglicht.

2 ExbB-Polypeptide

[0456] Sequenzen (vollständige cDNA, ESTs oder genomisch), die mit SEQ ID NR: 211 und SEQ ID NR: 212 verwandt sind, wurden unter denjenigen, welche in der "Entrez Nucleotides"-Datenbank am National Center for Biotechnology Information (NCBI) bereitgehalten werden, mit Hilfe von Datenbank-Sequenzsuchwerkzeugen wie etwa dem Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 und Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402) identifiziert. Das Programm wird eingesetzt, um Regionen mit lokaler Ähnlichkeit zwischen Sequenzen durch Vergleichen von Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenzen mit Sequenzdatenbanken und durch Berechnen der statistischen Signifikanz von Übereinstimmungen zu finden. So wurde zum Beispiel das von der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 1 codierte Polypeptid für den TBLASTN-Algorithmus verwendet, mit Standardvorgaben und abgeschaltetem Filter zum Ignorieren von

Sequenzen geringer Komplexität. Das Analyse-Ergebnis wurde mittels paarweisem Vergleich betrachtet und gemäß der Wahrscheinlichkeitswertung (E-Wert) eingestuft, wobei die Wertung die Wahrscheinlichkeit widerspiegelt, dass ein jeweiliges Alignment rein zufällig auftritt (je niedriger der E-Wert, umso signifikanter ist der Übereinstimmungstreffer). Zusätzlich zu E-Werten wurden Vergleiche auch durch den Prozentsatz der Identität bewertet. Der Prozentsatz der Identität bezieht sich auf die Zahl an identischen Nukleotiden (oder Aminosäuren) zwischen den zwei verglichenen Nukleinsäuresequenzen (oder Polypeptidsequenzen) über eine bestimmte Länge hinweg. In einigen Fällen lassen sich die Vorgabeparameter anpassen, um die Stringenz der Suche zu modifizieren. Zum Beispiel kann man den E-Wert erhöhen, so dass weniger stringente Übereinstimmungen angezeigt werden. Auf diese Weise lassen sich kurze, fast exakte Übereinstimmungen identifizieren.

[0457] Tabelle A2 stellt eine Liste von Nukleinsäuresequenzen bereit, die mit SEQ ID NR: 211 und SEQ ID NR: 212 verwandt sind.

Tabelle A2: Beispiele für ExbB-Nukleinsäuren und -Polypeptide:

Name	Nukleinsäure-SEQ ID NR:	Protein-SEQ ID NR:
<i>Synechocystis</i> PCC6803_s111404_exbB3	211	212
<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017_exbB1	213	214
<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017_exbB2	215	216
<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017_exbB3	217	218
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413_exbB1	219	220
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413_exbB2	221	222
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413_exbB3	223	224
<i>Chlorobaculum tepidum</i> CT1586_exbB3	225	226
<i>Cyanobacteria</i> Yellowstone B-Prime CYB_0819_exbB3	227	228
<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142_exbB1	229	230
<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142_exbB2	231	232
<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142_exbB3	233	234
<i>Fremyella diplosiphon</i> Fd33_exbB3	235	236
<i>Gloeobacter violaceus</i> PCC 7421_exbB2	237	238
<i>Gloeobacter violaceus</i> PCC7421_glr1387_exbB3	239	240
<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843_exbB3	241	242
<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102_ExbB1	243	244
<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102_ExbB2	245	246
<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102_ExbB3	247	248
<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120_exbB3	249	250
<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120_exbB1	251	252
<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120_exbB2	253	254
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> CGA009_RPA1239_exbB3	255	256
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> CGA009_RPA2127_exbB3	257	258
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942_exbB3	259	260
<i>Synechococcus</i> sp. JA-3-3Ab_exbB3	261	262
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002_plasmid_pAQ7_exbB3	263	264
<i>Synechocystis</i> PCC6803_slI0477_exbB1	265	266
<i>Synechocystis</i> PCC6803_slI0677_exbB2	267	268

Thermosynechococcus elongatus BP-1 exbB3	269	270
Trichodesmium erythraeum IMS101 exbB3	271	272
Chroococcales cyanobacterium HF070_14_CO3 exbB3	273	274

[0458] Für eukaryotische Homologe sind Sequenzen durch Forschungsinstitutionen, wie The Institute for Genomic Research (TIGR; beginnend mit TA), provisorisch zusammengetragen und öffentlich zugänglich gemacht worden. Mit der Datenbank "Eukaryotic Gene Orthologs" (EGO) zum Beispiel lassen sich derartige verwandte Sequenzen entweder durch Stichwort-Suche oder durch Anwendung des BLAST-Algorithmus mit der Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenz von Interesse identifizieren. Spezielle Nukleinsäuresequenz-Datenbanken wurden für bestimmte Organismen, z. B. bestimmte prokaryotische Organismen, erzeugt, wie etwa vom Joint Genome Institute. Weiterhin hat der Zugang zu nicht öffentlichen Datenbanken die Identifizierung neuer Nukleinsäure- und Polypeptidsequenzen ermöglicht.

3 NMPRT-Polypeptide

[0459] Sequenzen (vollständige cDNA, ESTs oder genomisch), die mit SEQ ID NR: 281 und SEQ ID NR: 282 verwandt sind, wurden unter denjenigen, welche in der "Entrez Nucleotides"-Datenbank am National Center for Biotechnology Information (NCBI) bereitgehalten werden, mit Hilfe von Datenbank-Sequenzsuchwerkzeugen wie etwa dem Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 und Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402) identifiziert. Das Programm wird eingesetzt, um Regionen mit lokaler Ähnlichkeit zwischen Sequenzen durch Vergleichen von Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenzen mit Sequenzdatenbanken und durch Berechnen der statistischen Signifikanz von Übereinstimmungen zu finden. So wurde zum Beispiel das von der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 281 codierte Polypeptid für den TBLASTN-Algorithmus verwendet, mit Standardvorgaben und abgeschaltetem Filter zum Ignorieren von Sequenzen geringer Komplexität. Das Analyse-Ergebnis wurde mittels paarweisem Vergleich betrachtet und gemäß der Wahrscheinlichkeitswertung (E-Wert) eingestuft, wobei die Wertung die Wahrscheinlichkeit widerspiegelt, dass ein jeweiliges Alignment rein zufällig auftritt (je niedriger der E-Wert, umso signifikanter ist der Übereinstimmungstreffer). Zusätzlich zu E-Werten wurden Vergleiche auch durch den Prozentsatz der Identität bewertet. Der Prozentsatz der Identität bezieht sich auf die Zahl an identischen Nukleotiden (oder Aminosäuren) zwischen den zwei verglichenen Nukleinsäuresequenzen (oder Polypeptidsequenzen) über eine bestimmte Länge hinweg. In einigen Fällen lassen sich die Vorgabeparameter anpassen, um die Stringenz der Suche zu modifizieren. Zum Beispiel kann man den E-Wert erhöhen, so dass weniger stringente Übereinstimmungen angezeigt werden. Auf diese Weise lassen sich kurze, fast exakte Übereinstimmungen identifizieren.

[0460] In Tabelle A3 sind SEQ ID NR: 281 und SEQ ID NR: 282 und eine Liste von Nukleinsäuresequenzen, die mit SEQ ID NR: 281 und SEQ ID NR: 282 verwandt sind, wiedergegeben.

Tabelle A3: Beispiele für NMPRT-Nukleinsäuren und Polypeptide

Quelle	Nukleinsäure-SEQ ID NR:	Polypeptid-SEQ ID NR:
Synechocystis sp. PCC 6803	281	282
Aureococcus anophagefferens 39495	283	284
Burkholderia phytofirmans PsJN	285	286
Chlamydomonas reinhardtii_206505	287	288
Chlorella vulgaris_72572	289	290
Chlorella_133026	291	292
Deinococcus radiodurans R1	293	294
Emiliania huxleyi 464234	295	296
Hahella chejuensis KCTC 2396	297	298
Magnetospirillum magneticum AMB-1	299	300
Pasteurella multocida subsp Pm70	301	302
Psychrobacter sp PRwf-1	303	304

Ralstonia solanacearum GMI1000	305	306
Stenotrophomonas maltophilia K279a	307	308
Synechococcus elongatus PCC6301	309	310
Volvox carteri_90876	311	312
Xanthomonas campestris B100	313	314
Synechococcus elongatus PCC7942	325	326

[0461] Für eukaryotische Homologe sind Sequenzen durch Forschungsinstitutionen, wie The Institute for Genomic Research (TIGR; beginnend mit TA), provisorisch zusammengetragen und öffentlich zugänglich gemacht worden. Mit der Datenbank "Eukaryotic Gene Orthologs" (EGO) zum Beispiel lassen sich derartige verwandte Sequenzen entweder durch Stichwort-Suche oder durch Anwendung des BLAST-Algorithmus mit der Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenz von Interesse identifizieren. Spezielle Nukleinsäuresequenz-Datenbanken wurden für bestimmte Organismen, z. B. bestimmte prokaryotische Organismen, erzeugt, wie etwa vom Joint Genome Institute. Weiterhin hat der Zugang zu nicht öffentlichen Datenbanken die Identifizierung neuer Nukleinsäure- und Polypeptidsequenzen ermöglicht.

Beispiel 2: Alignment der mit den in den Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptidsequenzen verwandten Sequenzen

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0462] Das Alignment der Polypeptidsequenzen erfolgte unter Anwendung des ClustalW 2.0-Algorithmus für fortschreitendes Alignment (Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882; Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500) mit Standardeinstellungen (langsames Alignment, Ähnlichkeitsmatrix: Gonnet, Gap Opening Penalty 10, Gap Extension Penalty: 0,2). Zur weiteren Optimierung des Alignments wurde eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt. Die LEJ1-Polypeptide sind in der [Fig. 2](#) aligniert.

[0463] Ein phylogenetischer Baum von LEJ1-Polypeptiden ([Fig. 3](#)) wurde aus den in Tabelle A aufgelisteten Sequenzen unter Anwendung der in MAFFT (Kato et al., Nucleic Acids Res., 30: 3059–3066, 2002) bereitgestellten Alignment- und Neighbour-joining-Clusterungsalgorithmen erstellt. Der Baum ist als radiales Cladogramm dargestellt (Dendroscope: Huson et al. (2007), BMC Bioinformatics 8(1): 460).

2. ExbB-Polypeptide

[0464] Das Alignment von Polypeptidsequenzen erfolgte mit dem AlignX-Programm von Vector NTI (Invitrogen), das auf dem ClustalW 2.0-Algorithmus für fortschreitendes Alignment (Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882; Chenna et al. (2003) Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500) basiert; das Alignment erfolgte mit Standardeinstellungen: Gap Opening Penalty 10, Gap Extension Penalty: 0,2. Zur weiteren Optimierung des Alignments wurde eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt. In der Konsensussequenz sind die hochkonservierten Aminosäurereste gekennzeichnet. Die ExbB-Polypeptide sind in der [Fig. 7](#) aligniert.

[0465] Ein alternatives Alignment der Polypeptidsequenzen erfolgte unter Anwendung des ClustalW 1.81-Algorithmus für fortschreitendes Alignment (Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882; Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500) mit der Standardeinstellung (langsames Alignment, Ähnlichkeitsmatrix: oder Blosom 62, Gap Opening Penalty 10, Gap Extension Penalty: 0,2). Zur weiteren Optimierung des Alignments wurde eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt. Die ExbB-Polypeptide sind in der [Fig. 8](#) aligniert.

[0466] Ein phylogenetischer Baum der ExbB-Polypeptide ([Fig. 9](#)) wurde mit Hilfe eines Neighbour-joining-Clusterungsalgorithmus erstellt, wie er im Programm ClustalW-Programm, das für das Alignment von [Fig. 8](#) angewendet wurde, zur Verfügung gestellt wird.

3. NMPRT-Polypeptide

[0467] Das Alignment der Polypeptidsequenzen erfolgte unter Anwendung des ClustalW 1.8-Algorithmus für fortschreitendes Alignment (Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882; Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500) mit Standardeinstellungen (langsames Alignment, Ähnlichkeitsmatrix: Blosom 62, Gap Opening Penalty 10, Gap Extension Penalty: 0,2). Zur weiteren Optimierung des Alignments

wurde eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt. Die NMPRT-Polypeptide sind in der [Fig. 13](#) aligniert. Ein phylogenetischer Baum von NMPRT-Polypeptiden ist in Gazzaniga et al. 2009 gezeigt.

Beispiel 3: Berechnung der globalen prozentualen Identität zwischen Polypeptidsequenzen

[0468] Globale Prozentsätze der Ähnlichkeit und Identität zwischen Vollängen-Polypeptidsequenzen, die in der Ausführung der Verfahren der Erfindung nützlich sind, wurden unter Anwendung von MatGAT (Matrix Global Alignment Tool) bestimmt (BMC Bioinformatics. 2003 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. Campanella JJ, Bitincka L, Smalley J; Software wurde bereitgestellt von Ledion Bitincka). MatGAT erzeugt Ähnlichkeits-/Identitäts-Matrizen für DNA- oder Proteinsequenzen, ohne dass ein Voralignment der Daten benötigt wird. Das Programm führt eine Serie von paarweisen Alignments unter Anwendung des "Myers and Miller"-Global-Alignment-Algorithmus (mit einem Gap Opening Penalty von 12 und einem Gap Extension Penalty von 2) durch, berechnet Ähnlichkeit und Identität zum Beispiel mit Hilfe der Blosom 62 (für Polypeptide) und platziert die Ergebnisse dann in einer Distanzmatrix.

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0469] Die globale Ähnlichkeit und Identität über die volle Länge der Polypeptidsequenzen sind in [Fig. 4](#) gezeigt. Sequenzähnlichkeit ist in der Hälfte unter der Trennlinie gezeigt, und Sequenzidentität ist in der Hälfte oberhalb der diagonalen Trennlinie gezeigt. Die im Vergleich verwendeten Parameter waren: Wertungsmatrix: Blosom62, First Gap: 12, Extending Gap: 2. Die Sequenzidentität (in %) zwischen den LEJ1-Polypeptidsequenzen, die sich für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren eignen, kann lediglich 37% (wenn man alle Proteinsequenzen von Tabelle A1 mit berücksichtigt) oder lediglich 60% betragen (wenn man die am engsten miteinander verwandten Orthologe in Betracht zieht), im Vergleich zu SEQ ID NR: 2.

2. ExbB-Polypeptide

[0470] Die Ergebnisse der Softwareanalyse sind in [Fig. 11](#) für die globale Ähnlichkeit und Identität über die volle Länge der in Tabelle A gezeigten Polypeptidsequenzen hinweg gezeigt. Sequenzähnlichkeit ist in der Hälfte unter der Trennlinie gezeigt, und Sequenzidentität ist in der Hälfte oberhalb der diagonalen Trennlinie gezeigt. Die im Vergleich verwendeten Parameter waren: Wertungsmatrix: Blosom62, First Gap: 12, Extending Gap: 2. Die Sequenzidentität (in %) zwischen den für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeigneten ExbB-Polypeptidsequenzen kann lediglich 18% betragen (ist somit im Allgemeinen höher als 18%), verglichen mit der SEQ ID NR: 212.

3. NMPRT-Polypeptide

[0471] Ergebnisse der Software-Analyse sind in Tabelle B1 für die globale Ähnlichkeit und Identität über die volle Länge der Polypeptidsequenzen hinweg gezeigt. Sequenzähnlichkeit ist in der Hälfte unter der Trennlinie gezeigt, und Sequenzidentität ist in der Hälfte oberhalb der diagonalen Trennlinie gezeigt. Die im Vergleich verwendeten Parameter waren: Wertungsmatrix: Blosom62, First Gap: 12, Extending Gap: 2. Die Sequenzidentität (in %) zwischen den für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeigneten NMPRT-Polypeptidsequenzen kann, verglichen mit der SEQ ID NR: 282, lediglich 21,4% betragen (ist aber im Allgemeinen höher als 21,4%).

TABELLE B1: MatGAT-Ergebnisse für globale Ähnlichkeit und Identität über die volle Länge der Polypeptidsequenzen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1. <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803		47,7	56,7	34,3	27	33,9	56,9	21,4	54,8	54,5	50,5	51,1	58,6	58	58,3	34,4	55
2. <i>Aureococcus anophagefferens</i> 39495	62		47	35,6	27,4	33,1	45,9	24,1	49,7	45,2	45,5	45,5	49,3	49,1	45,9	35,4	45,6
3. <i>Burkholderia phytofirmans</i> PsJN	71,8	63,4		35	26,9	31,3	53,6	23,9	55,4	54,9	52,2	52,7	75,7	60,3	53	34,6	57,9
4. <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> _206505	49	52	50,2		49,3	54,1	34,4	20,8	36	32,9	35,5	36	36,9	34,3	32	80,4	34
5. <i>Chlorella vulgaris</i> _72572	39,2	41,2	39,8	60,2		48,5	28,3	20,7	27,5	26,8	29,5	30,9	27,1	28	28,5	45,8	28,7
6. <i>Chlorella</i> _133026	49,9	50,9	48,7	72,3	58,3		33,7	20,6	32,1	32,1	31,3	32,1	32,1	34,7	31,8	51,9	34,8
7. <i>Deinococcus radiodurans</i> R1	72,3	60,2	69,9	49,8	39,5	49,5		22,6	54,4	52,5	51,6	52,2	53,1	55,7	55,1	34,9	52,4
8. <i>Emiliana huxleyi</i> 464234	31,4	34,8	32,8	33,3	35	31,7	30,9		21,8	22,7	21,3	21,5	23,5	23,5	22,2	21,7	23,3
9. <i>Hahella chejuensis</i> KCTC 2396	70,1	62,8	69,3	52,4	41,4	47,7	70,6	31,1		55,3	59,1	58,2	55,6	53,9	51,3	35,9	52,4
10. <i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	70,5	59,4	68	48,8	40,5	49,5	66,9	33,1	70,9		52,9	52,9	53,8	58,5	50	33,8	57
11. <i>Pasteurella multocida</i> subsp Pm70	70,1	61,8	68	53,6	41,9	49,1	69,3	32,9	76,6	69,9		68,6	49,1	52,5	50,1	34,4	50,8
12. <i>Psychrobacter</i> sp PRwf-1	68,6	62,4	68	54,9	43,7	52,5	70,5	32,2	75,3	71,2	83,4		50,2	52,2	50,4	35,6	50,3
13. <i>Ralstonia solanacearum</i> GMI1000	71,6	64,8	86,5	50,8	39,7	49,3	68,5	32,8	70,2	66,9	65,4	66,5		64,1	53,8	36,1	61,5
14. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> K279a	72,7	64	76	52,2	41,2	50,9	69,9	33,1	70,4	70,8	70,1	70,8	75,8		55,3	34,7	74,6
15. <i>Synechococcus elongatus</i> PCC7942	74,7	62,4	70,9	51,4	40,6	49,9	71,4	32,5	70,3	67,9	70,6	68,6	70,6	71,2		32,3	53,4
16. <i>Volvox carteri</i> _90876	48,3	51,1	50,5	88,1	57,5	70,2	48,9	34	51,5	48,3	51,5	53	51,1	52	51,5		32,8
17. <i>Xanthomonas campestris</i>	70,8	64	75,8	50,6	42,9	52,1	68,8	33	69,6	68,8	69,2	68,8	77,6	83,4	69,2	50,3	

Beispiel 4: Identifizierung von Domänen, die in Polypeptidsequenzen enthalten sind, die sich für die Durchführung der Verfahren der Erfindung eignen

[0472] Die "Integrated Resource of Protein Families, Domains and Sites"(InterPro)-Datenbank ist eine integrierte Schnittstelle für die üblicherweise verwendeten Signaturdatenbanken für text- und sequenzbasierte Suchläufe. Die InterPro-Datenbank kombiniert diese Datenbanken, welche verschiedene Methodologien und unterschiedliche Klassen von biologischen Informationen über gut charakterisierte Proteine verwenden, um Proteinsignaturen abzuleiten. Zu kollaborierenden Datenbanken zählen SWISS-PROT, PROSITE, TrEMBL, PRINTS, ProDom und Pfam, Smart und TIGRFAMs. Bei Pfam handelt es sich um eine große Sammlung von Mehrfach-Sequenzalignments und Hidden-Markov-Modellen, die viele herkömmliche Proteindomänen und -familien umfasst. Pfam wird am Server des Sanger Institute in Großbritannien gehostet. Interpro wird am European Bioinformatics Institute in Großbritannien gehostet.

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0473] Die Ergebnisse des InterPro-Scans der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 2 sind in der Tabelle C1 aufgeführt.

Tabelle C1: Ergebnisse des InterPro-Scans (Hauptzugangsnummern) der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 2.

Länge des Proteins	Datenbank	Nummer	Name	Start	Stopp	p-Wert	InterPro-Familie	
238	HMMPFam	PF00571	CBS	83	228	1,00E-17	IPR000644	Cystathionin-beta-Synthase, Kern
238	HMMSmart	SM00116	CBS	88	136	1,30E+10	IPR000644	Cystathionin-beta-Synthase, Kern
238	HMMSmart	SM00116	CBS	180	228	4,50E+01	IPR000644	Cystathionin-beta-Synthase, Kern
238	ProfileScan	PS51371	CBS	83	145	0,00E+00	IPR000644	Cystathionin-beta-Synthase, Kern
238	ProfileScan	PS51371	CBS	177	234	0,00E+00	IPR000644	Cystathionin-beta-Synthase, Kern
238	Superfamilie	SSF54631	SSF54631	73	132	1,80E+03	NULL	NULL
238	Superfamilie	SSF54631	SSF54631	167	229	1,70E-15	NULL	NULL
238	HMMPanther	PTHR11911:SF5	PTHR11911:SF5	11	238	3,90E-62	NULL	NULL
238	HMMPanther	PTHR11911:SF5	PTHR11911:SF5	11	238	3,90E-62	NULL	NULL
238	HMMPanther	PTHR11911	PTHR11911	11	238	3,90E-62	NULL	NULL
238	HMMPanther	PTHR11911	PTHR11911	11	238	3,90E-62	NULL	NULL

2. ExbB-Polypeptide

[0474] Die Ergebnisse des InterPro-Scans der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 212 sind in der Tabelle C2 aufgeführt.

Tabelle C2: Ergebnisse des InterPro-Scans (Hauptzugangsnummern) der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 212.

Datenbank	Zugangsnummer	Zugangsname	Aminosäurekoordinaten in SEQ ID NR 212, e-Wert [Aminosäureposition der Domäne]
PFAM	PF01618	MotA_ExbB	3,2E-48 [48-188]T

[0475] PF01618 ist auch im unteren Teil des Alignment von [Fig. 7](#) angegeben.

3. NMPRT-Polypeptide

[0476] Die Ergebnisse des InterPro-Scans der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 282 sind in der Tabelle C3 aufgeführt.

Tabelle C3: Ergebnisse des InterPro-Scans (Hauptzugangsnummern) der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 282.

Datenbank	Zugangsnummer	Zugangsname	Aminosäurekoordinaten in SEQ ID NR: 282
InterPro	IPR016471	NMPRT	[1-461]
PANTHER	PTHR11098	PTHR11098	[64-459]
PANTHER	PTHR11098:SF2	PTHR11098:SF2	[64-459]
PFAM	PF04095	NAPRTase	[170-437]

Beispiel 5: Topologievorhersage für die LEJ1-Polypeptidsequenzen

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0477] TargetP 1.1 sagt die subzelluläre Lokalisierung von eukaryotischen Proteinen voraus. Die Lagebestimmung basiert auf der vorhergesagten Gegenwart von einer beliebigen der N-terminalen Präsequenzen: Chloroplasten-Transit-Peptid (cTP), mitochondriales Targeting-Peptid (mTP) oder Sekretorischer-Pfad-Signalpeptid (SP). Wertungen, auf welchen die endgültige Vorhersage beruht, sind nicht wirklich Wahrscheinlichkeiten, und sie addieren sich nicht notwendigerweise zu 1. Allerdings ist die Lokalisierung mit der höchsten Bewertung gemäß TargetP am wahrscheinlichsten, und die Beziehung zwischen den Wertungen (die Zuverlässigkeitsklasse) kann eine Angabe sein, wie sicher die Vorhersage ist. Die Zuverlässigkeitsklasse bzw. "Reliability Class" (RC) liegt im Bereich von 1 bis 5, wobei 1 die stärkste Vorhersage anzeigt. TargetP wird am Server der Technischen Universität Dänemark (Technical University of Denmark) bereitgehalten.

[0478] Für die Sequenzen, welche laut Vorhersage eine N-terminale Präsequenz enthalten, kann ebenfalls eine potenzielle Spaltungsstelle vorhergesagt werden.

[0479] Eine Anzahl von Parametern wurde ausgewählt, wie etwa Organismengruppe (Nicht-Pflanze oder Pflanze), Ausschlussbedingungen (keine, vordefinierter Satz von Ausschlussbedingungen, oder benutzerspezifischer Satz von Ausschlussbedingungen) sowie die Berechnung der Vorhersage von Spaltungsstellen (Ja oder Nein).

[0480] Die Ergebnisse der TargetP 1.1-Analyse der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 2 sind in der Tabelle D1 aufgeführt. Die Organismengruppe "Pflanze" wurde gewählt, es wurden keine Ausschlussbedingungen definiert, und die vorhergesagte Länge des Transitpeptids wurde angefordert. Bei der subzellulären Lokalisierung der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 2 wird mit einem hohen Wahrscheinlichkeitswert der Chloroplast vorhergesagt.

Tabelle D1: TargetP 1.1-Analyse der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 2. Abkürzungen: Len, Länge; cTP, chloroplastisches Transitpeptid; mTP, mitochondriales Transitpeptid, SP, Signalpeptid für einen sekretorischen Pfad, andere, anderes subzelluläres Ziel, Loc, vorhergesagte Lokalisierung; RC, Verlässlichkeitsklasse; TPlen, vorhergesagte Länge des Transitpeptids.

Name	Len	cTP	mTP	SP	andere	Loc	RC	TPlen
A.thaliana AT4G34120	238	0,879	0,050	0,007	0,026	C	1	71
Ausschlussbedingung		0,000	0,000	0,000	0,000			

[0481] Es können viele andere Algorithmen zur Durchführung derartiger Analysen verwendet werden, einschließlich:

- ChloroP 1.1, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- Protein Prowler Subcellular Localisation Predictor Version 1.2, bereitgehalten auf dem Server des Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Brisbane, Australien;
- PENCE Proteome Analyst PA-GOSUB 2.5, bereitgehalten auf dem Server der University of Alberta, Edmonton, Alberta, Kanada;
- TMHMM, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- PSORT (URL: psort.org)
- PLOC (Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003).

2. ExbB-Polypeptide

[0482] TargetP 1.1 sagt die subzelluläre Lokalisierung von eukaryotischen Proteinen voraus. Die Lagebestimmung basiert auf der vorhergesagten Gegenwart von einer beliebigen der N-terminalen Präsequenzen: Chloroplasten-Transit-Peptid (cTP), mitochondriales Targeting-Peptid (mTP) oder Sekretorischer-Pfad-Signalpeptid (SP). Wertungen, auf welchen die endgültige Vorhersage beruht, sind nicht wirklich Wahrscheinlichkeiten, und sie addieren sich nicht notwendigerweise zu 1. Allerdings ist die Lokalisierung mit der höchsten Bewertung gemäß TargetP am wahrscheinlichsten, und die Beziehung zwischen den Wertungen (die Zuverlässigkeitsklasse) kann eine Angabe sein, wie sicher die Vorhersage ist. Die Zuverlässigkeitsklasse bzw. "Reliability Class" (RC) liegt im Bereich von 1 bis 5, wobei 1 die stärkste Vorhersage anzeigt. TargetP wird am Server der Technischen Universität Dänemark (Technical University of Denmark) bereitgehalten.

[0483] Für die Sequenzen, welche laut Vorhersage eine N-terminale Präsequenz enthalten, kann ebenfalls eine potenzielle Spaltungsstelle vorhergesagt werden.

[0484] Zusätzlich oder alternativ dazu können viele andere Algorithmen zur Durchführung derartiger Analysen verwendet werden, einschließlich:

- ChloroP 1.1, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- Protein Prowler Subcellular Localisation Predictor Version 1.2, bereitgehalten auf dem Server des Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Brisbane, Australien;
- PENCE Proteome Analyst PA-GOSUB 2.5, bereitgehalten auf dem Server der University of Alberta, Edmonton, Alberta, Kanada;
- TMHMM, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- PSORT (URL: psort.org)
- PLOC (Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003).

Beispiel 6. Assay im Zusammenhang mit den für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeigneten Polypeptidsequenzen

1. NMPRT-Polypeptide

[0485] Ein Enzymaktivitätsassay für die Charakterisierung eines NMPRT-Polypeptids ist in Gerdes et al. (2006) beschrieben.

[0486] Kurz gesagt kommen bei den Enzymaktivitätsassays zur Bestimmung von NaMNAT- und NMNAT-Aktivitäten gekoppelte spektrophotometrische Assays zur Anwendung (siehe Kurnasov et al. 2002, J. Bacteriol. 184: 6906–6917). Der NMNAT-Assay basiert auf der Kopplung der NAD-Bildung an die durch Alkoholdehy-

drogenase katalysierte Umwandlung von NAD in NADH, die durch die UV-Extinktion bei 340 nm verfolgt wird, wie ursprünglich von Balducci et al. (1995, Anal. Biochem. 228: 64–68) entwickelt. Die Reaktion wird durch Zugabe von NMN auf 1 mM gestartet und über eine Zeitspanne von 20 min bei 340 nm verfolgt. Zur Messung der NaMN-spezifischen Aktivität wird die Vorschrift modifiziert, indem man einen zusätzlichen enzymatischen Schritt, eine Umwandlung von Deamido-NAD (NaAD) in NAD einführt, indem man einen Überschuss an reiner rekombinanter NADS zugibt (siehe Kurnasov et al. 2002).

[0487] Die NADS-Aktivität lässt sich durch einen kontinuierlichen gekoppelten spektrophotometrischen Assay auf NADS-Aktivität messen. Reaktionsmischungen enthalten 1 mM NaAD, 2 mM ATP, 10 mM MgCl₂, 7 U/ml Alkoholdehydrogenase (Sigma), 46 mM Ethanol, 16 mM Semicarbazide (oder 2 mM NaHSO₃) und 4 mM NH₄Cl (oder 2 mM Glutamin) in 100 mM HEPES (pH-Wert 8,5). Die Reaktionen werden bei 37°C durchgeführt und über die Veränderung der UV-Extinktion bei 340 nm unter Anwendung eines Beckman DU-640-Spektrophotometers oder, bei kinetischen Studien, in Platten mit 96 Vertiefungen mit einem Tecan-Plus-Reader verfolgt (siehe Kurnasov et al. 2002).

[0488] Die NMPRT-Aktivität lässt sich durch einen kontinuierlichen spektrophotometrischen Assay messen. Bei diesem Assay ist die NMPRT-Aktivität über zwei zusätzliche enzymatische Schritte an die NADH-Bildung gekoppelt: (a) Umwandlung von NMN in NAD durch NMNAT (ein rekombinantes humanes Enzym PNAT-3 mit dualer NMN/NaMN-Spezifität, überexprimiert und aufgereinigt (siehe Zhang et al. 2003, J. Biol. Chem. 278: 13503–13511) und (b) durch Alkoholdehydrogenase katalysierte Umwandlung von NAD in NADH. Der Assay kann wie oben für den NMNAT-Assay beschrieben durchgeführt werden, wobei allerdings die Reaktionsmischung 2,0 mM Nicotinamid anstelle von NMN, 5 mM ATP und 0,15 U humanes NMNAT enthielt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) auf 2 mM gestartet.

[0489] Bei einem Beispiel mit dem *Synechocystis*-sp.-Stamm PCC 6803 zeigte die biochemische Charakterisierung die folgende Aktivität für NMPRT: die enzymatische Aktivität (in U/mg) auf Substrat 1 (Nam) betrug 0,5 und auf Substrat 2 (NA) 0,003, mit einem Verhältnis von mehr als 150/1 (siehe Tabelle 3 von Gerdes et al. 2006).

Beispiel 7: Klonieren der in den Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuresequenz

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0490] Die Nukleinsäuresequenz wurde mittels PCR amplifiziert, wobei als Matrize eine speziell erstellte cDNA-Bibliothek mit *Arabidopsis thaliana*-Keimlingen verwendet wurde. Die PCR wurde mit Hifi Taq DNA-Polymerase unter Standardbedingungen mit 200 ng Matrize in 50 µl PCR-Mix durchgeführt. Bei den verwendeten Primern handelte es sich um prm14149 (SEQ ID NR: 203; sense, Startcodon fett): 5'-ggggacaagttgtacaaaaagcaggctaaacaatgggttcaatctctttatcc-3' und prm14150 (SEQ ID NR: 204; revers, komplementär): 5'-ggggaccactttgtacaagaaagctgggtattcagatctgctccatcact-3', die die AttB-Stellen für die Gateway-Rekombination einschließen. Das amplifizierte PCR-Fragment wurde ebenfalls nach Standardmethoden aufgereinigt. Dann wurde der erste Schritt der Gateway-Vorschrift, die BP-Reaktion, durchgeführt, während der das PCR-Fragment in vivo mit dem pDONR201-Plasmid rekombiniert wurde, wodurch man gemäß der Gateway-Terminologie einen "Eingangsklon", pLEJ1, erhielt. Das Plasmid pDONR201 wurde von Invitrogen als Teil der Gateway®-Technologie erworben.

[0491] Der die SEQ ID NR: 1 umfassende "Eingangsklon" wurde dann in einer LR-Reaktion mit einem Zielvektor für die Transformation von *Oryza sativa* eingesetzt. Dieser Vektor enthielt als Funktionselemente innerhalb der T-DNA-Grenzen: einen pflanzlichen Selektionsmarker; eine screenbare Markerexpressionskassette; sowie eine Gateway-Kassette, die für die LR-in-vivo-Rekombination mit der interessierenden Nukleinsäuresequenz, die bereits in den Eingangsklon kloniert wurde, vorgesehen ist. Ein Reis-GOS2-Promotor (SEQ ID NR: 201) für die konstitutive spezifische Expression befand sich stromaufwärts von dieser Gateway-Kassette.

[0492] Nach dem LR-Rekombinationsschritt wurde der erhaltene Expressionsvektor pGOS2::LEJ1 ([Fig. 5](#)) nach im Stand der Technik gut bekannten Methoden in den *Agrobacterium*-Stamm LBA4044 transformiert.

2. ExbB-Polypeptide

[0493] Die Nukleinsäuresequenz wurde durch PCR amplifiziert, wobei als Matrize genomische DNA von *Synechocystis* sp. PCC 6803 verwendet wurde. Die PCR wurde mit Hifi Taq DNA-Polymerase unter Standardbedingungen mit 200 ng Matrize in 50 µl PCR-Mix durchgeführt. Bei den verwendeten Primern handelte es

sich um prm14244 (SEQ ID NR: 277; sense): 5'-ggggacaagttgtacaataaaagcaggcttaacaatggccgggggcatag-3' und prm14243 (SEQ ID NR: 278; revers, komplementär): 5'-ggggaccactttgtacaagaaagctgggtcatcggaagtcgcatactt-3', die die AttB-Stellen für die Gateway-Rekombination einschließen. Das amplifizierte PCR-Fragment wurde ebenfalls nach Standardmethoden aufgereinigt. Dann wurde der erste Schritt der Gateway-Vorschrift, die BP-Reaktion, durchgeführt, während der das PCR-Fragment in vivo mit dem pDONR201-Plasmid rekombiniert wurde, wodurch man gemäß der Gateway-Terminologie einen "Eingangsklon", ExbB, erhielt. Das Plasmid pDONR201 wurde von Invitrogen als Teil der Gateway®-Technologie erworben.

[0494] Der die SEQ ID NR: 211 umfassende "Eingangsklon" wurde dann in einer LR-Reaktion mit einem Zielvektor für die Transformation von *Oryza sativa* eingesetzt. Dieser Vektor enthielt als Funktionselemente innerhalb der T-DNA-Grenzen: einen pflanzlichen Selektionsmarker; eine screenbare Markerexpressionskassette; sowie eine Gateway-Kassette, die für die LR-in-vivo-Rekombination mit der interessierenden Nukleinsäuresequenz, die bereits in den Eingangsklon kloniert wurde, vorgesehen ist. Ein Reis-GOS2-Promotor (SEQ ID NR: 275) für die konstitutive spezifische Expression befand sich stromaufwärts dieser Gateway-Kassette.

[0495] Bei einem zweiten Beispiel befand sich ein wurzelspezifischer Promotor (pRs: SEQ ID NR: 276) für die wurzelspezifische Expression stromaufwärts von der Gateway-Kassette.

[0496] Nach dem LR-Rekombinationsschritt wurden der erhaltene Expressionsvektor pGOS2::ExbB ([Fig. 10](#)) und pRs::ExbB nach im Stand der Technik gut bekannten Methoden in den *Agrobacterium*-Stamm LBA4044 transformiert.

3. NMPRT-Polypeptide

[0497] Die Nukleinsäuresequenz wurde durch PCR amplifiziert, wobei als Matrize genomische DNA von *Synechocystis* sp. PCC 6803 verwendet wurde. Die PCR wurde mit Hifi Taq DNA-Polymerase unter Standardbedingungen mit 200 ng Matrize in 50 µl PCR-Mix durchgeführt. Bei den verwendeten Primern handelte es sich um prm14234 (SEQ ID NR: 316; sense, Startcodon fett): 5'-ggggacaagttgtacaataaaagcaggcttaacaatgaataactatctcattctgtag-3' und prm14233 (SEQ ID NR: 317; revers, komplementär): 5'-ggggaccactttgtacaagaaagctgggtctagcttgcgggaacatt-3', die die AttB-Stellen für die Gateway-Rekombination einschließen. Das amplifizierte PCR-Fragment wurde ebenfalls nach Standardmethoden aufgereinigt. Dann wurde der erste Schritt der Gateway-Vorschrift, die BP-Reaktion, durchgeführt, während der das PCR-Fragment in vivo mit dem pDONR201-Plasmid rekombiniert wurde, wodurch man gemäß der Gateway-Terminologie einen "Eingangsklon", pNMPRT, erhielt. Das Plasmid pDONR201 wurde von Invitrogen als Teil der Gateway®-Technologie erworben.

[0498] Der die SEQ ID NR: 281 umfassende "Eingangsklon" wurde dann in einer LR-Reaktion mit einem Zielvektor für die Transformation von *Oryza sativa* eingesetzt. Dieser Vektor enthielt als Funktionselemente innerhalb der T-DNA-Grenzen: einen pflanzlichen Selektionsmarker; eine screenbare Markerexpressionskassette; sowie eine Gateway-Kassette, die für die LR-in-vivo-Rekombination mit der interessierenden Nukleinsäuresequenz, die bereits in den Eingangsklon kloniert wurde, vorgesehen ist. Ein Reis-GOS2-Promotor (SEQ ID NR: 324) für die konstitutive spezifische Expression befand sich stromaufwärts dieser Gateway-Kassette.

[0499] Nach dem LR-Rekombinationsschritt wurde der erhaltene Expressionsvektor pGOS2::NMPRT ([Fig. 14](#)) nach im Stand der Technik gut bekannten Methoden in den *Agrobacterium*-Stamm LBA4044 transformiert.

Beispiel 8: Pflanzentransformation

Reistransformation

[0500] Das *Agrobacterium*, welches den Expressionsvektor enthielt, wurde zum Transformieren von *Oryza sativa*-Pflanzen verwendet. Reife trockene Samen des Reis-Japonica-Kultivars Nipponbare wurden einer Enthülsung unterzogen. Die Sterilisierung wurde durch Inkubieren während einer Minute in 70% Ethanol, gefolgt von 30 Minuten in 0,2% HgCl₂, gefolgt von sechsmaligem 15-minütigem Waschen mit sterilem destilliertem Wasser, durchgeführt. Die sterilen Samen wurden dann auf einem Medium keimen gelassen, welches 2,4-D enthielt (Callus-Induktionsmedium). Nach vierwöchiger Inkubation im Dunkeln wurden embryogene, vom Scutellum abgeleitete Calli herausgeschnitten und auf dem gleichen Medium vermehrt. Nach zwei Wochen wurden die Calli durch Subkultivieren auf dem gleichen Medium weitere 2 Wochen lang vervielfältigt oder ver-

mehrt. Embryogene Callus-Stücke wurden 3 Tage vor der Cokultivierung auf frischem Medium subkultiviert (zur Steigerung der Zellteilungsaktivität).

[0501] Der Agrobacterium-Stamm LBA4404, welcher den Expressionsvektor enthielt, wurde für die Co-Kultivierung verwendet. Agrobacterium wurde auf AB-Medium mit den entsprechenden Antibiotika inokuliert und 3 Tage lang bei 28°C kultiviert. Die Bakterien wurden dann gesammelt und in einem flüssigen Cokultivierungsmedium in einer Dichte (OD_{600}) von etwa 1 suspendiert. Die Suspension wurde dann in eine Petrischale überführt und die Calli wurden 15 Minuten lang in die Suspension eingetaucht. Die Callusgewebe wurden dann auf einem Filterpapier trocken getupft und auf verfestigtes Cokultivierungsmedium überführt und 3 Tage lang im Dunkeln bei 25°C inkubiert. Cokultivierte Calli wurden auf 2,4-D-enthaltendem Medium 4 Wochen lang im Dunkeln bei 28°C in Gegenwart eines Selektionsmittels wachsen gelassen. Während dieser Periode entwickelten sich rasch wachsende, resistente Callus-Inseln. Nach dem Übertragen dieses Materials auf ein Regenerationsmedium und Inkubation bei Licht wurde das embryogene Potenzial freigesetzt, und Sprosse entwickelten sich in den nächsten vier bis fünf Wochen. Die Sprosse wurden aus den Calli herausgeschnitten und 2 bis 3 Wochen lang auf einem auxinhaltigen Medium inkubiert, von welchem sie in den Erdboden überführt wurden. Gehärtete Sprosse wurden unter hoher Feuchtigkeit und bei kurzen Tagen in einem Gewächshaus wachsen gelassen.

[0502] Ungefähr 35 unabhängige T0-Reis-Transformanten wurden für ein Konstrukt erzeugt. Die primären Transformanten wurden aus einer Gewebekulturkammer in ein Gewächshaus überführt. Nach einer quantitativen PCR-Analyse zur Bestätigung der Kopienzahl des T-DNA-Inserts wurden lediglich transgene Einzelkopie-Pflanzen, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel zeigen, für die Ernte von T1-Samen beibehalten. Die Samen wurden dann drei bis fünf Monate nach dem Umpflanzen geerntet. Das Verfahren ergab Einzel-Locus-Transformanten bei einer Rate von über 50% (Aldemita und Hodges 1996, Chan et al. 1993, Hiei et al. 1994).

Beispiel 9: Transformation anderer Kulturpflanzen

Transformation von Mais

[0503] Die Transformation von Mais (*Zea mays*) wird mit einer Abwandlung des Verfahrens durchgeführt, welches von Ishida et al. (1996) *Nature Biotech.* 14(6): 745–50 beschrieben wurde. Die Transformation in Mais ist genotypabhängig, und nur spezifische Genotypen sind einer Transformation und Regeneration zuführbar. Die Inzucht-Linie A188 (University of Minnesota) oder Hybride mit A188 als Elternteil sind gute Quellen von Spendermaterial für eine Transformation, aber auch andere Genotypen können erfolgreich verwendet werden. Ähren werden aus der Maispflanze ungefähr 11 Tage nach der Bestäubung (DAP) abgeerntet, wenn die Länge des unreifen Embryos ungefähr 1 bis 1,2 mm beträgt. Unreife Embryos werden mit *Agrobacterium tumefaciens*, welches den Expressionsvektor enthält, cokultiviert, und transgene Pflanzen werden durch Organogenese gewonnen. Herausgeschnittene Embryos werden auf Callus-Induktionsmedium und anschließend Mais-Regenerationsmedium, welches das Selektionsmittel enthält (zum Beispiel Imidazolinon, wobei jedoch verschiedene Selektionsmarker verwendet werden können), wachsen gelassen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C 2–3 Wochen lang, oder bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Mais-Bewurzelungsmedium überführt und bei 25°C 2 bis 3 Wochen lang, bis sich Wurzeln entwickeln, inkubiert. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Weizen

[0504] Die Transformation von Weizen wird mit dem Verfahren durchgeführt, welches von Ishida et al. (1996) *Nature Biotech.* 14(6): 745–50 beschrieben wurde. Üblicherweise wird das Kultivar Bobwhite (erhältlich von CIMMYT, Mexiko) bei der Transformation verwendet. Unreife Embryos werden mit *Agrobacterium tumefaciens*, welches den Expressionsvektor enthält, cokultiviert, und transgene Pflanzen werden durch Organogenese gewonnen. Nach der Inkubation mit *Agrobacterium* werden die Embryos *in vitro* auf Callus-Induktionsmedium, und dann Regenerationsmedium, welches das Selektionsmittel enthält (zum Beispiel Imidazolinon, wobei jedoch verschiedene Selektionsmarker verwendet werden können), wachsen gelassen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C 2–3 Wochen lang, oder bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Bewurzelungsmedium überführt und 2–3 Wochen lang, bis sich Wurzeln entwickeln, bei 25°C inkubiert. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen

werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Sojabohne

[0505] Sojabohne wird gemäß einer Modifikation der in der US-Patentschrift 5,164,310 von Texas A&M beschriebenen Methode transformiert. Mehrere kommerzielle Sojabohnensorten sind einer Transformation nach diesem Verfahren zugänglich. Üblicherweise wird das Kultivar Jack (erhältlich von der Illinois Seed Foundation) zur Transformation verwendet. Sojabohnensamen werden für das In-vitro-Aussäen sterilisiert. Das Hypokotyl, die Keimwurzel und ein Kotyledon werden aus sieben Tage alten Jungsämlingen herausgeschnitten. Das Epikotyl und das verbleibende Kotyledon werden weiter wachsen gelassen, um axilläre Nodi zu entwickeln. Diese axillären Nodi werden herausgeschnitten und mit *Agrobacterium tumefaciens* inkubiert, welches den Expressionsvektor enthält. Nach der Cokultivierungsbehandlung werden die Explantate gewaschen und auf Selektionsmedien überführt. Regenerierte Sprosse werden herausgeschnitten und auf ein Sprossverlängerungsmedium gebracht. Sprosse, welche nicht länger als 1 cm sind, werden auf Bewurzelungsmedium gebracht, bis sich Wurzeln entwickeln. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Raps/Canola

[0506] Kotyledonäre Keimblattstiele sowie Hypokotyle von einem 5–6 Tage alten Jungsämling werden als Explantate für die Gewebekultur verwendet und gemäß Babic et al. (1998, Plant Cell Rep. 17: 183–188) transformiert. Das kommerzielle Kultivar Westar (Agriculture Canada) ist die zur Transformation verwendete Standardvarietät, aber auch andere Varietäten können verwendet werden. Canola-Samen werden für das In-vitro-Aussäen oberflächensterilisiert. Die Keimblattstiel-Explantate mit dem anhängigen Kotyledo werden aus den In-vitro-Sämlingen herausgeschnitten und mit *Agrobacterium* (enthaltend den Expressionsvektor) durch Eintauchen des Schnittendes des Blattstiel-Explantats in die Bakteriensuspension inokuliert. Die Explantate werden dann 2 Tage lang auf MSBAP-3-Medium, enthaltend 3 mg/l BAP, 3% Saccharose, 0,7% Phytagar, bei 23°C, 16 Stunden Licht, kultiviert. Nach zwei Tagen Cokultivierung mit *Agrobacterium* werden die Blattstiel-Explantate auf MSBAP-3-Medium, enthaltend 3 mg/l BAP, Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin (300 mg/l) während 7 Tagen überführt und danach auf MSBAP-3-Medium mit Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin und Selektionsmittel bis zur Sprossregeneration kultiviert. Wenn die Sprosse 5–10 mm Länge aufweisen, werden sie abgeschnitten und auf Sprossverlängerungsmedium (MSBAP-0.5, enthaltend 0,5 mg/l BAP) überführt. Sprosse von etwa 2 cm Länge werden auf das Bewurzelungsmedium (MS0) zur Wurzelinduktion überführt. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Luzerne

[0507] Ein sich regenerierender Klon von Luzerne (*Medicago sativa*) wird unter Anwendung des Verfahrens von McKersie et al. (1999, Plant Physiol. 119: 839–847) transformiert. Die Regeneration und Transformation von Luzerne ist genotypabhängig, und daher wird eine sich regenerierende Pflanze benötigt. Verfahren zum Erhalten von sich regenerierenden Pflanzen sind beschrieben worden. Zum Beispiel können diese aus dem Kultivar Rangelander (Agriculture Canada) oder einer beliebigen anderen kommerziellen Luzerne-Varietät ausgewählt werden, wie es durch Brown, DCW, und A. Atanassov (1985, Plant Cell Tissue Organ Culture 4: 111–112) beschrieben wurde. Alternativ dazu ist die RA3-Varietät (University of Wisconsin) zur Verwendung in der Gewebekultur ausgewählt worden (Walker et al., 1978, Am. J. Bot. 65: 654–659). Blattstiel-Explantate werden mit einer Übernachtskultur von *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 pMP90 (McKersie et al., 1999 Plant Physiol. 119: 839–847) oder LBA4404, enthaltend den Expressionsvektor, kokultiviert. Die Explantate werden drei Tage lang im Dunkeln auf SH-Induktionsmedium kokultiviert, welches 288 mg/l Pro, 53 mg/l Thio-prolin, 4,35 g/l K₂SO₄ und 100 µm Acetosyringinon enthält. Die Explantate werden in Murashige-Skoog-Medium von halber Stärke (Murashige und Skoog, 1962) gewaschen und auf dem gleichen SH-Induktionsmedium ohne Acetosyringinon, aber mit einem geeigneten Selektionsmittel und einem geeigneten Antibiotikum zum Inhibieren des *Agrobacterium*-Wachstums ausplattiert. Nach einigen Wochen werden somatische Embryos auf BOi2Y-Entwicklungsmedium, das keine Wachstumsregulatoren, keine Antibiotika sowie 50 g/l Saccharose enthält, überführt. Somatische Embryos werden anschließend auf Murashige-Skoog-Medium von halber Stärke keimen gelassen. Bewurzelte Setzlinge wurden in Blumentöpfe umgepflanzt und in einem Gewächshaus

wachsen gelassen. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Baumwolle

[0508] Baumwolle wird unter Verwendung von *Agrobacterium tumefaciens* gemäß dem in US 5,159,135 beschriebenen Verfahren transformiert. Die Baumwollsaamen werden 20 Minuten lang in 3%iger Natriumhypochloritlösung oberflächensterilisiert und in destilliertem Wasser mit 500 µg/ml Cefotaxim gewaschen. Die Samen werden dann für die Keimung in SH-Medium mit 50 µg/ml Benomyl überführt. Hypokotyle von 4 bis 6 Tage alten Setzlingen werden entfernt, in Stücke von 0,5 cm geschnitten und auf 0,8%igen Agar platziert. Eine *Agrobacterium*-Suspension (ungefähr 108 Zellen pro ml, verdünnt aus einer Übernachtskultur, transformiert mit dem Gen von Interesse und geeigneten Selektionsmarkern) wird für die Inokulation der Hypokotyl-Explantate verwendet. Nach 3 Tagen bei Raumtemperatur und Beleuchtung überführt man die Gewebe auf ein festes Medium (1,6 g/l Gelrite) mit Murashige-und-Skoog-Salzen mit B5-Vitaminen (Gamborg et al., Exp. Cell Res. 50: 151–158 (1968)), 0,1 mg/l 2,4-D, 0,1 mg/l 6-Furfurylaminopurin und 750 µg/ml MgCl₂ sowie mit 50 bis 100 µg/ml Cefotaxim und 400–500 µg/ml Carbenicillin zum Abtöten restlicher Bakterien. Individuelle Zelllinien werden nach zwei bis drei Monaten (mit Unterkulturen alle vier bis sechs Wochen) isoliert und werden auf selektivem Medium zur Gewebeerzeugung weiter kultiviert (30°C, 16 h Lichtperiode). Transformierte Gewebe werden anschließend auf nicht-selektivem Medium 2 bis 3 Monate lang weiter kultiviert, was zur Entstehung von somatischen Embryos führt. Gesund aussehende Embryos von mindestens 4 mm Länge werden in Röhrchen mit SH-Medium in feinem Vermiculit, das mit 0,1 mg/l Indoleessigsäure, 6-Furfurylaminopurin und Gibberellinsäure ergänzt ist, überführt. Die Embryos werden bei 30°C mit einer Lichtperiode von 16 h kultiviert, und Pflänzchen im 2- bis 3-Blattstadium werden in Blumentöpfe mit Vermiculit und Nährstoffen überführt. Die Pflanzen werden gehärtet und anschließend für die weitere Kultivierung ins Gewächshaus verbracht.

Beispiel 10: Vorgehen bei der phänotypischen Auswertung

1. Auswertungsansatz

[0509] Ungefähr 35 unabhängige T0-Reis-Transformanten wurden erzeugt. Die primären Transformanten wurden aus einer Gewebekulturkammer in ein Gewächshaus zum Kultivieren und Ernten von T1-Samen überführt. Sechs Ereignisse, bei denen die T1-Nachkommenschaft hinsichtlich Gegenwart/Abwesenheit des Transgens bei 3:1 segregierte, wurden beibehalten. Für jedes dieser Ereignisse wurden ungefähr 10 T1-Setzlinge, enthaltend das Transgen (Hetero- und Homozygote), und ungefähr 10 T1-Setzlinge, denen das Transgen fehlte (Nullizygote), durch Überwachen der Expression des sichtbaren Markers selektiert. Die transgenen Pflanzen und die entsprechenden Nullizygoten wurden an zufälligen Positionen Seite an Seite wachsen gelassen. Die Gewächshausbedingungen bestanden aus kurzen Tagen (12 Stunden Licht), 28°C im Licht und 22°C im Dunkeln sowie einer relativen Feuchtigkeit von 70%. Pflanzen, welche unter Nichtstressbedingungen wachsen gelassen wurden, wurden in regelmäßigen Intervallen bewässert, um sicherzustellen, dass Wasser und Nährstoffe nicht limitierend sind, und um die Bedürfnisse der Pflanze zum Abschließen von Wachstum und Entwicklung zu erfüllen.

[0510] Vom Stadium des Aussäens bis zum Stadium der Reife wurden die Pflanzen mehrmals durch eine digitale Bilderzeugungs-Kammer hindurchgeleitet. An jedem Zeitpunkt wurden Digitalbilder (2048×1536 Pixel, 16 Millionen Farben) von jeder Pflanze aus mindestens 6 verschiedenen Winkeln aufgenommen.

[0511] T1-Ereignisse können unter Befolgen desselben Auswertungsvorgehens wie für die T1-Generation, z. B. mit weniger Ereignissen und/oder mit mehr Individuen pro Ereignis, in der T2-Generation weiter ausgewertet werden.

Dürre-Screen

[0512] Pflanzen aus T2-Samen werden in Blumentopferde unter normalen Bedingungen wachsen gelassen, bis sie sich dem Stadium des Ähren/Rispenschiebens näherten. Sie werden dann in einen "Trocken"-Bereich überführt, in welchem die Bewässerung weggelassen wird. Zur Überwachung des Bodenwassergehalts (SWC) werden Feuchtigkeitssonden in zufällig ausgewählte Blumentöpfe gesteckt. Fällt der SWC unter bestimmte Schwellenwerte, so werden die Pflanzen automatisch wieder fortwährend bewässert, bis erneut ein normaler Spiegel erreicht wird. Die Pflanzen werden dann zurück zu normalen Bedingungen überführt. Der Rest der Kultivierung (Pflanzenreife, Samenernte) ist der gleiche wie bei Pflanzen, die nicht unter abiotischen Stress-

bedingungen herangezogen werden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

Screen der Stickstoffausnutzungseffizienz

[0513] Reispflanzen aus T2-Samen werden in Blumentöpfe unter normalen Bedingungen wachsen gelassen, mit Ausnahme der Nährstofflösung. Die Blumentöpfe werden vom Umpflanzen bis zur Reifung mit einer spezifischen Nährstofflösung bewässert, welche einen verringerten N Stickstoff(N)-Gehalt enthält, üblicherweise zwischen 7- bis 8-mal weniger. Der Rest der Kultivierung (Pflanzenreife, Samenernte) ist der gleiche wie für Pflanzen, die nicht unter abiotischem Stress wachsen gelassen wurden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

Salzstress-Screen

[0514] Pflanzen wurden auf einem Substrat wachsen gelassen, das aus Kokosfasern und Argex (Verhältnis 3 zu 1) hergestellt ist. Eine normale Nährstofflösung wurde während der ersten zwei Wochen nach dem Umpflanzen der Pflänzchen in das Gewächshaus verwendet. Nach den ersten zwei Wochen wurden der Nährstofflösung 25 mM Salz (NaCl) zugesetzt, bis die Pflanzen geerntet wurden. Dann wurden samenbezogene Parameter gemessen.

2. Statistische Analyse: F-Test

[0515] Eine Zwei-Faktor-ANOVA (Analyse von Varianten) wurde als ein statistisches Modell für die Gesamtauswertung von phänotypischen Pflanzenmerkmalen verwendet. Ein F-Test wurde bei allen gemessenen Parametern von allen Pflanzen aller Ereignisse, die mit dem Gen der vorliegenden Erfindung transformiert waren, durchgeführt. Der F-Test wurde durchgeführt, um eine Prüfung hinsichtlich eines Effekts des Gens über alle Transformationsereignisse hinweg vorzunehmen und einen Gesamteffekt des Gens, ebenfalls bekannt als globaler Geneffekt, zu bestätigen. Der Schwellenwert für Signifikanz für einen echten globalen Geneffekt wurde bei einer 5%-Wahrscheinlichkeitsstufe für den F-Test festgesetzt. Ein signifikanter F-Testwert deutet auf einen Geneffekt hin, was heißt, dass es nicht nur die bloße Gegenwart oder Position des Gens ist, welche die Unterschiede beim Phänotyp verursacht.

3. Gemessene Parameter

[0516] Vom Stadium des Aussäens bis zum Stadium der Reife wurden die Pflanzen mehrmals durch eine digitale Bilderzeugungs-Kammer hindurchgeleitet. An jedem Zeitpunkt wurden Digitalbilder (2048×1536 Pixel, 16 Millionen Farben) von jeder Pflanze aus mindestens 6 verschiedenen Winkeln aufgenommen, wie in WO2010/031780 beschrieben. Mit diesen Messungen wurden verschiedene Parameter bestimmt.

Messung von biomassebezogenen Parametern

[0517] Die oberirdische Pflanzenfläche (oder blattartige Biomasse) wurde durch Zählen der Gesamtzahl an Pixeln auf den Digitalbildern von oberirdischen Pflanzenteilen, die sich vom Hintergrund unterscheiden lassen, bestimmt. Dieser Wert wurde für die Bilder gemittelt, welche zum gleichen Zeitpunkt aus den unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, und wurde durch Kalibrierung in einen physikalischen Oberflächenwert umgewandelt, der in Quadratmillimetern ausgedrückt wird. Experimente zeigen, dass die auf diese Weise gemessene oberirdische Pflanzenfläche mit der Biomasse der oberirdischen Pflanzenteile korreliert. Die oberirdische Fläche ist die Fläche, welche an dem Zeitpunkt gemessen wird, an dem die Pflanze ihre maximale Blatt-Biomasse erreicht hatte. Die Jungpflanzenvitalität ist die oberirdische Pflanzen(Setzlings)-Fläche drei Wochen nach der Keimung. Die Erhöhung der Wurzelbiomasse wird als eine Erhöhung der Gesamtwurzelbiomasse (gemessen als das Maximum der Biomasse von Wurzeln, das während der Lebensdauer einer Pflanze beobachtet wird); oder als eine Erhöhung im Wurzel/Spross-Index (gemessen als das Verhältnis zwischen Wurzelmasse und Sprossmasse in der Periode des aktiven Wachstums von Wurzel und Spross) ausgedrückt.

Mit der Entwicklungszeit in Zusammenhang stehende Parameter

[0518] Die Jungpflanzenvitalität ist die oberirdische Pflanzen(Setzlings)-Fläche drei Wochen nach der Keimung. Die Jungpflanzenvitalität wurde durch Zählen der Gesamtzahl an Pixeln von oberirdischen Pflanzenteilen, welche sich vom Hintergrund unterscheiden lassen, bestimmt. Dieser Wert wurde für die Bilder gemittelt, welche zum gleichen Zeitpunkt aus unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, und wurde durch

Kalibrierung in einen physikalischen Oberflächenwert umgewandelt, der in Quadratmillimetern ausgedrückt wird.

[0519] AreaEmer gibt einen Hinweis auf eine schnelle Frühentwicklung (wenn diese im Vergleich zu Kontrollpflanzen vermindert ist). Hierbei handelt es sich um das Verhältnis (ausgedrückt in %) zwischen der Zeit, die eine Pflanze benötigt, um 30% der Endbiomasse zu produzieren, und der Zeit, die eine Pflanze benötigt, um 90% der Endbiomasse zu produzieren.

[0520] Die "Blütezeit" der Pflanze lässt sich unter Anwendung des in WO 2007/093444 beschriebenen Verfahrens bestimmen.

Messungen von samenbezogenen Parametern

[0521] Die reifen Hauptrispen wurden geerntet, gezählt, eingetütet, mit einem Strichcode etikettiert und dann drei Tage lang in einem Ofen bei 37°C getrocknet. Die Rispen wurden dann gedroschen, und alle Samen wurden gesammelt und gezählt. Die gefüllten Hülsen wurden von den leeren Hülsen unter Verwendung einer Luftgebläsevorrichtung getrennt. Die leeren Hülsen wurden verworfen, und die verbleibende Fraktion wurde erneut gezählt. Die gefüllten Hülsen wurden auf einer Analysewaage gewogen. Die Anzahl an gefüllten Samen wird durch Zählen der Anzahl an gefüllten Hülsen bestimmt, welche nach dem Trennungsschritt verblieb. Der Gesamtsamenertrag wurde durch Wiegen aller von einer Pflanze abgeernteten gefüllten Hülsen gemessen. Die Gesamtsamenzahl pro Pflanze wurde durch Zählen der Anzahl der von einer Pflanze geernteten Hülsen gemessen. Das Tausendkerngewicht (TKW) wird aus der gezählten Anzahl gefüllter Samen und ihrem Gesamtgewicht extrapoliert. Der Ernteindex (Harvest Index, HI) ist in der vorliegenden Erfindung definiert als das Verhältnis zwischen dem Gesamtsamenertrag und der oberirdischen Fläche (mm²), multipliziert mit einem Faktor von 10⁶. Die Gesamtzahl an Blüten pro Rispe, wie in der vorliegenden Erfindung definiert, ist das Verhältnis zwischen der Gesamtzahl an Samen und der Anzahl an reifen Hauptrispen. Die Samenfüllrate, wie in der vorliegenden Erfindung definiert, ist der Anteil (ausgedrückt als ein %-Wert) der Anzahl gefüllter Samen gegenüber der Gesamtzahl an Samen (oder Blütchen).

[0522] Die Wurzelbiomasse lässt sich nach der in WO 2006/029987 beschriebenen Methode bestimmen.

Beispiel 11: Ergebnisse der phänotypischen Auswertung der transgenen Pflanzen

1. "Loss of timing of ET and JA biosynthesis 1"-(LEJ1)-Polypeptide

[0523] Die Ergebnisse der Untersuchung von transgenen Reispflanzen, die eine für das LEJ1-Polypeptid von SEQ ID NR: 2 codierende Nukleinsäure enthalten und unter Nichtstressbedingungen exprimieren, sind unten gezeigt. Bei der Füllrate und dem Ernteindex wurde eine Zunahme von mehr als 5% beobachtet.

Tabelle E1: Zusammenfassung der Daten für transgene Reispflanzen; bei allen Parametern ist die prozentuale Gesamtzunahme für die Bestätigung (T2-Generation) gezeigt, bei allen Parametern ist der p-Wert < 0,05.

Parameter	Gesamtzunahme
fillrate	15,6
harvestindex	11,9

[0524] Darüber hinaus zeigten 2 eine LEJ1-Nukleinsäure exprimierende Linien eine schnellere Wachstumsrate (geringere AreaEmer) und eine andere Linie zeigte eine erhöhte Biomasse (größere Höhe (HeightMax und GravityYMax) und erhöhtes Wurzelwachstum (RootThickMax)).

2. ExbB-Polypeptide

Ergebnisse der phänotypischen Bewertung der transgenen Reispflanzen, die die für ein ExbB-Polypeptid unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors codierende Nukleinsäuresequenz umfassen

[0525] Die Ergebnisse der Auswertung von transgenen Reispflanzen in der T1-Generation, die eine Nukleinsäure, umfassend das längste offene Leseraster in SEQ ID NR: 211, unter Nichtstressbedingungen exprimieren

ren, sind unten gezeigt. Bezüglich der Einzelheiten zu den Generationen der transgenen Pflanzen, siehe die obigen Beispiele.

[0526] Die Ergebnisse der Auswertung von transgenen Reispflanzen in der T1-Generation, die eine Nukleinsäure, die für das ExbB-Polypeptid von SEQ ID NR: 212 codiert, unter Anwendung des pGOS2::ExbB-Vektors unter Nichtstressbedingungen exprimieren, sind unten gezeigt. Bei einer Kultivierung unter Nichtstressbedingungen wurde eine Zunahme von mindestens 5% bei der Anzahl an gefüllten Samen, d. h. der Füllrate, beobachtet (siehe Tabelle E2). Weiterhin zeigten die transgenen Pflanzen in 1 Linie auch beim Gesamtsamengewicht, der Anzahl an gefüllten Samen und dem Ernteindex eine signifikante Zunahme, d. h. eine Zunahme von mehr als 5% und einen p-Wert von $< 0,05$. Zwei andere Linien zeigten einen positiven Trend, d. h. eine Zunahme von mehr als 5%, jedoch einen p-Wert von $> 0,05$, beim Gesamtsamengewicht und beim Ernteindex.

Tabelle E2: Zusammenfassung der Daten für transgene Reispflanzen; bei allen Parametern ist die prozentuale Gesamtzunahme für die T1-Generation gezeigt, bei allen Parametern ist der p-Wert $< 0,05$.

Parameter	Gesamtzunahme
fillrate	13,3

Ergebnisse der phänotypischen Bewertung der transgenen Reispflanzen, die die für ein ExbB-Polypeptid unter der Kontrolle eines wurzelspezifischen Promotors codierende Nukleinsäuresequenz umfassen

[0527] Die Ergebnisse der Auswertung von transgenen Reispflanzen in der T1-Generation, die eine Nukleinsäure, umfassend das längste offene Leseraster in SEQ ID NR: 211, unter Nichtstressbedingungen exprimieren, sind unten gezeigt. Bezüglich der Einzelheiten zu den Generationen der transgenen Pflanzen, siehe die obigen Beispiele.

