

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3605633号  
(P3605633)

(45) 発行日 平成16年12月22日(2004.12.22)

(24) 登録日 平成16年10月15日(2004.10.15)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

C 1 2 N 15/09  
A O 1 H 5/00  
C O 7 K 14/415  
C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/00 Z N A A  
A O 1 H 5/00 A  
C O 7 K 14/415  
C 1 2 N 5/00 C

請求項の数 8 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願2000-320111 (P2000-320111)	(73) 特許権者	501203344
(22) 出願日	平成12年10月19日 (2000.10.19)		独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構
(65) 公開番号	特開2002-125675 (P2002-125675A)		茨城県つくば市観音台3-1-1
(43) 公開日	平成14年5月8日 (2002.5.8)	(74) 代理人	100078282
審査請求日	平成12年10月19日 (2000.10.19)		弁理士 山本 秀策
前置審査		(72) 発明者	梁 正偉
			新潟県上越市稲田1-3-11
		(72) 発明者	黒田 秧
			新潟県上越市南新町5-20-107
		(72) 発明者	芦川 育夫
			新潟県上越市北城町4-19 農試宿舍
		(72) 発明者	矢頭 治
			新潟県上越市子安1508
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規植物遺伝子、該遺伝子を利用した植物改変方法および該方法により得られる植物体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ポリヌクレオチドであって、配列表の配列番号2の1位のM e t から689位のV a l までのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含み、該ポリヌクレオチドを含む遺伝子を植物において欠失させることにより、草丈が短くなる表現型、根長が短くなる表現型、葉身が狭くなる表現型、茎数が減少する表現型、および種子数が減少する表現型からなる群より選択される少なくとも1つの表現型を生じる、ポリヌクレオチド。

【請求項2】

請求項1に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、アミノ酸配列を含む、タンパク質。

【請求項3】

制御配列、および該制御配列に作動可能に連結された請求項1に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項4】

請求項1に記載のポリヌクレオチドによりコードされる遺伝子のアンチセンス配列を含む、ベクター。

【請求項5】

植物を改変する方法であって、

請求項4に記載のベクターを植物組織に導入し、形質転換体を得る工程；  
 該形質転換体を再生し、植物体を得る工程；および  
 該植物体を所望の形質について選抜する工程、  
 を包含する、方法。

【請求項6】

前記所望の形質が、小粒性、短稈、および濃緑葉からなる群から選択される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

請求項4に記載のベクターで形質転換された、植物体。

【請求項8】

ポリヌクレオチドであって、配列表の配列番号2の1位のMetから689位のValまでのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドの相補体、または該アミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドの相補体を含み、該ポリヌクレオチドを植物に導入することにより、草丈が短くなる表現型、根長が短くなる表現型、葉身が狭くなる表現型、茎数が減少する表現型、および種子数が減少する表現型からなる群より選択される少なくとも1つの表現型を生じる、ポリヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は植物の新規遺伝子に関する。より詳細には、本発明は、植物の形態を制御する遺伝子に関する。本発明はまた、この遺伝子を用いた植物改変方法、およびこの方法により得られた植物体に関する。

【0002】

【従来の技術】

これまでにイネから多くの遺伝子が単離され、その塩基配列が決定されている。しかし、イネDNAに含まれる多くの遺伝子は、未だにその機能が解明されておらず有効利用されていない。植物の有用遺伝子の単離および同定、ならびにその効率的な単離法の開発が求められている。

【0003】

トランスポゾン、動物、酵母、細菌および植物のゲノムに遍在することが知られる変異誘発遺伝子である。トランスポゾンは、その転移(transposition)機構により2つのクラスに分類されている。クラスIIに属するトランスポゾンは、複製することなくDNAの形態で転移する。クラスIIに属するトランスポゾンとして、トウモロコシ(Zea mays)のAc/Ds、Spm/dSpmおよびMu要素(Fedoroff, 1989, Cell 56, 181-191; Fedoroffら, 1983, Cell 35, 235-242; Schiefelbeinら, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 4783-4787)、キンギョソウ(Antirrhinum majus)のTam要素(Bonasら, 1984, EMBOJ, 3, 1015-1019)が知られている。クラスIに属するトランスポゾンは、トランスポゾン・タグgingを利用する遺伝子単離に広く利用されている。この技術は、トランスポゾンがゲノム上で転移して、ある遺伝子中に挿入されると遺伝子の生理学的および形態学的変異が起こり、遺伝子が制御する表現型が変化することを利用する。この変化を検出することにより影響を受けた遺伝子を単離する(Bancroftら, 1993, The Plant Cell, 5, 631-638; Colasantira, 1998, Cell, 93, 593-603; Grayら, 1997, Cell, 89, 25-31; Keddieら, 1998, The Plant Cell, 10, 877-887; Whitthamら, 1994, Cell, 78, 1101-1115)。

【0004】

クラスIに属するトランスポゾンは、レトロトランスポゾンとも呼ばれ、複製し、そして

10

20

30

40

50

RNA中間体を介して転移する。クラスIトランスポゾン、最初、ショウジョウバエおよび酵母で同定され、そして特徴付けられたが、最近の研究により植物ゲノム中に遍在し、そのかなりの部分を占めていることが明らかにされている(Bennetzen、1996、Trends Microbiol.、4、347-353; Voytas、1996、Science、274、737-738)。レトロトランスポゾンの大部分は、非移動性の組み込みユニットであるようである。最近の研究は、これらのいくつかは、創傷、病原体の攻撃および細胞培養などのストレス条件下で活性化されることを示している(Grandbastien、1998、Trends in Plant Science、3、181-187; Wessler、1996、Curr. Biol.、6、959-961; Wesslerら、1995、Curr. Opin. Genet. Dev. 10、814-821。例えば、タバコではTnt1AおよびTto1(Pouteauら、1994、Plant J.、5、535-542; Takedaら、1988、Plant Mol. Biol.、36、365-376)、およびイネではTos17(Hirochikaraら、1996、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、93、7783-7788)について、ストレス条件下における活性化が報告されている。

#### 【0005】

イネのレトロトランスポゾンTos17は、最も良く研究されている植物中のクラスI要素である。Tos17は、Ty1-copia群レトロ要素の間の逆転写酵素ドメインの保存アミノ酸配列を基に作成された縮重プライマーを用いたRT-PCR法によりクローニ化された(Hirochikaraら、1992、Mol. Gen. Genet.、233、209-216)。Tos17は、4.3kbの長さの、2つの同じ138bpのLTR(長鎖末端反復)および開始メチオニンtRNAの3'末端に相補的なPBS(プライマー結合部位)を持つ(Hirochikaraら、1996、上述)。Tos17転写は、組織培養により強く活性化され、そして培養時間とともにそのコピー数を増加する。ゲノム研究のモデルジャポニカ品種である日本晴では、Tos17の当初のコピー数は2であるが、組織培養後、再生した植物では、5~30コピーに増加している(Hirochikaraら、1996、上述)。酵母およびショウジョウバエで特徴付けられたクラスIトランスポゾンとは異なり、Tos17は、染色体中をランダムな様式で転移し、そして安定な変異を引き起こし、そしてそれ故、イネにおける遺伝子の機能解析の逆遺伝学(Reverse Genetics)における強力なツールを提供する(Hirochika、1997、Plant Mol. Biol. 35、231-240; 1999、Molecular Biology of Rice(K. Shimamoto編集、Springer-Verlag、43-58)。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、Tos17を用いて提供される新規植物遺伝子を提供する。本願発明者らは、イネにおいて新たに転移したTos17コピーを持つ植物の表現型およびTos17標的部位の隣接配列の系統的な分析を重ねた結果、Tos17挿入により、短根、細葉、小粒性などの特徴を示すイネ変異体を発見し、さらにこの変異の原因遺伝子を単離し、本発明を完成するに至った。

