

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

GGTTGGCATGCACATACAAATGGACGAACGGATAAACCTTTTCACGCCCTTTTAAATATC 60
Right border

CGATTATTCTAATAAACGCTCTTTTCTCTTAGGTTTACCCGCCAATATATCCTGTCAAAC 120

ACTGATAGTTTAAACTGAAGGCGGGAAACGACAATCTGATCATGAGCGGAGAATTAAGGG 180

AGTCACGTTATGACCCCCGCCGATGACGCGGGACAAGCCGTTTTACGTTTGAACTGACA 240

GAACCGCAACGTTGAAGGAGCCACTCAGCCGCGGGTTTCTGGAGTTTAATGAGCTAAGCA 300

CATACGTCAGAAACCATTATTGCGCGTTCAAAGTCGCCTAAGGTCACTATCAGCTAGCA 360

AATATTTCTTGTCAAAAATGCTCCACTGACGTTCCATAAATCCCCTCGGTATCCAATTA 420

GAGTCTCATATTCACTCTCAATCCAAATAATCTGCACCGGATCTGGATCGTTTCGCATGA 480
NPT II MetI

TTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCT 540
leGluGlnAspGlyLeuHisAlaGlySerProAlaAlaTrpValGluArgLeuPheGlyT

ATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGC 600
yrAspTrpAlaGlnGlnThrIleGlyCysSerAspAlaAlaValPheArgLeuSerAlaG

	<i>Pst</i> I	
<u>AGGGGCGCCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCAGG</u>	▼	660
<i>lnGlyArgProValLeuPheValLysThrAspLeuSerGlyAlaLeuAsnGluLeuGlnA</i>		
<u>ACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGCGCAGCTGTGCTCG</u>		720
<i>spGluAlaAlaArgLeuSerTrpLeuAlaThrThrGlyValProCysAlaAlaValLeuA</i>		
<u>ACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATC</u>		780
<i>spValValThrGluAlaGlyArgAspTrpLeuLeuLeuGlyGluValProGlyGlnAspL</i>		
<u>TCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCCGGC</u>		840
<i>euLeuSerSerHisLeuAlaProAlaGluLysValSerIleMetAlaAspAlaMetArgA</i>		
<u>GGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATTCGACCACCAAGCGAAACATCGCATCG</u>		900
<i>rgLeuHisThrLeuAspProAlaThrCysProPheAspHisGlnAlaLysHisArgIleG</i>		
<u>AGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTGCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGC</u>		960
<i>luArgAlaArgThrArgMetGluAlaGlyLeuValAspGlnAspAspLeuAspGluGluH</i>		
<u>ATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAACTGTTCCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCGACGGCG</u>		1020
<i>isGlnGlyLeuAlaProAlaGluLeuPheAlaArgLeuLysAlaArgMetProAspGlyA</i>		
	<i>Nco</i> I	
<u>ATGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCC</u>	▼	1080
<i>spAspLeuValValThrHisGlyAspAlaCysLeuProAsnIleMetValGluAsnGlyA</i>		
<u>GCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTATCAGGACATAG</u>		1140
<i>rgPheSerGlyPheIleAspCysGlyArgLeuGlyValAlaAspArgTyrGlnAspIleA</i>		
<u>CGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTCG</u>		1200
<i>laLeuAlaThrArgAspIleAlaGluGluLeuGlyGlyGluTrpAlaAspArgPheLeuV</i>		

<u>TGCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTTCGCAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACG</u>	1260
<i>alLeuTyrGlyIleAlaAlaProAspSerGlnArgIleAlaPheTyrArgLeuLeuAspG</i>	
<u>AGTTCTTCTGAGCGGGACTCTGGGGTTTCGAAATGACCGACCAAGCGACGCCAACCTGCC</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

GCGCGAAACTAGGATAAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCGGGCCTC	1920
CTGTCAATGCTGGCGGGCGGCTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGCGGCTCTGAGGGTGGTGGCT	1980
CTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGCTCTGAGGGAGGCGGTTCCGGTGGTGGCTCTG	2040
GTTCCGGTGATTTTGATTATGAAAAGATGGCAAACGCTAATAAGGGGGCTATGACCGAAA	2100
ATGCCGATGAAAACGCGCTACAGTCTGACGCTAAAGGCAAACCTTGATTCTGTGCTACTG	2160
<i>Cla</i> I ATTACGGTGCTGCTATCGATGGTTTCATTGGTGACGTTCCGGCCTTGCTAATGGTAATG	2220
GTGCTACTGGTGATTTTGCTGGCTCTAATTCCCAAATGGCTCAAGTCGGTGACGGTGATA	2280
ATTCACCTTTAATGAATAATTTCCGTCAATATTTACCTTCCCTCCCTCAATCGGTTGAAT	2340
GTCGCCCTTTTGTCTTTGGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTC	2400
ATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAA	2460
TTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTC	2520