[0528] Die Ergebnisse der Auswertung von transgenen Reispflanzen in der T1-Generation, die eine Nukleinsäure, die für das ExbB-Polypeptid von SEQ ID NR: 212 codiert, unter Anwendung des pRs::ExbB-Vektors unter Nichtstressbedingungen exprimieren, sind unten gezeigt. Bei einer Kultivierung unter Nichtstressbedingungen wurde eine Zunahme von mindestens 5% bei der Anzahl an gefüllten Samen, d. h. der Füllrate, beobachtet (siehe Tabelle E3). Weiterhin zeigten die transgenen Pflanzen in 2 Linien auch beim Tausendkerngewicht, das auch als TKW bezeichnet wird, eine signifikante Zunahme, d. h. eine Zunahme von mehr als 5% und einen p-Wert von $< 0,05$. 1 Linie der eine erhöhte Füllrate zeigenden transgenen Linien zeigte außerdem einen signifikant höheren Ernteindex. 3 Linien der eine erhöhte Füllrate zeigenden transgenen Linien zeigten außerdem einen positiven Trend bei der Anzahl an gefüllten Samen und der Jungpflanzenvitalität. Zwei andere Linien zeigten einen positiven Trend, d. h. eine Zunahme von mehr als 5%, jedoch einen p-Wert von $> 0,05$, beim Ernteindex.

Tabelle E3: Zusammenfassung der Daten für transgene Reispflanzen; bei allen Parametern ist die prozentuale Gesamtzunahme für die T1-Generation gezeigt, bei allen Parametern ist der p-Wert $< 0,05$.

Parameter	Gesamtzunahme
fillrate	8,8

3. NMPRT-Polypeptide

[0529] Die Ergebnisse der Auswertung von transgenen Reispflanzen in der T1-Generation, die eine SEQ ID NR: 281 umfassende Nukleinsäure unter Nichtstressbedingungen exprimieren, sind unten gezeigt. Bezüglich der Einzelheiten zu der Erzeugung der transgenen Pflanzen, siehe oben.

[0530] Eine Zunahme von mehr als 5% (bei einem p-Wert von $p < 0,05$) bei den transgenen Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen wurde bei mehreren Parametern einschließlich Wurzel-/Sprossindex, Gesamtsamenertrag, Füllrate, Anzahl an Blüten pro Rispe, Anzahl an gefüllten Samen und von mehr als 3% (bei einem p-Wert von $p < 0,05$) beim Tausendkerngewicht gefunden. Die Füllrate zeigt die Füllung der Samen und ist das Verhältnis (ausgedrückt in %) der Anzahl an gefüllten Samen geteilt durch die Anzahl an Einzelblüten.

[0531] Die Ergebnisse eines Experiments sind hier in Tabelle E4 wiedergegeben.

Tabelle E4: Zusammenfassung der Daten für transgene Reispflanzen; bei allen Parametern ist die prozentuale Gesamtzunahme (T1-Generation) gezeigt, bei allen Parametern ist der p-Wert < 0,05.

Parameter	Gesamtzunahme im Vergleich zu Kontrollpflanzen
Füllrate	14,2
Blüten pro Rispe	7,3
Tausendkerngewicht	4
Wurzel-/Sprossindex	5,3

[0532] Es wurde eine Zunahme beim Wurzel-/Sprossindex, der Füllrate, der Anzahl an Blüten pro Rispe und beim Tausendkerngewicht (TKW) beobachtet. Bei einem Ereignis zeigten transgene Pflanzen sogar eine Zunahme von 34% beim Gesamtsamenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und eine Zunahme von 35% bei der Anzahl an gefüllten Samen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Beispiel 12: Identifikation der mit SEQ ID NR: 328 und SEQ ID NR: 329 verwandten Sequenzen

[0533] Sequenzen (vollständige cDNA, ESTs oder genomisch), die mit SEQ ID NR: 328 und SEQ ID NR: 329 verwandt sind, wurden unter denjenigen, welche in der "Entrez Nucleotides"-Datenbank am National Center for Biotechnology Information (NCBI) bereitgehalten werden, mit Hilfe von Datenbank-Sequenzsuchwerkzeugen wie etwa dem Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 und Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402) identifiziert. Das Programm wird eingesetzt, um Regionen mit lokaler Ähnlichkeit zwischen Sequenzen durch Vergleichen von Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenzen mit Sequenzdatenbanken und durch Berechnen der statistischen Signifikanz von Übereinstimmungen zu finden. So wurde zum Beispiel das von der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 328 codierte Polypeptid für den TBLASTN-Algorithmus verwendet, mit Standardvorgaben und abgeschaltetem Filter zum Ignorieren von Sequenzen geringer Komplexität. Das Analyse-Ergebnis wurde mittels paarweisem Vergleich betrachtet und gemäß der Wahrscheinlichkeitswertung (E-Wert) eingestuft, wobei die Wertung die Wahrscheinlichkeit widerspiegelt, dass ein jeweiliges Alignment rein zufällig auftritt (je niedriger der E-Wert, umso signifikanter ist der Übereinstimmungstreffer). Zusätzlich zu E-Werten wurden Vergleiche auch durch den Prozentsatz der Identität bewertet. Der Prozentsatz der Identität bezieht sich auf die Zahl an identischen Nukleotiden (oder Aminosäuren) zwischen den zwei verglichenen Nukleinsäuresequenzen (oder Polypeptidsequenzen) über eine bestimmte Länge hinweg. In einigen Fällen lassen sich die Vorgabeparameter anpassen, um die Stringenz der Suche zu modifizieren. Zum Beispiel kann man den E-Wert erhöhen, so dass weniger stringente Übereinstimmungen angezeigt werden. Auf diese Weise lassen sich kurze, fast exakte Übereinstimmungen identifizieren.

[0534] Tabelle F stellt eine Liste von Nukleinsäuresequenzen bereit, die mit SEQ ID NR: 328 und SEQ ID NR: 329 verwandt sind.

Tabelle F: Beispiele für AP2-26-ähnliche Nukleinsäuren und Polypeptide:

Ursprungspflanze	Nukleinsäure-SEQ ID NR:	Protein-SEQ ID NR:
LOC_Os08g31580 (AP2-26 SEQ ID NR: 329)	328	329
A.thaliana_AT1G78080.1#1	330	331
B.napus_TC65671#1	332	333
B.napus_TC90095#1	334	335
B.napus_TC92126#1	336	337
G.max_GM06MC30458_sf81e08@29754#1	338	339
H.vulgare_TC185981#1	340	341
O.sativa_LOC_Os02g51670.1#1	342	343
O.sativa_LOC_Os09g20350.1#1	344	345
P.trichocarpa_798748#1	346	347
P.trichocarpa_scaff_V.168#1	348	349

P.trichocarpa_TC99525#1	350	351
T.aestivum_c50843809@10011#1	352	353
T.aestivum_TC277143#1	354	355
T.aestivum_TC300618#1	356	357
T.aestivum_TC315204#1	358	359
Z.mays_TA17892_4577999#1	360	361
Z.mays_TC478294#1	362	363
Z.mays_TC488418#1	364	365
Z.mays_TC501784#1	366	367
Zea_mays_GRMZM2G003466_T01#1	368	369
Zea_mays_GRMZM2G039870_T01#1	370	371
Zea_mays_GRMZM2G061487_T01#1	372	373
Zea_mays_GRMZM2G061487_T02#1	374	375
Zea_mays_GRMZM2G113060_T01#1	376	377

[0535] Sequenzen sind durch Forschungsinstitutionen, wie The Institute for Genomic Research (TIGR; beginnend mit TA), provisorisch zusammengetragen und öffentlich zugänglich gemacht worden. Mit der Datenbank "Eukaryotic Gene Orthologs" (EGO) zum Beispiel lassen sich derartige verwandte Sequenzen entweder durch Stichwort-Suche oder durch Anwendung des BLAST-Algorithmus mit der Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenz von Interesse identifizieren. Spezielle Nukleinsäuresequenz-Datenbanken wurden für bestimmte Organismen, z. B. bestimmte prokaryotische Organismen, erzeugt, wie etwa vom Joint Genome Institute. Weiterhin hat der Zugang zu nicht öffentlichen Datenbanken die Identifizierung neuer Nukleinsäure- und Polypeptidsequenzen ermöglicht.

Beispiel 13: Alignment von AP2 26-ähnlichen Polypeptidsequenzen

[0536] Das Alignment der Polypeptidsequenzen erfolgte unter Anwendung des ClustalW 2.0-Algorithmus für fortschreitendes Alignment (Thompson et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 4876–4882; Chenna et al. (2003). *Nucleic Acids Res.* 31: 3497–3500) mit Standardeinstellungen (langsames Alignment, Ähnlichkeitsmatrix: Gonnet, Gap Opening Penalty 10, Gap Extension Penalty: 0,2). Zur weiteren Optimierung des Alignments wurde eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt. Die AP2-26-ähnlichen Polypeptide sind in der [Fig. 16](#) aligniert.

[0537] Ein phylogenetischer Baum der AP2-26-ähnlichen Polypeptide ([Fig. 17](#)) wurde durch Alignieren von AP2-26-ähnlichen Sequenzen mit MAFFT (Kato und Toh (2008) *Briefings in Bioinformatics* 9: 286–298) erstellt. Ein Neighbour-joining-Baum wurde mit Quick-Tree berechnet (Howe et al. (2002), *Bioinformatics* 18(11): 1546–7), 100 Bootstrap-Wiederholungen. Das Dendrogramm wurde mit Dendroscope erstellt (Huson et al. (2007), *BMC Bioinformatics* 8(1): 460). Für größere Verzweigungen sind die Konfidenzniveaus für 100 Bootstrap-Wiederholungen angegeben.

Beispiel 14: Berechnung der globalen prozentualen Identität zwischen Polypeptidsequenzen

[0538] Globale Prozentsätze der Ähnlichkeit und Identität zwischen Vollängen-Polypeptidsequenzen, die in der Ausführung der Verfahren der Erfindung nützlich sind, wurden unter Anwendung eines der im Fachgebiet verfügbaren Verfahren bestimmt, nämlich der MatGAT(Matrix Global Alignment Tool)-Software (BMC *Bioinformatics*. 2003 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. Campanella JJ, Bitincka L, Smalley J; Software wurde bereitgestellt von Ledion Bitincka). Die MatGAT-Software erzeugt Ähnlichkeits-/Identitäts-Matrizen für DNA- oder Proteinsequenzen, ohne dass ein Voralignment der Daten benötigt wird. Das Programm führt eine Serie von paarweisen Alignments unter Anwendung des "Myers and Miller-Global-Alignment-Algorithmus (mit einem Gap Opening Penalty von 12 und einem Gap Extension Penalty von 2) durch, berechnet Ähnlichkeit und Identität zum Beispiel mit Hilfe der Blossum 62 (für Polypeptide) und platziert die Ergebnisse dann in einer Distanzmatrix.

[0539] Ergebnisse der Analyse sind in **Fig. 18** für die globale Ähnlichkeit und Identität über die volle Länge der Polypeptidsequenzen hinweg gezeigt. Sequenzähnlichkeit ist in der Hälfte unter der Trennlinie gezeigt, und Sequenzidentität ist in der Hälfte oberhalb der diagonalen Trennlinie gezeigt. Die im Vergleich verwendeten Parameter waren: Wertungsmatrix: Blossum62, First Gap: 12, Extending Gap: 2. Die Sequenzidentität (in %) zwischen den für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeigneten AP2-26-ähnlichen Polypeptidsequenzen können, verglichen mit der SEQ ID NR: 329, bei lediglich 36 liegen.

Beispiel 15: Identifizierung von Domänen, die in Polypeptidsequenzen enthalten sind, die sich für die Durchführung der Verfahren der Erfindung eignen

[0540] Die "Integrated Resource of Protein Families, Domains and Sites"(InterPro)-Datenbank ist eine integrierte Schnittstelle für die üblicherweise verwendeten Signaturdatenbanken für text- und sequenzbasierte Suchläufe. Die InterPro-Datenbank kombiniert diese Datenbanken, welche verschiedene Methodologien und unterschiedliche Klassen von biologischen Informationen über gut charakterisierte Proteine verwenden, um Proteinsignaturen abzuleiten. Zu kollaborierenden Datenbanken zählen SWISS-PROT, PROSITE, TrEMBL, PRINTS, ProDom und Pfam, Smart und TIGRFAMs. Bei Pfam handelt es sich um eine große Sammlung von Mehrfach-Sequenzalignments und Hidden-Markov-Modellen, die viele herkömmliche Proteindomänen und -familien umfasst. Pfam wird am Server des Sanger Institute im Vereinigten Königreich gehostet. Interpro wird am European Bioinformatics Institute im Vereinigten Königreich gehostet.

[0541] Die Ergebnisse des InterPro-Scans (InterPro-Datenbank, Version 28) der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 329 sind in der Tabelle G aufgeführt.

Tabelle G: Ergebnisse des InterPro-Scans
(Hauptzugangsnummern) der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 329.

Datenbank	Zugangsnummer	Zugangsname	Aminosäurekoordinaten auf SEQ ID NR: 329
Prints	PR00367	ETHRSPELEMNT	T[104–115] T[126–142]
Gene3D	G3DSA:3.30.730.10	TF_ERF	T[102–163]
Pfam	PF00847	AP2	T[104–152]
Smart	SM00380	AP2	T[103–166]
Profile	PS51032	AP2_ERF	T[103–160]
Superfamilie	SSF54171	DNA-binding_integrase-type	T[102–163]

[0542] Gemäß einer Ausführungsform umfasst ein AP2-26-ähnliches Polypeptid eine konservierte Domäne (oder ein konserviertes Motiv) mit mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einer konservierten Domäne von Aminosäure 104 bis 152 in SEQ ID NR: 329).

Beispiel 16: Topologievorhersage für die AP2-26-ähnlichen Polypeptidsequenzen

[0543] TargetP 1.1 sagt die subzelluläre Lokalisierung von eukaryotischen Proteinen voraus. Die Lagebestimmung basiert auf der vorhergesagten Gegenwart von einer beliebigen der N-terminalen Präsequenzen: Chloroplasten-Transit-Peptid (cTP), mitochondriales Targeting-Peptid (mTP) oder Sekretorischer-Pfad-Signalpeptid (SP). Wertungen, auf welchen die endgültige Vorhersage beruht, sind nicht wirklich Wahrscheinlichkeiten, und sie addieren sich nicht notwendigerweise zu 1. Allerdings ist die Lokalisierung mit der höchsten Bewertung gemäß TargetP am wahrscheinlichsten, und die Beziehung zwischen den Wertungen (die Zuverlässigkeitsklasse) kann eine Angabe sein, wie sicher die Vorhersage ist. Die Zuverlässigkeitsklasse bzw. "Reliability Class" (RC) liegt im Bereich von 1 bis 5, wobei 1 die stärkste Vorhersage anzeigt. TargetP wird am Server der Technischen Universität Dänemark (Technical University of Denmark) bereitgehalten.

[0544] Für die Sequenzen, welche laut Vorhersage eine N-terminale Präsequenz enthalten, kann ebenfalls eine potenzielle Spaltungstelle vorhergesagt werden.

[0545] Eine Anzahl von Parametern wurde ausgewählt, wie etwa Organismengruppe (Nicht-Pflanze oder Pflanze), Ausschlussbedingungen (keine, vordefinierter Satz von Ausschlussbedingungen oder benutzerspe-

zifizierter Satz von Ausschlussbedingungen) sowie die Berechnung der Vorhersage von Spaltungsstellen (Ja oder Nein).

[0546] Die Ergebnisse der TargetP 1.1-Analyse der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 329 sind in Tabelle H aufgeführt. Die Organismengruppe "Pflanze" wurde gewählt, es wurden keine Ausschlussbedingungen definiert, und die vorhergesagte Länge des Transitpeptids wurde angefordert. Bei der subzellulären Lokalisierung der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 329 kann es sich um das Zytoplasma oder den Zellkern handeln, wobei kein Transitpeptid vorhergesagt wird.

Tabelle H: TargetP 1.1-Analyse der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 329. Abkürzungen: Len, Länge; cTP, chloroplastisches Transitpeptid; mTP, mitochondriales Transitpeptid, SP, Signalpeptid für einen sekretorischen Pfad, andere, anderes subzelluläres Ziel, Loc, vorhergesagte Lokalisierung; RC, Verlässlichkeitsklasse; TPlen, vorhergesagte Länge des Transitpeptids.

Name	Len	cTP	mTP	SP	andere	Loc	RC	TPlen
SEQ ID NO: 2	280	0.399	0.076	0.035	0.684	-	4	-
Ausschlussbedingung		0,000	0,000	0,000	0,000			

[0547] Es können viele andere Algorithmen zur Durchführung derartiger Analysen verwendet werden, einschließlich:

- ChloroP 1.1, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- Protein Prowler Subcellular Localisation Predictor Version 1.2, bereitgehalten auf dem Server des Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Brisbane, Australien;
- PENCE Proteome Analyst PA-GOSUB 2.5, bereitgehalten auf dem Server der University of Alberta, Edmonton, Alberta, Kanada;
- TMHMM, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- PSORT (URL: psort.org)
- PLOC (Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003).

Beispiel 17: Funktionsassay für das AP2-26-ähnliche Polypeptid

[0548] Sakuma et al. (Bioch. Biophys. Res. Comm. 290: 998–1009, 2002) beschreiben einen Gelmobilitätsassay zur Untersuchung der Funktionalität von AP2/ERF-Domänen bei DREB-Transkriptionsfaktoren. Der Fachmann ist mit Methoden zur Untersuchung der DNA-Bindungsaktivität von Transkriptionsfaktoren sowie ihrer Fähigkeit zum Fördern der Transkription vertraut.

Beispiel 18: Klonieren der für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäuresequenz

[0549] Die für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäuresequenz wurde nach Standardvorschriften isoliert und in einen Gateway®-Eingangsvektor kloniert.

[0550] Der die SEQ ID NR: 328 umfassende Eingangsklon wurde dann in einer LR-Reaktion mit einem Zielvektor für die Transformation von *Oryza sativa* eingesetzt. Dieser Vektor enthielt als Funktionselemente innerhalb der T-DNA-Grenzen: einen pflanzlichen Selektionsmarker; eine screenbare Markerexpressionskassette; sowie eine Gateway-Kassette, die für die LR-in-vivo-Rekombination mit der interessierenden Nukleinsäuresequenz, die bereits in den Eingangsklon kloniert wurde, vorgesehen ist. Ein Reis-RCc3-Promotor (SEQ ID NR: 382) für die wurzelspezifische Expression befand sich stromaufwärts von dieser Gateway-Kassette. Nach dem LR-Rekombinationsschritt wurde der erhaltene Expressionsvektor pRCc3::AP2-26-like ([Fig. 19](#)) nach im Stand der Technik gut bekannten Methoden in den *Agrobacterium*-Stamm LBA4044 transformiert. Auf ähnliche Weise wurde die für das AP2-26-ähnliche Polypeptid codierende Nukleinsäuresequenz in einen Zielvektor mit dem GOS2-Promotor aus Reis kloniert und in *Agrobacterium* transformiert.

Beispiel 19: Pflanzentransformation

Reistransformation:

[0551] Das *Agrobacterium*, welches den Expressionsvektor enthielt, wurde zum Transformieren von *Oryza sativa*-Pflanzen verwendet. Reife trockene Samen des Reis-Japonica-Kultivars Nipponbare wurden einer Ent-

hülung unterzogen. Die Sterilisierung wurde durch Inkubieren während einer Minute in 70% Ethanol, gefolgt von 30 Minuten in 0,2% HgCl_2 , gefolgt von sechsmaligem 15-minütigem Waschen mit sterilem destilliertem Wasser, durchgeführt. Die sterilen Samen wurden dann auf einem Medium keimen gelassen, welches 2,4-D enthielt (Callus-Induktionsmedium). Nach vierwöchiger Inkubation im Dunkeln wurden embryogene, vom Scutellum abgeleitete Calli herausgeschnitten und auf dem gleichen Medium vermehrt. Nach zwei Wochen wurden die Calli durch Subkultivieren auf dem gleichen Medium weitere 2 Wochen lang vervielfältigt oder vermehrt. Embryogene Callus-Stücke wurden 3 Tage vor der Cokultivierung auf frischem Medium subkultiviert (zur Steigerung der Zellteilungsaktivität).

[0552] Der Agrobacterium-Stamm LBA4404, welcher den Expressionsvektor enthielt, wurde für die Co-Kultivierung verwendet. Agrobacterium wurde auf AB-Medium mit den entsprechenden Antibiotika inokuliert und 3 Tage lang bei 28°C kultiviert. Die Bakterien wurden dann gesammelt und in einem flüssigen Cokultivierungsmedium in einer Dichte (OD_{600}) von etwa 1 suspendiert. Die Suspension wurde dann in eine Petrischale überführt und die Calli wurden 15 Minuten lang in die Suspension eingetaucht. Die Callusgewebe wurden dann auf einem Filterpapier trocken getupft und auf verfestigtes Cokultivierungsmedium überführt und 3 Tage lang im Dunkeln bei 25°C inkubiert. Cokultivierte Calli wurden auf 2,4-D-enthaltendem Medium 4 Wochen lang im Dunkeln bei 28°C in Gegenwart eines Selektionsmittels wachsen gelassen. Während dieser Periode entwickeln sich rasch wachsende, resistente Callus-Inseln. Nach dem Übertragen dieses Materials auf ein Regenerationsmedium und Inkubation bei Licht wurde das embryogene Potenzial freigesetzt, und Sprosse entwickelten sich in den nächsten vier bis fünf Wochen. Die Sprosse wurden aus den Calli herausgeschnitten und 2 bis 3 Wochen lang auf einem auxinhaltigen Medium inkubiert, von welchem sie in den Erdboden überführt wurden. Gehärtete Sprosse wurden unter hoher Feuchtigkeit und bei kurzen Tagen in einem Gewächshaus wachsen gelassen.

[0553] Ungefähr 35 unabhängige T0-Reis-Transformanten wurden für ein Konstrukt erzeugt. Die primären Transformanten wurden aus einer Gewebekulturkammer in ein Gewächshaus überführt. Nach einer quantitativen PCR-Analyse zur Bestätigung der Kopienzahl des T-DNA-Inserts wurden lediglich transgene Einzelkopie-Pflanzen, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel zeigen, für die Ernte von T1-Samen beibehalten. Die Samen wurden dann drei bis fünf Monate nach dem Umpflanzen geerntet. Das Verfahren ergab Einzel-Locus-Transformanten bei einer Rate von über 50% (Aldemita und Hodges 1996, Chan et al. 1993, Hiei et al. 1994).

Beispiel 20: Transformation anderer Kulturpflanzen

Transformation von Mais

[0554] Die Transformation von Mais (*Zea mays*) wird mit einer Abwandlung des Verfahrens durchgeführt, welches von Ishida et al. (1996) *Nature Biotech.* 14(6): 745–50 beschrieben wurde. Die Transformation in Mais ist genotypabhängig, und nur spezifische Genotypen sind einer Transformation und Regeneration zuführbar. Die Inzucht-Linie A188 (University of Minnesota) oder Hybride mit A188 als Elternteil sind gute Quellen von Spendermaterial für eine Transformation, aber auch andere Genotypen können erfolgreich verwendet werden. Ähren werden aus der Maispflanze ungefähr 11 Tage nach der Bestäubung (DAP) abgeerntet, wenn die Länge des unreifen Embryos ungefähr 1 bis 1,2 mm beträgt. Unreife Embryos werden mit *Agrobacterium tumefaciens*, welches den Expressionsvektor enthält, cokultiviert, und transgene Pflanzen werden durch Organogenese gewonnen. Herausgeschnittene Embryos werden auf Callus-Induktionsmedium und anschließend Mais-Regenerationsmedium, welches das Selektionsmittel enthält (zum Beispiel Imidazolinon, wobei jedoch verschiedene Selektionsmarker verwendet werden können), wachsen gelassen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C 2–3 Wochen lang, oder bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Mais-Bewurzelungsmedium überführt und bei 25°C 2 bis 3 Wochen lang, bis sich Wurzeln entwickeln, inkubiert. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Weizen

[0555] Die Transformation von Weizen wird mit dem Verfahren durchgeführt, welches von Ishida et al. (1996) *Nature Biotech.* 14(6): 745–50 beschrieben wurde. Üblicherweise wird das Kultivar Bobwhite (erhältlich von CIMMYT, Mexiko) bei der Transformation verwendet. Unreife Embryos werden mit *Agrobacterium tumefaciens*, welches den Expressionsvektor enthält, cokultiviert, und transgene Pflanzen werden durch Organogenese gewonnen. Nach der Inkubation mit *Agrobacterium* werden die Embryos *in vitro* auf Callus-Induktionsmedium, und dann Regenerationsmedium, welches das Selektionsmittel enthält (zum Beispiel Imidazolinon, wobei je-

doch verschiedene Selektionsmarker verwendet werden können), wachsen gelassen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C 2–3 Wochen lang, oder bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Bewurzelungsmedium überführt und 2–3 Wochen lang, bis sich Wurzeln entwickeln, bei 25°C inkubiert. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Sojabohne

[0556] Sojabohne wird gemäß einer Modifikation der in der US-Patentschrift 5,164,310 von Texas A&M beschriebenen Methode transformiert. Mehrere kommerzielle Sojabohnensorten sind einer Transformation nach diesem Verfahren zugänglich. Üblicherweise wird das Kultivar Jack (erhältlich von der Illinois Seed Foundation) zur Transformation verwendet. Sojabohnensamen werden für das In-vitro-Aussäen sterilisiert. Das Hypokotyl, die Keimwurzel und ein Kotyledon werden aus sieben Tage alten Jungsämlingen herausgeschnitten. Das Epikotyl und das verbleibende Kotyledon werden weiter wachsen gelassen, um axilläre Nodi zu entwickeln. Diese axillären Nodi werden herausgeschnitten und mit *Agrobacterium tumefaciens* inkubiert, welches den Expressionsvektor enthält. Nach der Cokultivierungsbehandlung werden die Explantate gewaschen und auf Selektionsmedien überführt. Regenerierte Sprosse werden herausgeschnitten und auf ein Sprossverlängerungsmedium gebracht. Sprosse, welche nicht länger als 1 cm sind, werden auf Bewurzelungsmedium gebracht, bis sich Wurzeln entwickeln. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Raps/Canola

[0557] Kotyledonäre Keimblattstiele sowie Hypokotyle von einem 5–6 Tage alten Jungsämling werden als Explantate für die Gewebekultur verwendet und gemäß Babic et al. (1998, *Plant Cell Rep.* 17: 183–188) transformiert. Das kommerzielle Kultivar Westar (Agriculture Canada) ist die zur Transformation verwendete Standardvarietät, aber auch andere Varietäten können verwendet werden. Canola-Samen werden für das In-vitro-Aussäen oberflächensterilisiert. Die Keimblattstiel-Explantate mit dem anhängigen Kotyledon werden aus den In-vitro-Sämlingen herausgeschnitten und mit *Agrobacterium* (enthaltend den Expressionsvektor) durch Eintauchen des Schnittendes des Keimblattstiel-Explantats in die Bakteriensuspension inokuliert. Die Explantate werden dann 2 Tage lang auf MSBAP-3-Medium, enthaltend 3 mg/l BAP, 3% Saccharose, 0,7% Phytagar, bei 23°C, 16 Stunden Licht, kultiviert. Nach zwei Tagen Cokultivierung mit *Agrobacterium* werden die Keimblattstiel-Explantate auf MSBAP-3-Medium, enthaltend 3 mg/l BAP, Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin (300 mg/l) während 7 Tagen überführt und danach auf MSBAP-3-Medium mit Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin und Selektionsmittel bis zur Sprossregeneration kultiviert. Wenn die Sprosse 5–10 mm Länge aufweisen, werden sie abgeschnitten und auf Sprossverlängerungsmedium (MSBAP-0,5, enthaltend 0,5 mg/l BAP) überführt. Sprosse von etwa 2 cm Länge werden auf das Bewurzelungsmedium (MS0) zur Wurzelinduktion überführt. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Luzerne

[0558] Ein sich regenerierender Klon von Luzerne (*Medicago sativa*) wird unter Anwendung des Verfahrens von McKersie et al. (1999, *Plant Physiol.* 119: 839–847) transformiert. Die Regeneration und Transformation von Luzerne ist genotypabhängig, und daher wird eine sich regenerierende Pflanze benötigt. Verfahren zum Erhalten von sich regenerierenden Pflanzen sind beschrieben worden. Zum Beispiel können diese aus dem Kultivar Rangelander (Agriculture Canada) oder einer beliebigen anderen kommerziellen Luzerne-Varietät ausgewählt werden, wie es durch Brown, DCW, und A. Atanassov (1985, *Plant Cell Tissue Organ Culture* 4: 111–112) beschrieben wurde. Alternativ dazu ist die RA3-Varietät (University of Wisconsin) zur Verwendung in der Gewebekultur ausgewählt worden (Walker et al., 1978, *Am. J. Bot.* 65: 654–659). Keimblattstiel-Explantate werden mit einer Übernachtskultur von *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 pMP90 (McKersie et al., 1999 *Plant Physiol.* 119: 839–847) oder LBA4404, enthaltend den Expressionsvektor, cokultiviert. Die Explantate werden drei Tage lang im Dunkeln auf SH-Induktionsmedium cokultiviert, welches 288 mg/l Pro, 53 mg/l Thio-prolin, 4,35 g/l K₂SO₄ und 100 µm Acetosyringinon enthält. Die Explantate werden in Murashige-Skoog-Medium von halber Stärke (Murashige und Skoog, 1962) gewaschen und auf dem gleichen SH-Induktionsmedium ohne Acetosyringinon aber mit einem geeigneten Selektionsmittel und einem geeigneten Antibiotikum zum Inhibieren des *Agrobacterium*-Wachstums ausplattiert. Nach einigen Wochen werden somatische Embryos

auf BOi2Y-Entwicklungsmedium, das keine Wachstumsregulatoren, keine Antibiotika sowie 50 g/l Saccharose enthält, überführt. Somatische Embryos werden anschließend auf Murashige-Skoog-Medium von halber Stärke keimen gelassen. Bewurzelte Setzlinge wurden in Blumentöpfe umgepflanzt und in einem Gewächshaus wachsen gelassen. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Baumwolle

[0559] Baumwolle wird unter Verwendung von *Agrobacterium tumefaciens* gemäß dem in US 5,159,135 beschriebenen Verfahren transformiert. Die Baumwollsaamen werden 20 Minuten lang in 3%iger Natriumhypochloritlösung oberflächensterilisiert und in destilliertem Wasser mit 500 µg/ml Cefotaxim gewaschen. Die Samen werden dann für die Keimung in SH-Medium mit 50 µg/ml Benomyl überführt. Hypokotyle von 4 bis 6 Tage alten Setzlingen werden entfernt, in Stücke von 0,5 cm geschnitten und auf 0,8%igen Agar platziert. Eine *Agrobacterium*-Suspension (ungefähr 108 Zellen pro ml, verdünnt aus einer Übernachtskultur, transformiert mit dem Gen von Interesse und geeigneten Selektionsmarkern) wird für die Inokulation der Hypokotyl-Explantate verwendet. Nach 3 Tagen bei Raumtemperatur und Beleuchtung überführt man die Gewebe auf ein festes Medium (1,6 g/l Gelrite) mit Murashige-und-Skoog-Salzen mit B5-Vitaminen (Gamborg et al., Exp. Cell Res. 50: 151–158 (1968)), 0,1 mg/l 2,4-D, 0,1 mg/l 6-Furfurylaminopurin und 750 µg/ml MgCl₂ sowie mit 50 bis 100 µg/ml Cefotaxim und 400–500 µg/ml Carbenicillin zum Abtöten restlicher Bakterien. Individuelle Zelllinien werden nach zwei bis drei Monaten (mit Unterkulturen alle vier bis sechs Wochen) isoliert und werden auf selektivem Medium zur Gewebeerzeugung weiter kultiviert (30°C, 16 h Lichtperiode). Transformierte Gewebe werden anschließend auf nicht-selektivem Medium 2 bis 3 Monate lang weiter kultiviert, was zur Entstehung von somatischen Embryos führt. Gesund aussehende Embryos von mindestens 4 mm Länge werden in Röhrchen mit SH-Medium in feinem Vermiculit, das mit 0,1 mg/l Indoleessigsäure, 6-Furfurylaminopurin und Gibberellinsäure ergänzt ist, überführt. Die Embryos werden bei 30°C mit einer Lichtperiode von 16 h kultiviert, und Pflänzchen im 2- bis 3-Blattstadium werden in Blumentöpfe mit Vermiculit und Nährstoffen überführt. Die Pflanzen werden gehärtet und anschließend für die weitere Kultivierung ins Gewächshaus verbracht.

Beispiel 21: Vorgehen bei der phänotypischen Auswertung

21.1 Auswertungsansatz

[0560] 35 bis 90 unabhängige T0-Reis-Transformanten wurden erzeugt. Die primären Transformanten wurden aus einer Gewebekulturkammer in ein Gewächshaus zum Kultivieren und Ernten von T1-Samen überführt. Sechs Ereignisse, bei denen die T1-Nachkommenschaft hinsichtlich Gegenwart/Abwesenheit des Transgens bei 3:1 segregierte, wurden beibehalten. Für jedes dieser Ereignisse wurden ungefähr 10 T1-Setzlinge, enthaltend das Transgen (Hetero- und Homozygote), und ungefähr 10 T1-Setzlinge, denen das Transgen fehlte (Nullizygote), durch Überwachen der Expression des sichtbaren Markers selektiert. Die transgenen Pflanzen und die entsprechenden Nullizygoten wurden an zufälligen Positionen Seite an Seite wachsen gelassen. Die Gewächshausbedingungen bestanden aus kurzen Tagen (12 Stunden Licht), 28°C im Licht und 22°C im Dunkeln sowie einer relativen Feuchtigkeit von 70%. Pflanzen, welche unter Nichtstresbedingungen wachsen gelassen wurden, wurden in regelmäßigen Intervallen bewässert, um sicherzustellen, dass Wasser und Nährstoffe nicht limitierend sind, und um die Bedürfnisse der Pflanze zum Abschließen von Wachstum und Entwicklung zu erfüllen, es sei denn, sie wurden in einem Stresstest eingesetzt.

[0561] Vom Stadium des Aussäens bis zum Stadium der Reife wurden die Pflanzen mehrmals durch eine digitale Bilderzeugungs-Kammer hindurchgeleitet. An jedem Zeitpunkt wurden Digitalbilder (2048×1536 Pixel, 16 Millionen Farben) von jeder Pflanze aus mindestens 6 verschiedenen Winkeln aufgenommen.

[0562] T1-Ereignisse können unter Befolgen desselben Auswertungsvorgehens wie für die T1-Generation, z. B. mit weniger Ereignissen und/oder mit mehr Individuen pro Ereignis, in der T2-Generation weiter ausgewertet werden.

Dürre-Screen

[0563] T1- oder T2-Pflanze werden in Blumentopferde unter normalen Bedingungen wachsen gelassen, bis sie sich dem Stadium des Ähren/Rispenschiebens näherten. Sie werden dann in einen "Trocken"-Bereich überführt, in welchem die Bewässerung weggelassen wird. Zur Überwachung des Bodenwassergehalts (SWC) werden Bodenfeuchtigkeitssonden in zufällig ausgewählte Blumentöpfe gesteckt. Fällt der SWC unter bestimmte Schwellenwerte, so werden die Pflanzen automatisch wieder fortwährend bewässert, bis erneut ein normaler

Spiegel erreicht wird. Die Pflanzen werden dann zurück zu normalen Bedingungen überführt. Der Rest der Kultivierung (Pflanzenreife, Samenernte) ist der gleiche wie bei Pflanzen, die nicht unter abiotischen Stressbedingungen herangezogen werden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

Screen der Stickstoffausnutzungseffizienz

[0564] T1- oder T2-Pflanzen werden in Blumentöpfe unter normalen Bedingungen wachsen gelassen, mit Ausnahme der Nährstofflösung. Die Blumentöpfe werden vom Umpflanzen bis zur Reife mit einer spezifischen Nährstofflösung bewässert, welche einen verringerten Stickstoff(N)-Gehalt enthält, üblicherweise zwischen 7- bis 8-mal weniger. Der Rest der Kultivierung (Pflanzenreife, Samenernte) ist der gleiche wie für Pflanzen, die nicht unter abiotischem Stress wachsen gelassen wurden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

Salzstress-Screen

[0565] T1- oder T2-Pflanzen wurden auf einem Substrat wachsen gelassen, das aus Kokosfasern und gebackenem Ton (Argex) (Verhältnis 3 zu 1) hergestellt ist. Eine normale Nährstofflösung wurde während der ersten zwei Wochen nach dem Umpflanzen der Pflänzchen in dem Gewächshaus verwendet. Nach den ersten zwei Wochen wurden der Nährstofflösung 25 mM Salz (NaCl) zugesetzt, bis die Pflanzen geerntet wurden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

21.2 Statistische Analyse: F-Test

[0566] Eine Zwei-Faktor-ANOVA (Analyse von Varianten) wurde als ein statistisches Modell für die Gesamtauswertung von phänotypischen Pflanzenmerkmalen verwendet. Ein F-Test wurde bei allen gemessenen Parametern von allen Pflanzen aller Ereignisse, die mit dem Gen der vorliegenden Erfindung transformiert waren, durchgeführt. Der F-Test wurde durchgeführt, um eine Prüfung hinsichtlich eines Effekts des Gens über alle Transformationsereignisse hinweg vorzunehmen und einen Gesamteffekt des Gens, ebenfalls bekannt als globaler Geneffekt, zu bestätigen. Der Schwellenwert für Signifikanz für einen echten globalen Geneffekt wurde bei einer 5%-Wahrscheinlichkeitsstufe für den F-Test festgesetzt. Ein signifikanter F-Testwert deutet auf einen Geneffekt hin, was heißt, dass es nicht nur die bloße Gegenwart oder Position des Gens ist, welche die Unterschiede beim Phänotyp verursacht.

21.3 Gemessene Parameter

[0567] Vom Stadium des Aussäens bis zum Stadium der Reife wurden die Pflanzen mehrmals durch eine digitale Bilderzeugungskammer hindurchgeleitet. An jedem Zeitpunkt wurden Digitalbilder (2048×1536 Pixel, 16 Millionen Farben) von jeder Pflanze aus mindestens 6 verschiedenen Winkeln aufgenommen, wie in WO2010/031780 beschrieben. Mit diesen Messungen wurden verschiedene Parameter bestimmt.

Messung von biomassebezogenen Parametern

[0568] Die oberirdische Pflanzenfläche (oder blattartige Biomasse) wurde durch Zählen der Gesamtzahl an Pixeln auf den Digitalbildern von oberirdischen Pflanzenteilen, die sich vom Hintergrund unterscheiden lassen, bestimmt. Dieser Wert wurde für die Bilder gemittelt, welche zum gleichen Zeitpunkt aus den unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, und wurde durch Kalibrierung in einen physikalischen Oberflächenwert umgewandelt, der in Quadratmillimetern ausgedrückt wird. Experimente zeigen, dass die auf diese Weise gemessene oberirdische Pflanzenfläche mit der Biomasse der oberirdischen Pflanzenteile korreliert. Die oberirdische Fläche ist die Fläche, welche an dem Zeitpunkt gemessen wird, an dem die Pflanze ihre maximale Blatt-Biomasse erreicht hatte.

[0569] Die Erhöhung der Wurzelbiomasse wird als eine Erhöhung der Gesamtwurzelbiomasse (gemessen als das Maximum der Biomasse von Wurzeln, das während der Lebensdauer einer Pflanze beobachtet wird); oder als eine Erhöhung im Wurzel/Spross-Index, gemessen als das Verhältnis zwischen Wurzelmasse und Sprossmasse in der Periode des aktiven Wachstums von Wurzel und Spross, ausgedrückt. In anderen Worten, der Wurzel-Spross-Index ist definiert als das Verhältnis der Schnelligkeit des Wurzelwachstums zur Schnelligkeit des Sprosswachstums in der Zeit des aktiven Wachstums von Wurzel und Spross. Die Wurzelbiomasse lässt sich nach der in WO 2006/029987 beschriebenen Methode bestimmen.

Mit der Entwicklungszeit in Zusammenhang stehende Parameter

[0570] Die Jungpflanzenvitalität ist die oberirdische Pflanzenfläche drei Wochen nach der Keimung. Die Jungpflanzenvitalität wurde durch Zählen der Gesamtzahl an Pixeln von oberirdischen Pflanzenteilen, welche sich vom Hintergrund unterscheiden lassen, bestimmt. Dieser Wert wurde für die Bilder gemittelt, welche zum gleichen Zeitpunkt aus unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, und wurde durch Kalibrierung in einen physikalischen Oberflächenwert umgewandelt, der in Quadratmillimetern ausgedrückt wird.

[0571] AreaEmer gibt einen Hinweis auf eine schnelle Frühentwicklung, wenn dieser Wert im Vergleich zu Kontrollpflanzen vermindert ist. Er stellt das Verhältnis in % zwischen der Zeit, die eine Pflanze benötigt, um 30% der Endbiomasse zu produzieren, und der Zeit, die benötigt wird, um 90% der Endbiomasse zu produzieren, dar.

[0572] Die "Zeit bis zur Blüte" oder "Blütezeit" der Pflanze lässt sich unter Anwendung des in WO 2007/093444 beschriebenen Verfahrens bestimmen.

Messungen von samenbezogenen Parametern

[0573] Die reifen Hauptrispen wurden geerntet, gezählt, eingetütet, mit einem Strichcode etikettiert und dann drei Tage lang in einem Ofen bei 37°C getrocknet. Die Rispen wurden dann gedroschen, und alle Samen wurden gesammelt und gezählt. Die Samen sind gewöhnlich von einer trockenen äußeren Umhüllung, der Hülse, bedeckt. Die gefüllten Hülsen (hier auch als gefüllte Einzelblüten bezeichnet) wurden von den leeren Hülsen unter Verwendung einer Luftgebläsevorrichtung getrennt. Die leeren Hülsen wurden verworfen, und die verbleibende Fraktion wurde erneut gezählt. Die gefüllten Hülsen wurden auf einer Analysewaage gewogen.

[0574] Die Gesamtanzahl an Samen wurde durch Zählen der Anzahl an gefüllten Hülsen bestimmt, welche nach dem Trennungsschritt verblieb. Das Gesamtsamengewicht wurde durch Wiegen aller von einer Pflanze abgeernteten gefüllten Hülsen gemessen.

[0575] Die Gesamtanzahl an Samen (oder Einzelblüten) pro Pflanze wurde durch Auszählen der von einer Pflanze geernteten Hülsen (gleich ob gefüllt oder nicht) bestimmt.

[0576] Das Tausendkerngewicht (TKW) wird aus der gezählten Anzahl an Samen und ihrem Gesamtgewicht extrapoliert.

[0577] Der Ernteindex (Harvest Index, HI) ist in der vorliegenden Erfindung definiert als das Verhältnis zwischen dem Gesamtsamengewicht und der oberirdischen Fläche (mm^2), multipliziert mit einem Faktor von 10^6 .

[0578] Die Anzahl an Blüten pro Rispe, wie in der vorliegenden Erfindung definiert, ist das Verhältnis zwischen der Gesamtzahl an Samen zur Anzahl an reifen Hauptrispen.

[0579] Die "Samenfüllrate", wie in der vorliegenden Erfindung definiert, ist der Anteil (ausgedrückt als ein %-Wert) der Anzahl gefüllter Samen (d. h. der Samen enthaltenden Einzelblüten) gegenüber der Gesamtzahl an Samen (d. h. Gesamtzahl an Einzelblüten). In anderen Worten ist die Samenfüllrate der Anteil an mit Samen gefüllten Einzelblüten in Prozent.

Beispiel 22: Ergebnisse der phänotypischen Auswertung der transgenen Pflanzen

[0580] Die Ergebnisse der Untersuchung von eine AP2-26-ähnliche Nukleinsäure unter der Kontrolle des RCc3-Promotors exprimierenden transgenen Reispflanzen im Ertragsscreen sind unten aufgeführt. Bei einer Kultivierung unter Nichtstressbedingungen wurde eine Zunahme von mindestens 5% bei der Jungpflanzenvitalität, der Füllrate und dem Ernteindex beobachtet.

Tabelle I: Zusammenfassung der Daten für transgene Reispflanzen; bei allen Parametern ist die prozentuale Gesamtzunahme für die Bestätigung (T1-Generation) gezeigt, bei allen Parametern ist der p-Wert < 0,05.

Parameter	Gesamtzunahme
Jungpflanzenvitalität	15,4
Füllrate	9,0
Ernteindex	6,5

[0581] Darüber hinaus hatten eine AP2-26-ähnliche Nukleinsäure exprimierende Pflanzen eine erhöhte Biomasse (oberirdische Biomasse und Wurzelbiomasse), ein erhöhtes Gesamtsamengewicht und ein erhöhtes Tausendkerngewicht.

[0582] Ein erhöhtes Tausendkerngewicht wurde auch bei eine AP2-26-ähnliche Nukleinsäure unter der Kontrolle des GOS2-Promotors exprimierenden transgenen Reispflanzen beobachtet, wenn diese im Ertragscreen getestet wurden.

Beispiel 23: Identifikation der mit SEQ ID NR: 384 und SEQ ID NR: 385 verwandten Sequenzen

[0583] Sequenzen (vollständige cDNA, ESTs oder genomisch), die mit SEQ ID NR: 384 und SEQ ID NR: 385 verwandt sind, wurden unter denjenigen, welche in der "Entrez Nucleotides"-Datenbank am National Center for Biotechnology Information (NCBI) bereitgehalten werden, mit Hilfe von Datenbank-Sequenzsuchwerkzeugen wie etwa dem Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 und Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402) identifiziert. Das Programm wird eingesetzt, um Regionen mit lokaler Ähnlichkeit zwischen Sequenzen durch Vergleichen von Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenzen mit Sequenzdatenbanken und durch Berechnen der statistischen Signifikanz von Übereinstimmungen zu finden. So wurde zum Beispiel das von der Nukleinsäure von SEQ ID NR: 384 codierte Polypeptid für den TBLASTN-Algorithmus verwendet, mit Standardvorgaben und abgeschaltetem Filter zum Ignorieren von Sequenzen geringer Komplexität. Das Analyse-Ergebnis wurde mittels paarweisem Vergleich betrachtet und gemäß der Wahrscheinlichkeitswertung (E-Wert) eingestuft, wobei die Wertung die Wahrscheinlichkeit widerspiegelt, dass ein jeweiliges Alignment rein zufällig auftritt (je niedriger der E-Wert, umso signifikanter ist der Übereinstimmungstreffer). Zusätzlich zu E-Werten wurden Vergleiche auch durch den Prozentsatz der Identität bewertet. Der Prozentsatz der Identität bezieht sich auf die Zahl an identischen Nukleotiden (oder Aminosäuren) zwischen den zwei verglichenen Nukleinsäuresequenzen (oder Polypeptidsequenzen) über eine bestimmte Länge hinweg. In einigen Fällen lassen sich die Vorgabeparameter anpassen, um die Stringenz der Suche zu modifizieren. Zum Beispiel kann man den E-Wert erhöhen, so dass weniger stringente Übereinstimmungen angezeigt werden. Auf diese Weise lassen sich kurze, fast exakte Übereinstimmungen identifizieren.

[0584] Tabelle J stellt eine Liste von Nukleinsäuresequenzen bereit, die mit SEQ ID NR: 384 und SEQ ID NR: 385 verwandt sind.

Tabelle J: Beispiele für HD8-ähnliche Nukleinsäuren und Polypeptide:

Ursprungspflanze	Nukleinsäure-SEQ ID NR:	Protein-SEQ ID NR:
>O.sativa_LOC_Os08g19590.2	384	385
>Medicago truncatula HD	386	387
>A.thaliana_AT5G52170.1	388	389
>A.thaliana_AT4G04890.1	390	391
>A.thaliana_AT4G00730.2	392	393
>A.thaliana_AT1G79840.1	394	395
>A.thaliana_AT2G32370.1	396	397
>A.thaliana_AT4G25530.1	398	399
>A.thaliana_AT3G61150.1	400	401
>A.thaliana_AT1G17920.1	402	403

>A.thaliana_AT1G73360.1	404	405
>A.thaliana_AT1G05230.2	406	407
>A.thaliana_AT1G05230.3	408	409
>A.thaliana_AT4G00730.1	410	411
>A.thaliana_AT4G21750.2	412	413
>G.max_Glyma16g34350.1	414	415
>G.max_Glyma10g38280.1	416	417
>G.max_Glyma15g01960.1	418	419
>G.max_Glyma09g40130.1	420	421
>G.max_Glyma03g01860.1	422	423
>G.max_Glyma13g38430.1	424	425
>G.max_Glyma08g06190.1	426	427
>G.max_Glyma09g29810.1	428	429
>G.max_Glyma20g29580.1	430	431
>G.max_Glyma11g00570.1	432	433
>G.max_Glyma16g32130.1	434	435
>G.max_Glyma06g46000.1	436	437
>G.max_Glyma12g32050.1	438	439
>G.max_Glyma12g10710.1	440	441
>G.max_Glyma01g45070.1	442	443
>G.max_Glyma05g33520.1	444	445
>G.max_Glyma01g01850.1	446	447
>G.max_Glyma13g43350.2	448	449
>G.max_Glyma09g26600.1	450	451
>G.max_Glyma10g39720.2	452	453
>G.max_Glyma13g43350.1	454	455
>G.max_Glyma18g45970.1	456	457
>G.max_Glyma07g08340.1	458	459
>G.max_Glyma09g34070.1	460	461
>Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	462	463
>M.truncatula_AC202466_12.4	464	465
>M.truncatula_AC148764_30.5	466	467
>M.truncatula_AC123975_4.5	468	469
>M.truncatula_AC173288_41.5	470	471
>M.truncatula_CT485796_15.4	472	473
>O.sativa_LOC_Os08g08820.2	474	475
>O.sativa_LOC_Os02g45250.1	476	477
>O.sativa_LOC_Os04g48070.3	478	479
>O.sativa_LOC_Os09g35760.2	480	481
>O.sativa_LOC_Os10g42490.2	482	483
>O.sativa_LOC_Os04g53540.3	484	485
>O.sativa_LOC_Os06g10600.1	486	487

>O.sativa_LOC_Os01g55549.1	488	489
>O.sativa_LOC_Os04g53540.4	490	491
>O.sativa_LOC_Os04g48070.2	492	493
>O.sativa_LOC_Os08g19590.3	494	495
>O.sativa_LOC_Os09g35760.1	496	497
>O.sativa_LOC_Os08g04190.1	498	499
>O.sativa_LOC_Os04g48070.1	500	501
>P.trichocarpa_scaff_III.687	502	503
>P.trichocarpa_scaff_29.235	504	505
>P.trichocarpa_scaff_II.1438	506	507
>P.trichocarpa_scaff_122.86	508	509
>P.trichocarpa_scaff_XV.1195	510	511
>P.trichocarpa_scaff_II.2114	512	513
>P.trichocarpa_scaff_XII.63	514	515
>P.trichocarpa_scaff_IV.76	516	517
>P.trichocarpa_scaff_XII.1124	518	519
>P.trichocarpa_scaff_XIV.211	520	521
>P.trichocarpa_scaff_44.222	522	523
>P.trichocarpa_scaff_XIV.993	524	525
>P.trichocarpa_scaff_X1.213	526	527
>Solanum_lycopersicum_GQ222185	528	529
>P.trichocarpa_HB1-like	530	531
>T.aestivum_TC277292	532	533
>Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	534	535
>Zea_mays_AC235534.1_FGT007	536	537
>Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	538	539
>Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	540	541
>Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	542	543
>Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	544	545
>Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	546	547
>Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	548	549
>Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	550	551
>Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	552	553
>Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	554	555
>Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	556	557
>Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	558	559
>Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	560	561

[0585] Sequenzen sind durch Forschungsinstitutionen, wie The Institute for Genomic Research (TIGR; beginnend mit TA), provisorisch zusammengetragen und öffentlich zugänglich gemacht worden. Mit der Datenbank "Eukaryotic Gene Orthologs" (EGO) zum Beispiel lassen sich derartige verwandte Sequenzen entweder durch Stichwort-Suche oder durch Anwendung des BLAST-Algorithmus mit der Nukleinsäure- oder Polypeptidsequenz von Interesse identifizieren. Spezielle Nukleinsäuresequenz-Datenbanken wurden für bestimmte Organismen, z. B. bestimmte prokaryotische Organismen, erzeugt, wie etwa vom Joint Genome Institute. Weiterhin

hat der Zugang zu nicht öffentlichen Datenbanken die Identifizierung neuer Nukleinsäure- und Polypeptidsequenzen ermöglicht.

Beispiel 24: Alignment von HD8-ähnlichen Polypeptidsequenzen

[0586] Das Alignment der Polypeptidsequenzen erfolgte unter Anwendung des ClustalW 2.0-Algorithmus für fortschreitendes Alignment (Thompson et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 4876–4882; Chenna et al. (2003). *Nucleic Acids Res.* 31: 3497–3500) mit Standardeinstellungen (langsames Alignment, Ähnlichkeitsmatrix: Gonnet, Gap Opening Penalty 10, Gap Extension Penalty: 0,2). Zur weiteren Optimierung des Alignments wurde eine geringfügige Editierung von Hand ausgeführt. Die HD8-ähnlichen Polypeptide sind in der [Fig. 21](#) aligniert.

[0587] Der phylogenetische Baum der HD8-ähnlichen Polypeptide ([Fig. 22](#)) wurde wie von Jain et al., 2008 beschrieben konstruiert. Multiple Sequenzalignments von mit Smart aus allen Proteinsequenzen identifizierten Homeoboxdomänen wurden mit Clustalx, Version 1.83, durchgeführt. Die wurzellosen phylogenetischen Bäume wurden durch die Neighbourjoining-Methode (Saitou & Nei, *Mol Biol Evol* 4, 406–425, 1987) konstruiert und mit Njplot (Perriere & Gouy, *Biochimie* 78, 364–369, 1996) dargestellt.

Beispiel 25: Berechnung der globalen prozentualen Identität zwischen Polypeptidsequenzen

[0588] Globale Prozentsätze der Ähnlichkeit und Identität zwischen Vollängen-Polypeptidsequenzen, die in der Ausführung der Verfahren der Erfindung nützlich sind, wurden unter Anwendung eines der im Fachgebiet verfügbaren Verfahren bestimmt, nämlich der MatGAT(Matrix Global Alignment Tool)-Software (BMC Bioinformatics. 2003 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. Campanella JJ, Bitincka L, Smalley J; Software wurde bereitgestellt von Ledion Bitincka). Die MatGAT-Software erzeugt Ähnlichkeits-/Identitäts-Matrizen für DNA- oder Proteinsequenzen, ohne dass ein Voralignment der Daten benötigt wird. Das Programm führt eine Serie von paarweisen Alignments unter Anwendung des "Myers and Miller"-Global-Alignment-Algorithmus (mit einem Gap Opening Penalty von 12 und einem Gap Extension Penalty von 2) durch, berechnet Ähnlichkeit und Identität zum Beispiel mit Hilfe der Blossum 62 (für Polypeptide) und platziert die Ergebnisse dann in einer Distanzmatrix.

[0589] Ergebnisse der Analyse sind in [Fig. 23](#) für die globale Ähnlichkeit und Identität über die volle Länge der Polypeptidsequenzen hinweg gezeigt. Sequenzähnlichkeit ist in der Hälfte unter der Trennlinie gezeigt, und Sequenzidentität ist in der Hälfte oberhalb der diagonalen Trennlinie gezeigt. Die im Vergleich verwendeten Parameter waren: Wertungsmatrix: Blossum62, First Gap: 12, Extending Gap: 2. Die Sequenzidentität (in %) zwischen den für die Durchführung der Verfahren der Erfindung geeigneten HD8-ähnlichen Polypeptidsequenzen kann, verglichen mit der SEQ ID NR: 385, lediglich 10,4% betragen, ist aber im Allgemeinen höher als 20%.

Beispiel 26: Identifizierung von Domänen, die in Polypeptidsequenzen enthalten sind, die sich für die Durchführung der Verfahren der Erfindung eignen

[0590] Die "Integrated Resource of Protein Families, Domains and Sites"(InterPro)-Datenbank ist eine integrierte Schnittstelle für die üblicherweise verwendeten Signaturdatenbanken für text- und sequenzbasierte Suchläufe. Die InterPro-Datenbank kombiniert diese Datenbanken, welche verschiedene Methodologien und unterschiedliche Klassen von biologischen Informationen über gut charakterisierte Proteine verwenden, um Proteinsignaturen abzuleiten. Zu kollaborierenden Datenbanken zählen SWISS-PROT, PROSITE, TrEMBL, PRINTS, ProDom und Pfam, Smart und TIGRFAMs. Bei Pfam handelt es sich um eine große Sammlung von Mehrfach-Sequenzalignments und Hidden-Markov-Modellen, die viele herkömmliche Proteindomänen und -familien umfasst. Pfam wird am Server des Sanger Institute in Großbritannien gehostet. Interpro wird am European Bioinformatics Institute in Großbritannien gehostet.

[0591] Die Ergebnisse des InterPro-Scans (InterPro-Datenbank, Version 29.0) der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 385 sind in der Tabelle K aufgeführt.

Tabelle K: Ergebnisse des InterPro-Scans (Hauptzugangsnummern),
der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 385 entspricht.

Methode	AccNumber	ShortName	Ort
InterPro	IPR001356	Homeobox	x
BlastPro-Dom	PD000010	Homeobox	T[60-117] 0,0
FPrintScan	PR00024	HOMEBOX	T[98-108] 0,03 T[108-117] 0,03
HMMPfam	PF00046	Homeobox	T[62-118] 4,60E-19
HMMSmart	SM00389	HOX	T[61-123] 1,39E-17
ProfileScan	PS50071	HOMEBOX_2	T[59-119] 0,0
InterPro	IPR002913	Lipid-binding START	x
HMMPfam	PF01852	START	T[265-500] 1,79E-26
HMMSmart	SM00234	START	T[254-500] 1,59E-12
ProfileScan	PS50848	START	T[245-503] 0,0
InterPro	IPR009057	Homeodomain-like	x
Superfamily	SSF46689	Homeodomain_like	T[48-118] 1,9E-18
InterPro	IPR012287	Homeodomain-related	x
Gene3D	G3DSA:1.10.10.60	Homeodomain-rel	T[28-124] 4,19E-15
InterPro	NULL	NULL	x
HMMPanthe	PTHR19418	PTHR19418	T[36-155] 6,4E-15 T[36-279] 6,4E-15 T[248-279] 6,4E-15

[0592] Gemäß einer Ausführungsform umfasst ein HD8-ähnliches Polypeptid eine konservierte Domäne (oder ein konserviertes Motiv) mit mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% Sequenzidentität zu einer konservierten Domäne von Aminosäure 265 bis 500 in SEQ ID NR: 385).

Beispiel 27: Topologievorhersage für die HD8-ähnlichen Polypeptidsequenzen

[0593] TargetP 1.1 sagt die subzelluläre Lokalisierung von eukaryotischen Proteinen voraus. Die Lagebestimmung basiert auf der vorhergesagten Gegenwart von einer beliebigen der N-terminalen Präsequenzen: Chloroplasten-Transit-Peptid (cTP), mitochondriales Targeting-Peptid (mTP) oder Sekretorischer-Pfad-Signalpeptid (SP). Wertungen, auf welchen die endgültige Vorhersage beruht, sind nicht wirklich Wahrscheinlichkeiten, und sie addieren sich nicht notwendigerweise zu 1. Allerdings ist die Lokalisierung mit der höchsten Bewertung gemäß TargetP am wahrscheinlichsten, und die Beziehung zwischen den Wertungen (die Zuverlässigkeitsklasse) kann eine Angabe sein, wie sicher die Vorhersage ist. Die Zuverlässigkeitsklasse bzw. "Reliability Class" (RC) liegt im Bereich von 1 bis 5, wobei 1 die stärkste Vorhersage anzeigt. TargetP wird am Server der Technischen Universität Dänemark (Technical University of Denmark) bereitgehalten.

[0594] Für die Sequenzen, welche laut Vorhersage eine N-terminale Präsequenz enthalten, kann ebenfalls eine potenzielle Spaltungsstelle vorhergesagt werden.

[0595] Eine Anzahl von Parametern wurde ausgewählt, wie etwa Organismengruppe (Nicht-Pflanze oder Pflanze), Ausschlussbedingungen (keine, vordefinierter Satz von Ausschlussbedingungen, oder benutzerspezifischer Satz von Ausschlussbedingungen) sowie die Berechnung der Vorhersage von Spaltungsstellen (Ja oder Nein).

[0596] Die Ergebnisse der TargetP 1.1-Analyse der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 385 sind in Tabelle L aufgeführt. Die Organismengruppe "Pflanze" wurde gewählt, es wurden keine Ausschlussbedingungen definiert, und die vorhergesagte Länge des Transitpeptids wurde angefordert.

Tabelle L: TargetP 1.1-Analyse der Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NR: 329. Abkürzungen: Len, Länge; cTP, chloroplastisches Transitpeptid; mTP, mitochondriales Transitpeptid, SP, Signalpeptid für einen sekretorischen Pfad, andere, anderes subzelluläres Ziel, Loc, vorhergesagte Lokalisierung; RC, Verlässlichkeitsklasse; TPlen, vorhergesagte Länge des Transitpeptids.

Name	Len	cTP	mTP	SP	andere	Loc	RC	TPlen
SEQ ID NO: 58	786	0,085	0,073	0,488	0,255	S	4	20
Ausschlussbedingung		0,000	0,000	0,000	0,000			

[0597] Es können viele andere Algorithmen zur Durchführung derartiger Analysen verwendet werden, einschließlich:

- ChloroP 1.1, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- Protein Prowler Subcellular Localisation Predictor Version 1.2, bereitgehalten auf dem Server des Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Brisbane, Australien;
- PENCE Proteome Analyst PA-GOSUB 2.5, bereitgehalten auf dem Server der University of Alberta, Edmonton, Alberta, Kanada;
- TMHMM, bereitgehalten auf dem Server der Technical University of Denmark;
- PSORT (URL: psort.org)
- PLOC (Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003).
- PredictNLS, ein Nuclear Localization Signal Prediction-Algorithmus (Rostlab.org), sagt eine Lokalisierung im Kern vorher.

Beispiel 28: Funktionsassay für das HD8-ähnliche Polypeptid

[0598] Di Cristina et al. (Plant J. 10, 393–402, 1996) liefern eine eingehende Charakterisierung von GLABRA2, einem Arabidopsis-HD-ZIP-Protein der Unterfamilie IV. Die Studie umfasst einen Gelmobilitätsverschiebungsassay.

Beispiel 29: Klonieren der für das HD8-ähnliche Polypeptid codierenden Nukleinsäuresequenz

[0599] Die Nukleinsäuresequenz wurde mittels PCR amplifiziert, wobei als Matrize eine speziell erstellte cDNA-Bibliothek mit *Oryza-sativa*-Keimlingen verwendet wurde. Die PCR wurde mit im Handel erhältlicher Proofreading Taq DNA-Polymerase unter Standardbedingungen mit 200 ng Matrize in 50 µl PCR-Mix durchgeführt. Bei den verwendeten Primern handelte es sich um prm15035 (SEQ ID NR: 567; sense, Startcodon fett) : 5'-ggggacaagttgtacaaaaaagcaggcttaacaatgaacggcgagcttaaact-3' und prm15036 (SEQ ID NR: 568; revers, komplementär): 5'-ggggaccactttgtacaagaaagctgggtcttctcgcatgcaaagtctac-3', die die AttB-Stellen für die Gateway-Rekombination einschließen. Das amplifizierte PCR-Fragment wurde ebenfalls nach Standardmethoden aufgereinigt. Dann wurde der erste Schritt der Gateway-Vorschrift, die BP-Reaktion, durchgeführt, während der das PCR-Fragment in vivo mit dem pDONR201-Plasmid rekombiniert wurde, wodurch man gemäß der Gateway-Terminologie einen "Eingangsklon", pHd8-like, erhielt. Das Plasmid pDONR201 wurde von Invitrogen als Teil der Gateway®-Technologie erworben.

[0600] Der die SEQ ID NR: 385 umfassende "Eingangsklon" wurde dann in einer LR-Reaktion mit einem Zielvektor für die Transformation von *Oryza sativa* eingesetzt. Dieser Vektor enthielt als Funktionselemente innerhalb der T-DNA-Grenzen: einen pflanzlichen Selektionsmarker; eine screenbare Markerexpressionskassette; sowie eine Gateway-Kassette, die für die LR-in-vivo-Rekombination mit der interessierenden Nukleinsäuresequenz, die bereits in den Eingangsklon kloniert wurde, vorgesehen ist. Ein Reis-RCc3-Promotor (SEQ ID NR: 565) für die wurzelspezifische Expression befand sich stromaufwärts von dieser Gateway-Kassette.

[0601] Nach dem LR-Rekombinationsschritt wurde der erhaltene Expressionsvektor pRCc3::HD8-ähnlich (Fig. 24) nach im Stand der Technik gut bekannten Methoden in den *Agrobacterium*-Stamm LBA4044 transformiert.

Beispiel 30: Pflanzentransformation

Reistransformation:

[0602] Das Agrobacterium, welches den Expressionsvektor enthielt, wurde zum Transformieren von *Oryza sativa*-Pflanzen verwendet. Reife trockene Samen des Reis-Japonica-Kultivars Nipponbare wurden einer Enthülsung unterzogen. Die Sterilisierung wurde durch Inkubieren während einer Minute in 70% Ethanol, gefolgt von 30 Minuten in 0,2% HgCl_2 , gefolgt von sechsmaligem 15-minütigem Waschen mit sterilem destilliertem Wasser, durchgeführt. Die sterilen Samen wurden dann auf einem Medium keimen gelassen, welches 2,4-D enthielt (Callus-Induktionsmedium). Nach vierwöchiger Inkubation im Dunkeln wurden embryogene, vom Scutellum abgeleitete Calli herausgeschnitten und auf dem gleichen Medium vermehrt. Nach zwei Wochen wurden die Calli durch Subkultivieren auf dem gleichen Medium weitere 2 Wochen lang vervielfältigt oder vermehrt. Embryogene Callus-Stücke wurden 3 Tage vor der Cokultivierung auf frischem Medium subkultiviert (zur Steigerung der Zellteilungsaktivität).

[0603] Der Agrobacterium-Stamm LBA4404, welcher den Expressionsvektor enthielt, wurde für die Co-Kultivierung verwendet. Agrobacterium wurde auf AB-Medium mit den entsprechenden Antibiotika inokuliert und 3 Tage lang bei 28°C kultiviert. Die Bakterien wurden dann gesammelt und in einem flüssigen Cokultivierungsmedium in einer Dichte (OD_{600}) von etwa 1 suspendiert. Die Suspension wurde dann in eine Petrischale überführt und die Calli wurden 15 Minuten lang in die Suspension eingetaucht. Die Callusgewebe wurden dann auf einem Filterpapier trocken getupft und auf verfestigtes Cokultivierungsmedium überführt und 3 Tage lang im Dunkeln bei 25°C inkubiert. Cokultivierte Calli wurden auf 2,4-D-enthaltendem Medium 4 Wochen lang im Dunkeln bei 28°C in Gegenwart eines Selektionsmittels wachsen gelassen. Während dieser Periode entwickeln sich rasch wachsende, resistente Callus-Inseln. Nach dem Übertragen dieses Materials auf ein Regenerationsmedium und Inkubation bei Licht wurde das embryogene Potenzial freigesetzt, und Sprosse entwickelten sich in den nächsten vier bis fünf Wochen. Die Sprosse wurden aus den Calli herausgeschnitten und 2 bis 3 Wochen lang auf einem auxinhaltigen Medium inkubiert, von welchem sie in den Erdboden überführt wurden. Gehärtete Sprosse wurden unter hoher Feuchtigkeit und bei kurzen Tagen in einem Gewächshaus wachsen gelassen.