#### 【0007】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明は、植物の形態を制御する遺伝子をコードするポリヌクレオチドに関し、このポリヌクレオチドは、配列表の配列番号2の1位のMetから689位のValまでのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。

#### 【0008】

本発明は、1つの局面で、上記のポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列を

10

20

30

40

50

含むタンパク質に関する。

【0009】

本発明は、1つの局面で、制御配列、および該制御配列に作動可能に連結された上記のポリヌクレオチドを含むベクターに関する。

【0010】

本発明は、1つの局面で、上記のポリヌクレオチドによりコードされる遺伝子のアンチセンス配列を含むベクターに関する。

【0011】

本発明は、1つの局面で、植物を改変する方法に関し、この方法は、上記のベクターを植物組織に導入し、形質転換体を得る工程；この形質転換体を再生し、植物体を得る工程；および上記植物体を所望の形質について選抜する工程を包含する。

10

【0012】

上記所望の形質は、小粒性、短稈、および濃緑葉からなる群から選択され得る。

【0013】

本発明は、1つの局面で、上記のベクターで形質転換された植物体に関する。

【0014】

【発明の実施の形態】

本発明によれば、植物の形態を制御する植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドが提供される。本願明細書で用いる用語「植物の形態を制御する」とは、植物において草丈、根長、茎数、葉および種子の形態、ならびに種子収量などを変化させ、植物の品種改良に利用可能な有用農業形質を作出することをいう。用語「植物」は、単子葉植物、双子葉植物を包含する。

20

【0015】

本発明の植物の形態を制御する植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドは、代表的には配列表の配列番号2の1位のMetから689位のValまでのアミノ酸をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸配列が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドである。

【0016】

本発明の植物の形状を制御する植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドは、植物の形状を制御する限り、配列表の配列番号2の1位のMetから689位のValまでのアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性、好ましくは少なくとも85%の配列同一性、より好ましくは少なくとも90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の配列同一性最も好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するポリヌクレオチドを包含する。用語「配列の同一性」は、対比される2つのポリヌクレオチドが同一であることを意味し、対比される2つのポリヌクレオチド配列間の配列同一性の割合(%)は、対比される2つのポリヌクレオチド配列を最適に整列させた後、同一の核酸塩基(例えば、A、T、C、G、またはI)が両方の配列で生じて適合した位置の数を得て適合位置数とし、適合した位置の数を比較ポリヌクレオチド総数で除し、そしてこの結果に100を乗じて計算される。配列同一性は、例えば、以下の配列分析用ツールを用いて算出し得る：U  
n i x ベー ス の G C G W i s c o n s i n P a c k a g e ( P r o g r a m M a n u a l f o r t h e W i s c o n s i n P a c k a g e , V e r s i o n 8 , 1  
9 9 4 年 9 月 , G e n e t i c s C o m p u t e r G r o u p , 5 7 5 S c i e n c e D r i v e M a d i s o n , W i s c o n s i n , U S A 5 3 7 1 1 ; R i c e  
, P . ( 1 9 9 6 ) P r o g r a m M a n u a l f o r E G C G P a c k a g e  
, P e t e r R i c e , T h e S a n g e r C e n t r e , H i n x t o n H a l l , C a m b r i d g e , C B 1 0 1 R Q , E n g l a n d ) お よ び t h e E x P  
A S y W o r l d W i d e W e b 分 子 生 物 学 用 サ ー バ ー ( G e n e v a U n i v e r s i t y H o s p i t a l a n d U n i v e r s i t y o f G e n e v a ,  
G e n e v a , S w i t z e r l a n d ) 。

30

40

50

## 【0017】

本願明細書で用いる用語「制御配列」とは、機能的プロモーターおよび、任意の関連する転写要素（例えば、エンハンサー、CCAATボックス、TATAボックス、SPI部位など）を有するDNA配列をいう。

## 【0018】

本願明細書で用いる用語「作動可能に連結」とは、遺伝子が発現し得るように、ポリヌクレオチドがその発現を調節するプロモーター、エンハンサー等の種々の調節エレメントと宿主細胞中で作動し得る状態で連結されることをいう。

## 【0019】

制御配列のタイプおよび種類が宿主細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。例えば、CaMV35Sプロモーター、ノパリンシンターゼプロモーターなどが当業者に周知である。植物への遺伝子の導入には、当業者に公知の方法が用いられる。例えば、アグロバクテリウムを介する方法と直接植物細胞に導入する方法が周知である。アグロバクテリウムを介する方法は、例えば、Nagelらの方法(Micribiol. Lett., 67, 325 (1990))が用いられ得る。この方法は、まず、例えば発現ベクターをアグロバクテリウムに導入し、ついで、形質転換されたアグロバクテリウムをPlant Molecular Biology Manual (S. B. Gelvin et al., Academic Press Publishers)に記載の方法で植物細胞または植物組織に導入する方法である。ここで、「植物組織」とは、植物細胞の培養により得られるカルスを含む。遺伝子を直接植物細胞または植物組織に導入する方法としては、エレクトロポレーション法、遺伝子銃法が知られている。

10

20

## 【0020】

遺伝子が導入された細胞または植物組織は、まずハイグロマイシン耐性等の薬剤耐性で選択され、次いで定法により植物体に再生される。

## 【0021】

本明細書中、以下で使用される名称、および以下に記載される実験室手順は、当該分野で周知で一般的に用いられる手順を使用する。標準的な技術は、組換え法、ポリヌクレオチド合成、ならびに微生物培養および形質転換（例えば、エレクトロポレーション）について使用される。この技術および手順は、一般的に、当該分野、およびこの書類を通じて提供される種々の一般的な参考文献（一般的には、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版(1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y.を参照。これらは、本明細書中で参考として援用される

30

## 【0022】

## 【実施例】

以下、本願発明を実施例を挙げて説明する。以下の実施例は、本発明を例示するものであって、本発明を限定するものではない。

## 【0023】

(実施例1：培養によるTos17の活性化)

40

イネ品種「あきたこまち」の完熟種子を供試し、カルス培養および細胞懸濁培養を行った。Tos17の活性化はTsugawaおよびSuzuki(2000、Plant Cell Reports 19、371-375)の方法に従って行った。要約すれば、イネの完熟種子を1mg/mlの2,4-D(2,4-ジクロロフェノキシ酢酸)を添加したMS培地(MurashigeおよびSkoog、1962、Physiol. Plant., 15、473-479)上で25℃、1週間の培養を行った後に、KSP培地(TsugawaおよびSuzuki、前述)で3週間の培養を行い、カルス誘導を行った。得られたカルスを1mg/lの2,4-Dを添加したKSP液体培地(TsugawaおよびSuzuki、前述)で約3ヶ月間の懸濁培養を行った。さらにPR培地(TsugawaおよびSuzuki、前述)に移し、約1週間前培養を行った後、再分化R培

50

地 ( T s u g a w a および S u z u k i、前述 ) に移し、再分化イネ ( R<sub>0</sub> 世代植物 ) を得た。

【 0 0 2 4 】

( 実施例 2 : 小粒突然変異体の選抜とその特性 )

約 3 8 0 個体の再分化イネを自殖させ第 1 世代 ( R<sub>1</sub> ) 植物を得て、さらにこれを自殖させて得られた約 3 8 0 系統の第 2 世代 ( R<sub>2</sub> ) を供試材料とし、胚乳形成に関する突然変異体系統を選抜した。突然変異体系統の 1 つ s g 1 ( s m a l l g r a i n 1 ) と命名した系統の玄米は、図 1 の ( A ) に示すように野生型玄米 ( 図 1 の ( B ) ) と比較して小粒であった。