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

<u>AGCTAGGCCACATGCTTAAAGCCATGTGCGAGGCGAGCCGGTGCGGGGAGCCCGTGGTG</u>	3900
<i>luLeuGlyHisMetLeuLysAlaMetCysGluAlaSerArgCysGlyGluProValValL</i>	
NcoI ▼	
<u>TGGCCGAGATGCTCACGTACGCCATGGCGAACATGATCGGTCAAGTGATACTCAGCCGGC</u>	3960
<i>euAlaGluMetLeuThrTyrAlaMetAlaAsnMetIleGlyGlnValIleLeuSerArgA</i>	
<u>CGTGTTTCGTGACCAAAGGGACCGAGTCTAACGAGTTCAAAGACATGGTGGTCGAGTTGA</u>	4020
<i>rgValPheValThrLysGlyThrGluSerAsnGluPheLysAspMetValValGluLeuM</i>	
<u>TGACGTCCGCCGGTACTTCAACATCGGTGACTTCATACCCTCGATCGCTTGGATGGATT</u>	4080
<i>etThrSerAlaGlyTyrPheAsnIleGlyAspPheIleProSerIleAlaTrpMetAspL</i>	
<u>TGCAAGGGATCGAGCGAGGGATGAAGAAGCTGCACACGAAGTTTGATGTGTTATTGACGA</u>	4140
<i>euGlnGlyIleGluArgGlyMetLysLysLeuHisThrLysPheAspValLeuLeuThrL</i>	
<u>AGATGGTGAAGGAGCATAGAGCGACGAGTCATGAGCGCAAAGGGAAGGCAGATTTCTCTCG</u>	4200
<i>ysMetValLysGluHisArgAlaThrSerHisGluArgLysGlyLysAlaAspPheLeuA</i>	
<u>ACGTTCTCTTGAAGAATGCGACAATACAAATGGGGAGAAGCTTAGTATTACCAATATCA</u>	4260
<i>spValLeuLeuGluGluCysAspAsnThrAsnGlyGluLysLeuSerIleThrAsnIleL</i>	
<u>AAGCTGTCCTTTTGAATCTATTCACGGCGGGCACGGACACATCTTCGAGCATAATCGAAT</u>	4320
<i>ysAlaValLeuLeuAsnLeuPheThrAlaGlyThrAspThrSerSerSerIleIleGluT</i>	
<u>GGGCGTTAACGGAGATGATCAAGAATCCGACGATCTTAAAAAAGGCGCAAGAGGAGATGG</u>	4380
<i>rpAlaLeuThrGluMetIleLysAsnProThrIleLeuLysLysAlaGlnGluGluMetA</i>	
<u>ATCGAGTCATCGGTCTGATCGGAGGCTGCTCGAATCGGACATATCGAGCCTCCCGTACC</u>	4440
<i>spArgValIleGlyArgAspArgArgLeuLeuGluSerAspIleSerSerLeuProTyrL</i>	
<u>TACAAGCCATTGCTAAAGAAACGTATCGCAAACACCCGTCGACGCCTCTCAACTTGCCGA</u>	4500
<i>euGlnAlaIleAlaLysGluThrTyrArgLysHisProSerThrProLeuAsnLeuProA</i>	

GGATTGCGATCCAAGCATGTGAAGTTGATGGCTACTACATCCCTAAGGACGCGAGGCTTA 4560
rgIleAlaIleGlnAlaCysGluValAspGlyTyrTyrIleProLysAspAlaArgLeuS

CGGTGAACATTTGGGCGATCGGTCCGGACCCGAATGTTTGGGAGAATCCGTTGGAGTTCT 4620
erValAsnIleTrpAlaIleGlyArgAspProAsnValTrpGluAsnProLeuGluPheL

TGCCGAAAGATTCTTGTCTGAAGAGAATGGGAAGATCAATCCCGGTGGGAATGATTTTG 4680
euProGluArgPheLeuSerGluGluAsnGlyLysIleAsnProGlyGlyAsnAspPheG

AGCTGATTCCGTTTGGAGCCGGGAGGAGAATTTGTGCGGGGACAAGGATGGGAATGGTCC 4740
luLeuIleProPheGlyAlaGlyArgArgIleCysAlaGlyThrArgMetGlyMetValL

TTGTAAGTTATATTTTGGGCACTTTGGTCCATTCTTTTGATTGGAAATTACCAAATGGTG 4800
euValSerTyrIleLeuGlyThrLeuValHisSerPheAspTrpLysLeuProAsnGlyV

TCGCTGAGCTTAATATGGATGAAAGTTTTGGGCTTGCAATGCAAAAGGCCGTGCCGCTCT 4860
alAlaGluLeuAsnMetAspGluSerPheGlyLeuAlaLeuGlnLysAlaValProLeuS

CGGCCTTGGTCAGCCCACGGTTGGCCTCAAACCGGTACGCAACCTGAGCTAATGGGCTGG 4920
erAlaLeuValSerProArgLeuAlaSerAsnAlaTyrAlaThr

GCCTAGTTTTGTGGGCCTTAATTTAGAGACTTTTGTGTTTTAAGGTGTGTACTTTATTA 4980

TTGGGTGCTTAAATGTGTGTTTTAATTTGTATTTATGGTTAATTATGACTTTATTGTATA 5040

ATTATTTATTTTTCCCTTCTGGGTATTTTATCCATTTAATTTTTCTTCAGAATTATGATC 5100

ATAGTTATCAGAATAAAATTGAAAATAATGAATCGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 5160

<u>ACTCGACCCGAATTTCCCCGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAA</u>	5220
<i>NOS terminator</i>	
<u>TCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGT</u>	5280
<u>AATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCC</u>	5340
<u>GCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACCTAGGATAAATT</u>	5400
<u>ATCGCGCGGGTGTTCATCTATGTTACTAGATCGGGAATTCAAGCTTGCAAGCTTGCCAAC</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

ATCGGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTCATCAAAAAGGACAGT 5940

AGAAAAGGAAGGTGGCACCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCTATCGTTCA 6000

AGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGA 6060

AAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGA 6120

CGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAG 6180

*Pst*I

TTCATTTTCATTTCGGAGAGGTACGGGCTGCAGGAATTCGGCACGAGCTTCAAAGCCAAAAA 6240

TAT

GAAACAATTAATCAATGGCTGTTGAAGCCCCCAAAACAATATGTGCAGTCTTCGAAAAC 6300

MetAlaValGluAlaProLysThrIleCysAlaValLeuGluAsnS

CTCTTATTACACCACAAAGTACCGATACAGAACAACCTTTTCACTCACATTTCTTGACA 6360

erLeuIleThrProGlnSerThrAspThrGluGlnThrLeuSerLeuThrPhePheAspI

TCAAATGGGTTTCATTTTCATCCAATGCAATGCCTTGTGTTGTACAACCTCCCATGTTCTA 6420

leLysTrpValHisPheHisProMetGlnCysLeuValLeuTyrAsnPheProCysSerL

AGTCACATTTTCTCGAAGCCACAGTTCGGAGCTTCAAATCATCACTCTCCAAAACCTCTCA 6480

ysSerHisPheLeuGluAlaThrValProSerPheLysSerSerLeuSerLysThrLeuA

GACACTATCTTCCATTATCAGGAACTTATACTATCCAAACCCGACCCATGACATGGATG 6540
rgHisTyrLeuProLeuSerGlyAsnLeuTyrTyrProAsnProThrHisAspMetAspA