[0604] 35 bis 90 unabhängige T0-Reis-Transformanten wurden für ein Konstrukt erzeugt. Die primären Transformanten wurden aus einer Gewebekulturkammer in ein Gewächshaus überführt. Nach einer quantitativen PCR-Analyse zur Bestätigung der Kopienzahl des T-DNA-Inserts wurden lediglich transgene Einzelkopie-Pflanzen, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel zeigen, für die Ernte von T1-Samen beibehalten. Die Samen wurden dann drei bis fünf Monate nach dem Umpflanzen geerntet. Das Verfahren ergab Einzel-Locus-Transformanten bei einer Rate von über 50% (Aldemita und Hodges 1996, Chan et al. 1993, Hiei et al. 1994).

Beispiel 31: Transformation anderer Kulturpflanzen

Transformation von Mais

[0605] Die Transformation von Mais (*Zea mays*) wird mit einer Abwandlung des Verfahrens durchgeführt, welches von Ishida et al. (1996) *Nature Biotech.* 14(6): 745–50 beschrieben wurde. Die Transformation in Mais ist genotypabhängig, und nur spezifische Genotypen sind einer Transformation und Regeneration zuführbar. Die Inzucht-Linie A188 (University of Minnesota) oder Hybride mit A188 als Elternteil sind gute Quellen von Spendermaterial für eine Transformation, aber auch andere Genotypen können erfolgreich verwendet werden. Ähren werden aus der Maispflanze ungefähr 11 Tage nach der Bestäubung (DAP) abgeerntet, wenn die Länge des unreifen Embryos ungefähr 1 bis 1,2 mm beträgt. Unreife Embryos werden mit *Agrobacterium tumefaciens*, welches den Expressionsvektor enthält, cokultiviert, und transgene Pflanzen werden durch Organogenese gewonnen. Herausgeschnittene Embryos werden auf Callus-Induktionsmedium und anschließend Mais-Regenerationsmedium, welches das Selektionsmittel enthält (zum Beispiel Imidazolinon, wobei jedoch verschiedene Selektionsmarker verwendet werden können), wachsen gelassen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C 2–3 Wochen lang, oder bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Mais-Bewurzelungsmedium überführt und bei 25°C 2 bis 3 Wochen lang, bis sich Wurzeln entwickeln, inkubiert. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Weizen

[0606] Die Transformation von Weizen wird mit dem Verfahren durchgeführt, welches von Ishida et al. (1996) *Nature Biotech.* 14(6): 745–50 beschrieben wurde. Üblicherweise wird das Kultivar Bobwhite (erhältlich von CIMMYT, Mexiko) bei der Transformation verwendet. Unreife Embryos werden mit *Agrobacterium tumefaciens*, welches den Expressionsvektor enthält, cokultiviert, und transgene Pflanzen werden durch Organogenese gewonnen. Nach der Inkubation mit *Agrobacterium* werden die Embryos *in vitro* auf Callus-Induktionsmedium, und dann Regenerationsmedium, welches das Selektionsmittel enthält (zum Beispiel Imidazolinon, wobei jedoch verschiedene Selektionsmarker verwendet werden können), wachsen gelassen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C 2–3 Wochen lang, oder bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Bewurzelungsmedium überführt und 2–3 Wochen lang, bis sich Wurzeln entwickeln, bei 25°C inkubiert. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Sojabohne

[0607] Sojabohne wird gemäß einer Modifikation der in der US-Patentschrift 5,164,310 von Texas A&M beschriebenen Methode transformiert. Mehrere kommerzielle Sojabohnensorten sind einer Transformation nach diesem Verfahren zugänglich. Üblicherweise wird das Kultivar Jack (erhältlich von der Illinois Seed Foundation) zur Transformation verwendet. Sojabohnensamen werden für das *In-vitro*-Aussäen sterilisiert. Das Hypokotyl, die Keimwurzel und ein Kotyledon werden aus sieben Tage alten Jungsämlingen herausgeschnitten. Das Epikotyl und das verbleibende Kotyledon werden weiter wachsen gelassen, um axilläre Nodi zu entwickeln. Diese axillären Nodi werden herausgeschnitten und mit *Agrobacterium tumefaciens* inkubiert, welches den Expressionsvektor enthält. Nach der Cokultivierungsbehandlung werden die Explantate gewaschen und auf Selektionsmedien überführt. Regenerierte Sprosse werden herausgeschnitten und auf ein Sprossverlängerungsmedium gebracht. Sprosse, welche nicht länger als 1 cm sind, werden auf Bewurzelungsmedium gebracht, bis sich Wurzeln entwickeln. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Raps/Canola

[0608] Kotyledonäre Keimblattstiele sowie Hypokotyle von einem 5–6 Tage alten Jungsämling werden als Explantate für die Gewebekultur verwendet und gemäß Babic et al. (1998, *Plant Cell Rep.* 17: 183–188) transformiert. Das kommerzielle Kultivar Westar (Agriculture Canada) ist die zur Transformation verwendete Standardvarietät, aber auch andere Varietäten können verwendet werden. Canola-Samen werden für das *In-vitro*-Aussäen oberflächensterilisiert. Die Keimblattstiel-Explantate mit dem anhängigen Kotyledon werden aus den *In-vitro*-Sämlingen herausgeschnitten und mit *Agrobacterium* (enthaltend den Expressionsvektor) durch Eintauchen des Schnittendes des Keimblattstiel-Explantats in die Bakteriensuspension inokuliert. Die Explantate werden dann 2 Tage lang auf MSBAP-3-Medium, enthaltend 3 mg/l BAP, 3% Saccharose, 0,7% Phytagar, bei 23°C, 16 Stunden Licht, kultiviert. Nach zwei Tagen Cokultivierung mit *Agrobacterium* werden die Keimblattstiel-Explantate auf MSBAP-3-Medium, enthaltend 3 mg/l BAP, Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin (300 mg/l) während 7 Tagen überführt und danach auf MSBAP-3-Medium mit Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin und Selektionsmittel bis zur Sprossregeneration kultiviert. Wenn die Sprosse 5–10 mm Länge aufweisen, werden sie abgeschnitten und auf Sprossverlängerungsmedium (MSBAP-0,5, enthaltend 0,5 mg/l BAP) überführt. Sprosse von etwa 2 cm Länge werden auf das Bewurzelungsmedium (MS0) zur Wurzelinduktion überführt. Die bewurzelten Schösslinge werden in Erde im Gewächshaus umgepflanzt. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Luzerne

[0609] Ein sich regenerierender Klon von Luzerne (*Medicago sativa*) wird unter Anwendung des Verfahrens von McKersie et al. (1999, *Plant Physiol.* 119: 839–847) transformiert. Die Regeneration und Transformation von Luzerne ist genotypabhängig, und daher wird eine sich regenerierende Pflanze benötigt. Verfahren zum Erhalten von sich regenerierenden Pflanzen sind beschrieben worden. Zum Beispiel können diese aus dem Kultivar Rangelander (Agriculture Canada) oder einer beliebigen anderen kommerziellen Luzerne-Varietät ausgewählt werden, wie es durch Brown, DCW, und A. Atanassov (1985, *Plant Cell Tissue Organ Culture* 4: 111–112) beschrieben wurde. Alternativ dazu ist die RA3-Varietät (University of Wisconsin) zur Verwendung

in der Gewebekultur ausgewählt worden (Walker et al., 1978, Am. J. Bot. 65: 654–659). Keimblattstiel-Explantate werden mit einer Übernachtskultur von *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 pMP90 (McKersie et al., 1999 Plant Physiol. 119: 839–847) oder LBA4404, enthaltend den Expressionsvektor, kokultiviert. Die Explantate werden drei Tage lang im Dunkeln auf SH-Induktionsmedium kokultiviert, welches 288 mg/l Pro, 53 mg/l Thio-prolin, 4,35 g/l K₂SO₄ und 100 µm Acetosyringinon enthält. Die Explantate werden in Murashige-Skoog-Medium von halber Stärke (Murashige und Skoog, 1962) gewaschen und auf dem gleichen SH-Induktionsmedium ohne Acetosyringinon aber mit einem geeigneten Selektionsmittel und einem geeigneten Antibiotikum zum Inhibieren des *Agrobacterium*-Wachstums ausplattiert. Nach einigen Wochen werden somatische Embryos auf BOi2Y-Entwicklungsmedium, das keine Wachstumsregulatoren, keine Antibiotika sowie 50 g/l Saccharose enthält, überführt. Somatische Embryos werden anschließend auf Murashige-Skoog-Medium von halber Stärke keimen gelassen. Bewurzelte Setzlinge wurden in Blumentöpfe umgepflanzt und in einem Gewächshaus wachsen gelassen. T1-Samen werden aus Pflanzen produziert, welche Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel aufzeigen und welche eine Einzelkopie des T-DNA-Inserts enthalten.

Transformation von Baumwolle

[0610] Baumwolle wird unter Verwendung von *Agrobacterium tumefaciens* gemäß dem in US 5,159,135 beschriebenen Verfahren transformiert. Die Baumwollsaamen werden 20 Minuten lang in 3%iger Natriumhypochloritlösung oberflächensterilisiert und in destilliertem Wasser mit 500 µg/ml Cefotaxim gewaschen. Die Samen werden dann für die Keimung in SH-Medium mit 50 µg/ml Benomyl überführt. Hypokotyle von 4 bis 6 Tage alten Setzlingen werden entfernt, in Stücke von 0,5 cm geschnitten und auf 0,8%igen Agar platziert. Eine *Agrobacterium*-Suspension (ungefähr 108 Zellen pro ml, verdünnt aus einer Übernachtskultur, transformiert mit dem Gen von Interesse und geeigneten Selektionsmarkern) wird für die Inokulation der Hypokotyl-Explantate verwendet. Nach 3 Tagen bei Raumtemperatur und Beleuchtung überführt man die Gewebe auf ein festes Medium (1,6 g/l Gelrite) mit Murashige-und-Skoog-Salzen mit B5-Vitaminen (Gamborg et al., Exp. Cell Res. 50: 151–158 (1968)), 0,1 mg/l 2,4-D, 0,1 mg/l 6-Furfurylaminopurin und 750 µg/ml MgCl₂ sowie mit 50 bis 100 µg/ml Cefotaxim und 400–500 µg/ml Carbenicillin zum Abtöten restlicher Bakterien. Individuelle Zelllinien werden nach zwei bis drei Monaten (mit Unterkulturen alle vier bis sechs Wochen) isoliert und werden auf selektivem Medium zur Gewebeerzeugung weiter kultiviert (30°C, 16 h Lichtperiode). Transformierte Gewebe werden anschließend auf nicht-selektivem Medium 2 bis 3 Monate lang weiter kultiviert, was zur Entstehung von somatischen Embryos führt. Gesund aussehende Embryos von mindestens 4 mm Länge werden in Röhrchen mit SH-Medium in feinem Vermiculit, das mit 0,1 mg/l Indoleessigsäure, 6-Furfurylaminopurin und Gibberellinsäure ergänzt ist, überführt. Die Embryos werden bei 30°C mit einer Lichtperiode von 16 h kultiviert, und Pflänzchen im 2- bis 3-Blattstadium werden in Blumentöpfe mit Vermiculit und Nährstoffen überführt. Die Pflanzen werden gehärtet und anschließend für die weitere Kultivierung ins Gewächshaus verbracht.

Beispiel 32: Vorgehen bei der phänotypischen Auswertung

32.1 Auswertungsansatz

[0611] 35 bis 90 unabhängige T0-Reis-Transformanten wurden erzeugt. Die primären Transformanten wurden aus einer Gewebekulturkammer in ein Gewächshaus zum Kultivieren und Ernten von T1-Samen überführt. Sechs Ereignisse, bei denen die T1-Nachkommenschaft hinsichtlich Gegenwart/Abwesenheit des Transgens bei 3:1 segregierte, wurden beibehalten. Für jedes dieser Ereignisse wurden ungefähr 10 T1-Setzlinge, enthaltend das Transgen (Hetero- und Homozygote), und ungefähr 10 T1-Setzlinge, denen das Transgen fehlte (Nullizygote), durch Überwachen der Expression des sichtbaren Markers selektiert. Die transgenen Pflanzen und die entsprechenden Nullizygoten wurden an zufälligen Positionen Seite an Seite wachsen gelassen. Die Gewächshausbedingungen bestanden aus kurzen Tagen (12 Stunden Licht), 28°C im Licht und 22°C im Dunkeln sowie einer relativen Feuchtigkeit von 70%. Pflanzen, welche unter Nichtstresbedingungen wachsen gelassen wurden, wurden in regelmäßigen Intervallen bewässert, um sicherzustellen, dass Wasser und Nährstoffe nicht limitierend sind, und um die Bedürfnisse der Pflanze zum Abschließen von Wachstum und Entwicklung zu erfüllen, es sei denn, sie wurden in einem Stresstest eingesetzt.

[0612] Vom Stadium des Aussäens bis zum Stadium der Reife wurden die Pflanzen mehrmals durch eine digitale Bilderzeugungs-Kammer hindurchgeleitet. An jedem Zeitpunkt wurden Digitalbilder (2048×1536 Pixel, 16 Millionen Farben) von jeder Pflanze aus mindestens 6 verschiedenen Winkeln aufgenommen.

[0613] T1-Ereignisse können unter Befolgen desselben Auswertungsvorgehens wie für die T1-Generation, z. B. mit weniger Ereignissen und/oder mit mehr Individuen pro Ereignis, in der T2-Generation weiter ausgewertet werden.

Dürre-Screen

[0614] T1- oder T2-Pflanzen werden in Blumentopferde unter normalen Bedingungen wachsen gelassen, bis sie sich dem Stadium des Ähren/Rispenschiebens näherten. Sie werden dann in einen "Trocken"-Bereich überführt, in welchem die Bewässerung weggelassen wird. Zur Überwachung des Bodenwassergehalts (SWC) werden Bodenfeuchtigkeitssonden in zufällig ausgewählte Blumentöpfe gesteckt. Fällt der SWC unter bestimmte Schwellenwerte, so werden die Pflanzen automatisch wieder fortwährend bewässert, bis erneut ein normaler Spiegel erreicht wird. Die Pflanzen werden dann zurück zu normalen Bedingungen überführt. Der Rest der Kultivierung (Pflanzenreife, Samenernte) ist der gleiche wie bei Pflanzen, die nicht unter abiotischen Stressbedingungen herangezogen werden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

Screen der Stickstoffausnutzungseffizienz

[0615] T1- oder T2-Pflanzen werden in Blumentopferde unter normalen Bedingungen wachsen gelassen, mit Ausnahme der Nährstofflösung. Die Blumentöpfe werden vom Umpflanzen bis zur Reife mit einer spezifischen Nährstofflösung bewässert, welche einen verringerten Stickstoff(N)-Gehalt enthält, üblicherweise zwischen 7- bis 8-mal weniger. Der Rest der Kultivierung (Pflanzenreife, Samenernte) ist der gleiche wie für Pflanzen, die nicht unter abiotischem Stress wachsen gelassen wurden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

Salzstress-Screen

[0616] T1- oder T2-Pflanzen wurden auf einem Substrat wachsen gelassen, das aus Kokosfasern und gebackenem Ton (Argex) (Verhältnis 3 zu 1) hergestellt ist. Eine normale Nährstofflösung wurde während der ersten zwei Wochen nach dem Umpflanzen der Pflänzchen in dem Gewächshaus verwendet. Nach den ersten zwei Wochen wurden der Nährstofflösung 25 mM Salz (NaCl) zugesetzt, bis die Pflanzen geerntet wurden. Wachstums- und Ertragsparameter werden aufgezeichnet, wie es für das Wachstum unter Normalbedingungen ausführlich dargestellt ist.

32.2 Statistische Analyse: F-Test

[0617] Eine Zwei-Faktor-ANOVA (Analyse von Varianten) wurde als ein statistisches Modell für die Gesamtauswertung von phänotypischen Pflanzenmerkmalen verwendet. Ein F-Test wurde bei allen gemessenen Parametern von allen Pflanzen aller Ereignisse, die mit dem Gen der vorliegenden Erfindung transformiert waren, durchgeführt. Der F-Test wurde durchgeführt, um eine Prüfung hinsichtlich eines Effekts des Gens über alle Transformationsereignisse hinweg vorzunehmen und einen Gesamteffekt des Gens, ebenfalls bekannt als globaler Geneffekt, zu bestätigen. Der Schwellenwert für Signifikanz für einen echten globalen Geneffekt wurde bei einer 5%-Wahrscheinlichkeitsstufe für den F-Test festgesetzt. Ein signifikanter F-Testwert deutet auf einen Geneffekt hin, was heißt, dass es nicht nur die bloße Gegenwart oder Position des Gens ist, welche die Unterschiede beim Phänotyp verursacht.

32.3 Gemessene Parameter

[0618] Vom Stadium des Aussäens bis zum Stadium der Reife wurden die Pflanzen mehrmals durch eine digitale Bilderzeugungs-Kammer hindurchgeleitet. An jedem Zeitpunkt wurden Digitalbilder (2048×1536 Pixel, 16 Millionen Farben) von jeder Pflanze aus mindestens 6 verschiedenen Winkeln aufgenommen, wie in WO2010/031780 beschrieben. Mit diesen Messungen wurden verschiedene Parameter bestimmt.

Messung von biomassebezogenen Parametern

[0619] Die oberirdische Pflanzenfläche (oder blattartige Biomasse) wurde durch Zählen der Gesamtzahl an Pixeln auf den Digitalbildern von oberirdischen Pflanzenteilen, die sich vom Hintergrund unterscheiden lassen, bestimmt. Dieser Wert wurde für die Bilder gemittelt, welche zum gleichen Zeitpunkt aus den unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, und wurde durch Kalibrierung in einen physikalischen Oberflächenwert umgewandelt, der in Quadratmillimetern ausgedrückt wird. Experimente zeigen, dass die auf diese Weise gemessene oberirdische Pflanzenfläche mit der Biomasse der oberirdischen Pflanzenteile korreliert. Die oberirdische Fläche ist die Fläche, welche an dem Zeitpunkt gemessen wird, an dem die Pflanze ihre maximale Blatt-Biomasse erreicht hatte.

[0620] Die Erhöhung der Wurzelbiomasse wird als eine Erhöhung der Gesamtwurzelbiomasse (gemessen als das Maximum der Biomasse von Wurzeln, das während der Lebensdauer einer Pflanze beobachtet wird); oder als eine Erhöhung im Wurzel/Spross-Index, gemessen als das Verhältnis zwischen Wurzelmasse und Sprossmasse in der Periode des aktiven Wachstums von Wurzel und Spross, ausgedrückt. In anderen Worten, der Wurzel-Spross-Index ist definiert als das Verhältnis der Schnelligkeit des Wurzelwachstums zur Schnelligkeit des Sprosswachstums in der Zeit des aktiven Wachstums von Wurzel und Spross. Die Wurzelbiomasse lässt sich nach der in WO 2006/029987 beschriebenen Methode bestimmen.

Mit der Entwicklungszeit in Zusammenhang stehende Parameter

[0621] Die Jungpflanzenvitalität ist die oberirdische Pflanzenfläche drei Wochen nach der Keimung. Die Jungpflanzenvitalität wurde durch Zählen der Gesamtzahl an Pixeln von oberirdischen Pflanzenteilen, welche sich vom Hintergrund unterscheiden lassen, bestimmt. Dieser Wert wurde für die Bilder gemittelt, welche zum gleichen Zeitpunkt aus unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, und wurde durch Kalibrierung in einen physikalischen Oberflächenwert umgewandelt, der in Quadratmillimetern ausgedrückt wird.

[0622] AreaEmer gibt einen Hinweis auf eine schnelle Frühentwicklung, wenn dieser Wert im Vergleich zu Kontrollpflanzen vermindert ist. Er stellt das Verhältnis in % zwischen der Zeit, die eine Pflanze benötigt, um 30% der Endbiomasse zu produzieren, und der Zeit, die benötigt wird, um 90% der Endbiomasse zu produzieren, dar.

[0623] Die "Zeit bis zur Blüte" oder "Blütezeit" der Pflanze lässt sich unter Anwendung des in WO 2007/093444 beschriebenen Verfahrens bestimmen.

Messungen von samenbezogenen Parametern

[0624] Die reifen Hauptrispen wurden geerntet, gezählt, eingetütet, mit einem Strichcode etikettiert und dann drei Tage lang in einem Ofen bei 37°C getrocknet. Die Rispen wurden dann gedroschen, und alle Samen wurden gesammelt und gezählt. Die Samen sind gewöhnlich von einer trockenen äußeren Umhüllung, der Hülse, bedeckt. Die gefüllten Hülsen (hier auch als gefüllte Einzelblüten bezeichnet) wurden von den leeren Hülsen unter Verwendung einer Luftgebläsevorrichtung getrennt. Die leeren Hülsen wurden verworfen, und die verbleibende Fraktion wurde erneut gezählt. Die gefüllten Hülsen wurden auf einer Analysewaage gewogen.

[0625] Die Gesamtanzahl an Samen wurde durch Zählen der Anzahl an gefüllten Hülsen bestimmt, welche nach dem Trennungsschritt verblieb. Das Gesamtsamengewicht wurde durch Wiegen aller von einer Pflanze abgeernteten gefüllten Hülsen gemessen.

[0626] Die Gesamtanzahl an Samen (oder Einzelblüten) pro Pflanze wurde durch Auszählen der von einer Pflanze geernteten Hülsen (gleich ob gefüllt oder nicht) bestimmt.

[0627] Das Tausendkerngewicht (TKW) wird aus der gezählten Anzahl an Samen und ihrem Gesamtgewicht extrapoliert.

[0628] Der Ernteindex (Harvest Index, HI) ist in der vorliegenden Erfindung definiert als das Verhältnis zwischen dem Gesamtsamengewicht und der oberirdischen Fläche (mm^2), multipliziert mit einem Faktor von 10^6 .

[0629] Die Anzahl an Blüten pro Rispe, wie in der vorliegenden Erfindung definiert, ist das Verhältnis zwischen der Gesamtzahl an Samen zur Anzahl an reifen Hauptrispen.

[0630] Die "Samenfüllrate", wie in der vorliegenden Erfindung definiert, ist der Anteil (ausgedrückt als ein %-Wert) der Anzahl gefüllter Samen (d. h. der Samen enthaltenden Einzelblüten) gegenüber der Gesamtzahl an Samen (d. h. Gesamtzahl an Einzelblüten). In anderen Worten ist die Samenfüllrate der Anteil an mit Samen gefüllten Einzelblüten in Prozent.

Beispiel 33: Ergebnisse der phänotypischen Auswertung der transgenen Pflanzen

[0631] Die Ergebnisse der Untersuchung von eine funktionell mit dem RCc3-Promotor verbundenen HD8-ähnliche Nukleinsäure exprimierenden und unter Nichtstressbedingungen kultivierten transgenen Reispflanzen sind unten aufgeführt. Eine Zunahme wurde beim Gesamtsamengewicht, der Anzahl an gefüllten Samen, der Füllrate und dem Ernteindex beobachtet (Tabelle M). Darüber hinaus waren zwei die HD8-ähnliche Nu-

kleinsäure exprimierende Pflanzenlinien im Vergleich zu Kontrollpflanzen höher. Die Zunahme bei der Höhe betrug bei beiden Linien mehr als 5% (p-Wert < 0,1).

Tabelle M: Zusammenfassung der Daten für transgene Reispflanzen; gezeigt ist die Gesamtzunahme in Prozent für jeden Parameter, und für alle Parameter ist der p-Wert < 0,05.

Parameter	Insgesamt
Samengesamtgewicht	15,4
Füllrate	28,1
Ernteindex	17,3
Anzahl an gefüllten Samen	13,6

Es folgt ein Sequenzprotokoll nach WIPO St. 25. Dieses kann von der amtlichen Veröffentlichungsplattform des DPMA heruntergeladen werden.

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- WO 2003007699 [0028]
- EP 2005003297 [0028]
- US 5811238 [0068]
- US 6395547 [0068]
- WO 2004/070039 [0076, 0082, 0082, 0082, 0082, 0082, 0082, 0082, 0082, 0084]
- WO 2004/065596 [0076]
- US 4962028 [0076]
- WO 01/14572 [0076]
- WO 95/14098 [0076]
- WO 94/12015 [0076]
- US 5401836 [0081]
- US 20050044585 [0081]
- EP 99106056 [0082]
- US 5565350 [0090, 0095]
- WO 00/15815 [0090]
- WO 9322443 [0095]
- WO 98/53083 [0101]
- WO 99/53050 [0101]
- US 4987071 [0110]
- US 5116742 [0110]
- WO 94/00012 [0110]
- WO 95/03404 [0110]
- WO 00/00619 [0110]
- WO 97/13865 [0110]
- WO 97/38116 [0110]
- WO 98/36083 [0111]
- WO 99/15682 [0111]
- EP 1198985 A1 [0121]
- WO 2007/093444 [0135, 0520, 0572, 0623]
- US 5164310 [0505, 0556, 0607]
- US 5159135 [0508, 0559, 0610]
- WO 2010/031780 [0516, 0567, 0618]
- WO 2006/029987 [0522, 0569, 0620]

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Wang et al., Planta 218, 1–14, 2003 [0008]
- Kleffmann et al. (Curr Biol. 1, 354–362, 2004) [0014]
- Zybailov et al. PLoS One. 3(4): e1994, 2008 [0014]
- Rutschow et al. Plant Physiol. 148, 156–75, 2008 [0014]
- Fang et al. (Molecular & Cellular Proteomics 1.12 (2002): 956–966) [0018]
- Suzuki et al. (Molecular Microbiology (2001) 40(1): 235–244) [0020]
- Agarwal et al. (Journal of Proteomics 73 (2010): 976–991) [0021]
- Gazzaniga et al. (2009; Microbiol Mol Biol Rev 73: 529–541) [0026]
- Gerdes et al. (2006, JOURNAL OF BACTERIOLOGY 3012–3023 Band 188, Nr. 80021) [0027]
- Nakano et al. (Plant Physiology 140, 411–432, 2006) [0028]
- Wang et al., Plant Molecular Biology 58, 183–192, 2004 [0028]
- Tang et al, Plant Cell Rep. 26, 115–124, 2007 [0028]
- Yi et al., Plant Physiol. 136, 2862–2874, 2004 [0028]
- Jung et al., Planta Epub 26 August 2006 [0028]
- Creighton (1984) Proteins. W. H. Freeman and Company [0047]
- Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523–533, 2003 [0049]
- Schultz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5857–5864 [0053]
- Letunic et al. (2002) Nucleic Acids Res 30, 242–244 [0053]
- Mulder et al., (2003) Nucl. Acids. Res. 31, 315–318 [0053]
- Bucher und Bairoch (1994), A generalized profile syntax for biomolecular sequences motifs and its function in automatic sequence interpretation. (In) ISMB-94 [0053]
- Proceedings 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D., Hrsg., S. 53–61, AAAI Press, Menlo Park [0053]
- Hulo et al., Nucl. Acids. Res. 32: D134–D137, (2004) [0053]
- Bateman et al., Nucleic Acids Research 30(1) : 276–280 (2002) [0053]
- Schweizer Institut für Bioinformatik; Gasteiger et al., ExpASY: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis, Nucleic Acids Res. 31: 3784–3788 (2003) [0053]
- Needleman und Wunsch ((1970) J. Mol. Biol. 48: 443–453) [0054]
- Altschul et al. (1990) J Mol Biol 215: 403–10 [0054]
- Campanella et al., BMC Bioinformatics. 10. Juli 2003; 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences [0054]

- Smith TF, Waterman MS (1981) *J. Mol. Biol.* 147(1): 195–7 [0054]
- Meinkoth und Wahl, *Anal. Biochem.*, 138: 267–284, 1984 [0059]
- Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: a laboratory manual*, 3. Ausgabe, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, New York oder auf *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989 und jährliche Aktualisierungen) [0063]
- Foissac und Schiex (2005) *BMC Bioinformatics* 6: 25 [0064]
- Castle et al., (2004) *Science* 304(5674): 1151–4 [0068]
- Heid et al., 1996 *Genome Methods* 6: 986–994 [0074]
- McElroy et al., *Plant Cell*, 2: 163–171, 1990 [0076]
- Odell et al., *Nature*, 313: 810–812, 1985 [0076]
- Nilsson et al., *Physiol. Plant.* 100: 456–462, 1997 [0076]
- de Pater et al., *Plant J. Nov.*; 2(6): 837–44, 1992 [0076]
- Christensen et al., *Plant Mol. Biol.* 18: 675–689, 1992 [0076]
- Buchholz et al., *Plant Mol. Biol.* 25(5): 837–43, 1994 [0076]
- Lepetit et al., *Mol. Gen. Genet.* 231: 276–285, 1992 [0076]
- Wu et al. (*Plant Mol. Biol.* 11: 641–649, 1988 [0076])
- An et al., *Plant J.* 10(1): 107–121, 1996 [0076]
- Sanger et al., *Plant Mol. Biol.*, 14, 1990: 433–443 [0076]
- Leisner (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 (5): 2553 [0076]
- Jain et al., *Crop Science*, 39 (6), 1999: 1696 [0076]
- Jain et al., *Crop Science*, 39 (6), 1999: 1696 [0076]
- Shaw et al. (1984) *Nucleic Acids Res.* 12(20): 7831–7846 [0076]
- Gatz 1997, *Annu. Rev. Plant Physiol. (Plant Mol. Biol.)*, 48: 89–108 [0079]
- *Plant Mol Biol.* 1995 Jan; 27(2): 237–48 [0081]
- Koyama et al. *J Biosci Bioeng.* 2005 Jan; 99 (1): 38–42 [0081]
- Mudge et al. (2002, *Plant J.* 31: 341) [0081]
- Xiao et al., 2006, *Plant Biol (Stuttg)*. 2006 Jul; 8(4): 439–49 [0081]
- Nitz et al. (2001) *Plant Sci.* 161(2): 337–346 [0081]
- Tingey et al., *EMBO J.* 6: 1, 1987 [0081]
- Van der Zaal et al., *Plant Mol. Biol.* 16, 983, 1991 [0081]
- Oppenheimer et al., *Gene* 63: 87, 1988 [0081]
- Conkling et al., *Plant Physiol.* 93: 1203, 1990 [0081]
- Suzuki et al., *Plant Mol. Biol.* 21: 109–119, 1993 [0081]
- Baumberger et al. 2001, *Genes & Dev.* 15: 1128 [0081]
- Lauter et al. (1996, *PNAS* 3: 8139) [0081]
- Liu et al., *Plant Mol. Biol.* 17(6): 1139–1154 [0081]
- Downey et al. (2000, *J. Biol. Chem.* 275: 39420) [0081]
- W. Song (1997) Doktorarbeit, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA [0081]
- Wang et al. 2002, *Plant Sci.* 163: 273 [0081]
- Diener et al. (2001, *Plant Cell* 13: 1625) [0081]
- Quesada et al. (1997, *Plant Mol. Biol.* 34: 265) [0081]
- Qing Qu und Takaiwa (*Plant Biotechnol. J.* 2, 113–125, 2004) [0082]
- Simon et al., *Plant Mol. Biol.* 5: 191, 1985 [0082]
- Scofield et al., *J. Biol. Chem.* 262: 12202, 1987 [0082]
- Baszczyński et al., *Plant Mol. Biol.* 14: 633, 1990 [0082]
- Pearson et al., *Plant Mol. Biol.* 18: 235–245, 1992 [0082]
- Ellis et al., *Plant Mol. Biol.* 10: 203–214, 1988 [0082]
- Takaiwa et al., *Mol. Gen. Genet.* 208: 15–22, 1986 [0082]
- Takaiwa et al., *FEBS Letts.* 221: 43–47, 1987 [0082]
- Matzke et al., *Plant Mol. Biol.*, 14(3): 323–32 1990 [0082]
- Stalberg et al., *Planta* 199: 515–519, 1996 [0082]
- *Mol. Gen. Genet.* 216: 81–90, 1989; *NAR* 17: 461–2, 1989 [0082]
- Albani et al., *Plant Cell*, 9: 171–184, 1997 [0082]
- *EMBO J.* 3: 1409–15, 1984 [0082]
- Diaz et al. (1995) *Mol. Gen. Genet.* 248(5): 592–8 [0082]
- *Theor. Appl. Gen.* 98: 1253–62, 1999 [0082]
- *Plant J.* 4: 343–55, 1993 [0082]
- *Mol. Gen. Genet.* 250: 750–60, 1996 [0082]
- Mena et al., *The Plant Journal*, 116(1): 53–62, 1998 [0082]
- Vicente-Carbajosa et al., *Plant J.* 13: 629–640, 1998 [0082]
- Wu et al., *Plant Cell Physiology* 39(8) 885–889, 1998 [0082]
- Wu et al., *Plant Cell Physiology* 39(8) 885–889, 1998 [0082]
- Sato et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 8117–8122, 1996 [0082]
- Nakase et al. (*Plant Mol. Biol.* 33: 513–522, 1997 [0082])

- Trans. Res. 6: 157–68, 1997 [0082]
- Plant J. 12: 235–46, 1997 [0082]
- DeRose et al., Plant Mol. Biol 32: 1029–35, 1996 [0082]
- Postma-Haarsma et al., Plant Mol. Biol. 39: 257–71, 1999 [0082]
- Wu et al, J. Biochem. 123: 386, 1998 [0082]
- Cummins et al., Plant Mol. Biol. 19: 873–876, 1992 [0082]
- Lanahan et al., Plant Cell 4: 203–211, 1992 [0082]
- Skriver et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7266–7270, 1991 [0082]
- Cejudo et al., Plant Mol. Biol. 20: 849–856, 1992 [0082]
- Kalla et al., Plant J. 6: 849–60, 1994 [0082]
- Leah et al., Plant J. 4: 579–89, 1994 [0082]
- Selinger et al., Genetics 149; 1125–38, 1998 [0082]
- Takaiwa et al., (1986) Mol. Gen. Genet. 208: 15–22 [0082]
- Takaiwa et al. (1987) FEBS Letts. 221: 43–47 [0082]
- Matzke et al., (1990) Plant Mol. Biol. 14(3): 323–32 [0082]
- Colot et al. (1989) Mol. Gen. Genet. 216: 81–90 [0082]
- Anderson et al. (1989) NAR 17: 461–2 [0082]
- Albani et al. (1997) Plant Cell 9: 171–184 [0082]
- Rafalski et al. (1984) EMBO 3: 1409–15 [0082]
- Diaz et al. (1995) Mol. Gen. Genet. 248(5): 592–8 [0082]
- Cho et al. (1999) Theor. Appl. Genet. 98: 1253–62 [0082]
- Muller et al. (1993) Plant J. 4: 343–55 [0082]
- Sorenson et al. (1996) Mol. Gen. Genet. 250: 750–60 [0082]
- Mena et al., (1998) Plant J. 116(1): 53–62 [0082]
- Onate et al. (1999) J. Biol. Chem. 274(14): 9175–82 [0082]
- Vicente-Carbajosa et al. (1998) Plant J. 13: 629–640 [0082]
- Wu et al., (1998) Plant Cell Physiol. 39(8) 885–889 [0082]
- Nakase et al. (1997) Plant Mol. Biol. 33: 513–522 [0082]
- Russell et al. (1997) Trans. Res. 6: 157–68 [0082]
- Opsahl-Ferstad et al. (1997) Plant J. 12: 235–46 [0082]
- DeRose et al. (1996) Plant Mol. Biol. 32: 1029–35 [0082]
- Sato et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117–8122, 1996 [0082]
- Postma-Haarsma et al., Plant Mol. Biol. 39: 257–71, 1999 [0082]
- Lanahan et al., Plant Cell 4: 203–211, 1992 [0082]
- Skriver et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7266–7270, 1991 [0082]
- Cejudo et al., Plant Mol. Biol. 20: 849–856, 1992 [0082]
- Kalla et al., Plant J. 6: 849–60, 1994 [0082]
- Leah et al., Plant J. 4: 579–89, 1994 [0082]
- Selinger et al., Genetics 149; 1125–38, 1998 [0082]
- Fukavama et al., Plant Physiol. 2001 Nov; 127(3): 1136–46 [0084]
- Kausch et al., Plant Mol Biol. 2001 Jan; 45(1) : 1–15 [0084]
- Lin et al., 2004 DNA Seq. 2004 Aug; 15(4): 269–76 [0084]
- Nomura et al., Plant Mol Biol. 2000 Sep; 44 (1): 99–106 [0084]
- Panguluri et al., Indian J Exp Biol. 2005 Apr; 43(4): 369–72 [0084]
- Sato et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117–8122 [0085]
- Wagner & Kohorn (2001) Plant Cell Apikalmeristeme, und in 13(2): 303–318 [0085]
- Tribble et al., J. Biol. Chem., 275, 2000: 22255–22267 [0089]
- Velmurugan et al., J. Cell Biol., 149, 2000: 553–566 [0089]
- Buchman und Berg (1988) Mol. Cell Biol. 8: 4395–4405 [0097]
- Callis et al. (1987) Genes Dev. 1: 1183–1200 [0097]
- The Maize Handbook, Kapitel 116, Freeling und Walbot, Hrsg., Springer, N.Y. (1994) [0097]
- Gaultier et al. (1987) Nucl. Ac. Res. 15: 6625–6641 [0109]
- Inoue et al. (1987) Nucl. Ac. Res. 15, 6131–6148 [0109]
- Inoue et al. (1987) FEBS Lett. 215, 327–330 [0109]
- Haselhoff und Gerlach (1988) Nature 334, 585–591 [0110]
- Bartel und Szostak (1993) Science 261, 1411–1418 [0110]
- Angell und Baulcombe ((1999) Plant J. 20(3): 357–62 [0111]
- Helene, C., Anticancer Drug Res. 6, 569–84, 1991 [0113]
- Helene et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 660, 27–36 1992 [0113]
- Maher, L. J. Bioassays 14, 807–15, 1992 [0113]
- Schwab et al., Dev. Cell 8, 517–527, 2005 [0117]
- Schwab et al., Plant Cell 18, 1121–1133, 2006 [0117]
- Krens, F. A. et al., (1982) Nature 296, 72–74 [0121]

- Negrutiu, I., et al. (1987) *Plant Mol. Biol.* 8: 363–373 [0121]
- Shillito R. D. et al. (1985) *Bio/Technol.* 3, 1099–1102 [0121]
- Crossway, A., et al., (1986) *Mol. Gen. Genet.*, 202: 179–185 [0121]
- Klein TM et al., (1987) *Nature* 327: 70 [0121]
- Clough und Bent, *Plant J.* (1998) 16, 735–743 [0121]
- Aldemita und Hodges (*Planta* 199: 612–617, 1996) [0121]
- Chan et al. (*Plant Mol. Biol.* 22 (3): 491–506, 1993) [0121]
- Hiei et al. (*Plant J.* 6 (2): 271–282, 1994) [0121]
- Ishida et al. (*Nat. Biotechnol* 14(6): 745–50, 1996) [0121]
- Frame et al. (*Plant Physiol.* 129(1): 13–22, 2002) [0121]
- B. Jenes et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. S. D. Kung und R. Wu, Academic Press (1993) 128–143 [0121]
- Potrykus *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991) 205–225 [0121]
- Bevan et al., *Nucl. Acids Res.* 12 (1984) 8711 [0121]
- Höfgen und Willmitzer in *Nucl. Acids Res.* (1988) 16, 9877 [0121]
- F. F. White, *Vectors for Gene Transfer in Higher Plants*; in *Transgenic Plants*, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg.: S. D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15–38 [0121]
- Feldman, KA, und Marks, MD (1987). *Mol. Gen. Genet.* 208: 1–9 [0122]
- Feldmann, K., (1992). in: C. Koncz, N-H. Chua und J. Shell (Hrsg.), *Methods in Arabidopsis Research*. Word Scientific, Singapur, S. 274–289 [0122]
- Chang (1994). *Plant J.* 5: 551–558 [0122]
- Katavic (1994). *Mol. Gen. Genet.*, 245: 363–370 [0122]
- Bechthold, N. (1993). *C. R. Acad. Sci. Paris Life Sci.*, 316: 1194–1199 [0122]
- Clough, SJ, und Bent, AF (1998) *The Plant J.* 16, 735–743 [0122]
- Klaus et al., 2004 [*Nature Biotechnology* 22 (2), 225–229] [0122]
- Bock (2001) "Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology". *J. Mol. Biol.* 21. Sep. 2001; 312 (3): 425–38 [0122]
- Maliga, P. (2003) "Progress towards commercialization of plastid transformation technology". *Trends Biotechnol.* 21, 20–28 [0122]
- Klaus et al., 2004, *Nature Biotechnology* 22 (2), 225–229 [0122]
- Hayashi et al. *Science* (1992) 1350–1353 [0127]
- Redei, GP und Koncz, C (1992), in: *Methods in Arabidopsis Research*, Koncz, C, Chua, NH, Schell, J (Hrsg.) Singapur, World Scientific Publishing Co, S. 16–82 [0128]
- Feldmann et al., (1994) in: Meyerowitz. EM, Somerville. CR (Hrsg.), "Arabidopsis". Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, S. 137–172 [0128]
- Lightner, J. und Caspar, T. (1998) in: J. Martinez-Zapater, J. Salinas, (Hrsg.), *Methods in Molecular Biology*, Band 82. Humana Press, Totowa, NJ, S. 91–104 [0128]
- McCallum et al., (2000) *Nat. Biotechnol.* 18: 455–457 [0128]
- Stemple (2004) *Nat. Rev. Genet.* 5(2): 145–50 [0128]
- Offringa et al. (1990) *EMBO J.* 9(10): 3077–84 [0129]
- Terada et al. (2002) *Nat. Biotech.* 20(10): 1030–4 [0129]
- lida und Terada (2004) *Curr. Opin. Biotech.* 15(2): 132–8 [0129]
- Miller et al., *Nature Biotechnol.* 25, 778–785, 2007 [0129]
- Wang et al. (*Planta* (2003) 218: 1–14) [0140]
- Rabbani et al. (*Plant Physiol* (2003) 133: 1755–1767) [0140]
- Sambrook J., Fritsch, EF., und Maniatis, T., (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* [0155]
- Lander et al. (1987) *Genomics* 1: 174–181 [0155]
- Botstein et al. (1980) *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314–331 [0155]
- Bernatzky und Tanksley (1986) *Plant Mol. Biol. Reporter* 4: 37–41 [0156]
- Hoheisel et al. in: *Non-mammalian Genomic Analysis: A Practical Guide*, Academic Press 1996, S. 319–346 [0157]
- Trask (1991) *Trends Genet.* 7: 149–154 [0158]
- Laan et al. (1995) *Genome Res.* 5: 13-20 [0158]
- Kazazian (1989) *J. Lab. Clin. Med* 11: 95–96 [0159]
- CAPS; Sheffield et al. (1993) *Genomics* 16: 325–332 [0159]
- Landegren et al. (1988) *Science* 241: 1077–1080 [0159]
- Sokolov (1990) *Nucleic Acid Res.* 18: 3671 [0159]
- Walter et al. (1997) *Nat. Genet.* 7: 22–28 [0159]
- Dear und Cook (1989) *Nucleic Acid Res.* 17: 6795–6807 [0159]
- Bailey und Elkan, *Proceedings of the Second International Conference an Intelligent Systems for Molecular Biology*, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994 [0173]
- Gazzaniga et al. 2009 [0195]

- Gazzaniga et al. 2009 [\[0222\]](#)
- Gazzaniga et al. 2009 [\[0230\]](#)
- Gazzaniga et al. 2009 [\[0235\]](#)
- Current Protocols in Molecular Biology. Wiley, Hrsg. [\[0236\]](#)
- Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237–48 [\[0263\]](#)
- Bailey und Elkan, Proceedings of the Second International Conference an Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994 [\[0292\]](#)
- Gasser 2003, Plant Mol Biol. 53(3): 281–95 [\[0298\]](#)
- Nieto-Sotelo et al. 1994 Plant Cell 6: 287–301 [\[0298\]](#)
- Zhang et al. 2003 Biochemistry 42: 6596–6607 [\[0298\]](#)
- Klosterman 2002 Plant Science 162, 855–866 [\[0298\]](#)
- Current Protocols in Molecular Biology. Wiley, Hrsg. [\[0323\]](#)
- Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237–48 [\[0340\]](#)
- Bailey und Elkan, Proceedings of the Second International Conference an Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994 [\[0364\]](#)
- Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008 [\[0369\]](#)
- Sessa et al., EMBO J. 12(9): 3507–3517, 1993 [\[0370\]](#)
- Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008 [\[0379\]](#)
- Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008 [\[0383\]](#)
- Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008 [\[0386\]](#)
- Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008 [\[0389\]](#)
- Jain et al., FEBS Journal 275, 2845–2861, 2008 [\[0392\]](#)
- Current Protocols in Molecular Biology. Wiley, Hrsg. [\[0393\]](#)
- Plant Mol Biol. 1995 Jan; 27(2): 237–48 [\[0410\]](#)
- Cascales et al. (Molecular Microbiology (2001), 42(3): 795–807) [\[0432\]](#)
- Jain et al., 2008 [\[0448\]](#)
- (Sambrook (2001) Molecular Cloning: a laboratory manual, 3. Ausgabe, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, New York) oder in den Bänden 1 und 2 von Ausubel et al. (1994), Current Protocols in Molecular Biology, Current Protocols [\[0452\]](#)
- Plant Molecular Biology Labfax (1993) von R. D. D. Croy, veröffentlicht von BIOS Scientific Publications Ltd (Großbritannien) und Blackwell Scientific Publications (Großbritannien) [\[0452\]](#)
- Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 [\[0453\]](#)
- Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402 [\[0453\]](#)
- Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 [\[0456\]](#)
- Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402 [\[0456\]](#)
- Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 [\[0459\]](#)
- Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402 [\[0459\]](#)
- Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882 [\[0462\]](#)
- Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500 [\[0462\]](#)
- Katoh et al., Nucleic Acids Res., 30: 3059–3066, 2002 [\[0463\]](#)
- Dendroscope: Huson et al. (2007), BMC Bioinformatics 8(1): 460 [\[0463\]](#)
- Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882 [\[0464\]](#)
- Chenna et al. (2003) Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500 [\[0464\]](#)
- Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882 [\[0465\]](#)
- Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500 [\[0465\]](#)
- Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882 [\[0467\]](#)
- Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500 [\[0467\]](#)
- Gazzaniga et al. 2009 [\[0467\]](#)
- BMC Bioinformatics. 2003 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. Campanella JJ, Bitincka L, Smalley J [\[0468\]](#)
- Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003 [\[0481\]](#)
- Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003 [\[0484\]](#)
- Gerdes et al. (2006) [\[0485\]](#)
- Kurnasov et al. 2002, J. Bacteriol. 184: 6906–6917 [\[0486\]](#)
- Balducci et al. (1995, Anal. Biochem. 228: 64–68 [\[0486\]](#)
- Kurnasov et al. 2002 [\[0486\]](#)
- Kurnasov et al. 2002 [\[0487\]](#)
- Zhang et al. 2003, J. Biol. Chem. 278: 13503–13511 [\[0488\]](#)
- Gerdes et al. 2006 [\[0489\]](#)
- Aldemita und Hodges 1996 [\[0502\]](#)
- Chan et al. 1993 [\[0502\]](#)
- Hiei et al. 1994 [\[0502\]](#)
- Ishida et al. (1996) Nature Biotech. 14(6): 745–50 [\[0503\]](#)
- Ishida et al. (1996) Nature Biotech. 14(6): 745–50 [\[0504\]](#)
- Babic et al. (1998, Plant Cell Rep. 17: 183–188) [\[0506\]](#)

- McKersie et al. (1999, Plant Physiol. 119: 839–847) [\[0507\]](#)
- Brown, DCW, und A. Atanassov (1985. Plant Cell Tissue Organ Culture 4: 111–112) [\[0507\]](#)
- Walker et al., 1978, Am. J. Bot. 65: 654–659 [\[0507\]](#)
- McKersie et al., 1999 Plant Physiol. 119: 839–847 [\[0507\]](#)
- Murashige und Skoog, 1962 [\[0507\]](#)
- Gamborg et al., Exp. Cell Res. 50: 151–158 (1968) [\[0508\]](#)
- Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 [\[0533\]](#)
- Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402 [\[0533\]](#)
- Thompson et al. (1997) Nucleic. Acids Res. 25: 4876–4882 [\[0536\]](#)
- Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500 [\[0536\]](#)
- Katoh und Toh (2008) Briefings in Bioinformatics 9: 286–298 [\[0537\]](#)
- Howe et al. (2002), Bioinformatics 18(11): 1546–7 [\[0537\]](#)
- Huson et al. (2007), BMC Bioinformatics 8(1) : 460 [\[0537\]](#)
- BMC Bioinformatics. 2003 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. Campanella JJ, Bitincka L, Smalley J; Software wurde bereitgestellt von Ledion Bitincka [\[0538\]](#)
- Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003 [\[0547\]](#)
- Sakuma et al. (Bioch. Biophys. Res. Comm. 290: 998–1009, 2002) [\[0548\]](#)
- Aldemita und Hodges 1996 [\[0553\]](#)
- Chan et al. 1993 [\[0553\]](#)
- Hiei et al. 1994 [\[0553\]](#)
- Ishida et al. (1996) Nature Biotech. 14(6): 745–50 [\[0554\]](#)
- Ishida et al. (1996) Nature Biotech. 14(6): 745–50 [\[0555\]](#)
- Babic et al. (1998, Plant Cell Rep. 17: 183–188) [\[0557\]](#)
- McKersie et al. (1999, Plant Physiol. 119: 839–847) [\[0558\]](#)
- Brown, DCW, und A. Atanassov (1985. Plant Cell Tissue Organ Culture 4: 111–112) [\[0558\]](#)
- Walker et al., 1978, Am. J. Bot. 65: 654–659 [\[0558\]](#)
- McKersie et al., 1999 Plant Physiol. 119: 839–847 [\[0558\]](#)
- Murashige und Skoog, 1962 [\[0558\]](#)
- Gamborg et al., Exp. Cell Res. 50: 151–158 (1968) [\[0559\]](#)
- Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403–410 [\[0583\]](#)
- Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389–3402 [\[0583\]](#)
- Thompson et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882 [\[0586\]](#)
- Chenna et al. (2003). Nucleic Acids Res. 31: 3497–3500 [\[0586\]](#)
- Jain et al., 2008 [\[0587\]](#)
- Saitou & Nei, Mol Biol Evol 4, 406–425, 1987 [\[0587\]](#)
- Perriere & Gouy, Biochimie 78, 364–369, 1996 [\[0587\]](#)
- BMC Bioinformatics. 2003 4: 29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. Campanella JJ, Bitincka L, Smalley J [\[0588\]](#)
- Park und Kanehisa, Bioinformatics, 19, 1656–1663, 2003 [\[0597\]](#)
- Di Cristina et al. (Plant J. 10, 393–402, 1996) [\[0598\]](#)
- Aldemita und Hodges 1996 [\[0604\]](#)
- Chan et al. 1993 [\[0604\]](#)
- Hiei et al. 1994 [\[0604\]](#)
- Ishida et al. (1996) Nature Biotech. 14(6): 745–50 [\[0605\]](#)
- Ishida et al. (1996) Nature Biotech. 14(6): 745–50 [\[0606\]](#)
- Babic et al. (1998, Plant Cell Rep. 17: 183–188) [\[0608\]](#)
- McKersie et al. (1999, Plant Physiol. 119: 839–847) [\[0609\]](#)
- Brown, DCW, und A. Atanassov (1985. Plant Cell Tissue Organ Culture 4: 111–112) [\[0609\]](#)
- Walker et al., 1978, Am. J. Bot. 65: 654–659 [\[0609\]](#)
- McKersie et al., 1999 Plant Physiol. 119: 839–847 [\[0609\]](#)
- Murashige und Skoog, 1962 [\[0609\]](#)
- Gamborg et al., Exp. Cell Res. 50: 151–158 (1968) [\[0610\]](#)

Patentansprüche

1. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das LEJ1-Polypeptid mindestens eine, vorzugsweise zwei, CBS-Domäne(n) (SMART-Eintrag SM00116) umfasst.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der Nukleinsäure, die für das LEJ1-Polypeptid codiert, in einer Pflanze bewirkt wird.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise eine erhöhte Biomasse und/oder einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.

4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nicht-stressbedingungen erhalten werden.

5. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Dürrestressbedingungen, Salzstressbedingungen oder Stickstoffmangelbedingungen erhalten werden.

6. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das LEJ1-Polypeptid eines oder mehrere der Motive 1 bis 6 (SEQ ID NR: 205 bis SEQ ID NR: 210) umfasst.

7. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die für ein LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure pflanzlichen Ursprungs ist, vorzugsweise aus einer dikotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Brassicaceae, noch mehr bevorzugt aus der Gattung Arabidopsis, ganz besonders bevorzugt aus *Arabidopsis thaliana*.

8. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle A1 aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.

9. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle A angegebenen Polypeptide codiert.

10. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die für ein LEJ1-Polypeptid codierende Nukleinsäure SEQ ID NR: 2 entspricht.

11. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor, vorzugsweise mit einem konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise mit einem Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor aus Reis, verbunden ist.

12. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einem der Ansprüche 1 und 6 bis 10 definiertes LEJ1-Polypeptid codiert.

13. Konstrukt, umfassend:

- (i) eine Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 1 und 6 bis 10 definiert;
- (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
- (iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.

14. Konstrukt gemäß Anspruch 13, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen konstitutiven Promotor, vorzugsweise einen konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise einen Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor aus Reis, handelt.

15. Verwendung eines Konstrukts gemäß Anspruch 13 oder 14 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag und/oder einer erhöhten Biomasse im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

16. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Anspruch 13 oder 14 transformiert ist.

17. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag und/oder einer erhöhten Biomasse im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welches Folgendes umfasst:

(i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 1 und 6 bis 10 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und

(ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

18. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag und/oder einer erhöhten Biomasse, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 1 und 6 bis 10 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.

19. Transgene Pflanze gemäß Anspruch 12, 16 oder 18, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.

20. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Anspruch 19, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.

21. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Anspruch 19 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Anspruch 20 abgeleitet sind.

22. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein LEJ1-Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 1 und 6 bis 10 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen des Ertrags, und besonders bevorzugt zum Erhöhen des Samenertrags und/oder zum Erhöhen der Biomasse in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

23. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das ExbB-Polypeptid eine Protonenkanal-domäne mit InterPro-Zugang IPR002898 MotA/ToIQ/ExbB entsprechend PFAM-Zugangsnummer PF01618 MotA_ExbB umfasst.

24. Verfahren gemäß Anspruch 23, wobei das ExbB-Polypeptid mindestens eine zusätzliche transmembrane Domäne umfasst.

25. Verfahren gemäß Anspruch 23 oder 24, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-1-Polypeptid codiert, in einer Pflanze bewirkt wird.

26. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 25, wobei die Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle A2 aufgelisteten Proteine codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine Nukleinsäure ist, die zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure in der Lage ist.

27. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 26, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle A2 angegebenen Proteine codiert.

28. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 27, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag, vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.

29. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 28, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nicht-stressbedingungen erhalten werden.
30. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 28, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Dürrestressbedingungen, Salzstressbedingungen oder Stickstoffmangelbedingungen erhalten werden.
31. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 25 bis 30, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor, vorzugsweise mit einem GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor aus Reis, verbunden ist.
32. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 31, wobei die für ein ExbB-Polypeptid codierende Nukleinsäure aus Cyanobakterien stammt, vorzugsweise aus der Art *Synechocystis*, besonders bevorzugt aus *Synechocystis* sp. PCC 6803.
33. Pflanze oder Teil davon, einschließlich Samen, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 23 bis 32, wobei die Pflanze oder der Teil davon eine rekombinante Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, umfasst.
34. Konstrukt, umfassend:
(i) Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, wie in Anspruch 23 oder 24 definiert;
(ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
(iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.
35. Konstrukt gemäß Anspruch 34, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen konstitutiven Promotor, vorzugsweise einen GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor aus Reis, handelt.
36. Konstrukt gemäß Anspruch 34, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen wurzelspezifischen Promotor, vorzugsweise einen wurzelspezifischen Promotor aus Reis, handelt.
37. Verwendung eines Konstrukts gemäß Anspruch 34, 35 oder 36 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Ertrag, insbesondere erhöhter Biomasse und/oder erhöhtem Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen.
38. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Anspruch 34, 35 oder 36 transformiert ist.
39. Verfahren zur Herstellung einer transgenen Pflanze mit erhöhtem Ertrag, insbesondere erhöhter Biomasse und/oder erhöhtem Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend:
(i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, wie in Anspruch 23 oder 24 definiert, in einer Pflanze; und
(ii) Kultivieren der Pflanzenzelle unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.
40. Transgene Pflanze mit erhöhtem Ertrag, insbesondere erhöhter Biomasse und/oder erhöhtem Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welcher aus der modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, wie in Anspruch 23 oder 24 definiert, resultiert, oder eine transgene Pflanzenzelle, die aus der transgenen Pflanze abgeleitet ist.
41. Transgene Pflanze gemäß Anspruch 33, 38 oder 40, oder eine daraus abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.
42. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Anspruch 41, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.
43. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Anspruch 41 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Anspruch 42 abgeleitet sind.

44. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein ExbB-Polypeptid codiert, bei der Erhöhung des Ertrags, insbesondere bei der Erhöhung des Samenertrags und/oder der Sprossbiomasse in Pflanzen, im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

45. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für eine Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NMPRT) codiert, in einer Pflanze, wobei die NMPRT nicht von einem Wirbeltier stammt und

(i) eine Domäne mit einem InterPro-Zugang IPR016471 und

(ii) mindestens 50% Aminosäuresequenzidentität und vorzugsweise, mit zunehmender Präferenz, mindestens 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% oder mehr Aminosäuresequenzidentität zu einer Domäne gemäß SEQ ID NR: 315 aufweist.

46. Verfahren gemäß Anspruch 45, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der Nukleinsäure, die für die NMPRT codiert, in die Pflanze bewirkt wird.

47. Verfahren gemäß Anspruch 45 oder 46, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.

48. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 47, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nicht-stressbedingungen erhalten werden.

49. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 47, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Dürrestressbedingungen, Salzstressbedingungen oder Stickstoffmangelbedingungen erhalten werden.

50. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 49, wobei die NMPRT mindestens 64% Aminosäuresequenzidentität, und zum Beispiel mindestens 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Aminosäuresequenzidentität zu einem oder mehreren der folgenden Motive aufweist:

(i) Motiv 7: FKLHDFGARGVSSGESSGIGGLAHLVNFQGSDTV (SEQ ID NR: 318),

(ii) Motiv 8: AAYSIPAAEHSTITAWG (SEQ ID NR: 319),

(iii) Motiv 9: AVVSDSYDL (SEQ ID NR: 320),

(iv) Motiv 10: VIRPDSGDP (SEQ ID NR: 321),

(v) Motiv 11: VRVIQGDGV (SEQ ID NR: 322),

(vi) Motiv 12: NLAFGMGGALLQKVNRTD (SEQ ID NR: 323).

51. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 50, wobei die Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, prokaryotischen Ursprungs ist, vorzugsweise cyanobakteriellen Ursprungs, besonders bevorzugt aus der Gattung *Synechocystis*, ganz besonders bevorzugt aus einer *Synechocystis*-Art.

52. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 51, wobei die Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, für ein beliebiges der in Tabelle A3 aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren, vorzugsweise unter hochstringenten Bedingungen, mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.

53. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 52, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle A3 angegebenen Polypeptide codiert.

54. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 53, wobei die für die NMPRT codierende Nukleinsäure SEQ ID NR: 281 entspricht oder SEQ ID NR: 309 entspricht.

55. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 54, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem konstitutiven Promotor, vorzugsweise mit einem konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise mit einem Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit einem GOS2-Promotor aus Reis, verbunden ist.

56. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 45 bis 55, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einem der Ansprüche 45 und 50 bis 54 definiertes NMPRT-Polypeptid codiert.

57. Konstrukt, umfassend:

- (i) eine Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, wie in einem der Ansprüche 45 und 50 bis 54 definiert;
- (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
- (iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.

58. Konstrukt gemäß Anspruch 57, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen konstitutiven Promotor, vorzugsweise einen konstitutiven Promotor mittlerer Stärke, vorzugsweise einen Promotor aus einer Pflanze, besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor, ganz besonders bevorzugt einen GOS2-Promotor aus Reis, handelt.

59. Verwendung eines Konstrukts gemäß Anspruch 57 oder 58 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

60. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Anspruch 57 oder 58 transformiert ist.

61. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welches Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für eine NMPRT codiert, wie in einem der Ansprüche 45 und 50 bis 54 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

62. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein NMPRT-Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 45 und 50 bis 54 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.

63. Transgene Pflanze gemäß Anspruch 56, 60 oder 62, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.

64. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Anspruch 63, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.

65. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Anspruch 63 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Anspruch 64 abgeleitet sind.

66. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein NMPRT-Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 45 und 50 bis 54 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen des Ertrags, und besonders bevorzugt zum Erhöhen des Samenertrags in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

67. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das AP2-26-ähnliche Polypeptid eine Pfam PF00847-Domäne umfasst.

68. Verfahren gemäß Anspruch 67, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze bewirkt wird.

69. Verfahren gemäß Anspruch 67 oder 68, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag und/oder eine erhöhte Jungpflanzenvitalität im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.

70. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 69, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nicht-stressbedingungen erhalten werden.

71. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 70, wobei das AP2-26-ähnliche Polypeptid eines oder mehrere der folgenden Motive umfasst:

(i) Motiv 13:

KLYRGVQRHWGKWVAEIRLP[**RK**]NRTRLWLGTFTAE[**ED**]AAL[**TA**]YD[**KQ**]AA[**YF**][**RK**]LR (SEQ ID NR: 378),

(ii) Motiv 14:

[**GHA**][**ELS**][**YRA**][**GKP**]PL[**DH**][**AS**][**SAT**]VDAKL[**QE**]AIC[**DQ**][**TSN**][**ILM**] (SEQ ID NR: 379),

(iii) Motiv 15: PS[**YVWL**]EIDW (SEQ ID NR: 380)

72. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 71, wobei die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure pflanzlichen Ursprungs ist, vorzugsweise aus einer dikotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Poaceae, noch mehr bevorzugt aus der Gattung *Oryza*, ganz besonders bevorzugt aus *Oryza sativa*.

73. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 72, wobei die Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle F aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.

74. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 73, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle F angegebenen Polypeptide codiert.

75. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 74, wobei die Nukleinsäure für das Polypeptid gemäß SEQ ID NR: 329 codiert.

76. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 75, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem wurzelspezifischen Promotor, vorzugsweise mit einem RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit dem RCc3-Promotor aus Reis, verbunden ist.

77. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 67 bis 76, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einem der Ansprüche 67 und 71 bis 75 definiertes AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert.

78. Konstrukt, umfassend:

(i) eine Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 67 und 71 bis 75 definiert;

(ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls

(iii) eine Transkriptionsterminationssequenz.

79. Konstrukt gemäß Anspruch 78, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen wurzelspezifischen Promotor, vorzugsweise einen RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt den RCc3-Promotor aus Reis, handelt.

80. Verwendung eines Konstrukts gemäß Anspruch 78 oder 79 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, insbesondere erhöhter Jungpflanzenvitalität und/oder erhöhtem Samenertrag, im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

81. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Anspruch 78 oder 79 transformiert ist.

82. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einer erhöhten Jungpflanzenvitalität und/oder einem erhöhten Samenertrag, welches Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 67 und 71 bis 75 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

83. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einer erhöhten Jungpflanzenvitalität und/oder einem erhöhten Samenertrag, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 67 und 71 bis 75 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.

84. Transgene Pflanze gemäß Anspruch 77, 81 oder 83, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.

85. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Anspruch 84, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Samen sind.

86. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Anspruch 84 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Anspruch 85 abgeleitet sind.

87. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein AP2-26-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 67 und 71 bis 75 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen der Jungpflanzenvitalität und/oder zum Erhöhen des Samenertrags in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

88. Verfahren zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, umfassend das Modulieren der Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze, wobei das HD8-ähnliche Polypeptid eine Homeodomäne (PF00046) und eine START-Domäne (PF 01852) umfasst.

89. Verfahren gemäß Anspruch 88, wobei die modulierte Expression durch Einbringen und Exprimieren der Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, in einer Pflanze bewirkt wird.

90. Verfahren gemäß Anspruch 88 oder 89, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale einen erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen und vorzugsweise einen erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen umfassen.

91. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 90, wobei die gesteigerten Ertragsmerkmale unter Nicht-stressbedingungen erhalten werden.

92. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 91, wobei das HD8-ähnliche Polypeptid eines oder mehrere der folgenden Motive umfasst:

(i) Motiv 16: [EAP][TR]Q[IV]K[YF]WFQN[CR]R[ST][KQ][MI]K[KVA][FRQ][QKSH][ENCD][RNG][AETH][DE][RN][SKNC][LAKI][LY][RQK][KRA][QE]N[EAD][EK][LI][RLK][KAC][TE]N[AMI][AER][LI][RKQ][NE][RQA][LMI][KR][NGK][VSMA][TI]C (SEQ ID NR: 562),

(ii) Motiv 17: [KPR][RK]RY[QH][LR][LH]T[MPA][QR]Q[KI][EQ][ETQR][LM][NE][RAS][LAYM][FD][QLK][ESA][CS][PF][NPH][FP][LD][ERLD][KNL][DLQ] (SEQ ID NR: 563),

(iii) Motiv 18: [DN]G[CRNH]Y[CS][QRK][ILMV][YVIT][AW][VLIM][DEV] (SEQ ID NR: 564)

93. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 92, wobei die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codierende Nukleinsäure pflanzlichen Ursprungs ist, vorzugsweise aus einer monokotylen Pflanze, besonders bevorzugt aus der Familie Poaceae, noch mehr bevorzugt aus der Gattung Oryza, ganz besonders bevorzugt aus Oryza sativa.

94. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 93, wobei die Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, für ein beliebiges der in Tabelle J aufgelisteten Polypeptide codiert oder ein Abschnitt einer derartigen Nukleinsäure oder eine zum Hybridisieren mit einer derartigen Nukleinsäure fähige Nukleinsäure ist.

95. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 94, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Ortholog oder Paralog von einem der in Tabelle J angegebenen Polypeptide codiert.

96. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 95, wobei die Nukleinsäure für das Polypeptid gemäß SEQ ID NR: 385 codiert.

97. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 96, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem wurzelspezifischen Promotor, besonders bevorzugt mit einem RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt mit dem RCc3-Promotor aus Reis, verbunden ist.

98. Pflanze, Pflanzenteil davon, einschließlich Samen, oder Pflanzenzelle, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 88 bis 97, wobei diese Pflanze, dieser Pflanzenteil bzw. diese Pflanzenzelle eine rekombinante Nukleinsäure umfasst, die für ein wie in einem der Ansprüche 88 und 92 bis 96 definiertes HD8-ähnliches Polypeptid codiert.

99. Konstrukt, umfassend:

- (i) eine Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 88 und 92 bis 96 definiert;
- (ii) eine oder mehrere Steuerungssequenzen, die zum Antreiben der Expression der Nukleinsäuresequenz von (i) in der Lage sind; und gegebenenfalls
- (ii) eine Transkriptionsterminationssequenz.

100. Konstrukt gemäß Anspruch 99, wobei es sich bei einer der Steuerungssequenzen um einen wurzelspezifischen Promotor, besonders bevorzugt einen RCc3-Promotor, ganz besonders bevorzugt den RCc3-Promotor aus Reis, handelt.