【 0 0 2 5 】

この s g 1 系統を、1 % 寒天培地 ( 梁および一井、1 9 9 6、日作記、6 5、4 7 3 - 4 7 8 ) で栽培し、植物の生育特性および形態的特徴を調査した。図 2 の ( A ) に示すように、幼苗期には、この s g 1 系統は、野生型 ( 図 2 の ( B ) ) と比較して、草丈はほぼ同じであったが、種子根長および冠根長はいずれも野生型に比べて短かった。また図 3 に示すように、側根長もまた、野生型に比べて短かった ( 図 3 の ( A ) : s g 1 系統、および図 3 の ( B ) : 野生型 ) 。

【 0 0 2 6 】

次に、圃場に移植して栽培し、生育特性、形態的特徴および成熟後の玄米の形質を経時的に調査した。図 4 に s g 1 系統の草丈、図 5 に分けつ数 ( 茎数 )、図 6 に根長を、図 7 に葉身を、図 8 に農業形質をそれぞれ野生型と比較して示す。各図において、A および B は、それぞれ s g 1 系統および野生型の結果を示す。

【 0 0 2 7 】

図 4 に示すように、s g 1 変異系統 ( A ) と野生型 ( B ) の草丈の差 ( それぞれ 1 0 株の平均 ) は、移植後日数を経るにつれて若干増大し、草丈が最大に達した時点 ( 移植後約 8 0 日 ) では、s g 1 変異系統の草丈は、約 1 0 % 程度野生型に比べて短かった。

【 0 0 2 8 】

図 5 に示すように、分けつ数は、全調査期間を通じて、s g 1 変異系統 ( A ) は、野生型 ( B ) に比べ 1 0 ~ 2 0 % 程度少なかった ( それぞれ 1 0 株の平均 ) 。図 6 および図 7 は、圃場に移植後 3 0 日の s g 1 変異系統 ( A ) および野生型 ( B ) の植物体を示す。図 6 に見られるように、s g 1 変異系統 ( A ) は、野生型 ( B ) に比べ根長は短かった。また、図 7 に見られるように、s g 1 変異系統 ( A ) は、野生型 ( B ) に比べ、展開した葉身はやや内側に巻いており、そして葉身幅はやや狭かった。

【 0 0 2 9 】

図 8 に示すように、成熟期の農業形質の調査では、s g 1 変異系統の穂長は、野生型とほぼ同じであったが、1 穂当たりの着粒数は野生型に比べ少なく、稔実歩合はやや低く、玄米千粒重量は約 1 5 % 少なく、そして株あたりの収量は約 5 0 % 少なかった。なお、図 8 に示す農業形質の特性値は、常法にしたがって、それぞれ 1 0 株について測定した値の平均値である。

【 0 0 3 0 】

( 実施例 3、S G 1 遺伝子の完全長 c D N A の単離および m R N A の発現 )

s g 1 変異の原因遺伝子を同定単離するために、s g 1 変異が分離するヘテロ集団から、s g 1 変異を示す個体と、正常個体を識別し、それぞれの葉身から、C T A B 法 ( M u r r a y および T h o m p s o n、1 9 8 0、N u c l e i c A c i d s R e s . 8、4 3 2 1 - 4 3 2 5 ) により核 D N A を抽出した。抽出した D N A を制限酵素 X b a I で切断し、T o s 1 7 をプローブとしたゲノミックサザン分析 ( S o u t h e r n、1 9 7 5、J . M o l . B i o l .、9 8、5 0 3 ) を行った。このゲノミックサザン分析によって目的遺伝子の存在を同定し、この遺伝子を含む D N A 断片をテンプレート D N A として、T A I L - P C R により T o s 1 7 挿入部位に隣接する D N A 塩基配列を決定した。

【 0 0 3 1 】

簡単に述べれば、s g 1 変異を示す個体と正常個体から得られた D N A を、それぞれ制限

10

20

30

40

50

酵素 Xba I で切断し、アガロース電気泳動後、ナイロンメンブレンに吸着させた。Tos 17 部分配列 (Xba I - BamHI 断片約 1000 bp) をプローブとして用い、サザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、sg 1 変異を示す個体では、新規挿入 Tos 17 のバンド (約 6800 bp) がホモとして観察されたが、正常個体ではホモとして観察されず、そして挿入 Tos 17 のバンドが sg 1 変異表現型と完全に連鎖していたことがわかった。これらの結果より、標準の Tos 17 プローブとハイブリダイズするバンドで示される DNA が sg 1 変異を引き起こす原因遺伝子を含み、このバンドで表されるゲノム領域に Tos 17 が挿入し、遺伝子型がホモになる際に sg 1 変異体が生じると結論された。そこで、この DNA を鋳型として TAIL-PCR (Liu Y-G. ら、1995、Genomics、25、674-681、Liu Y-G. ら、1995、Plant J.、8、457-463) により Tos 17 に隣接する配列、つまり sg 1 変異の原因遺伝子の一部の単離を行った。

10

## 【0032】

まず、新たな Tos 17 標的部位を持つ再生植物からの総 DNA を抽出し、制限酵素 Xba I で切断した後、電気泳動を行い、Tos 17 標的部位の核 DNA 断片を切り出して、これを鋳型として、以下に示す 3 セットのプライマーを用いる 3 回の TAIL-PCR により増幅反応を行った。第 1 回：Tos 17 に特異的なプライマー T1、AGTCGCTGATTTCTTCAACCAAGG および任意プライマー A1、NGTCGA (G/C) (A/T) GANA (A/T) GAA。第 2 回目：Tos 17 に特異的なプライマー T2、GAGAGCATCATCGGTTACATCTTCTC および任意プライマー A1。第 3 回：Tos 17 に特異的なプライマー T3、ATCCACCTTGAGTTTGAGG および A1。次に 3 回目の TAIL-PCR 産物をアガロースで電気泳動を行い、目的の DNA 断片を精製した。市販の Dye Cycle 法を用いたラベリングキット (PE Biosystems 社) を用いて、この DNA をテンプレートとしたシーケンシング反応液を調製し、PCR (96、3分、1 サイクル; 96、30秒、50、15秒、60、4分、25 サイクル) を行い、373 S DNA Sequencer (PE Biosystems 社) で Tos 17 に隣接する目的遺伝子の DNA 配列を決定した。

20

## 【0033】

得られた塩基配列をもとに目的遺伝子に特異的なプライマー SP1、TTGGACATTGCCGGATTGCCCTAT および SP2、ACAAGGGAAACTGGAGTTGCTGA を設計し、常法にしたがって、PCR 法によって目的遺伝子の断片を増幅した。得られた断片 (284 bp) をプローブとして用い、イネ種子カルスで発現する mRNA から作製した cDNA ライブラリー (ZAPII の XhoI - EcoRI にクローニングしたライブラリー) を 3 回スクリーニングし、目的遺伝子の cDNA をプラスミド pBluescript SK (-) のマルチクローニング部位中 (XhoI - EcoRI) にクローニングした (図 9)。そしてクローニングした cDNA の全塩基配列を常法に従い決定し、この cDNA から推定されるアミノ酸配列をコードする遺伝子を SG1 と命名した。この cDNA クローン挿入は、全長 2576 塩基で、2070 塩基 (689 アミノ酸残基に相当) を有するアミノ酸翻訳領域をコードしていた (図 10)。