ATGATGAATCGAACATGCCCGAGATCCGTTATAAACCTGGCGACTCGGTTTCTCTAACCG 6600
spAspGluSerAsnMetProGluIleArgTyrLysProGlyAspSerValSerLeuThrV

TTGCAGAGTACTTCTCCGGTCATGAAGACAATACGACTACTGAAGAATACTTCAATTACC 6660
alAlaGluTyrPheSerGlyHisGluAspAsnThrThrThrGluGluTyrPheAsnTyrL

TCACTGGAAATTTCCAGAGAGATTGCGATCAATTCTATGATCTCTTACCCGATTTTCGAG 6720
euThrGlyAsnPheGlnArgAspCysAspGlnPheTyrAspLeuLeuProAspPheArgA

ACCCGAAACCGAATCCAATTGCACAGTAATCCCACTTATAGCAGTTCAAATCACACTCT 6780
spProGluThrGluSerAsnCysThrValIleProLeuIleAlaValGlnIleThrLeuP

TTCCAGGTGCTGGGATATGTCTGGGGTCATCAACAGTCACGTAGTTGGCGATGCGAGTT 6840
heProGlyAlaGlyIleCysLeuGlyValIleAsnSerHisValValGlyAspAlaSerS

CCATAGTGGGATTCATCAAAGCTTGGAGTAAAGTTGCAATGTATGAAGACGATGAAGAGA 6900
erIleValGlyPheIleLysAlaTrpSerLysValAlaMetTyrGluAspAspGluGluI

TTCTAGCTAACAACAATTTGATTCCATCTTATGACAGATCAGTCGTGAAAGATCCAAAAG 6960
leLeuAlaAsnAsnAsnLeuIleProSerTyrAspArgSerValValLysAspProLysG

GGATCAAATCTTTGCTCTGGAACAAGATGAAGAACGTGAAATATCAACCCCAACCCGCAA 7020
lyIleLysSerLeuLeuTrpAsnLysMetLysAsnValLysTyrGlnProGlnProAlaL

AACATCTCCAACAACAAGGTCCGAGCCACATACACCTTGAGAAAGAACGATATCGAGA 7080
ysHisLeuProThrAsnLysValArgAlaThrTyrThrLeuArgLysAsnAspIleGluA

GGCTGAAAACCCGAATCCGATCCAAGAAACCAGGCACAACCTGCTTATCATCTTTCACAA 7140
rgLeuLysThrArgIleArgSerLysLysProGlyThrThrCysLeuSerSerPheThrI

Pst I
▼

TCGCAACAGCCTATGCTTGGACATGCCTTGCAAAATCTGCAGCAGAAGCTGAAGAACAAG 7200
leAlaThrAlaTyrAlaTrpThrCysLeuAlaLysSerAlaAlaGluAlaGluGluGlnV

TAGTCCAAGACAGTGACGACGAGCACTTGCTCATGCCCGTTGATTTGAGACCAAGAATAG 7260
alValGlnAspSerAspAspGluHisLeuLeuMetProValAspLeuArgProArgIleA

ATCCTCCATTACCACCTTCTTACTTTGGAAACTGCGTTCTTCCATCTTTTGCGAAAACGA 7320
spProProLeuProProSerTyrPheGlyAsnCysValLeuProSerPheAlaLysThrT

CGCATGGGCTTTTGAAAGGAGAGTTAGGGCTTTTTAATGCAGTGGAAGTGATTAGTGATG 7380
hrHisGlyLeuLeuLysGlyGluLeuGlyLeuPheAsnAlaValGluValIleSerAspV

TCATTACCGGTATCGTTAGCAAGAAATATGACTTGTTCAAAGACTTAGACAGACAAGGTG 7440
alIleThrGlyIleValSerLysLysTyrAspLeuPheLysAspLeuAspArgGlnGlyG

AGATTTTTTCGTGCCTTGTTTCGGAAAACGAGTGTTGGCGATCATGGGTTTCGCTAAGTTCG 7500
luIlePheArgAlaLeuPheGlyLysArgValLeuAlaIleMetGlySerProLysPheA

ATCTCTACGAAGTTGATTTTCGGGTGGGGTAAGCCGAAGAAGATTGAACCTGTGTCCATTG 7560
spLeuTyrGluValAspPheGlyTrpGlyLysProLysLysIleGluProValSerIleA

ATAGAGAGAGGACGACTATGTGGATTAGCAAGTCTGGCGAGTTTGAGGGTGGTTTGGAGA 7620
spArgGluArgThrThrMetTrpIleSerLysSerGlyGluPheGluGlyGlyLeuGluI

TTGGTTTTTCTTTCAATAAGAAGAAAATGGATGCTTTTGGCGAGTGTTTTAACAGCGGTT 7680
leGlyPheSerPheAsnLysLysLysMetAspAlaPheGlyGluCysPheAsnSerGlyL

