

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3062595号
(P3062595)

(45) 発行日 平成12年7月10日 (2000.7.10)

(24) 登録日 平成12年5月12日 (2000.5.12)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00
1/21		1/21
// C 1 2 N 9/28		C 1 2 N 9/28
(C 1 2 N 15/09	Z N A	
C 1 2 R 1:38)		

請求項の数9 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願平9-305071	(73) 特許権者	591031360 農林水産省食品総合研究所長 茨城県つくば市観音台2丁目1-2
(22) 出願日	平成9年10月21日 (1997.10.21)	(72) 発明者	伊藤 義文 茨城県つくば市並木2丁目10-1-207 -308
(65) 公開番号	特開平11-123081	(74) 代理人	100074077 弁理士 久保田 藤郎 (外1名)
(43) 公開日	平成11年5月11日 (1999.5.11)	審査官	小暮 道明
審査請求日	平成9年10月21日 (1997.10.21)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マルトペンタオース高生産性 α -アミラーゼ遺伝子、該遺伝子を含むベクターおよび形質転換体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】 シュードモナス エスピー KO-8940由来マルトペンタオース生成アミラーゼのアミノ酸配列 (Shida, O. ら、Biosci. Biotech. Biochem. 56巻, 76-80, 1992)において57番目または139番目に位置するアミノ酸残基がフェニルアラニン、ヒスチジンまたはロイシンのいずれかに置換されたアミノ酸配列を有する、マルトペンタオース高生産性 - アミラーゼをコードする遺伝子。

【請求項2】 請求項1記載の遺伝子を含むプラスミド。

【請求項3】 プラスミドが、配列表の配列番号3~8のいずれかに記載のアミノ酸配列を有するものである請求項2記載のプラスミド。

【請求項4】 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配

列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP-6116)。

【請求項5】 配列表の配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP-6119)。

【請求項6】 配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP-6115)。

【請求項7】 配列表の配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP-6117)。

【請求項8】 配列表の配列番号7に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP-6118)。

【請求項9】 配列表の配列番号8に記載のアミノ酸配

列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6114)。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、マルトペンタオースの生産に用いるマルトペンタオース生成 - アミラーゼをコードする遺伝子、該遺伝子を含むプラスミドベクターおよび形質転換体に関する。マルトペンタオース生成 - アミラーゼは、グルコースが - 1, 4グリコシド結合したデンプンやアミロース等の多糖類の - 1, 4グリコシド結合を加水分解し、グルコースの五炭糖であるマルトペンタオースを生成する酵素である。この酵素を利用することにより、デンプンからマルトペンタオースを生産することができる。この発明は、デンプン等を材料としたマルトペンタオースの生産に活用できるシュードモナス属微生物由来のマルトペンタオース生成 - アミラーゼを、遺伝子工学的的手法により改良し、実用性を向上させた当該酵素の遺伝子並びに該遺伝子を含むプラスミドベクターと形質転換体に関するものである。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】シュードモナス属微生物に由来するマルトペンタオース生成 - アミラーゼを用いてデンプン等からマルトペンタオースを酵素的に生産することができる。しかしながら、当該酵素は、得られるマルトペンタオースを、さらにマルトトリオースとマルトースとにまで分解する活性をも有する。そのため、時間の経過に伴い、生成したマルトペンタオースの分解が平行して進行し、マルトペンタオースの収量が低下すると共に、副生成物であるマルトトリオースおよびマルトースが発生する。このため、該酵素を用いてマルトペンタオースを効率よく生産することは困難であった。本発明の目的は、当該酵素の遺伝子を改変することにより、マルトペンタオース分解活性が低下し、実用性の向上した改良酵素を開発することである。

【0003】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、シュードモナス属微生物由来のマルトペンタオース生成 - アミラーゼの基質との結合に関与するアミノ酸残基を他のアミノ酸に変換する蛋白質工学的研究を計画し、該酵素遺伝子を改変することにより、実用性に優れた該酵素の生産に成功することによって本発明を完成させた。

【0004】すなわち、請求項1記載の本発明は、シュードモナス エスピー KO - 8940由来マルトペンタオース生成アミラーゼのアミノ酸配列 (Shida, 0.ら, Biosci. Biotech. Biochem. 56 巻, 76-80, 1992) において57番目または139番目に位置するアミノ酸残基がフェニルアラニン、ヒスチジンまたはロイシンのいずれかに置換されたアミノ酸配列を有する、マルトペンタオース高生産性 - アミラーゼをコードする遺伝子

である。請求項2記載の本発明は、請求項1記載の遺伝子を含むプラスミドである。請求項3記載の本発明は、プラスミドが、配列表の配列番号3～8のいずれかに記載のアミノ酸配列を有するものである請求項2記載のプラスミドである。

【0005】請求項4記載の本発明は、配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6116) である。請求項5記載の本発明は、配列表の配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6119) である。請求項6記載の本発明は、配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6115) である。請求項7記載の本発明は、配列表の配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6117) である。請求項8記載の本発明は、配列表の配列番号7に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6118) である。請求項9記載の本発明は、配列表の配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するプラスミドを保有する形質転換大腸菌 (FERM BP - 6114) である。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明者らは、シュードモナス属細菌由来のマルトペンタオース生成 - アミラーゼの遺伝子に特定の変異を導入することにより、当該酵素がもつマルトペンタオース分解活性が低減した一連の変異酵素を作出した。

【0007】その方法の概略は以下の通りである。まず、種々の - アミラーゼで保存されている基質結合に関与する特定のアミノ酸残基の推定を行った。この特定のアミノ酸残基のコドン、部位特異的変異法により変換し、マルトペンタオースに対する親和性が低下した酵素を生産する変異遺伝子を造成した。この変異遺伝子を含むプラスミドを大腸菌に導入して得られた形質転換体により、マルトペンタオース分解活性が減少したマルトペンタオース生成 - アミラーゼを生産した。

【0008】これらの改良酵素は、マルトペンタオース分解活性が減少しているため、デンプン等からマルトペンタオースを高収量で生産できる。同時に、副生成物であるマルトースとマルトトリオースの収量は、野性型酵素と比較して非常に少ない。すなわち、当該改良酵素は、デンプンを材料としたマルトペンタオースの生産能において、野性型酵素よりも優れているものである。

【0009】以下において、本発明を詳細に説明する。前記したように、本発明のマルトペンタオース生成 - アミラーゼ遺伝子は、マルトペンタオース生成 - アミラーゼ生産能を有するシュードモナス属微生物に由来するものである。このようなマルトペンタオース生成 -

アミラーゼ生産能を有するシュードモナス属微生物としては、シュードモナス属 (*Pseudomonas* sp.) KO-8940株がある。

【0010】マルトペンタオース生成 - アミラーゼは、上記微生物から得ることができ、具体的には、上記の菌株を常法に従い栄養培地で培養後、培養物から菌体を分離する。しかる後、該菌体を常法により破碎、遠心分離してマルトペンタオース生成 - アミラーゼ画分を得る。次に、必要に応じてカラムクロマトグラフィー、FPLC、HPLC等の精製手段を用いることにより、高度に精製したマルトペンタオース生成 - アミラーゼを得ることができる。

【0011】シュードモナス エスピー KO-8940由来マルトペンタオース生成 - アミラーゼのアミノ酸配列は、すでに決定されている (Shida, O., Kadowaki, K. and Kobayashi, S., *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56巻, 76-80, 1992)。このマルトペンタオース生成 - アミラーゼのアミノ酸配列のうち、デンプン分子中のグルコース間の - 1, 4 結合の加水分解に関する部分およびデンプンとの結合に関する部分の特定を行った。

【0012】すなわち、マルトペンタオース生成 - アミラーゼのアミノ酸配列を、他のアミラーゼ、具体的にはタカアミラーゼのアミノ酸配列 (Tsukagoshi, N., Furukawa, M., Nagaba, H., Kirita, N., Tsuboi, A. and Udaka, S., *Gene*, 84巻, 1989) およびマルトテトラオース生成 - アミラーゼのアミノ酸配列 (Fujita, M., Torigoe, K., Nakada, U., Tsuzuki, K., Kubota, M. and Tsujikawa, Y. *J. Bacteriol.*, 171巻, 1333-1339, 1989) との比較を行った。

【0013】当該酵素、タカアミラーゼおよびマルトテトラオース生成 - アミラーゼの各アミノ酸配列を、ホモロジー解析プログラム Clustal W でアライメントした。X線結晶解析の結果、加水分解と基質との結合に関与することがすでに明らかなタカアミラーゼ (Matsuura, Y. et al., *J. Biochem.* 95 巻, 697-702, 1984) およびマルトテトラオース生成 - アミラーゼ (Morisita, Y. et al., *J. Mol. Biol.* 267巻, 661-672, 1997) のアミノ酸残基は、これら3つの酵素の各アミノ酸配列のほぼ同じ位置に共通して存在していることがわかった。その結果、当該酵素のアミノ酸配列のうち、酵素活性に影響を与えず、マルトペンタオースとの結合力を低下させることが可能な変換候補アミノ酸残基は、加水分解に直接関わる活性中心から離れて位置する57番目のトリプトファン残基と139番目のチロシン残基であると特定した。すなわち、これらアミノ酸残基がデンプン分子のグルコースとの結合に関するアミノ酸残基である。

【0014】次に、この両アミノ酸残基を他のアミノ酸残基に変換する方法について検討した。アミノ酸残基の

変換は、例えば以下のような方法により行うことができる。まず、両アミノ酸残基を他のアミノ酸残基に変換するためのオリゴヌクレオチド2本を、ホスホアミダイト試薬を用いてDNA合成装置 (アプライドバイオシステムズ社製) で合成した。2本のうち、57番目のトリプトファン残基を変換するためのオリゴヌクレオチドをオリゴヌクレオチドA、139番目のチロシン残基を変換するためのオリゴヌクレオチドをオリゴヌクレオチドBと称する。オリゴヌクレオチドAおよびBの塩基配列は、それぞれ配列表の配列番号1および2に示す通りである。

【0015】一方、塩基置換を導入するDNA領域を含む530bpのEcoRI - PstI断片をpOS3410より調製した。これを、ファージベクターM13tv18のEcoRI - PstI部位に挿入することによって、M13tv18 - A1を作成した。

