

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) **公開特許公報** ( A )

(11)特許出願公開番号

**特開平11 - 346774**

(43)公開日 平成11年(1999)12月21日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I		
C12N 15/09	ZNA	C12N 15/00	ZNA	A
A01H 5/00		A01H 5/00		A

審査請求 有 請求項の数 9 O L (全6頁)

(21)出願番号	特願平10 - 162186	(71)出願人	391012501 九州大学長 福岡県福岡市東区箱崎6丁目10番1号
(22)出願日	平成10年(1998)6月10日	(72)発明者	射場 厚 福岡県福岡市東区箱崎6丁目10番1号
		(72)発明者	島田 多喜子 石川県石川郡野々市町末松1 - 308
		(72)発明者	草野 友延 奈良県生駒市高山町8916 - 5
		(74)代理人	弁理士 杉村 暁秀 (外8名)

(54)【発明の名称】DNAフラグメント、組み換えDNA、形質転換植物

(57)【要約】

【課題】 脂肪酸不飽和化酸素遺伝子、その他の耐冷性に寄与するタンパク質遺伝子の発現を、低温に应答して強化できるようなプロモーターを提供する。

【解決手段】 (a)配列表の配列番号1に示す塩基配列のうち、塩基番号1 - 3794で表される塩基配列、または、(b)(a)の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなる、DNAフラグメント、またはこれを含む組み換えDNAおよび形質転換植物。低温应答性のプロモーター活性を示す、(c)配列表の配列番号1に示す塩基配列のうち、塩基番号1 - 2797で表される塩基配列、(d)低温应答性のプロモーター活性を示す、(c)の塩基配列の一部、または(e)(c)または(d)の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなるDNAフラグメント。これらのDNAフラグメントは、トウモロコシの低温誘導性遺伝子m l i p 1 5に由来する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の ( a ) または ( b ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNA フラグメント。

( a ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 1 - 3 7 9 4 で表される塩基配列

( b ) ( a ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【請求項 2】 トウモロコシの低温誘導性遺伝子 m l i p 1 5 を含むことを特徴とする、請求項 1 記載の DNA フラグメント。

【請求項 3】 低温応答性のプロモーター活性を示す、以下の ( c )、( d ) または ( e ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNA フラグメント。

( c ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 1 - 2 7 9 7 で表される塩基配列

( d ) 低温応答性のプロモーター活性を示す、( c ) の塩基配列の一部

( e ) ( c ) または ( d ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【請求項 4】 プロモーター活性を示す、以下の ( f )、( g ) または ( h ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNA フラグメント。

( f ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 1 - 2 2 7 1 で表される塩基配列

( g ) プロモーター活性を示す、( f ) の塩基配列の一部

( h ) ( f ) または ( g ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【請求項 5】 低温への応答性を示す、以下の ( i )、( j ) または ( k ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNA フラグメント。

( i ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 2 2 7 2 - 2 7 9 7 で表される塩基配列

( j ) 低温への応答性を示す、( i ) の塩基配列の一部

( k ) ( i ) または ( j ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【請求項 6】 請求項 1 に記載の DNA フラグメントを含む組み換え DNA。

【請求項 7】 請求項 3 に記載の DNA フラグメントを含む組み換え DNA。

【請求項 8】 請求項 1 に記載の DNA フラグメントを含む組み換え DNA が導入されている、耐冷性を有する形質転換植物。

【請求項 9】 請求項 3 に記載の DNA フラグメントを含む組み換え DNA が導入されている、低温に反応して特定のタンパク質を形質発現する形質転換植物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、トウモロコシ、イネ等の耐冷性品種などを作出するのに好適な DNA フラグメ

ント、組み換え DNA、および形質転換植物に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 植物の耐冷性と、生体膜を構成する脂肪酸の不飽和度との間には有為な相関があることが、これまでの研究で指摘されてきた。本発明者は、形質転換タバコ植物体において、シロイヌナズナ由来の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 F A D 7 を高発現させることにより、低温に対して一層耐性となることを、実験的に示した。