TGAAGGATATTTAATTTAAAAAATGTTTAGCTTTGATGCATGCGTTTTATATATGTTGT 7740
euLysAspIle

GAAATAATGTGGTGTGCAATAACTAGAGTAACTTTAGGTTAATAAATTCGGTTTTTCTGT 7800

<u>TAAATCTGGATGATTTCGTGCAAGCAAACCTGTCGATGCGTTGGATGGATGTCCGGTGGTGT</u>	7860
<u>GGAGATTGTTGAAGAAGGAAATGGATGCTTTTTTTATGGTGGTTTGAAGGATTTGAATGT</u>	7920
<u>GTAGATTATTGGTTTATTGAGGTTGTTTATTTTGTGTATGTTGTTTATGCATGAAAAATA</u>	7980
<u>TTTAGATCCAACATTTTATGTATGACGTGGTTTAATATTTTCGATTTTCGATCAAAAAAAAA</u>	8040
<u>AAAAAAAAAAAAAACTCGAGGCGAATTTCCCCGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTT</u>	8100
<i>NOS terminator</i>	
<u>TCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATT</u>	8160
<u>ACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTA</u>	8220
<u>TGATTAGAGTCCCACAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAA</u>	8280
<u>ACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCGGGAATTCACTGGCC</u>	8340
GTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCA	8400
GCACATCCCCCTTTCCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCC	8460

CAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGCCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGC	8520
CACGTTGCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATT	8580
TAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGG	8640
GCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAG	8700
TGGA CTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTT	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
GACCTTGCCAAGCTCGTCCTGCTTCTCTTCGATCTTCGCCAGCAGGGCGAGGATCGTGGC	240
ATCACCGAACC GCGCCGTGCGCGGGTCGTCGGTGAGCCAGAGTTTCAGCAGGCCGCCAG	300
GCGGCCAGGTCGCCATTGATGCGGGCCAGCTCGCGGACGTGCTCATAGTCCACGACGCC	360
CGTGATTTTGTAGCCCTGGCCGACGGCCAGCAGGTAGGCCGACAGGCTCATGCCGGCCGC	420
CGCCGCCTTTTCTCAATCGCTCTTCGTTGCTCTGGAAGGCAGTACACCTTGATAGGTGG	480

GCTGCCCTTCCTGGTTGGCTTGGTTTCATCAGCCATCCGCTTGCCCTCATCTGTTACGCC	540
GGCGGTAGCCGGCCAGCCTCGCAGAGCAGGATTCCCGTTGAGCACCGCCAGGTGCGAATA	600
AGGGACAGTGAAGAAGGAACACCCGCTCGCGGGTGGCCTACTTCACCTATCCTGCCCGG	660
CTGACGCCGTTGGATACACCAAGGAAAGTCTACACGAACCCTTTGGCAAAATCCTGTATA	720
TCGTGCGAAAAAGGATGGATATACCGAAAAATCGCTATAATGACCCCGAAGCAGGGTTA	780
TGCAGCGGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCG	840
GCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTT	900
ATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAG	960
GGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTT	1020
GCTGGCCTTTTTGCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTA	1080
TTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGT	1140

CAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCAGAAGGCCGCCAGAGAGGCCGAGCGCGGCCGTG	1200
AGGCTTGGACGCTAGGGCAGGGCATGAAAAAGCCCGTAGCGGGCTGCTACGGGCGTCTGA	1260
CGCGGTGGAAAGGGGGAGGGGATGTTGTCTACATGGCTCTGCTGTAGTGAGTGGGTTGCG	1320
CTCCGGCAGCGGTCTGATCAATCGTCACCCTTTCTCGGTCCTTCAACGTTCTTGACAAC	1380
GAGCTCCTTTTCGCCAATCCATCGACAATCACCGCGAGTCCCTGCTCGAACGCTGCGTC	1440
CGGACCGGCTTCGTGGAAGCGTCTATCGCGGCCCGCAACAGCGGCGAGAGCGGAGCCTG	1500
TTCAACGGTGCCGCCGCGCTCGCCGGCATCGCTGTCGCCGGCCTGCTCCTCAAGCACGGC	1560
CCCAACAGTGAAGTAGCTGATTGTCATCAGCGCATTGACGGCGTCCCCGGCCGAAAAACC	1620
CGCCTCGCAGAGGAAGCGAAGCTGCGCGTCCGGCCGTTTCCATCTGCGGTGCGCCCGTCTG	1680
CGTGCCGGCATGGATGCGCGGCCATCGCGGTAGGCGAGCAGCGCCTGCCTGAAGCTGCG	1740
GGCATTCCCAGATCAGAAATGAGCGCCAGTCGTGTCGGCTCTCGGCACCGAATGCGTATG	1800

ATTCTCCGCCAGCATGGCTTCGGCCAGTGCGTCGAGCAGCGCCCGCTTGTTCCCTGAAGTG	1860
CCAGTAAAGCGCCGGCTGCTGAACCCCAACCGTTCCGCCAGTTTGCGTGTGTCAGACC	1920
GTCTACGCCGACCTCGTTCAACAGGTCCAGGGCGGCACGGATCACTGTATTCCGGCTGCAA	1980
CTTTGTCATGCTTGACACTTTATCACTGATAAACATAATATGTCCACCAACTTATCAGTG	2040
ATAAAGAATCCGCGCGTTCAATCGGACCAGCGGAGGCTGGTCCGGAGGCCAGACGTGAAA	2100
CCCAACATACCCCTGATCGTAATTCTGAGCACTGTCGCGCTCGACGCTGTCCGCATCGGC	2160
CTGATTATGCCGGTGCTGCCGGGCCTCCTGCGCGATCTGGTTCACCTCGAACGACGTCACC	2220
GCCCACTATGGCATTCTGCTGGCGCTGTATGCGTTGGTGCAATTTGCCTGCGCACCTGTG	2280
CTGGGCGCGCTGTCCGATCGTTTCGGGCGGCGGCCAATCTTGCTCGTCTCGCTGGCCGGC	2340
GCCAGATCTGGGGAAC <u>CCTGTGGTTGGCATGCACATACAAATGGACGAACGGATAAACCT</u>	2400
<i>Right border</i>	
<u>TTTCACGCCCTTTTAAATATCCGATTATTCTAATAAACGCTCTTTTCTCTTAGGTTTACC</u>	2460

