

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12)特許公報 ( B 2 )

(11)特許番号

特許第3234897号

( P 3 2 3 4 8 9 7 )

(45)発行日 平成13年12月4日(2001.12.4)

(24)登録日 平成13年9月28日(2001.9.28)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	
C12N 15/09	ZNA	C12N 9/24	
9/24		15/00	ZNA A

請求項の数 7 (全 7 頁)

(21)出願番号	特願平11 - 81694	(73)特許権者	591075364 農林水産省北海道農業試験場長 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1番地
(22)出願日	平成11年3月25日(1999.3.25)	(72)発明者	川上 顕 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1番地 農試 宿舍1号棟201号
(65)公開番号	特開2000 - 270866 ( P 2000 - 270866 A )	(72)発明者	寺見 文宏 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1番地 農試 宿舍1号棟304号
(43)公開日	平成12年10月3日(2000.10.3)	(74)代理人	100063565 弁理士 小橋 信淳
審査請求日	平成11年3月25日(1999.3.25)	審査官	鷓飼 健

最終頁に続く

(54)【発明の名称】低温発現型キチナーゼ遺伝子およびその単離方法

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】 図1に示す配列番号1記載のアミノ酸配列を含むことと、771塩基・256アミノ酸からなり、オオムギキチナーゼ遺伝子と98% (アミノ酸配列レベル)の相同性を持つこととを特徴とする小麦キチナーゼ遺伝子。

【請求項2】 上記小麦キチナーゼ遺伝子は、低温環境下で酵素機能を有し、かつ植物病原菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与することを特徴とする請求項1記載の小麦キチナーゼ遺伝子。

【請求項3】 図2に示す配列番号2記載のアミノ酸配列を含むことと、972塩基・323アミノ酸からなり、ライムギキチナーゼ遺伝子と68% (アミノ酸配列レベル)の相同性を持つこととを特徴とする小麦キチナ

2

ーゼ遺伝子。

【請求項4】 上記小麦キチナーゼ遺伝子は、低温環境下で酵素機能を有し、かつ植物病原菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与することを特徴とする請求項3記載の小麦キチナーゼ遺伝子。

【請求項5】 図3に示す配列番号3記載のアミノ酸配列を含むことと、960塩基・319アミノ酸からなり、春播小麦キチナーゼ遺伝子と95% (アミノ酸配列レベル)の相同性を持つこととを特徴とする秋播小麦キチナーゼ遺伝子。

【請求項6】 上記秋播小麦キチナーゼ遺伝子は、低温環境下で酵素機能を有し、かつ植物病原菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与することを特徴とする請求項5記載の秋播小麦キチナ

10

ーゼ遺伝子。

【請求項 7】 低温発現型キチナーゼ遺伝子の単離方法であって、

ハードニング（低温順化）による病害抵抗性の向上に関する低温発現型キチナーゼ遺伝子を単離することを目的として、充分にハードニングを施した秋播小麦系統 P I 1 7 3 4 3 8（高度雪腐病抵抗性を有する）から mRNA を抽出することと、

上記 mRNA をもとに cDNA および cDNA ライブラリーを作製することと、

EMBL / Genebank / DDBJ DNA データバンクによって公開されている数種の植物由来のキチナーゼ遺伝子において高度に保存されている塩基配列部分を参考にして、2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライ

(Forward) : 5' C - A - C - G - A - G - A - C - C - A - C - N - G - G - C - G - G - N - T - G - G - G - C (配列番号 4)

を有し、

(Reverse) : 5' A - C - N - A - A - T - A - T - C - A - T - C - A - A - C - G - G - C - G - G (配列番号 5)

を有することを特徴とする低温発現型キチナーゼ遺伝子の単離方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、キチナーゼ (chitinase) 遺伝子およびその単離方法に関し、詳しくは、低温環境下において植物を加害する雪腐病菌などの好冷性植物病原菌に対して、その抵抗性を植物に付与する機能を持つキチナーゼ遺伝子およびその単離方法に関する。