## 10 【0003】

【発明が解決しようとする課題】 一方、植物細胞で、ある蛋白質を生産しようとする際には、従来は構成的に発現し、かつプロモーター活性の強いものが使われてきた。こうしたプロモーターは絶えず機能するため、植物にとっての経済学上は不利益なことも起こっていた。

【0004】 例えば、植物に耐冷性を付与するようなタンパク質を形質発現させる場合にも、構成的プロモーターを用いているので、植物は、常温時においては不必要な、耐冷性を付与するための遺伝子の発現を強いられる結果となり、好ましいことではない。

20

【0005】 このような背景から、部位特異的、誘導的プロモーターの開発が求められていた。特に、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子やその他の耐冷性に寄与するタンパク質遺伝子等を低温誘導的に発現する育種中間母本を作出するために、あるいは不安定機能タンパク質を、植物細胞を用いて生産できるようにするために、特定遺伝子の発現を低温時にのみ強化する必要がある。

【0006】 本発明の課題は、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子、その他の耐冷性に寄与するタンパク質遺伝子の発現を、低温に反応して強化できるようなプロモーターを提供することである。

30

【0007】 また、本発明の課題は、前記のプロモーターを利用して、耐冷性品種を作出できるようにすることである。また、本発明の課題は、植物細胞における低温時特異的な機能タンパク質の誘導生産系に対して、本プロモーターを利用することである。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】 本発明は、( a ) または ( b ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNA フラグメントに係るものである。

40

( a ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 1 - 3 7 9 4 で表される塩基配列

( b ) ( a ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【0009】 また、本発明は、前記の DNA フラグメントを含む組み換え DNA、および、前記の DNA フラグメントを含む組み換え DNA が導入されている、耐冷性を有する形質転換植物に係るものである。

【0010】 また、本発明は、低温応答性のプロモーター活性を示す、( c )、( d ) または ( e ) に示す塩基

50

配列からなることを特徴とする、DNAフラグメントに係るものである。

( c ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 1 - 2 7 9 7 で表される塩基配列

( d ) 低温応答性のプロモーター活性を示す、( c ) の塩基配列の一部

( e ) ( c ) または ( d ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【 0 0 1 1 】また、本発明は、( c )、( d ) または ( e ) に示す塩基配列からなる DNA フラグメントを含む組み換え DNA、および、この組み換え DNA が導入されている、低温に应答して特定のタンパク質を形質発現する形質転換植物に係るものである。

【 0 0 1 2 】また、本発明は、プロモーター活性を示す、以下の ( f )、( g ) または ( h ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNAフラグメントに係るものである。

( f ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 1 - 2 2 7 1 で表される塩基配列

( g ) プロモーター活性を示す、( f ) の塩基配列の一部

( h ) ( f ) または ( g ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【 0 0 1 3 】また、本発明は、低温への応答性を示す、( i )、( j ) または ( k ) に示す塩基配列からなることを特徴とする、DNAフラグメントに係るものである。

( i ) 配列表の配列番号 1 に示す塩基配列のうち、塩基番号 2 2 7 2 - 2 7 9 7 で表される塩基配列

( j ) 低温への応答性を示す、( i ) の塩基配列の一部

( k ) ( i ) または ( j ) の塩基配列の一部が欠失、置換若しくは付加された塩基配列

【 0 0 1 4 】イネ低温誘導性遺伝子 l i p 1 9 及びトウモロコシ低温誘導性遺伝子 m l i p 1 5 は、DNA 結合因子をコードすることから、低温ストレス時に誘導あるいは抑制される他の遺伝子群の転写を左右する遺伝子ではないかと考えられている。本発明者は、トウモロコシ m l i p 1 5 遺伝子の低温誘導性プロモーターの機能単位を明らかにし、かつこの機能部分が形質転換植物においても機能することを明らかにした。