<u>CGCCAATATATCCTGTCAAACACTGATAGTTTAAACTGAAGGCGGGAAACGACAATCTGA</u>	2520
<u>TCATGAGCGGAGAATTAAGGGAGTCACGTTATGACCCCCGCCGATGACGCGGGACAAGCC</u>	2580
<i>NOS promoter</i>	
<u>GTTTTACGTTTGGAACTGACAGAACCGCAACGTTGAAGGAGCCACTCAGCCGCGGGTTTC</u>	2640
<u>TGGAGTTTAATGAGCTAAGCACATACGTCAGAAACCATTATTGCGCGTTCAAAGTCGCC</u>	2700
<u>TAAGGTCACTATCAGCTAGCAAATATTTCTTGTCAAAAATGCTCCACTGACGTTCCATAA</u>	2760
<u>ATCCCCCTCGGTATCCAATTAGAGTCTCATATTCACTCTCAATCCAAATAATCTGCACCG</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>TTCCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGG</u>	3120

alProCysAlaAlaValLeuAspValValThrGluAlaGlyArgAspTrpLeuLeuLeuG
GCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCA 3180
lyGluValProGlyGlnAspLeuLeuSerSerHisLeuAlaProAlaGluLysValSerI
TCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATTGACC 3240
leMetAlaAspAlaMetArgArgLeuHisThrLeuAspProAlaThrCysProPheAspH
ACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATC 3300
isGlnAlaLysHisArgIleGluArgAlaArgThrArgMetGluAlaGlyLeuValAspG
AGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAAGTTCGCCAGGCTCA 3360
lnAspAspLeuAspGluGluHisGlnGlyLeuAlaProAlaGluLeuPheAlaArgLeuL

NcoI
▼

AGGCGCGCATGCCCGACGGCGATGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGA 3420
ysAlaArgMetProAspGlyAspAspLeuValValThrHisGlyAspAlaCysLeuProA
ATATCATGGTGGAATGGCCGCTTTTCTGGATTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGG 3480
snIleMetValGluAsnGlyArgPheSerGlyPheIleAspCysGlyArgLeuGlyValA
CGGACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGCGGGCG 3540
laAspArgTyrGlnAspIleAlaLeuAlaThrArgAspIleAlaGluGluLeuGlyGlyG
AATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCG 3600
luTrpAlaAspArgPheLeuValLeuTyrGlyIleAlaAlaProAspSerGlnArgIleA
CCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGCGGGACTCTGGGGTTTCGAAATGACCGA 3660
laPheTyrArgLeuLeuAspGluPhePhe
CCAAGCGACGCCAACCTGCCATCACGAGATTTTCGATTCCACCGCCGCTTCTATGAAAG 3720
GTTGGGCTTCGGAATCGTTTTCCGGGACGCCGGCTGGATGATCCTCCAGCGCGGGGATCT 3780

<u>CATGCTGGAGTTCTTCGCCACGGGATCTCTGCGGAACAGGCGGTCTGAAGGTGCCGATAT</u>	3840
CATTACGACAGCAACGGCCGACAAGCACAAACGCCACGATCCTGAGCGACAATATGATCGG	3900
GCCCGGCGTCCACATCAACGGCGTCGGCGGGCGACTGCCAGGCAAGACCGAGATGCACCG	3960
CGATATCTTGCTGCGTTCGGATATTTTCGTGGAGTTCCTGCCACAGACCCGGATGATCCC	4020
<u>CGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGC</u> <i>NOS terminator</i>	4080
<u>GATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATG</u>	4140
<u>CATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATA</u>	4200
<u>CGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAAGTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATC</u>	4260
<u>TATGTTACTAGATCGGGCCTCCTGTCAATGCTGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTTCTGGTG</u>	4320
GCGGCTCTGAGGGTGGTGGCTCTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGCTCTGAGGGAG	4380
GCGGTTCCGGTGGTGGCTCTGGTTCGGTGATTTTGATTATGAAAAGATGGCAAACGCTA	4440

ATAAGGGGGCTATGACCGAAAATGCCGATGAAAACGCGCTACAGTCTGACGCTAAAGGCA 4500

*Cla*I

AACTTGATTCTGTGCTACTGATTACGGTGCTGCTATCGATGGTTTCATTGGTGACGTTT 4560

CCGGCCTTGCTAATGGTAATGGTGCTACTGGTGATTTTGCTGGCTCTAATTCCCAAATGG 4620

CTCAAGTCGGTGACGGTGATAATTCACCTTTAATGAATAATTTCCGTCAATATTTACCTT 4680

CCCTCCCTCAATCGGTTGAATGTCGCCCTTTTGTCTTTGGCCCAATACGCAAACCGCCTC 4740

TCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGAAAAG 4800

CGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTT 4860

TACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACA 4920

lacZ

*Pst*I

CAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAG 4980

GATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTCAGTGGCCGTCGTTTACAACGTCGTGACTGGGAA 5040

AACCCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGT 5100

<u>AATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGCC</u>	5160
CGCTCCTTTCGCTTCTTCCCTTCCTTCTCGCCACGTTGCGCCGGCTTCCCCGTCAAGC	5220
TCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAA	5280
AAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCG	5340
CCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAAC	5400
ACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGGAACC	5460
ACCATCAAACAGGATTTTCGCCTGCTGGGGCAAACCAGCGTGGACCGCTTGCTGCAACTC	5520
TCTCAGGGCCAGGCGGTGAAGGGCAATCAGCTGTTGCCCGTCTCACTGGTGAAAAGAAAA	5580
<u>ACCACCCAGTACATTA AAAACGTCCGCAATGTGTTATTAAGTTGTCTAAGCGTCAATTT</u>	5640
<i>Left border</i>	
<u>GTTTACACCACAATATATCCTGCCACCAGCCAGCCAACAGCTCCCCGACCGGCAGCTCGG</u>	5700
<u>CACAAAATCACC ACTCGATACAGGCAGCCCATCAGTCCGGGACGGCGTCAGCGGGAGAGC</u>	5760