【0016】部位特異的変異の導入は、例えばアマーシャム社製のSculptor (登録商標) *in vitro* mutagenesis Kitを使用して行うことができる。このSculptor *in vitro* mutagenesis Kitを使用する場合、アマーシャム社の実験書に従って、部位特異的変異の導入を行う。すなわち、M13tv18 - A1の一本鎖DNAの鋳型にオリゴヌクレオチドAおよびBをアニーリングし、dCTP、dATP、dGTP、dTTPおよびATPの存在下で、T7ポリメラーゼとT4DNAリガーゼによって伸長反応と連結反応とを行う。次に、T5エキソヌクレアーゼ処理により、一本鎖部分を持つ未反応分子を切断した後、制限酵素NciIで鋳型のDNA鎖を切断する。さらに、エキソヌクレアーゼIIIで鋳型のDNA鎖を完全に分解する。

【0017】こうして合成された一本鎖DNAを大腸菌に形質転換する。この一本鎖DNAが塩基置換がもつかどうかは、形質転換体から一本鎖DNAを調製し、その塩基配列を解析することにより確認することができる。上記の方法により、当該酵素のアミノ酸配列のうち、57番目のトリプトファン残基と139番目のチロシン残基を変換することができるが、PCR法 (藤永薫 編集、遺伝子増幅 (PCR) 法、蛋白質核酸酵素, 35巻, 17号, 1990, 共立出版) によって行うことも可能である。すなわち、配列番号1に示す塩基置換を含むオリゴヌクレオチドAおよび配列番号2に示す塩基置換を含むオリゴヌクレオチドB、さらにはこれらの相補オリゴヌクレオチドを用いて、二段階のPCRを行うことにより、2つのアミノ酸残基を変換することができる。

【0018】このようにして変異が導入された組換えDNAより、EcoRI - PstI断片を回収する。このEcoRI - PstI断片を、DNAライゲーションキット (宝酒造株式会社製) を用いて、pOS3410の該DNA断片と入れ換える。その結果、アミノ酸配列が変化した変異マルトペンタオース生成 - アミラーゼを

生産するプラスミド6種類を作出することができる。

【0019】6種類のプラスミドは、それぞれpOS3410F57、pOS3410H57、pOS3410L57、pOS3410F139、pOS3410H139およびpOS3410L139と命名されており、それぞれの塩基配列および該塩基配列によりコードされる酵素のアミノ酸配列は、配列表の配列番号3、4、5、6、7および8に記載の通りである。

【0020】これら6種類のプラスミドのうち、pOS3410F57、pOS3410H57およびpOS3410L57は、野性型のマルトペンタオース生産性 - アミラーゼのアミノ酸配列の57番目のトリプトファンが、それぞれフェニルアラニン、ヒスチジンおよびロイシンに変換されたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼのアミノ酸配列を生産することができる。

【0021】また、pOS3410F139、pOS3410H139およびpOS3410L139は、野性型のマルトペンタオース生産性 - アミラーゼのアミノ酸配列の139番目のチロシンが、それぞれフェニルアラニン、ヒスチジンおよびロイシンに変換されたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼのアミノ酸配列を生産することができる。

【0022】これらのプラスミドDNAを大腸菌に形質転換するには、例えばCohenらの塩化カルシウム法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 69巻, 2110-2114, 1972)に従って行うことができる。すなわち、大腸菌を50mlのLB培地で培養し、対数増殖初期に遠心で集菌する。菌体を培養液の25mlの氷冷0.1M塩化マグネシウムに懸濁し、遠心で集菌する。集めた菌体を、培養液の12.5mlの氷冷0.1M塩化カルシウムに懸濁し、氷中に30分間保持する。遠心による集菌後、2mlの同溶液に懸濁する。菌液200μlに10ngのプラスミドDNAを含むTE緩衝液10μlを加え、氷中に45分間保持する。42℃で1分間加熱した後、1mlのLB培地を加え、37℃で1時間穏やかに振とうする。培養液の一部を100μg/mlアンピシリンを含むLB寒天培地に塗布し、37℃で一晩培養して形質転換体を選抜する。なお、プラスミドDNAの大腸菌への形質転換は、エレクトロポレーション法(三浦 謹一郎 編、新基礎生化学実験法7、遺伝子工学, 1988, 丸善株式会社)によって行うことも可能である。

【0023】こうして形質転換された大腸菌は、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、それらの受託番号は、導入されたプラスミドpOS3410F57、pOS3410H57、pOS3410L57、pOS3410F139、pOS3410H139およびpOS3410L139の順に、それぞれFERMBP-6116、FERMBP-6119、FERMBP-6115、FERMBP-6117、FERMBP-6118およびFERMBP-6114であ

る。

【0024】これらの形質転換体から生産されるマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼは、デンプンのグルコース間の - 1, 4結合は分解するが、生成するマルトペンタオースの - 1, 4結合分解活性が低いため、マルトペンタオースを効率よく生産することができる。

【0025】

【実施例】次に、本発明を実施例により詳しく説明するが、本発明はこれらにより制限されるものではない。

実施例1

シュードモナス エスピー KO-8940株のマルトペンタオース生成 - アミラーゼのアミノ酸配列(Shida, O., Kadowaki, K. and Kobayashi, S., Biosci. Biochem. Biochem., 56巻, 76-80, 1992)をタカアミラーゼ(Tsakagoshi, N., Furukawa, M., Nagaba, H., Kirita, N., Tsuboi, A. and Udaka, S., Gene84巻, 1989)およびマルトテトラオース生成 - アミラーゼ(Fujita, M., Torigoe, K., Nakada, U., Tsuzuki, K., Kubota, M. and Tsujikawa, Y. J. Bacteriol., 171巻, 1333-1339, 1989)のアミノ酸配列との比較から、該酵素の57番目のトリプトファン残基と139番目のチロシン残基が基質であるデンプン分子のグルコースとの結合に関与するアミノ酸残基であると推定した。

【0026】両アミノ酸残基を、他のアミノ酸残基に変換するためのオリゴヌクレオチドA(配列表の配列番号1)およびB(配列表の配列番号2)をホスホアミダイド試薬を用いてDNA合成装置(アプライドバイオシステムズ社製)で合成した。一方、塩基置換を導入するDNA領域を含む530bpのEcoRI-PstI断片をpOS3410より調製し、ファージベクターM13tv18のEcoRI-PstI部位に挿入することによってM13tv18-A1を作成した。

【0027】部位特異的変異の導入は、アマーシャム社製のSculptor in vitro mutagenesis Kitを使用して行い、方法はアマーシャム社の実験書に従った。すなわち、M13tv18-A1の一本鎖DNAの鋳型にオリゴヌクレオチドAおよびBをアニーリングし、dCTP、dATP、dGTP、dTTPおよびATPの存在下でT7ポリメラーゼとT4DNAリガーゼによって伸長反応と連結反応とを行った。

【0028】T5エキソヌクレアーゼ処理により、一本鎖部分を持つ未反応分子を切断した後、制限酵素NciIで鋳型のDNA鎖を切断した。さらに、エキソヌクレアーゼIIIで鋳型のDNA鎖を完全に分解し、合成された塩基置換をもつ一本鎖DNAを大腸菌に形質転換した。得られた形質転換体から、一本鎖DNAを調製し、アプライドバイオシステムズ社のDye Primer cycle sequencing kitを用いて、シーケンス反応を行い、DNA配列をDNAシーケンサー(アプライドバイオシステム

ズ社製、モデル373)で解析した。

【0029】その結果、変異の導入が確認された組換えDNAより、EcoRI - PstI断片を回収し、DNAライゲーションキット(宝酒造株式会社製)を用いて、pOS3410の該DNA断片と入れ換えてアミノ酸配列が変化したマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼを生産するプラスミドpOS3410F57、pOS3410H57、pOS3410L57、pOS3410F139、pOS3410H139およびpOS3410L139(配列表の配列番号3、4、5、6、7および8参照)を作出した。

【0030】さらに、これらのプラスミドDNAをCohenらの塩化カルシウム法(Proc. Natl. Acad. Sci. US A., 69巻, 2110-2114, 1972)に従って、大腸菌に形質転換した。形質転換した大腸菌は、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、それらの受託番号は順に、それぞれFERM BP - 6116、FERM BP - 6119、FERM BP - 6115、FERM BP - 6117、FERM BP - 6118およびFERM BP - 6114である。

【0031】一方、通常のシュドモナス・エスピー(pOS3410)から得られる野性型酵素と変異酵素であるマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼをShidaらの方法(Biosci. Biotech. Biochem., 56巻, 76-80, 1992)に従って調製した。すなわち、野性型および変異酵素の遺伝子を含むプラスミドを保有する大腸菌をLB培地(Sambrook, J. et al., Molecular cloning, 第2版, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press)を用いて、30℃で培養した。660nmの吸光度が0.5になった時点で、イソプロピル - β-D-チオガラクトピラノシド(IPTG)を終濃度が0.1mMとなるように添加し、さらに40時間培養を続けた。培養後、遠心で集菌し、オスモティックショック法でペリプラズム画分を調製して、酵素標品とした。なお、オスモティックショック法とは、0.5Mの蔗糖を含む高張液に細胞を懸濁し、原形質分離を行った後、蔗糖を含まない低張液に懸濁することにより、細胞を急激に膨潤させ、細胞壁と細胞質膜との間(ペリプラズム)に存在する蛋白質を特異的に細胞外に放出させる方法である。

【0032】次に、これらの酵素について、可溶性デンプンを基質として酵素活性を測定した。すなわち、0.25単位(U)の各酵素で可溶性デンプンを処理して経時的に反応液を採取した。反応液を水で10倍に希釈した後、10μlをMCI - GELCK045カラム(10×200nm;三菱化学株式会社製)を装着した高速液体クロマトグラフィー(島津製作所製、LC-6A)に供した。溶出には蒸留水を用い、温度85℃、加圧0.3kg/cm²、流速0.4ml/minの条件で行った。反応物は、UV検出器(島津製作所製、SPD-6A)を用いて210nmの吸光度を測定して検出した。

生成物は、マルトペンタオース、マルトトリオースおよびマルトースの標準品の保持時間をもとに同定した。それぞれの酵素について、反応時間30分後および180分後の酵素活性の検出結果(210nmにおける吸光度)を図1~図14に示す。

【0033】図1~図14を比較することにより、以下のことが明らかである。まず、野性型の酵素の場合は、30分後(図1)と比較して、180分後(図2)には生成物であるマルトペンタオースを約50%も分解する。これに対し、プラスミドpOS3410F57(図3、図4、若い番号が30分後の結果を示す。以下、同じ)、pOS3410H57(図5、図6)およびpOS3410L57(図7、図8)から得られる酵素は、180分経過後でも、マルトペンタオースの分解率は10%以内であった。また、野性型酵素がマルトペンタオースをほぼ100%分解する360分後でも、変異酵素では50%のマルトペンタオースが分解されなかった。同様の結果は、プラスミドpOS3410F139(図9、図10)、pOS3410H139(図11、図12)およびpOS3410L139(図13、図14)から得られる変異酵素でも得られた。このことから、本発明のプラスミドから得られる変異酵素、すなわちマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼは、マルトペンタオース分解活性が、野性型酵素の20%以下に低下しており、酵素の反応時間を長くしても、マルトペンタオースは減少しないことが明らかとなった。