【 0 0 1 5 】本発明者は、トウモロコシ m l i p 1 5 遺伝子のゲノムクローンを、通常の方法により単離した。塩基配列決定により、当該遺伝子は、イントロンを含まないことが明かとなった ( 配列表の配列番号 1 を参照 ) 。

【 0 0 1 6 】m l i p 1 5 ゲノム遺伝子の 2 . 8 k b のゲノム配列 ( m l i p 1 5 c DNA の 5 - 非翻訳領域 0 . 6 k b と左記配列に連なる上流の 2 . 2 k b のゲノム配列 ) と、2 . 2 k b の ( 2 . 8 k b ゲノム断片より上述の 0 . 6 k b の 5 - 非翻訳領域を除いた ) ゲノム

配列とを、レポーター遺伝子である - グルクロニダーゼ遺伝子にそれぞれ連結し、各組み換え DNA を構築した。これらの各組み換え DNA を、イネはい盤に由来するカルスに対して、パーティクルガン装置を用いて導入したところ、前者では低温に対する反応性が保持されていたが、0 . 6 k b の 5 - 非翻訳領域を除いた 2 . 2 k b 断片のみでは、低温反応性が失われていた。従って、5 - 非翻訳領域 0 . 6 k b を含む 2 . 8 k b 断片に、低温応答性のプロモーター機能があることが明らかとなった。

【 0 0 1 7 】本発明において、組み換え DNA を作製する際のベクターとしては、例えばプラスミドを使用できる。また、組み換え DNA を導入するための植物としては、トウモロコシ、イネ、小麦、大麦、オート麦、粟、ひえ等の単子葉有用栽培植物が好ましい。また、前記の各 DNA フラグメントの塩基配列においては、一個または数個の塩基について、欠失、置換、付加が行われても、本発明のプロモーター機能を損なうものでない限り、本発明の範囲内である。また、本発明のプロモーター機能によって生産が誘導されるタンパク質としては、オメガ - 3 脂肪酸不飽和化酵素等がある。

【 0 0 1 8 】

【実施例】( m l i p 1 5 ゲノムクローンの単離、および、塩基配列の決定 ) トウモロコシ ( 品種 ; ハニーバンタム ) より調製したゲノム DNA を、制限酵素 S a u 3 A で部分消化した後、ショ糖密度勾配遠心法により分離し、9 . 7 - 2 2 k b の鎖長の DNA 分画を得た。この DNA 画分を、ラムダ E M B L 3 を B a m H I で消化したものに連結した後、G i g a - p a c k G o l d i l k i t を用いてファージ粒子とした。大腸菌 X L 1 - B l u e M R A ( P 2 ) を宿主として検定したところ、 $1 \times 1 0 7$  p f u / m l のライブラリーを得た。m l i p 1 5 c DNA 全長をプローブとして、このライブラリーを選抜し、3 つのポジティブクローンを得た。このうち、「ラムダ H 1」と名付けたクローンは、m l i p 1 5 c DNA と、その 5 上流側に 5 k b と、その 3 下流側に 5 k b とを含む、1 1 . 5 k b の断片を含んでいた。

【 0 0 1 9 】配列表 1 には、m l i p 1 5 c DNA の全長を含む、3 , 7 9 4 b p からなる E c o R I - B a m H I 断片の塩基配列を示す。なお、m l i p 1 5 タンパク質をコードする領域の推定アミノ酸配列は、1 文字表記で遺伝子配列の下に記した。この推定アミノ酸配列に対応する塩基番号は、2 7 9 8 - 3 2 0 4 である。この塩基配列の終止コドンは、「米」印で示した。予想された「T A T A b o x」配列には下線を施し、併せて表記した。m l i p 1 5 の転写開始点は、白抜き文字 ( T、塩基番号 2 2 7 2 ) で表わした。