CGTTGTAAGGCGGCAGACTTTGCTCATGTTACCGATGCTATTCGGAAGAACGGCAACTAA	5820
GCTGCCGGGTTTGAAACACGGATGATCTCGCGGAGGGTAGCATGTTGATTGTAACGATGA	5880
CAGAGCGTTGCTGCCTGTGATCAAATATCATCTCCCTCGCAGAGATCCGAATTATCAGCC	5940
TTCTTATTCATTTCTCGCTTAACCGTGACAGGCTGTGATCTTGAGAACTATGCCGACAT	6000
AATAGGAAATCGCTGGATAAAGCCGCTGAGGAAGCTGAGTGGCGCTATTTCTTTAGAAGT	6060
GAACGTTGACGATATCAACTCCCCTATCCATTGCTCACCGAATGGTACAGGTCGGGGACC	6120
CGAAGTTCGACTGTGCGCCTGATGCATCCCCGGCTGATCGACCCAGATCTGGGGCTGA	6180
GAAAGCCCAGTAAGGAAACAACCTGTAGGTTGAGTCGCGAGATCCCCCGGAACCAAAGGA	6240
AGTAGGTTAAACCCGCTCCGATCAGGCCGAGCCACGCCAGGCCGAGAACATTGGTTCCTG	6300
TAGGCATCGGGATTGGCGGATCAAACACTAAAGCTACTGGAACGAGCAGAAGTCCTCCGG	6360
CCGCCAGTTGCCAGGCGGTAAAGGTGAGCAGAGGCACGGGAGGTTGCCACTTGCGGGTCA	6420

*Pst*I

GCACGGTTCCGAACGCCATGGAAACCGCCCCCGCCAGGCCGCTGCGACGCCGACAGGAT 6480

CTAGCGCTGCGTTTGGTGTCAACACCAACAGCGCCACGCCCGCAGTTCCGCAAATAGCCC 6540

CCAGGACCGCCATCAATCGTATCGGGCTACCTAGCAGAGCGGCAGAGATGAACACGACCA 6600

TCAGCGGCTGCACAGCGCTACCGTCGCCGCGACCCCGCCCGGCAGGCGGTAGACCGAAA 6660

TAAACAACAAGCTCCAGAATAGCGAAATATTAAGTGCGCCGAGGATGAAGATGCGCATCC 6720

ACCAGATTCCC GTTGAATCTGTTCGGACGATCATCACGAGCAATAAACCCGCCGGCAACG 6780

CCCGCAGCAGCATAACCGGCGACCCCTCGGCCTCGCTGTTTCGGGCTCCACGAAAACGCCGG 6840

ACAGATGCGCCTTGTGAGCGTCCTTGGGGCCGTCTCCTGTTTGAAGACCGACAGCCCAA 6900

TGATCTCGCCGTCGATGTAGGCGCCGAATGCCACGGCATCTCGCAACCGTTCAGCGAACG 6960

*Nco*I

CCTCCATGGGCTTTTTCTCCTCGTGCTCGTAAACGGACCCGAACATCTCTGGAGCTTTCT 7020

TCAGGGCCGACAATCGGATCTCGCGGAAATCCTGCACGTGCGCCGCTCCAAGCCGTCGAA 7080

TCTGAGCCTTAATCACAATTGTCAATTTTAATCCTCTGTTTATCGGCAGTTCGTAGAGCG	7140
CGCCGTGCGTCCCGAGCGATACTGAGCGAAGCAAGTGCCTCGAGCAGTGCCCGCTTGTTTC	7200
CTGAAATGCCAGTAAAGCGCTGGCTGCTGAACCCCCAGCCGGAAGTACCCCAAGGCC	7260
CTAGCGTTTGCAATGCACCAGGTCATCATTGACCCAGGCGTGTTCACCAGGCCGCTGCC	7320
TCGCAACTCTTCGCAGGCTTCGCCGACCTGCTCGCGCCACTTCTTCACGCGGGTGGAATC	7380
CGATCCGCACATGAGGCGGAAGGTTTCCAGCTTGAGCGGGTACGGCTCCCGGTGCGAGCT	7440
GAAATAGTCGAACATCCGTGCGGCGGTCGGCGACAGCTTGCGGTACTTCTCCCATATGAA	7500
TTTCGTGTAGTGGTCGCCAGCAAACAGCACGACGATTTCTCGTCGATCAGGACCTGGCA	7560
ACGGGACGTTTTTCTTGCCACGGTCCAGGACGCGGAAGCGGTGCAGCAGCGACACCGATTC	7620
CAGGTGCCCAACGCGGTCCGGACGTGAAGCCCATCGCCGTGCTAGGCGCGACAGGCA	7680
TTCTCGGCCTTCGTGTAATACCGGCCATTGATCGACCAGCCAGGTCCTGGCAAAGCTC	7740

GTAGAACGTGAAGGTGATCGGCTCGCCGATAGGGGTGCGCTTCGCGTACTCCAACACCTG	7800
CTGCCACACCAGTTCGTCATCGTCGGCCCGCAGCTCGACGCCGGTGTAGGTGATCTTCAC	7860
GTCCTTGTTGACGTGGAAAATGACCTTGTTTTGCAGCGCCTCGCGCGGGATTTTCTTGTT	7920
GCGCGTGGTGAACAGGGCAGAGCGGGCCGTGTCGTTTGGCATCGCTCGCATCGTGTCCGG	7980
CCACGGCGCAATATCGAACAAGGAAAGCTGCATTTCCCTTGATCTGCTGCTTCGTGTGTTT	8040
CAGCAACGCGGCCTGCTTGGCCTCGCTGACCTGTTTTGCCAGGTCCTCGCCGGCGGTTTTT	8100
TCGCTTCTTGGTCGTCATAGTTCCTCGCGTGTGATGGTCATCGACTTCGCCAAACCTGC	8160
CGCCTCCTGTTGAGACGACGCGAACGCTCCACGGCGGCCGATGGCGCGGGCAGGGCAGG	8220
GGGAGCCAGTTGCACGCTGTCGCGCTCGATCTTGGCCGTAGCTTGCTGGACCATCGAGCC	8280
GACGGACTGGAAGGTTTTCGCGGGGCGCACGCATGACGGTGCGGCTTGCGATGGTTTTCGGC	8340
ATCCTCGGCGGAAAACCCCGCGTCGATCAGTTCTTGCCTGTATGCCTTCCGGTCAAACGT	8400