30

40

## 【0034】

このイネ cDNA をプローブとして用い、野生型の核 DNA 抽出物についてサザン分析を行ったところ、SG1 遺伝子はイネ核ゲノムに 1 コピーのみ存在し、また日本データバンク (DDBJ) に登録されている全遺伝子を対象とした相同性検索を実施した結果、この cDNA 塩基配列と相同性を有する遺伝子は見出されなかった。従って、SG1 遺伝子は、新規遺伝子であると結論付けられた。

## 【0035】

sg 1 系統と野生型の植物体における、SG1 遺伝子の mRNA の発現をノーザン分析で調べたところ、野生型では、特に根におけるの発現量が多く、そして種子カルス、根、葉および幼穂においてその発現が確認された (図 11: A は sg 1 系統および B は野生型の

50

ノーザン分析の結果を示すレーンである)。その一方、s g 1系統のカルスおよび葉ではその発現はわずかながら検出された。なお、成熟玄米については、いずれもS G 1遺伝子のm R N Aは検出されなかった(データは示さず)。

(実施例4: S G 1遺伝子を導入した形質転換植物の発現)

クローニングしたS G 1遺伝子の機能を確認するために、S G 1遺伝子、およびS G 1遺伝子アンチセンス配列をバイナリーベクターp P Z P 2 0 2に導入し、形質転換ベクターを構築した(図12)。S G 1遺伝子としては、配列番号1の1~2576のヌクレオチド配列にプラスミドp B l u e s c r i p t S K ( - )のマルチクローニング部位の一部を含んだ2645bpのヌクレオチド配列を、S G 1遺伝子アンチセンス配列としては、配列番号1の1~2576のヌクレオチド配列にプラスミドp B l u e s c r i p t S K ( - )のマルチクローニング部位の一部を含んだ2605bpのヌクレオチド配列を、バイナリーベクターp P Z P 2 0 2の中のK p n I - S a c I部位、およびB a m H I - K p n I部位にそれぞれ挿入した。各遺伝子は、プロモーターC a M V 3 5 Sとフレームが合うように挿入した。なお、図12の(A)中、H P T s e tは、ハイグロマイシン耐性遺伝子を、35Sは、C a M V 3 5 Sプロモーターを、そしてN O Sは、N O Sターミネーターをそれぞれ表す。

#### 【0036】

得られた形質転換ベクターを用いて、エレクトロポレーションにより、50mg/lのカナマイシンおよびハイグロマイシンの選択下でA g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s E H A 1 0 1株を形質転換した。得られたアグロバクテリウム株は、使用するまで凍結保存した。

#### 【0037】

野生型の種子から穎を除き玄米とし、これを70%エタノールで3分間殺菌し、殺菌蒸留水で3回洗浄した後、さらに50%の次亜塩酸ナトリウム溶液で30分間殺菌し、そして殺菌蒸留水で5回洗浄した。この玄米を、30g/lシュクロース、0.3g/lカザミノ酸、2.8g/lのプロリン、2.0mg/lの2,4-Dを添加し、4.0g/lのゲルライトで固化させたN6培地(C h u ら、1975、S c i . S i n i c a、18、659-668)を含むカルス誘導培地上に置いた。なお、培地pHはオートクレーブ前にpH5.8に調整した。玄米は、28℃で4週間明所で生育させ、約5mmの大きさのカルスを得た。このカルスをアグロバクテリウム感染に用いた。

#### 【0038】

グリセロール中で凍結保存した上記のアグロバクテリウムを、20mg/lのカナマイシン、50mg/lのハイグロマイシン、100mg/lのスペクノマイシンを含みpH7.2に調整し、15g/lの寒天で固化したAB培地(C h i l t o n ら、1974、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A、71、3672-3676)上で暗所で28℃3日間の培養を行った。アグロバクテリウム菌体を集め、10mg/lのアセトンシリゴン(H i e i ら、1994、P l a n t J .、6、271-282)を含む液体AAM培地(H i e i ら、1994)に懸濁した。得られた懸濁液の中に上記のカルスを2分間浸漬した後、殺菌したペーパータオルで余分の水分を除き、これを10mg/lアセトンシリゴンを含む上記のカルス誘導培地に置き、暗所で28℃、3日間の共存培養を行い、アグロバクテリウムを感染させた。得られた感染カルスを殺菌蒸留水で10回洗浄し、最後に500mg/lのカルベニシリンを含む殺菌蒸留水で1回洗浄した後、殺菌したペーパータオルで余分の水分を除いた。このカルスを10mg/lアセトンシリゴン、50mg/lハイグロマイシン、300mg/lカルベニシリンを含む上記のカルス誘導培地で28℃、2週間の培養を行い、さらに50mg/lハイグロマイシン、100mg/lカルベニシリンを含むカルス誘導培地で4週間の培養を行った。ハイグロマイシン耐性カルスを選択し、30g/lのシュクロース、30g/lのソルビトール、2g/lのカザミノ酸、2.2mg/lのカイネチン、1.0mg/lのN A A、100mg/lのカルベニシリン、50mg/lのハイグロマイシンおよび4g/lのゲルライトを含むpH5.8のMS基礎培地(M u r a s h i g e およびS k o o g、1962、P h



ysi ol . P l a n t .、 1 5、 4 7 3 - 4 9 7 ) を含む再生培地に移した。

【 0 0 3 9 】

形質転換体は、ハイグロマイシンを含む再生培地で容易に再生し、土壌に移して栽培した。

【 0 0 4 0 】

野生型のイネに S G 1 遺伝子アンチセンス配列を導入した結果、得られた再分化当代 ( T<sub>0</sub> ) の形質転換イネの生育は、非形質転換イネと同等であったが、T<sub>0</sub> を自殖させて得られた種子 ( 玄米 ) ( T<sub>1</sub> ) には、野生型に比べ小粒性を呈するものが認められた ( 図 1 3 の ( A ) : 図 1 3 ( B ) は対照の野生型の種子である ) 。

【 0 0 4 1 】

この玄米 ( T<sub>1</sub> ) を発芽させ、ハイグロマイシン添加培地で生育させたところ、耐性を有する個体および耐性を有さない個体に分離した。ハイグロマイシン耐性を有する個体 ( 形質転換体 ) を養成し、形質転換植物の形態的特性を調べた。その結果、様々な草丈を有する個体が観察された、この中には s g 1 突然変異体と同じ特徴的形質を示す個体があった。

10

【 0 0 4 2 】

野生型と異なる表現型を示す形質転換イネ ( T<sub>1</sub> ) の葉身から、上記と同様に、ゲノム D N A を抽出し、S G 1 遺伝子断片をプローブとして用いサザン分析を行ったところ、導入された S G 1 遺伝子アンチセンス配列のコピー数は、個体により異なり、調査した 3 個体 ( S - 1、S - 2、S - 3 ) では 1 ~ 3 個であることが判明した ( 図 1 4 : S G 1 遺伝子の c D N A 内部に制限酵素部位の無い、4 種類の制限酵素で処理したサザン分析の結果である。野生型 ( B ) の 1 ~ 4 レーンはいずれもバンドは 1 本であり、S G 1 遺伝子のコピー数は 1 である。形質転換イネ S - 1 株ではバンドの数は 4、S - 2 株は 2、S - 3 株は 3 であったので、新たに導入した S G 1 遺伝子アンチセンス配列の数はそれぞれ 3、1 および 2 である。 ) 。また、形質転換イネ ( R<sub>1</sub> ) の葉身から全 R N A を抽出し、S G 1 遺伝子断片をプローブとして用いノーザン分析を行ったところ、導入した S G 1 遺伝子アンチセンス配列の m R N A が多量に発現していた ( 図 1 5 の A は形質転換イネ、そして図 1 5 の B は対照である非形質転換イネのノーザン分析である ) 。

20

【 0 0 4 3 】

以上のように、S G 1 遺伝子アンチセンス配列の導入により、植物形質転換体は、草丈を含む、種々の形質を変化させることが判明した。従って、S G 1 遺伝子は植物の形態形成を含む種々の形質に大きな影響を与えることが確認された。本発明により提供される形質転換植物は、新しい品種開発の材料として利用可能である。

30

【 0 0 4 4 】

【 発明の効果 】

植物の根および幼穂で高発現する新規遺伝子が提供される。この遺伝子を利用することにより、種々の形態をもつ植物が提供される。

【 0 0 4 5 】

【 配列表 】

## SEQUENCE LISTING

<110> Hokuriku National Agricultural Experiment Station

<120> A novel gene which controls a shape, a method for improving a plant using the same, and a plant obtained by the method.