【 0 0 2 0 】( イネカルスへ導入するための DNA 組換え体の構築 ) トウモロコシ m l i p 1 5 ゲノムクローンを鋳型とし、配列番号 1 の塩基番号 1 - 2 7 9 7 の断片

と、1 - 2 2 7 1 の断片とを、それぞれ P C R 法 ( ポリメラーゼ連鎖反応法 ) で増幅した。塩基番号 1 - 2 7 9 7 の断片は、前述した 2 . 8 k b のゲノム配列であり、m l i p 1 5 c DNA の 5 - 非翻訳領域 0 . 6 k b と、5 - 非翻訳領域 0 . 6 k b に連なる上流の 2 . 2 k b のゲノム配列とからなる。塩基番号 2 7 9 8 - 3 2 0 4 は、m l i p 1 5 タンパク質をコードする領域である。塩基番号 1 - 2 2 7 1 の断片は、前述した 2 . 2 k b のゲノム配列であり、2 . 8 k b ゲノム断片から、5 - 非翻訳領域 0 . 6 k b を除いたものである。

【 0 0 2 1 】増幅の際の酵素は、校正活性を持つ L A T a q DNA ポリメラーゼを用いた。なお、その際、各断片において、塩基数 1 から 6 まだが H i n d III 部位 ( A A G C T T ) になるように、塩基数 2 7 9 2 - 2 7 9 7 と、2 2 6 6 - 2 2 7 1 とか、それぞれ、B a m H I 部位 ( G G A T C C ) になるように、各プライマーを設計した。

【 0 0 2 2 】各増幅断片を、大腸菌用ベクター p U C 1 8 の B a m H I と H i n d III 部位との間に組み込み、各塩基配列の確認を行った。各塩基配列を確認した各プラスミドより、2 7 9 7 b p と 2 2 7 1 b p からなる各 H i n d III - B a m H I 断片を再度調製して、p B I 2 2 1 の H i n d III - B a m H I 間に組み込んだ。得られた各組換えプラスミドを、p B I m p 2 8 ( m l i p 1 5 p r o m o t e r 2 . 8 k b 領域を含むによる ) と p B I m p 2 2 ( m l i p 1 5 p r o m o t e r 2 . 2 k b 領域を含むによる ) と名付けた。

【 0 0 2 3 】図 1 に、m l i p 1 5 プロモーター領域を模式的に表わした。+ 1 は転写開始点を表しており ( 塩基番号 2 2 7 2 )、鍵矢印は転写の向きを表しており、「 A T G 」は翻訳開始コドンの位置を示す ( 塩基番号 2 7 9 8 )。上記した組換えプラスミドが含む m l i p 1 5 プロモーターの部分を図示した。レポーター遺伝子として、ベータ・グルクロニダーゼ遺伝子 ( G U S と略記 ) を用いているが、図 1 の G U S 遺伝子の部分は、表記が定規どおりではない。

【 0 0 2 4 】 ( 導入プラスミドの低温反応性 ) イネ ( 品種、ノトヒカリ ) 胚盤由来カルスに、パーティクル・ガン ( B I O - R A D 社製 ) を用いて、上記の各プラスミ

ドを導入した。導入後、摂氏 2 5 度暗所にてカルスを 2 4 時間培養した後、均等に 2 分割した。一方を 2 5 度で、他方を 5 度でさらに 2 4 時間培養し、G U S 検定を行った。G U S 活性は、X - G l u c を基質として行い、胚盤あたりの青スポットの数の 5 度 / 2 5 度の比から低温反応性の有無を判定した ( 表 1 )。両プラスミドについて 3 度の繰り返し実験を行った。この結果を表 1 に示す。

【 0 0 2 5 】

10 【表 1】

導入プラスミドの低温反応性

導入プラスミド	低温反応性	
	GUS 活性の比 ( 5 度 / 25 度 ) *	
pBImp28		
実験 1	2.7	
実験 2	6.0	
実験 3	4.7	
pBImp22		
実験 1	1.1	
実験 2	0.62	
実験 3	0.57	