【0002】

【従来の技術】長期にわたる厳寒積雪地帯では、ムギ類・牧草類などの越冬作物は低温環境下 (0 以下) または積雪下 (0、暗黒下) で長期間の生存を余儀なくされる。この環境下において越冬作物は、好冷性糸状菌である雪腐病菌に犯され、抵抗性の低い作物は枯死してしまう。

【0003】現在の秋播小麦栽培では、根雪前の農薬散布が雪腐病の防除に必須となっているが、根雪開始時期が不確実なため、十分な散布が不可能となる事例が多い。そこで、根雪前の農薬散布を行わなくても済むように、雪腐病に対する十分な抵抗性を持つ品種の育成が望まれている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、従来の交雑に基づいた育種技術では十分な抵抗性をもつ優良品種の育成がなされておらず、また、優良品種の育成には長い年月を要することから、より有効な手段例えば遺伝子工学的な手段による品種の改良が強く求められている。

【0005】本発明者らは、上記した課題を解決するため長期にわたる研究を重ね、その結果、次のような結論

マーを設計することと、

設計された 2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーを用いて、上記の cDNA を鋳型に PCR (ポリメラーゼ・チェーン・リアクション) 反応を行うことによつて、キチナーゼ遺伝子の断片を増幅し増幅断片を得ることと、

上記の増幅断片をプローブとして、上記の cDNA ライブラリーをハイブリダイゼーションアッセイによりスクリーニングすることで、遺伝子の全長を含むクローンを単離することと、

を含み、

上記 2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーのうち、

一方は、以下の塩基配列

(Forward) : 5' C - A - C - G - A - G - A - C - C - A - C - N - G - G - C - G - G - N - T - G - G - G - C (配列番号 4)

他方は、以下の塩基配列

(Reverse) : 5' A - C - N - A - A - T - A - T - C - A - T - C - A - A - C - G - G - C - G - G (配列番号 5)

をまとめた。すなわち、雪腐病菌に対する植物体の抵抗性は、秋期から冬期にかけての気温低下に伴う低温順化 (以下、ハードニングと称す) により誘導されるが、後述する本発明の 3 種類のキチナーゼ遺伝子はこのハードニング中に発現が見られ、その翻訳産物が雪腐病菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与するということが判った。

【0006】従って本発明の目的は、低温環境下で酵素機能を有し植物体に導入されることで植物に対し病害抵抗性を付与するキチナーゼ遺伝子を提供することにある。

【0007】本発明における他の目的は、低温環境下で酵素機能を有し植物体に導入されることで植物に対し病害抵抗性を付与するキチナーゼ遺伝子の単離方法を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記した目的を達成するために本発明は、図 1 に示す配列番号 1 記載のアミノ酸配列を含む小麦キチナーゼ遺伝子である。

【0009】図 1 に示す配列番号 1 記載のアミノ酸配列を有する上記小麦キチナーゼ遺伝子は、771 塩基・256 アミノ酸からなり、大麦キチナーゼ遺伝子と 98% (アミノ酸配列レベル) の相同性を持つものである。

【0010】また、図 1 に示す配列番号 1 記載のアミノ酸配列を有する上記小麦キチナーゼ遺伝子は、低温環境下で酵素機能を有し、かつ植物病原菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与するものである。

【0011】そして、上記した目的を達成するために本発明は、図 2 に示す配列番号 2 記載のアミノ酸配列を含む小麦キチナーゼ遺伝子である。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 2 】 図 2 に示す配列番号 2 記載のアミノ酸配列を有する上記小麦キチナーゼ遺伝子は、9 7 2 塩基・3 2 3 アミノ酸からなり、ライ麦キチナーゼ遺伝子と 6 8 % (アミノ酸配列レベル) の相同性を持つものである。

【 0 0 1 3 】 また、図 2 に示す配列番号 2 記載のアミノ酸配列を有する上記小麦キチナーゼ遺伝子は、低温環境下で酵素機能を有し、かつ植物病原菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与するものである。