101. Verwendung eines Konstrukts gemäß Anspruch 99 oder 100 in einem Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit gesteigerten Ertragsmerkmalen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

102. Pflanze, Pflanzenteil oder Pflanzenzelle, die bzw. der mit einem Konstrukt gemäß Anspruch 99 oder 100 transformiert ist.

103. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen, welches Folgendes umfasst:

- (i) Einbringen und Exprimieren einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 88 und 92 bis 96 definiert, in einer Pflanzenzelle oder Pflanze; und
- (ii) Kultivieren der Pflanzenzelle bzw. der Pflanze unter Bedingungen, welche Pflanzenwachstum und -entwicklung fördern.

104. Transgene Pflanze mit gesteigerten Ertragsmerkmalen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise einem erhöhten Ertrag im Vergleich zu Kontrollpflanzen und besonders bevorzugt einem erhöhten Samenertrag, herrührend von einer modulierten Expression einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 88 und 92 bis 96 definiert, oder eine von dieser transgenen Pflanze abgeleitete transgene Pflanzenzelle.

105. Transgene Pflanze gemäß Anspruch 98, 102 oder 104, oder eine davon abgeleitete transgene Pflanzenzelle, wobei die Pflanze eine Kulturpflanze wie Rübe, Zuckerrübe oder Luzerne oder eine Monokotyle wie Zuckerrohr oder ein Getreide wie Reis, Mais, Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Sorghum, Emmer, Dinkel, Secale, Einkorn, Teff, Milo und Hafer ist.

106. Erntefähige Teile einer Pflanze gemäß Anspruch 105, wobei die erntefähigen Teile vorzugsweise Sprossbiomasse und/oder Samen sind.

107. Produkte, die aus einer Pflanze gemäß Anspruch 105 und/oder aus erntefähigen Teilen einer Pflanze gemäß Anspruch 106 abgeleitet sind.

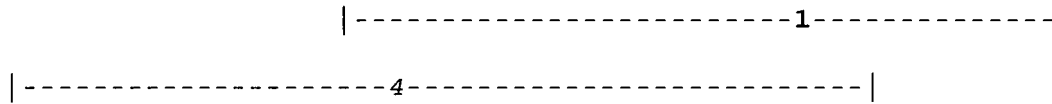
108. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein HD8-ähnliches Polypeptid codiert, wie in einem der Ansprüche 88 und 92 bis 96 definiert, zur Steigerung von Ertragsmerkmalen in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen, vorzugsweise zum Erhöhen des Ertrags, und besonders bevorzugt zum Erhöhen des Samenertrags in Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

Es folgen 78 Blatt Zeichnungen

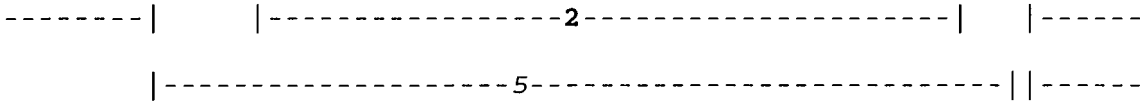
Anhängende Zeichnungen

MGSISLSNSMPITRLPLLTSLYHQSFLEPISSSSFSLPLSNRRRSSTFSPSITVSAFFAAPASVN

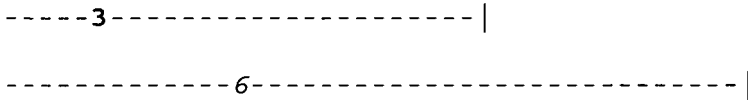
NNNSVPAKNGGYTVGDFMTPRQNLHVVVKPSTSVDDALELLVEKKVTGLPVIDDNWTLVGVVSDYD



LLALDSISGRSQNDTNLFPDVDSTWKTFFNELQKLISKTYGKVVGDLMTPSPLVVRDSTINLEDAAR



LLLETKFRRLPVVDADGKLIGILTRGNVVRAALQIKRETENST



FIGUR 1

```

CLUSTAL 2.0.11 multiples sequenzalignment

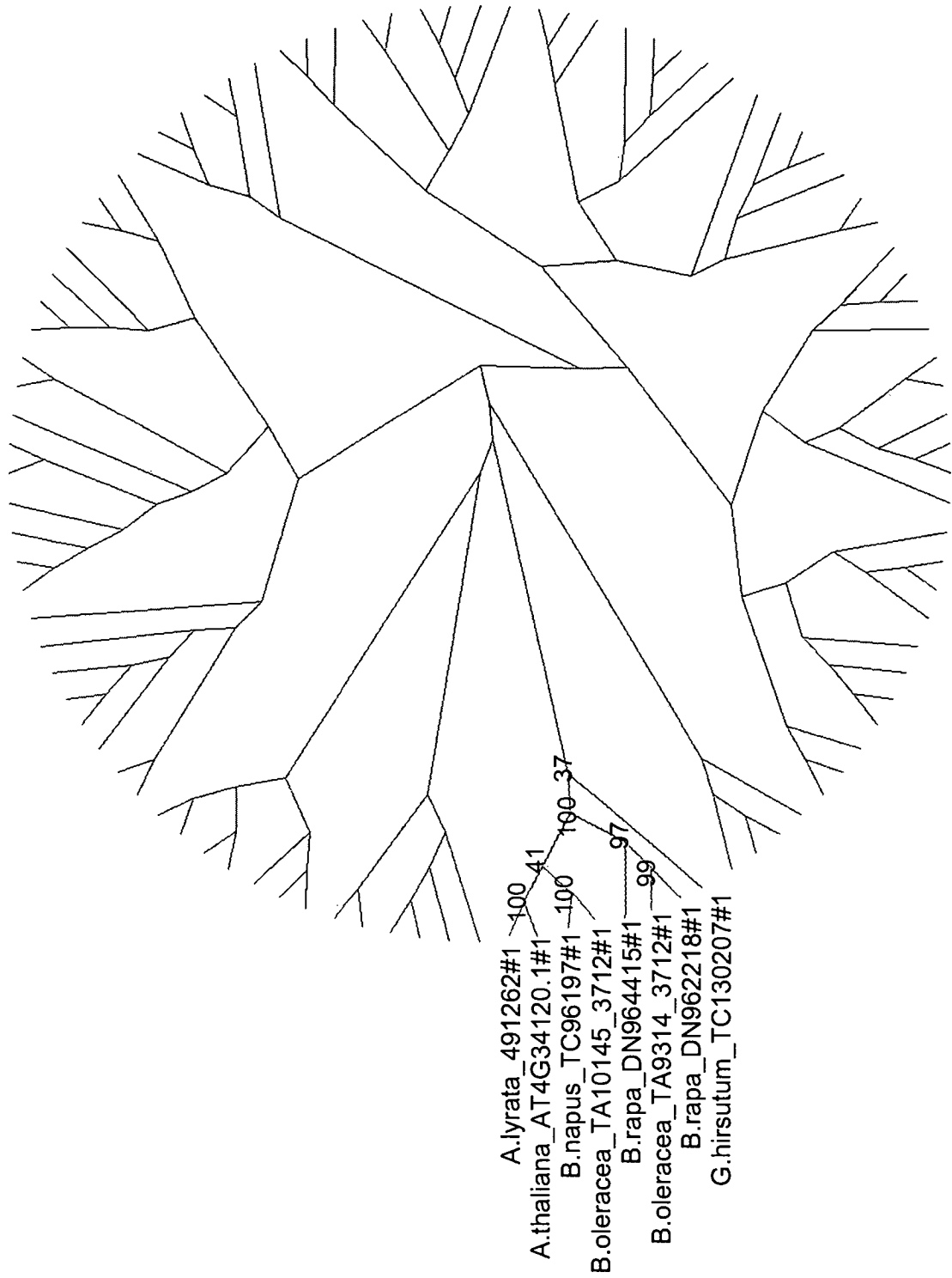
A.thaliana_AT4G34120.1      MGSISLSNSMPITRLPLLTSLYHQSFLLPISSSSFSLLPLSNRRRRSSTFSP
A.lyrata_491262           MGSISLSYSLPITRLPLLTSLNHQCFLPISSSSFFLLPLSNRRRRSSTFSP
B.napus_TC96197          MGSVFSSSMPITRLPLLTSLs-QCLLPTSSS-FSLPPLSSRRRS-NV5Q
B.oleracea_TA10145      MGSVFSNSMPITRLPLLTSLN-QSLLPTSS--SLPPLSNRRRS-NV5Q
B.oleracea_TA9314       MGSISLSNSLPIRRLPLHTSSLNCPCLPSSFSL-----PFRRS-TFSP
B.rapa_DN964415         MRHLLS-----PFRRS-TFSP
B.rapa_DN962218         MGSISLSNSLPIRRLPLHTSSLNPSCLPSSFs-----LPPRRS-TFSP
G.hirsutum_TC130207     MGSISFVNSQTLKLFPSFYsFL-HSKQPCIVSMYHSHKVALAPSLSLPK
*      ;      *      .      .      .      .
SITVSAFFAAPASVNNNSVPAKNGGYTVGDFMTPRQNLHVVKPSTSVDD
SIAVSAFFAAPASVNNN-SVPAKNGGYTVGDFMTPRQNLHVVKPSTSVDD
TITASAVFSAPAGVNDs--LPARNEGyTVGDFMTGRQHLHVVKPSTSVDD
TITASAVFSAPAGVNDs--LPARNEGyTVGDFMTGRQHLHVVKPSTSVDD
RISASAVFAAPSGVNNs--VPGKNGGyTVGDFMTGKQHLHVVKPSTSVDD
LVSASAVFAAPSGVNNs--VPGKNGGyTVGDFMTGKQHLHVVKPSTSVDD
LVSASAVFAAPSGVNNs--VPGKNGGyTVGDFMTGKQHLHVVKPSTSVDD
PKDGSFRLAEL-ITNS--VPSRNGNYTVGDFMTRKEDLHVVKATTSVDE
*  :*  ::*  ::*  :*:*  .*****  :*:*****  ****:
ALELLVEKKVTGLPVIDDNWTLGVVSDYDLLALDSISGRS-QNDTNLFP
ALELLVEKKVTGLPVIDDNWTLGVVSDYDLLALDSISGRS-QNDTNLFP
ALELLVEKKVTGLPVIDDWKLGVVSDYDLLALDSISGRS-QNETNLFP
ALELLVEKKVTGLPVIDDWKLGVVSDYDLLALDSISGRS-QNETNLFP
ALELLVEKKVTGLPVIDDWNLGVVSDYDLLALDSISGRS-QNDTNMFP
ALELLVEKKVTGLPVIDDWNLGVVSDYDLLALDSISGRS-QNDTNMFP
ALEALVEKRVTFPVIDDWNLGVVSDYDLLALDSISGSS-QNDTTLFP
***  ****:***:*****:*.*****  *****  *  **:*:***

```

FIGUR 2

A.thaliana_AT4G34120.1	DVDSTWKTFFNELQKLSKTYGKVVGDMLTPSPLVVRDSTNLEDAARLLLLL
A.lyrata_491262	DVDSTWKTFFNELQKLSKTYGKVVGDMLTPSPLVVRDSTNLEDAARLLLLL
B.napus_TC96197	NVDSTWKTFFNELQKLSKTHGQVVDLMTSPPLVVRGSTNLEDAARLLLLL
B.oleracea_TA10145	NVDSTWKTFFNELQKLSKTHGQVVDLMTSPPLVVRGSTNLEDAARLLLLL
B.oleracea_TA9314	NVDSSWKTFFNELQKLSKTHGKVVGDMLTPSPPLVVRGSTNLEDAARLLLLL
B.rapa_DN964415	NVDSSWKTFFNELQKLSKTHGKVVGDMLTPSPPLVVRGSTNLEDAARLLLLL
B.rapa_DN962218	NVDSSWKTFFNELQKLSKTHGKVVGDMLTPSPPPCCP-----WLY--
G.hirsutum_TC130207	NVDSSWKTFFNEIQKLMNKNNGNVVDLMTSPPLVVRGSTNLEDAARLLLLL
	:****:****:*. *:***** * *
A.thaliana_AT4G34120.1	TKFRRLLPVVDADGKLLIGILTRGNVRAALQIKRETENST-----
A.lyrata_491262	TKFRRLLPVVDADGKLLIGILTRGNVRAALQIKRETENST-----
B.napus_TC96197	TKFRRLLPVVDSGKLLIGILTRGNVRAALQIKRETEKSA-----
B.oleracea_TA10145	TKFRRLLPVVDSGKLLIGILTRGNVRAALQIKRETEKSAQIEKAAVIEQI
B.oleracea_TA9314	TKFRRLLPVVDSGKLLIGILTRGNVRAALQIKRETENST-----
B.rapa_DN964415	TKFRRLLPVVNSDGKLAGILTRGNVRAALQIKRETENST-----
B.rapa_DN962218	-----
G.hirsutum_TC130207	TNIANYPWEKMMAN-----
A.thaliana_AT4G34120.1	--
A.lyrata_491262	--
B.napus_TC96197	--
B.oleracea_TA10145	FL
B.oleracea_TA9314	--
B.rapa_DN964415	--
B.rapa_DN962218	--
G.hirsutum_TC130207	--

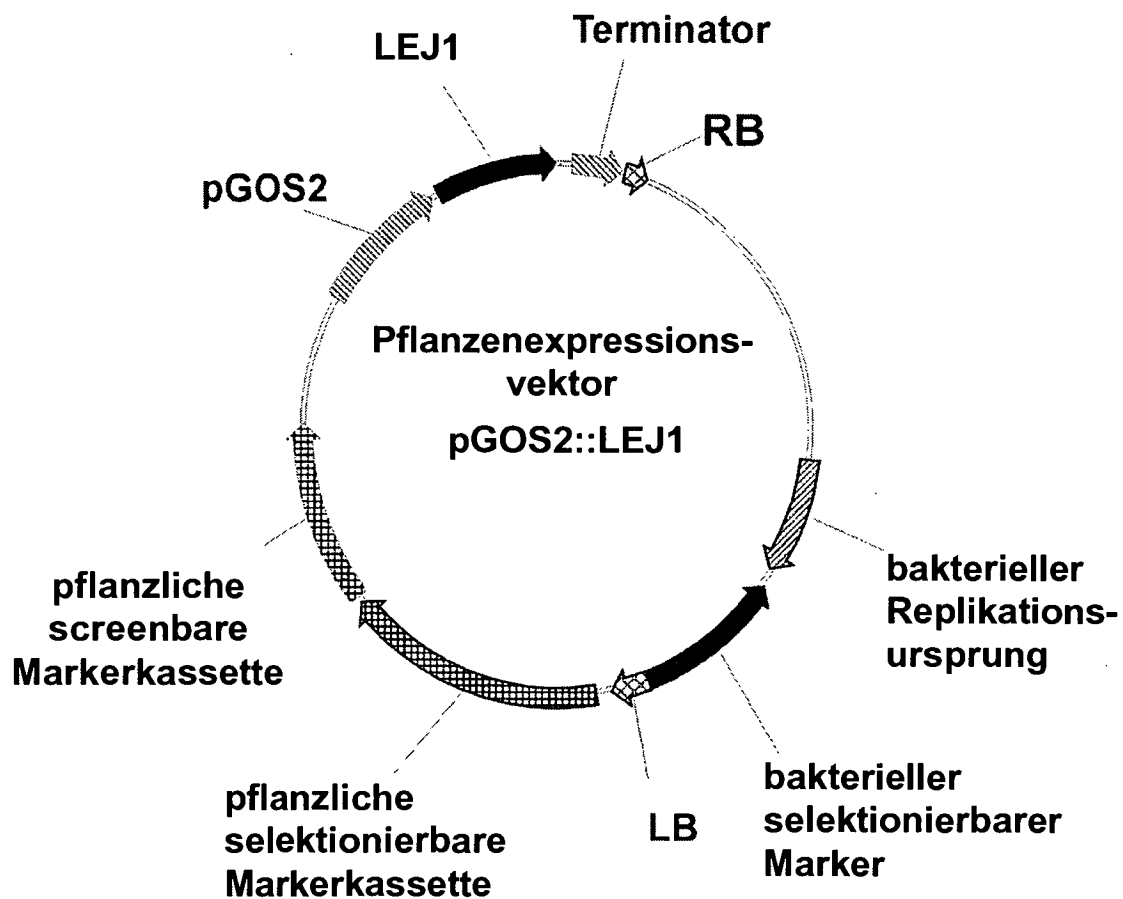
FIGUR 2 (Fortsetzung)



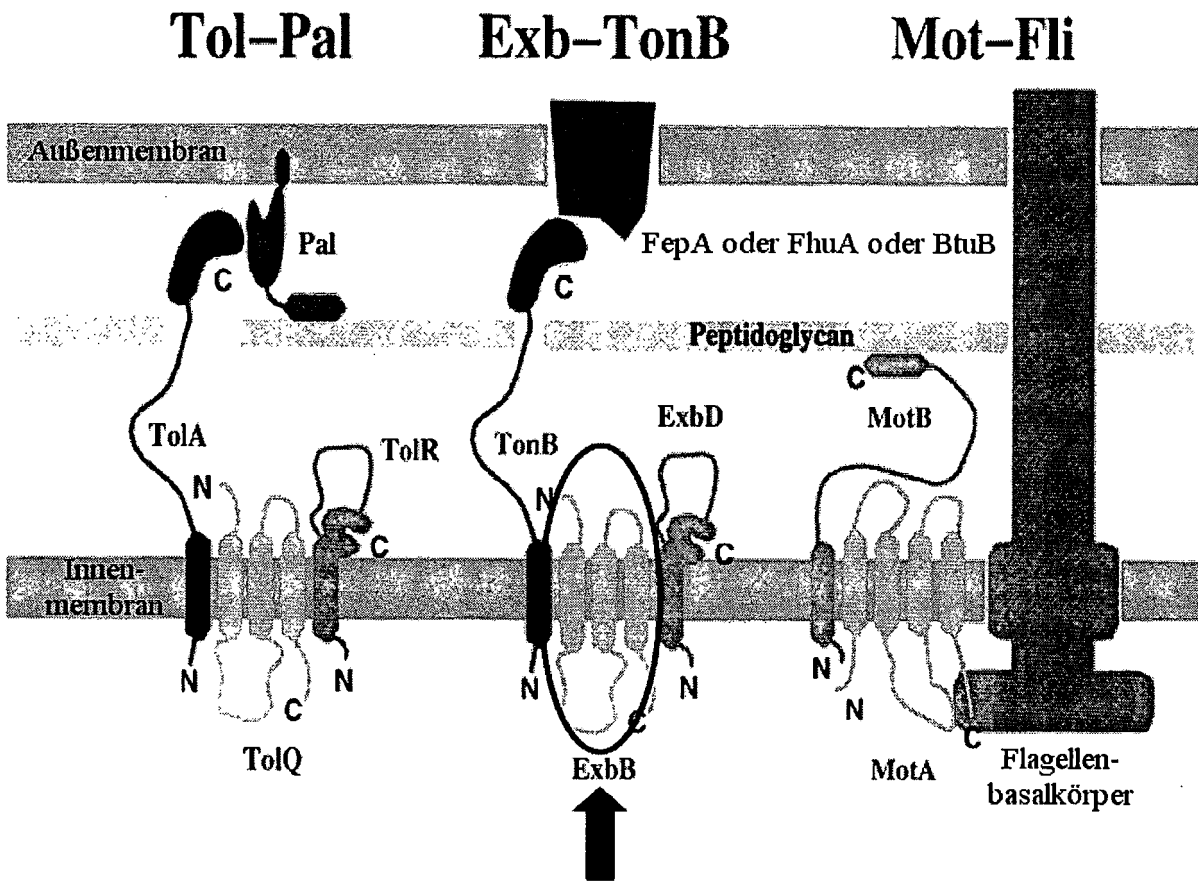
FIGUR 3

	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>A.thaliana</i> _AT4G34120.1		97,10	84,00	79,70	83,30	60,30	73,60
2. <i>A.lyrata</i> _491262	97,50		83,50	78,80	83,60	60,70	73,90
3. <i>B.napus</i> _TC96197	92,00	92,00		91,90	84,30	60,00	74,80
4. <i>B.oleracea</i> _TA10145_3712	88,90	88,50	93,90		79,20	57,70	71,40
5. <i>B.oleracea</i> _TA9314_3712	89,10	89,00	91,80	85,70		73,40	84,60
6. <i>B.rapa</i> _DN962218	66,40	66,20	68,70	65,60	75,40		62,00
7. <i>B.rapa</i> _DN964415	79,40	79,70	81,10	77,00	86,00	70,40	

FIGUR 4



FIGUR 5



FIGUR 6

Acaryochloris marina MBIC11017	exbb1	(1)	VSTIYTF ¹⁰⁰ FLAKGGPVMPIAGLSVLTIACAFERTII ¹⁴⁹ FWIRLISQE--HRI ¹⁰⁰ IVH
Cyanothece sp. ATCC 51142	exbb2	(1)	MTHIYDF ¹⁰⁰ FLKGGPVMPLLALS ¹⁴⁹ VFTIITIALERT ¹⁰⁰ FWIRLLSQE--NRI ¹⁰⁰ IVH
Synechocystis PCC6803_sll10477_exbb1	exbb1	(29)	TPRL ¹⁰⁰ LDEFLKGGVVMFPLLLS ¹⁴⁹ IALTTAFERG ¹⁰⁰ WMSRLLIQE--DQV ¹⁰⁰ VR
Acaryochloris marina MBIC11017_exbb3	exbb3	(1)	-MQFGQV ¹⁰⁰ IAGGVVMPPLM ¹⁴⁹ VFSLIAIAL ¹⁰⁰ IFERLI ¹⁰⁰ FWTRVNRN ¹⁰⁰ Q--LR ¹⁰⁰ IVK
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbb1	(1)	-MGI ¹⁰⁰ LNLF ¹⁰⁰ TAGGVVMPPLAF ¹⁴⁹ SLLAVALI ¹⁰⁰ IERIS ¹⁰⁰ FWVRI ¹⁰⁰ SGK ¹⁰⁰ Q--NR ¹⁰⁰ IVR
Nostoc sp. PCC 7120	exbb1	(1)	-MGI ¹⁰⁰ LNLF ¹⁰⁰ TAGGVVMPPLAF ¹⁴⁹ SLLAVALI ¹⁰⁰ IERIS ¹⁰⁰ FWVRI ¹⁰⁰ SGK ¹⁰⁰ Q--NR ¹⁰⁰ IVR
Nostoc punctiforme PCC 73102	Exbb1	(1)	-MEI ¹⁰⁰ SNLF ¹⁰⁰ TAGGVVMPPLAF ¹⁴⁹ SLLGVALI ¹⁰⁰ IERII ¹⁰⁰ FWRI ¹⁰⁰ NR ¹⁰⁰ Q--NKV ¹⁰⁰ VR
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbb3	(1)	-MGI ¹⁰⁰ QNL ¹⁰⁰ FAAGGVVMPPL ¹⁴⁹ GFSLGVALI ¹⁰⁰ VERAR ¹⁰⁰ FWL ¹⁰⁰ KIN ¹⁰⁰ R ¹⁰⁰ Q--QR ¹⁰⁰ VR
Nostoc sp. PCC 7120	exbb3	(1)	-MGI ¹⁰⁰ QNL ¹⁰⁰ FAAGGVVMPPL ¹⁴⁹ GFSLGVALI ¹⁰⁰ VERAR ¹⁰⁰ FWL ¹⁰⁰ KIN ¹⁰⁰ R ¹⁰⁰ Q--QR ¹⁰⁰ VR
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbb3	(1)	-MGI ¹⁰⁰ QNL ¹⁰⁰ FAAGGVVMPPL ¹⁴⁹ AFSLGVALI ¹⁰⁰ IERI ¹⁰⁰ FWRI ¹⁰⁰ NR ¹⁰⁰ Q--NR ¹⁰⁰ VR
Fremyella diplosiphon Fd33	exbb3	(1)	-MGI ¹⁰⁰ KNL ¹⁰⁰ FAAGGVVMPPL ¹⁴⁹ AFSLGVALI ¹⁰⁰ IVERV ¹⁰⁰ RFWR ¹⁰⁰ VNTR ¹⁰⁰ Q--AKV ¹⁰⁰ VR
Cyanothece sp. ATCC 51142_exbb3	exbb3	(1)	-MSI ¹⁰⁰ KNFL ¹⁰⁰ VAGGIV ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ VFSLGVALI ¹⁰⁰ IERII ¹⁰⁰ FWRI ¹⁰⁰ KSRE--RKII ¹⁰⁰ IT
Uncultured Chroococcales cyanobacterium HF070_14_C...		(1)	-----VAGGIV ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ AFSLGVALI ¹⁰⁰ IERFL ¹⁰⁰ FWFI ¹⁰⁰ KARE--KR ¹⁰⁰ VVN
Synechocystis PCC6803_sll1404_exbb3	exbb3	(1)	-----MAGGIV ¹⁰⁰ AVPPL ¹⁴⁹ GFSLGVALI ¹⁰⁰ IERAY ¹⁰⁰ FWSQI ¹⁰⁰ LR ¹⁰⁰ Q--NR ¹⁰⁰ IVN
Synechococcus sp. PCC 7002 plasmid pAQ7	exbb3	(1)	-MNI ¹⁰⁰ TNFFAAGGIV ¹⁰⁰ AYPL ¹⁴⁹ FLFSLAGV ¹⁰⁰ ACTI ¹⁰⁰ ERAV ¹⁰⁰ FWRI ¹⁰⁰ NR ¹⁰⁰ Q--RQV ¹⁰⁰ VR
Cyanobacteria Yellowstone B-Prime CYB_0819	exbb3	(1)	-----MIQGWYSI ¹⁰⁰ PL ¹⁴⁹ TFSVFSV ¹⁰⁰ ACCI ¹⁰⁰ ERVI ¹⁰⁰ FWKI ¹⁰⁰ THR ¹⁰⁰ Q--EEV ¹⁰⁰ Q
Synechococcus sp. JA-3-3Ab	exbb3	(1)	MDRV ¹⁰⁰ LQ ¹⁰⁰ LIIQGWYSI ¹⁴⁹ PL ¹⁰⁰ TFSVFSV ¹⁰⁰ ACCI ¹⁰⁰ ERAL ¹⁰⁰ FWK ¹⁰⁰ WTHR ¹⁰⁰ Q--EEV ¹⁰⁰ VR
Gloeobacter violaceus PCC7421_glr1387		(1)	-MAVID ¹⁰⁰ WFV ¹⁰⁰ RGGI ¹⁰⁰ VMPPL ¹⁴⁹ LCSIIAIA ¹⁰⁰ II ¹⁰⁰ ERII ¹⁰⁰ YYV ¹⁰⁰ LL ¹⁰⁰ PR ¹⁰⁰ Q--KAF ¹⁰⁰ VE
Acaryochloris marina MBIC11017	exbb2	(1)	-VNI ¹⁰⁰ IEL ¹⁰⁰ FEKGGPT ¹⁰⁰ WPL ¹⁴⁹ GLSII ¹⁰⁰ IGT ¹⁰⁰ VFERL ¹⁰⁰ WMS ¹⁰⁰ NLL ¹⁰⁰ KGE--RKT ¹⁰⁰ AK
Thermosynechococcus elongatus BP-1	exbb3	(65)	IVNI ¹⁰⁰ IAEII ¹⁰⁰ ENRGGGL ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ ILSII ¹⁰⁰ LTIGT ¹⁰⁰ IFERL ¹⁰⁰ WEG ¹⁰⁰ MVLRGE--TKL ¹⁰⁰ AE
Cyanothece sp. ATCC 51142	exbb1	(1)	-VNI ¹⁰⁰ IOEIMTKGGV ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ ILSVL ¹⁰⁰ ALSTII ¹⁰⁰ ERSI ¹⁰⁰ FWIR ¹⁰⁰ FL ¹⁰⁰ LKE--GKI ¹⁰⁰ LN
Microcystis aeruginosa NIES-843	exbb3	(1)	-VTI ¹⁰⁰ TD ¹⁰⁰ LIIQKGGV ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ FLSII ¹⁰⁰ LALSTII ¹⁰⁰ IERI ¹⁰⁰ WFS ¹⁰⁰ R ¹⁰⁰ TLLSE--GQI ¹⁰⁰ ILN
Synechocystis PCC6803_sll0677_exbb2	exbb2	(1)	-VNP ¹⁰⁰ IELMQKGGV ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ LLSII ¹⁰⁰ LSVSTII ¹⁰⁰ ERL ¹⁰⁰ WFG ¹⁰⁰ QVILKS--SQ ¹⁰⁰ TAS
Trichodesmium erythraeum IMS101	exbb3	(1)	-VTFE ¹⁰⁰ ELIQKGGP ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ VLSII ¹⁰⁰ LSSTIID ¹⁰⁰ R ¹⁰⁰ IWF ¹⁰⁰ TSL ¹⁰⁰ LKE--KQI ¹⁰⁰ TVN
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbb2	(1)	-VDI ¹⁰⁰ ID ¹⁰⁰ LFYKGGP ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ ALSII ¹⁰⁰ LSL ¹⁰⁰ SVI ¹⁰⁰ FERL ¹⁰⁰ WLR ¹⁰⁰ LFSQE--KAI ¹⁰⁰ VD
Nostoc sp. PCC 7120	exbb2	(1)	-VDI ¹⁰⁰ ID ¹⁰⁰ LFYKGGP ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ ALSII ¹⁰⁰ LSL ¹⁰⁰ SVI ¹⁰⁰ FERL ¹⁰⁰ WLR ¹⁰⁰ LFSQE--KAI ¹⁰⁰ VD
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbb2	(1)	-VDI ¹⁰⁰ LD ¹⁰⁰ LFYKGGP ¹⁰⁰ AWPPL ¹⁴⁹ VLSII ¹⁰⁰ LSL ¹⁰⁰ SVI ¹⁰⁰ FERL ¹⁰⁰ WLR ¹⁰⁰ LITQE--KQI ¹⁰⁰ VD
Synechococcus elongatus PCC 7942	exbb3	(1)	-VNI ¹⁰⁰ LTL ¹⁰⁰ FQKGGGL ¹⁰⁰ AWPL ¹⁴⁹ TGLSII ¹⁰⁰ ALGT ¹⁰⁰ IFERAW ¹⁰⁰ FYALL ¹⁰⁰ KQE--SQI ¹⁰⁰ IVH
Chlorobaculum tepidum : CT1586		(30)	PESMF ¹⁰⁰ HAV ¹⁰⁰ WKGGPI ¹⁰⁰ VSV ¹⁰⁰ LMAL ¹⁰⁰ ILMV ¹⁰⁰ IVY ¹⁰⁰ IVERI ¹⁰⁰ VAL ¹⁰⁰ NKAS ¹⁰⁰ GKSGSITE ¹⁰⁰ FWQ
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA1239	(100)	IASL ¹⁰⁰ PRDLS ¹⁰⁰ AWG ¹⁰⁰ MFKNAD ¹⁰⁰ IVK ¹⁰⁰ VVMAG ¹⁰⁰ LALAS ¹⁰⁰ LAT ¹⁰⁰ WV ¹⁰⁰ WLSKT--IEL ¹⁰⁰ RR
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA2127	(36)	LAT ¹⁰⁰ LRDLS ¹⁰⁰ SPW ¹⁰⁰ GMFLGAD ¹⁰⁰ AVRT ¹⁰⁰ VMVGLALAS ¹⁰⁰ LAA ¹⁰⁰ WV ¹⁰⁰ WLAKS--IEL ¹⁰⁰ FR
Gloeobacter violaceus PCC 7421	exbb2	(4)	LAD ¹⁰⁰ LYRFV ¹⁰⁰ VND ¹⁰⁰ WIAV ¹⁰⁰ PL ¹⁴⁹ LCSV ¹⁰⁰ LII ¹⁰⁰ AV ¹⁰⁰ V ¹⁰⁰ VER ¹⁰⁰ WLY ¹⁰⁰ IN ¹⁰⁰ R ¹⁰⁰ NKTDV--DR ¹⁰⁰ FIV
Consensus		(100)	M I LF GGV ¹⁰⁰ VMP ¹⁰⁰ PL ¹⁰⁰ LALSIL ¹⁰⁰ VALI ¹⁰⁰ IERI ¹⁰⁰ FW ¹⁰⁰ RI ¹⁰⁰ R RIV XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

FIGUR 7

Acaryochloris marina MBIC11017 exbB1	(49) DVIDAARCS-LEEAIAIAQIARHARFLPIGRFLAPLRIHQPS	150	199
Cyanothece sp. ATCC 51142 exbB2	(49) DVIETARYD-LLEAQKIAQIARHARFLPIGRFLAPLQKKPS		
Synechocystis PCC6803_sll10477_exbB1	(77) DVIDAAVED-LVKAREIAEAEHARHAIAGRFLAPLQKRHPS		
Acaryochloris marina MBIC11017_exbB3	(48) QALQLYRQDNVYDALRYLQEQARFPJARIFLAALSLEDEPT		
Anabaena variabilis ATCC 29413 exbB1	(48) EVIRLYQLDNVVSTLEALRQNDLPIARIFLAALJEJEPT		
Nostoc sp. PCC 7120 exbB1	(48) EVIRLYQLDNVVSTLEALRQNDLPIARIFLAALJEJEPT		
Nostoc punctiforme PCC 73102 ExbB1	(48) EVIQLYLDNVVSLDKLQKNTDPIARIFLAALJEJEAT		
Anabaena variabilis ATCC 29413 exbB3	(48) DVINLYRLDNVVGADKLRKNVDLPLARVFLSALJEJEPT		
Nostoc sp. PCC 7120 exbB3	(48) DVINLYRLDNVVGADKLRKNVDLPLARVFLSALJEJEPT		
Nostoc punctiforme PCC 73102 exbB3	(48) DVINLYRLDNVVGAMDKLRKNVDLPLARIFLAALJEJEEN		
Fremyella diplosiphon Fd33 exbB3	(48) EITNLYRMDNVVGAIEKSRQANLPIPRIFLAALJEJEPT		
Cyanothece sp. ATCC 51142 exbB3	(48) TVIKLYQGNPIAAIAKLRKNADLPMCRIFLEALVLDAT		
Uncultured Chroococcales cyanobacterium HF070_14_C...	(41) TVIKLYQGNPEPMAIAKLRKNADLPLCRIFLEALVLDAT		
Synechocystis PCC6803_sll11404_exbB3	(41) DVTKLYRSN-PPGAIAKLRKNADLPMARIFLEALCEGAT		
Synechococcus sp. PCC 7002 plasmid pAQ7 exbB3	(48) DALGLYRQD-PFNWVKFLKRNDLPIARIFLEALDENPN		
Cyanobacteria Yellowstone B-Prime CYB_0819 exbB3	(42) QALSQYERN-PRAAQYLLLEQNDLPIARIFLAGLEINEAS		
Synechococcus sp. JA-3-3Ab exbB3	(49) QALSQYERN-PRAAQYLLLEQNDLPIARIFLAGLEINEAS		
Gloeobacter violaceus PCC7421_glr1387	(48) QAFATERYQ-PDQLRRLLINENADLPLGRIFGALSVRTDD		
Acaryochloris marina MBIC11017 exbB2	(48) QITDAARRD-WDEATHLARQFSNQPIGRFLTPRLANQE		
Thermosynechococcus elongatus BP-1 exbB3	(113) QITDAARRD-WQEALELAANACDPIGRFLYTPLOLIDTN		
Cyanothece sp. ATCC 51142 exbB1	(48) RVLETAAARN-WDAAPKVAKENSKHPMGSSFLYGPRLDNDPD		
Microcystis aeruginosa NIES-843 exbB3	(48) RIMESAIRN-WDLAAKAVGDSRNHPIGSYLYAPLRENPD		
Synechocystis PCC6803_sll10677_exbB2	(48) RITDTAARD-WDTAIRVAQDSRRFPPIAKYLAPLPHPPD		
Trichodesmium erythraeum IMS101_exbB3	(48) RVIESARRD-WSIATEMARRNQKQPIGRFLYAPLQHPE		
Anabaena variabilis ATCC 29413 exbB2	(48) RVIDAAHDN-WEIADIAARQATDPIGRFLYAPLHQKTD		
Nostoc sp. PCC 7120 exbB2	(48) RVIDAAHDN-WEIADIAARQATDPIGRFLYAPLHQKTD		
Nostoc punctiforme PCC 73102 exbB2	(48) RIIDAAQDN-WQAADIAKQASHQVGRFLYAPLRFKTD		
Synechococcus elongatus PCC 7942 exbB3	(48) RVIDAAADQD-WDLAAEVASRAKNSPIGRFLAALQLOQPD		
Chlorobaculum tepidum : CT1586	(80) SILKQVDSGSIDQAISRCDHQSLSAVLRAVLDRYKMLAVHNVTD		
Rhodospseudomonas palustris CGA009 RPA1239 exbB3	(148) ETARARDGLSKLETDTTAEELGRGSEGAHDVAVSOLIQTAAREGSLSGWT		
Rhodospseudomonas palustris CGA009 RPA2127 exbB3	(84) SVAVAQGLERLESVDVTLQAAAETAADQHDVAQMIQTVDREASLSGGAH		
Gloeobacter violaceus PCC 7421 exbB2	(52) RLQRELERANLSGARNLCEQVGG-VIGEVAEDGVRPLSVF		
Consensus	(150) VL R D A IL N DLPIGRI LAAL L P		
InterPro-Zugang IPR002898	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX		

FIGUR 7 (Fortsetzung)

Acaryochloris marina MBIC11017	exbB1	(88)	---PETFRLEAAADKEFVVRMRKGDKLEETTVAVAPLMGLIGTIVTGLI	249
Cyanotheca sp. ATCC 51142	exbB2	(88)	---PETFRLEAMEARGDREFIQMRKGDKLEETTVAVAPLMGLIGTIVTGLI	
Synechocystis PCC6803_sll10477	exbB1	(116)	---PETFRLEAMEATADKEFARMRRGDKLEETTVAVAPLMGLIGTIVTGLI	
Acaryochloris marina MBIC11017	exbB3	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbB1	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Nostoc sp. PCC 7120	exbB1	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Nostoc punctiforme PCC 73102	ExbB1	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbB3	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Nostoc sp. PCC 7120	exbB3	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbB3	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Fremyella diplosiphon Fd33	exbB3	(88)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Cyanotheca sp. ATCC 51142	exbB3	(88)	---PTEFRLEATATQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Uncultured Chroococcales cyanobacterium HF070_14_C...		(81)	---PTEFRLEATATQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Synechocystis PCC6803_sll1404	exbB3	(80)	---PTEFRLEATATQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Synechococcus sp. PCC 7002 plasmid pAQ7	exbB3	(87)	---SEEFRLESEATQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Cyanobacteria Yellowstone B-Prime CYB_0819	exbB3	(81)	---PEEFRLESEATQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Synechococcus sp. JA-3-3Ab	exbB3	(88)	---PEEFRLESEATQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Gloeobacter violaceus PCC7421	glr1387	(87)	---ETAERLAIEGAAKTEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Acaryochloris marina MBIC11017	exbB2	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Thermosynechococcus elongatus BP-1	exbB3	(152)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Cyanotheca sp. ATCC 51142	exbB1	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Microcystis aeruginosa NIES-843	exbB3	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Synechocystis PCC6803_sll10677	exbB2	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Trichodesmium erythraeum IMS101	exbB3	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbB2	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Nostoc sp. PCC 7120	exbB2	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbB2	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Synechococcus elongatus PCC 7942	exbB3	(87)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Chlorobaculum tepidum	CT1586	(127)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA1239	(198)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA2127	(134)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Gloeobacter violaceus PCC 7421	exbB2	(91)	---PEEFRLESEAAQAEIPVLRKRFQNFDFVIVISAPLIGLIGTIVTGLI	
Consensus		(200)	PE FRLALESA AELPLLKR ILETTIILAPLIGLIGTIVTGLI	
Transmembrane Region 2			XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
InterPro-Zugang	IPR002898		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	

FIGUR 7 (Fortsetzung)

Acaryochloris marina MBIC11017	exbB1	250	NTFNNINIGSGCTSEQATKAAAGICEALITTAAGMVAIVLALIVLRIEVI	299
Cyanotheca sp. ATCC 51142	exbB2		TTFNNIKIGEGANLAETSQAAAGISEALITTAAGMIVAIALLVYRSVT	
Synechocystis PCC6803_sll10477	exbB1		RTFNNINIGGGSSAEATQAASGICEALITTAAGMMVAIFALLVFRVLS	
Acaryochloris marina MBIC11017	exbB3		NSFSLDVCNIGG-SESAEVTGGISTALISTAAGTIVAVSTLIFANMERS	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbB1		NSFASLINDVGG-TKTAGVTAGISEALVSTASGLVVAIFTLFFANSFRG	
Nostoc sp. PCC 7120	exbB1		NSFASLIDGDVGG-TKTAGVTAGISEALVSTASGLVVAILTFFANSFRG	
Nostoc punctiforme PCC 73102	ExbB1		NSFASLINDVGG-TKTGTGVTAGISEALVSTASGLVVAIFTLFFANFRG	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbB3		TSFASLIDGDVGG-TKTAGVTAGISEALVSTAGLVAIFTLFFANSFRG	
Nostoc sp. PCC 7120	exbB3		TSFASLIDGDVGG-TKTAGVTAGISEALVSTAGLVAIFTLFFANSFRG	
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbB3		ASFASLINDVGG-SKTTNVTAGISEALVSTASGLIVAILMFAFRFRG	
Fremyella diplosiphon Fd33	exbB3		VSFASLINDVGG-TKTAGVTAGISEALVSTASGLIVAILFFANSFRG	
Cyanotheca sp. ATCC 51142	exbB3		RSPASLIDIGNVSG-TNATNVTGGISEALTSVMGLVVAIMTILFANSFRS	
Uncultured Chroococcales cyanobacterium HF070_14_C...			RSPFAALDIGNTGG-TNTGAVTGGISEALTSVMGLVVAIAITLFSNSFRS	
Synchocystis PCC6803_sll11404	exbB3		RSFSSMSLCSSTA-ANASGVTGGISEALVSTVMGLVVAIATLFFANFRS	
Synchococcus sp. PCC 7002 plasmid pAQ7	exbB3		QSFASLINDVGN-TNAAGVTGGISEALVSTVMGLVVAIFTLFFANLNG	
Cyanobacteria Yellowstone B-Prime CYB_0819	exbB3		QILSSIQLDIGG-TDTQVGRGIAEALYSTAFGLIVAIPTLISNFRS	
Synchococcus sp. JA-3-3Ab	exbB3		QILSSIQLDIGG-TDTQVGRGIAEALYSTAFGLIVAIPTLISNFRS	
Gloeobacter violaceus PCC7421	glr1387		NSFASLIGLCTEAS-SKGLEVAGCISEALIAATGMMVALFTLIFASLERA	
Acaryochloris marina MBIC11017	exbB2		NSLGLNFEFFGQ-IVGN-PALGIDQALTSFLVGLIAIAVSLTFYRLFQ	
Thermosynechococcus elongatus BP-1	exbB3		SALSSIRLGDIGT-PATLGVGLGISEALISTASGLIVAIILAALFQRLFO	
Cyanotheca sp. ATCC 51142	exbB1		TSLGNIQISDLGT-SSTTGVTLGISEALISTATGLIVAIISITFYRIFQS	
Microcystis aeruginosa NIES-843	exbB3		TSLANIQLSDLGT-SSTAGVTLGISEALISTATGLIVAIISITFYRIFQ	
Synchocystis PCC6803_sll10677	exbB2		QSLSSIQISDLGT-ASTAGVTLGISEALISTAGLIIIAIVSLAFYRVFQ	
Trichodesmium erythraeum IMS101	exbB3		GSLG\$IRLGDIGT-SSTAGVTGIGISEALISTATGLVVAIFSLVFYRLFQ	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbB2		QSLR\$IRIGDLGT-ESAAGVTGIGISEALISTAGLIIIAIVSLVFYRLFQ	
Nostoc sp. PCC 7120	exbB2		QSLR\$IRIGDLGT-ESAAGVTGIGISEALISTAGLIIIAIVSLVFYRLFQ	
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbB2		QSLR\$IRIGDLGT-ESTAGVTGIGISEALISTATGLIIIAIVSLVFYRLFQ	
Synchococcus elongatus PCC 7942	exbB3		QTLGNIRIGDLGS-SSTAGVSAGICEALITTAAGLIIIAIVSLVFYRLFQ	
Chlorobaculum tepidum : CT1586			RAF\$AMATSGAPD--AVQLSLGISEALFNALGILGCMGIVTVMVETS	
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA1239	exbB3	NAFIGISEAHTTN--LAVVAPGIAEALIAVALGTVAAVPAVVIYNLVR	
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA2127	exbB3	NAFIGISKANTTN--LAVVAPGIAEALIAVALGTVAAVPAVVIYNLVR	
Gloeobacter violaceus PCC 7421	exbB2		RSFQTFPAGEGATS---NKLAAEIGFALIAVALGTVAAVPAVVIYNLVR	
Consensus			NSFASLIGDVG T TAGVT GISEALISTAGLIIIAIVSLVFYRLFQ	
Transmembrane Region 2 (Fortsetzung)			XXXXXX	
Transmembrane Region 3			XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
InterPro-Zugang IPR002898			XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	

FIGUR 7 (Fortsetzung)

Acaryochloris marina MBIC11017	exbb1	(184)	LQARQVDTFSEVGSSEMLIYRQVWYEPNQVNRPAYLPKSGSVEPTQVTTLE	349
Cyanothece sp. ATCC 51142	exbb2	(184)	LQSGQVEYFAEVGTDLELIYRFQWYEPLEEK---QKFSTALPPTI---	
Synechocystis PCC6803_sll0477	exbb1	(212)	LQSQMDYFAAVGSELELIYREVEYFHPMPN-LLMAARIAEP	
Acaryochloris marina MBIC11017	exbb3	(183)	LYQRQLAFIQEHGGQLELLYRHRERGR-VNHALTR	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbb1	(183)	LYQRQLAWIQEYCGQLELLYRRYRERG-KQS	
Nostoc sp. PCC 7120	exbb1	(183)	FYQRQLAWIQEYCGQLELLYRRYRERG-KQG	
Nostoc punctiforme PCC 73102	Exbb1	(183)	LYQRQLAWIQEYGGQLELLYRRYRERGD-KSYVPTR	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbb3	(183)	LYTRQMALFOEYGGQLELLYRRYRERGE-RTYASTR	
Nostoc sp. PCC 7120	exbb3	(183)	LYTRQMALFOEYGGQLELLYRRYRERGE-RTYASTR	
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbb3	(183)	LYQRQLAWIQEYGGQLELLYRRYRERGE-KTYASTR	
Fremyella diplosiphon Fd33	exbb3	(183)	LQQRQTGLIQEYGGQLELLYRRYRERGE-KTYASTR	
Cyanothece sp. ATCC 51142	exbb3	(183)	LYLQCFALVQFYAGQLELLYRRYRERGD-KVYAVTR	
Uncultured Chroococcales cyanobacterium HF070_14_C...		(176)	LYLKEFALIQEYAGQLELLYRHYEKGN-KPYATTR	
Synechocystis PCC6803_sll1404	exbb3	(175)	LYLRQFALIQEYGTGQLELLYRFRHDQPEEKYATSR	
Synechococcus sp. PCC 7002 plasmid pAQ7	exbb3	(182)	LYQRNLAFIQEYGGQLELLYRFRYEKSE--EAIMNR	
Cyanobacteria Yellowstone B-Prime CVB_0819	exbb3	(176)	LYLRQLSKIQEYGGMLELHRQEQEMQAQLSQSYTQSSPSGSSTLPPY	
Synechococcus sp. JA-3-3Ab	exbb3	(183)	LYLRQLSKIQEYGGLELHRQEQEMQAQLSQSYAKPSGPSSTLPPY	
Gloeobacter violaceus PCC7421	g1r1387	(182)	LARRQIVLMETAGTQLELRWRMAETEGVKR---	
Acaryochloris marina MBIC11017	exbb2	(181)	LYVFNQARIERRTGNELLYRQFWLQFSETRPALPPQNDSQE---	
Thermosynechococcus elongatus BP-1	exbb3	(247)	FLLQQAQIFERRTGNELLYRQAWLEQRIKGEAEKTLF---	
Cyanothece sp. ATCC 51142	exbb1	(182)	LWNSQVRIERKAGSELEVIYRQRWSDSEVNPFAFSGNTPSKFTDFFDQ---	
Microcystis aeruginosa NIES-843	exbb3	(182)	LWFNQAIRKAGSDLEIYRQRWLHQEDQQYALSANLEKPLDR---	
Synechocystis PCC6803_sll0677	exbb2	(182)	LWFNQMRVFRKVCSELEVIYRQRWFEEMAYDDGLTSPPEAESLPQ---	
Trichodesmium erythraeum IMS101	exbb3	(182)	LWLNQMKVFRKAGNELELLYRQYQQVFLSSSENQNGFSTSFIONTON	
Anabaena variabilis ATCC 29413	exbb2	(182)	FVFNQLKVFERKAGNEMELLYRQSPDLSNPRPAIVRDALP--SKTGRGKF	
Nostoc sp. PCC 7120	exbb2	(182)	FVFNQLKVFERKAGNEMELLYRQSPDLSNPTPAIVRDALP--SKTGRGKF	
Nostoc punctiforme PCC 73102	exbb2	(182)	FVFNQVKVFRKAGNEMELLYRQSPDLSNPTPAIVRDALP--SKTGRGKF	
Synechococcus elongatus PCC 7942	exbb3	(182)	LIVQCMKVFERRAGNQLMRYQAWARRGLPSQSLR---	
Chlorobaculum tepidum : CT1586		(223)	RVDRFSYQIDFAAFYIIQTLGSSKS-----	
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA1239	exbb3	AIATYRALLGDASAQVLLVSRDRGRSARQMRAG-----	
Rhodospseudomonas palustris CGA009	RPA2127	exbb3	RVTAYRALLGDASTQLLIMISREATRPAQRARMVR-----	
Gloeobacter violaceus PCC 7421	exbb2	(183)	IVAQFEDDQQLKLLFLNFADTAEFEGEVVEESTIPQQ-----	
Consensus		(300)	LY RQL LF E G QLELLYR Y A	
InterPro-Zugang	IPR002898		XXXXXXXXXXXXXXXXXX	

FIGUR 7 (Fortsetzung)


```

CLUSTAL W (1.81) multiples Sequenzalignment
Cyanothece_ATCC_51142_exbB3 -----
Uncultured_Chroococcales_cyano -----
Synechocystis_PCC6803_sll1404 -----
Synechococcus_sp._PCC_7002_pla -----
Anabaena_ATCC_29413_exbB1 -----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1 -----
Nostoc_PCC_73102_ExbB1 -----
Anabaena_ATCC_29413_exbB3 -----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3 -----
Nostoc_PCC_73102_exbB3 -----
Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb -----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB3 -----
Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr -----
Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb -----
Gloeobacter_violaceus_PCC7421_ -----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB1 -----
Microcystis_aeruginosa_NIES-84 -----
Synechocystis_PCC6803_sll0677_ -----
Trichodesmium_erythraeum_IMS10 -----
Anabaena_ATCC_29413_exbB2 -----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2 -----
Nostoc_PCC_73102_exbB2 -----
Synechococcus_elongatus_PCC_79 -----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB2 -----
Thermosynechococcus_elongatus_ -----MRLPLIGIKIHSCEV
Acaryochloris_marina_MBIC11017 -----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB2 -----
Synechocystis_PCC6803_sll0477_ -----
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123 -----MPARHPAPVPENSRLFPEPEQTASGGFMRWPPASDPGARIDFGWPAIRAIAR
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212 -----VRKPQGAAAG-----
Gloeobacter_violaceus_PCC_7421 -----
Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e -----

Cyanothece_ATCC_51142_exbB3 -----
Uncultured_Chroococcales_cyano -----
Synechocystis_PCC6803_sll1404 -----
Synechococcus_sp._PCC_7002_pla -----
Anabaena_ATCC_29413_exbB1 -----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1 -----
Nostoc_PCC_73102_ExbB1 -----
Anabaena_ATCC_29413_exbB3 -----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3 -----
Nostoc_PCC_73102_exbB3 -----
Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb -----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB3 -----
Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr -----
Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb -----M
Gloeobacter_violaceus_PCC7421_ -----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB1 -----
Microcystis_aeruginosa_NIES-84 -----
Synechocystis_PCC6803_sll0677_ -----
Trichodesmium_erythraeum_IMS10 -----
Anabaena_ATCC_29413_exbB2 -----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2 -----
Nostoc_PCC_73102_exbB2 -----
Synechococcus_elongatus_PCC_79 -----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB2 -----
Thermosynechococcus_elongatus_ -----SLHERNHLFRQGSKDNGSRPLAVRFARIWETITATGWTILNLGCSNRESI
Acaryochloris_marina_MBIC11017 -----V
Cyanothece_ATCC_51142_exbB2 -----M
Synechocystis_PCC6803_sll0477_ -----VLDNCKRLLFRKFPCFLSMAPSPLFLTQT
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123 -----GPAPNVFACRKWMMPPFCVPPMIRNLVNASALGFVVALLHGTAAYAAADI
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212 -----RAGAAIAAVAFIAAALPG-DAWAAADL
Gloeobacter_violaceus_PCC_7421 -----MNL
Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e -----MKQGFFTAILIVVTYAVSLGFYVWMGTTTP

```

FIGUR 8

Cyanothece_ATCC_51142_exbB3
 Uncultured_Chroococcales_cyano
 Synechocystis_PCC6803_sll1404_
 Synechococcus_sp._PCC_7002_pla
 Anabaena_ATCC_29413_exbB1
 Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1
 Nostoc_PCC_73102_ExbB1
 Anabaena_ATCC_29413_exbB3
 Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3
 Nostoc_PCC_73102_exbB3
 Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb
 Acaryochloris_MBIC11017_exbB3
 Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr
 Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb
 Gloeobacter_violaceus_PCC7421_
 Cyanothece_ATCC_51142_exbB1
 Microcystis_aeruginosa_NIES-84
 Synechocystis_PCC6803_sll0677_
 Trichodesmium_erythraeum_IMS10
 Anabaena_ATCC_29413_exbB2
 Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2
 Nostoc_PCC_73102_exbB2
 Synechococcus_elongatus_PCC_79
 Acaryochloris_MBIC11017_exbB2
 Thermosynechococcus_elongatus_
 Acaryochloris_marina_MBIC11017
 Cyanothece_ATCC_51142_exbB2
 Synechocystis_PCC6803_sll0477_
 Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123
 Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212
 Gloeobacter_violaceus_PCC_7421
 Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e

Cyanothece_ATCC_51142_exbB3
 Uncultured_Chroococcales_cyano
 Synechocystis_PCC6803_sll1404_
 Synechococcus_sp._PCC_7002_pla
 Anabaena_ATCC_29413_exbB1
 Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1
 Nostoc_PCC_73102_ExbB1
 Anabaena_ATCC_29413_exbB3
 Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3
 Nostoc_PCC_73102_exbB3
 Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb
 Acaryochloris_MBIC11017_exbB3
 Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr
 Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb
 Gloeobacter_violaceus_PCC7421_
 Cyanothece_ATCC_51142_exbB1
 Microcystis_aeruginosa_NIES-84
 Synechocystis_PCC6803_sll0677_
 Trichodesmium_erythraeum_IMS10
 Anabaena_ATCC_29413_exbB2
 Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2
 Nostoc_PCC_73102_exbB2
 Synechococcus_elongatus_PCC_79
 Acaryochloris_MBIC11017_exbB2
 Thermosynechococcus_elongatus_
 Acaryochloris_marina_MBIC11017
 Cyanothece_ATCC_51142_exbB2
 Synechocystis_PCC6803_sll0477_
 Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123
 Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212
 Gloeobacter_violaceus_PCC_7421
 Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e

MSIKNFLVAGGIVAWPLLVSLLGVALI IERIFWYRIKSR--ERKIITT
 -----AGGIVAWPLLAFSLLGVALI IERFLFWQIKAR--EKRVVNT
 -----MAGGIVAVPLLGFSLLAVALI IERAYFWSQIQLR--QNRVND
 MNITNFFAAGGIVAYPLFLFSLAGVACI IERAVFWWRINRR--QRQVVRD
 MGILNLF TAGGVMWPLLAFSLLAVALI IERISFVWRISGK--QNRIVRE
 MGILNLF TAGGVMWPLLAFSLLAVALI IERISFVWRILGK--QNLIVRE
 MEISNLF TAGGVMWPLLAFSLLGVALI IERIFWVRINNR--QNKVVRE
 MGIQNLFAAGGVMWPLLGFSLGVALI VERARFWLKINNR--QQRVVRD
 MGIQNLFAAGGVMWPLLGFSLGVALI VERTRFWLKINNR--QQRVVRD
 MGIQNLFAAGGVMWPLLAFSVLGVALI IERIRFVWRINQR--QNRVVRD
 MGIKNLF AAGGVMWPLLAFSVALAL IVERVRFWYRVNTR--QAKVVRE
 MQFGQVI IAGGVMLPLMVFSLIAIAL IFERLIFWTRVNRN--QLRIVKQ
 -----MIQGWYYSIPLLTFSVFSVACCI ERVLFVWKITHR--QEIVVQ
 DRVLQLLIQGWYYSIPLLTFSVFSVACCI ERALFVWKVTHR--QEEVVRQ
 MAVIDWFVRGGIVMWPMLLCSI IALAI IERIIYYVRLPR--QKAFVEQ
 VNIQEIIMTKGGVAMWPLLILSVLAL STI IERSIFWIRFLK--EGKILNR
 VTITDLIQKGGVAMWPLLFLSILAL STI IERIWFSRTLLS--EGQILNR
 VNPIELMQKGGVAMWPLLILSVSTI IERLWFWGQVILK--SSQTASR
 VTFEELFAKGGVAMWPLLVLVLSILSL STI IDRIWFWTSLLIK--EKQTVNR
 VDIIDLDFYKGGPAMWPLLALSILSLSV IFERLWFWLRLFSQ--EKAIVDR
 VDIIDLDFYKGGPAMWPLLALSILSLSV IFERLWFWLRLFSQ--EKAIVDR
 VDIDLDFYKGGPAMWPLLVLVLSILSLSV IFERLWFWLRLTQ--EKQIVDR
 VNILTLFQKGGLAMPLTGLSILALGTI FERAWFWYALLKQ--ESQIVHR
 VNIIELFKGGPTIWPPLLGLSILAIGTV FERLWFWSNLLKQ--ERKTAKQ
 VNIAEIFNRGGLAMWPLLILSILTLGTI FERLWFGMVLRG--ETKLAEQ
 STIYTFLAKGGVPMIPIAGLSVLTACAFERTI FFWLRLFSQ--EHRIVHD
 THIYDLFLKGGVPMWPLLALS VFTITIALERTWFWIRLLSQ--ENRIVHD
 PRLLEDFLKGGVPMFPLLLSILALTTAFERGWFWSRLLIQ--EDQVVRD
 ASLPRDL SAWGMFKNADIVVKVMAGLALASLATWTVVLSK--TIELRRE
 ATLPRDLSPWGMFLGADAVVRTVMVGLALASLAAWTVWLAK--SIELRRS
 ADLYRFVVDNWVIAVPLLLCSVLTIAVVT ERWLYINRNKTD--VDRFIVR
 ESMFHAVWKGPIVSVLMALILMVIAYI VERIVALNKASGKGSITFEVQS

VLKLYQGNPIAAIAK LKQNADLPMCRIFLEALVLQDAT-----
 VLKLYQGNPMAAIAK LKKNADLPLCRIFLEALILYDAT-----
 VLKLYRSN-PPGAI AKL KQNADLPMARIFLEALCLEGAT-----
 ALGLYRQD-PFNAMKFLKRNADLP IARIFLEALDLENPN-----
 VLRLYQLDNVNSTLEALRQNADLP IARIFLAALELEEPT-----
 VLRLYQLDNVSTLEALRQNADLP IARIFLAALELEEPT-----
 VLQYRLDNVVSALDKLQKNTDLP IARIFLAALELEEAT-----
 VLNLYRLDNVVG AIDKLRKNVDLPLARVFLSALELEEPT-----
 VLNLYRLDNVVG AIDKLRKNVDLPLARVFLSALELEEPT-----
 VLNLYRLDNVVGAMDKLQKNADLPLARIFLAALELEEEN-----
 IILNLYRMDNVVGAIEKSRQANLPIPRI FLAALELEEPT-----
 ALQLYRQDNVYDALRYLQEQARFPIARI FLAALSLEDPT-----
 ALSQYRRN-PRAAQYLLEQNADLP IARIFLAGLELNEAS-----
 ALSQYRRN-PRAAQYLLEQNADLP IARIFLAGLELNEAS-----
 AFATERYQ-PDQLRRLINENADIPLGRIFGSALSVRTDD-----
 VLETAARN-WDAAPKVAKENSKHPMGSFLYGPLRLDNP-----
 IMESAIRN-WDLAAKVAGDSRNHP IGSYLYAPLRLNPD-----
 ILDTAARD-WDTAIRVAQDSRRFP IAKYLLAPLRLPHD-----
 VLESARRD-WSIATEMARRNQKQPIGRFLYAPLRLQHP-----
 VLDAAHDN-WEIAADIARQATDQPIGRFLYAPLHLQKTD-----
 VLDAAHDN-WEIAGDIARQATDQPIGRFLYAPLHLQKTD-----
 ILDAAQDN-WQAAADI AKQASHQPVGRFLYAPLRF AKTD-----
 VLDAADQD-WDLAAEVASRAKNSPIGRFLAAPLQLQPP-----
 ILDAARRD-WDEATHLARQFSNQPIGRFLFTPLRLANQE-----
 ILDAARRD-WQEALELANACDQPIGRFLYTPQLIDTN-----
 VLDAARCS-LEEA EAI AQHARFLPIGRFLLAPLRLHQPS-----
 VLETARYD-LLEAQKIAQHARFLPIGRFLLAPLQLKKPS-----
 VLDAAVED-LVKAREIAEHARHLAIGRFL LAPLKL RHPS-----
 TARARDGLSKLETDTTLAELGRGSEGAHDVAVS QLIQTAAREGSLSGWTFD
 VAVAREGLERLES DNTLQAAAETADQHDVAQM IQTVDREASLSGG AHD
 LQRELERANLSGARNLCEQVGGVIGEVAEDGVRLLSVPR-----
 LKQDVDSGSIDQAISRCDHQSLSAVLRAVLDRYKMLAVHN----VTDR

FIGUR 8 (Fortsetzung)

Cyanothece_ATCC_51142_exbB3 ---PTEFRLALETATQAEPLPKRFNTIFQTI IAVSPLLGLLGTILGLMR
Uncultured_Chroococcales_cyano ---PTEFRLALETATQAGELPLLKRFNTVFQTI IAVSPLLGLLGTILGLMR
Synechocystis_PCC6803_sll1404_ ---PTEFRLALESATQAEPLPKRFNTLFQTI IAVSPLLGLLGTILGLMR
Synechococcus_sp._PCC_7002_pla ---SEEFRLALESATQAEIPTLKRNFNTVFDTI IAVAPLLGLLGTILGLMQ
Anabaena_ATCC_29413_exbB1 ---PEEFRLALESEQAQAEIPVLKRFQNFDTI IGLAPLLGLLGTIVLGLIN
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1 ---PEEFRLALESEQAQAEIPVLKRFQNFDTI IGLAPLLGLLGTIVLGLIN
Nostoc_PCC_73102_ExbB1 ---PEEFRLALESEQAQAEIPLLKRSQNFETI IGLAPLLGLLGTIVLGLIN
Anabaena_ATCC_29413_exbB3 ---PEEFRLALESEQAQAEIPVLKRFQNFDTI IGLAPLLGLLGTIVLGLIT
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3 ---PEEFRLALESEQAQAEIPLLKRFQNFDTI IGLAPLLGLLGTIVLGLIT
Nostoc_PCC_73102_exbB3 ---PEEFRLALESESAQAEIPVLKRFQNFETI ISLAPLLGLLGTIVLGLIA
Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb ---PEEFRLALESEQAQAEIPILKRFNTIFDTI IGLSPLFGLLGTIVLGLIV
Acaryochloris_MBIC11017_exbB3 ---PEEFRLALESEQAQAEPLTKRFTTVFDTI ISISPLLGLLGTIVLGLIN
Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr ---PEDFKLALETALAAEVPLKRFNTVFDTI TVVAPFLGLLGTIVTGIIQ
Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb ---PEDFKLALETALAAEVPLKRFNTVFDTI TVVAPFLGLLGTIVTGIIQ
Gloeobacter_violaceus_PCC7421_ ---ETAFLALEGAAKTEIPKLKRFVSVLDTI IVTLSPLLGLLGTIVLGLIN
Cyanothece_ATCC_51142_exbB1 ---PEVFHLALESSADDELALMRRGDKVLEAVIALSPLLGLLGTIVLGLIT
Microcystis_aeruginosa_NIES-84 ---PEVVFHFALESAADEQLSLMRRGDKILEAVIALSPLLGLLGTIVLGLIT
Synechocystis_PCC6803_sll0677_ ---PEVVFHLALESAAADDQALMRRGDKILEAI IALSPLLGLLGTIVLGLIQ
Trichodesmium_erythraeum_IMS10 ---PEVFKLALEAAADELASMRRGDKLLEGVIALAPMLGLLGTIVLGLIG
Anabaena_ATCC_29413_exbB2 ---AETFRLELESTAEDDELAGMRRGEKLEAVIALAPLLGLLGTIVLGLIQ
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2 ---AETFRLELESTAEDDELAGMRRGEKLEAVIALAPLLGLLGTIVLGLIQ
Nostoc_PCC_73102_exbB2 ---VETFRLELESTAEDDELAGMRRGEKLEAVIALAPLLGLLGTIVLGLIQ
Synechococcus_elongatus_PCC_79 ---PELFRLELEASAEELANMRRGDKLLEAVIA ISPLLGLLGTIVLGLIQ
Acaryochloris_MBIC11017_exbB2 ---PEIFRLELEASADEELTAMRRGSKVLEAVIALSPLLGLLGTIVLGLQN
Thermosynechococcus_elongatus ---PEIFRLELEAAADEELSAMRRGEKLEATITMAPLLGLLGTIVLGLIS
Acaryochloris_marina_MBIC11017 ---PETFRLELEAAADKEFVRMRGDKLLETIVVAPPLMGLLGTIVLGLIN
Cyanothece_ATCC_51142_exbB2 ---PETFRLELEAARGDREFIQMRGDKFLETIVVAPPLGLLGTIVTGLIT
Synechocystis_PCC6803_sll0477_ ---PETFRLELEAATADKEFARMRRGDKLLETI IALAPLLGLLGTIVTGLIR
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123 ADFKERVALLRERVEAAMARKIASGTGILATVGAVAPFVGLFQTVWVIMN
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212 DGFRRERVALLRERVEAAEARAAIGTGLLASIGAVAPFVGLFQTVWVIMN
Gloeobacter_violaceus_PCC_7421 ---VKFEQAFDITINLGMRFKFKHLNVLGTIGAVAPFVGLLGTIVVGLIR
Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e EKRISEMOKAVEEATLMEEMPLLEKNLVAISTIASITMVGLLGTIVLGMIR

