

別添資料一覧

1. 別添資料 1 : 宿主内に移入された核酸全体の構成
2. 別添資料 2 : ベクターに関する情報
3. 別添資料 3 : 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性
4. 別添資料 4 : 閉鎖系温室並びに特定網室における試験の結果
5. 別添資料 5 : 隔離ほ場試験及び栽培条件検討試験のための隔離ほ場利用計画
6. 別添資料 6 : 国外における使用等により得られた情報
7. 別添資料 7 : 隔離ほ場周辺の植生調査

「宿主内に移入された核酸全体の構成」

[目次]

1. pSPB130 の T-DNA の塩基配列

1

1. pSPB130 の T-DNA の塩基配列

<u>GGTTGGCATGCACATACAAATGGACGAACGGATAAACCTTTTCACGCCCTTTTAAATATC</u>	60
<i>Right border</i>	
<u>CGATTATTCTAATAAACGCTCTTTTCTCTTAGGTTTACCCGCCAATATATCCTGTCAAAC</u>	120
<u>ACTGATAGTTTAAACTGAAGGCGGGAAACGACAATCTGATCATGAGCGGAGAATTAAGGG</u>	180
AGTCACGTTATGACCCCCGCCGATGACGCGGGACAAGCCGTTTTACGTTTGGAACTGACA	240
GAACCGCAACGTTGAAGGAGCCACTCAGCCGCGGGTTTCTGGAGTTTAATGAGCTAAGCA	300
CATACGTCAGAAACCATTATTGCGCGTTCAAAGTCGCCTAAGGTCACTATCAGCTAGCA	360
AATATTTCTTGTCAAAAATGCTCCACTGACGTTCCATAAATCCCCTCGGTATCCAATTA	420
GAGTCTCATATTTCACTCTCAATCCAAATAATCTGCACCGGATCTGGATCGTTTCGCATGA	480
	<i>NPT II</i> <i>Met I</i>
<u>TTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCT</u>	540
<i>leGluGlnAspGlyLeuHisAlaGlySerProAlaAlaTrpValGluArgLeuPheGlyT</i>	
<u>ATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGC</u>	600
<i>yrAspTrpAlaGlnGlnThrIleGlyCysSerAspAlaAlaValPheArgLeuSerAlaG</i>	

PstI

AGGGGCGCCCGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCAGG 660
lnGlyArgProValLeuPheValLysThrAspLeuSerGlyAlaLeuAsnGluLeuGlnA

ACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGCGCAGCTGTGCTCG 720
spGluAlaAlaArgLeuSerTrpLeuAlaThrThrGlyValProCysAlaAlaValLeuA

ACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATC 780
spValValThrGluAlaGlyArgAspTrpLeuLeuLeuGlyGluValProGlyGlnAspL

TCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGC 840
euLeuSerSerHisLeuAlaProAlaGluLysValSerIleMetAlaAspAlaMetArgA

GGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATTCGACCACCAAGCGAAACATCGCATCG 900
rgLeuHisThrLeuAspProAlaThrCysProPheAspHisGlnAlaLysHisArgIleG

AGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGC 960
luArgAlaArgThrArgMetGluAlaGlyLeuValAspGlnAspAspLeuAspGluGluH

ATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAACTGTTCCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCCGACGGCG 1020
isGlnGlyLeuAlaProAlaGluLeuPheAlaArgLeuLysAlaArgMetProAspGlyA

NcoI

ATGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAAATGGCC 1080
spAspLeuValValThrHisGlyAspAlaCysLeuProAsnIleMetValGluAsnGlyA

GCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTATCAGGACATAG 1140
rgPheSerGlyPheIleAspCysGlyArgLeuGlyValAlaAspArgTyrGlnAspIleA

CGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTCG 1200
laLeuAlaThrArgAspIleAlaGluGluLeuGlyGlyGluTrpAlaAspArgPheLeuV

<u>TGCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTTCGCAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACG</u>	1260
<i>alLeuTyrGlyIleAlaAlaProAspSerGlnArgIleAlaPheTyrArgLeuLeuAspG</i>	
<u>AGTTCTTCTGAGCGGGACTCTGGGGTTCGAAATGACCGACCAAGCGACGCCAACCTGCC</u>	1320
<i>luPhePhe</i>	
<u>ATCACGAGATTTTCGATTCCACCGCCGCCTTCTATGAAAGGTTGGGCTTCGGAATCGTTTT</u>	1380
<u>CCGGGACGCCGGCTGGATGATCCTCCAGCGCGGGGATCTCATGCTGGAGTTCTTCGCCCA</u>	1440
<u>CGGGATCTCTGCGGAACAGGCGGTTCGAAGGTGCCGATATCATTACGACAGCAACGGCCGA</u>	1500
CAAGCACAACGCCACGATCCTGAGCGACAATATGATCGGGCCCCGGCGTCCACATCAACGG	1560
CGTCGGCGGGCGACTGCCCAGGCAAGACCGAGATGCACCGCGATATCTTGCTGCGTTCGGA	1620
TATTTTCGTGGAGTTCCCGCCACAGACCCGGATGATCCCCGATCGTTCAAACATTTGGCA	1680
ATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCT	1740
GTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATG	1800
GTTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATA	1860

GCGCGCAAAGTACTAGGATAAAATTATCGCGCGCGGGTGTCACTATGTTACTAGATCGGGCCTC	1920
CTGTCAATGCTGGCGGGCGGCTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGCGGCTCTGAGGGTGGTGGCT	1980
CTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGCTCTGAGGGAGGCGGTTCCGGTGGTGGCTCTG	2040
GTTCCGGTGATTTTGATTATGAAAAGATGGCAAACGCTAATAAGGGGGCTATGACCGAAA	2100
ATGCCGATGAAAACGCGCTACAGTCTGACGCTAAAGGCAAACCTTGATTCTGTGCTACTG	2160
<i>Cla</i> I	
ATTACGGTGTCTGCTATCGATGGTTTCATTGGTGTGACGTTCCGGCCTTGCTAATGGTAATG	2220
GTGCTACTGGTGTATTTGCTGGCTCTAATTCCCAAATGGCTCAAGTCGGTGACGGTGATA	2280
ATTCACCTTTAATGAATAATTTCCGTCAATATTTACCTTCCCTCCCTCAATCGGTTGAAT	2340
GTCGCCCTTTTGTCTTTGGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTC	2400
ATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAA	2460
TTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTC	2520

<u>GTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATG</u>	2580
<u>ATTACGCCAAGCTTGCCAACATGGTGGAGCACGACACTCTCGTCTACTCCAAGAATATCA</u>	2640
<i>EL2 35S promoter</i>	
<u>AAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCTATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCGG</u>	2700
<u>GAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTCATCAAAGGACAGTAGAAA</u>	2760
<u>AGGAAGGTGGCACCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCTATCGTTCAAGATG</u>	2820
<u>CCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAG</u>	2880
<u>AAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAACATGGTGGAGCACGAC</u>	2940
<u>ACTCTCGTCTACTCCAAGAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCTATTGAG</u>	3000
<u>ACTTTTCAACAAAGGGTAATATCGGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGT</u>	3060
<u>CACTTCATCAAAGGACAGTAGAAAAGGAAGGTGGCACCTACAAATGCCATCATTGCGAT</u>	3120
<u>AAAGGAAAGGCTATCGTTCAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCA</u>	3180

<u>AGCTAGGCCACATGCTTAAAGCCATGTGCGAGGCGAGCCGGTGCGGGGAGCCCGTGGTGC</u>	3900
<i>luLeuGlyHisMetLeuLysAlaMetCysGluAlaSerArgCysGlyGluProValValL</i>	
NcoI ▼	
<u>TGGCCGAGATGCTCACGTACGCCATGGCGAACATGATCGGTCAAGTGATACTCAGCCGGC</u>	3960
<i>euAlaGluMetLeuThrTyrAlaMetAlaAsnMetIleGlyGlnValIleLeuSerArgA</i>	
<u>CGGTGTTCTGTGACCAAAGGGACCGAGTCTAACGAGTTCAAAGACATGGTGGTCGAGTTGA</u>	4020
<i>rgValPheValThrLysGlyThrGluSerAsnGluPheLysAspMetValValGluLeuM</i>	
<u>TGACGTCCGCCGGGTACTTCAACATCGGTGACTTCATACCCTCGATCGCTTGGATGGATT</u>	4080
<i>etThrSerAlaGlyTyrPheAsnIleGlyAspPheIleProSerIleAlaTrpMetAspL</i>	
<u>TGCAAGGGATCGAGCGAGGGATGAAGAAGCTGCACACGAAGTTTGATGTGTTATTGACGA</u>	4140
<i>euGlnGlyIleGluArgGlyMetLysLysLeuHisThrLysPheAspValLeuLeuThrL</i>	
<u>AGATGGTGAAGGAGCATAGAGCGACGAGTCATGAGCGCAAAGGGAAGGCAGATTTCCCTCG</u>	4200
<i>ysMetValLysGluHisArgAlaThrSerHisGluArgLysGlyLysAlaAspPheLeuA</i>	
<u>ACGTTCTCTTGAAGAATGCGACAATACAAATGGGGAGAAGCTTAGTATTACCAATATCA</u>	4260
<i>spValLeuLeuGluGluCysAspAsnThrAsnGlyGluLysLeuSerIleThrAsnIleL</i>	
<u>AAGCTGTCCTTTTGAATCTATTCACGGCGGGCACGGACACATCTTCGAGCATAATCGAAT</u>	4320
<i>ysAlaValLeuLeuAsnLeuPheThrAlaGlyThrAspThrSerSerSerIleIleGluT</i>	
<u>GGCGTTAACGGAGATGATCAAGAATCCGACGATCTTAAAAAAGGCGCAAGAGGAGATGG</u>	4380
<i>rpAlaLeuThrGluMetIleLysAsnProThrIleLeuLysLysAlaGlnGluGluMetA</i>	
<u>ATCGAGTCATCGGTCTGATCGGAGGCTGCTCGAATCGGACATATCGAGCCTCCCGTACC</u>	4440
<i>spArgValIleGlyArgAspArgArgLeuLeuGluSerAspIleSerSerLeuProTyrL</i>	
<u>TACAAGCCATTGCTAAAGAAACGTATCGCAAACACCCGTCGACGCCTCTCAACTTGCCGA</u>	4500
<i>euGlnAlaIleAlaLysGluThrTyrArgLysHisProSerThrProLeuAsnLeuProA</i>	