【0034】

【発明の効果】本発明のマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼ遺伝子から得られる酵素を用いると、デンプン等に作用させて生成したマルトペンタオースの分解が低減するため、マルトペンタオースを高収量で得ることができる。

【0035】

【配列表】

【0036】配列番号：1

配列の長さ：23

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成混合オリゴヌクレオチド
起源

直接の起源：シュドモナス エスピー

株名：KO-8940

配列の特徴

特徴を示す記号：mutation

存在位置：1..23

特徴を決定した方法：S

配列

GGTAGCGCAT SHRCCACGGG ACG 23

【0037】配列番号：2

配列の長さ：25

鎖の数：一本鎖
 トポロジー：直鎖状
 配列の種類：合成混合オリゴヌクレオチド
 起源
 直接の起源：シュードモナス エスピー
 株名：KO - 8940
 配列の特徴
 特徴を示す記号：mutation
 存在位置：1..25
 特徴を決定した方法：S
 配列
 GTTCGCGTCA CCGWRGTTGG TGATG 25
 【0038】配列番号：3

配列の長さ：1981
 鎖の数：一本鎖
 トポロジー：直鎖状
 配列の種類：変異導入染色体DNA
 起源
 生物名：シュードモナス エスピー
 株名：KO - 8940
 直接の起源
 プラスミド名：pOS3410F57
 配列の特徴：mat peptide
 存在の位置：6..1847
 特徴を決定した方法：E

配列

GAATTC ATG TCG CGC AGG CTG GCG CTG GCC CTG GCC GCC AGT GCC GTC	48
Met Ser Arg Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala Ala Ser Ala Val	
-25 -20 -15	
CTG GCC GGG CCC TGG GCG GTC GGC GCG GTG CAG GCG CAG TCC GCG CCG	96
Leu Ala Gly Pro Trp Ala Val Gly Ala Val Gln Ala Gln Ser Ala Pro	
-10 -5 1	
CGC ACG GCC TTC GTG CAG CTT TTC GAG TGG AAG TGG ACC GAC GTC GCC	144
Arg Thr Ala Phe Val Gln Leu Phe Glu Trp Lys Trp Thr Asp Val Ala	
5 10 15 20	
CGG GAG TGC GAG ACC TAC CTC GGC CCC AAG GGT TTC GCG GCC GTG CAG	192
Arg Glu Cys Glu Thr Tyr Leu Gly Pro Lys Gly Phe Ala Ala Val Gln	
25 30 35	
ATC TCG CCG CCC AAC GAG CAC AAC TGG GTC AGC AGC GGC GAC GGC GCG	240
Ile Ser Pro Pro Asn Glu His Asn Trp Val Ser Ser Gly Asp Gly Ala	
40 45 50	
CCC TAC CCG TGG TTC ATG CGC TAC CAG CCG GTC AGC TAC AGC CTG GAC	288
Pro Tyr Pro Trp Phe Met Arg Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Ser Leu Asp	
55 60 65	
CGC AGC CGC AGC GGC ACT CGC GCC GAG TTC CAG GAC ATG GTC AAC CGC	336
Arg Ser Arg Ser Gly Thr Arg Ala Glu Phe Gln Asp Met Val Asn Arg	
70 75 80	
TGC AAC GCA GCA GGC GTG GGC ATC TAC GTC GAC GCG GTG ATC AAC CAC	384
Cys Asn Ala Ala Gly Val Gly Ile Tyr Val Asp Ala Val Ile Asn His	
85 90 95 100	
ATG TCG GGT GGC AAC GGC GGC ACC TCG AGC GCA GGG CGC AGC TGG AGC	432
Met Ser Gly Gly Asn Gly Gly Thr Ser Ser Ala Gly Arg Ser Trp Ser	
105 110 115	
CAC CAC AAC TAT CCG GGC CTG TAC GGC TCG CAG GAC TTC CAT CAC CCG	480
His His Asn Tyr Pro Gly Leu Tyr Gly Ser Gln Asp Phe His His Pro	
120 125 130	
GTG TGC GCC ATC ACC AAC TAC GGT GAC GCG AAC AAC GTG CAG AAC TGC	528
Val Cys Ala Ile Thr Asn Tyr Gly Asp Ala Asn Asn Val Gln Asn Cys	
135 140 145	
GAG CTC TCG GGC CTG CAG GAC CTG AAC ACC GGC AGC AGC TAC GTG CGC	576
Glu Leu Ser Gly Leu Gln Asp Leu Asn Thr Gly Ser Ser Tyr Val Arg	
150 155 160	

GGC AAG ATC TCC GAC TAC CTG GTC GAC CTG GTC CAG ATG GGC GTC AAG 624
Gly Lys Ile Ser Asp Tyr Leu Val Asp Leu Val Gln Met Gly Val Lys
165 170 175 180
GGC TTG CGC GTC GAT GCG GCC AAG CAC ATC AGC CCG ACG GAC CTG GGT 672
Gly Leu Arg Val Asp Ala Ala Lys His Ile Ser Pro Thr Asp Leu Gly
185 190 195
GCC ATC ATC GAC AGC GTC AAC GCG CGC ACC GGT GCC GCA CGG CCA TTC 720
Ala Ile Ile Asp Ser Val Asn Ala Arg Thr Gly Ala Ala Arg Pro Phe
200 205 210
TGG TTC CTG GAG GTG ATC GGC GCG CCG GGC GAG GCG GTG CAG CCC AGC 768
Trp Phe Leu Glu Val Ile Gly Ala Pro Gly Glu Ala Val Gln Pro Ser
215 220 225
CAG TAC TTC GGG CTC GGC GGC GGG CAG GTC ACG GTG ACC GAG TTC GCC 816
Gln Tyr Phe Gly Leu Gly Gly Gly Gln Val Thr Val Thr Glu Phe Ala
230 235 240
TAC GGC AAG GAG CTC TAC GGC AAG TTC GCC GGC GGC GGC AAG CTG GCC 864
Tyr Gly Lys Glu Leu Tyr Gly Lys Phe Ala Gly Gly Gly Lys Leu Ala
245 250 255 260
GAC CTG CAG ACC TTC GGC CCC AGC TGG AAC CTG ATG CCC AGC AGC AAG 912
Asp Leu Gln Thr Phe Gly Pro Ser Trp Asn Leu Met Pro Ser Ser Lys
265 270 275
GCC ATC GCT TTC GTC GAC AAC CAC GAC AAG CAG CGC GGC CAC GGC GGC 960
Ala Ile Ala Phe Val Asp Asn His Asp Lys Gln Arg Gly His Gly Gly
280 285 290
GGG GGC GGC TAC GTC ACC TAT CAC CAC GGC AGC ACC TAC GAC CTG GCG 1008
Gly Gly Gly Tyr Val Thr Tyr His His Gly Ser Thr Tyr Asp Leu Ala
295 300 305
AAC ATC TTC ATG CTG GCC TGG CCC TAT GGC TAC CCG GCG CTG ATG TCA 1056
Asn Ile Phe Met Leu Ala Trp Pro Tyr Gly Tyr Pro Ala Leu Met Ser
310 315 320
GCT ACG GCT TCA ACC AGG GCA GCA GCT ACG ACA CCA GCT ACG GCC CGC 1104
Ala Thr Ala Ser Thr Arg Ala Ala Ala Thr Thr Pro Ala Thr Ala Arg
325 330 335 340
CGC ACT ACA GCG ACG GCT CGA CCC GGG GGC CGT GGG ACC GGA ACC CCG 1152
Arg Thr Thr Ala Thr Ala Arg Pro Gly Gly Arg Gly Thr Gly Thr Pro
345 350 355
CCA GCC CGG GTG CTT CAA CCA GAC CGT GGG TGG CTG GGT CTG CGA GCA 1200
Pro Ala Arg Val Leu Gln Pro Asp Arg Gly Trp Leu Gly Leu Arg Ala
360 365 370
CCG CTG GCG CGG CAT CGG CAA CAT GGT GGC CTT CCG CAA CGC CAC CGT 1248
Pro Leu Ala Arg His Arg Gln His Gly Gly Leu Pro Gln Arg His Arg
375 380 385
GGA CAA CTG GTT CGT CAG CGA CTG GTG GAG CAA CGG CAA CAA CCA GAT 1296
Gly Gln Leu Val Arg Gln Arg Leu Val Glu Gln Arg Gln Gln Pro Asp
390 395 400
CGC CTT CGG CCG CGG CGA CAA GGG CTT CGT CGT CAT CAA CAA GGA AGG 1344
Arg Leu Arg Pro Arg Arg Gln Gly Leu Arg Arg His Gln Gln Gly Arg
405 410 415 420
TAC GGC GCT GAC GCA GCT TCC AGA CCA GCC TGC CGG CCG GGC GTA TTG 1392
Tyr Gly Ala Asp Ala Ala Ser Arg Pro Ala Cys Arg Pro Gly Val Leu

	425	430	435	
CGA CGT GAT CTC CGG CGA CTT CGC CAA CGG CAG CTG CAC CGG CAC GGT				1440
Arg Arg Asp Leu Arg Arg Leu Arg Gln Arg Gln Leu His Arg His Gly				
	440	445	450	
GGT GAC CGT GGA TGC AGG CGG CCA CGC GAT GCT GTC CGC ACC CGC TTA				1488
Gly Asp Arg Gly Cys Arg Arg Pro Arg Asp Ala Val Arg Thr Arg Leu				
	455	460	465	
TGG CGC GGC GGC GAT CCA CGT CGG TGC GCG CAT CGG CGA CAC GCA GCA				1536
Trp Arg Gly Gly Asp Pro Arg Arg Cys Ala His Arg Arg His Ala Ala				
	470	475	480	
GGT GCA GCA GTG CTC AGC TTG ACC TTC AAC GAG ACG GCC GAC ACC GTG				1584
Gly Ala Ala Val Leu Ser Leu Thr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Thr Val				
	485	490	495	500
TGG GGC CAG AAC CTC TTC GTC GTC GGC AAC GTC GGC GCG CTC GGC AAC				1632
Trp Gly Gln Asn Leu Phe Val Val Gly Asn Val Gly Ala Leu Gly Asn				
	505	510	515	
TGG GCG CCC GCG GCC GGG GCG GCG ATG ACC TGG ATC TCC GGC AGC GGC				1680
Trp Ala Pro Ala Ala Gly Ala Ala Met Thr Trp Ile Ser Gly Ser Gly				
	520	525	530	
AGC ACC GGC CAG TGG CGT GCG ACG GTG CAG CTG CCC GCC GAC ACG CCG				1728
Ser Thr Gly Gln Trp Arg Ala Thr Val Gln Leu Pro Ala Asp Thr Pro				
	535	540	545	
GTG CAG TAC AAG TAC GTG AAG AAG GAC GGC GCC GGC AAC GTG GTG TGG				1776
Val Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Lys Asp Gly Ala Gly Asn Val Val Trp				
	550	555	560	
GAA AGC GGC GGC AAC CGC GTG GTG ACG ACG CCC GCG CCC GGG GCG ACG				1824
Glu Ser Gly Gly Asn Arg Val Val Thr Thr Pro Ala Pro Gly Ala Thr				
	565	570	575	580
ATC GCC GTC AAC GAC AGC TGG AAG TGACGGCCGG GGGCGCCAGG ACGACAAGGC				1878
Ile Ala Val Asn Asp Ser Trp Lys				
	585			
CCTGAGCGCC TCGTACACCG TGCCAGCGT GGTGGTAGTC CAACTGGCCC GACTGGCTCT				1938
TCTGGTTGCT GAGCTTGCGG TTGTGCGCG TCACTGTGGT ACC				1981