<140> JP

<141> 2000-10-19

10

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2576

<212> DNA

<213> Rice

<220>

20

<221> CDS

<222> (259)..(2328)

<400> 1

tcgagcgaat tcigaaatcc ccaaattcct ctcgcctct cctcccccc ccttacagta 60

tttcaaaata ttcaaatca cactacactc tcgctgtct cctctcctct cctctcctcc 120

ccctctctc cgctctctc gcactcigagg ctccgatcgc cggcgacccc agccagaatc 180

cgccgccccg tctcgccctc cccgctcgac gagaccgcgc cgagcggcga agaggcctag 240

30

tgttcttcgc acctcgcg atg agt agc gcg gtg aag gac cag ctt cac cag 291

Met Ser Ser Ala Val Lys Asp Gln Leu His Gln

1

5

10

atg tcg acg aca tgc gat tcg ctt cta ctg gag ctc aat gtg att tgg 339

Met Ser Thr Thr Cys Asp Ser Leu Leu Leu Glu Leu Asn Val Ile Trp

15

20

25

gat gag gtc ggt gag ccc gac acg acg agg gaa agg atg ctg ctg gag 387

40

Asp Glu Val Gly Glu Pro Asp Thr Thr Arg Glu Arg Met Leu Leu Glu

30	35	40		
ctc gag cag gag tgc ctg gag gtc tac agg cgg aag gtc gac cag gcg	435			
Leu Glu Gln Glu Cys Leu Glu Val Tyr Arg Arg Lys Val Asp Gln Ala				
45	50	55		
aac cgg agc cgc gcc cag ctg cgg aag gcc atc gcc gag ggc gag gca	483			
Asn Arg Ser Arg Ala Gln Leu Arg Lys Ala Ile Ala Glu Gly Glu Ala				
60	65	70	75	10
gag ctc gcc ggc atc tgc tca gcc atg ggc gag ccg ccc gtg cac gtt	531			
Glu Leu Ala Gly Ile Cys Ser Ala Met Gly Glu Pro Pro Val His Val				
80	85	90		
aga cag tca aat cag aag ctt cat ggc tta aga gag gag ttg aat gca	579			
Arg Gln Ser Asn Gln Lys Leu His Gly Leu Arg Glu Glu Leu Asn Ala				
95	100	105		
att gtt ccg tat ttg gaa gaa atg aaa aag aaa aag gtc gaa cga tgg	627			20
Ile Val Pro Tyr Leu Glu Glu Met Lys Lys Lys Lys Val Glu Arg Trp				
110	115	120		
aac cag ttt gtt cat gtc ata gag cag att aag aaa att tcg tct gaa	675			
Asn Gln Phe Val His Val Ile Glu Gln Ile Lys Lys Ile Ser Ser Glu				
125	130	135		
ata agg cca gcc gat ttt gtt ccc ttt aaa gtt ccg gtt gat cag tct	723			
Ile Arg Pro Ala Asp Phe Val Pro Phe Lys Val Pro Val Asp Gln Ser				30
140	145	150	155	
gac ctg tca tta aga aag ctt gat gag ttg acg aag gac ctg gaa tcc	771			
Asp Leu Ser Leu Arg Lys Leu Asp Glu Leu Thr Lys Asp Leu Glu Ser				
160	165	170		
ctt cag aag gag aag agc gat cgg cta aag caa gtg ata gaa cat ttg	819			
Leu Gln Lys Glu Lys Ser Asp Arg Leu Lys Gln Val Ile Glu His Leu				
175	180	185		40
aat tct ttg cat tcc tta tgt gag gtg ctt ggc ata gat ttc aag caa	867			

Asn Ser Leu His Ser Leu Cys Glu Val Leu Gly Ile Asp Phe Lys Gln		
190	195	200
aca gta tat gag gtg cac cct agc ttg gac gaa gct gaa gga tca aag	915	
Thr Val Tyr Glu Val His Pro Ser Leu Asp Glu Ala Glu Gly Ser Lys		
205	210	215
aac ctg agc aac act aca att gag agg ctt gct gct gcc gca aac aga	963	
Asn Leu Ser Asn Thr Thr Ile Glu Arg Leu Ala Ala Ala Ala Asn Arg		10
220	225	230
ctg cgt gaa atg aag atc caa agg atg caa aag ctt caa gat ttt gct	1011	
Leu Arg Glu Met Lys Ile Gln Arg Met Gln Lys Leu Gln Asp Phe Ala		
240	245	250
tct agc atg ctc gag cta tgg aat ctc atg gat act cca ctt gaa gag	1059	
Ser Ser Met Leu Glu Leu Trp Asn Leu Met Asp Thr Pro Leu Glu Glu		
255	260	265
cag cag atg ttt cag aat ata aca tgc aat att gct gct tca gaa caa	1107	
Gln Gln Met Phe Gln Asn Ile Thr Cys Asn Ile Ala Ala Ser Glu Gln		
270	275	280
gag ata act gaa cca aac acc ctc tcc aca gat ttc ctg aat tat gtc	1155	
Glu Ile Thr Glu Pro Asn Thr Leu Ser Thr Asp Phe Leu Asn Tyr Val		
285	290	295
gaa tct gag gtg tta agg ctt gaa caa ctg aaa gca agt aag atg aaa	1203	30
Glu Ser Glu Val Leu Arg Leu Glu Gln Leu Lys Ala Ser Lys Met Lys		
300	305	310
gat ctt gtt tta aaa aag aaa gca gaa cta gaa gag cat aga aga cgt	1251	
Asp Leu Val Leu Lys Lys Lys Ala Glu Leu Glu Glu His Arg Arg Arg		
320	325	330
gct cat ctt gtt ggc gag gaa ggt tat gca gag gag ttt agc att gaa	1299	
Ala His Leu Val Gly Glu Glu Gly Tyr Ala Glu Glu Phe Ser Ile Glu		40
335	340	345