<u>GGATTGCGATCCAAGCATGTGAAGTTGATGGCTACTACATCCCTAAGGACGCGAGGCTTA</u>	4560
<i>rgIleAlaIleGlnAlaCysGluValAspGlyTyrTyrIleProLysAspAlaArgLeuS</i>	
<u>CGGTGAACATTTGGGCGATCGGTTCGGGACCCGAATGTTTGGGAGAATCCGTTGGAGTTCT</u>	4620
<i>erValAsnIleTrpAlaIleGlyArgAspProAsnValTrpGluAsnProLeuGluPheL</i>	
<u>TGCCGAAAGATTCTTGTCTGAAGAGAATGGGAAGATCAATCCCGGTGGGAATGATTTTG</u>	4680
<i>euProGluArgPheLeuSerGluGluAsnGlyLysIleAsnProGlyGlyAsnAspPheG</i>	
<u>AGCTGATTCCGTTTGGAGCCGGGAGGAGAATTTGTGCGGGGACAAGGATGGGAATGGTCC</u>	4740
<i>luLeuIleProPheGlyAlaGlyArgArgIleCysAlaGlyThrArgMetGlyMetValL</i>	
<u>TTGTAAGTTATATTTTGGGCACTTTGGTCCATTCTTTTGATTGGAAATTACCAAATGGTG</u>	4800
<i>euValSerTyrIleLeuGlyThrLeuValHisSerPheAspTrpLysLeuProAsnGlyV</i>	
<u>TCGCTGAGCTTAATATGGATGAAAGTTTTGGGCTTGCAATGCAAAGGCCGTGCCGCTCT</u>	4860
<i>alAlaGluLeuAsnMetAspGluSerPheGlyLeuAlaLeuGlnLysAlaValProLeuS</i>	
<u>CGGCCTTGGTCAGCCCACGGTTGGCCTCAAACCGGTACGCAACCTGAGCTAATGGGCTGG</u>	4920
<i>erAlaLeuValSerProArgLeuAlaSerAsnAlaTyrAlaThr</i>	
<u>GCCTAGTTTTGTGGGCCTTAATTTAGAGACTTTTGTGTTTTAAGGTGTGTACTTTATTAA</u>	4980
<u>TTGGGTGCTTAAATGTGTGTTTTAATTTGTATTTATGGTTAATTATGACTTTTATTGTATA</u>	5040
<u>ATTATTTATTTTTCCCTTCTGGGTATTTTATCCATTTAATTTTTCTTCAGAATTATGATC</u>	5100
<u>ATAGTTATCAGAATAAAATTGAAAATAATGAATCGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</u>	5160

<u>ACTCGACCCGAATTTCCCCGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAA</u>	5220
<i>NOS terminator</i>	
<u>TCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGT</u>	5280
<u>AATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCC</u>	5340
<u>GCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACCTAGGATAAATT</u>	5400
<u>ATCGCGCGGGTGTTCATCTATGTTACTAGATCGGGAATTC AAGCTTGCAAGCTTGCCAAC</u>	5460
<u>ATGGTGGAGCACGACACTCTCGTCTACTCCAAGAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGAC</u>	5520
<i>EL2 35S promoter</i>	
<u>CAAAGGGCTATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCGGGAAACCTCCTCGGATTCCAT</u>	5580
<u>TGCCAGCTATCTGTCACTTCATCAAAGGACAGTAGAAAAGGAAGGTGGCACCTACAAA</u>	5640
<u>TGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCTATCGTTCAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCC</u>	5700
<u>AAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCT</u>	5760
<u>TCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAACATGGTGGAGCACGACACTCTCGTCTACTCCAAGAA</u>	5820

TATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCTATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAAT 5880

ATCGGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTCATCAAAAGGACAGT 5940

AGAAAAGGAAGGTGGCACCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCTATCGTTCA 6000

AGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGA 6060

AAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGA 6120

CGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAG 6180

*Pst*I

TTCATTTTCATTCGGAGAGGTACGGGCTGCAGGAATTCGGCACGAGCTTCAAAGCCAAAAA 6240

TAT

GAAACAATTAATCAATGGCTGTTGAAGCCCCCAAAACAATATGTGCAGTCTCGAAAAC 6300

MetAlaValGluAlaProLysThrIleCysAlaValLeuGluAsnS

CTCTTATTACACCACAAAGTACCGATACAGAACAACCTTTCACTCACATTCTTTGACA 6360

erLeuIleThrProGlnSerThrAspThrGluGlnThrLeuSerLeuThrPhePheAspI

TCAAATGGGTTCATTTTCATCCAATGCAATGCCTTGTGTTGTACAACCTCCCATGTTCTA 6420

leLysTrpValHisPheHisProMetGlnCysLeuValLeuTyrAsnPheProCysSerL

AGTCACATTTTCTCGAAGCCACAGTTCGGAGCTTCAAATCATCACTCTCCAAAACCTCTCA 6480

ysSerHisPheLeuGluAlaThrValProSerPheLysSerSerLeuSerLysThrLeuA

<u>GACACTATCTTCCATTATCAGGAACTTATACTATCCAAACCCGACCCATGACATGGATG</u>	6540
<i>rgHisTyrLeuProLeuSerGlyAsnLeuTyrTyrProAsnProThrHisAspMetAspA</i>	
<u>ATGATGAATCGAACATGCCCGAGATCCGTTATAAACCTGGCGACTCGGTTTCTCTAACCG</u>	6600
<i>spAspGluSerAsnMetProGluIleArgTyrLysProGlyAspSerValSerLeuThrV</i>	
<u>TTGCAGAGTACTTCTCCGGTCATGAAGACAATACGACTACTGAAGAATACTTCAATTACC</u>	6660
<i>alAlaGluTyrPheSerGlyHisGluAspAsnThrThrThrGluGluTyrPheAsnTyrL</i>	
<u>TCACTGGAAATTTCCAGAGAGATTGCGATCAATTCTATGATCTCTTACCCGATTTTCGAG</u>	6720
<i>euThrGlyAsnPheGlnArgAspCysAspGlnPheTyrAspLeuLeuProAspPheArgA</i>	
<u>ACCCGAAACCGAATCCAATTGCACAGTAATCCCACTTATAGCAGTTCAAATCACACTCT</u>	6780
<i>spProGluThrGluSerAsnCysThrValIleProLeuIleAlaValGlnIleThrLeuP</i>	
<u>TTCCAGGTGCTGGGATATGTCTGGGGTCATCAACAGTCACGTAGTTGGCGATGCGAGTT</u>	6840
<i>heProGlyAlaGlyIleCysLeuGlyValIleAsnSerHisValValGlyAspAlaSerS</i>	
<u>CCATAGTGGGATTCATCAAAGCTTGGAGTAAAGTTGCAATGTATGAAGACGATGAAGAGA</u>	6900
<i>erIleValGlyPheIleLysAlaTrpSerLysValAlaMetTyrGluAspAspGluGluI</i>	
<u>TTCTAGCTAACAACAATTTGATTCCATCTTATGACAGATCAGTCGTGAAAGATCCAAAAG</u>	6960
<i>leLeuAlaAsnAsnAsnLeuIleProSerTyrAspArgSerValValLysAspProLysG</i>	
<u>GGATCAAATCTTTGCTCTGGAACAAGATGAAGAACGTGAAATATCAACCCCAACCCGCAA</u>	7020
<i>lyIleLysSerLeuLeuTrpAsnLysMetLysAsnValLysTyrGlnProGlnProAlaL</i>	
<u>AACATCTCCAACAACAAGGTCCGAGCCACATACACCTTGAGAAAGAACGATATCGAGA</u>	7080
<i>ysHisLeuProThrAsnLysValArgAlaThrTyrThrLeuArgLysAsnAspIleGluA</i>	
<u>GGCTGAAAACCCGAATCCGATCCAAGAAACCAGGCACAACCTGCTTATCATCTTTCACAA</u>	7140
<i>rgLeuLysThrArgIleArgSerLysLysProGlyThrThrCysLeuSerSerPheThrI</i>	