【0039】配列番号：4	株名：KO - 8940
配列の長さ：1981	直接の起源
鎖の数：一本鎖	プラスミド名：pOS3410H57
トポロジー：直鎖状	配列の特徴：mat peptide
配列の種類：変異導入染色体DNA	存在の位置：6..1847
起源	特徴を決定した方法：E
生物名：シュードモナス エスピー	

配列	
GAATTC ATG TCG CGC AGG CTG GCG CTG GCC CTG GCC GCC AGT GCC GTC	48
Met Ser Arg Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala Ala Ser Ala Val	
-25 -20 -15	
CTG GCC GGG CCC TGG GCG GTC GGC GCG GTG CAG GCG CAG TCC GCG CCG	96
Leu Ala Gly Pro Trp Ala Val Gly Ala Val Gln Ala Gln Ser Ala Pro	
-10 -5 1	
CGC ACG GCC TTC GTG CAG CTT TTC GAG TGG AAG TGG ACC GAC GTC GCC	144
Arg Thr Ala Phe Val Gln Leu Phe Glu Trp Lys Trp Thr Asp Val Ala	
5 10 15 20	

	280		285		290											
GGG	GGC	GGC	TAC	GTC	ACC	TAT	CAC	CAC	GGC	AGC	ACC	TAC	GAC	CTG	GCG	1008
Gly	Gly	Gly	Tyr	Val	Thr	Tyr	His	His	Gly	Ser	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	
	295		300		305											
AAC	ATC	TTC	ATG	CTG	GCC	TGG	CCC	TAT	GGC	TAC	CCG	GCG	CTG	ATG	TCA	1056
Asn	Ile	Phe	Met	Leu	Ala	Trp	Pro	Tyr	Gly	Tyr	Pro	Ala	Leu	Met	Ser	
	310		315		320											
GCT	ACG	GCT	TCA	ACC	AGG	GCA	GCA	GCT	ACG	ACA	CCA	GCT	ACG	GCC	GCG	1104
Ala	Thr	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	Ala	Ala	Thr	Thr	Pro	Ala	Thr	Ala	Arg	
	325		330		335											
CGC	ACT	ACA	GCG	ACG	GCT	CGA	CCC	GGG	GGC	CGT	GGG	ACC	GGA	ACC	CCG	1152
Arg	Thr	Thr	Ala	Thr	Ala	Arg	Pro	Gly	Gly	Arg	Gly	Thr	Gly	Thr	Pro	
	345		350		355											
CCA	GCC	CGG	GTG	CTT	CAA	CCA	GAC	CGT	GGG	TGG	CTG	GGT	CTG	CGA	GCA	1200
Pro	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Pro	Asp	Arg	Gly	Trp	Leu	Gly	Leu	Arg	Ala	
	360		365		370											
CCG	CTG	GCG	CGG	CAT	CGG	CAA	CAT	GGT	GGC	CTT	CCG	CAA	CGC	CAC	CGT	1248
Pro	Leu	Ala	Arg	His	Arg	Gln	His	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln	Arg	His	Arg	
	375		380		385											
GGA	CAA	CTG	GTT	CGT	CAG	CGA	CTG	GTG	GAG	CAA	CGG	CAA	CAA	CCA	GAT	1296
Gly	Gln	Leu	Val	Arg	Gln	Arg	Leu	Val	Glu	Gln	Arg	Gln	Gln	Pro	Asp	
	390		395		400											
CGC	CTT	CGG	CCG	CGG	CGA	CAA	GGG	CTT	CGT	CGT	CAT	CAA	CAA	GGA	AGG	1344
Arg	Leu	Arg	Pro	Arg	Arg	Gln	Gly	Leu	Arg	Arg	His	Gln	Gln	Gly	Arg	
	405		410		415											
TAC	GGC	GCT	GAC	GCA	GCT	TCC	AGA	CCA	GCC	TGC	CGG	CCG	GGC	GTA	TTG	1392
Tyr	Gly	Ala	Asp	Ala	Ala	Ser	Arg	Pro	Ala	Cys	Arg	Pro	Gly	Val	Leu	
	425		430		435											
CGA	CGT	GAT	CTC	CGG	CGA	CTT	CGC	CAA	CGG	CAG	CTG	CAC	CGG	CAC	GGT	1440
Arg	Arg	Asp	Leu	Arg	Arg	Leu	Arg	Gln	Arg	Gln	Leu	His	Arg	His	Gly	
	440		445		450											
GGT	GAC	CGT	GGA	TGC	AGG	CGG	CCA	CGC	GAT	GCT	GTC	CGC	ACC	CGC	TTA	1488
Gly	Asp	Arg	Gly	Cys	Arg	Arg	Pro	Arg	Asp	Ala	Val	Arg	Thr	Arg	Leu	
	455		460		465											
TGG	CGC	GGC	GGC	GAT	CCA	CGT	CGG	TGC	GCG	CAT	CGG	CGA	CAC	GCA	GCA	1536
Trp	Arg	Gly	Gly	Asp	Pro	Arg	Arg	Cys	Ala	His	Arg	Arg	His	Ala	Ala	
	470		475		480											
GGT	GCA	GCA	GTG	CTC	AGC	TTG	ACC	TTC	AAC	GAG	ACG	GCC	GAC	ACC	GTG	1584
Gly	Ala	Ala	Val	Leu	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn	Glu	Thr	Ala	Asp	Thr	Val	
	485		490		495											
TGG	GGC	CAG	AAC	CTC	TTC	GTC	GTC	GGC	AAC	GTC	GGC	GCG	CTC	GGC	AAC	1632
Trp	Gly	Gln	Asn	Leu	Phe	Val	Val	Gly	Asn	Val	Gly	Ala	Leu	Gly	Asn	
	505		510		515											
TGG	GCG	CCC	GCG	GCC	GGG	GCG	GCG	ATG	ACC	TGG	ATC	TCC	GGC	AGC	GGC	1680
Trp	Ala	Pro	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Met	Thr	Trp	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	
	520		525		530											
AGC	ACC	GGC	CAG	TGG	CGT	GCG	ACG	GTG	CAG	CTG	CCC	GCC	GAC	ACG	CCG	1728
Ser	Thr	Gly	Gln	Trp	Arg	Ala	Thr	Val	Gln	Leu	Pro	Ala	Asp	Thr	Pro	
	535		540		545											
GTG	CAG	TAC	AAG	TAC	GTG	AAG	AAG	GAC	GGC	GCC	GGC	AAC	GTG	GTG	TGG	1776

Val Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Lys Asp Gly Ala Gly Asn Val Val Trp
 550 555 560
 GAA AGC GGC GGC AAC CGC GTG GTG ACG ACG CCC GCG CCC GGG GCG ACG 1824
 Glu Ser Gly Gly Asn Arg Val Val Thr Thr Pro Ala Pro Gly Ala Thr
 565 570 575 580
 ATC GCC GTC AAC GAC AGC TGG AAG TGACGGCCGG GGGCGCCAGG ACGACAAGGC 1878
 Ile Ala Val Asn Asp Ser Trp Lys
 585
 CCTGAGCGCC TCGTACACCG TGCCAGCGT GGTGGTAGTC CAACTGGCCC GACTGGCTCT 1938
 TCTGGTTGCT GAGCTTGCGG TTGTGCGCGG TCACTGTGGT ACC 1981

【0040】配列番号：5

株名：KO - 8940

配列の長さ：1981

直接の起源

鎖の数：一本鎖

プラスミド名：pOS3410L57

トポロジー：直鎖状

配列の特徴：mat peptide

配列の種類：変異導入染色体DNA

存在の位置：6..1847

起源

特徴を決定した方法：E

生物名：シュードモナス エスピー

配列

GAATTC ATG TCG CGC AGG CTG GCG CTG GCC CTG GCC GCC AGT GCC GTC 48
 Met Ser Arg Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala Ala Ser Ala Val
 -25 -20 -15
 CTG GCC GGG CCC TGG GCG GTC GGC GCG GTG CAG GCG CAG TCC GCG CCG 96
 Leu Ala Gly Pro Trp Ala Val Gly Ala Val Gln Ala Gln Ser Ala Pro
 -10 -5 1
 CGC ACG GCC TTC GTG CAG CTT TTC GAG TGG AAG TGG ACC GAC GTC GCC 144
 Arg Thr Ala Phe Val Gln Leu Phe Glu Trp Lys Trp Thr Asp Val Ala
 5 10 15 20
 CGG GAG TGC GAG ACC TAC CTC GGC CCC AAG GGT TTC GCG GCC GTG CAG 192
 Arg Glu Cys Glu Thr Tyr Leu Gly Pro Lys Gly Phe Ala Ala Val Gln
 25 30 35
 ATC TCG CCG CCC AAC GAG CAC AAC TGG GTC AGC AGC GGC GAC GGC GCG 240
 Ile Ser Pro Pro Asn Glu His Asn Trp Val Ser Ser Gly Asp Gly Ala
 40 45 50
 CCC TAC CCG TGG CTC ATG CGC TAC CAG CCG GTC AGC TAC AGC CTG GAC 288
 Pro Tyr Pro Trp Leu Met Arg Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Ser Leu Asp
 55 60 65
 CGC AGC CGC AGC GGC ACT CGC GCC GAG TTC CAG GAC ATG GTC AAC CGC 336
 Arg Ser Arg Ser Gly Thr Arg Ala Glu Phe Gln Asp Met Val Asn Arg
 70 75 80
 TGC AAC GCA GCA GGC GTG GGC ATC TAC GTC GAC GCG GTG ATC AAC CAC 384
 Cys Asn Ala Ala Gly Val Gly Ile Tyr Val Asp Ala Val Ile Asn His
 85 90 95 100
 ATG TCG GGT GGC AAC GGC GGC ACC TCG AGC GCA GGG CGC AGC TGG AGC 432
 Met Ser Gly Gly Asn Gly Gly Thr Ser Ser Ala Gly Arg Ser Trp Ser
 105 110 115
 CAC CAC AAC TAT CCG GGC CTG TAC GGC TCG CAG GAC TTC CAT CAC CCG 480
 His His Asn Tyr Pro Gly Leu Tyr Gly Ser Gln Asp Phe His His Pro
 120 125 130
 GTG TGC GCC ATC ACC AAC TAC GGT GAC GCG AAC AAC GTG CAG AAC TGC 528
 Val Cys Ala Ile Thr Asn Tyr Gly Asp Ala Asn Asn Val Gln Asn Cys