20

【 0 0 2 6 】 p B I m p 2 8 を導入した場合には、高度の G U S 活性が得られた。これに比べると、p B I m p 2 2 を導入した場合には、G U S 活性は劣っていた。この結果から、次のことが分かる。

( a ) トウモロコシ m l i p 1 5 ゲノムクローンの塩基番号 1 - 3 7 9 4 の塩基番号の DNA フラグメントが、低温応答性のプロモーター領域を、m l i p 1 5 タンパク質をコードする領域の推定アミノ酸配列の上流側に有している。

30

( b ) 塩基番号 1 - 2 7 9 7 が低温応答性のプロモーター領域を含んでいる。

( c ) 塩基番号 1 - 2 2 7 1 がプロモーターとして作用するはずであるが、これは単独では低温に対する応答性が低く、塩基番号 2 2 7 2 - 2 7 9 7 の断片が低温に対して応答性を有しており、プロモーターの発現に関与している。

【 0 0 2 7 】

配列表

出願人氏名：九州大学長

発明の名称：DNA フラグメント、組み換え DNA、形質転換植物

配列の数：1

配列番号：1

配列の長さ：3 7 9 4

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直線状

起源：トウモロコシ

ハニーバンタム種

## m l i p 1 5 遺伝子のゲノム

配列 : mlip15のゲノム配列

1 GAATCCGAATAACGCGCCCGCATGCAACCAGATAGCGGATCTTTCGGCGCTAAACTCA 60  
 61 GAGGGAAGCAATTGCCGGAAGAGTCGCGTGCAAGAATAACATAAGTAGATAAGATTTCA 120  
 121 CGATCTATAAAAGGATATCTCCCTAGTCGGCTATATAAGGCTAGGGAGGTACCCAAACAA 180  
 181 AACGAATCACTCTCTTTCACCACCATAACGCCCACTAGTAGACTAATATGAGATCTCATC 240  
 241 CACCGTCACCCGCGAATCATCTGTAACCCAAGCAAACCTCAATACCCAACATCACACATGA 300  
 301 CTTAGGGTATTACGCATTTAGGCGACCCGAACCTGTATAATTTTCTTGTGTTTCAACGTG 360  
 361 CACCTGCACGTACCATCGAGTTGCGATTAACGTGCGCGTCTCCCAAAAATACTGGTGGT 420  
 421 CCTCCCAAAAACCTGACCGGACGATAGAAATAGTGTATGGCTAAGTAGAGCAAGGTGGCG 480  
 481 TTTGGTCCGCGGCTATGATGAGAATCCAGTAGACTGAATCCACGTGCTAAACCAAAACATC 540  
 541 ACTGGTTTTGGCTGCATCTTCTCGGATTACGTGTGTTGTGCAAATTCATAATCCACGG 600  
 601 CAACCAGACGGGGCGCAACCAATTGGTGTTCCTTAGGAAGCCCCGCGTTACATTGGAT 660  
 661 CATAGGATGATTCAAGGGTTATGATTTTTTAGCTACTAATTGGTTGTCATCATGGTTTAT 720  
 721 AGGTGAAGATTGTTATTCAATCAAAGGGCGACATATCCCTCCGCGTTAGAGACTTGCCT 780  
 781 GTAGTGTAACATGGATGTAATTGTGCTACCTTTAATAGAGTCCCTTAGCTCTTCAAAA 840  
 841 CAAATCTATTATATATTAATTAAGTAGTCCATCCATTTTATTCTAATTTAGTTTCGAAAT 900  
 901 TACTAAATATAGAAAATAAAATAGAGTTTTAGTAGCAATTATGAAAACGAAATATAGTT 960  
 961 TTAATTTCCGATTTAGTGATTTAAATACTAAAATATAATAAAATGGAGAGACTAAAAAC 1020  
 1021 TAGTCCCTATAAACCAACATTTCTTTAAATAAAGCCCCGTGGCTAGGACAATGACCTATT 1080  
 1081 TTTTCTCGCAACCGGAAGAATAAAAAATTCACCGTAACTTTCTTTCTTTCTTTT 1140  