<i>Pst</i> I ▼	
<u>TCGCAACAGCCTATGCTTGGACATGCCTTGCAAAATCTGCAGCAGAAGCTGAAGAACAAG</u>	7200
<i>leAlaThrAlaTyrAlaTrpThrCysLeuAlaLysSerAlaAlaGluAlaGluGluGlnV</i>	
<u>TAGTCCAAGACAGTGACGACGAGCACTTGCTCATGCCCGTTGATTTGAGACCAAGAATAG</u>	7260
<i>alValGlnAspSerAspAspGluHisLeuLeuMetProValAspLeuArgProArgIleA</i>	
<u>ATCCTCCATTACCACCTTCTTACTTTGGAAACTGCGTTCCTCCATCTTTTGCGAAAACGA</u>	7320
<i>spProProLeuProProSerTyrPheGlyAsnCysValLeuProSerPheAlaLysThrT</i>	
<u>CGCATGGGCTTTTGAAAGGAGAGTTAGGGCTTTTTAATGCAGTGGAAGTGATTAGTGATG</u>	7380
<i>hrHisGlyLeuLeuLysGlyGluLeuGlyLeuPheAsnAlaValGluValIleSerAspV</i>	
<u>TCATTACCGGTATCGTTAGCAAGAAATATGACTTGTTCAAAGACTTAGACAGACAAGGTG</u>	7440
<i>alIleThrGlyIleValSerLysLysTyrAspLeuPheLysAspLeuAspArgGlnGlyG</i>	
<u>AGATTTTTTCGTGCCTTGTTTCGGAAAACGAGTGTGGCGATCATGGGTTTCGCCTAAGTTCG</u>	7500
<i>luIlePheArgAlaLeuPheGlyLysArgValLeuAlaIleMetGlySerProLysPheA</i>	
<u>ATCTCTACGAAGTTGATTTTCGGGTGGGGTAAGCCGAAGAAGATTGAACCTGTGTCCATTG</u>	7560
<i>spLeuTyrGluValAspPheGlyTrpGlyLysProLysLysIleGluProValSerIleA</i>	
<u>ATAGAGAGAGGACGACTATGTGGATTAGCAAGTCTGGCGAGTTTGAGGGTGGTTTGGAGA</u>	7620
<i>spArgGluArgThrThrMetTrpIleSerLysSerGlyGluPheGluGlyGlyLeuGluI</i>	
<u>TTGGTTTTTCTTTCAATAAGAAGAAAATGGATGCTTTTGGCGAGTGTTTTAAACAGCGGTT</u>	7680
<i>leGlyPheSerPheAsnLysLysLysMetAspAlaPheGlyGluCysPheAsnSerGlyL</i>	
<u>TGAAGGATATTTAATTTAAAAAATTGTTTAGCTTTGATGCATGCGTTTTATATATGTTGT</u>	7740
<i>euLysAspIle</i>	
<u>GAAATAATGTGGTGTGCAATAACTAGAGTAACTTTAGGTTAATAAATTCGGTTTTTCTGT</u>	7800

<u>TAAATCTGGATGATTTCGTGCAAGCAAACGTGCGATGCGTTGGATGGATGTCCGGTGGTGT</u>	7860
<u>GGAGATTGTTGAAGAAGGAAATGGATGCTTTTTTTATGGTGGTTTGAAGGATTTGAATGT</u>	7920
<u>GTAGATTATTGGTTTATTGAGGTTGTTATTTTGTGTATGTTGTTTATGCATGAAAAATA</u>	7980
<u>TTTAGATCCAACATTTTATGTATGACGTGGTTTAAATATTCGATTTTCGATCAAAAAAAAA</u>	8040
<u>AAAAAAAAAAAAAACTCGAGGCGAATTTCCCCGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTT</u>	8100
<i>NOS terminator</i>	
<u>TCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCATGATTATCATATAAATTTCTGTTGAATT</u>	8160
<u>ACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTA</u>	8220
<u>TGATTAGAGTCCCACAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAA</u>	8280
<u>ACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCGGGAATTCACTGGCC</u>	8340
<u>GTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCA</u>	8400
<u>GCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCC</u>	8460

CAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTCTCGC	8520
CACGTTGCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATT	8580
TAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGG	8640
GCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAG	8700
TGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTT	8760
ATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGAACCACCATCAAACAGGATTTTCGCCTGCTGGGGCAA	8820
ACCAGCGTGGACCGCTTGCTGCAACTCTCTCAGGGCCAGGCGGTGAAGGGCAATCAGCTG	8880
TTGCCCGTCTCACTGGTGAAAAGAAAAACCACCCAGTACATTAAAAACGTCCGCAATGT	8940
<i>Left border</i>	
<u>GTTATTAAGTTGTCTAAGCGTCAATTTGTTTACACCACAATATATCCTGCCACCAGCCAG</u>	9000
<u>CCAACAGCTCCCCGACCGGCAGCTCGGCACAAAATCACCCTCGATACAGGCAGCCATC</u>	9060
<u>AG</u>	9062

図 1. pSPB130 の T-DNA の塩基配列

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

「ベクターに関する情報」

[目次]

1. pBIN19 の塩基配列

1

1. pBIN19 の塩基配列

TGAGCGTCGCAAAGGCGCTCGGTCTTGCCTTGCTCGTCGGTGATGTACTTCACCAGCTCC	60
GCGAAGTCGCTCTTCTTGATGGAGCGCATGGGGACGTGCTTGGCAATCACGCGCACCCCC	120
CGGCCGTTTTAGCGGCTAAAAAAGTCATGGCTCTGCCCTCGGGCGGACCACGCCCATCAT	180
GACCTTGCCAAGCTCGTCCTGCTTCTCTTCGATCTTCGCCAGCAGGGCGAGGATCGTGCC	240
ATCACCGAACC GCGCCGTGCGCGGGTCGTCGGTGAGCCAGAGTTTCAGCAGGCCGCCAG	300
GCGGCCAGGTCGCCATTGATGCGGGCCAGCTCGCGGACGTGCTCATAGTCCACGACGCC	360
CGTGATTTTGTAGCCCTGGCCGACGGCCAGCAGGTAGGCCGACAGGCTCATGCCGGCCGC	420
CGCCGCTTTTCTCAATCGCTCTTCGTTTCGTCTGGAAGGCAGTACACCTTGATAGGTGG	480
GCTGCCCTTCTGGTTGGCTTGGTTTCATCAGCCATCCGCTTGCCCTCATCTGTTACGCC	540
GGCGGTAGCCGCCAGCCTCGCAGAGCAGGATTCCCGTTGAGCACCGCCAGGTGCGAATA	600

AGGGACAGTGAAGAAGGAACACCCGCTCGCGGGTGGGCCTACTTCACCTATCCTGCCCCG	660
CTGACGCCGTTGGATACACCAAGGAAAGTCTACACGAACCCTTTGGCAAAATCCTGTATA	720
TCGTGCGAAAAAGGATGGATATACCGAAAAATCGCTATAATGACCCCGAAGCAGGGTTA	780
TGCAGCGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCG	840
GCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTT	900
ATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAG	960
GGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTT	1020
GCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTA	1080
TTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGT	1140
CAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCAGAAGGCCGCCAGAGAGGCCGAGCGCGGCCGTG	1200
AGGCTTGACGCTAGGGCAGGGCATGAAAAAGCCCGTAGCGGGCTGCTACGGGCGTCTGA	1260

CGCGGTGGAAAGGGGAGGGGATGTTGTCTACATGGCTCTGCTGTAGTGAGTGGGTTGCG	1320
CTCCGGCAGCGGTCTGATCAATCGTCACCCTTTCTCGGTCCTTCAACGTTCTGACAAC	1380
GAGCCTCCTTTTCGCCAATCCATCGACAATCACCGGAGTCCCTGCTCGAACGCTGCGTC	1440
CGGACCGGCTTCGTGGAAGGCGTCTATCGCGGCCCGCAACAGCGGCGAGAGCGGAGCCTG	1500
TTCAACGGTGCCGCCGCGCTCGCCGGCATCGCTGTGCGCGCCTGCTCCTCAAGCACGGC	1560
CCCAACAGTGAAGTAGCTGATTGTCATCAGCGCATTGACGGCGTCCCCGGCCGAAAAACC	1620
CGCCTCGCAGAGGAAGCGAAGCTGCGCGTCGGCCGTTCCATCTGCGGTGCGCCCGGTGCG	1680
CGTGCCGGCATGGATGCGCGGCCATCGCGGTAGGCGAGCAGCGCCTGCCTGAAGCTGCG	1740
GGCATTCCCGATCAGAAATGAGCGCCAGTCGTGTCGGCTCTCGGCACCGAATGCGTATG	1800
ATTCTCCGCCAGCATGGCTTCGGCCAGTGCCTGAGCAGCGCCCGCTTGTTCTGAAGTG	1860
CCAGTAAAGCGCCGGCTGCTGAACCCCCAACCGTTCCGCCAGTTTGCCTGTCGTCAGACC	1920

GTCTACGCCGACCTCGTTCAACAGGTCCAGGGCGGCACGGATCACTGTATTTCGGCTGCAA	1980
CTTTGTCATGCTTGACACTTTATCACTGATAAACATAATATGTCCACCAACTTATCAGTG	2040
ATAAAGAATCCGCGCGTTCAATCGGACCAGCGGAGGCTGGTCCGGAGGCCAGACGTGAAA	2100
CCCAACATACCCCTGATCGTAATTCTGAGCACTGTCGCGCTCGACGCTGTCCGCATCGGC	2160
CTGATTATGCCGGTGCTGCCGGGCCTCCTGCGCGATCTGGTTCCTCGAACGACGTCACC	2220
GCCCACTATGGCATTCTGCTGGCGCTGTATGCGTTGGTGCAATTTGCCTGCGCACCTGTG	2280
CTGGGCGCGCTGTCCGATCGTTTCGGGCGGCGCCAATCTTGCTCGTCTCGCTGGCCGGC	2340
GCCAGATCTGGGGAACCTGTGGTTGGCATGCACATACAAATGGACGAACGGATAAACCT	2400
<i>Right border</i>	
<u>TTTCACGCCCTTTTAAATATCCGATTATTCTAATAAACGCTCTTTTCTCTTAGGTTACC</u>	2460
<u>CGCCAATATATCCTGTCAAACACTGATAGTTTAAACTGAAGGCGGGAAACGACAATCTGA</u>	2520
<u>TCATGAGCGGAGAATTAAGGGAGTCACGTTATGACCCCGCCGATGACGCGGGACAAGCC</u>	2580
<i>NOS promoter</i>	