	135		140		145											
GAG	CTC	TCG	GGC	CTG	CAG	GAC	CTG	AAC	ACC	GGC	AGC	AGC	TAC	GTG	CGC	576
Glu	Leu	Ser	Gly	Leu	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Arg	
	150		155		160											
GGC	AAG	ATC	TCC	GAC	TAC	CTG	GTC	GAC	CTG	GTC	CAG	ATG	GGC	GTC	AAG	624
Gly	Lys	Ile	Ser	Asp	Tyr	Leu	Val	Asp	Leu	Val	Gln	Met	Gly	Val	Lys	
	165		170		175											
GGC	TTG	CGC	GTC	GAT	GCG	GCC	AAG	CAC	ATC	AGC	CCG	ACG	GAC	CTG	GGT	672
Gly	Leu	Arg	Val	Asp	Ala	Ala	Lys	His	Ile	Ser	Pro	Thr	Asp	Leu	Gly	
			185		190											
GCC	ATC	ATC	GAC	AGC	GTC	AAC	GCG	CGC	ACC	GGT	GCC	GCA	CGG	CCA	TTC	720
Ala	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Asn	Ala	Arg	Thr	Gly	Ala	Ala	Arg	Pro	Phe	
			200		205											
TGG	TTC	CTG	GAG	GTG	ATC	GGC	GCG	CCG	GGC	GAG	GCG	GTG	CAG	CCC	AGC	768
Trp	Phe	Leu	Glu	Val	Ile	Gly	Ala	Pro	Gly	Glu	Ala	Val	Gln	Pro	Ser	
			215		220											
CAG	TAC	TTC	GGG	CTC	GGC	GGC	GGG	CAG	GTC	ACG	GTG	ACC	GAG	TTC	GCC	816
Gln	Tyr	Phe	Gly	Leu	Gly	Gly	Gly	Gln	Val	Thr	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	
			230		235											
TAC	GGC	AAG	GAG	CTC	TAC	GGC	AAG	TTC	GCC	GGC	GGC	GGC	AAG	CTG	GCC	864
Tyr	Gly	Lys	Glu	Leu	Tyr	Gly	Lys	Phe	Ala	Gly	Gly	Gly	Lys	Leu	Ala	
			245		250											
GAC	CTG	CAG	ACC	TTC	GGC	CCC	AGC	TGG	AAC	CTG	ATG	CCC	AGC	AGC	AAG	912
Asp	Leu	Gln	Thr	Phe	Gly	Pro	Ser	Trp	Asn	Leu	Met	Pro	Ser	Ser	Lys	
			265		270											
GCC	ATC	GCT	TTC	GTC	GAC	AAC	CAC	GAC	AAG	CAG	CGC	GGC	CAC	GGC	GGC	960
Ala	Ile	Ala	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Lys	Gln	Arg	Gly	His	Gly	Gly	
			280		285											
GGG	GGC	GGC	TAC	GTC	ACC	TAT	CAC	CAC	GGC	AGC	ACC	TAC	GAC	CTG	GCG	1008
Gly	Gly	Gly	Tyr	Val	Thr	Tyr	His	His	Gly	Ser	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	
			295		300											
AAC	ATC	TTC	ATG	CTG	GCC	TGG	CCC	TAT	GGC	TAC	CCG	GCG	CTG	ATG	TCA	1056
Asn	Ile	Phe	Met	Leu	Ala	Trp	Pro	Tyr	Gly	Tyr	Pro	Ala	Leu	Met	Ser	
			310		315											
GCT	ACG	GCT	TCA	ACC	AGG	GCA	GCA	GCT	ACG	ACA	CCA	GCT	ACG	GCC	CGC	1104
Ala	Thr	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	Ala	Ala	Thr	Thr	Pro	Ala	Thr	Ala	Arg	
			325		330											
CGC	ACT	ACA	GCG	ACG	GCT	CGA	CCC	GGG	GGC	CGT	GGG	ACC	GGA	ACC	CCG	1152
Arg	Thr	Thr	Ala	Thr	Ala	Arg	Pro	Gly	Gly	Arg	Gly	Thr	Gly	Thr	Pro	
			345		350											
CCA	GCC	CGG	GTG	CTT	CAA	CCA	GAC	CGT	GGG	TGG	CTG	GGT	CTG	CGA	GCA	1200
Pro	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Pro	Asp	Arg	Gly	Trp	Leu	Gly	Leu	Arg	Ala	
			360		365											
CCG	CTG	GCG	CGG	CAT	CGG	CAA	CAT	GGT	GGC	CTT	CCG	CAA	CGC	CAC	CGT	1248
Pro	Leu	Ala	Arg	His	Arg	Gln	His	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln	Arg	His	Arg	
			375		380											
GGA	CAA	CTG	GTT	CGT	CAG	CGA	CTG	GTG	GAG	CAA	CGG	CAA	CAA	CCA	GAT	1296
Gly	Gln	Leu	Val	Arg	Gln	Arg	Leu	Val	Glu	Gln	Arg	Gln	Gln	Pro	Asp	
			390		395											
CGC	CTT	CGG	CCG	CGG	CGA	CAA	GGG	CTT	CGT	CGT	CAT	CAA	CAA	GGA	AGG	1344

Arg Leu Arg Pro Arg Arg Gln Gly Leu Arg Arg His Gln Gln Gly Arg
 405 410 415 420
 TAC GGC GCT GAC GCA GCT TCC AGA CCA GCC TGC CGG CCG GGC GTA TTG 1392
 Tyr Gly Ala Asp Ala Ala Ser Arg Pro Ala Cys Arg Pro Gly Val Leu
 425 430 435
 CGA CGT GAT CTC CGG CGA CTT CGC CAA CGG CAG CTG CAC CGG CAC GGT 1440
 Arg Arg Asp Leu Arg Arg Leu Arg Gln Arg Gln Leu His Arg His Gly
 440 445 450
 GGT GAC CGT GGA TGC AGG CGG CCA CGC GAT GCT GTC CGC ACC CGC TTA 1488
 Gly Asp Arg Gly Cys Arg Arg Pro Arg Asp Ala Val Arg Thr Arg Leu
 455 460 465
 TGG CGC GGC GGC GAT CCA CGT CGG TGC GCG CAT CGG CGA CAC GCA GCA 1536
 Trp Arg Gly Gly Asp Pro Arg Arg Cys Ala His Arg Arg His Ala Ala
 470 475 480
 GGT GCA GCA GTG CTC AGC TTG ACC TTC AAC GAG ACG GCC GAC ACC GTG 1584
 Gly Ala Ala Val Leu Ser Leu Thr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Thr Val
 485 490 495 500
 TGG GGC CAG AAC CTC TTC GTC GTC GGC AAC GTC GGC GCG CTC GGC AAC 1632
 Trp Gly Gln Asn Leu Phe Val Val Gly Asn Val Gly Ala Leu Gly Asn
 505 510 515
 TGG GCG CCC GCG GCC GGG GCG GCG ATG ACC TGG ATC TCC GGC AGC GGC 1680
 Trp Ala Pro Ala Ala Gly Ala Ala Met Thr Trp Ile Ser Gly Ser Gly
 520 525 530
 AGC ACC GGC CAG TGG CGT GCG ACG GTG CAG CTG CCC GCC GAC ACG CCG 1728
 Ser Thr Gly Gln Trp Arg Ala Thr Val Gln Leu Pro Ala Asp Thr Pro
 535 540 545
 GTG CAG TAC AAG TAC GTG AAG AAG GAC GGC GCC GGC AAC GTG GTG TGG 1776
 Val Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Lys Asp Gly Ala Gly Asn Val Val Trp
 550 555 560
 GAA AGC GGC GGC AAC CGC GTG GTG ACG ACG CCC GCG CCC GGG GCG ACG 1824
 Glu Ser Gly Gly Asn Arg Val Val Thr Thr Pro Ala Pro Gly Ala Thr
 565 570 575 580
 ATC GCC GTC AAC GAC AGC TGG AAG TGACGGCCGG GGGCGCCAGG ACGACAAGGC 1878
 Ile Ala Val Asn Asp Ser Trp Lys
 585
 CCTGAGCGCC TCGTACACCG TGCCAGCGT GGTGGTAGTC CAACTGGCCC GACTGGCTCT 1938
 TCTGGTTGCT GAGCTTGCGG TTGTCGCGCG TCACTGTGGT ACC 1981

【0041】配列番号：6

株名：KO - 8940

配列の長さ：1981

直接の起源

鎖の数：一本鎖

プラスミド名：pOS3410F139

トポロジー：直鎖状

配列の特徴：mat peptide

配列の種類：変異導入染色体DNA

存在の位置：6..1847

起源

特徴を決定した方法：E

生物名：シュードモナス エスピー

配列

GAATTC ATG TCG CGC AGG CTG GCG CTG GCC CTG GCC GCC AGT GCC GTC 48
 Met Ser Arg Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala Ala Ser Ala Val
 -25 -20 -15
 CTG GCC GGG CCC TGG GCG GTC GGC GCG GTG CAG GCG CAG TCC GCG CCG 96
 Leu Ala Gly Pro Trp Ala Val Gly Ala Val Gln Ala Gln Ser Ala Pro