 1141 TGCGAAGAAGATAGTTGCAAGACGAATCCAGAGTTTATCTGGAAGAAGAAAGTTCCTAA 1200  
 1201 TCCTCCTCCTCCCTGTAGATATTATCAGCAAGGCAAGCGTGTACGGCTTCTTGCTTGA 1260  
 1261 GTAATCCGCTCCTATTTTTTTTTTTGGGAGGGCGCCTTCTACCGCTTCGCTTCTAAAC 1320  
 1321 GGTGGGCAAAATTTGGTACGATAAAGAAAAAAGAGGAGGACGAGTGGGAGGGCACTTCTGG 1380  
 1381 AAAAAACTTTTTAATGAGCTGGACCAAGCAGCTGGGCAAGCTGTCACTAGGACTGGACAA 1440  
 1441 AATACTCGTGGCTCGATAAAGTCCGCTCGACTCGGCTCGTTAGTAGCTCAGCTCGACTCGGC 1500  
 1501 TCGTTTTAATTTGTAGCGAGCCAAGCTAGCATTCTAGCTCGATTCTCTAATGAGCCAGC 1560  
 1561 TCGGGTTAGCTCGTGTAGCTAGCTCGCGAGCCAAACGAGCTAAGCCACAACACAAATTTGT 1620  
 1621 CTAGTCATTGATGTCGTCTCATCTCTCATAGTCTTGTCTTCTCGTAGTTATGATCTGTGA 1680  
 1681 TATGGACATGTGTGGATGTGCCATGTGCTTAAATATTTATATTATGTCATGGCTACATGT 1740  
 1741 TTGTAGTGTAAATACTTAAATAATAATTTTTCGGTTATAAATATATTTATGTACATAGA 1800  
 1801 TATTTATATTTAGTTGTGTGGCTCACGAGCCTAACGAGCTGGCTCGAGCTTCTTAACGAG 1860  
 1861 CCGAGCCGAGCCAGCTATTTAGCTCGTTAGTATAACGAGCCGAGCCGAGCTGGCTCGTTA 1920  
 1921 TAGTAACGAGCCATAACGAGCCGAGCCATAACGAGCCAAGCTGGTTTCGATATCCACCCCT 1980  
 1981 AGCTGTACCGTCGCCAGTCCGCTTCGTTCCGTCAGCGGGCCCCACCTCATCTGCATTC 2040  
 2041 TTCCATTCTCGTCCCGACCTCATCTGCATTTTCCAGCCAAGTAGTAGGTAACACTAGT 2100  
 2101 GGCGGTCCCGTGGCCGTGGCATCAGGAAAAGAATATGCCGTCCAGCCACCATCCCCC 2160  
 2161 ACCGTCCCGAAATTCAGAAGTACCCTCGGCTCCAGCTATAAATAGCCGCCCCCGGGAGA 2220  
 putative TATA box  
 2221 CGTTGAAACCTTCCCATCTCCGGATAAAAGATAAGGAGTGTCTCTCTCTTTTCAGC 2280  
 cDNA start site  
 2281 TAAGTCCCTGCTCCCTCTCTTTTTCTTACATTCAGGTCCTCGAGCTCCTCTCTTTTTTC 2340  
 2341 TTGTTTCTTTCTTTTCGATCTGCGAGCCGTCCAGGTCCAGTACTCTCTTTCCGTGAAGGA 2400  
 2401 ACTCTTGCAGCCGCCCCCTCTGGTTTCTCGAATTCCTTGTTCGCCGTCCTCCTCCTGT 2460  
 2461 CCCCAGTGTAGTCCGTCGTCGAGGAGCACACCGTCCCCACCCCATGTTTACCCACCA 2520  
 2521 GTTCTCTGACGGCCGCGTCCGATGAAGCTGAGCGTGTCCGATCCGCGCTCCC 2580  
 2581 ACTCCTTCTCGTCCGCTTCTCTACTGTTCTACGTCTTCTCATGAACGCATCGCCCT 2640  
 2641 CTCCACCTGCTGATCCTTCGCCATCTCTCATCTCTTTCTCTCTGAGATAGTCTTTCC 2700  
 2701 AATCCATCTTAGGGCTCTGTTTCTCCCATCTCCCCACCCACCCACCCCAAC 2760