<u>GTTTTACGTTTGGAACTGACAGAACCGCAACGTTGAAGGAGCCACTCAGCCGCGGGTTTC</u>	2640
<u>TGGAGTTTAATGAGCTAAGCACATACGTCAGAAACCATTTATTGCGCGTTCAAAAAGTCGCC</u>	2700
<u>TAAGGTCACTATCAGCTAGCAAATATTTCTTGTCAAAAATGCTCCACTGACGTTCCATAA</u>	2760
<u>ATTCCCCTCGGTATCCAATTAGAGTCTCATATTTCACTCTCAATCCAAATAATCTGCACCG</u>	2820
<u>GATCTGGATCGTTTCGCATGATTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTT</u>	2880
<i>NPT II MetIleGluGlnAspGlyLeuHisAlaGlySerProAlaAlaT</i>	
<u>GGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCTCTGATGCCG</u>	2940
<i>rpValGluArgLeuPheGlyTyrAspTrpAlaGlnGlnThrIleGlyCysSerAspAlaA</i>	
<u>CCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGCGCCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCG</u>	3000
<i>laValPheArgLeuSerAlaGlnGlyArgProValLeuPheValLysThrAspLeuSerG</i>	
<i>PstI</i>	
<u>GTGCCCTGAATGAACTGCAGGACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCG</u>	3060
<i>lyAlaLeuAsnGluLeuGlnAspGluAlaAlaArgLeuSerTrpLeuAlaThrThrGlyV</i>	
<u>TTCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGG</u>	3120
<i>alProCysAlaAlaValLeuAspValValThrGluAlaGlyArgAspTrpLeuLeuLeuG</i>	
<u>GCGAAGTGCCGGGCGAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAAGTATCCA</u>	3180
<i>lyGluValProGlyGlnAspLeuLeuSerSerHisLeuAlaProAlaGluLysValSerI</i>	
<u>TCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATTCGACC</u>	3240
<i>leMetAlaAspAlaMetArgArgLeuHisThrLeuAspProAlaThrCysProPheAspH</i>	

<u>ACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATC</u>	3300
<i>isGlnAlaLysHisArgIleGluArgAlaArgThrArgMetGluAlaGlyLeuValAspG</i>	
<u>AGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAAGTTCGCCAGGCTCA</u>	3360
<i>lnAspAspLeuAspGluGluHisGlnGlyLeuAlaProAlaGluLeuPheAlaArgLeuL</i>	
	NcoI
<u>AGGCGCGCATGCCCGACGGCGATGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGA</u>	3420
<i>ysAlaArgMetProAspGlyAspAspLeuValValThrHisGlyAspAlaCysLeuProA</i>	
<u>ATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGG</u>	3480
<i>snIleMetValGluAsnGlyArgPheSerGlyPheIleAspCysGlyArgLeuGlyValA</i>	
<u>CGGACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCG</u>	3540
<i>laAspArgTyrGlnAspIleAlaLeuAlaThrArgAspIleAlaGluGluLeuGlyGlyG</i>	
<u>AATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTTCGACGCGCATCG</u>	3600
<i>luTrpAlaAspArgPheLeuValLeuTyrGlyIleAlaAlaProAspSerGlnArgIleA</i>	
<u>CCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGCGGGACTCTGGGGTTCGAAATGACCGA</u>	3660
<i>laPheTyrArgLeuLeuAspGluPhePhe</i>	
<u>CCAAGCGACGCCAACCTGCCATCACGAGATTTCGATTCCACCGCCGCCTTCTATGAAAG</u>	3720
<u>GTTGGGCTTCGGAATCGTTTTCCGGGACGCCGGCTGGATGATCCTCCAGCGCGGGGATCT</u>	3780
<u>CATGCTGGAGTTCTTCGCCACGGGATCTCTGCGGAACAGGCGGTCGAAGGTGCCGATAT</u>	3840
<u>CATTACGACAGCAACGGCCGACAAGCACAACGCCACGATCCTGAGCGACAATATGATCGG</u>	3900

GCCCGGCGTCCACATCAACGGCGTCGGCGGCGACTGCCAGGCAAGACCGAGATGCACCG	3960
CGATATCTTGCTGCGTTCGGATATTTTCGTGGAGTTCCTGCCACAGACCCGGATGATCCC	4020
<u>CGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGC</u>	4080
<i>NOS terminator</i>	
<u>GATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATG</u>	4140
<u>CATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATA</u>	4200
<u>CGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAAGTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATC</u>	4260
<u>TATGTTACTAGATCGGGCCTCCTGTCAATGCTGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTTCTGGTG</u>	4320
GCGGCTCTGAGGGTGGTGGCTCTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGCTCTGAGGGAG	4380
GCGGTTCCGGTGGTGGCTCTGGTTCGGTGATTTTGATTATGAAAAGATGGCAAACGCTA	4440
ATAAGGGGGCTATGACCGAAAATGCCGATGAAAACGCGCTACAGTCTGACGCTAAAGGCA	4500
<i>Cla</i> I	
AACTTGATTCTGTCGCTACTGATTACGGTGTCTGCTATCGATGGTTTCATTGGTGACGTTT	4560

TCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAA	5280
AAAACCTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCG	5340
CCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAAC	5400
ACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGAACC	5460
ACCATCAAACAGGATTTTCGCCTGCTGGGGCAAACCAGCGTGGACCGCTTGCTGCAACTC	5520
TCTCAGGGCCAGGCGGTGAAGGGCAATCAGCTGTTGCCCGTCTCACTGGTGAAAAGAAAA	5580
ACCACCCCAGTACATTAAAAACGTCCGCAATGTGTTATTAAGTTGTCTAAGCGTCAATTT	5640
<i>Left border</i>	
<u>GTTTACACCACAATATATCCTGCCACCAGCCAGCCAACAGCTCCCCGACCGGCAGCTCGG</u>	5700
<u>CACAAAATCACCCTCGATACAGGCAGCCCATCAGTCCGGGACGGCGTCAGCGGGAGAGC</u>	5760
CGTTGTAAGGCGGCAGACTTTGCTCATGTTACCGATGCTATTCGGAAGAACGGCAACTAA	5820
GCTGCCGGGTTTGAAACACGGATGATCTCGCGGAGGGTAGCATGTTGATTGTAACGATGA	5880

CAGAGCGTTGCTGCCTGTGATCAAATATCATCTCCCTCGCAGAGATCCGAATTATCAGCC 5940

TTCTTATTCATTTCTCGCTTAACCGTGACAGGCTGTGATCTTGAGAACTATGCCGACAT 6000

AATAGGAAATCGCTGGATAAAGCCGCTGAGGAAGCTGAGTGGCGCTATTTCTTTAGAAGT 6060

GAACGTTGACGATATCAACTCCCCTATCCATTGCTCACCGAATGGTACAGGTCGGGGACC 6120

CGAAGTTCCGACTGTGCGCCTGATGCATCCCCGGCTGATCGACCCAGATCTGGGGCTGA 6180

GAAAGCCCAGTAAGGAAACAACCTGTAGGTTTCGAGTCGCGAGATCCCCCGGAACCAAAGGA 6240

AGTAGGTTAAACCCGCTCCGATCAGGCCGAGCCACGCCAGGCCGAGAACATTGGTTCCCTG 6300

TAGGCATCGGGATTGGCGGATCAAACACTAAAGCTACTGGAACGAGCAGAAGTCTCCGG 6360

CCGCCAGTTGCCAGGCGGTAAAGGTGAGCAGAGGCACGGGAGGTTGCCACTTGCGGGTCA 6420

*Pst*I
GCACGGTTCCGAACGCCATGGAAACCGCCCCCGCCAGGCCCGCTGCGACGCCGACAGGAT 6480

CTAGCGCTGCGTTTGGTGTCAACACCAACAGCGCCACGCCCGCAGTTCCGCAAATAGCCC 6540

CCAGGACCGCCATCAATCGTATCGGGCTACCTAGCAGAGCGGCAGAGATGAACACGACCA 6600

TCAGCGGCTGCACAGCGCCTACCGTCGCCGCGACCCCGCCCGGCAGGCGGTAGACCGAAA 6660

TAAACAACAAGCTCCAGAATAGCGAAATATTAAGTGCGCCGAGGATGAAGATGCGCATCC 6720

ACCAGATTCCC GTTGAATCTGTCTGGACGATCATCACGAGCAATAAACCCGCCGGCAACG 6780

CCCGCAGCAGCATAACCGGCGACCCCTCGGCCTCGCTGTTCCGGGCTCCACGAAAACGCCGG 6840

ACAGATGCGCCTTGTGAGCGTCCTTGGGGCCGTCTCTCTGTTTGAAGACCGACAGCCCAA 6900

TGATCTCGCCGTCGATGTAGGCGCCGAATGCCACGGCATCTCGCAACCGTTCAGCGAACG 6960

*Nco*I
▼
CCTCCATGGGCTTTTTCTCCTCGTGCTCGTAAACGGACCCGAACATCTCTGGAGCTTTCT 7020

TCAGGGCCGACAATCGGATCTCGCGGAAATCCTGCACGTCGGCCGCTCCAAGCCGTCGAA 7080

TCTGAGCCTTAATCACAATTGTCAATTTAATCCTCTGTTTATCGGCAGTTCGTAGAGCG 7140

CGCCGTGCGTCCCAGCGATACTGAGCGAAGCAAGTGCCTCGAGCAGTGCCCGCTTGTTTC 7200

CTGAAATGCCAGTAAAGCGCTGGCTGCTGAACCCCCAGCCGGAAGTACCCCAAGGCC	7260
CTAGCGTTTGCAATGCACCAGGTCATCATTGACCCAGGCGTGTCCACCAGGCCGCTGCC	7320
TCGCAACTCTTCGCAGGCTTCGCCGACCTGCTCGCGCCACTTCTTCACGCGGGTGAATC	7380
CGATCCGCACATGAGGCGGAAGGTTTCCAGCTTGAGCGGGTACGGCTCCCGGTGCGAGCT	7440
GAAATAGTCGAACATCCGTTCGGGCCGTCGGCGACAGCTTGCGGTACTTCTCCCATATGAA	7500
TTTCGTGTAGTGGTCGCCAGCAAACAGCACGACGATTTCTCGTCGATCAGGACCTGGCA	7560
ACGGGACGTTTTTCTTGCCACGGTCCAGGACGCGGAAGCGGTGCAGCAGCGACACCGATTC	7620
CAGGTGCCCAACGCGGTTCGGACGTGAAGCCCATCGCCGTCGCCTGTAGGCGCGACAGGCA	7680
TTCTCGGCCTTCGTGTAATACCGGCCATTGATCGACCAGCCCAGGTCCTGGCAAAGCTC	7740
GTAGAACGTGAAGGTGATCGGCTCGCCGATAGGGGTGCGCTTCGCGTACTCCAACACCTG	7800
CTGCCACACCAGTTCGTTCATCGTCGGCCCGCAGCTCGACCGGTGTAGGTGATCTTCAC	7860