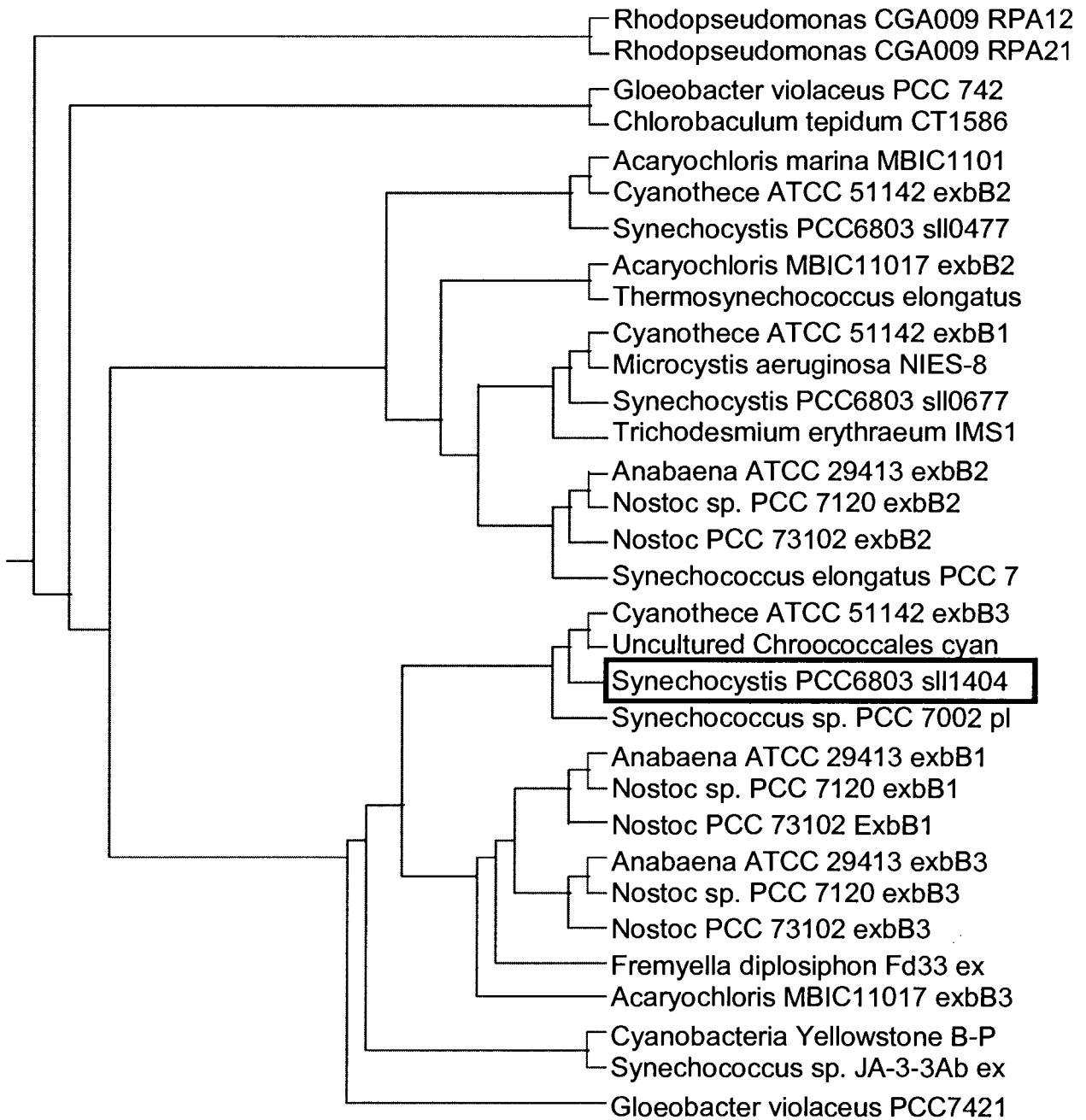
Cyanothece_ATCC_51142_exbB3 SFASLDIGNVSG-TNATNVTGGISEALTSTVMGLVVAIMTLLFANSFRSL
Uncultured_Chroococcales_cyano SFAALDIGNTGG-TNTGAVTGGISEALTSTVMGLVVAIAIILLFNSFRSL
Synechocystis_PCC6803_sll1404_ SFSSMSLGSFTA-ANASGVTGGISEALVSTVMGLVVAIATLLFANVFRSL
Synechococcus_sp._PCC_7002_pla SFSALNIGDVGN-TNAAGVTGGISEALVSTVMGLVVAIFTLFANLFNGL
Anabaena_ATCC_29413_exbB1 SFASLNDIGVVG-TKTAGVTAGISEALVSTASGLVVAIFTLFANSFRGL
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1 SFASLDIGDVVG-TKTAGVTAGISEALVSTASGLVVAIFTLFANSFRGF
Nostoc_PCC_73102_ExbB1 SFASLNDIGDVVG-TKTTGVTSGISEALVSTASGLVVAIFTLFANTFRGL
Anabaena_ATCC_29413_exbB3 SFASLDIGDVVG-TKTAGVTAGISEALVSTAAGLVVAIFTLFANSFRGL
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3 SFASLDIGDVVG-TKTAGVTAGISEALVSTAAGLVVAIFTLFANSFRGL
Nostoc_PCC_73102_exbB3 SFASLNLGDVVG-SKTTNVTAGISEALVSTASGLVVAIFILMFANTFRGL
Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb SFASLNLGDVVG-TKTAGVTSGISEALVSTASGLVVAIFTLFANSFRGL
Acaryochloris_MBIC11017_exbB3 SFSSLDVGNIGG-SESAEVTGGISTALISTAAGLIVAI STLIFANMFRSL
Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr ILSSIQLGDIGG-TDTQGVGRGIAEALYSTAFGLIVAIPTLLISNVFRSL
Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb ILSSIQLGDIGG-TDTQGVGGIAEALYSTAFGLIVAIPTLLISNVFRSL
Gloeobacter_violaceus_PCC7421_ SFASLGLGTEAS-SKGLEVAGGISEALIATATGMMVALFTLLFASLFRAL
Cyanothece_ATCC_51142_exbB1 SLGNIQISDLGT-SSTGTGVLGIGEALISTATGLIVAIISLTFYRIFQSL
Microcystis_aeruginosa_NIES-84 SLANIQLSDLGT-SSTAGVTLGISEALISTATGLIVAIIFSLAFYRVFQGL
Synechocystis_PCC6803_sll0677_ SLSSIQISDLGT-ASTAGVTLGIGEALISTAAGLIIAIVSLAFYRVFQGL
Trichodesmium_erythraeum_IMS10 SLGSIRLGDGLGT-SSTAGVTVGIGEALISTATGLVVAIFSLVFYRLFQSL
Anabaena_ATCC_29413_exbB2 SLRSIRIGDLGT-ESAAGVTTGIGESLISTAAGLIVAIIVSLVFYRLFQSF
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2 SLRSIRIGDLGT-ESAAGVTTGIGESLISTAAGLIVAIIVSLVFYRLFQSF
Nostoc_PCC_73102_exbB2 SLRSIRIGDLGT-ESTAGVTTGIGESLISTATGLIVAIISLAFYRLFQSF
Synechococcus_elongatus_PCC_79 TLGNLRIGDLGS-SSTAGVSAGIGEALITTTATGLIVAIIVALAAYRVFQGL
Acaryochloris_MBIC11017_exbB2 SLGKLNFEFEGQ-IVGN-PALGIDQALTSTLVGLAIAIVSLVFYRLFQGL
Thermosynechococcus_elongatus_ ALSSIRLGDIGT-PATLGVGLGISEALISTASGLVVAIIVALAFQRLFQAF
Acaryochloris_marina_MBIC11017 TFNNLNIGSGGTSEQATKAAAGIGEALLTTAAGMVVAIALIVLRFVIL
Cyanothece_ATCC_51142_exbB2 TFNNLNKIGEGANLAETSQAAAGISEALITTAAGMIVAIIVALVYRVSVTL
Synechocystis_PCC6803_sll0477_ TFNNLNIGGGSSAEATQAASGIGEALITTAAGMMVAIFALLVFRVLVSL
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123 AFIGISEAHTN---LAVVAPGIAEALLATALGLVAAVPAVVIYNLVRA
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212 AFIGISKANTN---LAVVAPGIAEALLATALGLVAAIPAVVIYNHLTRR
Gloeobacter_violaceus_PCC_7421 SFQTFAGEGATS---NKLAAEIGFALIAATAAGLIVAIASVVAIYFNQNI
Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e AFSAMATSGAPD---AVQLSLGISEALFNATALGILGGIMGIVTYNVFTSR

: : * : * * * : : :

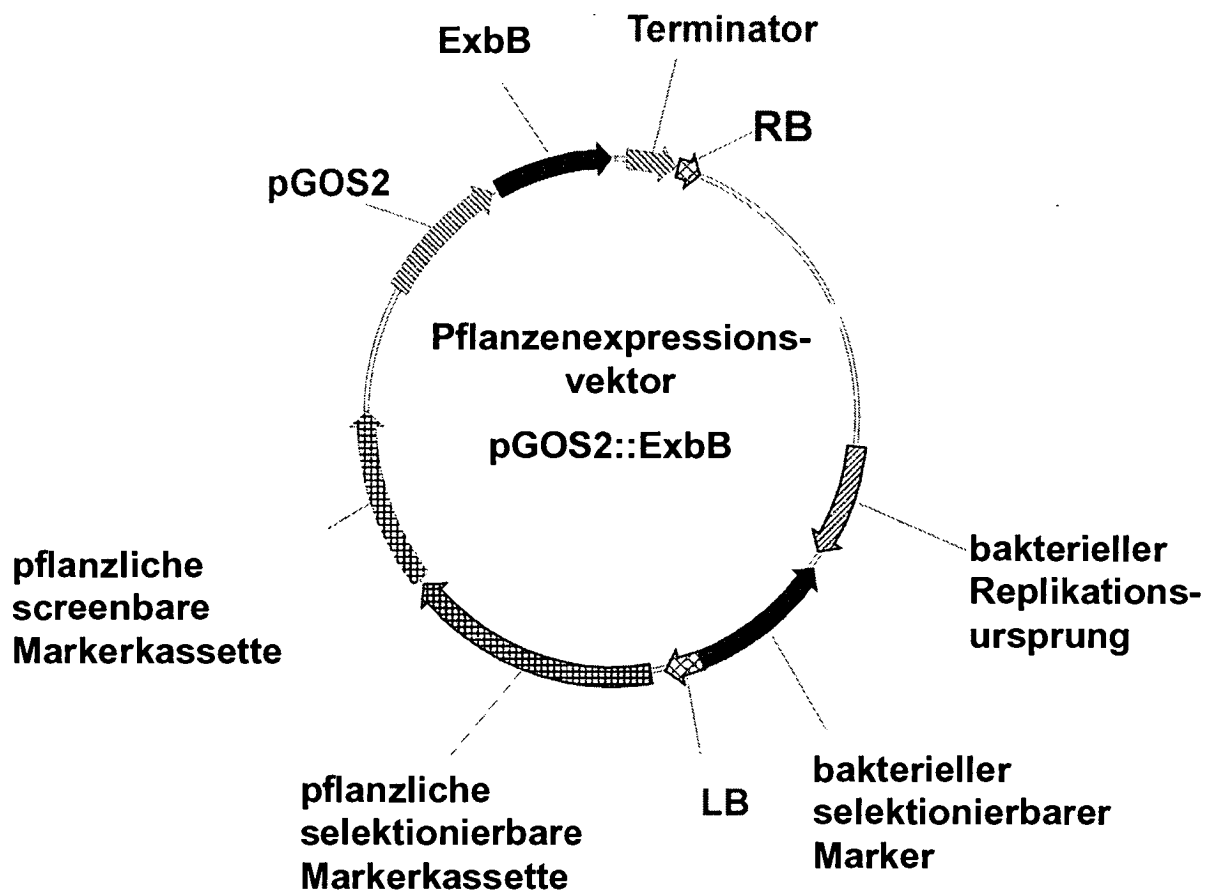
FIGUR 8 (Fortsetzung)

Cyanothece_ATCC_51142_exbB3	YLQOFALVQEYAGQLELLYRRFYERGDKPYAVTR-----
Uncultured_Chroococcales_cyano	YLKEFALIQEYAGQLELLYRRHYEKGNKPYATTR-----
Synechocystis_PCC6803_sll1404_	YLRQFALIQEQTGQIELVYRRFHDQPPEEKEYATSR-----
Synechococcus_sp._PCC_7002_pla	YQRNLAFIQEYGGQLELLYRRFYEKSEEAIMNR-----
Anabaena_ATCC_29413_exbB1	YQRQIAWIQEYGGQLELLYRRRYERRGKQS-----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1	YQRQIAWIQEYGGQLELLYRRRYERRGKQG-----
Nostoc_PCC_73102_ExbB1	YQRQIAWIQEYGGQLELLYRRRYERRGKSYVPTR-----
Anabaena_ATCC_29413_exbB3	YTRQMALFQEYGGQLELLYRRRYERGERTYASTR-----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3	YTRQMALFQEYGGQLELLYRRRYERGERTYASTR-----
Nostoc_PCC_73102_exbB3	YQRQIALIQEYGGQLELLYRRRYERGEKTYASTR-----
Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb	AQRQTGLIQEYGGQLELLYRRRYERGDKQVYASTR-----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB3	YQRQLAFIQEHGGQLELLYRHRVERGRVNHALTR-----
Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr	YLRQLSKIQEYGGMLELLHRQRQEMQAQQLSQYSYTTQSSPSGSSTLPPYS
Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb	YLRQLSKIQEYGGLELLHRQRQEMQAQQLSQYSYAKSPSPSGSSTLPPYS
Gloeobacter_violaceus_PCC7421_	ARRQIVLMETAGTQLELRWRMAETEGVKR-----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB1	WSNQVRIFRKAGSELEVIYRQRWSDSEVNPSAFSGNTPSKFTDTFDQ---
Microcystis_aeruginosa_NIES-84	WFNQARIFRKAGSDLEIIYRQRWLHQEDQYALSANLEKPLDR-----
Synechocystis_PCC6803_sll0677_	WFNQMRVFRKVGSELEVLYRQRWFEEEMAYDDGLTPSPEAESLPQ----
Trichodesmium_erythraeum_IMS10	LFNQMKVFRKAGNELELLYRQYVQVFLSSSENQNPFGFSTFIQNTQNN
Anabaena_ATCC_29413_exbB2	VVNQLKVFVRKAGNEMELLYRQSPDLSNPRPAIVRD--ALPSKTGRGKFS
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2	VVNQLKVFVRKAGNEMELLYRQSPDLSNPTPAIVRD--ALPSKTGRGKFP
Nostoc_PCC_73102_exbB2	VVNQVKVFRKAGNEMELLYRQSPPDFSNITSPIVRENFTPPRKPGRKTRLP
Synechococcus_elongatus_PCC_79	IVQQMKVFRRAGNLELMYRQAWARRGLPSQSLR-----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB2	VFNQARIFRRTGNELELVYRQFWLQPSSETRPALPPQNDSQE-----
Thermosynechococcus_elongatus_	LLQQAQIFRRTGNELELVYRQAWLEQRIKGEAEKTLF-----
Acaryochloris_marina_MBIC11017	QARQVDTFSEVGGSELELIYRQVWYEPNQVNRPAVLPKGSSEVPEQTVLET
Cyanothece_ATCC_51142_exbB2	QSQQVEYFAEVGTDLELIYRQFWYEPPELEEKQKFSTALPPTI-----
Synechocystis_PCC6803_sll0477_	QSQQMDYFAAVGSELELIYREVWYEPHQMPNLLMAARIAEP-----
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123	IATYRALLGDASAQVLLLVSRDRGRSARQMRAG-----
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212	VTAYRALLGDASTQLLLMISREATRPAQRARMVR-----
Gloeobacter_violaceus_PCC_7421	VAQFEDDFQLKLLFLNFADTAEFEGEVVEESTIPOQ-----
Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e	VDRFSYQIDEAAFYIIQTLGSSKS-----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB3	-----
Uncultured_Chroococcales_cyano	-----
Synechocystis_PCC6803_sll1404_	-----
Synechococcus_sp._PCC_7002_pla	-----
Anabaena_ATCC_29413_exbB1	-----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB1	-----
Nostoc_PCC_73102_ExbB1	-----
Anabaena_ATCC_29413_exbB3	-----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB3	-----
Nostoc_PCC_73102_exbB3	-----
Fremyella_diplosiphon_Fd33_exb	-----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB3	-----
Cyanobacteria_Yellowstone_B-Pr	SLEPS-----
Synechococcus_sp._JA-3-3Ab_exb	PLEPS-----
Gloeobacter_violaceus_PCC7421_	-----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB1	-----
Microcystis_aeruginosa_NIES-84	-----
Synechocystis_PCC6803_sll0677_	-----
Trichodesmium_erythraeum_IMS10	INTLEPDQKPTDFLSENDPEQSQDNSHDQ
Anabaena_ATCC_29413_exbB2	QPPEPPNLP-----
Nostoc_sp._PCC_7120_exbB2	QPPEPPNLP-----
Nostoc_PCC_73102_exbB2	EPPEPPNLPN-----
Synechococcus_elongatus_PCC_79	-----
Acaryochloris_MBIC11017_exbB2	-----
Thermosynechococcus_elongatus_	-----
Acaryochloris_marina_MBIC11017	L-----
Cyanothece_ATCC_51142_exbB2	-----
Synechocystis_PCC6803_sll0477_	-----
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA123	-----
Rhodopseudomonas_CGA009_RPA212	-----
Gloeobacter_violaceus_PCC_7421	-----
Chlorobaculum_tepidum_CT1586_e	-----

FIGUR 8 (Fortsetzung)



FIGUR 9



FIGUR 10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	31,5	31,4	54,6	56,9	31,4	60,1	23,4	46,8	34,1	34,8	70,2	57,3	23,2	41,0	35,1	59,6	30,6	60,1	60,1	56,4	31,4	17,2	22,8	32,7	45,4	64,1	28,3	34,4	27,1	29,5	72,5
2	51,9	42,1	37,6	37,6	47,1	37,4	18,1	34,2	44,3	61,3	36,6	36,3	28,0	31,1	39,1	38,0	43,0	37,3	37,8	37,1	45,7	17,8	21,8	48,5	35,0	33,6	55,9	41,7	33,8	40,3	34,0
3	49,1	57,0	34,2	34,4	48,5	33,5	17,4	27,8	50,9	42,0	32,1	35,3	25,0	30,5	50,2	33,9	47,5	33,0	33,5	33,9	48,1	16,9	20,7	54,3	28,6	32,7	37,8	50,2	44,1	46,7	30,4
4	71,9	55,3	51,8	63,6	36,3	62,7	22,0	45,0	37,0	37,0	56,2	64,5	26,8	46,8	37,6	64,5	34,6	64,1	62,7	63,6	36,3	16,5	19,5	40,4	45,6	59,4	34,0	40,6	29,8	32,1	53,9
5	71,8	54,9	51,4	78,3	40,4	80,2	23,4	47,1	38,3	39,2	60,8	76,5	25,7	47,0	41,2	84,8	37,9	80,2	79,7	96,7	40,0	18,2	21,3	43,3	47,7	64,4	35,7	40,4	31,9	35,5	57,1
6	50,2	62,8	64,4	53,6	56,5	39,2	19,8	33,3	55,6	44,8	35,0	37,9	27,2	31,0	52,3	40,4	82,2	37,9	39,2	40,4	98,7	18,4	22,9	58,6	36,1	33,5	41,3	55,4	40,1	56,3	32,9
7	73,3	54,9	51,4	77,4	88,9	58,2	20,4	48,7	38,7	39,9	62,2	79,3	29,9	44,3	40,3	81,1	37,9	85,7	99,1	78,8	39,6	19,9	21,3	42,2	47,7	65,4	34,1	41,2	30,2	34,7	60,8
8	41,7	40,1	39,7	42,1	40,5	41,7	40,1	19,2	19,8	18,2	22,3	21,8	22,3	20,1	20,0	22,3	17,5	22,1	20,8	21,2	20,5	16,8	21,8	21,0	18,9	23,3	18,7	22,6	17,6	18,6	21,8
9	62,8	54,9	46,3	64,5	63,2	51,0	63,6	43,7	33,3	33,3	44,1	47,5	25,2	32,1	33,8	48,7	34,3	49,6	49,2	46,6	33,9	18,8	21,5	30,8	93,3	47,3	27,0	35,9	27,8	34,9	47,0
10	54,6	62,6	65,1	58,1	56,3	69,9	59,0	40,9	56,7	45,3	37,0	38,3	26,1	33,2	70,7	39,6	55,8	39,1	38,3	55,6	15,7	21,0	55,5	34,0	33,6	39,6	65,9	39,5	56,3	36,1	
11	55,8	76,6	54,4	56,2	58,0	61,9	59,7	53,7	62,9	34,2	38,6	30,3	32,7	44,7	39,2	43,4	41,9	40,5	38,8	44,4	17,9	19,2	49,1	34,2	35,0	56,3	41,5	34,1	40,3	32,5	
12	82,0	54,5	50,0	73,3	72,4	52,7	76,5	43,7	64,1	57,2	53,5	62,2	24,5	41,5	35,8	65,4	32,5	62,2	62,7	61,3	34,6	19,6	22,8	36,2	43,9	64,1	30,1	32,9	30,0	30,2	80,6
13	72,8	54,9	51,8	77,9	86,6	57,3	91,2	42,9	63,2	58,1	58,4	76,5	26,4	45,7	43,8	77,4	37,0	78,8	79,3	75,6	38,3	18,1	18,7	42,9	48,1	61,8	34,5	40,4	32,3	34,4	57,1
14	48,6	46,4	41,0	52,7	45,5	46,4	50,5	46,2	45,9	45,9	47,3	49,5	46,4	24,9	22,2	25,7	26,0	27,7	29,9	25,2	27,2	19,3	21,6	24,0	25,2	25,7	24,3	25,7	20,8	24,2	23,1
15	62,1	50,6	50,9	65,0	66,7	53,1	63,1	41,7	54,5	55,0	53,1	63,1	64,5	49,1	34,7	45,7	29,8	46,6	44,3	47,0	31,4	18,2	20,6	34,7	32,4	42,3	30,3	31,3	28,2	28,7	40,1
16	56,0	57,0	67,1	57,3	58,7	68,2	60,9	41,7	51,5	81,2	62,8	57,3	61,8	42,7	54,2	41,6	53,3	41,6	40,7	40,7	51,5	16,7	20,7	57,8	34,9	35,6	40,1	68,0	40,3	54,8	34,8
17	73,3	57,0	51,8	80,6	90,8	58,2	90,8	42,1	64,5	59,0	59,7	78,3	87,1	50,9	65,9	60,0	37,0	85,3	81,6	83,4	40,0	19,6	23,6	39,6	49,0	65,9	34,5	41,2	31,6	35,5	61,3
18	49,6	60,7	64,9	51,7	55,8	88,4	55,4	40,5	53,7	69,8	62,0	50,4	56,6	46,7	51,7	68,2	56,6	36,6	37,9	38,7	82,6	13,7	21,0	56,6	35,0	32,6	41,4	54,1	41,4	57,1	33,6
19	75,1	55,3	51,8	79,3	88,0	57,7	93,5	43,3	64,5	58,1	59,7	78,8	90,8	52,3	65,4	60,4	91,7	55,4	85,3	78,8	38,3	18,1	20,6	40,1	48,1	65,9	33,7	39,9	30,5	34,4	60,8
20	72,8	55,3	51,4	77,4	88,9	58,2	99,5	41,3	63,6	58,5	59,7	76,5	91,2	51,4	63,1	60,9	90,8	55,4	93,5	78,3	39,6	19,6	21,3	41,7	47,7	65,0	34,1	41,7	30,2	34,7	61,3
21	70,9	55,3	51,8	77,4	97,2	56,9	86,6	40,5	62,3	56,8	58,0	72,4	85,3	44,1	66,7	57,8	88,9	56,6	86,6	86,6	40,4	18,7	22,1	42,4	47,3	63,4	34,9	39,9	31,9	35,1	57,1
22	50,6	61,9	64,0	53,1	56,1	98,7	57,3	42,9	51,0	69,9	61,5	52,3	56,9	46,4	53,1	67,4	57,7	88,8	56,9	57,3	56,9	18,1	22,6	58,2	35,8	33,5	41,3	55,4	40,1	56,3	32,5
23	30,5	29,3	30,2	28,4	30,5	29,6	34,1	30,2	30,5	29,3	31,7	29,6	30,8	32,6	28,7	29,6	28,0	31,1	29,3	31,7	29,9	52,9	19,5	17,0	17,9	17,6	17,5	21,2	16,1	19,6	
24	37,4	34,7	35,8	34,3	36,2	39,6	32,5	44,5	36,6	36,2	33,6	37,4	34,3	33,6	36,2	40,0	36,6	37,4	35,5	32,5	36,6	64,0	22,5	20,5	24,7	22,8	20,9	20,1	19,6	22,8	
25	56,9	61,7	68,9	59,0	62,5	72,8	62,2	38,9	51,5	73,4	61,5	56,2	62,2	45,5	55,1	75,6	59,9	70,7	62,2	61,8	62,0	72,4	31,7	36,2	32,4	37,5	48,8	56,8	44,0	52,1	35,3
26	61,8	55,0	47,5	63,9	62,6	54,4	62,2	42,1	95,0	55,9	53,4	62,6	61,8	45,4	53,4	53,8	63,9	55,0	62,2	61,8	61,8	53,6	30,8	36,2	53,8	47,5	28,5	36,6	28,1	34,4	45,2
27	75,3	51,1	50,0	75,6	75,8	51,9	76,0	41,3	63,2	55,5	52,7	78,3	75,6	46,4	63,3	56,0	77,4	50,4	77,9	75,6	74,4	51,9	29,0	38,1	58,8	63,0	31,1	36,6	28,5	31,0	62,2
28	46,5	69,3	52,4	52,4	51,2	59,4	50,8	40,9	46,5	57,9	68,9	46,1	51,6	44,1	46,9	56,3	51,6	59,8	52,0	50,8	50,4	32,3	38,9	59,4	48,4	48,4	42,4	36,6	39,0	28,5	
29	56,4	61,3	67,0	60,8	58,1	68,2	59,0	42,9	54,1	82,1	63,9	55,1	59,0	48,0	54,2	81,1	59,0	69,0	59,5	59,0	68,2	30,8	36,2	75,3	55,0	57,3	59,8	40,8	54,8	34,2	
30	39,1	49,6	54,9	43,7	44,7	57,7	45,1	38,7	42,3	55,6	48,2	43,3	45,1	35,9	42,6	57,7	44,4	59,2	45,4	45,1	57,7	35,7	35,2	58,5	41,5	39,8	53,5	57,4	38,0	26,7	
31	50,2	55,9	62,5	52,9	51,0	67,4	52,5	40,6	52,1	72,0	58,2	49,8	53,3	42,1	47,9	70,9	52,5	69,3	52,1	52,5	50,2	67,4	26,2	38,1	67,0	52,5	51,0	58,2	70,1	57,0	30,5
32	82,9	52,8	48,6	70,5	72,3	51,0	74,2	42,1	63,6	54,6	50,9	89,9	74,7	43,6	61,6	55,6	76,0	50,8	77,0	74,2	71,8	50,6	31,4	35,5	56,0	61,8	74,0	44,1	53,3	39,8	48,7

FIGUR 11

MNTNLILDVDSYKVSHWLQYPPD TTAMYSYVESRGG RYPVTVFFGLQYI

LKRYLTQSI EPWMVEE ANRL LTAHGLPFNYGGWRYIAEDLQGR LPVRIK

AVPEGSVIPVHNVLMTVESTDPKVFWL VSWLETLLMRVWYPITVATQSW

HLKQRIYQSLC RTADDPDGEIN FKLHDFGARGVSSGESSGIGGLAHLVN

-----7-----

FQGS DTVKALVYGQQY NC PMAAYSIPAAEHSTITAWGREGEVLAYENM

---7--- -----8-----

LTQFAKPGSVLAVVSDSYDLWNAIDHLWGDHLRAQVLD SGATVVIRPDS

-----9----- ---10-

GDPVAIIVAQTLERLEACFGSTLNSKGFRLNAVRVIQGDGVDEESISAI

--- -----11---

LEKTESLGFSTTNLAFGMGGALLQKVN RDTQKFAMKCSEVTVEDKAIPV

-----12-----

YKDPVTDPGKTSKKGRLSLVKTDSGYGTVP TSSDLLQVVYENGHLLQD

QCLDAIRQRAWPLIRVNPAS

FIGUR 12


```

CLUSTAL W (1.81) multiples Sequenzalignment

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
Synechococcus_elongatusPCC6301
Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
Burkholderia_phytofirmans_PsJN
Ralstonia_solanacearum_GMI1000
Stenotrophomonas_maltophilia_K
Xanthomonas_campestris_B100
Pasteurella_multocida_subsp_Pm
Psychrobacter_sp_PRFw-1_NMPRT
Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
Magnetospirillum_magneticum_AM
Aureococcus_anophagefferens_39
Chlamydomonas_reinhardtii_2065
Volvox_carteri_90876_NMPRT
Chlorella_133026_NMPRT

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
Synechococcus_elongatusPCC6301
Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
Burkholderia_phytofirmans_PsJN
Ralstonia_solanacearum_GMI1000
Stenotrophomonas_maltophilia_K
Xanthomonas_campestris_B100
Pasteurella_multocida_subsp_Pm
Psychrobacter_sp_PRFw-1_NMPRT
Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
Magnetospirillum_magneticum_AM
Aureococcus_anophagefferens_39
Chlamydomonas_reinhardtii_2065
Volvox_carteri_90876_NMPRT
Chlorella_133026_NMPRT

-----MNTNLI L DVDSYKVSHWLQYPPDTTAMYS
-----MDLNLLFDTDSYKVSHWLQYPADTTAIGA
-----MTTPSLDNLILDTDSYKSSHFLQYPPGTRLLFS
-----MQNESSGPDIIASILSNPILNTDSYKASHYLQYPEASAMFS
-----MQNDLPG---LSAILSNPILNTDSYKASHYLQY PAGTSAMFS
-----MHYLDNLLNLTDSYKASHWLQYPPGTDATFF
MTSRWRTRRRPRREGASVMHYLDNLLNLTDSYKASHWLQYPPGTDASFF
-----MYTSNFNLI L NTDSYKASHWLQYPPNTEYISY
-----MFTANFNLI L NSDSYKTSHWLQYPPGSEYMSS
-----MKNSI L LNVDSYKTSHWLQY PAGATQVSS
-----MRGGLNPILAVDSYKASHKWQYPPGTEYVSS
-----MDNILLLTDSYKVSHWKQYPAKTTTVYS
-----MLPVGPV I SVLTDSYKATHFLQYPKAKMVAY
-----MLPLGVP I SVLSDSYKATHFLQYPKAKMVAY
-----MFSKRHRREQAAPAKAEAAA AVAAA PATTAAPHLLT SYLPIAY
:    :
:    :

YVESRGG---RYPVTVFFGLQYLKR YLT-QSIEPVMVEEANRLLLT AHG
YLESRGG---DCSHTLFFGLQYLLRLRYFF-QPITSADIQEAAALFQAHG
YLESRGG---RYPVTRFFGLQYILSR YLT-RRVTMEMVEEARAVIEAHG
YLESRGG---RYDRTLFFGLQMLIKE YLC-RPITPAMIEQAKAFFTAHG
YVESRGG---RYDRTVFFGLQMLAKE YLC-RPITPAMIDAARGFFFAAHG
YVESRGG---LHDRTVFFGLQAILK DALA-RPVTHADIDDAKALLAAHG
YVESRGG---VYDQTVFFGLQ SILKEAIN-RPVTHADIDAEVVLTAHG
YIEARGG---NFD-VLAFGLQAFIKEY LL-KPISQNDIDEAEVVLTAHG
YVEARKG---DYD-VVFFGLQAFIKEY LN-KPITTADIDDAELVIKAHG
YIESRGG---AFEKAVFFGLQMF IKEYLT-KPITADDDIEEAKL VYQAHG
YVEARADNSGLDLPGLVFLQPLLR TLAA-HPVGEADIVRAARLFAAHG
YFESRGG---KYDEVVFFGLQYVVKYLVGEQVT KAKIDEAERFYGEHF
GEFRRQGFKDKTDRLVSYGMRYLVE YIYIS-RQWTMEDVEMADAFYRTHM
GEFRRQGFKDKADTRMVSYGI RYLVENYVA-KPWMTMEDVEMAEAFYSREG
GEFRRQGYDKDTRDTRAVFYGLR YLILENFVA-RRWTLQDVVELADRRFFGSHM
:    : *
:    :
:    :
:    :
:    :

```

FIGUR 13

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP	LP-----FNYGWRVIAED-----LQRLPVRIRKAVPEGSVIPVHNV
Synechococcus_elongatusPCC6301	LP-----FNQAGWQRVCDR-----YGYLPLRIRAVPEGSIVPTGNI
Deinococcus_radiodurans_R1_NMP	EP-----FPYEGWRRVVEV-----HGKLPLEIRAVPEGLVPIHNV
Burkholderia_phytofirmans_PsJN	EP-----FNEAGWRYIVEH-----HGYLPLRIRAVPEGSVVPTHNV
Ralstonia_solanacearum_GMI1000	EP-----FNEAGWRYIVAR-----YDGYLPLRIRAVPEGSVVPNHNV
Stenotrophomonas_maltophilia_K	EP-----FNEAGWRDIVDR-----LGGHLLPVRIRAVPEGSVVPTHQA
Xanthomonas_campestris_B100	EP-----FNEAGWRDIVDR-----LGGQQLPVRIRAVPEGSVVPTHNV
Pasteurella_multocida_subsp_Pm	LP-----FNRQGWORLLEK-----HQGLLPKIEAVPEGLVPTGNV
Psychrobacter_sp_PPRwf-1_NMPRT	LP-----FNRSGWERLVEK-----HNGYLPVIRIQAVPEGSIVPVSNV
Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N	VP-----FNEEGWRYILEK-----HEGYLPIEIQAAPEGTVMDVKNV
Magnetospirillum_magneticum_AM	VP-----FHEEGWRHILSR-----HGGRLPVEIRAVAEGTLVPFSNV
Aureococcus_anophagefferens_39	PPGF--EFNRAGWEHILEK-----HGGRLPLRIKAAPEGTVVGAKNV
Chlamydomonas_reinhardtii_2065	APNHTAFPFRALFEKVVRE-----NNGFFPVKLETLPEGTCAHVRVP
Volvox_carteri_90876_NMPRT	DLTLPAAPPQTPFSSATRDYPPRPVCRAGYFPVKLEALPEGTCIHARVP
Chlorella_133026_NMPRT	APGYTAFPPKDLFLKFAE-----NDGYMPVVRVEALPEGTCMHAHVP
	* : * : * : * : *
Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP	LMTVESTDPKVFWLVSWLETLMLR-VWYPIVATQSWHLKQRIYQSLCRT
Synechococcus_elongatusPCC6301	LLTVESTDP ELAWLATWVETLLLR-VWYPIVATRSWQLRQIIQQALEQS
Deinococcus_radiodurans_R1_NMP	LMSCINTDPELPWLPWFETMLMR-VWYPTTVCTQSWHIREIIRQALEDT
Burkholderia_phytofirmans_PsJN	LVTVCEDDPQVFWLASYLETMLLR-VWYPIVATQSWHLRETIRGYLLKS
Ralstonia_solanacearum_GMI1000	LMTVECCDDPEVFWLASYLETMLLR-VWYPIVATQSWHLRQLVHRYLEQT
Stenotrophomonas_maltophilia_K	LMTIESTDPAAFWVPSYLETLLLR-VWYPTVATISWHARQTIAAFLLQQT
Xanthomonas_campestris_B100	LMTIESTDAKAFWVPSYLETLLLR-VWYPTVATVSMQVKQIVRDFLQRT
Pasteurella_multocida_subsp_Pm	VCQIVNTDPEFFFWLVGYLETALLRAIWYSPSTVASVSYFCKQIKITALEKS
Psychrobacter_sp_PPRwf-1_NMPRT	VCQIINTDPEFYWLPSPSYLETSLRAIWYSPSTVASLSYYCKNIKAALEKS
Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N	MVQVINTDRNCAWLTSYVETALLRAVWYPTTVATVSWSCRNIKRYLEET
Magnetospirillum_magneticum_AM	VAQVNTDPQAFWLTSYLETMLQALWYPSVTVATVSWAVKRIILREFWLLT
Aureococcus_anophagefferens_39	LMTVENTDPACFWLNTFVETLLVQ-VWYPMVTAHRSREKQKVVAKYLDVT
Chlamydomonas_reinhardtii_2065	VYQITAVG-EYAPLCTFLETILTM-IWYPTSVATLSRRARDVVEASFART
Volvox_carteri_90876_NMPRT	VYQITATG-EYSPLCTFLETLLTM-IWYPTTVATLSRRKARDVVEVSFGRT
Chlorella_133026_NMPRT	VFQLTAEA-PYAPLCTYLETLLTQ-LWYPTTVATLSRRCKDLIAAAFEQS

FIGUR 13 (Fortsetzung)

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
 Synechococcus_elongatusPCC6301
 Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
 Burkholderia_phytofirmans_PsJN
 Ralstonia_solanacearum_GMI1000
 Stenotrophomonas_maltophilia_K
 Xanthomonas_campestris_B100
 Pasteurella_multocida_subsp_Pm
 Psychrobacter_sp_PRWf-1_NMPRT
 Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
 Magnetospirillum_magneticum_AM
 Aureococcus_anophagefferens_39
 Chlamydomonas_reinhardtii_2065
 Volvox_carteri_90876_NMPRT
 Chlorella_133026_NMPRT

 Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
 Synechococcus_elongatusPCC6301
 Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
 Burkholderia_phytofirmans_PsJN
 Ralstonia_solanacearum_GMI1000
 Stenotrophomonas_maltophilia_K
 Xanthomonas_campestris_B100
 Pasteurella_multocida_subsp_Pm
 Psychrobacter_sp_PRWf-1_NMPRT
 Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
 Magnetospirillum_magneticum_AM
 Aureococcus_anophagefferens_39
 Chlamydomonas_reinhardtii_2065
 Volvox_carteri_90876_NMPRT
 Chlorella_133026_NMPRT

AVVSDSYDLWNAIDHLWGDHLRAQVLDSGATVWVIRPDSGDVPVAIVAQTLE
 AVVSDSYDLWHAVDQWGEDLRDRILQSGATVWVIRPDSGPNPEQIVPELLR
 AVVSDSYDLKHAINVHWGETLKEVEESGGLVVRPDSGDPPAMVRLAVN
 SVVSDSYDLFAALNANG - TELKQAVLDSGGTLVIRPDSGDPQTIVLQTLR
 SVVSDSYDLFAALRLWG - GELRQAVIDSATLVVRPDSGDPRISIVLQTVR
 AVVSDSYDIYRAISEHWGTTLRDQVIASGATLVIRPDSGDVFVVAESLR
 AVVSDSYDIYRAIREHWGTTLRREI IASGATVWVIRPDSGDVVDVVEQCLL
 AVVSDSYDLWNALENIWGTQLKDLVEIKGGTLVVRPDSGDPAEAVVVRTLA
 AVVSDSYNLWNAIDNIWGDALKQQVETMGGTLVVRPDSGDPAKVVREALE
 AVVSDSYDLWNAIDNLMGEALKTKIERSGGTLVVRPDSGDVVAIVTETIE
 AVVSDSYDVFFHAVENLWGRELRAQVLDMGGTLVIRPDSGDVVDVVSQVLR
 ACVSDSYDIFKACGDLWGTQLKDAVLARDGCLVVRPDSGDPSTAMRVLT
 ACVMSDYDYAKALSEVLPVSVHKL - SKGGYLVLRPDSGDPTAEVLMALA
 ACVMSDYDYCKALSEVLPVSAAHKV - SRGGYLVLRPDSGDPTAEVLMALN
 ATVMSDYDYQRALDEVVPAVAEEKN - AQGGFVWLRPDSGDPTAEVLQGLR
 : * * * * *
 . . . * : * * * * *
 RLEACFGSTLNSKGFVRLN - AVRVIQDGVDEESISAILKTESLGFSTT
 RLAAKFGCDRNLQGYQVLR - SVRVIQDGITVDSLPKVLQAVMAAGFSAS
 ALAAKYGTTTNSKGFVRLN - HVRVIQDGIDESTIRQILQNLVYVDGFSAE
 ALAASFSGVNVGKRRVRLN - NVRVIQDGVNPDSEIATLATMDQAGFATD
 ALDASFSGATVNGKGYRVLN - HVRVIQDGVINAASIEAILAELEAAGYAAD
 RLDEAFGHAIINGKGYRVLN - HVRVIQDGINPDTIRAILQRITDDGYAAD
 LLDEAFGHQVNGKGYKVLN - HVRVIQDGINPQSLRAILERITAAGYAAD
 ILAEKFGTTLSKGYKVLPCVRLIQDGINVNSLKGKLEAILASGFSVE
 RLSVKFGYRNSKGYKVLVYVRLIQDGISPSQSLGKILDTIMQAGFSAD
 RIMRKFGFTVNSKGYRVLPAVIRVVIQDGISLHTIEAILAAMKARKQSAE
 LAALAFGSTRNSKGFRLNPAVIRVVIQDGVNPKSIRAILARMVEDGFAID
 ILGDKFGKEKNDKGWVLDSDHVRVIVWGDIDYEMICAVLSTLADAGWSAD
 AAKEKVFGTTRNGKGFVIP - CGCVIQQDGDIDLTMEKIALAIEAAGYAAD
 AADKVFSGVSRNSKGFVRIQ - CGCVIQQDGDIDLTMEKISVAIEEAGFAAD
 GAERAFGADVNGKGFVRLN - GVGVIQDGDIDYHNIEAILAEVLAAGYSAE
 : * * * * * : * * * * * : * * * * *

FIGUR 13 (Fortsetzung)

```

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
Synechococcus_elongatus_PCC6301
Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
Burkholderia_phytofirmans_PsJN
Ralstonia_solanacearum_GMI1000
Stenotrophomonas_maltophilia_K
Xanthomonas_campestris_B100
Pasteurella_multocida_subsp_Pm
Psychrobacter_sp_PRF-1_NMPRT
Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
Magnetospirillum_magneticum_AM
Aureococcus_anophagefferens_39
Chlamydomonas_reinhardtii_2065
Volvox_carteri_90876_NMPRT
Chlorella_133026_NMPRT

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
Synechococcus_elongatus_PCC6301
Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
Burkholderia_phytofirmans_PsJN
Ralstonia_solanacearum_GMI1000
Stenotrophomonas_maltophilia_K
Xanthomonas_campestris_B100
Pasteurella_multocida_subsp_Pm
Psychrobacter_sp_PRF-1_NMPRT
Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
Magnetospirillum_magneticum_AM
Aureococcus_anophagefferens_39
Chlamydomonas_reinhardtii_2065
Volvox_carteri_90876_NMPRT
Chlorella_133026_NMPRT

NLAFGMGGALLQKVNDRDTQKFAMKCSSEVTV-EDKAIPVYKDPVTDPGKTS
NVAFMGGGLLQKVNDRDTQRFAYKCSWIER-SGQVPIPKRPAIDLKAS
NVTFMGGALLQKVDRDTQRFAYKASAGLI-DGEYRGIYKDPVTDPGKRS
NIVFMGGALLQKINRDTQRFAMKCSAIRL-DGEWHDVLKDPVTDAGKRS
NIVFMGGALLQKLNDRDTQRFAMKCSAVRV-DGAWEVCKDPVTDAGKRS
NVAFMGGALLQRLDRDTQKFALKCSAARV-EGEWIDVYKDPVTDAGKAS
NVAFMGGALLQKVDRDTQKFALKCSAVRV-DGAWIDVYKDPITDQKQKS
NVAFMGGGLLQKVNDRDTMSWAMKASAVCI-AGEWHDVYKDPITSQAKRS
NVTFMGGGLLQKVNDRDTMSWAMKASAIRI-DGELKDFKDPITSRSKRS
NIAFMGGELLQKVNDRDTLKFAMKASAIKV-KGIWRDVKDPITDQKGRS
NIAFMGGALLQKVDRDTFSWAMKASAVRV-AGQWRDVKDPVTDGGKGS
NIGFSGGGLLQKLNDRDTKCAFKCSSIVV-DGAARDVFKDPVTDKGGKAS
NVSYGMGGGLLQKVNDRDTMSFATKLNHIIYEDGRAADIMKQPQTDGKFS
NVSYGMGGGLLQKVNDRDTMSFATKLVHIVYEDGRPADIMKQPQTDGKFS
NVAFMGGGLLQRLN-----PVDVMKAPKTGPEKGS
* : * * * * * : * * * * *
KKGRLSLVKTDSG-----YGTVPTSS-----EDLLQVYENG-HLLQ
KAGRLDLIRDREGQYRTVSLITSEPD-----QSCLOTVFENG-AIVR
KDGVLDLVEENGRMVTQYRTFDTFP-----GSLMRTVYRDG-ELLV
MKGRLLTKNHHHTGEYRTTLLPVAVEG-----DWEALVTVFDSG-KLLV
KKGRLLLRNRVSGEYATATLPLAWDDRRRIEGEWEDALVTVFENG-RLLQ
KRGRMRLRLDDGSLHTVPLPANGDD-TLPDGFEDAMVTVWENG-HLLY
KRGRLLLRDRTTGQYRSALLDEVATH-AGDS--DDALVTVWENG-KMLQ
KRGVLALVKQEN--RWHTIEQKALGQQ-----KNQLRTRVFLNG-ELLI
KKGRLLALIKQTNGTLTTIKEDSLNSPE-----DNLLRDRVFDG-KLLV
KKGLLALVKDLG-GFQTVRRQDLGNR-----EDQLVTVFRNG-DLMK
KRGRLLALVRDPAEGLRTRVLEDCPAG-----EDLLRPFVRDG-TLLV
KKGRLLALVDVDTLTKTKQCAPVPEG-----DVLATVFDG-ALLV
LPGVLAVKRVGDVPTVFPADSGEVAPH-----ENLLRVVYDCGPLAGV
LPGILLAVKRVNGVPTVFPADTAEVAPH-----ENLLRVVYDKGPLEGV
LPGPLAVKRVSGVPTVFPAD--QVAPE-----DNLLQVYDKRPRVEVQ
* : * :

```

FIGUR 13 (Fortsetzung)

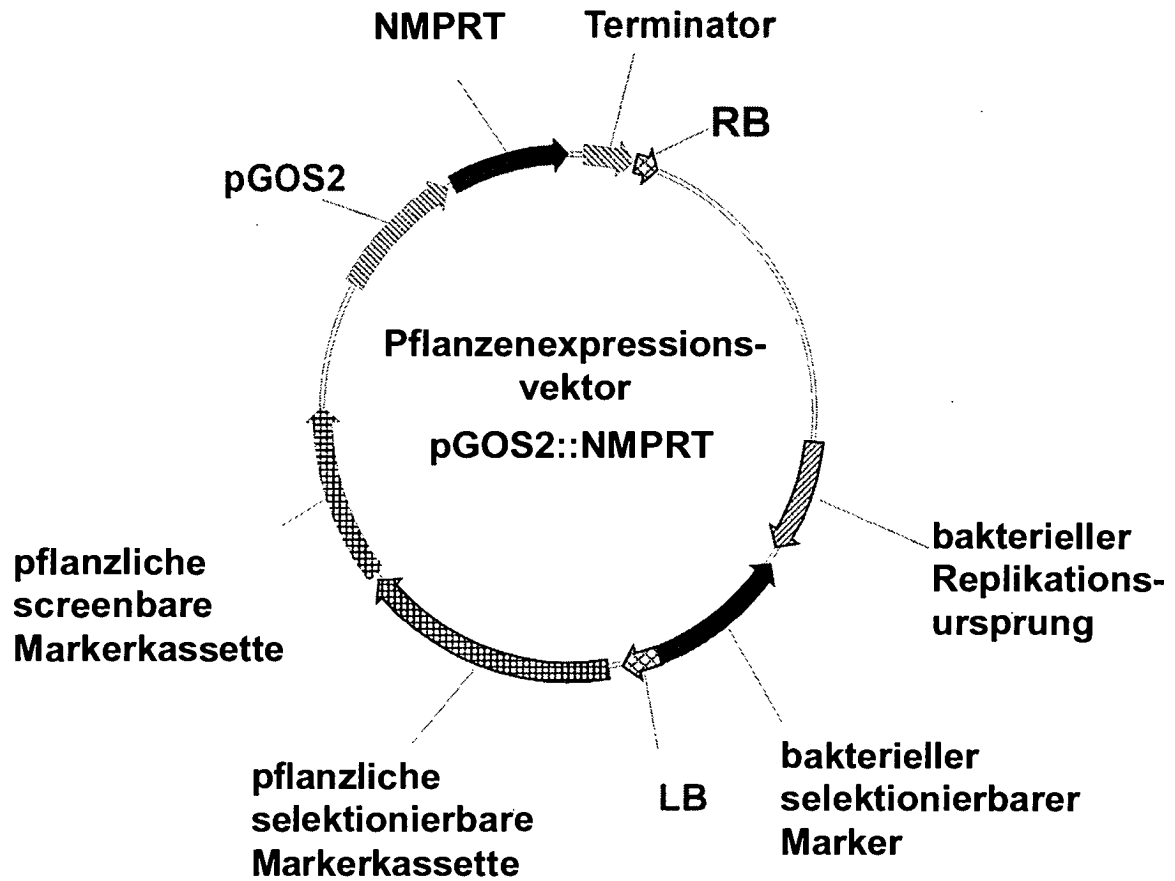
DQCLDAIRQRAWPLIRVNVPPAS-----
 RQSLQEIRDRARSETR-----
 QDTLEEIRGRG-----
 DMSLAEIRSRHAHEG-----
 DVSLDAVRARAQAHELAPALVD-----
 DQRLDDIRTRAAVGH-----
 EWTLEQVRAHADAARL-----
 DEHFDDIRRRAGF-----
 DDNLTTIRQRTGW-----
 EWTDFEVRANAQQ-----
 EDSLAQVRRRAYFGR-----
 DDTLETVRERAALPPLDTLPLRGKSAAPPPPLKKPEVLAACPTLGGMLG
 WEDFDTVRARVAAEWWTALPKTSDNISASLKEKVRQQMALRGKVPALAH--
 WDDFDTVRARVAAEWWTALPKTSDNISASLKEKVRQQMALRGKVPALAH--
 WESFDFKLRQVREREWAALPPAADVLAAPLREKRAAAVAARLGVQGVLG--

: ; * .

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
 Synechococcus_elongatusPCC6301
 Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
 Burkholderia_phytofirmans_PsJN
 Ralstonia_solanacearum_GMI1000
 Stenotrophomonas_maltophilia_K
 Xanthomonas_campestris_B100
 Pasteurella_multocida_subsp_Pm
 Psychrobacter_sp_PRwf-1_NMPRT
 Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
 Magnetospirillum_magneticum_AM
 Aureococcus_anophagefferens_39
 Chlamydomonas_reinhardtii_2065
 Volvox_carteri_90876_NMPRT
 Chlorella_133026_NMPRT

Synechocystis_sp._PCC_6803_NMP
 Synechococcus_elongatusPCC6301
 Deinococcus_radiodurans_R1_NMP
 Burkholderia_phytofirmans_PsJN
 Ralstonia_solanacearum_GMI1000
 Stenotrophomonas_maltophilia_K
 Xanthomonas_campestris_B100
 Pasteurella_multocida_subsp_Pm
 Psychrobacter_sp_PRwf-1_NMPRT
 Hahella_chejuensis_KCTC_2396_N
 Magnetospirillum_magneticum_AM
 Aureococcus_anophagefferens_39
 Chlamydomonas_reinhardtii_2065
 Volvox_carteri_90876_NMPRT
 Chlorella_133026_NMPRT

FIGUR 13 (Fortsetzung)



FIGUR 14

MAAAIEGNLMRALGEAPSPQMOKIAPPPFHPGLPPAPANFSSAG

VHGFHYMGPAQLSPAQIQRVQAQLHMQRQAQSGGLGPRAQPMKPA

SAAAPAAAAARAQKLYRGVRQRHWGKWVAEIRLPRNRTRLWLGT

13

FDTAEEAALTYDQAAYRLRGDAARLNFPDNAASRGPLDAAVDAK

13

14

LQAICDTIAASKNASSRSRGGAGRAMPINAPLVAAASSSSGSDH

14

SGGGDDGGSETSSSSAAASPLAEMEQLDFSEVPWDEAEGFALTK

YPSYEIDWDSLLNNNN

15

FIGUR 15

CLUSTAL 2.0.11 multiples Sequenzalignment

```

B.napus_TC65671          -MEAAAMNMYN-----SITFQQPDSFSGGELMEALVPYINSVSNSSPYP-
B.napus_TC92126         -MEAAAMNMYN-----SITFQQPDSFSGGELMEALVPYISSVSNSSP---
B.napus_TC90095         -MEAAAMNMYN-----SITFQQPDSFSGGELMEALVPYIKSVSTSSSSSP-
A.thaliana_AT1G78080.1  -MAAAMNLYTC-----SRSFQDS----GGELMDALVPFIKSVSDSPSSS-
P.trichocarpa_798748    -----MEALEPFMRSASPSSTPSP
P.trichocarpa_TC99525   -----MDFH-----SSSPLQSDLLGGGELMEALEPFMRSASPSSTLSP
G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975 -----MNFYNGT----SQEQVESDPFRG-ELMEVLEPFMKTSPSSSTPSI
P.trichocarpa_scaff_V.168 -MAAAIDIYN-----TTVPVFSDP-CREELMKALEPFMKSASPSPTSTY
H.vulgare_TC185981     -MAAAIDLGS-----EDLVRALEPFIR---E-----
T.aestivum_c50843809@10011 -MAAAIDLGS-----EDLVRALEPFIR---E-----
O.sativa_LOC_Os09g20350.1 -MAAAIDLGS-----EELMRALEPFIR---D-----
LOC_Os08g31580         -MAAAIEG-----NLMRALGEAPSPQMQ-----
Zea_mays_GRMZM2G061487_T01 -MAAAINLPGP-----SEDLMRAMESFMQ-----
Zea_mays_GRMZM2G061487_T02 -----MRAMESFMQ-----
Z.mays_TC501784        -MAAAINLPGP-----SEDLMRAMESFMQ-----
Z.mays_TC478294        -MAAAIDMYKYY-NTSAHQIPSSS-PSDQELSKALEPFITSSSSSSSP
Z.mays_TC488418        -MAAAIDMYKYC-NTSAHLIASS-PSDQELAKALEPFITSASS-----P
O.sativa_LOC_Os02g51670.1 -MAAAIDMYKY--NTSTHQIASS----DQELMKALEPFIRSASSSSASSP
T.aestivum_TC277143    -MAAAIDMYKY--NTSTHQIGSAASASDQELMKALEPFITIASSSSHYP
T.aestivum_TC315204    -MAAAIDMYKY--NTSTHQIGSAASASDQELMKALEPFITIASSSP--YP
T.aestivum_TC300618    -MAAAIDMYKY--NTSTHQIGSAASASDQELMKALEPFITIASSSSHYP
Z.mays_TA17892_4577999 MAATTIDWHARNNAALPAAMYGVAVPDSKELVRALAPPTQ-----
Zea_mays_GRMZM2G003466_T01 MAATTIDWHARNNAALPAAMYGVAVPDSKELVRALAPPTQ-----
Zea_mays_GRMZM2G113060_T01 MAATTIDWHGRN-----AALYG--VPDSKELVRALAPPTQ-----
Zea_mays_GRMZM2G039870_T01 MTTAAMDHRWRRRLQATPPPLGA--VQYYRELIHSLDTPVQ-----

```

```

B.napus_TC65671          ASAFIQPAASAFP-----PSLPTFPAYYPEDYSTFMT
B.napus_TC92126         -----
B.napus_TC90095         ATASAFINSAASA-----FSLPTFPGYHTEH---FMT
A.thaliana_AT1G78080.1  SAASASAFHLHPSA-----FSLPLPLPGYYPDS--TFLT
P.trichocarpa_798748    SQTSNYPSSPSPSTSSNRFSFSPQPPQHQQLFNPDGCCSTSTTYPFS
P.trichocarpa_TC99525   SQTSNYPSSPSPSTSSNRFSFSPQPPQHQQLFNPDGCCSTSTTYPFS
G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975 ILSSDSPSSSS-----FNFPS-----SLLSPHPNFYHTHTPPPSY
P.trichocarpa_scaff_V.168 SPSPTSSPPFSSHPSCFYNN-----NSLISSYPNLDLFCFSPTS
H.vulgare_TC185981     -----ASAPPLHSH----PSPTS
T.aestivum_c50843809@10011 -----ASAPLPLHSH----LSPTS
O.sativa_LOC_Os09g20350.1 -----ASGSPVCSQ----FSPTS
LOC_Os08g31580         -----KIAPPPFHPG----LPP-A
Zea_mays_GRMZM2G061487_T01 -----DDAPSPLAMP----PAPSF
Zea_mays_GRMZM2G061487_T02 -----DDAPSPLAMP----PAPSF
Z.mays_TC501784        -----DDAPSPLAMP----PAPSF
Z.mays_TC478294        YHGYSSS-PCMSQDSYMPTPSYT-----SYATSPLPTPAA-ASSSQSQL
Z.mays_TC488418        YHRYS-----LAPDSYMPTPS-----SYTTSPLPTP---TSSPFSQL
O.sativa_LOC_Os02g51670.1 CHHYSSSSPMSQDSYMPTPS-----YPTSSITTAATTTSSFSQL
T.aestivum_TC277143    YHYYS--PSMTQDSYMATPSSSSYAS--SFAASPLPTTAP-ASPSFSQL
T.aestivum_TC315204    YQYYS--PSMTQDSYMATPSSS-YAS--FATSPLPTTAP-TSPSFSQL
T.aestivum_TC300618    YQYYS--PSMTQNSYMATPSSS-YAS--SFAVSPPLPTTAP-ASPSFSQL
Z.mays_TA17892_4577999 -----QAPTISFAY-----PCS
Zea_mays_GRMZM2G003466_T01 -----QAPTISFAY-----PRS
Zea_mays_GRMZM2G113060_T01 -----QAPTISFAY-----PCP
Zea_mays_GRMZM2G039870_T01 -----AAPIMVDTE-----PGQ

```

FIGUR 16

B.napus_TC65671 QPFTYGSDDLHQTGS---LTGLNHLFSSQAHPLPPMHQSHN-----
 B.napus_TC92126 -----HPLPPMHQSHN-----
 B.napus_TC90095 QPFTYGSDDLQQTG-----SSLIGLNNLSSSQIHQIQSQIHH-----
 A.thaliana_AT1G78080.1 QPFSYGSDDLQQTG-----SLIGLNNLSSSQIHQIQSQIHHPLPPTHNN
 P.trichocarpa_798748 TGLSFNDPMGLQQP----SSSIGLNHLTPTQIHQIQSQIHHNNLSYLQAY
 P.trichocarpa_TC99525 TGLSFNDPMGLQQP----SSSIGLNHLTPTQIHQIQSQIHHNNLSYLQAY
 G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975 LLQSQQSLIGFEQP---PSSLLGLNHLSPSQISQIQAAIEAQ----QSQN
 P.trichocarpa_scaff_V.168 TQMFSNGFLDYNQMGFEQTGPIGLNHLTPSQIILQIQAKIHFQQQQQKME
 H.vulgare_TC185981 PFSFPAAAY---SGYPYGVQAAQATELSPAQMHYIQARLHLQRQTGQ---
 T.aestivum_c50843809@10011 PFSFPAAAY---SGYPYGVQAAQATELSPAQMHYIQARLHLQRQTGQ---
 O.sativa_LOC_Os09g20350.1 PFSFPHA-----FAYGGGLAQPELSPAQMHYIQARLHLQRQAQ---
 LOC_Os08g31580 PANFSSAG-----VHGFHYMGPAQLSPAQIQRVQAQLHMQRQA-Q---
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T01 PAAAA-----QYPATHLSPAQMQFQAQLHLQRNP-----
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T02 PAAAA-----QYPATHLSPAQMQFQAQLHLQRNP-----
 Z.mays_TC501784 PAAAAHGA-----QYPATHLSPAQMQFQAQLHLQRNP-----
 Z.mays_TC478294 PPLYSSPY--AAP---CMAGQMGLNQLGPAQIQQIQAAQFMFQQQQQ--RG
 Z.mays_TC488418 PPLYSSPY--AASATNGMGLNQLGPAQIQQIQAAQFLMFOHQQQ--RG
 O.sativa_LOC_Os02g51670.1 PPLYSSQYHAASPAASATNGMGLNQLGPAQIQQIQAAQFLMFOHQQQ--RA
 T.aestivum_TC277143 PPLYSSQY-----AVNGSMGLAQLGPAQIQQIQAAQFFVQQQQQQQ--RG
 T.aestivum_TC315204 PPLYSSQYS---TASGMNGSMGLAQLGPAQIQQIQAAQFFVQQQQQQ--RG
 T.aestivum_TC300618 PPLYSSQYA---AS--GMNGSMGLAQLGPAQIQQIQAAQFFVQQQQQQ--RG
 Z.mays_TA17892_4577999 GVEQQS-----AAGSFLGAGGSGLTQAQILQVQSRLQFLRRPAG---
 Zea_mays_GRMZM2G003466_T01 GVEQQS-----AAGSFLGAGGSGLTQAQILQVQSRLQFLRRPAG---
 Zea_mays_GRMZM2G113060_T01 GVEQQSQCA-----AAGSFLGAGG--LTPAQLLQVQSRLRFLRRPAA--
 Zea_mays_GRMZM2G039870_T01 AMAIVG-----ASRS---KCYHLITPAQAAYYRVVG--GRLGS---

B.napus_TC65671 -----NT-FSNLLSPKPLLMKQ-----TGATGSCFAYGA-----
 B.napus_TC92126 -----NT-FSNLLSPKPLLMKQ-----TGATGSCFAYGA-----
 B.napus_TC90095 -----N--HPLLRPKPLLMKQ-----TGAVAGSFL-----
 A.thaliana_AT1G78080.1 -----NNS-FSNLLSPKPLLMKQ-----SGVAGSFCFAYGSG---V
 P.trichocarpa_798748 -----QQPQTLKFLSPKPIPMKQ-----IGTP-----
 P.trichocarpa_TC99525 -----QQPQTLKFLSPKPIPMKQ-----IGTP-----
 G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975 -----QNPHTSLNFLGPKPVPMKH-----VGGP-----
 P.trichocarpa_scaff_V.168 NLATTTTSQFVHNQRASNFLAPKPVPMKQ-----SAAS-----
 H.vulgare_TC185981 -----PGHLGPRPQPMKP-----ASAAAATP-----
 T.aestivum_c50843809@10011 -----PGHLGPRPQPMKP-----ASVAAAATP-----
 O.sativa_LOC_Os09g20350.1 -----AGPLGPRAQPMKASSSSASAAAGAAATP-----
 LOC_Os08g31580 -----SG-LGPRAQPMKP-----ASAAAAPAAAA-----
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T01 -----GLGPRAQPMKP-----AVPVPPAPAP-----
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T02 -----GLGPRAQPMKP-----AVPVPPAPAP-----
 Z.mays_TC501784 -----GLGPRAQPMKP-----AVPVPPAPAP-----
 Z.mays_TC478294 -----LHA-AFLGPRAQPMKQ-----SGSPPPP-----LA--
 Z.mays_TC488418 -----LHA-AFLGPRAQPMKQ-----SGSPP-----
 O.sativa_LOC_Os02g51670.1 -----LAG-AFLRPRGQPMKQ-----SGSPPRAGPFAAVAG--
 T.aestivum_TC277143 -----LAGGSFLGPRALPMKQ-----SGSPPRASAAALALAGV
 T.aestivum_TC315204 -----LAG-SFLGPRAQPMKQ-----SGSPPRASAAALALAGV
 T.aestivum_TC300618 -----LAGGSFLGPRALPMKQ-----SGSPPRASAAALALAGV
 Z.mays_TA17892_4577999 -----AAVATQPMKR-----QGVP-----LPQ
 Zea_mays_GRMZM2G003466_T01 -----AAVATQPMKR-----QGVP-----LPQ
 Zea_mays_GRMZM2G113060_T01 -----AGGAAQPMKR-----QGVPQQAP-----LPA
 Zea_mays_GRMZM2G039870_T01 -----APRLMKPYRC-----LGAP-----AP

FIGUR 16 (Fortsetzung)

B.napus_TC65671
 B.napus_TC92126
 B.napus_TC90095
 A.thaliana_AT1G78080.1
 P.trichocarpa_798748
 P.trichocarpa_TC99525
 G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975
 P.trichocarpa_scaff_V.168
 H.vulgare_TC185981
 T.aestivum_c50843809@10011
 O.sativa_LOC_Os09g20350.1
 LOC_Os08g31580
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T01
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T02
 Z.mays_TC501784
 Z.mays_TC478294
 Z.mays_TC488418
 O.sativa_LOC_Os02g51670.1
 T.aestivum_TC277143
 T.aestivum_TC315204
 T.aestivum_TC300618
 Z.mays_TA17892_4577999
 Zea_mays_GRMZM2G003466_T01
 Zea_mays_GRMZM2G113060_T01
 Zea_mays_GRMZM2G039870_T01

PAKPTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 PAKPTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 -AKPTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 PSKPTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 -PKATKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDRA
 -PKATKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDRA
 -PKPTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 PQKPTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDNA
 -PRPQKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDQA
 -PRPQKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYNKH
 -PRPQKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDQA
 -ARAQKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDQA
 -QRPVKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDQA
 -QRPVKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDQA
 -QRPVKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDPA
 -PAQSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 --AQSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDEA
 -AAQSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 APAQSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 APAQSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 APAQSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDKA
 APAVSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDSA
 APAVSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDSA
 RPAVSKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDGA
 STTTTKLYRGVQRHWGKWWAEIRLPNRRTRLWLGTFTDAEEAALAYDGA
 *****:*****:**** *:*:

B.napus_TC65671
 B.napus_TC92126
 B.napus_TC90095
 A.thaliana_AT1G78080.1
 P.trichocarpa_798748
 P.trichocarpa_TC99525
 G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975
 P.trichocarpa_scaff_V.168
 H.vulgare_TC185981
 T.aestivum_c50843809@10011
 O.sativa_LOC_Os09g20350.1
 LOC_Os08g31580
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T01
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T02
 Z.mays_TC501784
 Z.mays_TC478294
 Z.mays_TC488418
 O.sativa_LOC_Os02g51670.1
 T.aestivum_TC277143
 T.aestivum_TC315204
 T.aestivum_TC300618
 Z.mays_TA17892_4577999
 Zea_mays_GRMZM2G003466_T01
 Zea_mays_GRMZM2G113060_T01
 Zea_mays_GRMZM2G039870_T01