CCGATTCATTACCCCTCCTTGCGGGATTGCCCGACTCACGCCGGGGCAATGTGCCCTTA	8460
TTCCTGATTTGACCCGCCTGGTGCCTTGGTGTCCAGATAATCCACCTTATCGGCAATGAA	8520
GTCGGTCCCGTAGACCGTCTGGCCGTCCTTCTCGTACTTGGTATTCCGAATCTTGCCCTG	8580
CACGAATACCAGCGACCCCTTGCCCAAATACTTGCCGTGGGCCTCGGCCTGAGAGCCAAA	8640
ACACTTGATGCGGAAGAAGTCGGTGCCTCCTGCTTGTGCGCCGGCATCGTTGCGCCACAT	8700
CTAGGTACTAAAACAATTCATCCAGTAAATATAATATTTTATTTTCTCCCAATCAGGCT	8760
TGATCCCCAGTAAGTCAAAAAATAGCTCGACATACTGTTCTTCCCCGATATCCTCCCTGA	8820
TCGACCGGACGCAGAAGGCAATGTCATAACACTTGTCCGCCCTGCCGCTTCTCCCAAGAT	8880
CAATAAAGCCACTTACTTTGCCATCTTTACAAAAGATGTTGCTGTCTCCAGGTCGCCGT	8940
GGGAAAAGACAAGTTCCTCTTCGGGCTTTTCCGTCTTTAAAAAATCATACAGCTCGCGCG	9000
GATCTTTAAATGGAGTGTCTTCTTCCAGTTTTTCGCAATCCACATCGGCCAGATCGTTAT	9060

TCAGTAAGTAATCCAATTCGGCTAAGCGGCTGTCTAAGCTATTCGTATAGGGACAATCCG	9120
ATATGTCGATGGAGTGAAAGAGCCTGATGCACTCCGCATACAGCTCGATAATCTTTTCAG	9180
GGCTTTGTTTCATCTTCATACTCTTCCGAGCAAAGGACGCCATCGGCCTCACTCATGAGCA	9240
GATTGCTCCAGCCATCATGCCGTTCAAAGTGCAGGACCTTTGGAACAGGCAGCTTTCCTT	9300
CCAGCCATAGCATCATGTCCCTTTTCCCGTTCCACATCATAGGTGGTCCCTTTATACCGGC	9360
TGTCGGTCATTTTTAAATATAGGTTTTTCATTTTCTCCCACCAGCTTATATACCTTAGCAG	9420
GAGACATTCCTTCCGTATCTTTTACGCAGCGGTATTTTTCGATCAGTTTTTTCAATTCCG	9480
GTGATATTCTCATTTTAGCCATTTATTATTTCCCTCCTCTTTTCTACAGTATTTAAAGAT	9540
ACCCAAGAAGCTAATTATAACAAGACGAACTCCAATTCAGTTCCTTGCATTCTAAAA	9600
CCTTAAATACCAGAAAACAGCTTTTTTCAAAGTTGTTTTCAAAGTTGGCGTATAACATAGT	9660
ATCGACGGAGCCGATTTTGAACCACAATTATGGGTGATGCTGCCAACTTACTGATTTAG	9720