GTCC TTGTTGACGTGGAAAATGACCTTGTTTTGCAGCGCCTCGCGCGGGATTTTCTTGTT	7920
GCGCGTGGTGAACAGGGCAGAGCGGGCCGTGTCGTTTGGCATCGCTCGCATCGTGTCCGG	7980
CCACGGCGCAATATCGAACAAGGAAAGCTGCATTTCCCTTGATCTGCTGCTTCGTGTGTTT	8040
CAGCAACGCGGCCTGCTTGGCCTCGCTGACCTGTTTTGCCAGGTCCTCGCCGGCGGTTTT	8100
TCGCTTCTTGGTCGTCATAGTTCCTCGCGTGTGATGGTCATCGACTTCGCCAAACCTGC	8160
CGCTCCTGTTTCGAGACGACGCGAACGCTCCACGGCGGCCGATGGCGCGGGCAGGGCAGG	8220
GGGAGCCAGTTGCACGCTGTCGCGCTCGATCTTGGCCGTAGCTTGCTGGACCATCGAGCC	8280
GACGGACTGGAAGGTTTTCGCGGGGCGCACGCATGACGGTGCGGCTTGCATGGTTTCGGC	8340
ATCCTCGGCGGAAAACCCCGCGTCGATCAGTTCTTGCCTGTATGCCTTCCGGTCAAACGT	8400
CCGATTCATTCACCCTCCTTGCGGGATTGCCCCGACTCACGCCGGGGCAATGTGCCCTTA	8460
TTCTGATTTGACCCGCCTGGTGCCTTGGTGTCCAGATAATCCACCTTATCGGCAATGAA	8520

GTCGGTCCCGTAGACCGTCTGGCCGTCCTTCTCGTACTTGGTATTCCGAATCTTGCCCTG	8580
CACGAATACCAGCGACCCCTTGCCCAAATACTTGCCGTGGGCCTCGGCCTGAGAGCCAAA	8640
ACACTTGATGCGGAAGAAGTCGGTGCGCTCCTGCTTGTCGCCGGCATCGTTGCGCCACAT	8700
CTAGGTACTAAAACAATTCATCCAGTAAAATATAATATTTTATTTTCTCCCAATCAGGCT	8760
TGATCCCCAGTAAGTCAAAAAATAGCTCGACATACTGTTCTTCCCCGATATCCTCCCTGA	8820
TCGACCGGACGCAGAAGGCAATGTCATACCACTTGTCCGCCCTGCCGCTTCTCCAAGAT	8880
CAATAAAGCCACTTACTTTGCCATCTTTCACAAAGATGTTGCTGTCTCCCAGGTCGCCGT	8940
GGGAAAAGACAAGTTCTCTTCGGGCTTTTCCGTCTTTAAAAAATCATACAGCTCGCGCG	9000
GATCTTTAAATGGAGTGTCTTCTTCCCAGTTTTTCGCAATCCACATCGGCCAGATCGTTAT	9060
TCAGTAAGTAATCCAATTCGGCTAAGCGGCTGTCTAAGCTATTCGTATAGGGACAATCCG	9120
ATATGTCGATGGAGTGAAAGAGCCTGATGCACTCCGCATACAGCTCGATAATCTTTTCAG	9180

GGCTTTGTTTCATCTTCATACTCTTCCGAGCAAAGGACGCCATCGGCCTCACTCATGAGCA	9240
GATTGCTCCAGCCATCATGCCGTTCAAAGTGCAGGACCTTTGGAACAGGCAGCTTTCCTT	9300
CCAGCCATAGCATCATGTCCCTTTTCCCGTTCCACATCATAGGTGGTCCCTTTATACCGGC	9360
TGTCCGTCATTTTTAAATATAGGTTTTCATTTTTCTCCCACCAGCTTATATACCTTAGCAG	9420
GAGACATTCCTTCCGTATCTTTTACGCAGCGGTATTTTTCGATCAGTTTTTTCAATTCCG	9480
GTGATATTCTCATTTTTAGCCATTTATTATTTTCTTCCCTCTTTTCTACAGTATTTAAAGAT	9540
ACCCCAAGAAGCTAATTATAACAAGACGAACTCCAATTCAGTTCCTTGCATTCTAAAA	9600
CCTTAAATACCAGAAAACAGCTTTTTTCAAAGTTGTTTTCAAAGTTGGCGTATAACATAGT	9660
ATCGACGGAGCCGATTTTTGAAACCACAATTATGGGTGATGCTGCCAACTTACTGATTTAG	9720
TGTATGATGGTGTTTTTTGAGGTGCTCCAGTGGCTTCTGTGTCTATCAGCTGTCCCTCCTG	9780
TTCAGCTACTGACGGGGTGGTGCGTAACGGCAAAAGCACCGCCGGACATCAGCGCTATCT	9840

*Pst*I

CTGCTCTCACTGCCGTAAAACATGGCAACTGCA[▼]GTTCACCTTACACCGCTTCTCAACCCGG 9900

TACGCACCAGAAAATCATTGATATGGCCATGAATGGCGTTGGATGCCGGGCAACAGCCCG 9960

CATTATGGGCGTTGGCCTCAACACGATTTTACGTCACTTAAAAAACTCAGGCCGCAGTCG 10020

GTAACCTCGCGCATAACAGCCGGGCAGTGACGTCATCGTCTGCGCGGAAATGGACGAACAG 10080

TGGGGCTATGTGCGGGCTAAAATCGCGCCAGCGCTGGCTGTTTTACGCGTATGACAGTCTC 10140

CGGAAGACGGTTGTTGCGCACGTATTCGGTGAACGCACTATGGCGACGCTGGGGCGTCTT 10200

ATGAGCCTGCTGTCACCCTTTGACGTGGTGATATGGATGACGGATGGCTGGCCGCTGTAT 10260

GAATCCCGCCTGAAGGGAAAAGCTGCACGTAATCAGCAAGCGATATACGCAGCGAATTGAG 10320

CGGCATAACCTGAATCTGAGGCAGCACCTGGCACGGCTGGGACGGAAGTCGCTGTCGTTC 10380

TCAAAATCGGTGGAGCTGCATGACAAAGTCATCGGGCATTATCTGAACATAAAAACACTAT 10440

CAATAAGTTGGAGTCATTACCCAATTATGATAGAATTTACAAGCTATAAGGTTATTGTCC 10500

TGGGTTTCAAGCATTAGTCCATGCAAGTTTTTATGCTTTGCCATTCTATAGATATATTG 10560

ATAAGCGCGCTGCCTATGCCTTGCCCCCTGAAATCCTTACATACGGCGATATCTTCTATA 10620

TAAAAGATATATTATCTTATCAGTATTGTCAATATATTTCAAGGCAATCTGCCTCCTCATC 10680

CTCTTCATCCTCTTCGTCTTGGTAGCTTTTTTAAATATGGCGCTTCATAGAGTAATTCTGT 10740

AAAGGTCCAATTCTCGTTTTTCATACCTCGGTATAATCTTACCTATCACCTCAAATGGTTC 10800

GCTGGGTTTATCGCACCCCCGAACACGAGCACGGCACCCGCGACCACTATGCCAAGAATG 10860

CCCAAGGTAAAAATTGCCGGCCCCGCCATGAAGTCCGTGAATGCCCCGACGGCCGAAGTG 10920

AAGGGCAGGCCGCCACCCAGGCCGCCCTCACTGCCCGGCACCTGGTCGCTGAATGTC 10980

GATGCCAGCACCTGCGGCACGTCAATGCTTCCGGGCGTCGCGCTCGGGCTGATCGCCAT 11040

CCCGTTACTGCCCCGATCCCGGCAATGGCAAGGACTGCCAGCGCTGCCATTTTTGGGGTG 11100

AGGCCGTTTCGCGGCCGAGGGGCGCAGCCCCTGGGGGGATGGGAGGCCCGCGTTAGCGGGC 11160

CGGGAGGGTTTCGAGAAGGGGGGGCACCCCCCTTCGGCGTGCGCGGTACGCGCACAGGGC 11220

GCAGCCCTGGTTAAAAACAAGGTTTATAAATATTGGTTTAAAAGCAGGTTAAAAGACAGG 11280

TTAGCGGTGGCCGAAAAACGGGCGGAAACCCTTGCAAATGCTGGATTTTCTGCCTGTGGA 11340

CAGCCCCTCAAATGTCAATAGGTGCGCCCCTCATCTGTCAGCACTCTGCCCTCAAGTGT 11400

CAAGGATCGCGCCCCTCATCTGTCAGTAGTCGCGCCCCTCAAGTGTCAATACCGCAGGGC 11460

ACTTATCCCCAGGCTTGTCCACATCATCTGTGGGAAACTCGCGTAAAATCAGGCGTTTTC 11520

GCCGATTTGCGAGGCTGGCCAGCTCCACGTGCGCCGCCGAAATCGAGCCTGCCCTCATC 11580

TGTCAACGCCGCGCCGGGTGAGTCGGCCCCTCAAGTGTCAACGTCCGCCCTCATCTGTC 11640

AGTGAGGGCCAAGTTTTCCGCGAGGTATCCACAACGCCGGCGCCGCGGTGTCTCGACA 11700

CGGCTTCGACGGCGTTTTCTGGCGCGTTTGCAGGGCCATAGACGGCCGCCAGCCCAGCGGC 11760

GAGGGCAACCAGCCCCG 11777

図 1. pBIN19 の塩基配列

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

「 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性 」

[目次]