AYK-----LRGDFARLNFPNLRHNSHIGGEFGEYKPLHST
 AYK-----LRGDFARLNFPNLRHNSHIGGEFGEYKPLHST
 AFK-----LRGDHARLNFPNLRHNSHIGGEFGEYKPLHST
 AYK-----LRGDFARLNFPNLRHNSHIGGEFGEYKPLHSS
 AYK-----LRGDFARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPLHSS
 AYK-----LRGDFARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPLHSS
 AYR-----LRGDFARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AYK-----LRGEYARLNFPNLRHNSHIGGEFGEYKPLHSS
 AYR-----LRGDAARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AYR-----LRGDQARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AYR-----LRGDAARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AYR-----LRGDAARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AYR-----LRGDAARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AYR-----LRGDAARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 GVP-----PPRGRGAHLPRQR-----G---VQGAARPR
 AFR-----LRGDTARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDTARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDLARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDLARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDLARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDLARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 ALPPPPRPPPPQLPVAPPPRRPPGRPPAPRLLRRRQAHRH---LRVPRRAL
 AFR-----LRGDSARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDSARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDSARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDSARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 AFR-----LRGDAARLNFPNLLHQGSYIG---EYKPVHSA
 *

FIGUR 16 (Fortsetzung)

B.napus_TC65671 VDAKLEAICQSMAEAEKQGKTTTKAS----KKRASKTVSSP-----
 B.napus_TC92126 VDAKLEAICQSMAEAEKQGKTTTKAS----KKRASKTVSSP-----
 B.napus_TC90095 VDAKLEAICQSMAEATQKQDK-TAKAS----KKRASK-VKKT-----
 A.thaliana_AT1G78080.1 VDAKLEAICKSMAETQKQDK-STKSS----KKREKK-VSSPDL-----
 P.trichocarpa_798748 VDAKLQAICKSLENSSSQKQGGKAKR----QSNSTKKKANLAVV-----
 P.trichocarpa_TC99525 VDAKLQAICKSLENSSSQKQGGKAKR----QSNSTKKKANLAVV-----
 G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975 VDAKLDAICANLAEMQKQKTEKGAR----SAKSKQGP-----
 P.trichocarpa_scaff_V.168 VDAKLQAICQSLG-LQKQKGTREPSS----VANSKKTATAPLQAKIEDDC
 H.vulgare_TC185981 VDAKLQTLQCQNTASKNAKKSASVS----ASTAAATSSSTPT-----
 T.aestivum_c50843809@10011 VDAKLQTLQCQNTASKNGKKSASVS----ASTAAATSSSTPT-----
 O.sativa_LOC_Os09g20350.1 VDAKLQTLQCQNTIAAAKNAK-SSVS----AS-AAATSSAPT-----
 LOC_Os08g31580 VDAKLQAICDTIAASKNASSRSRGG----AGRAMPINAPLV-----
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T01 VDAKLQAICATIAAASSSSKNSKAK----SKATPINASVLE-----
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T02 VDAKLQAICATIAAASSSSKNSKAK----SKATPINASVLE-----
 Z.mays_TC501784 RGRQ-----AAGHLRHLRRR-----VVVFLD-----
 Z.mays_TC478294 VDAKLTAICQSLSESKSKSGSSGDE----SAASPPDSPKCS-----
 Z.mays_TC488418 VDAKLTAICQSLAGSKN-SSSSDE----SAASLPDSPKCS-----
 O.sativa_LOC_Os02g51670.1 VDAKLTAICQSLATSSSKNTPAESA----ASAAEPESPCKS-----
 T.aestivum_TC277143 VDAKLTAICESLA-----APSSKN-----SEPEPCKS-----
 T.aestivum_TC315204 VDAKLTAICESLA-----APSSKNS-----AEAEPESPCKS-----
 T.aestivum_TC300618 VQELGAGVPQVLG-----VDGGRGL-----GVRVPAAAHAA-----
 Z.mays_TA17892_4577999 VDAKLHAICNGTDVVVPPQSRSDATVVATATATATTAPSP-----
 Zea_mays_GRMZM2G003466_T01 VDAKLHAICNGTDVVVPLPQSRSD-ATAAATATTAPSP-----
 Zea_mays_GRMZM2G113060_T01 VDAKLHAICSGADVGAAPLPQGSQS---HATAAAT-TATPSP-----
 Zea_mays_GRMZM2G039870_T01 VDAKLQAVTTSAPAAPALPRPESLD----IESTSTTTTATA-----

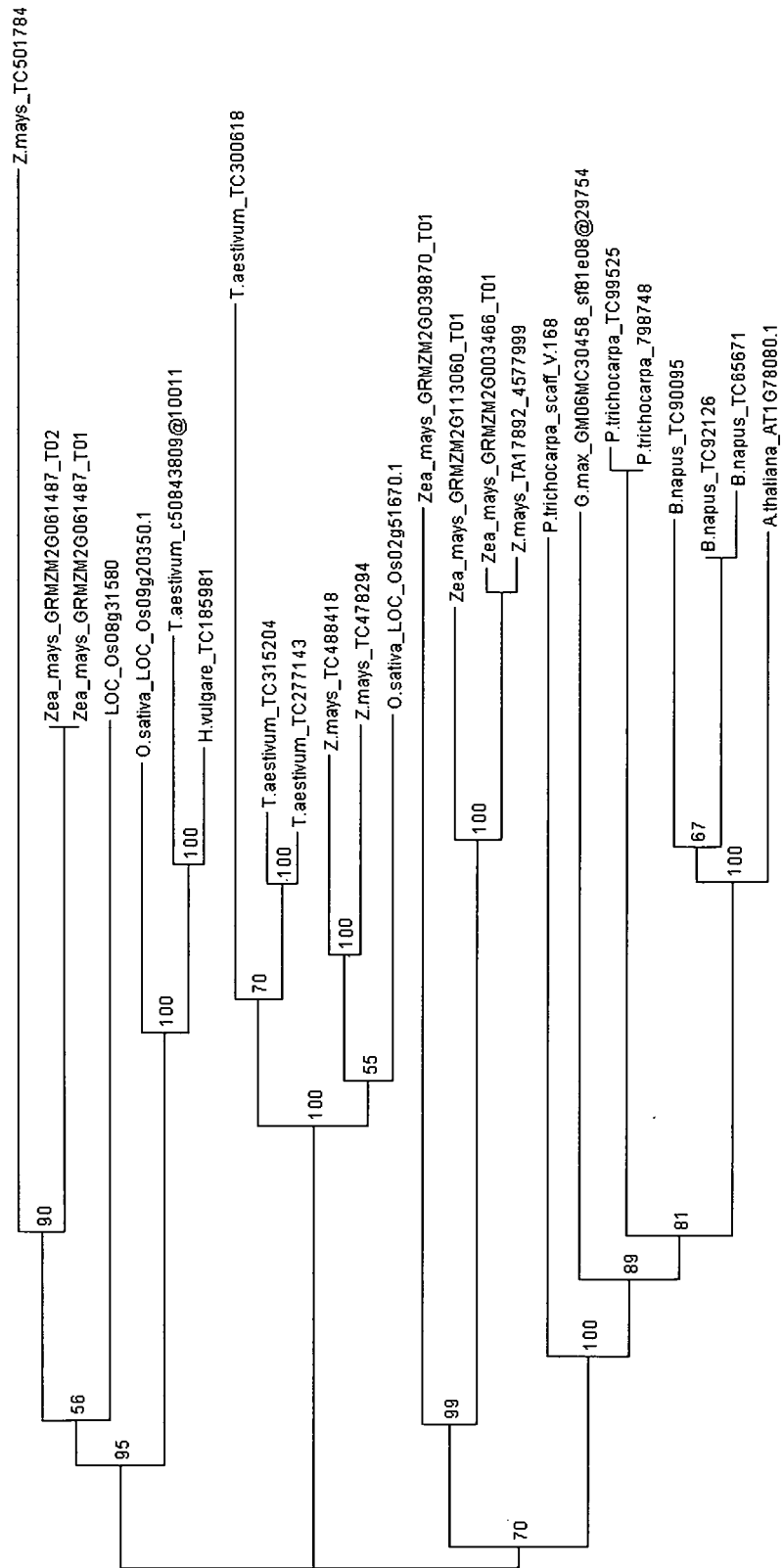
B.napus_TC65671 -----EKVKAEDNSNSVDESTPVTEFVES-AGSSPLS-----
 B.napus_TC92126 -----EKVKAEDNSNSVGGSPVTEFVES-AGSSPLS-----
 B.napus_TC90095 -----EKVDLSEKVS-----PVTEFVES-AGSSPLS-----
 A.thaliana_AT1G78080.1 -----EKVKAENSVSIGGSPVTEFEESTAGSSPLS-----
 P.trichocarpa_798748 -----TQEEEQVVVKAETESPALTESTAS-GGSSPLS-----
 P.trichocarpa_TC99525 -----TQEEEQVVVKAETESPALTESTAS-GGSSPLS-----
 G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975 -----QE-----AKPEPQASAESEGS-ADSSPLS-----
 P.trichocarpa_scaff_V.168 SLRGELKTEYENFGVEDYKVEIPSPSPASSDESLAGSSSPES-----
 H.vulgare_TC185981 -----SNCSSPS-SDEASSSLESAESSPSP-TTTAAE-----V
 T.aestivum_c50843809@10011 -----SNCSSPS-SDEASSSLESAESSPSLSLSLSVS-----V
 O.sativa_LOC_Os09g20350.1 -----SNCSSPS-SDDASSCLEADSSPSLSPSSAATTAETPATV
 LOC_Os08g31580 -----AAASSSS-GSDHSGGGDDGGSETSSSSAAASP-----L
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T01 -----AAAASPSNSSSDEGSGSGFGSDDEMSSSSPTP--VVAPPV
 Zea_mays_GRMZM2G061487_T02 -----AAAASPSNSSSDEGSGSGFGSDDEMSSSSPTP--VVAPPV
 Z.mays_TC501784 -----FHGHEQGDANQVRVRSVSGCGVSEQLLLRKFR--LRVR-V
 Z.mays_TC478294 -----ASTTEGEGEEESGASGSPPPPPPTLAPPVP-----
 Z.mays_TC488418 -----AST---EGDEDSASAGSPPS---PTQAPPVP-----
 O.sativa_LOC_Os02g51670.1 -----AST---EGED-SVSAGSPPPP---TPLSPPVP-----
 T.aestivum_TC277143 -----AST---EGED-SASAGS-----TPPVP-----
 T.aestivum_TC315204 -----AST---EGED-SASAGSPPPP---PTPPVP-----
 T.aestivum_TC300618 -----RPG---DGEA-GLHGGAVG-----RVGDLP-----
 Z.mays_TA17892_4577999 -----FSSASPHVKSEPGSSGSDSSFSADGDVSSTGS----SDVV
 Zea_mays_GRMZM2G003466_T01 -----FSSASPHVKSEPGSSGSDSSFSADGDVSSTGS----SDVV
 Zea_mays_GRMZM2G113060_T01 -----FSSVSPHVKSEPGCSVSESSFSADGDVSSTGS----SDVV
 Zea_mays_GRMZM2G039870_T01 -----YGTG-----LCPSSTGS-----SSLAK----TAPL

FIGUR 16 (Fortsetzung)

B.napus_TC65671	-DLTFADTEEPPQ--WNETFSLEKYPSEIDWDSILS---
B.napus_TC92126	-DLTFADTEELPQ--WNETFSLEKYPSEIDWDSILS---
B.napus_TC90095	-ELTFADTEEQPR--WNETFSLEKYPSEIDWDSILS---
A.thaliana_AT1G78080.1	-DLTFADPEEPPQ--WNETFSLEKYPSEIDWDSILA---
P.trichocarpa_798748	-DLTFPDPFEEAPLDFESGNFMLQKYPSEIDWASILS---
P.trichocarpa_TC99525	-DLTFPDPFEEAPLDFESGNFMLQKYPSEIDWASILS---
G.max_GM06MC30458_sf81e08@2975	-DLTF-DVTEP----QWEHFNLQKFPSEIDWDSL-----
P.trichocarpa_scaff_V.168	-EISFLDFSGSLQWDEFENFGLEKYPSEIDWSSI-----
H.vulgare_TC185981	PEMQQLDFSEAPWDEAAG-FALTKYPSEIDWDSLLLATN-
T.aestivum_c50843809@10011	SVFLSLSFCVSLWDEAAC-FALTKYPSEIDWDSLLLATN-
O.sativa_LOC_Os09g20350.1	PEMQQLDFSEAPWDEAAA-FALTKYPSEIDWDSLLAAN-
LOC_Os08g31580	AEMEQLDFSEVPWDEAEG-FALTKYPSEIDWDSLLNNNN
Zea_mays_GRMZM2G061487_T01	ADMGQLDFSEVPWDEDES-FVLRKYPSEIDWDALLSN--
Zea_mays_GRMZM2G061487_T02	ADMGQLDFSEVPWDEDES-FVLRKYPSEIDWDALLSN--
Z.mays_TC501784	GRRDVLVLPDAGGGAAGGGLGTAGFPGRGFLGLGP-----
Z.mays_TC478294	-EMAKLDFTEAPWDETEA-FHLRKYPSEIDWDSILS---
Z.mays_TC488418	-EMAKLDFTEAPWDETEA-FPLRKYPSEIDWDSILS---
O.sativa_LOC_Os02g51670.1	-EMEKLDFTEAPWDESET-FHLRKYPSEIDWDSILS---
T.aestivum_TC277143	-EMEKLDFTEAPWDESET-FHLRKYPSEIDWDSILS---
T.aestivum_TC315204	-EMEKLDFTEAPWDESET-FHLRKYPSEIDWDSILS---
T.aestivum_TC300618	-PAQVPVRGDRGLGHPVV-NSKQLLLVQSSLSVAMM--
Z.mays_TA17892_4577999	LDMQLLDFSEAPWDDSES-FRLRKYPSEIDWDSILLIS-
Zea_mays_GRMZM2G003466_T01	LDMQLLDFSEAPWDDSES-FGLRKYPSEIDWDSILLIS-
Zea_mays_GRMZM2G113060_T01	PEMQLLDFSEAPWDESDS-FHLRKYPSEIDWDSILIS--
Zea_mays_GRMZM2G039870_T01	PDMQELDFSEVPWDEGDG-VALCKYPSEIDWNAILS---

FIGUR 16 (Fortsetzung)

0.01



FIGUR 17

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. A.thaliana_AT1G78080.1		74,6	73,2	65,7	50,1	39,9	43,3	41,7	50,4
2. B.napus_TC65671	85,6		77,1	80,2	49,1	41,3	42,4	40,5	49,0
3. B.napus_TC90095	81,1	81,7		68,0	50,2	41,3	44,1	41,9	49,0
4. B.napus_TC92126	73,1	80,5	73,2		45,9	41,7	39,3	40,8	45,0
5. G.max_GM06MC30458_sf81e08@29754	62,0	60,7	67,4	58,8		40,9	44,3	39,8	49,7
6. H.vulgare_TC185981	52,4	54,9	56,8	58,3	56,5		45,8	80,8	40,1
7. O.sativa_LOC_Os02g51670.1	58,0	54,7	56,5	50,3	56,2	58,3		45,6	41,7
8. O.sativa_LOC_Os09g20350.1	55,4	54,0	58,1	55,3	53,9	86,6	57,4		38,9
9. P.trichocarpa_798748	62,0	62,2	62,2	55,7	63,7	55,7	57,1	54,5	
10. P.trichocarpa_scaff_V.168	61,0	58,6	59,7	51,6	59,9	51,6	57,5	49,7	59,7
11. P.trichocarpa_TC99525	63,7	63,7	64,2	56,4	63,4	54,9	57,8	54,1	94,2
12. LOC_Os08g31580	53,3	50,9	52,9	56,1	51,3	71,4	54,7	69,8	50,8
13. T.aestivum_c50843809@10011	53,3	53,7	56,1	57,0	56,5	92,6	53,6	81,8	54,8
14. T.aestivum_TC277143	59,3	59,8	60,1	54,0	58,2	58,8	82,5	58,2	57,6
15. T.aestivum_TC300618	43,1	40,5	42,2	36,3	43,3	43,3	59,8	40,8	41,9
16. T.aestivum_TC315204	59,3	58,9	57,7	52,3	55,6	59,2	83,7	59,2	57,1
17. Z.mays_TA17892_4577999	50,9	50,6	54,2	51,0	53,6	57,2	55,9	56,3	52,3
18. Z.mays_TC478294	56,8	56,2	56,8	52,9	55,0	57,1	82,9	57,1	55,6
19. Z.mays_TC488418	58,1	55,8	58,5	55,4	59,2	61,4	79,0	62,0	53,2
20. Z.mays_TC501784	37,7	35,7	38,4	38,8	36,4	47,7	39,6	46,0	37,5
21. Zea_mays_GRMZM2G003466_T01	51,2	50,3	53,9	51,3	53,2	57,3	56,5	57,7	52,0
22. Zea_mays_GRMZM2G039870_T01	47,0	47,0	46,1	52,7	45,8	55,5	46,4	50,2	45,2
23. Zea_mays_GRMZM2G061487_T01	52,7	50,3	53,5	56,9	50,3	72,1	58,0	67,7	48,6
24. Zea_mays_GRMZM2G061487_T02	49,7	49,4	51,3	55,6	49,0	68,2	55,0	63,9	49,2
25. Zea_mays_GRMZM2G113060_T01	52,7	49,4	53,5	53,5	56,8	58,9	59,5	58,6	53,2

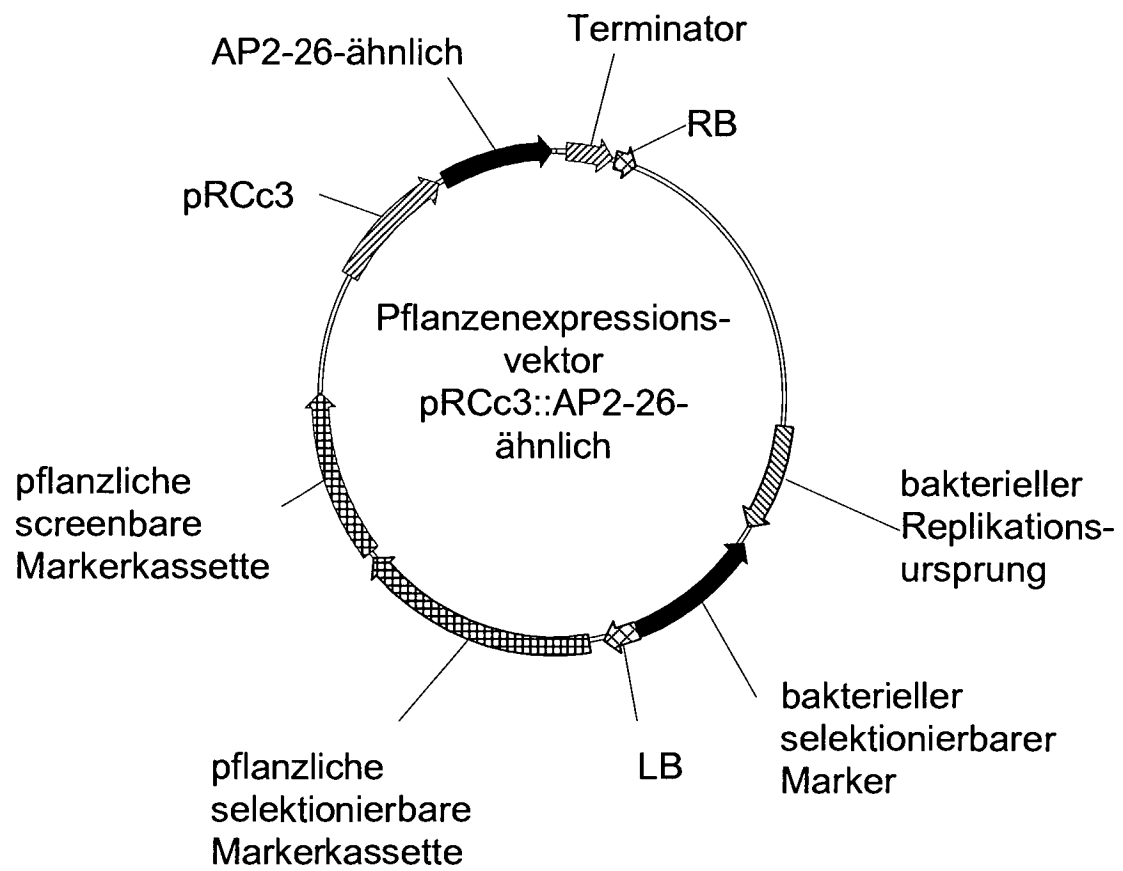
FIGUR 18

	10	11	12	13	14	15	16	17
1. A.thaliana_AT1G78080.1	47,9	50,5	39,2	39,9	45,4	29,8	45,3	39,0
2. B.napus_TC65671	43,8	49,5	39,5	38,8	43,4	28,9	41,6	40,2
3. B.napus_TC90095	46,7	50,3	38,3	39,6	45,5	31,0	44,1	39,9
4. B.napus_TC92126	40,1	45,1	41,2	40,3	39,6	26,1	38,1	41,8
5. G.max_GM06MC30458_sf81e08@29754	47,8	51,9	38,0	39,6	43,9	33,5	44,7	35,7
6. H.vulgare_TC185981	39,8	40,1	60,5	90,1	43,1	32,5	44,7	44,2
7. O.sativa_LOC_Os02g51670.1	44,6	42,5	42,4	42,2	75,4	52,2	77,7	43,9
8. O.sativa_LOC_Os09g20350.1	39,3	39,4	59,8	75,1	44,8	31,3	46,5	43,8
9. P.trichocarpa_798748	45,3	93,9	37,4	39,2	40,6	30,1	40,7	38,8
10. P.trichocarpa_scaff_V.168		47,3	36,6	39,6	43,4	33,1	42,6	37,5
11. P.trichocarpa_TC99525	62,4		36,7	39,0	39,8	30,5	42,8	36,3
12. LOC_Os08g31580	47,0	49,7		55,7	42,3	31,4	42,5	44,3
13. T.aestivum_c50843809@10011	51,3	54,1	66,9		40,4	29,1	40,9	40,1
14. T.aestivum_TC277143	55,9	57,3	57,0	55,2		65,4	92,6	42,9
15. T.aestivum_TC300618	46,0	43,6	43,6	37,1	70,3		65,3	29,7
16. T.aestivum_TC315204	55,6	58,1	55,0	55,3	94,9	70,8		42,3
17. Z.mays_TA17892_4577999	48,9	50,3	54,3	52,3	57,0	38,0	55,3	
18. Z.mays_TC478294	57,8	56,7	54,7	53,5	81,2	59,2	82,1	54,7
19. Z.mays_TC488418	55,1	54,7	59,8	57,6	77,7	55,8	80,2	58,9
20. Z.mays_TC501784	36,3	38,4	45,4	48,6	37,8	42,5	37,5	39,1
21. Zea_mays_GRMZM2G003466_T01	48,7	50,0	54,7	53,0	57,0	39,9	55,9	97,4
22. Zea_mays_GRMZM2G039870_T01	44,6	45,3	53,6	51,4	51,2	36,3	50,2	55,3
23. Zea_mays_GRMZM2G061487_T01	48,4	48,0	71,8	68,3	55,8	40,2	55,9	58,6
24. Zea_mays_GRMZM2G061487_T02	45,4	45,9	70,4	64,4	52,7	37,4	52,9	56,9
25. Zea_mays_GRMZM2G113060_T01	48,7	51,7	54,5	54,9	58,5	43,3	56,8	87,5

FIGUR 18 (Fortsetzung)

	18	19	20	21	22	23	24	25
1. A.thaliana_AT1G78080.1	43,6	44,1	26,9	40,0	35,1	38,1	36,3	38,4
2. B.napus_TC65671	42,5	41,6	25,6	39,8	36,4	37,4	37,4	40,2
3. B.napus_TC90095	44,3	42,2	27,5	40,4	36,6	38,3	37,5	41,1
4. B.napus_TC92126	39,5	39,9	27,0	41,4	39,5	40,7	41,6	43,0
5. G.max_GM06MC30458_sf81e08@29754	43,0	44,7	26,9	35,8	32,9	37,3	36,7	36,5
6. H.vulgare_TC185981	47,1	49,4	39,9	43,8	41,5	59,7	57,0	47,5
7. O.sativa_LOC_Os02g51670.1	75,6	73,0	29,9	45,2	35,8	44,4	42,7	47,2
8. O.sativa_LOC_Os09g20350.1	45,9	47,8	38,2	44,8	39,5	55,4	52,7	46,7
9. P.trichocarpa_798748	40,6	42,2	25,2	37,9	34,8	35,2	36,1	37,0
10. P.trichocarpa_scaff_V.168	45,3	45,0	25,5	37,5	31,2	35,9	34,0	35,9
11. P.trichocarpa_TC99525	42,3	43,1	25,8	35,4	32,6	35,3	34,2	36,3
12. LOC_Os08g31580	42,9	44,8	38,8	43,6	41,3	61,6	60,3	43,7
13. T.aestivum_c50843809@10011	43,0	45,0	39,1	40,6	38,7	55,6	52,9	43,9
14. T.aestivum_TC277143	73,6	70,0	28,7	43,4	37,7	41,8	40,1	44,6
15. T.aestivum_TC300618	52,8	49,7	33,7	30,9	26,1	29,4	27,8	31,2
16. T.aestivum_TC315204	75,1	74,4	28,2	43,3	39,4	43,4	41,7	43,7
17. Z.mays_TA17892_4577999	43,7	45,6	30,4	97,0	45,1	46,5	44,9	81,7
18. Z.mays_TC478294		81,1	30,4	44,2	36,5	44,4	42,4	45,1
19. Z.mays_TC488418	84,7		31,5	46,8	38,0	44,2	42,2	46,2
20. Z.mays_TC501784	39,4	41,1		33,0	28,7	53,9	48,9	35,5
21. Zea_mays_GRMZM2G003466_T01	55,0	60,1	41,7		45,3	46,6	45,0	82,1
22. Zea_mays_GRMZM2G039870_T01	47,6	49,1	38,2	55,3		42,0	42,0	45,0
23. Zea_mays_GRMZM2G061487_T01	55,9	58,9	62,0	58,7	53,6		94,9	47,0
24. Zea_mays_GRMZM2G061487_T02	52,6	55,4	59,9	57,0	54,2	94,9		44,7
25. Zea_mays_GRMZM2G113060_T01	55,9	57,9	43,8	87,0	56,6	58,2	55,2	

FIGUR 18 (Fortsetzung)



FIGUR 19

MNGELKLMASYVSKLKFILQKDQQEPHTANLLVLLGSSNQDKRNGLSQGENRMDTCTR

KKPRRYQLLTMQOKETLNRAFQSCPNPDRNDLKKLAKELNMTETQIKYWFQNCRTKMKK

-----17-----16-----

Homeodomäne PF00046

FKNNEERKLLQKENEELKKENAELRNRMKNSTCRACDLPLFHIDCRHWENPMLNKGNGH

-----16-----

VTSNLIPQAVSSLLPSSSGFVASGSNLSSNAVLMPVSAMPSSVLQPAPAVSGANFPILH

NLSANANDGYTEKNVLLDLANRAMEEFFSLMKENESLLVKKKENGPLWLPHMDILGVES

START-Domäne PF01852

LNYQEYLAKSRTIGQKPVDFKVVVTRDTAIVNGSCVDLVKSLLDANRWRELFPGIVASA

START-Domäne PF01852

NTTKIISTGPSNLHDGLLQLMRAELQVMSPEVPVCDVTFLRQSVQFGSGLWCVVVDVSID

START-Domäne PF01852

TILPGESKTAQSSVQTSSTAARRMEVRLPSGCVIEEMENGYSKVTWVHAAYDERAVP

-----18-----

START-Domäne PF01852

VLYHSLLRSKALGACRWVASLQRHSQFLSGLHKYIFCPDSTMTEVVMRRKVLVYLVKQM

START-Domäne PF01852

TSSFTGLFASMSKATLQDGDTHFAHQIVGGATGEPAGLLLSATTTIWLPGVNPVHVD

HLRDEQCHGEWRCLLGEQLHQGNALPYGAPLNGETVPEFYRMVNGLHEGHAIISLISPRE

MGGNISNTLLLQEARTDLGSLIVYARTDVNTVHSIMNSGLNPATVFLVSSGCAILPDC

LESFPLHPAATADQAGTSSAAIASRSETGGSFVTVTYQMFSSQGAAPASSSIHQGRD

ALKKATDIFKVVLDTLTVA

FIGUR 20

CLUSTAL 2.0.11 multiples Sequenzalignment

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 -----MDF
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 -----MDF
A.thaliana_AT1G17920.1 -----MEF
A.thaliana_AT1G73360.1 -----MSF
G.max_Glyma16g34350.1 -----MEF
G.max_Glyma09g29810.1 -----MEF
G.max_Glyma08g06190.1 -----MEY
G.max_Glyma05g33520.1 -----MEY
P.trichocarpa_scaff_122.86 -----MEY
P.trichocarpa_scaff_XII.63 -----MEY
P.trichocarpa_scaff_44.222 -----MEL
G.max_Glyma01g01850.1 -----MPSG--GNVVVNSDTLFS--IQNSSFN-FIPT--MPF
G.max_Glyma09g34070.1 -----MPSG--GNVVVNPDTLFS--IQNSSFN-FIPT--MPF
M.truncatula_CT485796_15.4 ---MYGDCQVMSTMG--GNVVVNSESLFSSP-IHNSNFN-FMST--MPF
P.trichocarpa_scaff_III.687 ---MFGDCQVMSNMG--GNVVS-SDNLYSSP-IGNPNFS-FMSS--MPF
P.trichocarpa_scaff_29.235 ---MFGDRQVMSNMG--GNVVS-SDTIYSLP-IENPSFN-FMSS--MPF
O.sativa_LOC_Os10g42490.2 MRRMFQDCQVLSMAAMAGAASSADALFASPLIPNLAGFMSSSAAMPF
G.max_Glyma13g43350.2 -----MGADMSNNNNPPPTSHAKDLFASPALSLSLAGIFRHAGVAAAD
G.max_Glyma13g43350.1 -----MGADMSNNNNPPPTSHAKDLFASPALSLSLAGIFRHAGVAAAD
G.max_Glyma15g01960.1 -----MAADMSNNNNPPPTSHAKDFFASPALSLSLAGIFRHAGVAAAD
M.truncatula_AC173288_41.5 -----MSNNN-PPSTSKAKDFFPSPALSLSLAGIFRHGGGAAAE
A.thaliana_AT1G79840.1 -----MSMAVDMSSKQPTKDFSSPALSLSLAGIFRNASSGSTN
O.sativa_LOC_Os01g55549.1 -----MGTNR---PRPRTKDFFAAPALSLLAGVFRKNGPAAS
Medicago -----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 ----MVHEGQLKNTPEPDIGVNMGDDELIIYLPDIEEYDMDALMGDEDQLNT
O.sativa_LOC_Os08g19590.2 -----MNGELKLMASYVSKLKFILQKDQQEPHTANLLVLLGSSNQ
O.sativa_LOC_Os08g19590.3 -----MNGELKLMASYVSKLKFILQKDQQEPHTANLLVLLGSSNQ

```

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 GD-----
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 GD-----
A.thaliana_AT1G17920.1 LG-----
A.thaliana_AT1G73360.1 VVGVG-----GSGSG
G.max_Glyma16g34350.1 GSGSP-----GDRHH
G.max_Glyma09g29810.1 GSGSP-----GDHHH
G.max_Glyma08g06190.1 GSGGG-----GSQSP
G.max_Glyma05g33520.1 G-----GSQSP
P.trichocarpa_scaff_122.86 GSVGG-----GTSGG
P.trichocarpa_scaff_XII.63 GSAGG-----GSGGG
P.trichocarpa_scaff_44.222 QLGNN-----GGVSG
G.max_Glyma01g01850.1 QPFP-----SMKEEDG---ILRGKE-----EME--SGSGSE
G.max_Glyma09g34070.1 QPFP-----SMKEEDG---ILRGKE-----EVE--SGSGSE
M.truncatula_CT485796_15.4 QPFSS-----SMKEEG---ILRGKE-----EIMDQSGSGSE
P.trichocarpa_scaff_III.687 HTFSP-----IIPKEENGL--VMRGKE-----EME--SGSGSE
P.trichocarpa_scaff_29.235 HTLSP-----IISKEENGL--VMPGKE-----EVE--SGSGCE
O.sativa_LOC_Os10g42490.2 HHFSNAA-----ATLIPKEEGLMGLHVAKDEGMDLEMDMELSGSGS
G.max_Glyma13g43350.2 EAATS-----VEEGEEGSGGAAERLEEISSENSGPTRRSRSEDDFEGGAE
G.max_Glyma13g43350.1 EAATS-----VEEGEEGSGGAAERLEEISSENSGPTRRSRSEDDFEGGAE
G.max_Glyma15g01960.1 EAATS-----VEEGEE-----CERLDDISSENSGPTRRSRSEDDFEV-EAE
M.truncatula_AC173288_41.5 GEGGSISNMEVEEGEEGSTIGGERVEEISSEYSGPAKSKSIDEYEGDELE
A.thaliana_AT1G79840.1 PEEDFLG-RRVDDDED-----RTVEMSENSGPTRRSRSEDDLEGEDHD
O.sativa_LOC_Os01g55549.1 G-GDG-----VEEGDEEVQAAGEAAVEISSENAGPGCRQSQS--GGSGSE
Medicago -----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 DQAIF-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.2 DKRNGLS-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.3 DKRNGLS-----

```

FIGUR 21

O.sativa_LOC_Os06g10600.1	-----EPEGSDSQRR-----	RKRYHRHTP
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	-----EPEGSDSQRQ-----	RKRYHRHTP
A.thaliana_AT1G17920.1	-----DSQNHDSSETEKKNK-----	KKKRFHRHTP
A.thaliana_AT1G73360.1	SGGD-----GGGSHHHDGSETDRK-----	KKRYHRHTA
G.max_Glyma16g34350.1	H-----HDGSSDSQRR-----	KKRYHRHTA
G.max_Glyma09g29810.1	H-----HDGSSDSQRR-----	KKRYHRHTA
G.max_Glyma08g06190.1	G-----EQDGSQSQR-----	RKRYHRHTA
G.max_Glyma05g33520.1	G-----EQDGSQSQR-----	RKRYHRHTA
P.trichocarpa_scaff_122.86	GGG-----DHDSSDPQRR-----	KKRYHRHTA
P.trichocarpa_scaff_XII.63	GGG-----DHDSSDPQRR-----	KKRYHRHTA
P.trichocarpa_scaff_44.222	D-----EHEAFNSGNKG-----	KKAYHRHTC
G.max_Glyma01g01850.1	QL-----VEDKSGYEQES--HEEPT-----	KKKRYHRHTA
G.max_Glyma09g34070.1	QL-----VEDKSGNEQES--HEQPT-----	KKKRYHRHTA
M.truncatula_CT485796_15.4	Q-----VEDKSGNEQEINNEQQAT-----	KKKRYHRHTA
P.trichocarpa_scaff_III.687	Q-----LEDRSGNEQES--SEQPP-----	KKKRYHRHTA
P.trichocarpa_scaff_29.235	Q-----LEEKSGNEEES--SEQPP-----	KKKRYHRHTA
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	HLDGLLSFADVDDHKPQHSGHDQPPD-AAQPSGAAGNAKKKRYHRHTA	
G.max_Glyma13g43350.2	PE-----DDDDAHGDNKNKKT-----	KKKRYHRHTA
G.max_Glyma13g43350.1	PE-----DDDDAHGDNKNKKT-----	KKKRYHRHTA
G.max_Glyma15g01960.1	HE-----DDD-ADGD-KNK-----	NKKRYHRHTA
M.truncatula_AC173288_41.5	DDEG---EDDEGDGDGDGVNKNK-----	KKKRYHRHTS
A.thaliana_AT1G79840.1	DE-----EEEEEDGAAGNKGNT-----	KKRYHRHTT
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	DG-----GHDDDDGEGSNK-----	KRRKRYHRHTA
Medicago	-----MQRASDLPA-----	
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	-----CEEHNLDKVSS-----	SKRPKRFTV
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	-----QGENRMDTCTR-----	KKPRRYQLLTM
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	-----QGENRMDTCTR-----	KKPRRYQLLTM

O.sativa_LOC_Os06g10600.1	RQIQQLEA-----	
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	RQIQQLEAYDLASFPFLLLLLLYSVRPPLWLFVVRDGLAERNVMACVLAH	
A.thaliana_AT1G17920.1	HQIQRLS-----	
A.thaliana_AT1G73360.1	QQIQRLS-----	
G.max_Glyma16g34350.1	NQIQRLS-----	
G.max_Glyma09g29810.1	NQIQRLS-----	
G.max_Glyma08g06190.1	NQIQRLS-----	
G.max_Glyma05g33520.1	NQIQRLS-----	
P.trichocarpa_scaff_122.86	LQIQKLES-----	
P.trichocarpa_scaff_XII.63	HQIQKLES-----	
P.trichocarpa_scaff_44.222	QQILQLEK-----	
G.max_Glyma01g01850.1	RQIQEMES-----	
G.max_Glyma09g34070.1	RQIQEMEA-----	
M.truncatula_CT485796_15.4	RQIQEMEA-----	
P.trichocarpa_scaff_III.687	AQIQEMEA-----	
P.trichocarpa_scaff_29.235	RQIQEMEA-----	
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	HQIQQMEA-----	
G.max_Glyma13g43350.2	DQIREMEA-----	
G.max_Glyma13g43350.1	DQIREMEA-----	
G.max_Glyma15g01960.1	DQIKEMEA-----	
M.truncatula_AC173288_41.5	EQIRVMEA-----	
A.thaliana_AT1G79840.1	DQIRHMEA-----	
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	EQIRIMEA-----	
Medicago	VSIFIANK-----	
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	QQLQLES-----	
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	QQKETLNR-----	
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	QQKETLNR-----	

FIGUR 21 (Fortsetzung)

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 ---MFKECPHPDENQRAQLSRELGLEPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 DCRMFKECPHPDENQRAALSRELGLEPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
A.thaliana_AT1G17920.1 ---TFNECQHPDEKQRNQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQKKAQHERADN
A.thaliana_AT1G73360.1 ---SFKECPHPDEKQRNQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQLKAQHERADN
G.max_Glyma16g34350.1 ---MFKECPHPDEKQRLQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
G.max_Glyma09g29810.1 ---MFKECPHPDEKQRLQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
G.max_Glyma08g06190.1 ---MFKECPHPDEKQRLQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
G.max_Glyma05g33520.1 ---MFKECPHPDEKQRLQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
P.trichocarpa_scaff_122.86 ---MFKECPHPDEKQRLQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
P.trichocarpa_scaff_XII.63 ---MFKECPHPDEKQRLQLSRELGLAPRQIKFWFQNRRTQMQAQHERADN
P.trichocarpa_scaff_44.222 ---FFKECPHPNEKQRRQLSRELGLEAKQIKFWFQNRRTQEKQASERSDN
G.max_Glyma01g01850.1 ---LFKECPHPDDKQRLKLSHELGLKPRQVKFWFQNRRTQMQAQDDRADN
G.max_Glyma09g34070.1 ---LFKECPHPDDKQRLKLSHELGLKPRQVKFWFQNRRTQMQAQDDRADN
M.truncatula_CT485796_15.4 ---LFKECPHPDDKQRLKLSHDLGLKPRQVKFWFQNRRTQMQAQDRSDN
P.trichocarpa_scaff_III.687 ---MFKECPHPDDKQRMRLSRELGLKPRQVKFWFQNRRTQMQAQDRSDN
P.trichocarpa_scaff_29.235 ---MFKECPHPDDKQRMRLSHELGLKPRQVKFWFQNRRTQMQAQDRSDN
O.sativa_LOC_Os10g42490.2 ---LFKECPHPDDKQRLKLSRELGLKPRQVKFWFQNRRTQMQAQDDRADN
G.max_Glyma13g43350.2 ---LFKESPHPDEKQRQQLSKQLGLAPRQVKFWFQNRRTQIKAIQERHEN
G.max_Glyma13g43350.1 ---LFKESPHPDEKQRQQLSKQLGLAPRQVKFWFQNRRTQIKAIQERHEN
G.max_Glyma15g01960.1 ---LFKESPHPDEKQRQQLSKQLGLAPRQVKFWFQNRRTQIKAIQERHEN
M.truncatula_AC173288_41.5 ---LFKESPHPDEKQRQQLSKQLGLAPRQVKFWFQNRRTQIKAIQERHEN
A.thaliana_AT1G79840.1 ---LFKETPHPDEKQRQQLSKQLGLAPRQVKFWFQNRRTQIKAIQERHEN
O.sativa_LOC_Os01g55549.1 ---LFKESPHPDERQRQVSKQLGLSARQVKFWFQNRRTQIKAVQERHEN
Medicago ----- I IDRARSAMNELCKIGIAENNVVHQHREHRYEILDD ----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 ---SFQKCSHPDDEMRELAAKVGISARQVKFWFQNRRTQIKVRSCGTEN
O.sativa_LOC_Os08g19590.2 ---AFQSCPNPDRNDLKKLAKELNMTETQIKYWFQNCRTKMKKFKNNEER
O.sativa_LOC_Os08g19590.3 ---AFQSCPNPDRNDLKKLAKELNMTETQIKYWFQNCRTKMKKFKNNEER

```

: : : : *.*: . : :

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 CFLRAENDKIRCENIAIREALKNV--ICPTCGGPPVGED-----YFD
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 CFLRAENDKIRCENITMREALKNV--ICPSCGGPPVDED-----FFD
A.thaliana_AT1G17920.1 CALKEENDKIRCENIAIREAIKHA--ICPSCGDSPVNEDS-----YFD
A.thaliana_AT1G73360.1 SALKAENDKIRCENIAIREALKHA--ICPNCGGPPVSEDP-----YFD
G.max_Glyma16g34350.1 CALRAENDKIRCENIAIREALKNV--ICPSCGGPPMNDDC-----YFD
G.max_Glyma09g29810.1 CALRAENDKIRCENIAIREALKNV--ICPSCGGPPMNDDC-----YFD
G.max_Glyma08g06190.1 CALRADNDKIRCENIAIREALKNV--ICPSCGAPPLNDDC-----YFD
G.max_Glyma05g33520.1 CALRADNDKIRCENIAIREALKNV--ICPSCGGPPLNDSS-----YFN
P.trichocarpa_scaff_122.86 SSLRAENDKIRCENIAIREALKNV--ICPSCGGPPVTEDS-----YFD
P.trichocarpa_scaff_XII.63 SSLRAENDKIRCENIAIREALKNV--ICPSCGAPPVTEDS-----YFD
P.trichocarpa_scaff_44.222 SVLRTENERIHCENLSIREAMKNV--ICPACGGHPFGEER-----QLN
G.max_Glyma01g01850.1 MILRAENETLKSENRYLQAALRNV--ICPNCGGPCIMGADM-----GFD
G.max_Glyma09g34070.1 VILRAENESLKSENRYLQAALRNV--ICPNCGGPCIMGADM-----GLD
M.truncatula_CT485796_15.4 VILRAENESLKNENRYLQALRNI--LCPNCGGPCIMGPD-----GFD
P.trichocarpa_scaff_III.687 LILRAENESLKNENRYLQALRNL--ICPNCGGQAMLG-AI-----PFE
P.trichocarpa_scaff_29.235 NILRAENESLQNDNYRLQALRNL--ICPDCGGQAMLG-EI-----PFE
O.sativa_LOC_Os10g42490.2 VILRAENENLKSDFRQLQAALRNV--VCPNCGHAAVLA-DM-----SYE
G.max_Glyma13g43350.2 SLLKSEIEKLEKKNKSLRETINKA--CCPNCGVPTTSRDGVMP-----E
G.max_Glyma13g43350.1 SLLKSEIEKLEKKNKSLRETINKA--CCPNCGVPTTSRDGVMP-----E
G.max_Glyma15g01960.1 SLLKSEIEKLEKKNKTLRETINKA--CCPNCGVPTTSRDGVMP-----E
M.truncatula_AC173288_41.5 SLLKSEIEKLEKKNKTLRETINKA--CCPNCGVPTTNRDGMT-----E
A.thaliana_AT1G79840.1 SLLKAELEKLEKKNKAMRESFSKANSSCPNCGGPPDD-----
O.sativa_LOC_Os01g55549.1 SLLKSELEKLEKKNKAMRESFSKANSSCPNCGGPPDD-----
Medicago -----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 NKYRRQNAELLATNMELKEQLKGMT--CSRCDAPTIMQKWQ-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.2 KLLQKENEELKKNKAEELNRNMKNS--TCRACDLPLFHIDCR-----HWE
O.sativa_LOC_Os08g19590.3 KLLQKENEELKKNKAEELNRNMKNS--TCRACDLPLFHIDCR-----HWE

```

FIGUR 21 (Fortsetzung)

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 EQKLRMENARLKEELDRVSNLTSKYLG-----RPFTQ
 Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 EQKLRMENARLKEELDRVSSITSKYLG-----RPFTQ
 A.thaliana_AT1G17920.1 EQKLRIENAQRLDELERVSSIAAKFLG-----RPISH
 A.thaliana_AT1G73360.1 EQKLRIENAHLEELERMSTIASKYMG-----RPISQ
 G.max_Glyma16g34350.1 EQKLRLENAQLKEELDRVSSIAAKYIG-----RPISQ
 G.max_Glyma09g29810.1 EQKLRLENAQLKEELDRVSSIAAKYIG-----RPISQ
 G.max_Glyma08g06190.1 DQKLRLENAHLKEELDRVSSIAAKYIG-----RPISQ
 G.max_Glyma05g33520.1 DHKLRLENAHLKEELDRVSSIAAKYIG-----RPISQ
 P.trichocarpa_scaff_122.86 EHKLRMENVQLKEELDRVSSIAAKYIG-----RPISQ
 P.trichocarpa_scaff_XII.63 EQKLRIENAQRLKEELDRVSSIAAKYIG-----RPISQ
 P.trichocarpa_scaff_44.222 LQKLRLQENARLREEA--ISSLLAKYIG-----KPKSQ
 G.max_Glyma01g01850.1 EHQLRIENARLREELERVCCLTTRYTG-----RPIQT
 G.max_Glyma09g34070.1 EHQVRIENARLREELERVCCLTTRYTG-----RPIQT
 M.truncatula_CT485796_15.4 DHQLRFENARLKEELERVCCITSRYTG-----RPLQT
 P.trichocarpa_scaff_III.687 E--LRLENARLRDELERVCCITSRYGG-----RQIHS
 P.trichocarpa_scaff_29.235 D--LRLEHARLREELERVCCIASRYGG-----RPIHS
 O.sativa_LOC_Os10g42490.2 EQQLRIENARLKDELDRLACIATRYGGGG-----GRQPVLSTALS
 G.max_Glyma13g43350.2 EQQLRIENAKLKAEV-----EK
 G.max_Glyma13g43350.1 EQQLRIENAKLKAEV-----EK
 G.max_Glyma15g01960.1 EQQLRIENAKLKAEV-----EK
 M.truncatula_AC173288_41.5 EQQLRIENAKLKAEV-----ER
 A.thaliana_AT1G79840.1 ---LHLENSKLAEL-----DK
 O.sativa_LOC_Os01g55549.1 EQRLRLKAKLKAEVCMPPRRSRARPFRCATLQDTS
 Medicago -----GELAMLNLFQIER

 Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 ---LMDENAKLREMYSLASAELTKLMQEAN-----LPPSVI
 O.sativa_LOC_Os08g19590.2 NPMLNKGNGHVTSNLIPOAVSSLLPSS-----SG
 O.sativa_LOC_Os08g19590.3 NPMLNKGNGHVTSNLIPOAVSSLLPSS-----SG

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 LPPATPPMTVSSLDL SVGGMG-----GPSLDDL LSGGSSG-----
 Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 MPP-VPTMSVSSLDL SVGGMGLG-----GPSLDDL LSGCSSG-----
 A.thaliana_AT1G17920.1 LPPLLPMHVSPLLEL-----FHTGP--SLDFDL LPGSCSSMSVP--
 A.thaliana_AT1G73360.1 LS-TLHPMHISPLDLSMTSLTGCGPFGHGP--SLDFDL LPGSSMAVGPNN
 G.max_Glyma16g34350.1 LP-PVQPIHISL DLSMGT FASQGLG---PSLDDL LPGSSSSMPN-
 G.max_Glyma09g29810.1 LP-PVQPIHISL DLSMGT FASQGLG---PSLDDL LPGSSSSPMLN-
 G.max_Glyma08g06190.1 LP-PVQPIHISL DLSMASYGNQGMVGPAPS-SLNLDDL PAAGTSSSS--
 G.max_Glyma05g33520.1 LP-PVQPIHISL DLSMASFGNQGMVGPAPAPSLNLDDL PAGTSSSSMPN-
 P.trichocarpa_scaff_122.86 LP-PVQPFHISL DLSMGNFGAQGIGGPS---LDL DLIPTSSN-----
 P.trichocarpa_scaff_XII.63 LP-PVQPVHISL DLSMGNFGGQGLG PALDDL DLDL IPTNSN-----
 P.trichocarpa_scaff_44.222 IDLLTSDTGSSQEELPTFVQNRMGNP-----GIDWGRNPGSDIS-----
 G.max_Glyma01g01850.1 MA-ADPTLMAPSLDLD MNIYPRHFSDPIAP--CTEMIPVP-MLPPEASP-
 G.max_Glyma09g34070.1 MA-TGPTLMAPSLDLD MNIYPRHFADTIAP--CTEMIPVP-MLPPEASP-
 M.truncatula_CT485796_15.4 MA-PPSSLMPPSLDLD MNIYPRHF-DMPMP--CTEMIPVP-MLPPEPSQ-
 P.trichocarpa_scaff_III.687 MV-PVPSFVPPSLDLD MNIYSRPFPEYLG T--CTDMMPVVPVLEEPS-
 P.trichocarpa_scaff_29.235 MV-PAPAFVPPSLDLD MNIYSRPFPEYLG T--CIDMMPMP--MLPEPSS-
 O.sativa_LOC_Os10g42490.2 IS-APPPVLMPPDL DLMNVYSRHF AEQAPVMGCGDLIPPPVVPQHDGAA-
 G.max_Glyma13g43350.2 LRAALGKYAPGSTSP---SCSSGHDQEN---RSSLDFYTGIFG-----
 G.max_Glyma13g43350.1 LRAALGKYAPGSTSP---SCSSGHDQEN---RSSLDFYTGIFG-----
 G.max_Glyma15g01960.1 LRAVLGKYAPGSTSP---SCSSGHDQEN---RSSLDFYTGIFG-----
 M.truncatula_AC173288_41.5 LRAALGKYASGTMS P---SCSTSHDQENI---KSSLDFYTGIFC-----
 A.thaliana_AT1G79840.1 LRAALGR-TPYPLQA---SCSD--DQEHR--LGSLDFYTGIVFA-----
 O.sativa_LOC_Os01g55549.1 LRGTGPKSAADGIASPPCSASAGAMQTN SR--SPPLHDH DGGFLR-----
 Medicago -----
 Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 LEDMALVTSMNPLSSNASSR-----
 O.sativa_LOC_Os08g19590.2 FVASGSNLSNAVLMPV SAMPSSVLQPAPAVSGANFPILHNLSANANDG-
 O.sativa_LOC_Os08g19590.3 FVASGSNLSNAVLMPV SAMPSSVLQPAPAVSGANFPILHNLSANANDG-

FIGUR 21 (Fortsetzung)

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 -IPFQLPAPVSDMERPMMAEMATRAMDELIRLAQAGDHIWSKSPGGGVSG
 Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 -LPYQVPAPVTEMERPMVMDAARAMDELIRLAQAGEQIWVK----GVPG
 A.thaliana_AT1G17920.1 SLPSPQPNLVLSEMDKSLMTNIAVTAMEELRLRLQTNPLWIKT-----
 A.thaliana_AT1G73360.1 NLQSQPNLAISDMDKPIMTGIALTAMEELRLRLQTNPLWTRT-----
 G.max_Glyma16g34350.1 VPPFQP-PCLSDMDKSLMSDIASNAMEEMIRLLQTNPLWMMKG-----
 G.max_Glyma09g29810.1 VPPFQP-ACLSDMDKSLMSDIASNAMEEMIRLLQTNPLWMMKG-----
 G.max_Glyma08g06190.1 -MPYHP-PCLSDMDKSLMSDIASNAMEEFLRLVQTNPLWLKSN-----
 G.max_Glyma05g33520.1 -LPYQP-PCLSDMDKSLMSDIASNAMEEFLRLVQTNPLWLKSN-----
 P.trichocarpa_scaff_122.86 -LAFQP-PVISDMDKSLMTDVAANAMEELRLRLQTNPLWMMKSS-----
 P.trichocarpa_scaff_XII.63 -LAFQP-PGISDMDKSLMTDVATNAMEELRLRLQANESLWMMKSS-----
 P.trichocarpa_scaff_44.222 HFAYRL-EGIPDMEALMAETAAGAMDELIRLLRVNEPFWIKSF-----
 G.max_Glyma01g01850.1 FSEGG---VLMEEKSLALELAASSMAELVKMCMQTNPLWIKSS-----
 G.max_Glyma09g34070.1 FSEGG---ILMEEKSLTLELAASSMAELVKMCMQTNPLWIRST-----
 M.truncatula_CT485796_15.4 FQEGGL--LLMEDEKSLAMELAASSMAELVKMCMQNEPLWIRS-----
 P.trichocarpa_scaff_III.687 FPEAGV--VLMEEKGLAMELALSSMDELVKMCHANEPLWIRNI-----
 P.trichocarpa_scaff_29.235 FPEAGI--VLMEEGGLAMGLALSSMDELVKMCMANEPWITNN-----
 O.sativa_LOC_Os10g42490.2 AYM GAMMAPVQEQDKQLVVDLAATAADQLARMCRAEPLWVRQ-----
 G.max_Glyma13g43350.2 -----LDKSRIMDIVNQAMEELIKMATVGEPLWLRSF-----
 G.max_Glyma13g43350.1 -----LDKSRIMDIVNQAMEELIKMATVGEPLWLRSF-----
 G.max_Glyma15g01960.1 -----LDKSRIMDTVNQAMEELIKMATVGEPLWLRSF-----
 M.truncatula_AC173288_41.5 -----LDESIMDVVNQAMEELIKMATMGEPMLWLRSL-----
 A.thaliana_AT1G79840.1 -----LEKSRIAEISNRATLELQKMATSGEPMLWLRSV-----
 O.sativa_LOC_Os01g55549.1 -----HDDKPRILELATRALDELVGMCSSEGPVWVRG-----
 Medicago -----FELYKQFGCVDATLLEIVKLVEGTLPLPSF-----
 Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 -----STINQDELSSYVECAIKEFEMLVDRDGTPLWLPTIG-----
 O.sativa_LOC_Os08g19590.2 -----YTEKNVLLDLANRAMEEFFSLMKENESLLVKKKENGPLW
 O.sativa_LOC_Os08g19590.3 -----YTEKNVLLDLANRAMEEFFSLMKENESLLVKKKENGPLW
 : : :

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 GDARETLNVDYDYSIFSKPGGSY-RAPS---INVEGSRSEGLVLSAVAL
 Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 -DAREVLVDVGTYSLFAKPGAFAF-RPPD---INVEASRDSGLVFMMSAVAL
 A.thaliana_AT1G17920.1 DGCRDVLNLENYENMFTRSSSTSGGKKN---LGMEASRSSGVVFTNAITL
 A.thaliana_AT1G73360.1 DGCRDILNLGSIYENVFPRSSNRG-KNQN---FRVEASRSSGIVFMNAMAL
 G.max_Glyma16g34350.1 ADGRDVLDLDSYERMFPKANSHL-KNPN---VHVEASRDSGVVIMNGLTL
 G.max_Glyma09g29810.1 ADGRDVLDLDSYERMFPKANSHL-KNPN---VHVEASRDSGVVIMNGLTL
 G.max_Glyma08g06190.1 VDARDVLSCDAYERMFHKPNTRP-KNPN---VRIEASRDSGVVLMNTLAL
 G.max_Glyma05g33520.1 VDRRDVLSDDAYDRMFSKPNTRS-KNPN---VRIEASRDSGVVLLNSLAL
 P.trichocarpa_scaff_122.86 ADGRDVLNLDYSYQIFPRAMSHL-KNPN---VRIEASRDSGVVIMNGVAL
 P.trichocarpa_scaff_XII.63 TDGRDVLNLDYSYQIFPRAMSHL-KNPN---VRIESSRDSGVVIMNGVAL
 P.trichocarpa_scaff_44.222 SDGRILDLRLSYERIYPRAAHFI--SRN---ARVESSKDSATVTMPGMDL
 G.max_Glyma01g01850.1 EGEREVLNFEEHARMFVWPQN-LKNRS---ELRTEASRDTSVVIINSVTL
 G.max_Glyma09g34070.1 ESEREVLNFEEHARMFVWPQN-LKHRS---ELRTEASRDTSVVIINSVTL
 M.truncatula_CT485796_15.4 ENDREVLNFEHARVFQWPLN-LKQRN---ELRNEATRDSAVVIMNSVTL
 P.trichocarpa_scaff_III.687 ENGKEVLNLEEHGRMFPWPSN-LKQNSS--ETRTEATRDCAVVIMNSITL
 P.trichocarpa_scaff_29.235 ENGKEVLNLEEHARMFVWPQN-LKQNSS--DMRTEATRDCAVVIMNSINL
 O.sativa_LOC_Os10g42490.2 -RGAEVMAVEEHARMFVWPVDGAKQGDGGAVARAEGTRDNNAVIMNSINL
 G.max_Glyma13g43350.2 ETGREILNYDEYVKEFAVENSSSS-GKPK--RSIEASRD TAVVFDLPSL
 G.max_Glyma13g43350.1 ETGREILNYDEYVKEFAVENSSSS-GKPK--RSIEASRD TAVVFDLPSL
 G.max_Glyma15g01960.1 ETGREILNYDEYVREFAVENSSSS--GKPR--RSIEASRD TAVVFDLPRL
 M.truncatula_AC173288_41.5 ETGREILNYDEYVREFAVENSSSS--GKPR--RSIEASRD TAVVFDLPRL
 A.thaliana_AT1G79840.1 ETGREILNYDEYVREFAVENSSSS--GKPR--RSIEASRD TAVVFDLPRL
 O.sativa_LOC_Os01g55549.1 ETGRDILNYDEYVRLFRRDHGGSGDQMAG--WTVEASRECGLVYLDTMHL
 Medicago -DLCRNQNSMYTMEVFQGG-----LQIEASRD KALIKISPTKL
 Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 ---GDVLNSKEYACQFPRHLHGTIRPEG---FVVEATRDTAIVKGSAPDI
 O.sativa_LOC_Os08g19590.2 LPHMDILGVESLNYQEYLAKSRTIGQKP-VDFKVVVTRDTAIVNGSCVDL
 O.sativa_LOC_Os08g19590.3 LPHMDILGVESLNYQEYLAKSRTIGQKP-VDFKVVVTRDTAIVNGSCVDL
 : : :

FIGUR 21 (Fortsetzung)

O.sativa_LOC_Os06g10600.1	ADVFM DTKNWKMEFFPFSIVSKAHTIDVLVNGMGG----RSESLIL-MYEEL
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	VDFVMDTKNWKMEFFPFGIVSKAQTVDVLVNLGG----RSESLIM-MYEEL
A.thaliana_AT1G17920.1	VDMLMNSVKLTELFPFSIVASSKTLAVISSGLRGN---HGDALHL-MIEEL
A.thaliana_AT1G73360.1	VDMFMDCVKWTELFPFSIIAASKTLAVISSGMGGT---HEGALHL-LYEEM
G.max_Glyma16g34350.1	VDMFM DPNKWMELFSTIVTMARTIEVISSGMMGG---HGGSLQL-MYEEL
G.max_Glyma09g29810.1	VDMFM DPNKWMELFPTIVTMARTIEVISSGMMGS---HSGSLQL-MYEEL
G.max_Glyma08g06190.1	VDMFM DPNKWIQLFPTIVSVARTIQVISSGMMGS---CSGSLQL-MYQEL
G.max_Glyma05g33520.1	VDMFM DPNKWIQLFPTIVSVARTIQVISSGVMGS---CSGSLQL-MYQEL
P.trichocarpa_scaff_122.86	VDMFM DSNKWWESFPTMVSVAKTIEVISSGMLGS---HSGSLQL-MYEEL
P.trichocarpa_scaff_XII.63	VDMFM DSNKWWESFPTIVSVAKTIEVISSGMLGN---HSGSLQL-MYEEL
P.trichocarpa_scaff_44.222	VDMFLDPNKWVDLFPPTIVTEARTIHVLEAGTVGN---RHGSLOL-MYEQM
G.max_Glyma01g01850.1	VDAFLDAQKWMELFPTIVSRAKTIVQIISSGASGL---ASGTLQL-MCAEF
G.max_Glyma09g34070.1	VDAFLDAQKWMELFPTIVSRAKTIVQIISSGASGL---ASGTLQL-MYAEF
M.truncatula_CT485796_15.4	VDAFLDAQKWMELFPTIVARARTVQIIASGASGH---ASGTLQL-MHAEF
P.trichocarpa_scaff_III.687	VDAFLDANKWMELFPFSIVARAKTVQVITPGISG---ASGSLHLQMYAEL
P.trichocarpa_scaff_29.235	VDAFLDANKWMELFPFSIVARAKTVQVIKTGVCG---ASGSLHL-MYAEF
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	VDAFLDANKWMELFPFSIVCKARTIQIINHGAASGH-LGSGTLLL-MQAEV
G.max_Glyma13g43350.2	VQSFLDVNQWKEMFPCLISKAATVDVICNGEGLSR---NGAVQL-MFAEL
G.max_Glyma13g43350.1	VQSFLDVNQWKEMFPCLISKAATVDVICNGEGLSR---NGAVQL-MFAEL
G.max_Glyma15g01960.1	VQSFLDVNQWKEMFPCLISKAATVDVICNGEGPGR---NGAVQL-MFAEL
M.truncatula_AC173288_41.5	VQCFLDANQWKEMFPCLISKAATVDTICKGEGSNK---NGAVQL-MFAEL
A.thaliana_AT1G79840.1	AQSFMDVQWKETFAFLISKAATVDVIRQGEGPSRI---DGAIQL-MFGEM
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	VHTFMDVDKWKDLFPTMISKAATLEMISNREDDGR---DGVQL-MYAEF
Medicago	VELLMDVNQWSTAFYNIIVS GARILGSIEG-----SYDEKMHVMSAEF
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	VDILTDPVPRWYKAFPCIVAALRAYHVI FSGPFASG-NVLIQELLQINVDL
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	VKSLLDANRWRELFPFGIVASANTTKIISTGSPNLH----DGLLQLMRAEL
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	VKSLLDANRWRELFPFGIVASANTTKIISTGSPNLH----DGLLQLMRAEL
	.. : : : * : : : : :
O.sativa_LOC_Os06g10600.1	HIMTPAVPTREVN FVRYCRQ-IEQGLWAIADVSVDLQRDA-----
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	HIMTPVPTRELSFLRYCQ-IEQGLWAVADV SLEGQRDA-----
A.thaliana_AT1G17920.1	QVLSPLVTTREFCVLRQCQ-IEHGTWAI VNVSYEFP-----
A.thaliana_AT1G73360.1	EVLSPLVATREFCELRYCQ-TEQGSWIVVNVSYDLP-----
G.max_Glyma16g34350.1	QVLSPLVSTREFYFLRYCQ-IEQGLWAI VDVSYDFTQDN-----
G.max_Glyma09g29810.1	QVLSPLVSTREFYFLRYCQ-IEQGLWAI VDVSYDFPQDN-----
G.max_Glyma08g06190.1	QVLSPLVSTREFYFLRYCQ-IEQGTWAVMDVSYDFPQDS-----
G.max_Glyma05g33520.1	QVLSPLVSTREFYFLRYCQ-IEQGTWAVMDVSYDFPQDS-----
P.trichocarpa_scaff_122.86	QVLSPLVPTREFCILRYCQ-IEQGLWAI VSVSYDIP-----
P.trichocarpa_scaff_XII.63	QVLSPLVPTREFCILRYCQ-IEQGLWAI VSVSYDIP-----
P.trichocarpa_scaff_44.222	HILSPLVPPREFYFLRLCLQ-LEPGQWV IADVSYDYLK-----
G.max_Glyma01g01850.1	QVLSPLVSTRETHFLRYCQQNAEEGTWAI VDFPVDSFHQN-----
G.max_Glyma09g34070.1	QVLSPLVSTRETHFLRYCQQNAEEGTWAI VDFPVDSFHQN-----
M.truncatula_CT485796_15.4	QVLSPLVSTRETHFLRYCQQNAEEGTWAI VDFPVDSFQQN-----
P.trichocarpa_scaff_III.687	QVLSPLVPTRETYFLRFCHQVNEEGTWAI VDFPLDRLHDN-----
P.trichocarpa_scaff_29.235	QVLSPLVPTRETHFLRFCHQVNEEGTWAI VDFPLDSFHDN-----
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	QFLSPLVAAREVVFFRYCVHNADEGSWAI VDFPAEGFEEG-----
G.max_Glyma13g43350.2	QMLTPMVPTREVV FVRFCKQ-LSAEQWAI VDVSIDKVEDN-----
G.max_Glyma13g43350.1	QMLTPMVPTREVV FVRFCKQ-LSAEQWAI VDVSIDKVEDN-----
G.max_Glyma15g01960.1	QMLTPMVPTREVV FVRFCKQ-LSAEQWAI VDVSIDKVEDN-----
M.truncatula_AC173288_41.5	QMLTPMVPTREVV FVRYCKR-LSGEKWAI VDVSIDKVEDN-----
A.thaliana_AT1G79840.1	QLLTPVPTREVV FVRSRQ-LSPEKWAI VDVSVSVEDSNT-----
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	QTLTPMVPTRELYFARYCK-LAAERWAI VDVSFDESETG-----
Medicago	HLPSVPV IPRKCVFARYSKQ-FTHNIWAVVDV SLEDILQS-----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	SVSPPEPPLRNKMFRLRITKQ-NANGDFVVDV SINDVQGIH-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	QVMSPEVPVCDVTFRLRQSVQ-FGSGLWCVVDV SIDTILPGESKTAQSSVQ
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	QVMSPEVPVCDVTFRLRQSVQ-FGSGLWCVVDV SIDTILPGESKTAQSSVQ
	:* . . . * : : : . . .