TGTATGATGGTGTGTTTTGAGGTGCTCCAGTGGCTTCTGTGTCTATCAGCTGTCCCTCCTG 9780

TTCAGCTACTGACGGGGTGGTGCCTAACGGCAAAGCACCGCCGGACATCAGCGCTATCT 9840

Pst I

CTGCTCTCACTGCCGTAAAACATGGCAACTGCA[▼]GTTCACCTTACACCGCTTCTCAACCCGG 9900

TACGCACCAGAAAATCATTGATATGGCCATGAATGGCGTTGGATGCCGGGCAACAGCCCG 9960

CATTATGGGCGTTGGCCTCAACACGATTTTACGTCACTTAAAAAACTCAGGCCGAGTCG 10020

GTAACCTCGCGCATAACAGCCGGGCAGTGACGTCATCGTCTGCGCGGAAATGGACGAACAG 10080

TGGGGCTATGTCGGGGCTAAATCGCGCCAGCGCTGGCTGTTTTACGCGTATGACAGTCTC 10140

CGGAAGACGGTTGTTGCGCACGTATTCGGTGAACGCACTATGGCGACGCTGGGGCGTCTT 10200

ATGAGCCTGCTGTCACCCTTTGACGTGGTGATATGGATGACGGATGGCTGGCCGCTGTAT 10260

GAATCCCGCCTGAAGGGAAAGCTGCACGTAATCAGCAAGCGATATACGCAGCGAATTGAG 10320

CGGCATAACCTGAATCTGAGGCAGCACCTGGCACGGCTGGGACGGAAGTCGCTGTCGTTC 10380

TCAAAATCGGTGGAGCTGCATGACAAAGTCATCGGGCATTATCTGAACATAAAACACTAT 10440

CAATAAGTTGGAGTCATTACCCAATTATGATAGAATTTACAAGCTATAAGGTTATTGTCC 10500

TGGGTTTCAAGCATTAGTCCATGCAAGTTTTTATGCTTTGCCATTCTATAGATATATTG 10560

ATAAGCGCGCTGCCTATGCCTTGCCCCCTGAAATCCTTACATACGGCGATATCTTCTATA 10620

TAAAAGATATATTATCTTATCAGTATTGTCAATATATTCAAGGCAATCTGCCTCCTCATC 10680

CTCTTCATCCTCTTCGTCTTGGTAGCTTTTTTAAATATGGCGCTTCATAGAGTAATTCTGT 10740

AAAGGTCCAATTCTCGTTTTTCATACCTCGGTATAATCTTACCTATCACCTCAAATGGTTC 10800

GCTGGGTTTATCGCACCCCCGAACACGAGCACGGCACCCGCGACCACTATGCCAAGAATG 10860

CCCAAGGTAAAAATTGCCGGCCCCGCCATGAAGTCCGTGAATGCCCCGACGGCCGAAGTG 10920

AAGGGCAGGCCGCCACCCAGGCCGCCGCCCTCACTGCCGGCACCTGGTCGCTGAATGTC 10980

GATGCCAGCACCTGCGGCACGTCAATGCTTCCGGGCGTCGCGCTCGGGCTGATCGCCCAT 11040

CCCGTTACTGCCCCGATCCCGGCAATGGCAAGGACTGCCAGCGCTGCCATTTTTGGGGTG 11100

AGGCCGTTTCGCGGCCGAGGGGCGCAGCCCCTGGGGGATGGGAGGCCCGCGTTAGCGGGC 11160

CGGGAGGGTTCGAGAAGGGGGGCACCCCCCTTCGGCGTGCGCGGTACGCGCACAGGGC 11220

GCAGCCCTGGTTAAAAACAAGGTTTATAAATATTGGTTTAAAAGCAGGTTAAAAGACAGG 11280

TTAGCGGTGGCCGAAAAACGGGCGGAAACCCTTGCAAATGCTGGATTTTCTGCCTGTGGA 11340

CAGCCCCTCAAATGTCAATAGGTGCGCCCCTCATCTGTCAGCACTCTGCCCCTCAAGTGT 11400

CAAGGATCGCGCCCCTCATCTGTCAGTAGTCGCGCCCCTCAAGTGTCAATACCGCAGGGC 11460

ACTTATCCCCAGGCTTGTCCACATCATCTGTGGGAAACTCGCGTAAAATCAGGCGTTTTTC 11520

GCCGATTTGCGAGGCTGGCCAGCTCCACGTGCGCCGGCCGAAATCGAGCCTGCCCCTCATC 11580

TGTCAACGCCGCGCCGGGTGAGTCGGCCCCTCAAGTGTCAACGTCCGCCCCTCATCTGTC 11640

AGTGAGGGCCAAGTTTTCCGCGAGGTATCCACAACGCCGGCGCGCGGTGTCTCGCACA 11700

CGGCTTCGACGGCGTTTCTGGCGCGTTTGCAGGGCCATAGACGGCCGCCAGCCCAGCGGC 11760

GAGGGCAACCAGCCCGG 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	2
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	11

「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

WKS82/130-4-1 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「WKS82/130-4-1」(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ジン合成酵素(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 回繰り返す、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。)

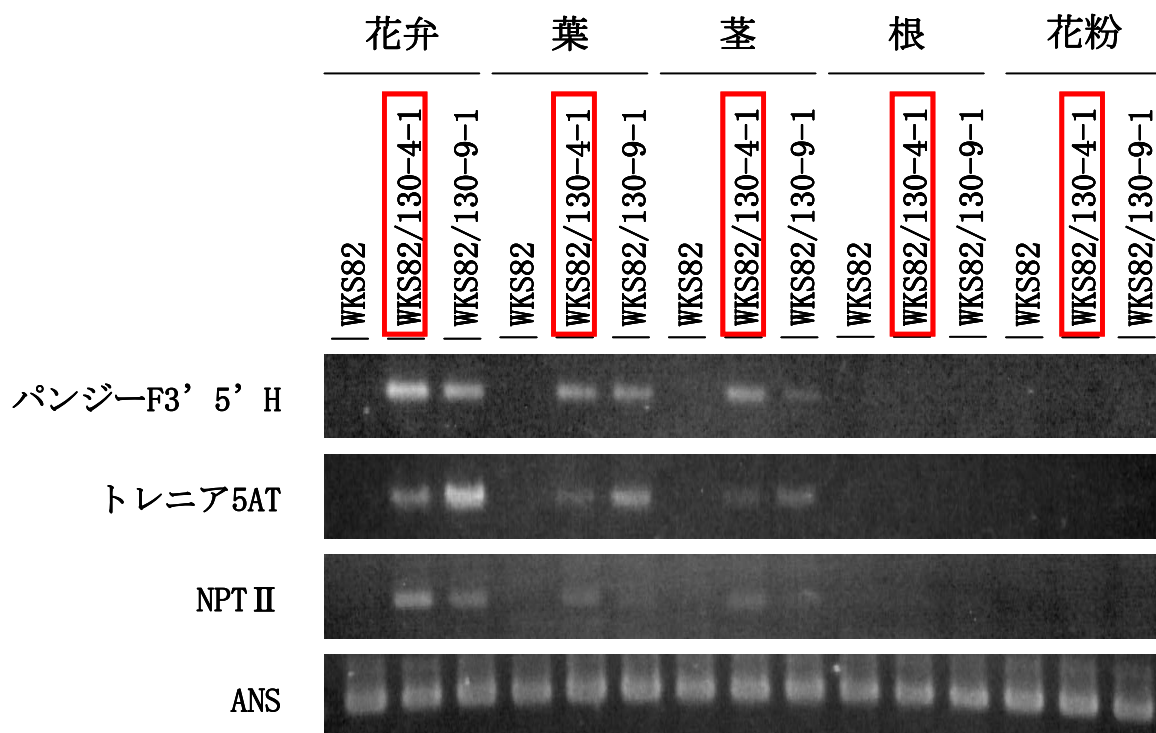


図 1. 組換え体の各器官における PCR 解析

※WKS82/130-9-1 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 \times 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 (WKS82/130-4-1)
パンジーF3' 5' H	4
トレニア 5AT	4
NPT II	1

(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。)