1. 各器官における細胞内に移入した核酸の存在の有無	1
2. 細胞内に移入した核酸の存在状態	4
3. 当該核酸による形質発現の安定性	8

「細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性」

1. 各器官における細胞内に移入した核酸の存在の有無

WKS82/130-9-1の各器官における導入遺伝子の存在の有無について、PCR法によって解析した。

[実験方法]

「WKS82」(以下、宿主という)及び「WKS82/130-9-1」(以下、組換え体という)の花弁、葉、茎、根及び花粉よりDNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)を用いて製造業者推奨の方法に従ってゲノムDNAを抽出した。抽出したゲノムDNAを鋳型としてTaKaRa Ex Taq™ (TaKaRa)によりPCR法にて導入遺伝子(パンジーF3' 5' H遺伝子、トレニア 5AT遺伝子、大腸菌NPT II 遺伝子)の増幅を行った。さらに、内在性コントロールとしてバラのアントシアニン合成酵素(ANS)遺伝子の増幅を行った。PCRの反応条件は、熱変性が94℃で5分間、続いて94℃で30秒、55℃で30秒、72℃で1分のサイクルを25回繰り返し、その後、伸長反応が72℃で7分である。得られた増幅産物をアガロースゲルにて電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色によって増幅断片の検出を行った。

なお、パンジーF3' 5' H 遺伝子の増幅にはBP40-F2 と BP40-R3 を、トレニア 5AT 遺伝子の増幅には TAT7-50F と TAT7-R1 を、NPT II 遺伝子の増幅には NPT II -F と NPT II -R を、ANS 遺伝子の増幅には RhANS69-r1 と RhANS69-m1 をプライマーとして用いた。

パンジーF3' 5' H特異的プライマー

BP40-F2 : 5' -GAG CTA GGC CAC ATG CTT A- 3'

BP40-R3 : 5' -CTT TGC GCT CAT GAC TCG T- 3'

トレニア 5AT遺伝子特異的プライマー

TAT7-50F : 5' -AAC AAT ATG TGC AGT CCT CGA A- 3'

TAT7-R1 : 5' -AAC TCG CAT CGC CAA CTA C- 3'

NPT II 遺伝子特異的プライマー

NPT II -F : 5' -GAT TGA ACA AGA TGG ATT GCA CGC- 3'

NPT II -R : 5' -CGA AGA ACT CCA GCA TGA GAT CCC- 3'

ANS特異的プライマー

Rh ANS 69-r1 : 5' -TTT GAT CTT CCC ATT GAG C- 3'

Rh ANS 69-m1 : 5' -TCC GCG GTG GGA AGA TCC CC- 3'

[結果と結論]

表 1 及び図 1 に結果を示した。PCR による解析の結果、本組換え体の花卉、葉、茎のゲノム中には導入遺伝子が検出されたが、根、花粉のゲノムにおいてはこれら導入遺伝子は検出されなかった。

また、花卉、葉や茎の表皮系、がく片、雄ずい、雌ずいは L1 層及び L2 層、花粉と卵細胞は L2 層、葉や茎の内部組織、根は L3 層に由来することが知られている。根及び花粉のゲノムにおいて導入遺伝子が検出されなかったことより、本組換え体は導入遺伝子が L1 層にのみ存在するキメラ植物であることが示唆された。

表 1. 組換え体の各器官における導入遺伝子の存在の有無

検出遺伝子	導入遺伝子存在の有無				
	花卉	葉	茎	根	花粉
パンジー-F3' 5' H	+	+	+	-	-
トレニア 5AT	+	+	+	-	-
NPT II	+	+	+	-	-

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

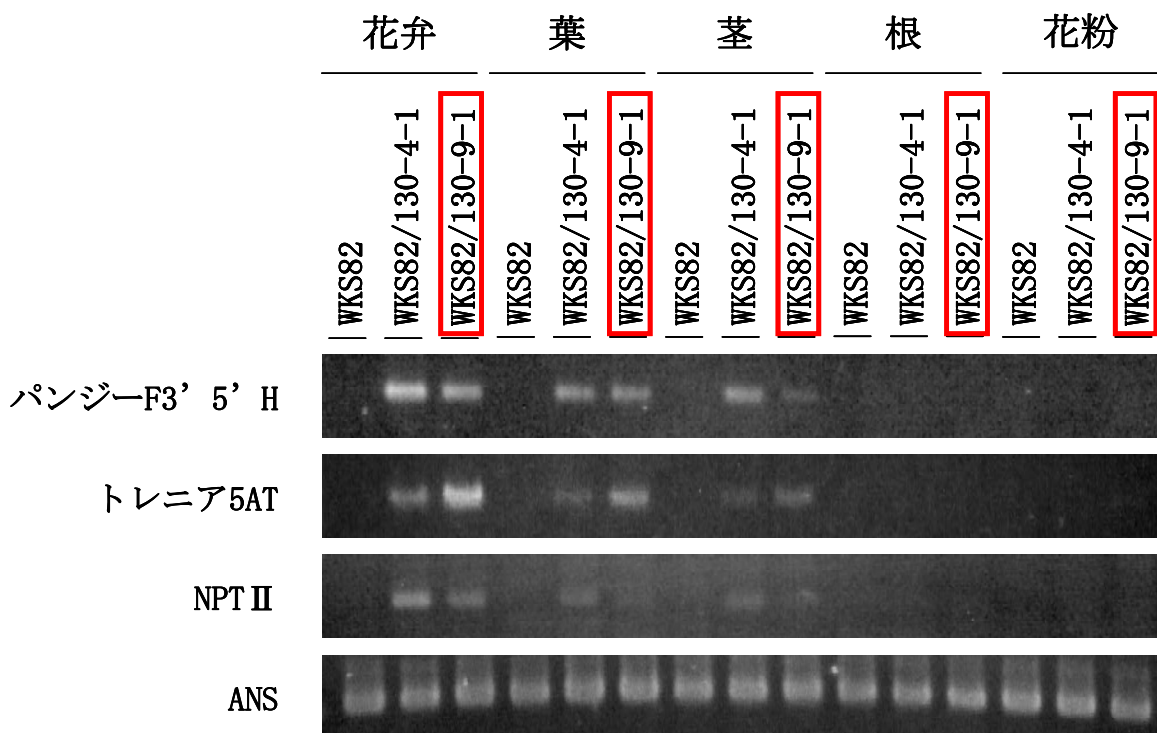


図 1. 組換え体の各器官における PCR 解析

※WKS82/130-4-1 は本申請には含まれない。

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

2. 細胞内に移入した核酸の存在状態

導入遺伝子の存在状態についてサザンブロット法によって解析した。

[実験方法]

宿主及び組換え体の葉より Nucleon PHYTOPURE for PLANT DNA EXTRACTION KIT (Amersham Biosciences) を用いて染色体 DNA を抽出した。染色体 20 μ g を制限酵素 *Nco*I、*Cla*I 又は *Pst*I で切断後、0.8%アガロースゲルにて電気泳動した。各 DNA を変性中和後、ナイロン膜に 20×SSC で転写した。プローブとしてジゴキシゲニンで標識した各遺伝子（パンジーF3' 5' H 遺伝子、トレニア 5AT 遺伝子、大腸菌 NPT II 遺伝子）を用い、高 SDS 濃度ハイブリダイゼーションバッファー中、42°C で 16 時間ハイブリダイゼーションを行った。ナイロン膜を 1%(w/v) SDS を含む 2xSSC を用いて 65°C、5 分で 2 回洗浄後、1%(w/v) SDS を含む 0.2xSSC を用いて 65°C、15 分で 2 回洗浄し、2 時間露光した。

[結果と結論]

表 2 及び 図 2-1～2-3 に結果を示した。サザン解析の結果、移入された配列は本組換え体ゲノム中、4 箇所が存在すると予測される。また T-DNA は一般に LB や RB 領域、あるいは T-DNA 上の一部の配列を欠いた状態で植物ゲノムに挿入されていることが多いことが報告されている (Kim et al., 2003³⁵)。同様に、本組換え体においても使用したプローブによってゲノム中に挿入されている箇所数が異なることから、全長の T-DNA が挿入された箇所に加えて、T-DNA の一部の配列のみが挿入された箇所もあると考えられた。