FIGUR 21(Fortsetzung)

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 --HFGAPPPRRRLPSGCL IAD MANGYSKVYAMDNVPHAMVFWFRLADDV
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 --HYGVPS-RSRRMPGCL IAD MNSGYSKVTWVE-----
A.thaliana_AT1G17920.1 --QFISQS-RSYRFPGCL IQD MNSGYSKVTWVE-----
A.thaliana_AT1G73360.1 --QFVSHS-QSYRFPGCL IQD MPNGYSKVTWVE-----
G.max_Glyma16g34350.1 --QFAPQF-RSHRLPSGVFIQD MPNGYSKVTWIE-----
G.max_Glyma09g29810.1 --QFAPQY-RSHRLPSGVFIQD MPNGYSKVTWIE-----
G.max_Glyma08g06190.1 --HYAPQF-RSHRCPSGCL IQD MPDGH SKITWVE-----
G.max_Glyma05g33520.1 --HFAPQF-RSHRCPSGCL IQD MPDGH SKITWIE-----
P.trichocarpa_scaff_122.86 --QFASQF-RCHRLPSGCL IQD MPNGYSKVTWVE-----
P.trichocarpa_scaff_XII.63 --QFASQF-QCHRLPSGCL IQD MPNGYSKVIWVE-----
P.trichocarpa_scaff_44.222 --ESGSP-CAWRLPSGCM IQD MPNGYSKVIWVE-----
G.max_Glyma01g01850.1 ---FHPSYPRYCRSSGCVIQD MPNGYSRVTWVE-----
G.max_Glyma09g34070.1 ---FHPSYPRYCRSSGCVIQD MPNGYSRVTWVE-----
M.truncatula_CT485796_15.4 ---FHNSCPKYCRSSGCVIQD MPNGYSRVTWVE-----
P.trichocarpa_scaff_III.687 ---IQPSFPLYKRHPGCVIQD MPNGYSRVTWIE-----
P.trichocarpa_scaff_29.235 ---IRPSFPLYRRRPSGCVIQD LPNGYSKLTWIE-----
O.sativa_LOC_Os10g42490.2 ---LLQASVVRERRRPSGCI IQD MPNGYSRVVWVE-----
G.max_Glyma13g43350.2 ---IDASLVKCRKRPSGCI IEDKSNHGCKVIWVE-----
G.max_Glyma13g43350.1 ---IDASLVKCRKRPSGCI IEDKSNHGCKVIWVE-----
G.max_Glyma15g01960.1 ---IDASLVKCRKRPSGCI IEDKSNHGCKVIWVE-----
M.truncatula_AC173288_41.5 ---IDKSLVKCRKRPSGCI IEDKSNHGCKVWVVE-----
A.thaliana_AT1G79840.1 --EKEASLLKCRKLPSGCI IEDTSNGH SKVTWVE-----
O.sativa_LOC_Os01g55549.1 --VHASSAVRCWKNPSGCL IEEQNNGRCKMTWVE-----
Medicago ---PSNNFHKRPSGCL IEGMPDGN SKVIWLE-----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 --EQQGSQHKTMLPSGCL IKDKGDGYCQVTWIV-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.2 TSSTAARMEVRLLP SGCVIEEMENGY SKVTWMV-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.3 TSSTAARMEVRLLP SGCVIEEMENGY SKVTWMV-----
      ** . *      : * . : :

```

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 AHARVE-EKSPINVL YRDLVLSGA AFGAHRWLAALQRACERYASLVALGV
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 -HMEIE-QMLPINVL YRNLVLSGA AFGAHRWLAALQRACERFASVATLGV
A.thaliana_AT1G17920.1 -HGFEFE-EQEP IHEMFKDIVHKGLA FGAERWIATLQRM CERFTNLLPAT
A.thaliana_AT1G73360.1 -HIETE-EKELVHELYREI IHRGIAFGADRWVTTLQRM CERFASLSVPAS
G.max_Glyma16g34350.1 -HVEIE-DKTPVHRL YRNLI YSGIAFGAQRWLTTLQRM CER IACLLVTGN
G.max_Glyma09g29810.1 -HVEIE-DKTPVHRL YRNLI YSGIAFGAQRWLTTLQRM CER IACLMVTGN
G.max_Glyma08g06190.1 -HVEIE-DKTLPHRL YRNLI YSGMAFGAERWLTTLQRM CER LTYLMATSN
G.max_Glyma05g33520.1 -HVEIE-DKTLPHRL YRNLI YSGMAFGAERWLTTLQRM CER FTYLMATSN
P.trichocarpa_scaff_122.86 -HVEIE-DKTTTHQL YRDLI HSGMAFGAERWLATLQRM CER VACQMVSGN
P.trichocarpa_scaff_XII.63 -HVEIE-DKAPTHQL YRDLI HSGLA FGAERWLATLQRM CER VACQMVSGS
P.trichocarpa_scaff_44.222 -HVEAN-DRIQTHCL YRDLI CGSYAYGAERWIASLQRICERLA--FSTAV
G.max_Glyma01g01850.1 -HAKVE--EKPVHQIFCNYVYSGMAFGAQRWLGVLQRQCERVASLMARNI
G.max_Glyma09g34070.1 -HAKVE--EKPVHQIFCNYVYSGMAFGAQRWLGVLQRQCERVASLMARNI
M.truncatula_CT485796_15.4 -HAKVV--EKPVHQIFSNYVYSGMAFGAQRWLGVLQRQCERVASLMARNI
P.trichocarpa_scaff_III.687 -HAEIE--EKPVHQIFSQYVYSGMAFGAHRWLTVLQRQCERVASLMARNI
P.trichocarpa_scaff_29.235 -HAEIE--DKPVHQIFSQYI YSGMAFGAHRWLAVLQRQCERVASLMARNI
O.sativa_LOC_Os10g42490.2 -HMEMVGEEKLPQVFRDYVASGA AFGATR WLSILQRQCERLASELARNI
G.max_Glyma13g43350.2 -HSECQ--KSAVHSMYRTIVNSGLA FGARHWIATLQLQCERLVFFMATNV
G.max_Glyma13g43350.1 -HSECQ--KSAVHSMYRTIVNSGLA FGARHWIATLQLQCERLVFFMATNV
G.max_Glyma15g01960.1 -HLECQ--KSAVHSMYRTIVNSGLA FGARHWIATLQLQCERLVFFMATNV
M.truncatula_AC173288_41.5 -HLECQ--KSIVHSMYRTIVNSGLA FGARHWIATLQLQCERLVFFMATNV
A.thaliana_AT1G79840.1 -HLDVS--ASTVQPLFRSLVNTGLA FGARHWVATLQLH CERLVFFMATNV
O.sativa_LOC_Os01g55549.1 -HTRCR--RCTVAPLYRAVTASGVAFGARRWVAALQLQCERMVFAVATNV
Medicago -HVEAD--YSKLSDLFRPLVTSALAFGATR WLT SIVRYIEWSETLKAPKL
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 -HAEYE--EASVPPLFRQFYQSGLA FGAERWLASLQRHCEYMVVXHSIQV
O.sativa_LOC_Os08g19590.2 -HAAYD--ERAVPVL YHSLLSAKALGACRWWASLQRHSQFLSGLHKYIF
O.sativa_LOC_Os08g19590.3 -HAAYD--ERAVPVL YHSLLSAKALGACRWWASLQRHSQFLSGLHKYIF
      *      : :      . * ** : * : :

```

FIGUR 21 (Fortsetzung)

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 PHH---IAGVT--PEGKRSMMKLSQRMVNSFCSSLGASQMHQWTTLSG-
 Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 PHHD---VAGVT--PEGKRSMTKLSQRMVSSFCASLSSSPLQRWTTLLSG-
 A.thaliana_AT1G17920.1 SSDL---LGGVIPSPEGKRSIMRLAHRMVSNFLCSVGTNNNTRSTVVSG-
 A.thaliana_AT1G73360.1 SSRD---LGGVILSPEGKRSMMRLAQRMISNYCLSVSRNNTSTVVSE-
 G.max_Glyma16g34350.1 STRD---LGGVIPSPEGKRSMMKLAQRMVTFNFCASISSAGHRWTTLSGS
 G.max_Glyma09g29810.1 STRD---LGGVIPSPEGKRSMMKLAQRMVTFNFCASISASAGHRWTTLSGS
 G.max_Glyma08g06190.1 PTRDN--LGGVISSPEGKRSMMKLAQRMVTFNFCANISTSSGHRWTTLSG-
 G.max_Glyma05g33520.1 PTRDN--LGGVISSPEGKRSMMKLAQRMVTFNFCASISTSSGHRWTTLSG-
 P.trichocarpa_scaff_122.86 STRD---LGGVIPSPEGKRSMMKLAQRMVSSFCSSISTSNHRWSTLSG-
 P.trichocarpa_scaff_XII.63 STRD---LGGVIPSPEGKRSMMKLGQRMVSSFCSSISTSNHRWSTLSG-
 P.trichocarpa_scaff_44.222 PPRE---LGGVIPSPEGKRSIVNLAHRMVKIFCSSLGMGSKLDFRQLSE-
 G.max_Glyma01g01850.1 SDLG-----VIPSPDARKNLMKLAQRMIKTFSLNMSTSSGGQSWTAISD-
 G.max_Glyma09g34070.1 SDLG-----AIPSPARKNLMKLAQRMIKTFSLNMSTSSGGQSWTAISD-
 M.truncatula_CT485796_15.4 SDLG-----VIPSPEARKSLMKLANRMKTFSLNMSTSSGGQSWTAISD-
 P.trichocarpa_scaff_III.687 SDLG-----VIPSPEARKNMMRLAQRMIKIFSLNISTSSGGQSWTGLSD-
 P.trichocarpa_scaff_29.235 SDLG-----VIPSPEARKNMMRLAQRMIKIFSLNISTSSGGQSWTALPD-
 O.sativa_LOC_Os10g42490.2 ADLG-----VIRTPARTNMMKLSQRMITTFCANISASGTQSWTALSD-
 G.max_Glyma13g43350.2 PMKD---STGVATLAGRKSILKLAQRMTWSFCHAIGASSIHAWTKVTS-
 G.max_Glyma13g43350.1 PMKD---STGVATLAGRKSILKLAQRMTWSFCHAIGASSIHAWTKVTS-
 G.max_Glyma15g01960.1 PMKD---STGVATLAGRKSILKLAQRMTWSFCHAIGASSFHTWTKFTS-
 M.truncatula_AC173288_41.5 PMKD---STGVATLAGRKSILKLAQRMTWSFCHAIGASSFHTWTKFTS-
 A.thaliana_AT1G79840.1 PTKD---SLGVTTLAGRKSVLKMAQRMTQSFYRAIAASSYHQWTKITT-
 O.sativa_LOC_Os01g55549.1 PTRD---STGVSTLAGRRSVLKLHRMTSSLCRTGGSCDMAWRRAPK-
 Medicago IADA---GVLIPQIGRTSFLKLAQRMMRIFCANLSTTKNPWIRLAPL
 Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 PTGCVSGSGLVTLALGRWNLELELAQRMMMAIFYKTTSGLPTVEPNIVTR
 O.sativa_LOC_Os08g19590.2 CPDST-----MTEVVMRRKVLYLVKQMTSSFTGLFASMSKATLQDGGD-
 O.sativa_LOC_Os08g19590.3 CPDS-----TKVVMRRKVLYLVKQMTSSFTGLFASMSKATLQDGGD-
 : . . : . : *

O.sativa_LOC_Os06g10600.1 -----SNEVS-----VRVTMHRSTDP--GQPNG-VVLSAATS IWLP-VP
 Zea_mays_GRMZM2G004334_T01 -----TTDVS-----VRVSTHRSTDS--GQPNG-VVLSAATS IWLP-VP
 A.thaliana_AT1G17920.1 -----LDEFG-----IRVTSHKSR----HEPNG-MVLC AATSFWLP-IS
 A.thaliana_AT1G73360.1 -----LNEVG-----IRVTAHKS-----PEPNG-TVLC AATTFWLP-NS
 G.max_Glyma16g34350.1 G-----MNEVG-----VRVTVHKSSDP--GQPNG-VVLSAATTI WLP-IP
 G.max_Glyma09g29810.1 G-----MNEIG-----VRVTVHKSSDP--GQPNG-VVLSAATTI WLP-IP
 G.max_Glyma08g06190.1 -----LNEIV-----VRVTVHKSSDP--GQPNG-VVLSAATTI WLP-TP
 G.max_Glyma05g33520.1 -----LNEIV-----VRVTVHKSSDP--GQPNG-VVLSAATTI WLP-TP
 P.trichocarpa_scaff_122.86 -----LHDVG-----VRVTLHKSTDP--GQPNG-VVLSAATTFSLP-VS
 P.trichocarpa_scaff_XII.63 -----LHDVG-----VRITLHKNTDP--GQPNG-VVLSAATTFSLP-VS
 P.trichocarpa_scaff_44.222 -----GNSNG-----VRVAICKNAEQ--GQPIG-TVSAATSFWLP-LS
 G.max_Glyma01g01850.1 -----SPEDT-----VRITTRKITEP--GQPNG-VILSAVSTTWLP-YS
 G.max_Glyma09g34070.1 -----SPEDT-----VRITTRKITEP--GQPNG-VILSAVSTTWLP-YS
 M.truncatula_CT485796_15.4 -----SPEDT-----VRITTRKITEP--GQPSG-VILAAVSTTWLP-YT
 P.trichocarpa_scaff_III.687 -----SYDDT-----VRITTRKITEP--GQPNG-VILSAVSTTWLP-YP
 P.trichocarpa_scaff_29.235 -----SHDGT-----VRIISREITEP--GQPNG-VILSAVSTTWLP-YP
 O.sativa_LOC_Os10g42490.2 -----STQDT-----IRVTRKNTEP--GQPSG-VILTAVSTSWLP-FT
 G.max_Glyma13g43350.2 -----KTG-----EDIRISSRKNLND-PGEPLG-LILCAVCSVWLP-VS
 G.max_Glyma13g43350.1 -----KTG-----EDIRISSRKNLND-PGEPLG-LILCAVCSVWLP-VS
 G.max_Glyma15g01960.1 -----KTG-----EDIRISSRKNLND-PGEPLG-LILCAVCSVWLP-VS
 M.truncatula_AC173288_41.5 -----KTG-----EDIRISSRKNLND-PSEPLG-LIVCAVSSI WLP-IS
 A.thaliana_AT1G79840.1 -----KTG-----QDMRVSSRKNLHD-PGEPTG-VIVCASSLWLP-VS
 O.sativa_LOC_Os01g55549.1 -----GSGGGGGDDDIWLTSRENAGDDPGE PQG-LIACAAASTWLP-VN
 Medicago P-----AGSAD-----IRVMIANDMAGSTNEPIG-TSLFFCTTLWLN-VS
 Zea_mays_GRMZM2G438260_T01 WGRGCMGTTGEMLEPAVRMVLGNYFGAMDGQPSPLQVLSATTTVWLPGTP
 O.sativa_LOC_Os08g19590.2 -----THFAHQIVGGATGEPAG-LLLSATTTI WLPGVN
 O.sativa_LOC_Os08g19590.3 -----THFAHQIVGGATGEPAG-LLLSATTTI WLPGVN
 : * : *

FIGUR 21(Fortsetzung)

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1      CDHVFAFVRDENTRSQ-----
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01    GDHVFAFVRDENARSQWDVLS-----HGNQVQEVSRIPN
A.thaliana_AT1G17920.1        PQNVFNFLKDERTRPQWDVLS-----NGNSVQVEVAHITN
A.thaliana_AT1G73360.1        PQNVFNFLKDERTRPQWDVLS-----NGNAVQVEVAHISN
G.max_Glyma16g34350.1         PQTVFNFFKDEKRRPQWDVLS-----NGNAVQVEVAHIAN
G.max_Glyma09g29810.1         PQTVFNFFKDEKRRPQWDVLS-----NGNAVQVEVAHIAN
G.max_Glyma08g06190.1         PHAVFNFFKDENKRPQWDVLS-----NGNAVQVEVANI
G.max_Glyma05g33520.1         PHTVFNFFKDENKRPQWDVLS-----NGNAVQVEVANI
P.trichocarpa_scaff_122.86    PQNVFSFFKDERTRPQWDVLS-----SGNAVQVEVAHITN
P.trichocarpa_scaff_XII.63    PQNVFNFFKDEKTRPQWDVLS-----SGNAVQVEVAHIAN
P.trichocarpa_scaff_44.222    PQNVFNFFKAEKSRQWDILS-----NGNFVLEISHISN
G.max_Glyma01g01850.1        HTKVFDLLRDERHRSQMDTLS-----NGNSLNEVAHIAN
G.max_Glyma09g34070.1        HTKVFDLLRDERRRSQMDALS-----NGNSLNEVAHIAN
M.truncatula_CT485796_15.4    HTKVFDLLRDERHRSQMDALS-----NGNSLNEVAHIAN
P.trichocarpa_scaff_III.687   HYQVFDLLRDEHRRSQLELLS-----NGNALHEVAHIAN
P.trichocarpa_scaff_29.235    HFLVFDLLRDEHRRSQLEVLS-----NGNALHEVAHIAN
O.sativa_LOC_Os10g42490.2     HQQVFELLADEQQRCQLEILS-----NGGSLHEVAHIAN
G.max_Glyma13g43350.2        PNVLFDFLRDENRRTEVPLS-----
G.max_Glyma13g43350.1        PNVLFDFLRDENRRTEWDIMS-----SGGTVQSIANLAK
G.max_Glyma15g01960.1        PNVLFDFLRDETRRTEWDIMS-----SGGTVQSIANLAK
M.truncatula_AC173288_41.5    PNVLFDFLRDETRRTEWDIMS-----NGGTVQSIANLAK
A.thaliana_AT1G79840.1        PALLDFDFRDEARRHEWDALS-----NGARVQSIANLSK
O.sativa_LOC_Os01g55549.1     PTALLDLLRDESRRPEWDMVL-----PGKSVQSRVNLAK
Medicago                     PNRLFNFLRHEKRSRQWDKHS-----QNLISREFAICLT
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01    PESVFNLYCNGQRRGEWDAFV-----CAGAVQELSSVAT
O.sativa_LOC_Os08g19590.2     PRHVYDHLRDEQCHGEWRCLLGEQLHQGNALPYGAPLNGETVPEFYRMVN
O.sativa_LOC_Os08g19590.3     PRHVYDHLRDEQCHGEWRCLLGEQLHQGNALPYGAPLNGETVPEFYRMVN
:                               :

```