Asp	Leu	Gln	Thr	Phe	Gly	Pro	Ser	Trp	Asn	Leu	Met	Pro	Ser	Ser	Lys	
				265					270					275		
GCC	ATC	GCT	TTC	GTC	GAC	AAC	CAC	GAC	AAG	CAG	CGC	GGC	CAC	GGC	GGC	960
Ala	Ile	Ala	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Lys	Gln	Arg	Gly	His	Gly	Gly	
				280				285						290		
GGG	GGC	GGC	TAC	GTC	ACC	TAT	CAC	CAC	GGC	AGC	ACC	TAC	GAC	CTG	CGC	1008
Gly	Gly	Gly	Tyr	Val	Thr	Tyr	His	His	Gly	Ser	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	
				295				300						305		
AAC	ATC	TTC	ATG	CTG	GCC	TGG	CCC	TAT	GGC	TAC	CCG	GCG	CTG	ATG	TCA	1056
Asn	Ile	Phe	Met	Leu	Ala	Trp	Pro	Tyr	Gly	Tyr	Pro	Ala	Leu	Met	Ser	
				310				315						320		
GCT	ACG	GCT	TCA	ACC	AGG	GCA	GCA	GCT	ACG	ACA	CCA	GCT	ACG	GCC	CGC	1104
Ala	Thr	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	Ala	Ala	Thr	Thr	Pro	Ala	Thr	Ala	Arg	
				325				330						335		340
CGC	ACT	ACA	GCG	ACG	GCT	CGA	CCC	GGG	GGC	CGT	GGG	ACC	GGA	ACC	CCG	1152
Arg	Thr	Thr	Ala	Thr	Ala	Arg	Pro	Gly	Gly	Arg	Gly	Thr	Gly	Thr	Pro	
				345				350						355		
CCA	GCC	CGG	GTG	CTT	CAA	CCA	GAC	CGT	GGG	TGG	CTG	GGT	CTG	CGA	GCA	1200
Pro	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Pro	Asp	Arg	Gly	Trp	Leu	Gly	Leu	Arg	Ala	
				360				365						370		
CCG	CTG	GCG	CGG	CAT	CGG	CAA	CAT	GGT	GGC	CTT	CCG	CAA	CGC	CAC	CGT	1248
Pro	Leu	Ala	Arg	His	Arg	Gln	His	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln	Arg	His	Arg	
				375				380						385		
GGA	CAA	CTG	GTT	CGT	CAG	CGA	CTG	GTG	GAG	CAA	CGG	CAA	CAA	CCA	GAT	1296
Gly	Gln	Leu	Val	Arg	Gln	Arg	Leu	Val	Glu	Gln	Arg	Gln	Gln	Pro	Asp	
				390				395						400		
CGC	CTT	CGG	CCG	CGG	CGA	CAA	GGG	CTT	CGT	CGT	CAT	CAA	CAA	GGA	AGG	1344
Arg	Leu	Arg	Pro	Arg	Arg	Gln	Gly	Leu	Arg	Arg	His	Gln	Gln	Gly	Arg	
				405				410						415		420
TAC	GGC	GCT	GAC	GCA	GCT	TCC	AGA	CCA	GCC	TGC	CGG	CCG	GGC	GTA	TTG	1392
Tyr	Gly	Ala	Asp	Ala	Ala	Ser	Arg	Pro	Ala	Cys	Arg	Pro	Gly	Val	Leu	
				425				430						435		
CGA	CGT	GAT	CTC	CGG	CGA	CTT	CGC	CAA	CGG	CAG	CTG	CAC	CGG	CAC	GGT	1440
Arg	Arg	Asp	Leu	Arg	Arg	Leu	Arg	Gln	Arg	Gln	Leu	His	Arg	His	Gly	
				440				445						450		
GGT	GAC	CGT	GGA	TGC	AGG	CGG	CCA	CGC	GAT	GCT	GTC	CGC	ACC	CGC	TTA	1488
Gly	Asp	Arg	Gly	Cys	Arg	Arg	Pro	Arg	Asp	Ala	Val	Arg	Thr	Arg	Leu	
				455				460						465		
TGG	CGC	GGC	GGC	GAT	CCA	CGT	CGG	TGC	GCG	CAT	CGG	CGA	CAC	GCA	GCA	1536
Trp	Arg	Gly	Gly	Asp	Pro	Arg	Arg	Cys	Ala	His	Arg	Arg	His	Ala	Ala	
				470				475						480		
GGT	GCA	GCA	GTG	CTC	AGC	TTG	ACC	TTC	AAC	GAG	ACG	GCC	GAC	ACC	GTG	1584
Gly	Ala	Ala	Val	Leu	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn	Glu	Thr	Ala	Asp	Thr	Val	
				485				490						495		500
TGG	GGC	CAG	AAC	CTC	TTC	GTC	GTC	GGC	AAC	GTC	GGC	GCG	CTC	GGC	AAC	1632
Trp	Gly	Gln	Asn	Leu	Phe	Val	Val	Gly	Asn	Val	Gly	Ala	Leu	Gly	Asn	
				505				510						515		
TGG	GCG	CCC	GCG	GCC	GGG	GCG	GCG	ATG	ACC	TGG	ATC	TCC	GGC	AGC	GGC	1680
Trp	Ala	Pro	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Met	Thr	Trp	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	
				520				525						530		

AGC ACC GGC CAG TGG CGT GCG ACG GTG CAG CTG CCC GCC GAC ACG CCG 1728
 Ser Thr Gly Gln Trp Arg Ala Thr Val Gln Leu Pro Ala Asp Thr Pro
 535 540 545
 GTG CAG TAC AAG TAC GTG AAG AAG GAC GGC GCC GGC AAC GTG GTG TGG 1776
 Val Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Lys Asp Gly Ala Gly Asn Val Val Trp
 550 555 560
 GAA AGC GGC GGC AAC CGC GTG GTG ACG ACG CCC GCG CCC GGG GCG ACG 1824
 Glu Ser Gly Gly Asn Arg Val Val Thr Thr Pro Ala Pro Gly Ala Thr
 565 570 575 580
 ATC GCC GTC AAC GAC AGC TGG AAG TGACGCCCGG GGGCGCCAGG ACGACAAGGC 1878
 Ile Ala Val Asn Asp Ser Trp Lys
 585
 CCTGAGCGCC TCGTACACCG TGCCAGCGT GGTGGTAGTC CAACTGGCCC GACTGGCTCT 1938
 TCTGGTTGCT GAGCTTGCGG TTGTCGCGCG TCACTGTGGT ACC 1981

【0042】配列番号：7

株名：KO - 8940

配列の長さ：1981

直接の起源

鎖の数：一本鎖

プラスミド名：pOS3410H139

トポロジー：直鎖状

配列の特徴：mat peptide

配列の種類：変異導入染色体DNA

存在の位置：6..1847

起源

特徴を決定した方法：E

生物名：シュードモナス エスピー

配列

GAATTC ATG TCG CGC AGG CTG GCG CTG GCC CTG GCC GCC AGT GCC GTC 48
 Met Ser Arg Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala Ala Ser Ala Val
 -25 -20 -15
 CTG GCC GGG CCC TGG GCG GTC GGC GCG GTG CAG GCG CAG TCC GCG CCG 96
 Leu Ala Gly Pro Trp Ala Val Gly Ala Val Gln Ala Gln Ser Ala Pro
 -10 -5 1
 CGC ACG GCC TTC GTG CAG CTT TTC GAG TGG AAG TGG ACC GAC GTC GCC 144
 Arg Thr Ala Phe Val Gln Leu Phe Glu Trp Lys Trp Thr Asp Val Ala
 5 10 15 20
 CGG GAG TGC GAG ACC TAC CTC GGC CCC AAG GGT TTC GCG GCC GTG CAG 192
 Arg Glu Cys Glu Thr Tyr Leu Gly Pro Lys Gly Phe Ala Ala Val Gln
 25 30 35
 ATC TCG CCG CCC AAC GAG CAC AAC TGG GTC AGC AGC GGC GAC GGC GCG 240
 Ile Ser Pro Pro Asn Glu His Asn Trp Val Ser Ser Gly Asp Gly Ala
 40 45 50
 CCC TAC CCG TGG TGG ATG CGC TAC CAG CCG GTC AGC TAC AGC CTG GAC 288
 Pro Tyr Pro Trp Trp Met Arg Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Ser Leu Asp
 55 60 65
 CGC AGC CGC AGC GGC ACT CGC GCC GAG TTC CAG GAC ATG GTC AAC CGC 336
 Arg Ser Arg Ser Gly Thr Arg Ala Glu Phe Gln Asp Met Val Asn Arg
 70 75 80
 TGC AAC GCA GCA GGC GTG GGC ATC TAC GTC GAC GCG GTG ATC AAC CAC 384
 Cys Asn Ala Ala Gly Val Gly Ile Tyr Val Asp Ala Val Ile Asn His
 85 90 95 100
 ATG TCG GGT GGC AAC GGC GGC ACC TCG AGC GCA GGG CGC AGC TGG AGC 432
 Met Ser Gly Gly Asn Gly Gly Thr Ser Ser Ala Gly Arg Ser Trp Ser
 105 110 115
 CAC CAC AAC TAT CCG GGC CTG TAC GGC TCG CAG GAC TTC CAT CAC CCG 480