表 2. 挿入された各遺伝子の挿入部位数

プローブ	挿入部位数 (WKS82/130-9-1)
パンジーF3' 5' H	4
トレニア 5AT	4
NPT II	2

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

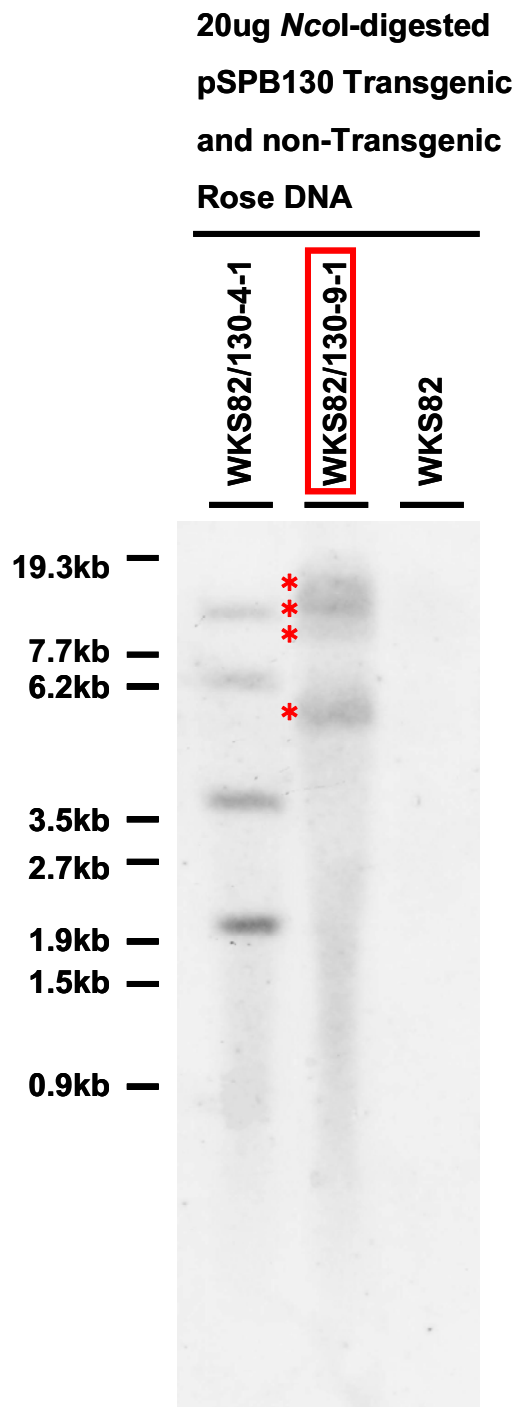


図 2-1. WKS82/130-9-1 のサザン解析

宿主(WKS82)及び組換え体 (WKS82/130-9-1)の染色体 DNA 20 μ g を制限酵素 *NcoI* で消化し、パンジー-F3' 5' H 遺伝子 (本遺伝子の *NcoI* 切断部位下流から 3' 末端手前まで) をプローブとしてサザン解析を行った。

※WKS82/130-4-1 は本申請には含まれない。

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

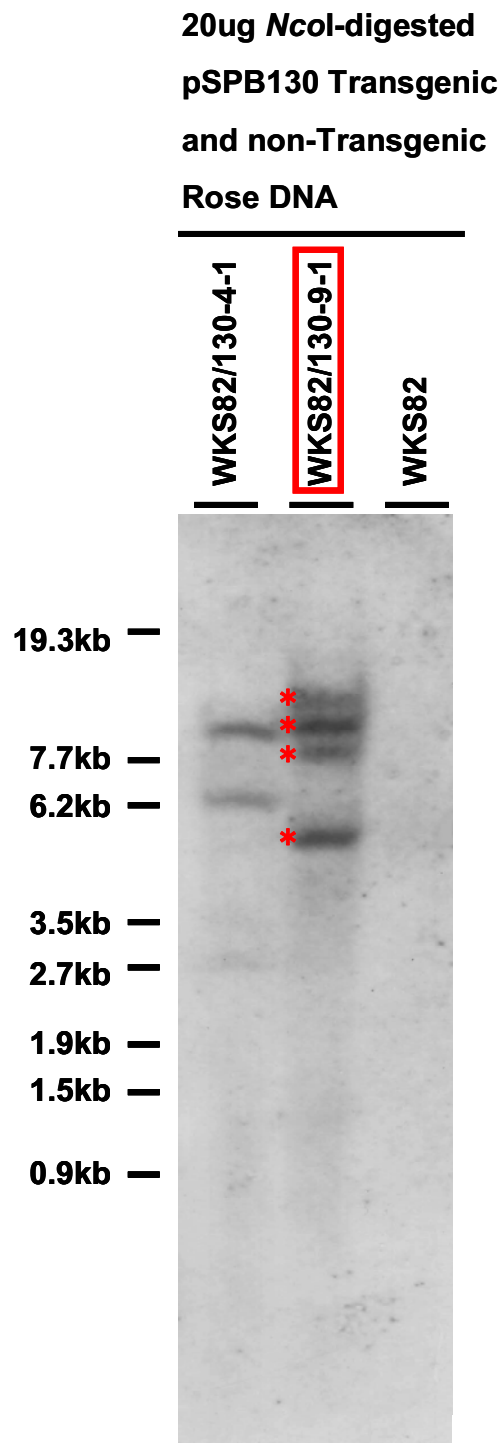


図 2-2. WKS82/130-9-1 のサザン解析

宿主(WKS82) 及び組換え体 (WKS82/130-9-1)の染色体 DNA 20 μ g を制限酵素 *Nco*I で消化し、トレニア 5AT 遺伝子をプローブとしてサザン解析を行った。

※WKS82/130-4-1 は本申請には含まれない。

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

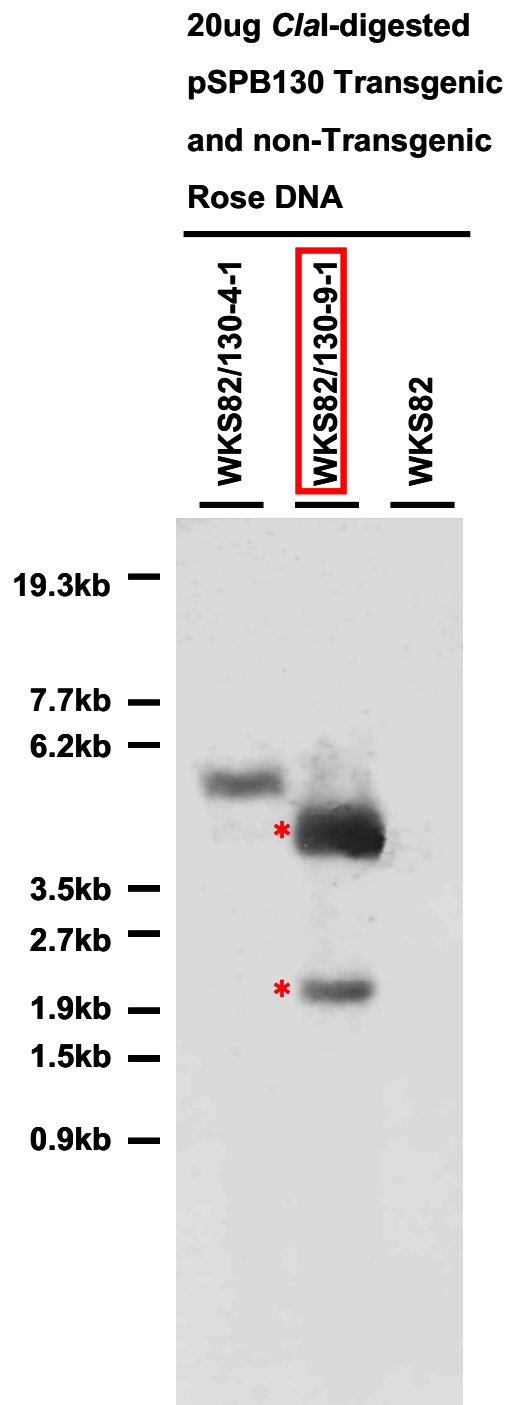


図 2-3. WKS82/130-9-1 のサザン解析

宿主(WKS82) 及び組換え体 (WKS82/130-9-1)の染色体 DNA 20 μ g を制限酵素 *Cl*aI で消化し、選択マーカーとして用いたカナマイシン耐性遺伝子、NPT II 遺伝子をプローブとしてサザン解析を行った。

※WKS82/130-4-1 は本申請には含まれない。

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

3. 当該核酸による形質発現の安定性

3-1. 花卉における当該遺伝子による形質発現の安定性

本組換え体の花卉における導入遺伝子の発現についてノザンブロット法によって解析した。

[実験方法]

宿主及び組換え体の花卉より RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用いて total RNA を抽出した。total RNA 20 μ g を 1.2%ホルムアミド含有アガロースゲルにて電気泳動後、ナイロン膜に転写した。DIG Northern Starter Kit (Roche) に従い、導入遺伝子であるパンジー-F3' 5' H 遺伝子、トレニア 5AT 遺伝子及び大腸菌 NPT II 遺伝子の RNA プローブを作製し、これらを用いて 68°C、16 時間ハイブリダイゼーションを行った。ナイロン膜を 0.1% SDS を含む 2xSSC を用いて室温、5 分で 2 回洗浄後、0.1% SDS を含む 0.1xSSC を用いて 68°C、30 分で 2 回洗浄し、当該キット製造業者推奨の方法にてハイブリダイズしたシグナルの検出を行った。

[結果と結論]

図 3 に結果を示した。ノザン解析の結果、T-DNA 上の遺伝子のいずれをプローブとした場合でも、組換え体でのみ特異的なシグナルが検出された。よって、組換え体において、ゲノム内に挿入された遺伝子が安定して発現していることが明らかとなった。