gct att gaa gct gga gct att gat ccc tca cta gta ctt gaa caa att	1347	
Ala Ile Glu Ala Gly Ala Ile Asp Pro Ser Leu Val Leu Glu Gln Ile		
350 355 360		
gaa gct cac att gca aca gtg aaa gag gaa gct ttt agc cgg aag gat	1395	
Glu Ala His Ile Ala Thr Val Lys Glu Glu Ala Phe Ser Arg Lys Asp		
365 370 375		
att ctt gag aaa gtt gaa aga tgg caa aat gct tgt gaa gag gaa gcc	1443	10
Ile Leu Glu Lys Val Glu Arg Trp Gln Asn Ala Cys Glu Glu Glu Ala		
380 385 390 395		
tgg ctg gaa gat tac aac aaa gat gat aat cgt tac aat gct ggg agg	1491	
Trp Leu Glu Asp Tyr Asn Lys Asp Asp Asn Arg Tyr Asn Ala Gly Arg		
400 405 410		
gga gca cat cta aca cta aag agg gct gaa aag gct cgt act ttg gtc	1539	
Gly Ala His Leu Thr Leu Lys Arg Ala Glu Lys Ala Arg Thr Leu Val		20
415 420 425		
aac aag att cct gga atg gta gat gtt ttg aga aca aaa att gct gca	1587	
Asn Lys Ile Pro Gly Met Val Asp Val Leu Arg Thr Lys Ile Ala Ala		
430 435 440		
tgg aaa aat gaa cga gga aag gag gat ttc aca tat gat ggt gtt agc	1635	
Trp Lys Asn Glu Arg Gly Lys Glu Asp Phe Thr Tyr Asp Gly Val Ser		
445 450 455		30
ctt tcg tca atg ctt gat gaa tat atg ttc gtt cgt cag gag aaa gag	1683	
Leu Ser Ser Met Leu Asp Glu Tyr Met Phe Val Arg Gln Glu Lys Glu		
460 465 470 475		
caa gag aag aag aga caa agg gat cag aag aag ctc cag gat cag ctc	1731	
Gln Glu Lys Lys Arg Gln Arg Asp Gln Lys Lys Leu Gln Asp Gln Leu		
480 485 490		
aaa gcg gag cag gaa gct ttg tac gga tca aaa ccc agt cca tcc aag	1779	40
Lys Ala Glu Gln Glu Ala Leu Tyr Gly Ser Lys Pro Ser Pro Ser Lys		

ccc cta agt aca aag aag gca cct agg cac tct atg ggt ggt gca aac	1827	
Pro Leu Ser Thr Lys Lys Ala Pro Arg His Ser Met Gly Gly Ala Asn		
510	515	520
cga agg cta tct ctt ggt gga gcc acc atg caa ccc ccg aag act gat	1875	
Arg Arg Leu Ser Leu Gly Gly Ala Thr Met Gln Pro Pro Lys Thr Asp		
525	530	535
ata ctg cat tca aag tct gtt cgt gct gcc aag aaa act gaa gaa atc	1923	
Ile Leu His Ser Lys Ser Val Arg Ala Ala Lys Lys Thr Glu Glu Ile		
540	545	550
ggc act ttg tcc cct agt agt aga ggt ttg gac att gcc gga ttg cct	1971	
Gly Thr Leu Ser Pro Ser Ser Arg Gly Leu Asp Ile Ala Gly Leu Pro		
560	565	570
atc aag aag ttg tct ttc aat gcc agt act cta cgt gag acg gag aca	2019	20
Ile Lys Lys Leu Ser Phe Asn Ala Ser Thr Leu Arg Glu Thr Glu Thr		
575	580	585
cct cgt aaa cct ttt gct cag atc aca cca gga aac agt gtc tcg tcg	2067	
Pro Arg Lys Pro Phe Ala Gln Ile Thr Pro Gly Asn Ser Val Ser Ser		
590	595	600
acg cct gtg cgc cct atc acc aat aac act gag gat gat gag aac agg	2115	
Thr Pro Val Arg Pro Ile Thr Asn Asn Thr Glu Asp Asp Glu Asn Arg		30
605	610	615
act ccg aag aca ttt aca gca ctg aat ccc aag act ccg atg act gtt	2163	
Thr Pro Lys Thr Phe Thr Ala Leu Asn Pro Lys Thr Pro Met Thr Val		
620	625	630
acg gct cca atg cag atg gca atg act ccc tct ctg gcc aac aag gtt	2211	
Thr Ala Pro Met Gln Met Ala Met Thr Pro Ser Leu Ala Asn Lys Val		
640	645	650
tca gca act cca gtt tcc ctt gtt tac gac aag cca gag gta aca ttg	2259	40

Ser Ala Thr Pro Val Ser Leu Val Tyr Asp Lys Pro Glu Val Thr Leu	
655	660
cag gag gac atc gac tac tcc ttt gaa gaa agg cgg ctc gcc atc tat	2307
Gln Glu Asp Ile Asp Tyr Ser Phe Glu Glu Arg Arg Leu Ala Ile Tyr	
670	675
ctg gcc agg caa atg gtt taa ctgttgatca atttatgtac gtagttgaaa	2358
Leu Ala Arg Gln Met Val	10
685	690
tcctgactgca tttcttctgct ggtggccatt gcgtatgttg gtcaacaata gtcggccttt	2418
ccagtagcac tattctgatt tactgcaatt gtittaatgt tttctacaac cagtaaaaca	2478
gctctataca tttagcttgcct cactactcag tacagcttcc tcggcagcac gaaacatttc	2538
tgttctaaaa aaaaaaaaaa aaaaactcgc tcgtgccc	2576
<210> 2	20
<211> 689	
<212> PRT	
<400> 2	
Met Ser Ser Ala Val Lys Asp Gln Leu His Gln Met Ser Thr Thr Cys	
1	5
10	15
Asp Ser Leu Leu Leu Glu Leu Asn Val Ile Trp Asp Glu Val Gly Glu	
20	25
30	
Pro Asp Thr Thr Arg Glu Arg Met Leu Leu Glu Leu Glu Gln Glu Cys	
35	40
45	
Leu Glu Val Tyr Arg Arg Lys Val Asp Gln Ala Asn Arg Ser Arg Ala	
50	55
60	
Gln Leu Arg Lys Ala Ile Ala Glu Gly Glu Ala Glu Leu Ala Gly Ile	
65	70
75	80
Cys Ser Ala Met Gly Glu Pro Pro Val His Val Arg Gln Ser Asn Gln	40
85	90
95	

Lys	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Glu	Glu	Leu	Asn	Ala	Ile	Val	Pro	Tyr	Leu	
			100					105					110			
Glu	Glu	Met	Lys	Lys	Lys	Lys	Val	Glu	Arg	Trp	Asn	Gln	Phe	Val	His	
			115					120					125			
Val	Ile	Glu	Gln	Ile	Lys	Lys	Ile	Ser	Ser	Glu	Ile	Arg	Pro	Ala	Asp	
			130					135					140			
Phe	Val	Pro	Phe	Lys	Val	Pro	Val	Asp	Gln	Ser	Asp	Leu	Ser	Leu	Arg	10
			145			150				155					160	
Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asp	Leu	Glu	Ser	Leu	Gln	Lys	Glu	Lys	
			165							170					175	
Ser	Asp	Arg	Leu	Lys	Gln	Val	Ile	Glu	His	Leu	Asn	Ser	Leu	His	Ser	
			180							185					190	
Leu	Cys	Glu	Val	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Gln	Thr	Val	Tyr	Glu	Val	
			195							200					205	20
His	Pro	Ser	Leu	Asp	Glu	Ala	Glu	Gly	Ser	Lys	Asn	Leu	Ser	Asn	Thr	
			210					215							220	
Thr	Ile	Glu	Arg	Leu	Ala	Ala	Ala	Ala	Asn	Arg	Leu	Arg	Glu	Met	Lys	
			225					230							240	
Ile	Gln	Arg	Met	Gln	Lys	Leu	Gln	Asp	Phe	Ala	Ser	Ser	Met	Leu	Glu	
			245							250					255	
Leu	Trp	Asn	Leu	Met	Asp	Thr	Pro	Leu	Glu	Glu	Gln	Gln	Met	Phe	Gln	30
			260												270	
Asn	Ile	Thr	Cys	Asn	Ile	Ala	Ala	Ser	Glu	Gln	Glu	Ile	Thr	Glu	Pro	
			275												285	
Asn	Thr	Leu	Ser	Thr	Asp	Phe	Leu	Asn	Tyr	Val	Glu	Ser	Glu	Val	Leu	
			290												300	
Arg	Leu	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Ser	Lys	Met	Lys	Asp	Leu	Val	Leu	Lys	
			305												320	40
Lys	Lys	Ala	Glu	Leu	Glu	Glu	His	Arg	Arg	Arg	Ala	His	Leu	Val	Gly	