His His Asn Tyr Pro Gly Leu Tyr Gly Ser Gln Asp Phe His His Pro	
120 125 130	
GTG TGC GCC ATC ACC AAC CAC GGT GAC GCG AAC AAC GTG CAG AAC TGC	528
Val Cys Ala Ile Thr Asn His Gly Asp Ala Asn Asn Val Gln Asn Cys	
135 140 145	
GAG CTC TCG GGC CTG CAG GAC CTG AAC ACC GGC AGC AGC TAC GTG CGC	576
Glu Leu Ser Gly Leu Gln Asp Leu Asn Thr Gly Ser Ser Tyr Val Arg	
150 155 160	
GGC AAG ATC TCC GAC TAC CTG GTC GAC CTG GTC CAG ATG GGC GTC AAG	624
Gly Lys Ile Ser Asp Tyr Leu Val Asp Leu Val Gln Met Gly Val Lys	
165 170 175 180	
GGC TTG CGC GTC GAT GCG GCC AAG CAC ATC AGC CCG ACG GAC CTG GGT	672
Gly Leu Arg Val Asp Ala Ala Lys His Ile Ser Pro Thr Asp Leu Gly	
185 190 195	
GCC ATC ATC GAC AGC GTC AAC GCG CGC ACC GGT GCC GCA CGG CCA TTC	720
Ala Ile Ile Asp Ser Val Asn Ala Arg Thr Gly Ala Ala Arg Pro Phe	
200 205 210	
TGG TTC CTG GAG GTG ATC GGC GCG CCG GGC GAG GCG GTG CAG CCC AGC	768
Trp Phe Leu Glu Val Ile Gly Ala Pro Gly Glu Ala Val Gln Pro Ser	
215 220 225	
CAG TAC TTC GGG CTC GGC GGC GGG CAG GTC ACG GTG ACC GAG TTC GCC	816
Gln Tyr Phe Gly Leu Gly Gly Gly Gln Val Thr Val Thr Glu Phe Ala	
230 235 240	
TAC GGC AAG GAG CTC TAC GGC AAG TTC GCC GGC GGC GGC AAG CTG GCC	864
Tyr Gly Lys Glu Leu Tyr Gly Lys Phe Ala Gly Gly Gly Lys Leu Ala	
245 250 255 260	
GAC CTG CAG ACC TTC GGC CCC AGC TGG AAC CTG ATG CCC AGC AGC AAG	912
Asp Leu Gln Thr Phe Gly Pro Ser Trp Asn Leu Met Pro Ser Ser Lys	
265 270 275	
GCC ATC GCT TTC GTC GAC AAC CAC GAC AAG CAG CGC GGC CAC GGC GGC	960
Ala Ile Ala Phe Val Asp Asn His Asp Lys Gln Arg Gly His Gly Gly	
280 285 290	
GGG GGC GGC TAC GTC ACC TAT CAC CAC GGC AGC ACC TAC GAC CTG GCG	1008
Gly Gly Gly Tyr Val Thr Tyr His His Gly Ser Thr Tyr Asp Leu Ala	
295 300 305	
AAC ATC TTC ATG CTG GCC TGG CCC TAT GGC TAC CCG GCG CTG ATG TCA	1056
Asn Ile Phe Met Leu Ala Trp Pro Tyr Gly Tyr Pro Ala Leu Met Ser	
310 315 320	
GCT ACG GCT TCA ACC AGG GCA GCA GCT ACG ACA CCA GCT ACG GCC CGC	1104
Ala Thr Ala Ser Thr Arg Ala Ala Ala Thr Thr Pro Ala Thr Ala Arg	
325 330 335 340	
CGC ACT ACA GCG ACG GCT CGA CCC GGG GGC CGT GGG ACC GGA ACC CCG	1152
Arg Thr Thr Ala Thr Ala Arg Pro Gly Gly Arg Gly Thr Gly Thr Pro	
345 350 355	
CCA GCC CGG GTG CTT CAA CCA GAC CGT GGG TGG CTG GGT CTG CGA GCA	1200
Pro Ala Arg Val Leu Gln Pro Asp Arg Gly Trp Leu Gly Leu Arg Ala	
360 365 370	
CCG CTG GCG CGG CAT CGG CAA CAT GGT GGC CTT CCG CAA CGC CAC CGT	1248
Pro Leu Ala Arg His Arg Gln His Gly Gly Leu Pro Gln Arg His Arg	
375 380 385	

GGA CAA CTG GTT CGT CAG CGA CTG GTG GAG CAA CGG CAA CAA CCA GAT 1296
 Gly Gln Leu Val Arg Gln Arg Leu Val Glu Gln Arg Gln Gln Pro Asp
 390 395 400

CGC CTT CGG CCG CGG CGA CAA GGG CTT CGT CGT CAT CAA CAA GGA AGG 1344
 Arg Leu Arg Pro Arg Arg Gln Gly Leu Arg Arg His Gln Gln Gly Arg
 405 410 415 420

TAC GGC GCT GAC GCA GCT TCC AGA CCA GCC TGC CGG CCG GGC GTA TTG 1392
 Tyr Gly Ala Asp Ala Ala Ser Arg Pro Ala Cys Arg Pro Gly Val Leu
 425 430 435

CGA CGT GAT CTC CGG CGA CTT CGC CAA CGG CAG CTG CAC CGG CAC GGT 1440
 Arg Arg Asp Leu Arg Arg Leu Arg Gln Arg Gln Leu His Arg His Gly
 440 445 450

GGT GAC CGT GGA TGC AGG CGG CCA CGC GAT GCT GTC CGC ACC CGC TTA 1488
 Gly Asp Arg Gly Cys Arg Arg Pro Arg Asp Ala Val Arg Thr Arg Leu
 455 460 465

TGG CGC GGC GGC GAT CCA CGT CGG TGC GCG CAT CGG CGA CAC GCA GCA 1536
 Trp Arg Gly Gly Asp Pro Arg Arg Cys Ala His Arg Arg His Ala Ala
 470 475 480

GGT GCA GCA GTG CTC AGC TTG ACC TTC AAC GAG ACG GCC GAC ACC GTG 1584
 Gly Ala Ala Val Leu Ser Leu Thr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Thr Val
 485 490 495 500

TGG GGC CAG AAC CTC TTC GTC GTC GGC AAC GTC GGC GCG CTC GGC AAC 1632
 Trp Gly Gln Asn Leu Phe Val Val Gly Asn Val Gly Ala Leu Gly Asn
 505 510 515

TGG GCG CCC GCG GCC GGG GCG GCG ATG ACC TGG ATC TCC GGC AGC GGC 1680
 Trp Ala Pro Ala Ala Gly Ala Ala Met Thr Trp Ile Ser Gly Ser Gly
 520 525 530

AGC ACC GGC CAG TGG CGT GCG ACG GTG CAG CTG CCC GCC GAC ACG CCG 1728
 Ser Thr Gly Gln Trp Arg Ala Thr Val Gln Leu Pro Ala Asp Thr Pro
 535 540 545

GTG CAG TAC AAG TAC GTG AAG AAG GAC GGC GCC GGC AAC GTG GTG TGG 1776
 Val Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Lys Asp Gly Ala Gly Asn Val Val Trp
 550 555 560

GAA AGC GGC GGC AAC CGC GTG GTG ACG ACG CCC GCG CCC GGG GCG ACG 1824
 Glu Ser Gly Gly Asn Arg Val Val Thr Thr Pro Ala Pro Gly Ala Thr
 565 570 575 580

ATC GCC GTC AAC GAC AGC TGG AAG TGACGGCCGG GGGCGCCAGG ACGACAAGGC 1878
 Ile Ala Val Asn Asp Ser Trp Lys
 585

CCTGAGCGCC TCGTACACCG TGCCAGCGT GGTGGTAGTC CAACTGGCCC GACTGGCTCT 1938
 TCTGGTTGCT GAGCTTGCGG TTGTCGCGCG TCACTGTGGT ACC 1981

【0043】配列番号：8

株名：KO - 8940

配列の長さ：1981

直接の起源

鎖の数：一本鎖

プラスミド名：pOS3410L139

トポロジー：直鎖状

配列の特徴：mat peptide

配列の種類：変異導入染色体DNA

存在の位置：6..1847

起源

特徴を決定した方法：E

生物名：シュードモナス エスピー

配列

GAATTC ATG TCG CGC AGG CTG GCG CTG GCC CTG GCC GCC AGT GCC GTC 48

	Met Ser Arg Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala Ala Ser Ala Val	
	-25 -20 -15	
CTG GCC GGG CCC TGG GCG GTC GGC GCG GTG CAG GCG CAG TCC GCG CCG		96
Leu Ala Gly Pro Trp Ala Val Gly Ala Val Gln Ala Gln Ser Ala Pro		
-10 -5 1		
CGC ACG GCC TTC GTG CAG CTT TTC GAG TGG AAG TGG ACC GAC GTC GCC		144
Arg Thr Ala Phe Val Gln Leu Phe Glu Trp Lys Trp Thr Asp Val Ala		
5 10 15 20		
CGG GAG TGC GAG ACC TAC CTC GGC CCC AAG GGT TTC GCG GCC GTG CAG		192
Arg Glu Cys Glu Thr Tyr Leu Gly Pro Lys Gly Phe Ala Ala Val Gln		
25 30 35		
ATC TCG CCG CCC AAC GAG CAC AAC TGG GTC AGC AGC GGC GAC GGC GCG		240
Ile Ser Pro Pro Asn Glu His Asn Trp Val Ser Ser Gly Asp Gly Ala		
40 45 50		
CCC TAC CCG TGG TGG ATG CGC TAC CAG CCG GTC AGC TAC AGC CTG GAC		288
Pro Tyr Pro Trp Trp Met Arg Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Ser Leu Asp		
55 60 65		
CGC AGC CGC AGC GGC ACT CGC GCC GAG TTC CAG GAC ATG GTC AAC CGC		336
Arg Ser Arg Ser Gly Thr Arg Ala Glu Phe Gln Asp Met Val Asn Arg		
70 75 80		
TGC AAC GCA GCA GGC GTG GGC ATC TAC GTC GAC GCG GTG ATC AAC CAC		384
Cys Asn Ala Ala Gly Val Gly Ile Tyr Val Asp Ala Val Ile Asn His		
85 90 95 100		
ATG TCG GGT GGC AAC GGC GGC ACC TCG AGC GCA GGG CGC AGC TGG AGC		432
Met Ser Gly Gly Asn Gly Gly Thr Ser Ser Ala Gly Arg Ser Trp Ser		
105 110 115		
CAC CAC AAC TAT CCG GGC CTG TAC GGC TCG CAG GAC TTC CAT CAC CCG		480
His His Asn Tyr Pro Gly Leu Tyr Gly Ser Gln Asp Phe His His Pro		
120 125 130		
GTG TGC GCC ATC ACC AAC CTC GGT GAC GCG AAC AAC GTG CAG AAC TGC		528
Val Cys Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asp Ala Asn Asn Val Gln Asn Cys		
135 140 145		
GAG CTC TCG GGC CTG CAG GAC CTG AAC ACC GGC AGC AGC TAC GTG CGC		576
Glu Leu Ser Gly Leu Gln Asp Leu Asn Thr Gly Ser Ser Tyr Val Arg		
150 155 160		
GGC AAG ATC TCC GAC TAC CTG GTC GAC CTG GTC CAG ATG GGC GTC AAG		624
Gly Lys Ile Ser Asp Tyr Leu Val Asp Leu Val Gln Met Gly Val Lys		
165 170 175 180		
GGC TTG CGC GTC GAT GCG GCC AAG CAC ATC AGC CCG ACG GAC CTG GGT		672
Gly Leu Arg Val Asp Ala Ala Lys His Ile Ser Pro Thr Asp Leu Gly		
185 190 195		
GCC ATC ATC GAC AGC GTC AAC GCG CGC ACC GGT GCC GCA CGG CCA TTC		720
Ala Ile Ile Asp Ser Val Asn Ala Arg Thr Gly Ala Ala Arg Pro Phe		
200 205 210		
TGG TTC CTG GAG GTG ATC GGC GCG CCG GGC GAG GCG GTG CAG CCC AGC		768
Trp Phe Leu Glu Val Ile Gly Ala Pro Gly Glu Ala Val Gln Pro Ser		
215 220 225		
CAG TAC TTC GGG CTC GGC GGC GGC CAG GTC ACG GTG ACC GAG TTC GCC		816
Gln Tyr Phe Gly Leu Gly Gly Gly Gln Val Thr Val Thr Glu Phe Ala		
230 235 240		