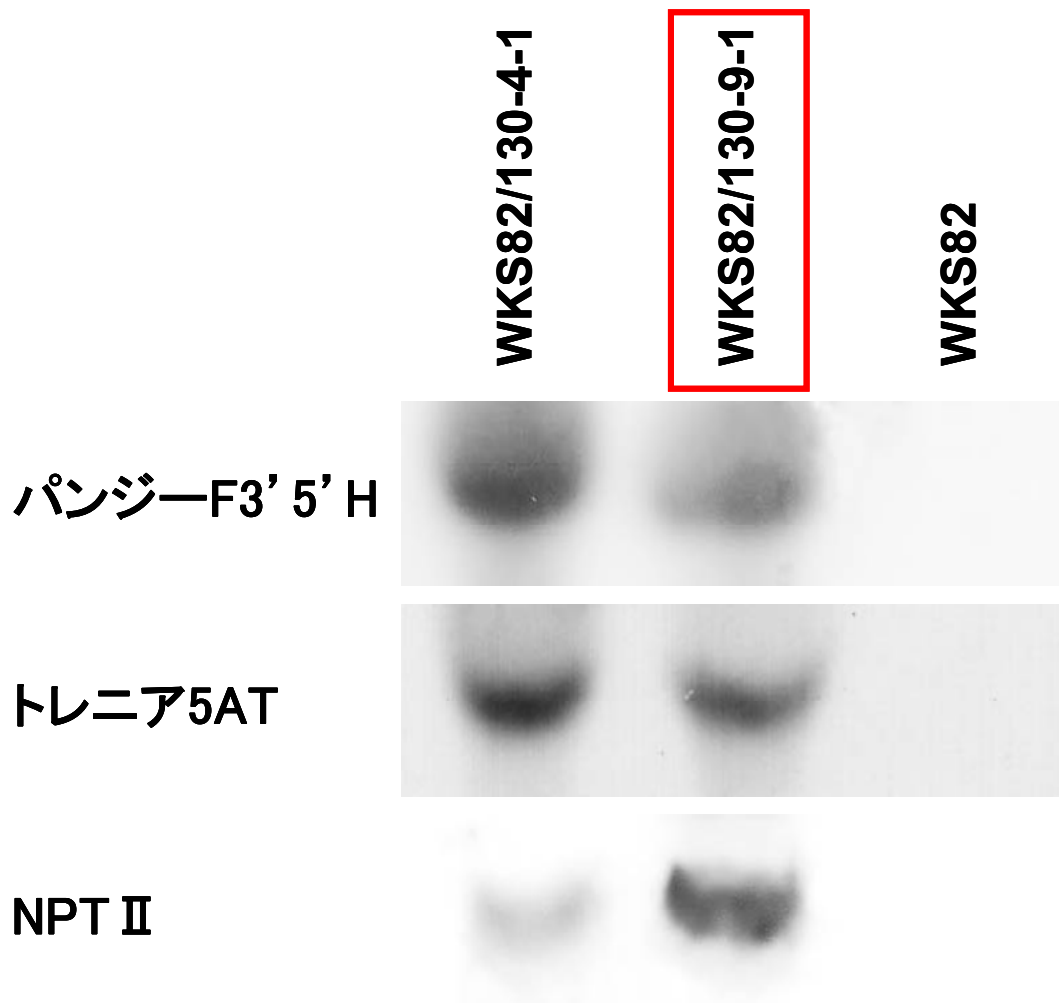


図 3. WKS82/130-9-1 のノザン解析

宿主(WKS82) 及び組換え体(WKS82/130-9-1)の total RNA 20 μ g を導入遺伝子 (パンジー-F3' 5' H 遺伝子、トレニア 5AT 遺伝子及び大腸菌 NTP II 遺伝子) をプローブとしてノザン解析を行った。

※WKS82/130-4-1 は本申請には含まれない。

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)

3-2. 各器官における当該遺伝子による形質発現の安定性

本組換え体の花卉、葉、茎における導入遺伝子の発現について RT-PCR 法によって解析した。なお、PCR による解析にて根及び花粉においては導入遺伝子の存在が確認できなかったため、これらの器官における発現については解析していない。

[実験方法]

宿主及び組換え体の花卉、葉、茎より RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用いて total RNA を抽出した。抽出した total RNA 330ng より SuperScript™ First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen) にて製造業者推奨の方法に従い cDNA を合成した。得られた cDNA のうち 3 μl を用いて、TaKaRa Ex Taq™ (TaKaRa) により PCR 法にて導入遺伝子（パンジー F3' 5' H 遺伝子、トレニア 5AT 遺伝子、大腸菌 NPT II 遺伝子）の増幅を行った。さらに、内在性コントロールとしてバラのエチレンレセプター 1 (ETR1) 遺伝子の増幅を行った。PCR の反応条件は、熱変性が 94℃ で 5 分間、続いて 94℃ で 30 秒、55℃ で 30 秒、72℃ で 1 分のサイクルを 25 回繰り返し、その後、伸長反応が 72℃ である。得られた増幅産物をアガロースゲルにて電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色によって増幅断片の検出を行った。

なお、パンジー F3' 5' H 遺伝子の増幅には pBG66(40)-F と pBG66(40)-R を、トレニア 5AT 遺伝子の増幅には TAT7-F2 と TAT7-1469R を、NPT II 遺伝子の増幅には NPT II-F と NPT II-R を、ETR1 遺伝子の増幅には ETR-F1 と ETR-R1 をプライマーとして用いた。

パンジー F3' 5' H 特異的プライマー

pBG66(40)-F : 5' -GGC AGA TTT CCT CGA CGT TCT C- 3'

pBG66(40)-R : 5' -CCT TGT CCC CGC ACA AAT TC- 3'

トレニア 5AT 遺伝子特異的プライマー

TAT7-F : 5' -CCA ATG CAA TGC CTT GTG TTG TAC AAC TT - 3'

TAT7-1469R : 5' -TTA AAT ATC CTT CAA ACC GCT GT - 3'

NPT II 遺伝子特異的プライマー

NPT II-F : 5' -GAT TGA ACA AGA TGG ATT GCA CGC- 3'

NPT II-R : 5' -CGA AGA ACT CCA GCA TGA GAT CCC- 3'

ETR1 遺伝子特異的プライマー

ETR-F1 : 5' -TGT GGA GCG ACA CAT CTT AT- 3'

ETR-R1 : 5' -GCA GCA TGT GAA AGA GCA AC- 3'

[結果と結論]

図4に結果を示した。RT-PCRによる解析の結果、花卉、葉、茎のゲノム内に挿入されたNPT II 遺伝子を除く各遺伝子は安定して発現していることが明らかとなった。しかし、本組換え体の葉においてはゲノム内に挿入された NPT II 遺伝子は発現していないことが確認された。

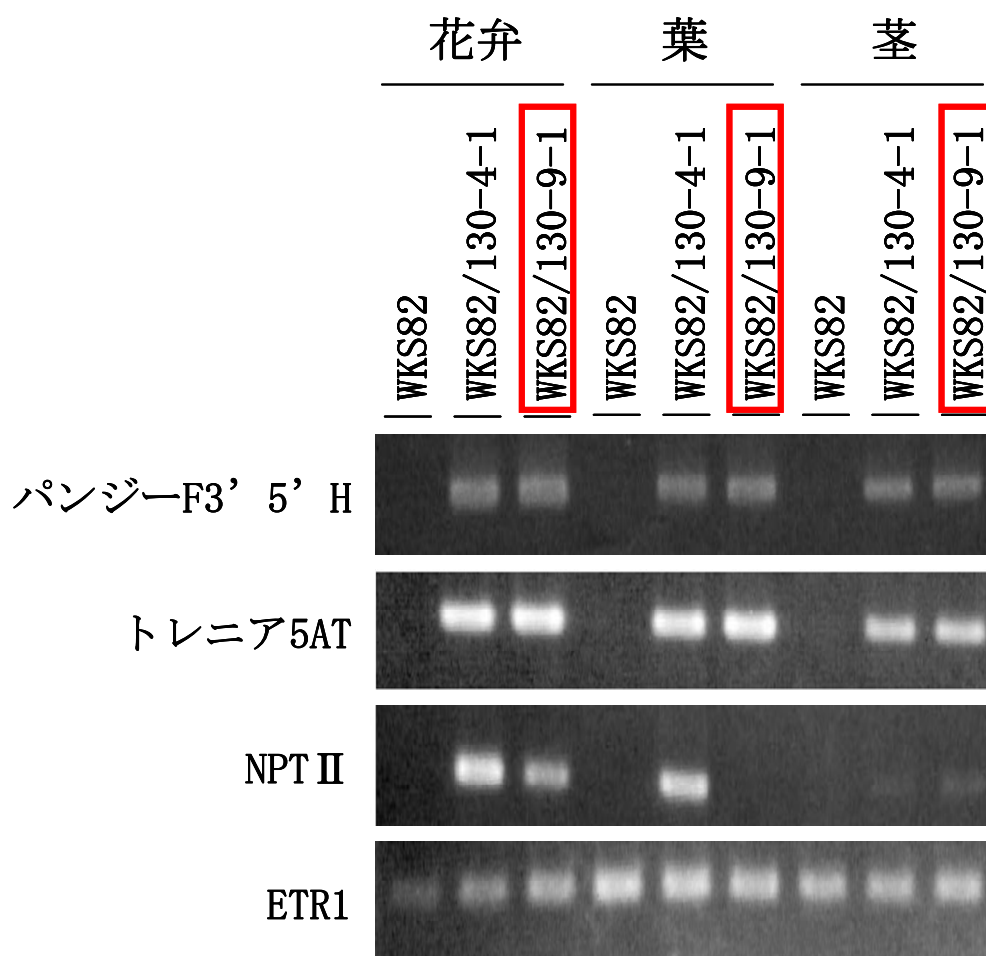


図4. 組換え体の各器官における RT-PCR 解析

※WKS82/130-4-1 は本申請には含まれない。

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者にある。)