	325		330		335	
Glu Glu Gly Tyr	Ala Glu Glu Phe Ser	Ile Glu Ala Ile	Glu Ala Gly			
	340		345		350	
Ala Ile Asp Pro Ser	Leu Val Leu Glu Gln	Ile Glu Ala His	Ile Ala			
	355		360		365	
Thr Val Lys Glu Glu	Ala Phe Ser Arg Lys	Asp Ile Leu Glu	Lys Val			
	370		375		380	
Glu Arg Trp Gln Asn	Ala Cys Glu Glu Glu	Ala Trp Leu Glu	Asp Tyr			
	385		390		395	
Asn Lys Asp Asp Asn	Arg Tyr Asn Ala Gly	Arg Gly Ala His	Leu Thr			
	405		410		415	
Leu Lys Arg Ala Glu	Lys Ala Arg Thr Leu	Val Asn Lys Ile	Pro Gly			
	420		425		430	
Met Val Asp Val Leu	Arg Thr Lys Ile Ala	Ala Ala Trp Lys	Asn Glu Arg			
	435		440		445	
Gly Lys Glu Asp Phe	Thr Tyr Asp Gly Val	Ser Leu Ser Ser	Met Leu			
	450		455		460	
Asp Glu Tyr Met Phe	Val Arg Gln Glu Lys	Glu Gln Glu Lys	Lys Arg			
	465		470		475	
Gln Arg Asp Gln Lys	Lys Leu Gln Asp Gln	Leu Lys Ala Glu	Gln Glu			
	485		490		495	
Ala Leu Tyr Gly Ser	Lys Pro Ser Pro Ser	Lys Pro Leu Ser	Thr Lys			
	500		505		510	
Lys Ala Pro Arg His	Ser Met Gly Gly Ala	Asn Arg Arg Leu	Ser Leu			
	515		520		525	
Gly Gly Ala Thr Met	Gln Pro Pro Lys Thr	Asp Ile Leu His	Ser Lys			
	530		535		540	
Ser Val Arg Ala Ala	Lys Lys Thr Glu Glu	Ile Gly Thr Leu	Ser Pro			
	545		550		555	
					560	

10

20

30

40

Ser Ser Arg Gly Leu Asp Ile Ala Gly Leu Pro Ile Lys Lys Leu Ser  
565 570 575

Phe Asn Ala Ser Thr Leu Arg Glu Thr Glu Thr Pro Arg Lys Pro Phe  
580 585 590

Ala Gln Ile Thr Pro Gly Asn Ser Val Ser Ser Thr Pro Val Arg Pro  
595 600 605

Ile Thr Asn Asn Thr Glu Asp Asp Glu Asn Arg Thr Pro Lys Thr Phe  
610 615 620

Thr Ala Leu Asn Pro Lys Thr Pro Met Thr Val Thr Ala Pro Met Gln  
625 630 635 640

Met Ala Met Thr Pro Ser Leu Ala Asn Lys Val Ser Ala Thr Pro Val  
645 650 655

Ser Leu Val Tyr Asp Lys Pro Glu Val Thr Leu Gln Glu Asp Ile Asp  
660 665 670

Tyr Ser Phe Glu Glu Arg Arg Leu Ala Ile Tyr Leu Ala Arg Gln Met  
675 680 685

Val

10

20

【図面の簡単な説明】

【図1】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の玄米の写真である。  
(A) は s g 1 の玄米、そして (B) は野生型の玄米である。

【図2】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の幼植物の写真である。  
(A) は s g 1 の幼植物、そして (B) は野生型の幼植物である。

30

【図3】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の幼植物の側根を示す写真である。  
(A) は s g 1 の幼植物、そして (B) は野生型の幼植物である。

【図4】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の草丈の経日変化を示す図である。  
(A) は s g 1 系統、そして (B) は野生型の草丈を示す。

【図5】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の茎数の経日変化を示す図である。  
(A) は s g 1 系統、そして (B) は野生型の茎数を示す。

【図6】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の圃場移植後 30 日目の植物体の写真である。  
(A) は s g 1 系統、そして (B) は野生型である。

【図7】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の圃場移植直後の植物体の写真である。  
(A) は s g 1 系統、そして (B) は野生型である。

40

【図8】あきたこまちの野生型およびその胚乳形成突然変異体 s g 1 の成熟期の農業形質の比較を示す図である。  
(A) は s g 1 系統、そして (B) は野生型である。

【図9】S G 1 遺伝子のプラスミド p B l u e s c r i p t S K ( - ) 中にクローニングされた c D N A 断片の概略を示す図である。

【図10】S G 1 遺伝子の塩基配列および推定されるアミノ酸配列を示す図である。

【図11】s g 1 系統と野生型植物体の各器官における m R N A の発現を示す図である。  
(A) は s g 1 系統、そして (B) は野生型である。

【図12】S G 1 遺伝子 (センス) およびアンチセンス S G 1 遺伝子を含む形質転換ベクターの一部を示す図である。  
(A) は、センス S G 1 遺伝子を、(B) は、アンチセンス

50

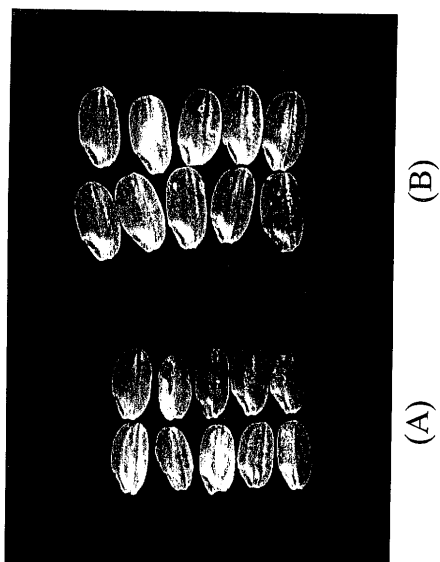
S G 1 遺伝子をそれぞれ含む形質転換ベクターの一部を示す図である。

【図 1 3】アンチセンス S G 1 遺伝子を導入した形質転換イネの玄米 ( A ) と非形質転換イネの玄米 ( B ) の写真である。

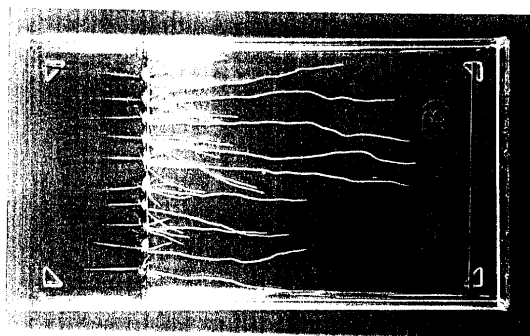
【図 1 4】アンチセンス S G 1 遺伝子を導入した形質転換イネ ( S - 1、S - 2、S - 3 ) と非形質転換イネ ( B ) における S G 1 遺伝子のコピー数の比較を示す図である。