TAC GGC AAG GAG CTC TAC GGC AAG TTC GCC GGC GGC GGC AAG CTG GCC 864
 Tyr Gly Lys Glu Leu Tyr Gly Lys Phe Ala Gly Gly Gly Lys Leu Ala
 245 250 255 260
 GAC CTG CAG ACC TTC GGC CCC AGC TGG AAC CTG ATG CCC AGC AGC AAG 912
 Asp Leu Gln Thr Phe Gly Pro Ser Trp Asn Leu Met Pro Ser Ser Lys
 265 270 275
 GCC ATC GCT TTC GTC GAC AAC CAC GAC AAG CAG CGC GGC CAC GGC GGC 960
 Ala Ile Ala Phe Val Asp Asn His Asp Lys Gln Arg Gly His Gly Gly
 280 285 290
 GGG GGC GGC TAC GTC ACC TAT CAC CAC GGC AGC ACC TAC GAC CTG GCG 1008
 Gly Gly Gly Tyr Val Thr Tyr His His Gly Ser Thr Tyr Asp Leu Ala
 295 300 305
 AAC ATC TTC ATG CTG GCC TGG CCC TAT GGC TAC CCG GCG CTG ATG TCA 1056
 Asn Ile Phe Met Leu Ala Trp Pro Tyr Gly Tyr Pro Ala Leu Met Ser
 310 315 320
 GCT ACG GCT TCA ACC AGG GCA GCA GCT ACG ACA CCA GCT ACG GCC CGC 1104
 Ala Thr Ala Ser Thr Arg Ala Ala Ala Thr Thr Pro Ala Thr Ala Arg
 325 330 335 340
 CGC ACT ACA GCG ACG GCT CGA CCC GGG GGC CGT GGG ACC GGA ACC CCG 1152
 Arg Thr Thr Ala Thr Ala Arg Pro Gly Gly Arg Gly Thr Gly Thr Pro
 345 350 355
 CCA GCC CGG GTG CTT CAA CCA GAC CGT GGG TGG CTG GGT CTG CGA GCA 1200
 Pro Ala Arg Val Leu Gln Pro Asp Arg Gly Trp Leu Gly Leu Arg Ala
 360 365 370
 CCG CTG GCG CGG CAT CGG CAA CAT GGT GGC CTT CCG CAA CGC CAC CGT 1248
 Pro Leu Ala Arg His Arg Gln His Gly Gly Leu Pro Gln Arg His Arg
 375 380 385
 GGA CAA CTG GTT CGT CAG CGA CTG GTG GAG CAA CGG CAA CAA CCA GAT 1296
 Gly Gln Leu Val Arg Gln Arg Leu Val Glu Gln Arg Gln Gln Pro Asp
 390 395 400
 CGC CTT CGG CCG CGG CGA CAA GGG CTT CGT CGT CAT CAA CAA GGA AGG 1344
 Arg Leu Arg Pro Arg Arg Gln Gly Leu Arg Arg His Gln Gln Gly Arg
 405 410 415 420
 TAC GGC GCT GAC GCA GCT TCC AGA CCA GCC TGC CGG CCG GGC GTA TTG 1392
 Tyr Gly Ala Asp Ala Ala Ser Arg Pro Ala Cys Arg Pro Gly Val Leu
 425 430 435
 CGA CGT GAT CTC CGG CGA CTT CGC CAA CGG CAG CTG CAC CGG CAC GGT 1440
 Arg Arg Asp Leu Arg Arg Leu Arg Gln Arg Gln Leu His Arg His Gly
 440 445 450
 GGT GAC CGT GGA TGC AGG CGG CCA CGC GAT GCT GTC CGC ACC CGC TTA 1488
 Gly Asp Arg Gly Cys Arg Arg Pro Arg Asp Ala Val Arg Thr Arg Leu
 455 460 465
 TGG CGC GGC GGC GAT CCA CGT CGG TGC GCG CAT CGG CGA CAC GCA GCA 1536
 Trp Arg Gly Gly Asp Pro Arg Arg Cys Ala His Arg Arg His Ala Ala
 470 475 480
 GGT GCA GCA GTG CTC AGC TTG ACC TTC AAC GAG ACG GCC GAC ACC GTG 1584
 Gly Ala Ala Val Leu Ser Leu Thr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Thr Val
 485 490 495 500
 TGG GGC CAG AAC CTC TTC GTC GTC GGC AAC GTC GGC GCG CTC GGC AAC 1632
 Trp Gly Gln Asn Leu Phe Val Val Gly Asn Val Gly Ala Leu Gly Asn

```

                    505                510                515
TGG GCG CCC GCG GCC GGG GCG GCG ATG ACC TGG ATC TCC GGC AGC GGC   1680
Trp Ala Pro Ala Ala Gly Ala Ala Met Thr Trp Ile Ser Gly Ser Gly
                    520                525                530
AGC ACC GGC CAG TGG CGT GCG ACG GTG CAG CTG CCC GCC GAC ACG CCG   1728
Ser Thr Gly Gln Trp Arg Ala Thr Val Gln Leu Pro Ala Asp Thr Pro
                    535                540                545
GTG CAG TAC AAG TAC GTG AAG AAG GAC GGC GCC GGC AAC GTG GTG TGG   1776
Val Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Lys Asp Gly Ala Gly Asn Val Val Trp
                    550                555                560
GAA AGC GGC GGC AAC CGC GTG GTG ACG ACG CCC GCG CCC GGG GCG ACG   1824
Glu Ser Gly Gly Asn Arg Val Val Thr Thr Pro Ala Pro Gly Ala Thr
                    565                570                575                580
ATC GCC GTC AAC GAC AGC TGG AAG TGACGGCCGG GGGCGCCAGG ACGACAAGGC   1878
Ile Ala Val Asn Asp Ser Trp Lys
                    585
CCTGAGCGCC TCGTACACCG TGCCACGCGT GGTGGTAGTC CAACTGGCCC GACTGGCTCT 1938
TCTGGTTGCT GAGCTTGCGG TTGTCGCGCG TCACTGTGGT ACC                               1981

```

【図面の簡単な説明】

【図1】 野性型のシュードモナス・エスピー（pOS3410）から得られた野性型酵素の、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図2】 野性型のシュードモナス・エスピー（pOS3410）から得られた野性型酵素の、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図3】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410F57から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図4】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410F57から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図5】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410H57から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図6】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410H57から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図7】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410L57から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図8】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410L57から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラ

ーゼの、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図9】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410F139から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図10】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410F139から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図11】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410H139から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図12】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410H139から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【図13】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410L139から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始30分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

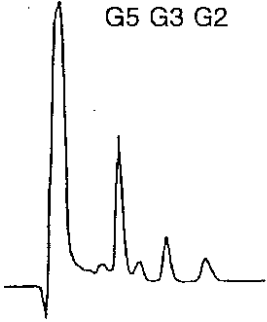
【図14】 本発明の形質転換大腸菌pOS3410L139から得られたマルトペンタオース高生産性 - アミラーゼの、処理開始180分後における可溶性デンプン分解活性を示したものである。

【符号の説明】

図中のG5は、マルトペンタオースの検出量を、G3はマルトトリオースの検出量を、G2はマルトースの検出量をそれぞれ示す。

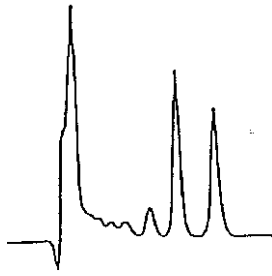
【図1】

G5 G3 G2



【図2】

G5 G3 G2



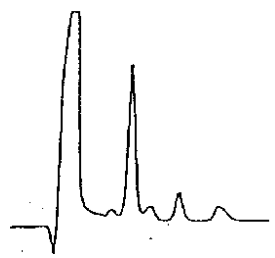
【図3】

G5 G3 G2



【図5】

G5 G3 G2



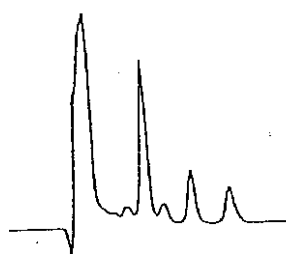
【図4】

G5 G3 G2



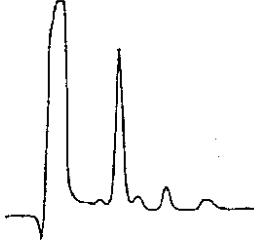
【図6】

G5 G3 G2



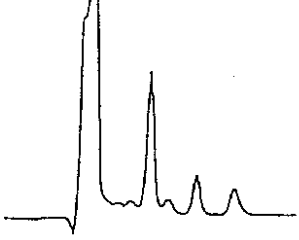
【図7】

G5 G3 G2



【図8】

G5 G3 G2



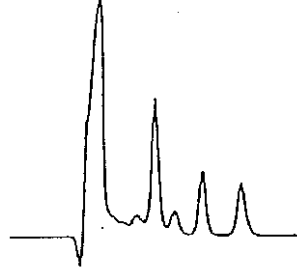
【図9】

G5 G3 G2



【図10】

G5 G3 G2



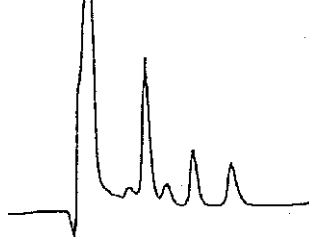
【図11】

G5 G3 G2



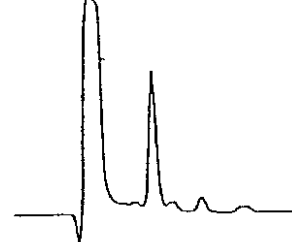
【図12】

G5 G3 G2

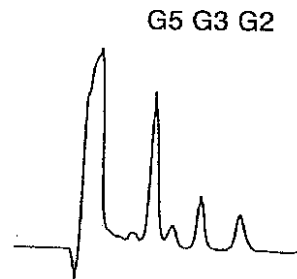


【図13】

G5 G3 G2



【図14】



フロントページの続き

- (56)参考文献 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry、1992年、第56巻、第1号、p.76-80
 Journal of Biochemistry、1984年、第95巻、第3号、p.697-702
 Journal of Molecular Biology、1997年、第267巻、第3号、p.661-672

- (58)調査した分野(Int.Cl.7, DB名)
 C12N 15/00 - 15/90
 BIOSIS(DIALOG)
 WPI(DIALOG)
 JICSTファイル(JOIS)