```

O.sativa_LOC_Os06g10600.1      -----GLN---ASQNSMLILQESCTDAS-GSLVVYSPIDIPAA
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01    GSNPGNCISLLRGLN---ANQNSMLILQESCTDAS-GALVVYSPIDIPAA
A.thaliana_AT1G17920.1        GSNPGNCISVLRGFNA-SSSQNNMLILQESCIDSSAALVIYTPVDLPAL
A.thaliana_AT1G73360.1        GSHPGNCISVLRGNA-THS-NNMLILQESSTDSS-GAFVVYSPVDLAAL
G.max_Glyma16g34350.1         GSHPGNCISVLRAF---NSSQNNMLILQESVDSS-GSLVVYCPVDLPAI
G.max_Glyma09g29810.1         GPHPGNCISVLRAF---NSSQNNMLILQESVDSS-GSLVVYCPVDLPAI
G.max_Glyma08g06190.1         GLHPGNCISVLRAF---NNSTQNMLILQESCIDSY-GSFVVYCPVDLPSI
G.max_Glyma05g33520.1         GLHPGNCISVLRAF---NNS-QNMLILQESCIDSY-GSLVVYCPVDLPSI
P.trichocarpa_scaff_122.86    GSHPGNCISVLRAY---NTSQNNMLILQESVDSS-GSLVVYCPVDLPAI
P.trichocarpa_scaff_XII.63    GSHPGNCISVLRAY---NTSQNNMLILQESCMDSS-GSLVVYCPVDLPAI
P.trichocarpa_scaff_44.222    GADPGNCISIIIRPF---IPAENNMLILQESCTDSS-VSMVYAPVGI PAM
G.max_Glyma01g01850.1        GSHPGNCISLLRINVASNSSQNVELMLQESCTD-QSGSLVVYTTIDVDAI
G.max_Glyma09g34070.1        GSHPGNCISLLRINVASNSSQNVELMLQENCTD-QSGSIVVYTTIDVDSI
M.truncatula_CT485796_15.4    GSHPGNCISLLRINVASNSSQNVELMLQESCTD-QSGSLVVYTTVDVDSV
P.trichocarpa_scaff_III.687   GSHPGNCISLLRINVASNSSQHVELMLQECCTD-QSGSLVVYTTVDVESI
P.trichocarpa_scaff_29.235    GSHPGNCISLLRINVASNSSQHVDLMLQESCTD-QSGSLVVFTTVDVESI
O.sativa_LOC_Os10g42490.2     GSHPRNCISLLRINAASNSSQNVLELLQESSTHPDGGSLVVFATVDVDAI
G.max_Glyma13g43350.2        -----
G.max_Glyma13g43350.1        GQDRGNAVAIQTIKLEN----SVWILQDSCTNLY-ESMVAYACVDITGI
G.max_Glyma15g01960.1        GQDRGNAVAIQTIKSKEN----SVWILQDSYTNPY-ESMVYASVDITGT
M.truncatula_AC173288_41.5    GQDRGNAVTIQTIKSKEN----NMWILQDSCTNSY-ESMVYAPADITGI
A.thaliana_AT1G79840.1        GQDRGNSVAIQTVKSREK----SIWVLQDSSTNSY-ESVVYAPVDINTT
O.sativa_LOC_Os01g55549.1     GKDRTNCVTAYAARPEEEEEERGGKVVLDVCTNPC-ESTIAYAAIDAAAL
Medicago                     GKHPENRVSLRLAR-----DKNEIFYLQESYKDTT-ASYVIYCPDLEQKL
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01    CPHLHGNAVSVLCPNVTNAANNAMLFLOQTSIDVSRALVVYVVEETMLR
O.sativa_LOC_Os08g19590.2     GLHEGHAIISLISPRE-MGGNISNTLLLQEARTDLS-GSLIVYARTDVNTV
O.sativa_LOC_Os08g19590.3     GLHEGHAIISLISPRE-MGGNISNTLLLQEARTDLS-GSLIVYARTDVNTV

```

FIGUR 21 (Fortsetzung)

O.sativa_LOC_Os06g10600.1	NVVMGSEDPSIPLLPSPGF-TILPDGRPG-----SAAG-AS
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	NVVMGSEDPSGIPLLPSPGF-AILP----G-----SGAG-AS
A.thaliana_AT1G17920.1	NIAMSGQDTSYIPIPLSPGF-AISPDG-----SSKGG-
A.thaliana_AT1G73360.1	NIAMSGEDPSYIPLLPSPGF-TISPDGNGS-----NSEQGGGA
G.max_Glyma16g34350.1	NIAMSGEDPSYIPLLPSPGF-TISPDGQAD-----QDGG-GA
G.max_Glyma09g29810.1	NIAMSGEDPSYIPLLPSPGF-TISPDGQAD-----QDGG-GA
G.max_Glyma08g06190.1	NLAMSGEDPSYIPLLPNGF-TILPDGQPD-----QEGDDGA
G.max_Glyma05g33520.1	NTAVSGEDPSYIPLLPNGF-TILPDGQPD-----QEGD-GA
P.trichocarpa_scaff_122.86	NIAMSGEDPSYIPLLPSPGF-AISPDGRPD-----QGD-GA
P.trichocarpa_scaff_XII.63	NIAMSGEDPSYIPLLPSPGF-TISPDGYPD-----QGD-GA
P.trichocarpa_scaff_44.222	NVAISGDSSIIPIPLSPGF-VISGDGRMD-----TRGTSSS
G.max_Glyma01g01850.1	QLAMSGEDPSCIALLPQGF-KIVPMLSS-----PITDTTN
G.max_Glyma09g34070.1	QLAMSGEDPSCIALLPQGF-KIVPIASS-----ISQQQQL
M.truncatula_CT485796_15.4	QLAMSGQDPSIALLPQGF-MIVPMVSSN-----ADTSSEQGV
P.trichocarpa_scaff_III.687	QLAMSGEDPSCIPLLPQGF-VIVPVVSSS-----AVSEGNM
P.trichocarpa_scaff_29.235	QLAMSGEDPSCIPLLPQGF-VIVPVVSSS-----STVSEGNM
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	QVTMSGEDPSYIPLLPQGF-AIFPATSPSPAAAPTISSTTTTNGNGE
G.max_Glyma13g43350.2	-----CLLSFLTLL-----SILVNNLNG-----
G.max_Glyma13g43350.1	QSVMTGCDSSNLAAILPSPGF-SIIPDGLES-----RPLVISS
G.max_Glyma15g01960.1	QSVMTGCDSSNLAAILPSPGF-SIIPDGLES-----RPLVISS
M.truncatula_AC173288_41.5	QSVMTGCDSSNLAAILPSPGF-SIVSDGLES-----RQMVITS
A.thaliana_AT1G79840.1	QLVLGHDPNSIQILPSPGF-SIIPDGVES-----RPLVITS
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	QPVIAGHDSSGVHLLPCGFISVMPDGLES-----KPAVITA
Medicago	THLATGSDNDDVVAFFSPGF-AIIPGGLPR-----DGDKKG
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	SVLDVSDDTNPLVLLPSPGF-AILPDGHGR-----AHHAAASNS
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	HSIMNSGLNPATVFLVSSGCAILPDCLESFP-----LHPAATAD
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	HSIMNSGLNPATVFLVSSGCAILPDCLESFP-----LHPAATAD

: :

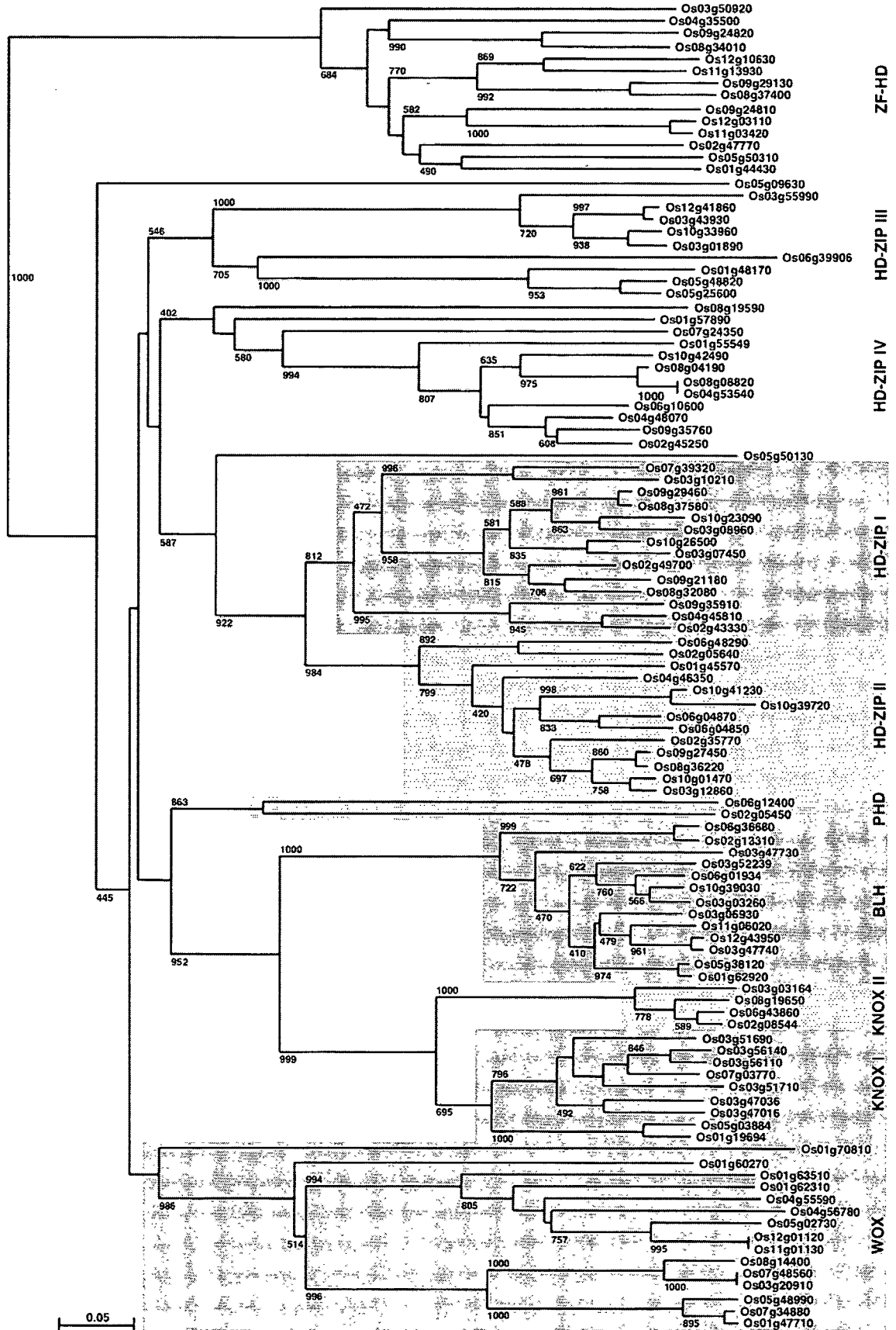
O.sativa_LOC_Os06g10600.1	TSSAGPLAAARGGGGGGA---GGGSVVTVAFQILVS---SLPSSKLNAES
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	SSAVVPPP-----GCVVTVAFQILVS---NLPSSRLNAES
A.thaliana_AT1G17920.1	-----GSLITVGFQIMVS---GLQPAKLNMES
A.thaliana_AT1G73360.1	STSSG---RASAS-----GSLITVGFQIMVS---NLPTAKLNMES
G.max_Glyma16g34350.1	STSTS--SRVMGGGSG---SGGSLITVAFQILVS---SLPSAKLNMES
G.max_Glyma09g29810.1	STSTSTGSRVMGGGSGPG---SGGSLITVAFQILVS---SLPSAKLNMES
G.max_Glyma08g06190.1	STSSNNANRNIVR-----SGGSLVTIAFQILVS---SLPSAKLNMES
G.max_Glyma05g33520.1	STSSN-TNRNIAR-----SGGSLVTIAFQILVS---SLPSAKVNMES
P.trichocarpa_scaff_122.86	STSSN-TQGSTAR-----LSGSLITVAFQILVS---SLPSAKLNLES
P.trichocarpa_scaff_XII.63	STSSN-TQGMAR-----SGGSLITVAFQILVS---SLPSARLNLES
P.trichocarpa_scaff_44.222	STSSTGSNS-----GGSLLTIAFQILVSGSNSSSSTEFNMES
G.max_Glyma01g01850.1	SSEPPISL--NNNS-----GGCLLTMGVQVLAS---TIPSAKLNLS
G.max_Glyma09g34070.1	RWLPP-----DNAG-----AG-----
M.truncatula_CT485796_15.4	TGTPSSTASANAAN-----SGCLLIMGVQVLAS---TIPSAKLNLS
P.trichocarpa_scaff_III.687	PSNSEDGNG--HNN-----SGCLLTVGLQVLAS---TIPSAKLNLS
P.trichocarpa_scaff_29.235	QSNSEDGNGNGHNN-----SGCLLTVGLQALAS---TIPSAKLNFS
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	TSSTPPRNSSSNNNADELLPPNGCLLTVGMQVLAS---AVPSAKLNLS
G.max_Glyma13g43350.2	-----RQEEKNTE-----GGSLFTMAFQILTNA---SPTAKLTLES
G.max_Glyma13g43350.1	-RQEEKNTE-----GGSLFTMAFQILTNA---SPAAKLTMES
G.max_Glyma15g01960.1	-RREEKNTE-----GGSLFTIAFQILTNA---SPTAKLTMES
M.truncatula_AC173288_41.5	-TQDDRNSQ-----GGSLTLALQTLINP---SPAAKLNMES
A.thaliana_AT1G79840.1	SRRGGEASG-----AGSLVTVAFQVPASPS---AAAATLSPDS
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	GNaNSTAND-----ESLLTISFHIIGKAN---NAASIPPE
Medicago	SSALAGLNG-----TAGCLLTAAYQVPVFPN---NLRHPDVQET
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	QAGTSSAAIASRSE-----TGGSFVTVTYQMFFSSQGGAAPASSSIHQ
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	QAGTSSAAIASRSE-----TGGSFVTVTYQMFFSSQGGAAPASSSIHQ
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	QAGTSSAAIASRSE-----TGGSFVTVTYQMFFSSQGGAAPASSSIHQ

FIGUR 21 (Fortsetzung)

O.sativa_LOC_Os06g10600.1	VATVNGLITTTVEQIKAALNCSAHGHHP-----
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	VATVNSLIGTTVQQIKAALNCAGH-----
A.thaliana_AT1G17920.1	METVNNLINTTVHQIKTTLNCPSTA-----
A.thaliana_AT1G73360.1	VETVNNLIGTTVHQIKTALSGETASTTA-----
G.max_Glyma16g34350.1	VTTVNSLIGNTVQHIKAALNCPSS-----
G.max_Glyma09g29810.1	VTTVNSLIGNTVQHIKAALNCPSS-----
G.max_Glyma08g06190.1	VTTVNNLIGSTVQQIKSSLSLCPPLPS-----
G.max_Glyma05g33520.1	VTTVNNLIGSTVQQIKSSLSLCPPT-----
P.trichocarpa_scaff_122.86	VNTVNNLIGTTVQQIKAAMNCPSS-----
P.trichocarpa_scaff_XII.63	VNTVNSLIGTTIQQIKAALSCPSS-----
P.trichocarpa_scaff_44.222	VATVNTLISTTVLKIKAALNCSDDL-----
G.max_Glyma01g01850.1	VTAINNHLNLTQHIKAALNCSSTNS-----HENGFFLCT-EPTK
G.max_Glyma09g34070.1	-SREHDPFC-----KAQPLERHR-----YQSQPLQHL-APD-
M.truncatula_CT485796_15.4	VTAINNHLNLTQHIKAALNCSSTNS-----NDCFVGSCLN-EPTT
P.trichocarpa_scaff_III.687	VTAINNHLNLTQHIKAALNCSSTNS-----TTSSCLDNGNAVGSCLN-EPTA
P.trichocarpa_scaff_29.235	VTAINNHLNLTQHIKAALNCSSTNS-----TTSSCLDNGNAVGSCLN-EPTA
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	VTAINSHVCNAIHQITAAALKSSAG-----GAGGEPAS
G.max_Glyma13g43350.2	-----
G.max_Glyma13g43350.1	VDSVNTLVSCTLRNIRTSLQCEDG-----
G.max_Glyma15g01960.1	VDSVNTLVSCTLRNIRTSLQCEDG-----
M.truncatula_AC173288_41.5	VDSMNSLVSCTLRNIRTSLQCEDG-----
A.thaliana_AT1G79840.1	VESVTNLVSVTLHNIKRSIQIEDC-----
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	VEAVTVLVSSTLRNIRKALGCDSCSEEEF-----
Medicago	VQTIYNMVTETMAAIKDAVSYHSRLNNDQDEVANSLAA-----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	YENAGKRICHAIKKIMDAVGAPIVPI-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	GRDALKKATDIFKVVLDLTLVA-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	GRDALKKATDIFKVVLDLTLVA-----

O.sativa_LOC_Os06g10600.1	-----
Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	-----
A.thaliana_AT1G17920.1	-----
A.thaliana_AT1G73360.1	-----
G.max_Glyma16g34350.1	-----
G.max_Glyma09g29810.1	-----
G.max_Glyma08g06190.1	-----
G.max_Glyma05g33520.1	-----
P.trichocarpa_scaff_122.86	-----
P.trichocarpa_scaff_XII.63	-----
P.trichocarpa_scaff_44.222	-----
G.max_Glyma01g01850.1	Q-----
G.max_Glyma09g34070.1	-----
M.truncatula_CT485796_15.4	SAPSK-
P.trichocarpa_scaff_III.687	ASKQV-
P.trichocarpa_scaff_29.235	APKQQV
O.sativa_LOC_Os10g42490.2	DQ----
G.max_Glyma13g43350.2	-----
G.max_Glyma13g43350.1	-----
G.max_Glyma15g01960.1	-----
M.truncatula_AC173288_41.5	-----
A.thaliana_AT1G79840.1	-----
O.sativa_LOC_Os01g55549.1	-----
Medicago	-----
Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.2	-----
O.sativa_LOC_Os08g19590.3	-----

FIGUR 21 (Fortsetzung)



FIGUR 22

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2		20,1	28,2	30,4	22,1	25,7	25,7	26,7	29,7	26,6
2. MedicagotruncatulaHD	32,1		25,4	26,6	16,6	22,9	24,4	21,8	22,8	24,2
3. A.thaliana_AT5G52170.1	47,3	41,2		44,7	30,4	36,0	36,9	42,6	45,7	39,1
4. A.thaliana_AT4G04890.1	48,0	40,6	62,6		30,4	37,7	47,6	35,6	48,8	44,7
5. A.thaliana_AT4G00730.2	33,3	31,6	46,9	48,0		24,9	25,8	25,5	41,6	27,9
6. A.thaliana_AT1G79840.1	45,4	38,3	55,8	60,8	40,6		33,8	30,5	37,1	33,0
7. A.thaliana_AT2G32370.1	43,8	38,6	56,4	66,2	41,7	53,0		31,2	38,3	38,2
8. A.thaliana_AT4G25530.1	41,5	39,2	61,1	53,3	42,3	50,5	49,0		34,9	31,6
9. A.thaliana_AT3G61150.1	48,5	35,9	61,6	66,0	52,8	56,6	55,9	52,6		40,4
10. A.thaliana_AT1G17920.1	44,9	41,6	61,3	61,9	44,5	54,9	56,3	54,0	58,3	
11. A.thaliana_AT1G73360.1	46,1	41,0	58,9	64,5	43,4	56,1	58,2	51,0	58,2	81,7
12. A.thaliana_AT1G05230.2	45,9	41,9	63,7	82,6	46,6	57,7	72,1	53,7	63,0	63,8
13. A.thaliana_AT1G05230.3	46,1	42,4	64,0	82,4	46,7	58,0	72,1	53,7	63,0	64,0
14. A.thaliana_AT4G00730.1	47,0	36,2	61,2	68,1	70,6	57,5	56,7	53,6	78,0	57,5
15. A.thaliana_AT4G21750.2	49,5	40,2	61,2	92,3	45,5	60,9	64,6	53,3	65,7	60,9
16. G.max_Glyma16g34350.1	46,8	41,2	60,0	67,8	44,0	59,3	58,3	54,2	60,8	77,0
17. G.max_Glyma10g38280.1	50,6	38,3	69,5	71,0	50,9	61,1	59,4	56,7	71,5	62,1
18. G.max_Glyma15g01960.1	45,9	38,7	57,3	61,8	43,3	79,2	54,9	50,5	59,4	55,3
19. G.max_Glyma09g40130.1	49,5	36,0	63,0	67,4	55,0	58,2	56,5	52,7	79,4	57,7
20. G.max_Glyma03g01860.1	48,7	35,3	61,6	65,6	52,5	57,7	54,3	51,3	76,6	56,8
21. G.max_Glyma13g38430.1	48,5	39,4	60,9	81,7	46,1	58,4	66,7	50,6	65,3	58,4
22. G.max_Glyma08g06190.1	48,0	41,6	59,1	68,2	43,6	59,2	57,9	54,1	60,0	74,9
23. G.max_Glyma09g29810.1	47,2	40,7	60,1	67,4	44,2	59,4	58,3	54,0	61,1	76,3
24. G.max_Glyma20g29580.1	49,9	39,7	69,7	70,4	50,5	59,4	59,9	57,0	69,8	62,9
25. G.max_Glyma11g00570.1	49,0	41,4	63,7	87,1	47,5	59,0	66,9	53,4	64,0	61,9
26. G.max_Glyma16g32130.1	49,0	39,5	67,4	69,6	50,3	58,8	57,8	55,7	67,0	61,2
27. G.max_Glyma06g46000.1	47,6	41,3	65,3	85,9	46,9	58,9	70,1	53,8	63,2	63,0
28. G.max_Glyma12g32050.1	48,7	38,9	61,1	81,7	46,1	58,0	66,8	49,8	65,2	58,5
29. G.max_Glyma12g10710.1	47,3	41,3	64,6	85,3	47,0	58,6	70,0	54,5	64,4	63,4
30. G.max_Glyma01g45070.1	48,9	40,6	63,3	87,2	47,9	59,6	67,3	52,9	64,1	62,0

FIGUR 23

31. G.max_Glyma05g33520.1	47,1	41,8	60,0	67,3	44,0	58,8	58,3	54,6	58,9	76,3
32. G.max_Glyma01g01850.1	46,8	34,8	56,3	65,2	44,5	54,6	53,7	48,2	60,1	58,7
33. G.max_Glyma13g43350.2	38,8	36,4	50,9	50,9	51,5	64,7	46,9	45,8	47,3	48,8
34. G.max_Glyma09g26600.1	49,5	38,4	67,0	70,4	50,3	58,1	57,8	56,7	67,1	61,3
35. G.max_Glyma10g39720.2	47,2	39,9	59,1	75,0	41,9	59,4	60,7	51,9	58,5	55,9
36. G.max_Glyma13g43350.1	46,6	37,7	56,7	61,4	42,3	77,8	54,1	50,8	59,2	54,6
37. G.max_Glyma18g45970.1	50,8	38,6	65,7	70,0	54,9	60,2	58,9	54,1	78,1	60,5
38. G.max_Glyma07g08340.1	49,6	37,9	61,9	67,2	53,1	59,2	55,7	51,8	77,5	57,7
39. G.max_Glyma09g34070.1	45,8	34,7	55,0	64,9	46,5	54,8	53,0	47,1	57,7	58,2
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	46,2	38,9	58,5	73,6	43,8	56,8	61,1	50,9	64,7	56,7
41. M.truncatula_AC202466_12.4	42,4	46,8	57,5	73,6	41,7	48,9	60,0	50,7	54,7	58,8
42. M.truncatula_AC148764_30.5	52,5	38,2	66,5	71,3	54,2	61,1	59,4	56,5	76,1	61,7
43. M.truncatula_AC123975_4.5	45,9	40,4	57,6	69,6	42,3	54,9	57,2	50,6	56,1	56,4
44. M.truncatula_AC173288_41.5	46,3	37,9	55,5	61,5	42,1	76,8	54,4	49,5	59,7	54,9
45. M.truncatula_CT485796_15.4	47,2	34,7	54,6	61,8	43,3	52,9	52,6	46,8	60,6	58,4
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	47,3	38,4	58,9	78,8	44,9	59,2	65,1	51,9	65,8	57,5
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	49,9	36,7	62,3	67,7	49,9	58,8	56,3	52,4	74,1	57,2
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	42,9	34,5	56,3	58,8	53,2	52,9	52,1	50,1	58,9	51,6
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	50,2	33,4	57,6	61,2	47,9	53,3	52,5	47,4	69,7	52,0
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	41,7	31,1	47,8	55,6	37,3	49,9	48,1	41,6	54,4	50,0
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	47,7	38,6	60,3	80,0	45,7	59,7	64,0	50,9	66,5	58,3
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	43,4	37,3	58,4	62,0	44,0	54,4	53,5	50,2	57,9	66,7
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	44,7	32,8	46,7	51,5	37,5	62,3	45,8	43,8	54,3	48,0
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	47,8	38,7	60,3	80,3	45,7	58,8	64,1	51,0	66,1	58,6
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	48,4	36,6	59,6	64,9	46,3	58,2	55,2	51,9	70,4	54,8
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	99,7	31,6	47,6	48,1	33,4	45,4	44,0	42,1	48,3	44,8
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	50,3	33,4	57,6	61,1	47,8	53,3	52,4	47,6	69,6	52,1
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	46,9	41,1	61,5	79,7	45,3	60,7	64,6	53,3	65,0	61,7
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	48,0	36,4	59,0	64,3	45,9	57,7	54,7	51,4	70,0	54,5
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	44,9	35,1	53,5	60,9	42,6	53,5	51,5	46,1	61,1	56,5

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	45,5	35,3	54,2	62,2	43,0	52,1	53,2	45,0	60,8	56,7
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	51,6	37,5	64,7	69,4	55,1	59,9	57,3	53,9	77,6	60,1
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	46,1	42,4	61,7	67,4	45,8	58,0	58,3	54,7	60,6	78,5
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	49,0	38,8	68,0	67,2	48,4	59,0	56,6	56,1	67,1	60,2
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	48,9	40,3	60,3	82,9	45,6	60,4	68,6	51,5	64,7	60,6
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	46,4	41,8	60,5	66,8	44,0	57,7	57,2	53,4	59,3	77,6
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	47,5	43,3	61,9	81,6	44,5	58,5	64,7	54,8	61,4	62,6
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	49,2	39,5	67,0	66,3	46,8	58,5	56,9	55,2	67,0	58,7
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	51,4	37,3	64,4	68,5	54,6	59,6	57,6	53,5	78,1	60,0
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	43,6	39,6	54,5	60,6	39,0	54,5	52,4	51,3	53,5	65,2
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	46,7	40,6	61,1	83,2	46,6	60,3	69,1	51,8	65,1	60,8
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	46,9	41,8	64,0	86,9	47,1	58,6	67,2	54,2	64,1	62,1
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	48,6	35,4	62,7	66,9	54,4	57,6	56,0	51,2	78,9	58,1
74. P.trichocarpa_HB1-like	18,3	23,5	21,7	20,5	28,1	21,2	20,7	22,3	19,6	20,4
75. T.aestivum_TC277292	24,9	32,1	30,6	28,7	23,5	26,6	25,8	28,0	27,2	27,5
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	46,7	39,1	62,9	81,0	44,6	58,9	66,3	53,4	63,9	61,5
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	45,7	33,3	54,5	57,6	42,3	52,6	51,3	47,4	63,8	51,4
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	49,0	34,4	58,2	61,3	47,9	53,2	52,5	48,0	69,6	52,7
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	48,5	40,4	60,6	77,1	42,5	58,0	60,6	51,8	65,0	59,4
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	48,1	38,2	57,7	76,9	44,2	57,1	62,0	50,8	65,7	57,4
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	46,8	38,0	58,4	75,2	42,4	56,7	62,8	49,9	64,6	55,9
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	43,1	34,9	58,7	60,6	56,8	54,9	53,4	51,0	61,5	54,6
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	46,7	36,6	55,3	73,6	42,4	54,7	59,4	48,7	64,0	54,9
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	47,6	38,6	58,6	79,2	44,3	58,0	62,5	50,8	64,6	57,7
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	47,5	38,3	58,9	75,6	42,5	56,9	63,2	49,6	64,4	56,1
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	48,5	37,7	49,7	50,7	35,9	48,4	44,8	44,9	51,1	47,1
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	47,2	38,6	58,3	77,9	44,1	58,4	62,2	50,0	65,7	56,9
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	46,6	38,9	58,3	63,0	42,1	55,7	54,9	50,4	59,7	68,2
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	49,3	37,5	61,6	67,5	50,2	59,5	56,9	52,4	73,4	57,7

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	27,5	29,1	29,2	30,3	30,3	29,1	32,2	26,0	31,0	30,6
2. Medicago truncatulaHD	24,2	26,7	26,6	21,9	26,4	25,5	23,2	23,9	22,9	22,8
3. A.thaliana_AT5G52170.1	39,4	43,1	43,4	47,4	42,7	41,1	53,3	38,4	48,7	47,6
4. A.thaliana_AT4G04890.1	46,3	70,8	70,6	48,8	87,2	49,1	51,4	40,5	50,8	49,2
5. A.thaliana_AT4G00730.2	27,5	29,9	30,0	70,0	30,0	29,5	37,9	27,1	45,6	43,0
6. A.thaliana_AT1G79840.1	35,1	37,8	37,6	37,5	39,1	35,3	37,5	65,2	38,8	38,8
7. A.thaliana_AT2G32370.1	38,5	54,6	54,7	38,4	46,0	37,6	39,7	35,7	40,4	39,3
8. A.thaliana_AT4G25530.1	32,6	35,0	35,2	37,1	35,4	34,8	38,9	31,0	36,7	36,0
9. A.thaliana_AT3G61150.1	40,4	46,5	46,5	62,8	48,0	42,2	57,6	40,1	64,9	63,8
10. A.thaliana_AT1G17920.1	70,4	43,7	43,7	40,6	44,0	63,5	41,3	35,0	40,0	39,5
11. A.thaliana_AT1G73360.1		44,4	44,5	40,7	45,6	66,1	42,8	34,1	43,4	41,7
12. A.thaliana_AT1G05230.2	64,8		99,7	47,5	69,4	47,4	52,4	40,8	49,8	48,8
13. A.thaliana_AT1G05230.3	64,8	99,7		47,5	69,1	47,6	52,3	40,9	49,8	48,8
14. A.thaliana_AT4G00730.1	58,4	65,0	64,8		48,5	44,1	57,8	41,2	68,1	65,3
15. A.thaliana_AT4G21750.2	62,3	81,6	81,4	67,6		47,3	50,8	41,4	49,0	49,9
16. G.max_Glyma16g34350.1	79,2	68,2	68,4	60,5	65,5		44,8	36,9	45,4	44,7
17. G.max_Glyma10g38280.1	62,1	70,6	70,4	72,4	70,3	65,2		40,8	62,3	59,3
18. G.max_Glyma15g01960.1	54,9	59,7	59,8	60,8	62,3	58,9	62,8		42,1	42,5
19. G.max_Glyma09g40130.1	59,3	65,6	65,6	80,6	67,3	61,7	76,1	61,6		80,0
20. G.max_Glyma03g01860.1	57,1	63,6	63,6	77,6	66,0	61,0	72,8	61,3	88,7	
21. G.max_Glyma13g38430.1	60,3	82,5	82,2	68,1	81,2	63,1	70,2	60,6	68,5	67,9
22. G.max_Glyma08g06190.1	78,1	67,5	67,5	60,0	67,1	88,6	64,0	59,0	62,3	61,1
23. G.max_Glyma09g29810.1	79,4	68,7	68,7	60,6	66,5	98,2	65,5	58,6	62,2	61,1
24. G.max_Glyma20g29580.1	64,1	71,5	71,4	70,7	68,6	66,0	96,1	62,3	74,4	71,5
25. G.max_Glyma11g00570.1	63,9	81,7	81,4	65,3	85,4	65,4	70,3	61,7	65,6	64,4
26. G.max_Glyma16g32130.1	60,8	68,2	68,1	67,5	67,2	62,7	84,8	58,3	70,2	67,9
27. G.max_Glyma06g46000.1	65,3	88,5	88,2	65,6	82,5	67,8	72,2	60,7	67,7	65,7
28. G.max_Glyma12g32050.1	60,3	82,3	82,1	68,2	81,4	64,0	69,9	60,2	68,2	67,5
29. G.max_Glyma12g10710.1	65,9	88,3	88,0	66,2	82,7	67,8	72,6	61,0	67,2	65,7
30. G.max_Glyma01g45070.1	64,2	82,2	81,9	66,0	85,6	66,5	70,4	61,0	66,3	64,0

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	78,3	67,5	67,7	59,6	65,6	90,3	63,6	58,6	61,7	60,7
32. G.max_Glyma01g01850.1	60,0	63,4	63,3	61,5	64,8	63,9	61,5	55,6	61,8	60,8
33. G.max_Glyma13g43350.2	48,1	51,3	51,5	49,6	51,3	50,7	51,0	78,7	50,1	50,7
34. G.max_Glyma09g26600.1	60,7	69,1	68,9	67,5	68,2	63,0	83,6	58,6	70,0	67,5
35. G.max_Glyma10g39720.2	57,2	71,1	70,8	59,9	73,6	59,2	63,2	60,6	60,0	58,3
36. G.max_Glyma13g43350.1	55,5	59,8	60,0	61,3	63,5	58,7	62,3	95,3	61,5	62,3
37. G.max_Glyma18g45970.1	62,2	67,9	67,9	78,4	70,5	63,8	78,4	63,5	90,6	84,2
38. G.max_Glyma07g08340.1	58,5	64,8	64,8	79,1	67,2	61,6	74,8	61,3	86,7	93,8
39. G.max_Glyma09g34070.1	59,7	63,5	63,3	58,1	63,1	63,1	60,6	55,5	58,4	58,1
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	59,4	72,9	72,7	66,1	74,6	60,4	65,1	59,2	66,5	65,3
41. M.truncatula_AC202466_12.4	57,8	76,1	76,1	55,2	72,0	61,3	60,3	51,9	57,3	54,6
42. M.truncatula_AC148764_30.5	61,5	68,8	68,8	77,4	70,1	64,7	80,1	65,2	85,4	81,6
43. M.truncatula_AC123975_4.5	58,7	65,9	65,7	57,5	68,9	58,8	59,7	56,7	56,5	55,3
44. M.truncatula_AC173288_41.5	55,3	59,2	59,4	61,5	62,2	57,8	62,4	89,7	61,1	60,1
45. M.truncatula_CT485796_15.4	59,3	62,0	61,9	60,6	61,0	61,3	59,8	54,7	60,6	60,1
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	61,0	77,3	77,0	67,0	78,2	63,4	68,0	59,1	66,0	65,3
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	58,5	66,2	66,2	74,5	67,0	61,6	73,9	60,8	78,5	74,7
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	52,4	58,1	58,3	58,0	57,5	54,5	61,5	53,7	61,1	59,3
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	55,8	59,7	59,6	69,9	61,3	56,6	68,4	54,5	74,5	73,9
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	53,6	55,4	55,2	53,5	54,9	54,8	54,4	51,5	55,8	56,0
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	60,8	79,1	78,8	67,8	80,6	63,6	69,3	59,9	66,7	65,7
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	66,6	61,3	61,5	57,2	61,2	73,7	61,5	54,2	57,6	55,6
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	49,9	50,7	50,9	53,4	52,2	51,6	52,7	65,9	55,2	54,9
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	60,7	79,3	79,0	67,7	80,9	63,6	69,4	60,1	66,5	65,0
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	56,1	62,5	62,7	69,5	65,0	58,4	68,0	59,9	72,8	70,7
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	45,9	46,0	46,2	47,1	49,5	46,6	50,9	45,9	49,3	48,9
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	55,7	59,6	59,5	69,8	61,2	56,5	68,3	54,6	74,4	73,9
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	62,8	79,3	79,0	65,2	79,0	65,8	70,0	61,9	66,7	64,1
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	55,7	62,0	62,1	68,9	64,5	57,9	67,4	59,4	72,8	70,7
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	59,5	60,3	60,2	60,4	59,7	60,9	59,8	53,8	62,2	60,2

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	60,9	61,4	61,3	60,2	61,9	61,3	59,3	54,0	61,1	60,2
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	60,6	67,1	67,1	80,9	69,5	63,7	79,1	61,9	86,6	84,9
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	80,2	67,8	68,0	60,7	65,7	89,4	65,2	57,7	61,6	61,3
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	60,4	66,6	66,6	68,0	66,9	62,8	80,2	61,5	70,9	67,8
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	62,5	85,9	85,7	67,1	83,3	66,0	71,2	62,5	68,8	66,1
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	80,2	67,3	67,5	59,1	65,2	89,1	65,2	57,7	61,6	61,1
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	63,0	79,5	79,4	62,3	80,7	67,0	67,6	60,3	64,4	61,8
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	59,7	65,8	65,9	67,2	67,2	61,4	78,5	61,0	70,1	67,8
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	59,5	66,3	66,3	81,0	69,0	63,7	78,7	62,3	88,3	85,6
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	66,3	61,0	61,2	52,5	58,9	70,5	56,3	56,1	55,1	53,7
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	63,3	85,9	85,6	67,2	82,7	66,2	71,8	62,5	69,5	66,6
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	63,7	83,2	83,1	65,2	85,4	67,2	70,0	61,3	67,2	64,7
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	58,6	66,0	66,0	80,1	67,2	61,6	75,6	61,3	89,8	88,7
74. P.trichocarpa_HB1-like	19,3	19,4	19,9	20,4	19,3	20,2	20,4	21,3	20,2	20,2
75. T.aestivum_TC277292	25,6	28,2	28,2	28,2	28,7	27,0	30,9	26,9	29,3	28,5
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	63,1	81,0	80,7	64,2	79,0	68,2	71,1	61,0	64,9	63,5
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	52,5	56,8	56,8	62,9	57,9	54,6	61,4	54,5	68,0	65,8
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	56,1	60,5	60,4	69,5	61,5	56,3	67,8	54,8	73,2	73,6
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	61,1	73,9	73,6	64,5	77,6	62,3	69,2	59,0	65,6	63,4
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	61,4	75,7	75,5	66,7	77,1	63,0	67,7	59,7	66,3	66,3
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	57,5	75,3	75,1	66,3	76,7	62,0	66,7	57,9	67,3	65,6
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	55,1	61,3	61,8	62,8	58,9	57,5	66,4	54,5	66,6	62,2
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	58,8	72,5	72,3	64,5	73,9	60,4	64,8	57,2	65,5	66,3
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	58,9	77,1	76,8	67,1	79,1	62,8	68,4	58,9	66,5	64,9
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	57,8	75,8	75,6	66,2	77,1	62,2	67,0	58,5	66,6	65,4
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	49,3	48,5	48,4	49,3	50,5	50,0	52,2	49,1	50,1	49,0
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	58,4	76,6	76,4	67,5	77,8	62,4	67,8	59,5	66,6	65,5
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	69,9	63,9	63,9	58,4	61,9	74,5	63,8	55,9	59,5	59,0
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	59,7	66,0	66,0	75,5	67,4	61,9	73,3	60,4	78,7	73,5

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	29,8	28,5	29,2	32,1	31,1	31,0	30,7	30,1	30,4	30,4
2. MedicagotruncatulaHD	26,2	26,4	25,7	24,2	27,3	22,3	27,0	26,2	27,0	27,0
3. A.thaliana_AT5G52170.1	42,3	39,5	41,6	52,4	44,5	47,6	45,1	42,4	44,8	44,1
4. A.thaliana_AT4G04890.1	70,2	47,4	48,9	51,1	76,8	46,9	74,8	70,2	73,9	76,4
5. A.thaliana_AT4G00730.2	32,3	27,4	29,3	37,2	29,6	35,7	31,2	32,2	31,3	30,2
6. A.thaliana_AT1G79840.1	40,3	35,9	35,7	36,6	38,6	37,1	40,0	39,5	40,2	38,4
7. A.thaliana_AT2G32370.1	50,6	37,3	37,9	39,3	48,1	36,3	52,0	50,4	51,7	48,5
8. A.thaliana_AT4G25530.1	33,8	34,5	34,8	39,2	35,0	36,4	35,6	33,7	36,3	35,0
9. A.thaliana_AT3G61150.1	49,3	40,8	42,4	57,2	46,7	49,3	48,0	49,1	48,9	45,7
10. A.thaliana_AT1G17920.1	41,6	58,6	62,7	42,1	44,2	39,2	44,4	42,0	44,6	43,9
11. A.thaliana_AT1G73360.1	43,5	62,1	65,5	44,0	45,2	39,0	46,0	43,2	46,1	45,4
12. A.thaliana_AT1G05230.2	74,8	46,6	47,5	51,7	69,8	47,5	78,8	74,5	78,9	69,7
13. A.thaliana_AT1G05230.3	74,6	46,7	47,6	51,6	69,5	47,6	78,6	74,2	78,6	69,5
14. A.thaliana_AT4G00730.1	50,7	41,9	43,9	56,8	46,9	50,5	49,3	50,6	49,8	47,2
15. A.thaliana_AT4G21750.2	68,3	46,8	48,4	49,6	75,7	46,4	72,1	68,2	72,1	75,0
16. G.max_Glyma16g34350.1	46,2	79,1	97,5	45,6	46,8	41,7	49,3	46,6	48,9	47,6
17. G.max_Glyma10g38280.1	52,1	43,8	45,3	94,4	50,1	70,7	54,0	51,8	54,5	49,7
18. G.max_Glyma15g01960.1	42,2	36,4	36,6	40,3	40,3	38,4	41,9	42,3	42,3	40,2
19. G.max_Glyma09g40130.1	52,8	43,6	45,3	61,5	48,2	55,0	51,9	52,3	51,7	49,0
20. G.max_Glyma03g01860.1	52,8	42,7	45,0	58,7	48,0	51,4	51,4	52,2	51,2	48,5
21. G.max_Glyma13g38430.1		45,4	46,1	51,3	68,4	48,2	86,4	98,3	86,9	68,7
22. G.max_Glyma08g06190.1	62,7		79,8	44,3	45,4	39,5	48,6	45,3	48,3	46,6
23. G.max_Glyma09g29810.1	63,5	89,1		46,3	47,1	41,5	49,4	46,4	48,9	48,0
24. G.max_Glyma20g29580.1	68,8	65,8	66,3		49,8	68,9	53,0	50,3	53,2	50,0
25. G.max_Glyma11g00570.1	79,3	65,4	65,8	71,5		45,8	72,8	68,0	73,0	95,6
26. G.max_Glyma16g32130.1	66,8	60,4	62,0	83,0	67,1		49,4	47,3	49,5	46,1
27. G.max_Glyma06g46000.1	90,1	67,5	68,6	72,6	84,6	69,8		86,4	97,9	72,9
28. G.max_Glyma12g32050.1	98,8	63,0	64,4	67,6	79,4	66,2	89,8		86,8	68,3
29. G.max_Glyma12g10710.1	90,1	67,7	68,1	72,9	84,4	69,3	98,5	89,8		72,9
30. G.max_Glyma01g45070.1	79,0	66,3	67,0	71,8	97,0	66,6	84,5	79,1	84,4	

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	61,7	96,4	89,6	65,6	65,0	60,6	67,1	61,8	67,5	65,7
32. G.max_Glyma01g01850.1	63,4	62,9	63,4	60,7	61,6	59,8	62,4	63,4	62,4	62,5
33. G.max_Glyma13g43350.2	51,0	51,0	50,6	51,2	52,3	48,9	51,7	50,8	52,1	52,8
34. G.max_Glyma09g26600.1	67,0	61,7	63,2	83,2	68,0	94,7	71,1	66,8	70,4	68,0
35. G.max_Glyma10g39720.2	69,8	60,5	59,5	63,6	75,4	61,1	72,0	69,8	72,7	75,9
36. G.max_Glyma13g43350.1	61,5	59,1	58,7	61,5	61,8	57,9	60,5	61,3	60,8	61,9
37. G.max_Glyma18g45970.1	70,3	64,2	64,0	76,6	68,8	73,1	70,4	70,3	70,2	68,7
38. G.max_Glyma07g08340.1	69,5	62,3	61,8	73,5	64,9	69,4	66,7	69,5	66,9	65,4
39. G.max_Glyma09g34070.1	60,6	62,1	63,1	60,1	61,0	59,3	61,8	60,6	62,4	62,0
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	76,8	59,4	60,7	63,7	72,7	62,1	74,6	76,8	74,9	72,6
41. M.truncatula_AC202466_12.4	74,0	60,2	61,6	61,7	72,1	56,3	80,2	74,0	80,5	72,2
42. M.truncatula_AC148764_30.5	68,2	65,1	65,0	79,2	70,2	74,4	70,1	68,4	70,1	71,0
43. M.truncatula_AC123975_4.5	63,4	59,4	58,6	62,1	72,0	58,2	67,5	63,8	67,7	72,2
44. M.truncatula_AC173288_41.5	60,4	58,9	57,8	60,9	59,5	58,1	60,5	59,7	60,8	59,0
45. M.truncatula_CT485796_15.4	62,2	62,0	61,7	59,1	59,7	58,7	59,9	62,2	60,7	59,8
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	81,5	63,3	63,5	66,3	77,9	64,0	79,0	81,6	79,0	77,6
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	68,0	61,8	62,7	72,8	65,2	69,9	66,8	67,7	67,7	65,4
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	56,5	54,1	54,0	61,9	57,9	61,2	58,6	55,2	58,9	58,5
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	62,9	55,6	56,9	66,7	60,7	64,6	60,8	62,7	61,4	60,0
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	57,1	54,6	55,2	53,9	54,5	52,2	55,8	57,3	56,0	54,2
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	84,8	64,3	64,2	68,0	77,9	66,5	80,4	84,8	80,4	77,9
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	57,7	71,8	73,4	62,5	61,6	57,8	61,0	57,7	61,6	62,1
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	52,3	51,6	51,6	52,6	50,9	51,7	51,1	52,8	51,2	49,8
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	83,5	63,8	64,0	68,1	78,2	66,2	80,7	83,7	80,7	78,2
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	65,4	58,2	58,3	67,1	63,4	65,9	63,5	64,1	63,8	63,9
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	48,5	48,2	47,2	50,0	49,0	49,2	47,6	48,7	47,3	48,1
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	62,8	55,5	56,9	66,6	60,7	64,6	60,8	62,6	61,4	60,0
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	78,2	65,4	66,2	69,2	80,0	67,4	80,1	78,1	80,6	79,3
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	64,8	57,7	57,8	66,5	62,9	65,3	63,0	63,6	63,2	63,3
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	60,9	61,8	61,8	58,6	60,4	57,7	59,8	61,1	59,7	60,1

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	62,1	61,8	61,6	58,7	60,8	57,6	60,4	62,3	60,3	61,1
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	71,8	63,2	63,9	77,3	69,7	73,8	69,9	71,6	70,0	70,3
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	64,0	86,1	88,8	66,2	66,4	62,4	67,8	63,9	68,0	67,4
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	65,7	62,6	63,6	78,3	66,6	75,5	68,0	65,4	68,0	67,1
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	90,7	64,9	66,2	69,9	81,1	67,0	88,8	90,5	89,0	80,7
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	63,6	86,3	88,1	66,6	65,8	62,0	67,8	63,5	68,4	67,2
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	75,8	67,3	67,6	68,8	84,0	63,7	81,9	76,4	81,8	84,3
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	65,7	60,2	62,1	76,4	65,4	73,4	67,6	65,9	67,1	65,7
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	70,9	63,0	63,7	77,1	68,3	73,1	68,7	70,8	69,0	69,0
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	57,4	67,5	70,2	57,7	59,8	57,7	60,4	57,4	60,4	60,3
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	91,4	65,4	66,9	70,2	81,8	67,4	89,7	91,4	89,7	81,8
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	79,5	67,8	67,9	71,2	87,8	68,1	85,3	80,2	85,6	88,6
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	67,7	61,6	61,5	73,9	65,2	69,1	67,4	67,7	67,5	66,3
74. P.trichocarpa_HB1-like	21,3	20,2	20,2	19,4	22,0	19,8	20,2	21,3	19,9	20,9
75. T.aestivum_TC277292	26,0	26,9	27,8	31,4	28,3	29,6	27,8	26,1	29,4	28,6
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	79,3	66,6	68,2	71,0	79,2	68,2	83,7	79,3	84,0	79,5
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	59,2	54,2	54,6	60,8	56,7	59,9	57,5	58,9	57,8	56,8
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	63,2	55,7	57,1	66,5	59,6	63,6	61,0	63,3	61,5	59,9
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	76,4	62,7	62,5	67,6	75,9	65,9	77,1	76,6	77,4	75,4
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	80,6	62,1	63,0	66,5	75,1	64,4	77,4	81,1	77,6	75,1
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	80,2	59,5	61,8	66,3	74,8	63,6	77,1	79,9	76,7	73,9
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	59,5	57,1	58,0	66,2	60,2	64,8	60,9	59,4	62,0	60,9
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	77,2	59,5	60,4	63,7	71,9	61,7	74,1	77,7	74,3	71,9
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	80,6	61,7	62,8	67,6	77,3	64,6	78,0	80,6	78,2	76,8
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	80,6	59,8	62,0	66,7	75,2	63,8	77,4	80,3	77,1	74,3
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	49,0	50,5	50,5	51,9	48,4	51,6	50,5	49,2	50,9	49,2
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	81,4	60,9	62,6	66,5	76,0	63,8	77,5	81,2	77,1	75,8
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	60,1	72,5	74,2	65,2	63,3	58,2	64,5	60,6	65,0	63,9
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	69,1	61,4	62,6	71,7	66,1	69,4	66,7	69,0	67,6	66,6

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	28,1	27,2	22,4	30,9	28,6	25,9	30,4	30,4	27,1	27,9
2. MedicagotruncatulaHD	25,3	22,0	19,4	22,0	26,4	23,5	24,3	24,3	20,0	25,8
3. A.thaliana_AT5G52170.1	40,6	37,4	30,8	48,4	39,2	37,5	50,9	46,8	35,7	40,7
4. A.thaliana_AT4G04890.1	47,3	44,8	32,9	48,4	58,6	40,3	51,9	49,4	43,3	61,0
5. A.thaliana_AT4G00730.2	27,5	29,2	33,1	35,2	26,3	27,3	43,8	42,3	30,6	31,9
6. A.thaliana_AT1G79840.1	35,7	34,9	51,8	37,0	35,9	64,2	39,6	38,3	34,5	37,3
7. A.thaliana_AT2G32370.1	37,2	35,1	30,8	36,9	43,0	35,5	41,8	39,1	34,2	45,1
8. A.thaliana_AT4G25530.1	34,0	30,2	25,0	36,0	34,0	30,2	37,5	35,8	29,6	32,8
9. A.thaliana_AT3G61150.1	40,4	39,4	32,0	49,7	41,7	39,6	65,3	63,4	37,5	48,0
10. A.thaliana_AT1G17920.1	59,1	42,1	28,8	39,2	36,3	34,0	41,5	38,8	40,3	40,0
11. A.thaliana_AT1G73360.1	61,7	42,9	29,2	39,3	37,9	34,9	44,1	41,5	41,5	41,3
12. A.thaliana_AT1G05230.2	46,7	42,8	34,1	47,9	57,4	41,0	51,1	48,7	41,9	61,3
13. A.thaliana_AT1G05230.3	46,8	42,6	34,2	48,2	57,1	41,1	51,1	48,7	41,6	61,2
14. A.thaliana_AT4G00730.1	41,5	40,1	33,9	50,5	42,2	41,3	66,3	64,8	38,6	49,0
15. A.thaliana_AT4G21750.2	45,9	42,6	33,6	48,0	57,5	41,3	50,9	49,7	41,5	59,6
16. G.max_Glyma16g34350.1	80,3	47,6	29,2	42,8	41,5	35,7	45,0	43,8	45,5	43,2
17. G.max_Glyma10g38280.1	43,7	40,1	33,3	69,6	45,0	40,6	63,0	59,8	39,3	47,9
18. G.max_Glyma15g01960.1	36,0	35,6	76,2	38,5	37,2	94,4	43,0	41,4	34,7	39,7
19. G.max_Glyma09g40130.1	43,9	41,5	34,3	54,3	43,5	41,6	88,4	77,2	40,2	49,3
20. G.max_Glyma03g01860.1	42,9	41,1	33,9	51,8	42,7	42,0	78,8	92,2	40,3	49,9
21. G.max_Glyma13g38430.1	44,7	43,4	35,3	48,2	55,8	42,2	53,9	52,5	41,7	64,4
22. G.max_Glyma08g06190.1	93,9	45,8	30,0	40,2	42,3	36,5	43,3	41,9	43,7	41,4
23. G.max_Glyma09g29810.1	80,4	47,7	29,9	43,0	41,8	36,2	44,8	44,1	45,6	43,6
24. G.max_Glyma20g29580.1	44,6	39,9	32,8	68,8	44,1	39,9	61,9	59,6	38,9	46,9
25. G.max_Glyma11g00570.1	45,5	42,6	32,7	46,7	60,3	39,8	50,4	48,3	41,0	61,0
26. G.max_Glyma16g32130.1	39,7	40,8	32,8	90,3	41,8	37,9	54,8	51,2	39,9	43,1
27. G.max_Glyma06g46000.1	48,5	44,2	34,7	49,6	58,5	42,0	53,4	51,6	42,0	62,1
28. G.max_Glyma12g32050.1	44,5	43,5	36,0	47,7	56,1	42,9	53,8	52,4	41,7	64,6
29. G.max_Glyma12g10710.1	48,1	44,0	35,0	49,4	58,9	42,4	53,6	51,9	42,0	62,2
30. G.max_Glyma01g45070.1	46,4	43,0	33,0	47,0	60,5	39,9	50,8	48,8	41,2	61,0

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1		45,7	29,1	41,0	40,6	35,3	42,8	42,2	43,5	41,3
32. G.max_Glyma01g01850.1	63,4		31,1	39,3	37,7	36,6	42,2	40,3	86,1	41,1
33. G.max_Glyma13g43350.2	50,8	47,8		32,6	30,4	80,8	36,0	33,0	31,9	34,2
34. G.max_Glyma09g26600.1	62,3	59,5	50,2		41,8	38,1	55,1	51,5	39,8	43,9
35. G.max_Glyma10g39720.2	58,9	57,8	49,3	62,4		37,0	45,5	42,9	36,6	50,3
36. G.max_Glyma13g43350.1	58,1	57,3	81,8	58,7	59,3		43,3	41,5	35,1	40,6
37. G.max_Glyma18g45970.1	63,4	63,7	52,7	73,1	62,7	64,4		78,6	41,2	51,4
38. G.max_Glyma07g08340.1	60,6	61,5	50,6	68,9	59,8	62,5	86,7		39,3	49,5
39. G.max_Glyma09g34070.1	62,7	88,9	49,7	61,0	56,5	56,2	61,6	58,9		40,3
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	58,9	61,1	50,1	62,7	64,1	60,3	67,8	67,2	58,3	
41. M.truncatula_AC202466_12.4	60,4	52,9	49,4	59,0	62,7	51,4	59,8	57,7	52,9	63,6
42. M.truncatula_AC148764_30.5	63,6	62,9	52,8	74,4	62,8	65,1	86,3	83,4	61,5	65,6
43. M.truncatula_AC123975_4.5	58,5	54,2	49,0	59,8	66,5	56,8	59,1	56,2	54,8	60,2
44. M.truncatula_AC173288_41.5	57,8	56,0	73,2	58,5	58,7	90,0	63,8	60,5	54,3	59,3
45. M.truncatula_CT485796_15.4	61,3	90,0	46,4	57,9	54,6	55,4	61,2	60,6	84,0	61,4
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	61,7	64,8	48,2	64,9	68,2	59,6	68,6	66,7	61,4	78,0
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	60,6	60,1	49,6	69,3	57,7	62,1	77,1	75,5	57,5	66,2
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	54,0	50,3	55,3	61,7	51,8	53,5	61,4	59,7	53,3	55,5
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	54,9	56,6	45,7	63,9	54,1	56,1	72,1	71,2	54,1	60,7
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	53,6	68,5	43,1	51,5	50,5	51,5	55,0	54,4	63,6	55,1
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	63,1	65,4	50,3	66,8	68,9	60,5	68,9	67,0	62,9	79,3
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	73,2	55,8	50,5	58,8	54,5	54,5	59,6	57,2	54,8	55,4
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	50,9	51,0	54,7	51,1	48,5	65,9	54,5	55,1	49,5	51,5
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	63,5	65,3	49,9	66,6	69,0	60,6	68,0	66,5	62,7	77,9
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	57,8	57,8	48,9	65,9	57,8	60,7	70,6	71,5	54,8	65,3
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	47,3	47,1	39,2	50,0	47,4	47,1	50,6	49,8	45,5	46,4
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	54,8	56,5	45,8	63,9	53,9	56,2	72,0	71,1	54,0	60,7
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	64,2	62,9	51,7	66,9	70,6	61,9	70,1	65,9	62,9	84,3
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	57,3	57,3	48,5	65,3	57,4	60,1	70,0	70,8	54,4	64,8
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	61,1	82,1	46,4	57,0	55,7	55,4	61,3	61,1	76,4	60,7

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	61,6	82,1	46,3	57,1	57,3	55,0	61,6	61,6	76,2	60,2
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	62,7	62,8	51,6	73,7	62,4	63,4	84,4	86,1	59,6	67,3
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	87,4	62,4	50,6	63,1	58,9	57,6	63,9	61,9	61,7	60,3
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	60,4	60,6	51,2	75,9	59,8	61,0	73,2	68,7	59,9	60,9
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	64,5	63,3	51,9	67,4	70,8	63,1	71,0	67,9	61,2	76,1
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	86,5	61,9	50,6	62,1	58,9	58,0	64,3	61,5	61,8	60,3
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	68,0	61,1	51,6	64,2	72,4	59,4	67,1	64,1	60,5	69,7
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	60,4	60,1	51,1	73,7	58,4	62,1	72,6	69,4	59,2	61,3
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	62,8	63,4	51,5	72,9	61,4	63,3	84,5	87,2	60,2	68,9
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	68,3	54,1	47,1	57,1	55,9	55,1	56,8	53,9	53,9	53,5
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	64,8	63,3	52,1	68,2	71,8	62,9	71,4	68,0	61,7	76,0
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	68,1	63,9	52,4	68,9	75,4	60,9	70,0	66,3	63,3	71,7
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	61,0	62,0	49,9	68,9	59,9	61,3	84,2	87,0	59,3	65,5
74. P.trichocarpa_HB1-like	19,9	21,2	23,8	19,1	20,8	20,7	21,1	21,2	21,6	20,4
75. T.aestivum_TC277292	27,5	24,3	24,8	30,4	27,0	26,6	30,0	29,8	25,6	26,4
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	65,8	63,8	50,5	68,9	70,1	60,6	67,9	65,4	62,1	74,6
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	53,8	54,5	45,0	59,0	52,0	55,3	65,4	64,9	52,1	60,0
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	54,5	57,4	45,4	63,8	53,4	55,9	70,5	70,7	55,2	60,7
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	61,9	61,1	49,2	66,1	67,1	59,9	67,7	65,0	59,3	80,7
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	61,5	63,4	49,1	65,7	66,7	59,6	67,2	67,2	60,1	77,9
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	59,1	62,2	46,8	64,1	64,8	57,6	67,5	68,1	59,0	76,1
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	56,4	54,3	56,6	65,1	53,5	55,8	67,1	63,9	57,3	57,3
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	58,9	60,7	46,5	62,9	63,9	57,1	64,3	65,1	57,6	74,7
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	61,5	62,9	48,4	65,6	67,4	59,2	68,0	68,2	59,6	75,1
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	59,4	62,7	46,1	64,4	65,3	57,0	67,7	68,0	59,4	76,2
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	50,0	48,8	39,7	52,7	48,5	47,2	52,1	49,9	48,1	47,4
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	60,8	63,2	48,9	64,7	66,5	59,5	67,2	68,5	59,8	76,8
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	73,2	58,7	47,7	60,4	58,0	55,8	63,1	59,9	58,2	57,4
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	59,7	61,5	50,7	69,2	59,7	62,6	76,2	75,8	59,3	67,4

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	27,7	32,6	28,2	24,1	26,7	29,2	29,7	25,3	34,3	25,1
2. MedicagotruncatulaHD	30,7	24,0	24,4	22,0	22,0	25,3	23,1	17,7	21,2	19,5
3. A.thaliana_AT5G52170.1	36,8	50,3	37,1	36,7	35,7	41,9	46,0	35,8	42,7	31,7
4. A.thaliana_AT4G04890.1	64,0	52,5	52,5	39,4	42,5	69,4	50,0	40,0	43,5	38,1
5. A.thaliana_AT4G00730.2	22,9	42,7	25,3	26,0	28,9	31,2	39,7	42,6	38,5	25,6
6. A.thaliana_AT1G79840.1	33,1	39,0	32,6	61,4	34,9	39,0	39,7	32,5	34,9	32,9
7. A.thaliana_AT2G32370.1	43,7	42,3	38,5	36,2	35,0	47,3	39,5	31,3	36,7	31,8
8. A.thaliana_AT4G25530.1	32,5	38,7	31,6	29,4	29,3	34,4	36,2	28,9	32,8	26,2
9. A.thaliana_AT3G61150.1	40,7	63,2	37,7	38,8	38,2	49,2	58,1	43,8	55,0	35,5
10. A.thaliana_AT1G17920.1	39,3	43,0	37,2	34,7	40,6	40,8	41,0	32,1	36,0	34,8
11. A.thaliana_AT1G73360.1	40,6	44,3	36,4	34,8	41,6	42,3	40,8	32,7	39,7	36,9
12. A.thaliana_AT1G05230.2	66,1	51,7	48,0	40,5	42,2	66,4	48,7	39,0	43,0	38,2
13. A.thaliana_AT1G05230.3	65,9	51,7	48,0	40,6	42,0	66,2	48,7	39,1	42,9	38,0
14. A.thaliana_AT4G00730.1	41,1	65,2	38,4	39,6	39,3	49,5	59,0	45,0	56,2	35,9
15. A.thaliana_AT4G21750.2	63,0	52,0	52,3	39,1	41,2	68,0	49,0	39,7	43,7	37,6
16. G.max_Glyma16g34350.1	44,3	47,1	37,5	36,7	45,2	45,7	43,2	34,6	41,1	39,4
17. G.max_Glyma10g38280.1	44,7	64,6	38,6	39,1	38,7	49,8	58,6	44,4	53,4	36,8
18. G.max_Glyma15g01960.1	34,4	42,3	35,3	82,9	35,5	40,0	42,5	33,9	37,0	35,1
19. G.max_Glyma09g40130.1	43,2	77,5	38,8	40,5	39,8	50,8	62,9	48,2	60,5	36,2
20. G.max_Glyma03g01860.1	42,2	74,9	38,3	40,4	39,7	50,9	60,3	46,7	58,6	37,8
21. G.max_Glyma13g38430.1	69,0	52,3	47,9	40,5	41,6	70,4	50,7	39,1	47,3	40,3
22. G.max_Glyma08g06190.1	43,2	45,6	36,9	35,7	44,9	44,4	42,3	33,0	39,7	37,4
23. G.max_Glyma09g29810.1	44,3	47,1	37,1	36,4	45,5	45,7	43,9	34,5	42,0	40,1
24. G.max_Glyma20g29580.1	45,6	64,5	39,5	37,9	37,8	49,4	58,0	43,6	52,7	36,7
25. G.max_Glyma11g00570.1	62,4	52,2	55,6	38,8	40,3	69,4	48,8	38,7	44,2	38,1
26. G.max_Glyma16g32130.1	39,4	56,9	37,0	36,7	39,4	45,4	52,6	43,0	49,0	35,1
27. G.max_Glyma06g46000.1	74,9	54,0	50,7	40,8	42,1	69,4	49,1	39,4	45,9	39,1
28. G.max_Glyma12g32050.1	68,7	52,1	48,0	41,1	41,6	70,3	50,1	39,3	47,5	40,3
29. G.max_Glyma12g10710.1	74,7	53,7	50,8	41,3	42,2	69,4	49,9	39,8	46,0	39,1
30. G.max_Glyma01g45070.1	62,4	52,5	55,8	39,0	40,5	68,5	48,6	38,7	44,0	38,3

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	43,8	45,1	37,2	35,7	43,7	43,3	41,6	32,8	39,3	36,5
32. G.max_Glyma01g01850.1	35,3	42,7	34,9	35,5	81,6	43,0	38,4	31,6	38,1	53,9
33. G.max_Glyma13g43350.2	26,7	34,0	28,9	67,3	30,6	31,8	34,3	38,2	30,6	29,1
34. G.max_Glyma09g26600.1	41,1	56,6	38,6	37,2	38,7	46,5	52,5	43,7	48,2	34,1
35. G.max_Glyma10g39720.2	50,1	45,0	46,7	35,3	36,3	55,8	42,3	33,2	38,7	33,3
36. G.max_Glyma13g43350.1	34,0	41,9	35,1	83,3	35,9	39,3	42,3	34,3	37,3	34,5
37. G.max_Glyma18g45970.1	45,0	76,6	39,6	42,4	41,1	53,1	62,5	47,6	58,4	37,2
38. G.max_Glyma07g08340.1	45,0	74,7	38,5	39,6	39,2	51,0	59,9	45,8	57,3	36,4
39. G.max_Glyma09g34070.1	33,9	41,1	34,2	34,8	76,6	41,8	38,1	33,8	37,1	49,3
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	52,4	49,7	43,1	39,0	40,8	66,6	48,2	38,7	45,5	39,7
41. M.truncatula_AC202466_12.4		46,4	44,9	33,5	34,6	59,4	41,6	32,1	37,9	30,7
42. M.truncatula_AC148764_30.5	59,9		41,4	40,0	41,0	51,5	61,8	50,1	56,7	36,6
43. M.truncatula_AC123975_4.5	58,9	60,2		34,5	33,3	47,3	38,0	31,4	35,3	28,8
44. M.truncatula_AC173288_41.5	51,0	63,7	55,9		34,9	39,5	40,8	32,7	37,1	34,5
45. M.truncatula_CT485796_15.4	51,7	60,9	52,2	54,8		41,6	37,6	30,3	38,8	54,1
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	68,6	66,8	63,5	60,2	63,0		50,2	40,0	45,5	38,9
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	56,6	75,6	55,5	61,8	60,3	66,8		60,4	57,9	37,0
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	49,8	65,0	51,9	52,6	49,6	56,0	71,1		43,8	30,4
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	51,9	70,1	52,7	55,1	57,1	61,8	71,4	57,1		37,0
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	46,5	54,3	46,9	51,0	70,2	56,2	54,9	46,4	56,5	
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	69,4	69,5	62,5	60,2	62,7	89,4	68,0	56,5	61,9	57,3
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	57,2	59,8	55,2	52,1	54,3	57,8	58,5	55,3	53,7	48,8
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	43,5	54,7	47,5	65,4	51,0	52,3	56,1	47,5	52,4	48,9
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	69,9	69,5	62,7	60,4	62,4	87,8	67,9	56,2	61,4	57,0
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	53,7	73,0	56,2	60,3	58,4	65,5	83,1	86,0	68,2	54,4
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	42,5	52,4	46,2	46,4	46,9	47,3	50,0	43,4	50,2	41,7
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	51,7	70,1	52,6	55,2	57,0	61,7	71,3	57,0	99,9	56,6
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	69,6	68,2	66,1	60,8	60,8	79,5	65,3	57,5	60,6	54,8
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	53,3	72,3	55,7	59,8	57,9	64,9	82,4	86,1	68,2	54,4
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	50,3	61,3	51,7	54,8	83,2	61,1	58,0	48,5	57,5	69,4

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	51,5	61,2	52,9	54,2	83,0	63,3	59,2	49,5	57,3	68,0
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	59,1	86,7	60,0	63,0	62,3	69,2	77,6	62,9	72,8	55,0
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	62,0	65,7	58,5	57,3	62,0	63,3	61,6	56,4	56,6	54,6
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	57,0	74,4	58,8	60,7	58,1	64,2	69,8	59,5	62,3	51,5
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	74,1	71,1	64,8	62,6	61,8	82,3	67,9	57,0	62,0	56,5
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	60,9	65,3	58,0	57,7	61,5	62,6	61,7	55,6	56,9	54,8
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	76,2	68,1	68,2	59,1	59,7	74,5	63,6	56,7	57,6	53,7
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	56,0	73,3	58,0	59,9	58,2	64,7	68,8	58,7	63,6	50,8
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	58,8	87,1	59,0	62,4	62,2	68,3	77,4	62,5	73,7	55,8
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	54,9	59,4	57,0	53,8	54,3	55,7	53,4	48,7	50,5	47,1
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	74,5	71,0	64,2	61,7	61,3	81,8	67,4	57,3	62,7	56,5
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	74,0	70,6	70,5	60,4	62,7	76,9	65,9	58,2	60,2	55,2
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	55,1	81,7	56,6	60,9	61,1	66,4	77,0	60,0	72,8	55,1
74. P.trichocarpa_HB1-like	21,9	21,3	19,6	20,4	20,3	20,3	20,1	21,1	18,8	17,9
75. T.aestivum_TC277292	32,3	31,1	26,4	26,2	24,8	27,8	29,9	28,2	31,9	22,2
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	72,2	68,4	66,6	59,1	61,0	82,3	67,0	57,8	62,2	55,6
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	49,0	65,6	50,5	54,9	53,7	58,3	71,7	61,2	64,5	51,5
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	51,4	70,3	53,1	55,9	57,7	62,0	71,6	55,7	90,9	56,2
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	66,7	67,2	63,5	60,3	59,7	77,2	65,8	56,6	60,3	53,6
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	67,0	68,1	61,1	59,2	62,9	84,9	68,2	55,7	61,9	57,9
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	65,8	66,2	61,0	57,5	61,3	87,7	67,0	54,0	61,9	56,8
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	51,9	67,3	52,0	53,4	51,9	58,4	79,2	79,5	61,7	47,6
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	64,2	65,2	58,6	56,7	60,7	81,3	66,0	53,4	61,9	57,9
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	67,9	67,4	62,8	58,6	62,0	88,7	65,9	54,4	61,7	55,6
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	66,2	66,7	61,3	57,9	61,2	88,1	66,9	54,8	62,1	56,7
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	42,5	54,3	48,1	48,7	46,1	49,6	49,3	45,3	49,1	42,1
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	67,0	67,1	61,9	59,8	62,5	89,4	66,8	54,8	62,3	56,3
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	57,4	63,1	54,5	55,2	57,4	59,1	60,4	51,9	55,5	53,1
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	56,5	75,5	56,7	61,1	60,8	68,4	92,0	69,7	72,2	55,4

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	28,2	27,2	26,6	28,2	29,7	99,6	34,3	30,2	29,4	27,5
2. MedicagotruncatulaHD	25,6	21,5	19,8	25,6	21,9	20,0	21,1	26,0	21,8	22,1
3. A.thaliana_AT5G52170.1	42,4	37,5	30,0	42,7	45,0	28,2	42,6	42,6	44,6	35,1
4. A.thaliana_AT4G04890.1	69,7	43,4	35,0	70,0	48,5	30,3	43,4	65,5	48,3	42,0
5. A.thaliana_AT4G00730.2	30,9	28,1	24,7	31,0	37,3	22,1	38,4	32,1	37,0	28,3
6. A.thaliana_AT1G79840.1	39,3	34,2	46,1	38,8	39,0	25,7	34,9	39,0	38,6	34,0
7. A.thaliana_AT2G32370.1	47,4	32,8	30,7	47,6	37,6	25,8	36,6	47,7	37,3	34,0
8. A.thaliana_AT4G25530.1	33,6	31,1	26,4	33,5	35,3	26,5	32,6	34,0	35,0	29,4
9. A.thaliana_AT3G61150.1	48,5	37,9	35,4	48,5	54,3	29,8	54,9	49,3	53,8	38,5
10. A.thaliana_AT1G17920.1	41,2	46,7	30,9	41,5	39,6	26,4	36,0	43,3	39,1	40,2
11. A.thaliana_AT1G73360.1	42,5	48,9	33,8	42,6	40,1	27,5	39,7	43,6	39,8	42,1
12. A.thaliana_AT1G05230.2	67,4	40,9	34,8	67,9	47,0	29,1	42,9	67,1	46,7	41,5
13. A.thaliana_AT1G05230.3	67,2	41,0	34,8	67,7	47,0	29,2	42,8	66,8	46,7	41,2
14. A.thaliana_AT4G00730.1	50,0	39,8	34,9	50,2	55,0	30,3	56,2	49,3	54,5	39,0
15. A.thaliana_AT4G21750.2	68,2	44,2	35,7	68,4	48,2	30,2	43,7	64,3	47,9	40,2
16. G.max_Glyma16g34350.1	45,7	57,2	33,7	45,7	42,5	29,0	41,1	46,8	42,2	46,0
17. G.max_Glyma10g38280.1	50,8	40,8	34,7	50,6	53,5	32,2	53,4	50,2	53,1	39,9
18. G.max_Glyma15g01960.1	40,7	34,0	50,1	40,8	40,9	26,1	37,1	40,6	40,6	34,6
19. G.max_Glyma09g40130.1	50,5	40,9	37,0	50,4	58,2	31,0	60,4	50,8	57,7	41,0
20. G.max_Glyma03g01860.1	50,8	39,4	36,3	50,7	56,5	30,6	58,5	50,6	56,1	40,4
21. G.max_Glyma13g38430.1	72,6	40,9	36,3	70,4	47,4	29,8	47,3	66,7	47,1	41,9
22. G.max_Glyma08g06190.1	45,3	55,0	33,5	44,5	40,5	28,6	39,6	45,3	40,2	44,4
23. G.max_Glyma09g29810.1	46,0	57,6	34,1	46,0	42,5	29,0	42,0	46,7	42,1	46,1
24. G.max_Glyma20g29580.1	49,5	41,3	34,2	49,6	53,0	31,9	52,6	49,9	52,7	39,3
25. G.max_Glyma11g00570.1	68,3	43,1	35,0	68,6	47,1	31,1	44,2	66,4	46,8	42,5
26. G.max_Glyma16g32130.1	44,7	38,9	33,0	44,9	50,3	31,1	49,0	46,2	50,0	37,9
27. G.max_Glyma06g46000.1	71,0	43,8	36,3	71,2	47,4	30,7	45,8	68,9	47,1	42,5
28. G.max_Glyma12g32050.1	72,4	40,9	36,3	70,5	47,7	30,1	47,5	66,7	47,4	42,2
29. G.max_Glyma12g10710.1	70,8	43,9	37,1	71,1	47,6	30,4	45,9	68,9	47,3	42,2
30. G.max_Glyma01g45070.1	68,2	43,4	34,4	68,5	47,2	30,5	43,9	66,3	47,0	41,9

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	44,0	55,5	32,4	44,5	40,3	28,2	39,2	44,2	40,0	43,4
32. G.max_Glyma01g01850.1	45,1	38,3	32,2	44,7	38,1	27,9	38,1	43,3	37,8	70,9
33. G.max_Glyma13g43350.2	33,4	29,9	41,5	33,4	33,7	22,7	30,6	34,8	33,4	28,8
34. G.max_Glyma09g26600.1	46,0	39,2	33,3	45,9	50,7	31,2	48,1	46,7	50,4	37,2
35. G.max_Glyma10g39720.2	54,0	37,3	32,7	54,1	41,2	28,9	38,7	54,5	41,0	35,4
36. G.max_Glyma13g43350.1	40,8	33,7	50,0	40,3	41,2	26,0	37,4	41,2	40,8	34,0
37. G.max_Glyma18g45970.1	51,2	41,1	36,8	50,9	57,9	30,3	58,3	54,0	57,4	41,9
38. G.max_Glyma07g08340.1	50,3	38,6	36,0	50,4	55,9	30,6	57,2	50,5	55,5	39,7
39. G.max_Glyma09g34070.1	43,7	36,6	31,8	43,4	37,6	27,3	37,0	42,5	37,3	65,1
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	67,7	38,4	34,8	66,1	46,7	28,0	45,4	78,0	46,3	40,4
41. M.truncatula_AC202466_12.4	60,6	40,0	30,6	60,8	39,7	27,8	37,9	57,7	39,5	34,4
42. M.truncatula_AC148764_30.5	51,4	40,6	37,7	51,4	60,4	32,6	56,7	51,7	59,9	42,1
43. M.truncatula_AC123975_4.5	47,2	36,0	30,9	47,4	38,1	28,3	35,2	48,3	37,9	33,5
44. M.truncatula_AC173288_41.5	39,7	32,5	48,4	39,8	39,9	24,1	37,2	39,9	39,5	33,8
45. M.truncatula_CT485796_15.4	42,7	36,2	32,4	42,2	36,7	26,7	38,8	42,0	36,4	70,2
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	82,7	41,4	35,7	81,2	48,6	29,2	45,4	69,9	48,3	42,0
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	49,6	38,9	38,0	49,5	71,8	29,6	57,8	50,3	71,2	37,7
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	39,8	32,1	32,4	39,4	85,1	24,5	43,8	40,7	86,0	31,5
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	45,4	38,7	34,2	45,1	52,8	34,3	99,9	45,1	52,4	38,6
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	39,6	33,6	30,3	39,8	35,4	24,6	36,9	39,4	35,0	54,9
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3		41,7	35,1	96,8	47,9	28,0	45,2	70,6	47,6	42,3
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	59,3		32,4	41,8	38,2	27,4	38,4	41,7	37,9	36,6
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	52,1	47,5		34,7	38,0	26,9	34,3	36,2	37,7	30,6
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	96,9	59,5	51,3		47,6	28,0	45,0	71,3	47,3	42,5
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	66,0	56,3	56,6	65,5		29,1	52,6	48,9	99,1	37,7
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	48,0	44,1	44,5	48,1	49,0		34,3	30,3	29,2	27,7
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	61,8	53,6	52,5	61,4	67,8	50,5		45,0	52,3	38,6
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	80,5	60,2	50,6	80,3	64,3	47,3	60,6		48,2	42,4
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	65,4	55,8	56,6	64,9	99,1	48,0	68,1	63,2		37,6
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	61,3	54,1	50,7	61,3	56,6	45,4	57,5	60,8	56,8	

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	62,9	54,9	51,0	62,4	57,9	45,4	57,2	60,1	57,4	93,1
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	70,9	59,7	56,4	70,5	73,4	51,8	72,7	69,1	72,8	60,6
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	64,2	73,1	51,0	64,1	59,9	46,0	56,5	65,6	59,4	60,9
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	64,2	60,2	51,8	64,5	65,5	49,1	62,3	65,6	64,9	57,2
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	84,1	59,3	51,8	82,2	64,5	48,9	61,9	79,8	64,0	59,5
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	63,5	72,7	50,6	63,4	59,2	46,4	56,9	65,4	58,7	60,8
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	74,6	63,0	49,8	75,5	60,5	47,4	57,6	75,6	60,0	58,0
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	64,8	59,0	51,8	65,0	65,4	49,4	63,5	65,7	64,8	57,5
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	70,2	58,8	57,1	69,7	73,6	51,3	73,6	68,3	72,9	61,7
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	56,9	63,1	48,3	57,1	52,1	43,0	50,5	57,3	51,5	52,9
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	84,4	59,4	52,0	81,9	64,4	46,4	62,6	79,8	63,8	60,0
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	78,8	63,1	52,3	79,1	62,8	47,1	60,0	79,4	62,2	60,2
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	68,3	57,5	54,6	67,6	71,5	48,7	72,7	65,9	71,9	61,8
74. P.trichocarpa_HB1-like	19,5	20,1	19,1	20,1	18,9	18,6	19,0	20,7	18,2	21,0
75. T.aestivum_TC277292	27,9	27,1	22,9	28,0	27,8	25,1	31,9	29,1	27,6	24,0
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	86,5	63,3	51,7	86,8	64,1	46,6	62,2	81,3	63,6	59,7
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	58,3	52,1	50,6	58,7	72,0	45,8	64,6	57,9	72,0	53,7
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	62,6	52,7	52,0	62,7	66,6	49,1	90,8	60,1	66,5	57,2
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	76,9	58,3	51,3	77,2	64,3	48,5	60,2	83,0	63,7	60,3
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	89,1	58,0	52,3	86,0	66,1	47,8	61,8	76,5	65,8	60,6
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	85,8	56,6	52,5	83,7	64,6	46,6	61,8	75,7	64,1	60,0
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	57,9	56,3	48,4	58,4	70,0	43,2	61,6	59,9	69,2	50,4
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	85,3	55,5	51,4	82,4	64,2	46,5	61,8	73,3	64,5	59,0
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	86,4	58,5	52,8	86,2	63,9	47,5	61,6	77,7	63,3	60,4
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	86,2	56,9	52,3	84,1	65,1	47,4	62,0	75,9	64,6	59,6
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	49,4	45,9	43,9	49,4	49,1	48,5	49,0	50,0	48,8	47,1
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	87,4	57,8	52,6	85,2	65,0	47,1	62,3	76,4	64,5	60,8
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	59,8	81,8	47,3	60,3	57,8	46,2	55,4	61,1	57,3	57,1
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	67,9	58,5	56,4	68,1	81,9	49,3	72,1	66,1	81,1	59,0

FIGUR 23(Fortsetzung)

	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	26,4	31,5	29,4	29,8	30,3	28,8	29,8	29,8	31,6	26,6
2. MedicagotruncatulaHD	21,5	23,7	25,9	22,9	26,3	25,3	28,4	23,8	23,8	23,7
3. A.thaliana_AT5G52170.1	35,6	49,4	42,0	49,8	41,8	41,7	41,6	50,5	50,1	36,5
4. A.thaliana_AT4G04890.1	42,2	50,8	49,6	47,7	70,6	48,5	74,7	48,4	51,7	42,5
5. A.thaliana_AT4G00730.2	27,0	44,5	30,3	34,8	32,0	29,7	27,3	34,1	44,3	24,5
6. A.thaliana_AT1G79840.1	33,1	39,6	36,2	35,6	39,8	35,2	38,3	35,5	40,3	34,0
7. A.thaliana_AT2G32370.1	34,9	40,9	38,8	36,9	51,3	37,2	46,8	37,6	40,5	34,8
8. A.thaliana_AT4G25530.1	28,3	37,5	34,0	37,7	33,7	33,7	34,1	37,4	37,9	33,1
9. A.thaliana_AT3G61150.1	38,1	64,8	44,1	51,5	48,3	43,0	44,5	50,9	64,9	35,2
10. A.thaliana_AT1G17920.1	39,7	41,7	64,0	39,8	43,5	62,6	44,4	39,2	41,5	47,0
11. A.thaliana_AT1G73360.1	42,1	44,1	67,4	41,7	44,8	67,4	44,5	42,2	43,8	48,3
12. A.thaliana_AT1G05230.2	41,9	50,7	49,0	45,8	77,0	47,8	69,3	45,6	50,1	42,2
13. A.thaliana_AT1G05230.3	41,6	50,7	49,1	46,2	76,7	47,9	69,0	45,7	50,1	42,3
14. A.thaliana_AT4G00730.1	37,5	67,7	45,0	52,1	50,7	43,5	45,3	52,3	67,5	36,7
15. A.thaliana_AT4G21750.2	41,0	51,4	48,2	47,8	69,5	47,3	73,5	47,3	52,2	41,6
16. G.max_Glyma16g34350.1	45,8	46,6	79,9	44,1	48,5	78,5	46,8	43,1	46,9	53,2
17. G.max_Glyma10g38280.1	39,0	65,9	46,0	63,5	51,8	45,5	49,3	61,5	66,5	37,8
18. G.max_Glyma15g01960.1	35,5	43,4	37,0	40,0	41,5	37,2	40,3	39,8	44,3	35,9
19. G.max_Glyma09g40130.1	40,6	78,7	46,1	54,2	52,6	44,9	48,7	53,3	79,4	39,0
20. G.max_Glyma03g01860.1	40,4	77,9	44,8	51,9	50,9	44,0	46,9	50,8	78,4	37,4
21. G.max_Glyma13g38430.1	42,0	53,8	47,5	46,1	84,7	46,9	67,6	46,5	53,9	40,7
22. G.max_Glyma08g06190.1	44,9	44,7	74,6	42,8	46,1	73,8	45,9	41,8	44,9	50,8
23. G.max_Glyma09g29810.1	46,2	46,5	80,0	44,4	48,6	78,7	47,5	43,7	46,9	53,3
24. G.max_Glyma20g29580.1	38,3	64,9	47,1	62,0	50,1	46,7	50,1	59,9	65,3	39,4
25. G.max_Glyma11g00570.1	42,7	51,1	47,9	47,5	70,1	47,5	74,4	46,3	51,2	42,3
26. G.max_Glyma16g32130.1	38,0	56,7	42,5	57,1	47,3	42,1	44,6	55,1	57,0	38,1
27. G.max_Glyma06g46000.1	42,5	53,2	49,9	47,8	83,4	49,3	71,9	48,5	53,7	42,7
28. G.max_Glyma12g32050.1	42,1	53,9	47,4	46,1	84,7	46,6	67,6	46,4	54,1	41,0
29. G.max_Glyma12g10710.1	42,4	53,1	49,7	48,2	83,9	49,0	71,9	48,4	53,6	42,5
30. G.max_Glyma01g45070.1	42,4	51,2	48,8	47,7	70,2	48,2	74,7	46,3	51,2	42,7

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	44,5	44,3	75,7	42,0	46,1	73,8	45,8	41,6	44,9	50,2
32. G.max_Glyma01g01850.1	68,6	42,4	47,0	39,7	42,2	46,3	42,0	39,8	42,7	36,0
33. G.max_Glyma13g43350.2	29,6	35,7	30,7	33,0	34,3	30,7	33,0	32,7	36,4	27,8
34. G.max_Glyma09g26600.1	36,5	57,0	43,8	57,7	47,4	42,9	45,2	55,4	57,4	38,1
35. G.max_Glyma10g39720.2	36,4	44,8	42,0	40,9	57,3	41,7	56,7	39,7	44,6	37,8
36. G.max_Glyma13g43350.1	34,3	43,6	37,2	39,1	41,7	37,4	40,0	39,5	44,5	35,0
37. G.max_Glyma18g45970.1	41,3	75,8	46,7	55,9	53,7	46,0	49,5	55,2	76,7	39,8
38. G.max_Glyma07g08340.1	39,1	77,2	44,5	52,9	52,2	43,5	47,9	51,4	77,7	36,6
39. G.max_Glyma09g34070.1	64,2	41,4	45,0	38,1	40,8	44,1	40,7	38,3	41,5	35,0
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	39,1	49,8	43,5	42,6	63,8	43,5	58,4	42,0	50,6	37,3
41. M.truncatula_AC202466_12.4	33,9	45,0	44,7	40,1	67,1	43,5	65,6	39,5	44,4	38,3
42. M.truncatula_AC148764_30.5	41,0	77,5	47,9	56,7	53,2	47,4	51,2	55,8	77,8	41,5
43. M.truncatula_AC123975_4.5	33,4	40,8	37,4	39,1	48,8	37,0	52,8	38,6	41,2	37,2
44. M.truncatula_AC173288_41.5	33,7	41,8	36,8	38,4	40,9	37,2	38,9	38,3	42,0	34,1
45. M.truncatula_CT485796_15.4	68,2	40,5	45,2	38,4	43,2	44,6	40,6	38,6	40,4	35,6
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	42,1	52,3	46,6	46,3	71,7	45,2	66,0	45,8	52,3	39,6
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	38,1	62,6	43,0	52,3	50,4	42,9	47,8	51,0	62,3	36,5
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	31,1	49,2	35,2	39,0	39,8	34,5	37,6	39,8	48,6	29,4
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	38,7	59,0	42,1	49,0	46,3	41,9	41,1	48,3	60,2	35,3
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	52,4	35,8	39,2	34,5	40,0	39,8	37,7	34,3	36,6	31,2
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	42,8	52,3	46,4	45,0	73,2	45,6	66,2	44,7	50,8	40,3
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	37,0	42,7	57,1	41,0	42,7	56,5	42,7	40,5	42,3	44,5
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	30,6	37,4	34,6	32,3	36,2	34,0	34,1	32,4	38,0	31,1
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	42,3	52,5	46,4	45,3	70,9	45,5	66,6	44,8	51,1	40,4
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	37,4	59,2	43,3	47,1	47,7	42,7	46,1	48,4	58,5	36,8
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	26,5	31,5	29,4	29,8	30,3	28,9	29,6	29,8	31,6	26,4
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	38,7	58,9	42,0	48,9	46,2	41,9	41,0	48,5	60,1	35,2
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	41,0	53,6	47,3	46,1	68,2	46,2	63,1	45,3	53,4	40,0
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	37,1	58,7	42,9	46,7	47,5	42,3	45,8	48,0	58,0	36,6
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	87,7	41,0	45,0	37,7	41,7	44,6	39,8	38,4	41,2	35,8

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235		39,4	45,3	36,9	42,3	44,9	40,7	37,8	40,4	35,7
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	61,9		47,9	57,8	53,4	46,4	49,8	56,1	93,2	40,4
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	61,6	64,6		44,1	49,0	93,0	48,9	43,8	47,8	53,8
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	57,7	72,8	63,2		46,1	43,6	45,0	86,0	58,6	38,2
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	60,4	69,9	65,6	67,9		47,8	67,9	45,9	54,2	40,4
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	61,4	63,4	95,9	62,2	65,4		48,6	43,5	46,6	53,6
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	58,7	66,2	68,0	62,3	77,7	67,9		44,8	49,7	42,2
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	57,8	71,5	61,6	91,7	67,3	61,4	62,0		56,8	38,1
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	61,4	95,5	64,5	73,4	69,7	63,7	65,8	73,2		40,2
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	53,2	57,3	71,6	56,6	57,4	71,0	61,4	55,7	55,9	
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	60,9	71,4	65,2	67,9	96,6	65,3	78,8	67,3	70,6	57,9
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	61,1	69,0	67,6	65,8	81,1	67,2	90,1	65,0	69,2	60,6
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	62,2	88,1	61,6	71,1	67,8	61,6	63,3	69,8	89,2	52,9
74. P.trichocarpa_HB1-like	21,1	19,7	20,2	19,9	20,8	19,7	21,4	21,4	19,0	20,4
75. T.aestivum_TC277292	24,0	30,3	27,4	28,5	27,3	26,6	28,5	28,5	29,9	25,2
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	61,2	67,3	66,3	67,2	81,3	66,7	77,5	66,7	67,3	59,2
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	53,3	66,5	54,8	60,1	58,2	54,6	56,3	58,7	66,5	50,5
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	56,8	71,1	56,8	63,2	62,7	56,4	57,7	63,4	72,4	50,8
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	60,2	68,0	63,5	64,5	75,2	62,8	71,9	64,9	66,5	56,3
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	61,7	68,4	62,6	61,6	79,4	62,4	71,6	62,5	68,2	54,6
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	61,7	69,2	60,7	61,6	79,2	60,3	72,6	62,1	69,1	53,9
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	52,1	66,3	58,8	62,4	60,8	59,2	59,8	61,7	65,9	51,2
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	59,8	65,5	60,0	59,0	76,0	59,8	68,6	59,9	65,5	52,3
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	61,1	69,7	62,8	63,1	79,2	62,0	74,5	62,9	68,9	55,3
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	61,1	69,5	61,0	61,9	79,6	60,7	72,6	62,4	69,4	54,1
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	48,1	51,5	49,3	52,1	49,3	49,3	48,5	50,6	51,4	47,1
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	61,1	70,1	61,9	62,2	79,8	61,3	73,5	62,1	69,7	54,9
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	56,2	60,5	73,1	61,4	61,9	72,8	64,9	60,0	60,3	64,2
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	60,8	77,3	62,5	68,9	69,1	63,0	63,9	68,0	77,8	54,3

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	29,6	29,3	29,6	10,7	17,8	29,5	26,6	33,9	29,2	29,0
2. MedicagotruncatulaHD	26,6	27,0	22,3	14,4	20,5	26,2	21,0	21,3	26,6	24,5
3. A.thaliana_AT5G52170.1	42,5	43,6	48,1	13,8	20,4	44,5	39,5	42,6	41,3	40,7
4. A.thaliana_AT4G04890.1	70,8	78,4	49,3	12,0	20,5	70,4	41,6	44,3	64,0	66,0
5. A.thaliana_AT4G00730.2	32,3	28,3	45,7	16,3	15,2	29,4	32,8	38,6	30,2	30,2
6. A.thaliana_AT1G79840.1	38,8	39,0	38,9	12,9	16,8	37,7	35,4	35,2	36,9	38,7
7. A.thaliana_AT2G32370.1	51,8	49,7	40,2	11,7	16,9	48,0	35,4	37,9	44,7	45,9
8. A.thaliana_AT4G25530.1	34,6	34,2	36,5	10,9	18,6	34,7	31,5	33,5	32,9	33,5
9. A.thaliana_AT3G61150.1	48,6	46,4	65,1	12,4	19,5	46,8	46,8	53,6	47,2	48,1
10. A.thaliana_AT1G17920.1	43,5	44,4	41,5	11,2	17,8	44,0	35,9	36,4	42,9	40,8
11. A.thaliana_AT1G73360.1	44,2	44,9	43,4	11,8	17,2	45,5	36,7	40,5	43,0	43,4
12. A.thaliana_AT1G05230.2	77,9	71,7	49,7	10,5	20,2	68,1	40,6	44,3	62,2	64,8
13. A.thaliana_AT1G05230.3	77,6	71,5	49,7	10,7	20,3	67,8	40,6	44,2	62,1	64,5
14. A.thaliana_AT4G00730.1	50,9	45,5	68,7	13,2	21,6	47,7	48,3	56,4	46,8	48,6
15. A.thaliana_AT4G21750.2	69,8	77,2	50,1	11,6	21,0	68,6	41,1	43,8	62,7	64,8
16. G.max_Glyma16g34350.1	48,1	47,8	45,6	11,7	19,1	48,9	38,1	41,7	44,8	45,6
17. G.max_Glyma10g38280.1	52,5	50,5	62,6	13,0	23,0	52,9	45,4	54,8	49,6	49,6
18. G.max_Glyma15g01960.1	41,6	41,3	43,2	13,8	18,4	39,4	37,3	37,2	38,3	40,0
19. G.max_Glyma09g40130.1	53,1	49,1	80,2	12,0	22,8	49,2	49,8	59,3	48,7	49,7
20. G.max_Glyma03g01860.1	51,6	47,3	79,5	12,6	22,2	49,2	47,9	57,8	47,9	49,5
21. G.max_Glyma13g38430.1	86,0	69,6	52,4	12,0	19,4	68,0	43,0	47,6	63,2	70,1
22. G.max_Glyma08g06190.1	46,8	46,9	44,3	12,5	18,8	46,5	36,9	39,7	44,2	43,5
23. G.max_Glyma09g29810.1	48,5	48,3	45,6	11,9	19,9	48,8	38,4	42,0	44,9	45,8
24. G.max_Glyma20g29580.1	50,4	51,0	61,7	11,6	23,4	53,2	44,7	54,3	48,9	48,5
25. G.max_Glyma11g00570.1	70,8	78,1	47,8	12,3	20,9	68,7	41,4	44,4	64,1	66,0
26. G.max_Glyma16g32130.1	47,6	47,2	53,1	11,9	20,4	47,8	41,5	49,4	46,2	44,6
27. G.max_Glyma06g46000.1	84,6	73,9	51,6	11,5	20,7	72,7	41,2	46,2	65,8	68,1
28. G.max_Glyma12g32050.1	86,1	69,8	52,4	12,6	19,5	67,9	42,7	47,6	62,9	69,9
29. G.max_Glyma12g10710.1	84,7	74,1	51,8	11,8	21,4	73,0	41,7	46,5	65,9	68,3
30. G.max_Glyma01g45070.1	70,9	78,4	48,0	11,9	20,3	68,1	41,6	44,5	64,2	65,7

FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	46,1	46,4	43,6	12,8	18,3	46,6	37,1	39,1	43,6	42,5
32. G.max_Glyma01g01850.1	42,1	45,2	42,2	12,6	16,0	43,4	34,3	38,3	42,0	43,0
33. G.max_Glyma13g43350.2	34,5	34,0	35,0	15,7	15,6	32,3	30,5	30,9	32,0	33,0
34. G.max_Glyma09g26600.1	47,8	48,1	53,0	10,7	20,4	49,3	41,8	48,6	46,7	46,0
35. G.max_Glyma10g39720.2	58,1	59,0	43,2	12,0	19,1	53,1	36,1	39,5	52,1	53,4
36. G.max_Glyma13g43350.1	41,6	40,9	42,9	13,1	18,0	39,4	37,3	37,5	38,2	40,2
37. G.max_Glyma18g45970.1	54,5	50,6	76,9	12,8	23,3	50,2	49,4	57,4	50,3	50,7
38. G.max_Glyma07g08340.1	52,4	48,0	76,9	12,5	22,9	50,2	47,3	57,0	48,2	49,5
39. G.max_Glyma09g34070.1	40,8	43,5	41,4	13,2	17,1	41,8	34,0	37,7	40,3	41,8
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	64,8	59,9	50,5	12,6	19,5	62,8	43,1	46,1	69,8	66,1
41. M.truncatula_AC202466_12.4	68,2	63,6	42,1	12,4	23,9	62,5	35,1	37,3	54,8	58,6
42. M.truncatula_AC148764_30.5	53,6	51,6	72,2	12,9	23,9	51,9	49,4	57,6	50,3	51,0
43. M.truncatula_AC123975_4.5	48,2	54,6	38,4	12,2	16,1	48,7	34,2	34,8	47,2	45,3
44. M.truncatula_AC173288_41.5	40,6	39,8	40,9	12,9	16,6	37,6	36,8	36,7	37,9	38,7
45. M.truncatula_CT485796_15.4	42,3	43,5	39,5	12,4	16,6	42,4	34,1	38,2	39,7	42,0
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	72,3	68,7	50,5	11,7	20,5	74,7	42,9	46,8	64,5	77,7
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	50,9	49,1	61,4	12,1	22,8	49,6	58,8	57,3	48,6	49,4
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	40,6	39,1	46,1	13,3	19,8	39,1	50,8	43,1	38,7	39,2
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	47,4	42,7	58,2	11,9	28,9	46,1	46,2	84,7	43,8	45,7
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	39,6	39,2	36,9	11,3	15,5	38,6	33,0	36,5	38,5	41,2
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	74,6	69,5	50,6	12,8	20,2	80,2	42,6	46,3	64,6	84,2
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	42,0	43,5	41,2	11,5	18,3	44,4	36,2	37,5	41,4	40,8
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	36,5	35,7	35,7	12,0	16,1	35,9	33,1	34,8	35,0	35,3
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	72,4	69,8	50,2	12,7	20,2	80,4	42,8	46,3	64,7	81,5
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	48,6	47,7	55,6	11,4	21,5	47,4	60,9	52,3	46,6	47,2
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	29,2	29,4	29,6	10,7	18,0	29,2	26,8	33,9	29,2	28,8
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	47,3	42,5	58,2	12,0	28,9	46,1	46,2	84,7	43,7	45,6
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	68,7	65,6	50,4	12,7	21,5	69,3	42,1	46,2	75,4	66,8
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	48,3	47,4	55,3	11,4	21,2	47,1	60,4	52,0	46,2	46,9
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	40,9	42,5	41,3	13,4	17,3	41,9	33,8	37,6	41,0	41,6

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	41,3	42,4	40,6	12,3	16,9	42,3	34,4	37,1	40,4	41,6
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	54,6	50,4	79,7	11,6	23,2	51,4	49,3	58,6	50,7	51,0
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	48,6	49,5	45,9	12,4	18,9	49,6	37,7	41,5	46,1	46,2
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	46,0	46,6	54,7	11,9	20,3	47,7	40,6	49,7	45,0	44,3
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	93,4	70,2	52,7	12,8	19,9	68,7	41,7	47,1	63,7	69,8
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	47,4	48,8	45,4	11,6	18,6	48,7	37,7	42,3	45,6	45,6
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	68,9	86,7	47,5	12,7	20,4	68,2	41,5	42,1	60,6	63,4
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	46,4	46,1	53,2	12,0	19,7	46,4	40,6	48,9	43,9	43,2
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	54,9	51,1	80,9	11,7	23,3	51,6	48,8	59,1	50,5	50,7
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	40,4	43,0	37,4	11,3	17,0	42,7	34,0	35,6	39,5	38,4
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993		71,1	52,4	11,3	19,9	69,5	41,8	47,7	64,1	70,8
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	81,8		48,4	11,3	19,0	69,7	42,0	43,3	63,2	66,0
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	68,3	66,3		11,8	22,3	48,9	48,2	58,7	47,8	49,2
74. P.trichocarpa_HB1-like	19,7	20,4	19,6		15,3	12,0	12,9	11,6	11,0	11,6
75. T.aestivum_TC277292	26,5	27,8	28,6	26,2		21,2	19,5	28,5	21,1	19,7
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	81,7	80,1	65,5	18,6	29,0		41,9	46,4	66,1	78,9
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	59,0	57,7	65,7	18,4	26,3	58,3		45,6	41,8	43,7
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	63,5	60,7	72,2	18,2	31,9	61,9	64,1		43,5	46,5
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	76,7	74,9	64,7	18,2	28,5	77,2	58,6	59,8		63,8
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	80,1	74,3	65,9	19,9	27,5	83,6	60,3	62,1	76,4	
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02	79,7	75,3	67,4	20,8	26,8	80,5	60,1	61,9	73,3	83,4
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	61,2	61,7	63,8	22,2	31,1	60,9	61,3	60,3	58,6	58,2
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	76,7	71,2	65,2	19,3	26,4	80,1	60,3	62,1	73,1	95,8
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	79,6	78,0	66,5	19,6	27,3	82,3	58,6	62,1	75,5	82,5
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	80,3	75,7	67,0	20,9	26,9	81,0	60,3	61,8	73,7	83,8
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	50,1	48,9	49,8	19,2	24,9	50,5	48,1	49,7	47,2	47,7
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	80,3	76,9	67,5	20,2	26,9	81,3	59,2	63,2	74,5	84,4
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	61,7	64,1	60,2	20,4	27,3	63,2	55,3	54,6	61,0	58,9
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	68,7	66,4	75,8	20,4	28,8	67,2	71,1	71,1	66,3	69,0

FIGUR 23 (Fortsetzung)

	81	82	83	84	85	86	87	88	89
1. O.sativa_LOC_Os08g19590.2	27,9	24,9	28,7	29,0	28,5	27,6	28,2	28,8	29,4
2. MedicagotruncatulaHD	25,1	20,5	23,5	25,8	25,2	21,9	25,8	24,2	24,5
3. A.thaliana_AT5G52170.1	41,8	36,8	39,1	41,8	42,0	30,9	41,5	38,5	46,1
4. A.thaliana_AT4G04890.1	65,6	39,9	63,3	68,4	66,0	31,6	67,2	44,7	49,0
5. A.thaliana_AT4G00730.2	30,1	44,6	29,2	30,5	30,1	20,3	30,7	27,6	39,4
6. A.thaliana_AT1G79840.1	36,9	33,6	37,1	37,4	37,6	26,5	38,3	34,9	39,4
7. A.thaliana_AT2G32370.1	45,8	34,1	44,0	46,0	46,1	26,8	46,0	34,4	40,2
8. A.thaliana_AT4G25530.1	33,4	30,1	32,1	33,9	33,5	28,8	33,6	31,7	36,0
9. A.thaliana_AT3G61150.1	47,4	46,5	46,1	47,8	47,3	29,9	47,9	40,9	56,9
10. A.thaliana_AT1G17920.1	39,3	33,8	39,2	40,7	39,5	27,3	39,9	49,6	41,0
11. A.thaliana_AT1G73360.1	40,6	35,2	41,7	41,8	40,8	29,9	41,1	50,3	42,5
12. A.thaliana_AT1G05230.2	64,5	39,1	62,1	65,9	64,8	30,4	65,1	44,1	47,8
13. A.thaliana_AT1G05230.3	64,2	39,2	61,8	65,6	64,5	30,3	64,8	44,2	47,8
14. A.thaliana_AT4G00730.1	48,4	48,5	46,6	48,6	48,4	29,9	48,9	41,8	58,9
15. A.thaliana_AT4G21750.2	66,1	40,1	62,2	67,4	66,4	31,0	66,2	44,7	49,2
16. G.max_Glyma16g34350.1	46,1	36,1	43,8	46,2	46,2	30,5	46,2	57,6	43,5
17. G.max_Glyma10g38280.1	49,6	47,3	47,6	49,6	49,8	30,0	49,4	41,2	56,9
18. G.max_Glyma15g01960.1	38,7	35,2	38,4	39,1	39,4	28,1	40,2	34,4	42,1
19. G.max_Glyma09g40130.1	50,4	51,8	47,7	50,2	49,7	30,3	49,8	42,5	62,0
20. G.max_Glyma03g01860.1	50,9	50,1	47,5	50,4	50,9	29,7	50,3	41,3	59,7
21. G.max_Glyma13g38430.1	69,7	40,9	67,2	68,2	69,7	29,7	69,8	44,0	49,8
22. G.max_Glyma08g06190.1	42,7	35,6	41,8	44,2	42,9	30,3	43,6	54,7	42,4
23. G.max_Glyma09g29810.1	46,3	36,8	44,0	46,3	46,4	30,6	46,5	57,1	44,3
24. G.max_Glyma20g29580.1	49,3	46,1	46,6	49,9	49,5	30,3	49,0	42,2	55,8
25. G.max_Glyma11g00570.1	65,9	40,4	63,3	68,7	66,3	28,8	67,6	45,2	49,0
26. G.max_Glyma16g32130.1	44,6	44,8	42,8	45,3	44,7	29,9	44,6	39,1	51,5
27. G.max_Glyma06g46000.1	67,1	40,7	65,2	68,6	67,5	30,5	67,7	45,6	49,3
28. G.max_Glyma12g32050.1	69,5	41,0	67,0	68,0	69,5	30,1	69,4	43,9	49,9
29. G.max_Glyma12g10710.1	66,9	41,5	65,4	68,9	67,2	31,4	67,9	45,7	50,3
30. G.max_Glyma01g45070.1	65,3	40,6	62,9	68,1	65,6	29,2	67,1	45,8	49,3

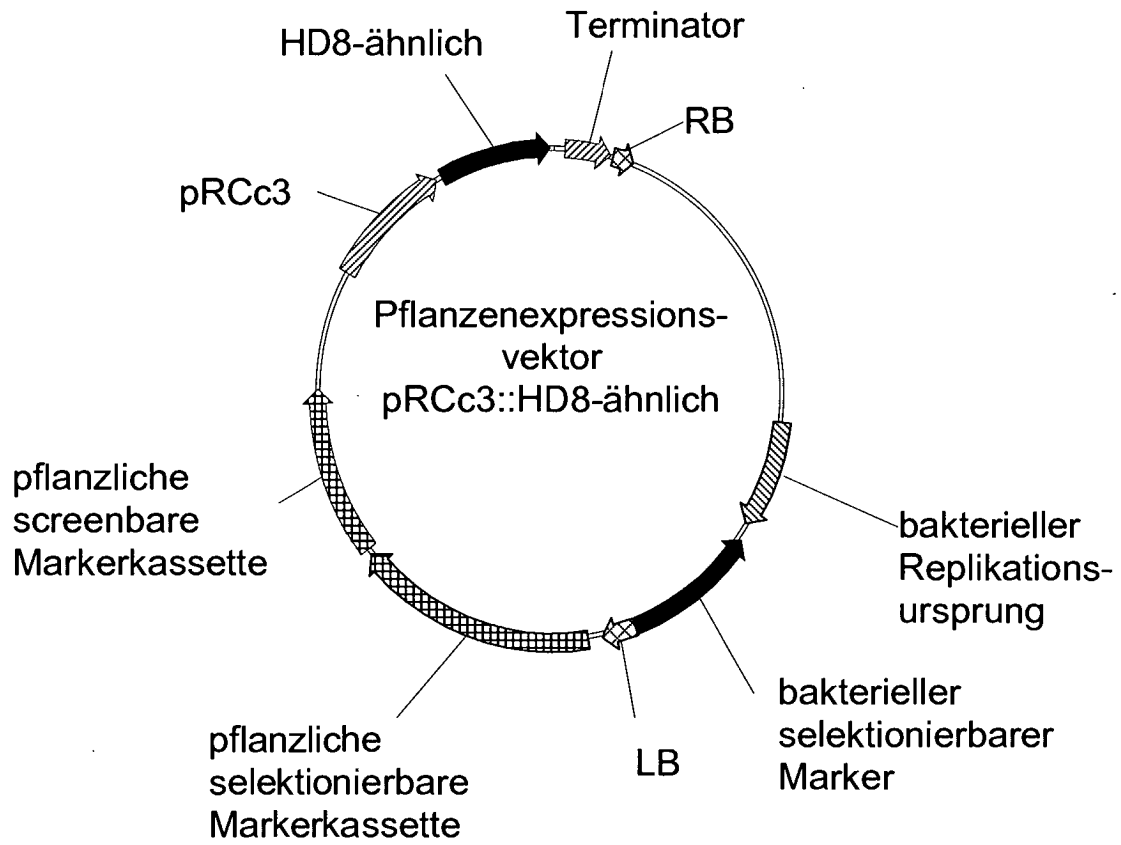
FIGUR 23 (Fortsetzung)

31. G.max_Glyma05g33520.1	42,4	35,1	40,9	44,1	42,6	30,7	43,5	55,4	42,1
32. G.max_Glyma01g01850.1	42,4	33,7	41,4	42,4	42,4	29,4	42,2	40,1	38,9
33. G.max_Glyma13g43350.2	31,3	38,6	31,6	31,8	31,3	23,3	32,3	28,9	34,6
34. G.max_Glyma09g26600.1	45,9	44,9	44,1	46,8	46,2	31,0	46,2	40,2	51,7
35. G.max_Glyma10g39720.2	52,7	33,9	51,3	55,0	53,3	29,1	54,5	40,2	41,9
36. G.max_Glyma13g43350.1	38,4	35,8	38,6	38,9	38,4	27,4	39,4	34,1	42,8
37. G.max_Glyma18g45970.1	51,2	50,9	48,6	50,9	51,4	30,6	50,9	43,5	61,0
38. G.max_Glyma07g08340.1	51,3	49,1	47,5	50,7	51,2	29,3	50,7	40,5	58,9
39. G.max_Glyma09g34070.1	40,4	35,1	40,1	41,2	40,3	27,8	41,0	39,0	37,7
40. Hordeum_vulgare_PUT-169a-82273	64,7	41,0	63,4	63,5	64,8	28,8	64,9	40,9	49,2
41. M.truncatula_AC202466_12.4	56,8	31,6	56,1	58,5	57,1	26,6	57,7	39,9	40,5
42. M.truncatula_AC148764_30.5	50,6	50,7	48,9	50,6	50,3	31,9	50,5	42,5	61,5
43. M.truncatula_AC123975_4.5	46,2	31,4	43,4	47,7	46,5	27,9	47,2	37,0	38,3
44. M.truncatula_AC173288_41.5	37,7	33,9	37,1	37,6	38,4	26,9	38,3	33,2	40,7
45. M.truncatula_CT485796_15.4	40,9	32,6	40,5	41,4	40,9	28,4	41,4	38,1	38,0
46. O.sativa_LOC_Os08g08820.2	82,4	41,8	74,5	82,8	82,8	29,4	84,5	42,2	51,0
47. O.sativa_LOC_Os02g45250.1	48,5	72,9	47,4	49,3	48,6	30,7	48,6	41,4	85,0
48. O.sativa_LOC_Os04g48070.3	39,0	65,4	37,6	38,9	39,3	25,1	39,3	31,5	57,8
49. O.sativa_LOC_Os09g35760.2	45,2	48,8	43,9	45,4	45,4	31,9	46,0	38,9	57,6
50. O.sativa_LOC_Os10g42490.2	40,1	31,6	39,7	39,4	39,9	26,4	39,5	36,8	36,7
51. O.sativa_LOC_Os04g53540.3	78,0	40,7	80,7	78,5	78,4	29,4	80,3	43,0	49,2
52. O.sativa_LOC_Os06g10600.1	40,7	34,0	39,2	41,9	40,9	26,5	41,6	70,0	39,7
53. O.sativa_LOC_Os01g55549.1	35,4	32,5	33,8	35,8	35,6	25,3	35,5	31,4	37,5
54. O.sativa_LOC_Os04g53540.4	76,0	41,0	78,1	78,7	76,4	29,6	78,3	43,1	49,5
55. O.sativa_LOC_Os04g48070.2	47,4	58,6	45,3	47,5	47,8	29,8	47,8	39,8	69,2
56. O.sativa_LOC_Os08g19590.3	27,9	24,9	28,5	29,0	28,5	27,6	28,2	28,7	29,4
57. O.sativa_LOC_Os09g35760.1	45,2	48,7	43,9	45,4	45,4	31,9	45,9	38,9	57,5
58. O.sativa_LOC_Os08g04190.1	66,2	42,6	64,1	68,2	66,7	30,0	67,5	42,2	50,7
59. O.sativa_LOC_Os04g48070.1	47,2	58,2	45,1	47,2	47,5	29,6	47,5	39,5	68,8
60. P.trichocarpa_scaff_III.687	40,8	32,5	40,0	41,6	40,7	27,8	41,4	39,5	38,0

FIGUR 23 (Fortsetzung)

61. P.trichocarpa_scaff_29.235	40,7	32,9	40,0	41,3	40,7	28,3	40,9	39,6	38,4
62. P.trichocarpa_scaff_II.1438	52,6	51,6	48,9	52,1	52,9	30,9	51,7	42,1	62,0
63. P.trichocarpa_scaff_122.86	45,2	37,1	44,4	46,7	45,4	30,1	46,0	57,3	44,4
64. P.trichocarpa_scaff_XV.1195	45,0	43,0	42,6	45,3	45,2	30,2	44,7	40,9	51,4
65. P.trichocarpa_scaff_II.2114	68,8	42,2	66,9	68,8	69,0	30,0	69,3	44,8	51,2
66. P.trichocarpa_scaff_XII.63	44,5	36,8	43,8	45,4	44,7	29,7	44,6	56,6	44,1
67. P.trichocarpa_scaff_IV.76	64,1	38,8	60,7	65,4	64,2	28,3	64,8	45,7	47,5
68. P.trichocarpa_scaff_XII.1124	43,7	41,9	41,4	44,5	43,9	29,8	43,9	40,9	49,8
69. P.trichocarpa_scaff_XIV.211	52,3	51,1	48,6	51,9	52,5	30,7	51,6	42,5	61,7
70. P.trichocarpa_scaff_44.222	39,2	30,2	36,9	40,1	39,4	28,9	39,8	44,4	37,1
71. P.trichocarpa_scaff_XIV.993	69,6	43,0	67,9	69,6	69,8	30,8	70,1	45,1	51,6
72. P.trichocarpa_scaff_XI.213	66,1	40,1	63,3	68,4	66,4	29,3	67,4	45,9	48,5
73. Solanum_lycopersicum_GQ222185	49,3	50,5	47,2	49,6	49,0	30,0	50,2	42,8	60,3
74. P.trichocarpa_HB1-like	11,5	14,2	11,2	12,1	11,5	12,1	12,6	12,3	13,0
75. T.aestivum_TC277292	20,7	22,3	18,9	20,5	20,8	18,7	20,3	17,2	22,2
76. Zea_mays_GRMZM2G122897_T01	73,2	40,5	75,7	75,6	73,6	31,9	74,6	44,7	49,0
77. Zea_mays_AC235534.1_FGT007	43,8	49,8	42,0	43,3	43,8	29,7	44,0	37,4	58,2
78. Zea_mays_GRMZM2G116658_T01	46,4	47,4	44,7	46,4	46,0	32,5	46,5	38,3	56,5
79. Zea_mays_GRMZM2G004957_T02	62,2	40,7	61,2	63,8	62,5	28,9	62,9	42,9	48,5
80. Zea_mays_GRMZM2G001289_T02	75,0	40,1	95,8	75,1	75,4	30,3	76,5	41,9	48,6
81. Zea_mays_GRMZM2G118063_T02		39,4	71,7	87,4	99,5	29,2	89,7	42,1	48,4
82. Zea_mays_GRMZM2G026643_T01	56,2		38,6	40,2	40,1	26,8	39,8	34,2	86,2
83. Zea_mays_GRMZM2G001289_T01	80,2	55,9		72,0	72,1	29,2	73,4	40,3	46,7
84. Zea_mays_GRMZM2G130442_T02	89,7	56,3	79,0		87,9	30,1	96,9	43,4	48,7
85. Zea_mays_GRMZM2G118063_T03	99,5	56,6	80,4	90,2		29,3	90,1	42,8	48,7
86. Zea_mays_GRMZM2G438260_T01	47,3	47,5	45,4	48,9	47,5		29,6	28,5	31,5
87. Zea_mays_GRMZM2G130442_T01	92,1	56,3	81,0	97,1	92,6	47,7		43,0	48,2
88. Zea_mays_GRMZM2G004334_T01	57,9	55,7	56,4	60,1	57,9	48,1	59,0		41,3
89. Zea_mays_GRMZM2G026643_T02	67,5	86,2	66,7	66,0	67,7	50,8	66,7	60,9	

FIGUR 23 (Fortsetzung)



FIGUR 24