【 0 0 1 4 】 さらに、上記した目的を達成するために本発明は、図 3 に示す配列番号 3 記載のアミノ酸配列を含む秋播小麦キチナーゼ遺伝子である。

【 0 0 1 5 】 図 3 に示す配列番号 3 記載のアミノ酸配列を有する上記秋播小麦キチナーゼ遺伝子は、9 6 0 塩基・3 1 9 アミノ酸からなり、春播小麦キチナーゼ遺伝子と 9 5 % (アミノ酸配列レベル) の相同性を持つものである。

【 0 0 1 6 】 また、図 3 に示す配列番号 3 記載のアミノ酸配列を有する上記秋播小麦キチナーゼ遺伝子は、低温環境下で酵素機能を有し、かつ植物病原菌の細胞壁に含まれるキチンを分解することで病害抵抗性を植物体に付与するものである。

【 0 0 1 7 】 さらに、上記した目的を達成するために本

( Forward ) : 5 ' C - A - C - G - A - G - A - C - C - A - C - N - G - G - C - G - G - N - T - G - G - G - C ( 配列番号 4 )

を有し、

( Reverse ) : 5 ' A - C - N - A - A - T - A - T - C - A - T - C - A - A - C - G - G - C - G - G ( 配列番号 5 )

を有する。

【 0 0 1 9 】 すなわち、本発明のキチナーゼ遺伝子は、低温発現型キチナーゼ遺伝子である。この低温発現型キチナーゼ遺伝子を作製する方法としては、具体的には下記のようなプロセスによって行われている。

【 0 0 2 0 】 詳しくは、札幌市の自然条件下で 1 1 月 2 2 日までハードニング (低温順化) させた高度雪腐病抵抗性を有する秋播小麦 P I 1 7 3 4 3 8 から mRNA を抽出する。そして、該 mRNA をもとに c DNA および c DNA ライブラリーを作製する。

【 0 0 2 1 】 次いで、EMBL / Genebank / DDBJ DNA データバンクにおいて公開されている数種の植物由来のキチナーゼ遺伝子の塩基配列を詳細に解析し、すべての遺伝子において高度に保存されている塩基配列部分を参考に 2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーを設計する。

【 0 0 2 2 】 設計された 2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーを用いて、上記の c DNA を鋳型に PCR (ポリメラーゼ・チェーン・リアクション) 反応を行って、キチナーゼ遺伝子の予想された断片 ( 4 0 0 塩基前後) を増幅し、増幅部分の断片を単離する。

【 0 0 2 3 】 そして、それぞれの増幅断片をプローブと

発明は、低温発現型キチナーゼ遺伝子の単離方法であって、ハードニング (低温順化) による病害抵抗性の向上に關与する低温発現型キチナーゼ遺伝子を単離することを目的として、十分にハードニングを施した秋播小麦 P I 1 7 3 4 3 8 (高度雪腐病抵抗性を有する) から mRNA を抽出することと、上記 mRNA をもとに c DNA および c DNA ライブラリーを作製することと、EMBL / Genebank / DDBJ DNA データバンクによって公開されている数種の植物由来のキチナーゼ遺伝子において高度に保存されている塩基配列部分を参考にして、2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーを設計することと、設計された 2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーを用いて、上記の c DNA を鋳型に PCR (ポリメラーゼ・チェーン・リアクション) 反応を行うことによって、キチナーゼ遺伝子の断片を増幅し増幅断片を得ることと、上記の増幅断片をプローブとして、上記の c DNA ライブラリーをハイブリダイゼーションアッセイによりスクリーニングすることで、遺伝子の全長を含むクローンを単離することと、を特徴とする。

【 0 0 1 8 】 上記 2 種類のキチナーゼ遺伝子の特異的プライマーのうち、

一方は、以下の塩基配列

他方は、以下の塩基配列

して、上記の c DNA ライブラリーをハイブリダイゼーションアッセイによりスクリーニングすることで、遺伝子の全長を含むクローンを単離する。単離したクローンの塩基配列を解析し、小麦では新規なキチナーゼ遺伝子が 3 種類単離されたことが明かとなる。