9 10

2761 ACAAGTCCCCTTGTTCATCCGACAAGACAAGCATCCATGTCGTCGTCACGCCGGAGCTC 2820  
M S S S R R S S

2821 GAGCCCCGACAGCAACGACACGACGGACGAGCGCAAGCGGAAGCGGATGCTGTCCAACAG 2880  
S P D S N D T T D E R K R K R M L S N R

2881 GGAGTCGGCGCGCGTTCGCGCGCGGAAGCAGCAGCGGCTGGAGGAGCTGGTGGCGGA 2940  
E S A R R S R A R K Q Q R L E E L V A E

2941 GGTGGCCCGCCTGCAGGCGGAGAACGCGGCGACGAGGCCCGCACC GCGCGCTGGAGCG 3000  
V A R L Q A E N A A T Q A R T A A L E R

3001 CGACCTGGGCGAGGTGGACGGCGACAACGCGGTCTGTCGCGCCCGCCACGCCGAGCTGGC 3060  
D L G R V D G D N A V V R A R H A E L A

3061 CGGCCCGCTGCAGTCGCTGGGCGCGTCTCGAGGTGCTCCAGATGGCCGGCGCCGCCGT 3120  
G R L Q S L G G V L E V L Q M A G A A V

3121 CGACATCCCGAGATGGTCACCGACGACCCCATGCTCCGCCCTGGCAGCCGCTCTTCCC 3180  
D I P E M V T D D P M L R P W Q P S F P

3181 CCCGATGCAGCCCATCGGGTTCTGAGAATCTGAGCCTCAGCCGGCGGAGAGCCAATT 3240  
P M Q P I G F \*

3241 TCTGTCGTCGTCGCGCTGTCTATCTCGTATTGGTATATCTATTCATAAATCATCCTTGTG 3300  
3301 ATGGTTTGCCTTCTTGTTCAGTGTATAAATTTGCTTCTTGTAGTGTATAAATTTGG 3360  
3361 CCATCGGAAAGGATGTGTTTGTAGTTGAATATCTTGTGGAGTTGAATATCTTATCT 3420  
3421 TGCTTATGAAATCGAATATGCCTATATATATATGTTATGCTGTACGAGTATGTGGCTCCA 3480  
polyA additional site

3481 AATTTGTGAGCCTTCTGTCTGTTATGGTGAGGCGATGAATCCAATTTGTGAGCACACATG 3540  
3541 AATCAATTTGAGATTCGACATGTCAAGTTGATCGTTGCAGGAAGGACGGTTTTTGTATG 3600  
3601 GACGGACATACCAAGTTACTGCATTTACTTAAAATATCTCACTTATTTTTTAGATCGGC 3660  
3661 ATTTCTCCACTCGTTAGATTTCTTGTCTTGTAGTCAGAAGATAACTACAGCATGTCATAT 3720  
3721 CTCAATTGGAATACCATTAGGGTCCCTCATCTAACCTATTTTCATCTTTTAATACGTA 3780  
3781 GATTTTTTGGATCC 3794

【図面の簡単な説明】

図である。

【図1】 m l i p 1 5 プロモーター領域を模式的に表す

【 図 1 】