【図 1 5】アンチセンス S G 1 遺伝子を導入した形質転換イネと非形質転換イネ ( B ) への葉身における m R N A の発現の比較を示す図である。

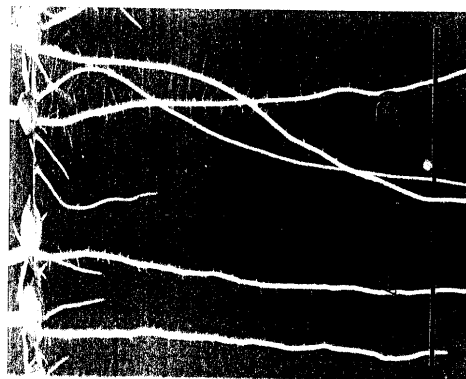
【 図 1 】



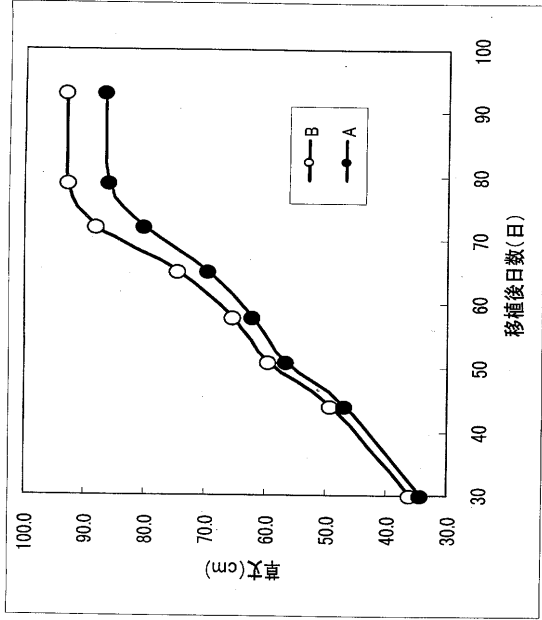
【 図 2 】



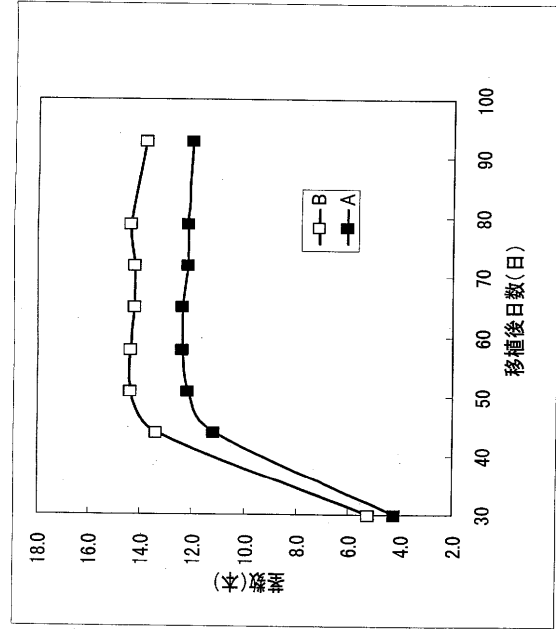
【 図 3 】



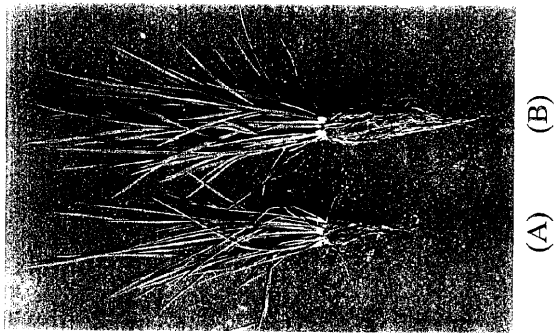
【 図 4 】



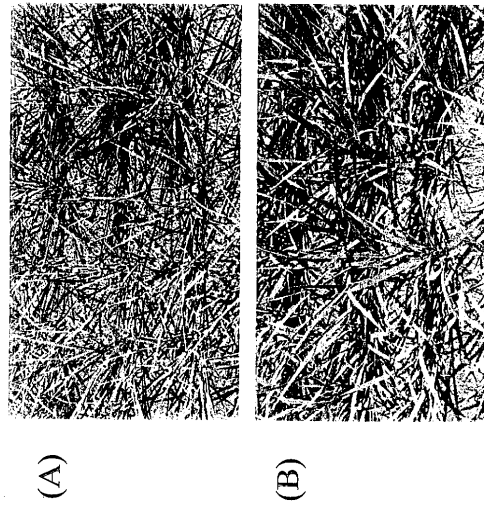
【 図 5 】



【 図 6 】

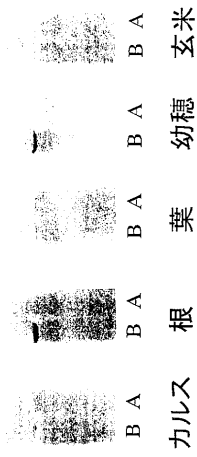


【 図 7 】



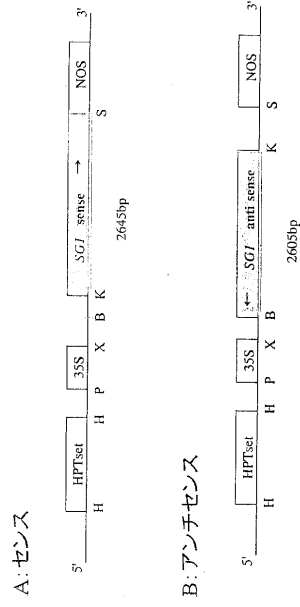


【 図 1 1 】



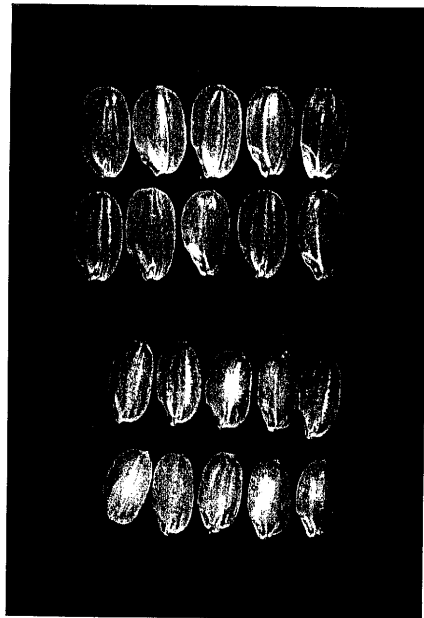
玄米

【 図 1 2 】



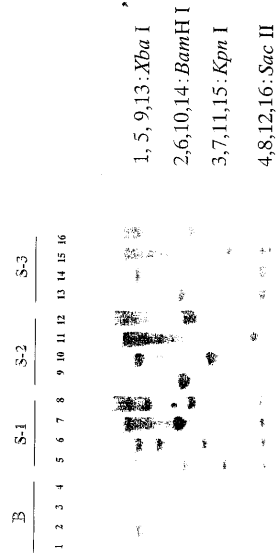
H: *Hind* III;  
P: *Pst* I;  
X: *Xba* I;  
B: *Bam*HI;  
K: *Kpn* I;  
S: *Sac* I

【 図 1 3 】



(A) (B)

【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



---

フロントページの続き

(72)発明者 青木 秀之

新潟県上越市稲田1-4-19 越路寮7号

(72)発明者 王 慶 ギョク

新潟県上越市鴨島3-7-31コーポタナベ201

審査官 長井 啓子

(56)参考文献 武田真ら, 育種学研究 . vol.1(4), pp.243-248 (1999)

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, D B名)

C12N 15/00

SwissProt/PIR/GeneSeq

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

BIOSIS/WPIDS(STN)