【 0 0 2 4 】

【実施例】

1 ) 耐雪性秋播小麦系統 P I 1 7 3 4 3 8 からの c DNA 及び c DNA ライブラリーの調製

9 月下旬にバットに播種し、自然条件下で 1 1 月 2 2 日までハードニングさせた秋播小麦 (Triticum astivum L.) P I 1 7 3 4 3 8 (高度雪腐病抵抗性を有する) のクラウン部分より mRNA を常法により抽出した。得られた mRNA 5 μ g を用いて c DNA 合成キット (STRATAGENE 社製) を利用して c DNA を合成した。c DNA の両端末にアダプターを接続後、ZAP Expression vector (STRATAGENE 社製) に組み込み、約 6x10<sup>6</sup> pfu の c DNA ライブラリーを作製した。

【 0 0 2 5 】

2 ) キチナーゼ遺伝子プライマーを用いて、上記の c DNA を鋳型に行われる PCR 反応

既知 (EMBL / Genebank / DDBJ DNA デ

ータバンクにおいて公開されている) のキチナーゼ遺伝子の塩基配列が高度に保存された領域に基づいて合成さ

( Forward ) : 5 ' C - A - C - G - A - G - A - C - C - A - C - N - G - G - C - G - G - N - T - G - G - G - C ( 配列番号 4 )

という塩基配列を有するキチナーゼ遺伝子の特異的のプライマーと

( Reverse ) : 5 ' A - C - N - A - A - T - A - T - C - A - T - C - A - A - C - G - G - C - G - G ( 配列番号 5 )

という塩基配列を有するキチナーゼ遺伝子の特異的のプライマーと、を用いて、上記により合成された c DNA を鋳型に PCR 反応を行った。

【 0 0 2 6 】 上記 PCR 反応は、5 0 μ l の反応系で行われた。日本ジーン社製 Taq DNA ポリメラーゼ ( 5 units / μ l ) を 1 μ l、1 0 × ポリメラーゼバッファー ( MgCl2 を含む ) を 5 μ l、d N T P 液 ( 1 0 m M ) を 5

れた、

μ l、上記の各プライマー ( 1 2 μ M ) を 2 μ l、および上記で合成した c DNA を約 1 0 n g 加えて、反応液全量を蒸留水で 5 0 μ l とした。PCR の反応条件および反応回数は、以下の表 1 に示す。

【 0 0 2 7 】

【表 1】 PCR の反応条件および反応回数

変性	9 4 ° C	1 分間	1 回
変性	9 4 ° C	1 分間	3 0 回
アニーリング	4 8 ° C	1 分間	
伸張反応	7 2 ° C	1 分間	
伸張反応	7 2 ° C	2 分間	1 回

( 表 1 において、「変性」は、DNA の二本鎖をそれぞれ一本鎖に変える反応を意味し、「伸張反応」は、DNA 断片の増幅反応を意味し、「3 0 回」は、変性とアニーリングと伸張反応とを含むサイクルを 3 0 回にわたり繰り返すことを意味している)

【 0 0 2 8 】 上記 PCR 反応の結果、配列番号 4 の塩基配列を有するプライマーおよび配列番号 5 の塩基配列を有するプライマーから、予測された長さの断片 ( 4 0 0 塩基前後 ) が増幅された。そして、常法に基づき市販の自動シーケンサー ( A B I 社製、モデル 3 7 3 S ) を利用し、得られた増幅断片の塩基配列を決定することで、既知のキチナーゼ遺伝子と高い相同性をもつ新規なキチナーゼ遺伝子の断片であることが確認された。

【 0 0 2 9 】

3 ) 本発明のキチナーゼ遺伝子を有する c DNA クロンの単離・塩基配列の決定

上記により得られた c DNA ライブラリーのうちおよそ 1 0 万クローンをプロットしたフィルターを利用し、上記により得られた新規キチナーゼ遺伝子の断片をラジオアイソトープで標識したプローブを利用してハイブリダイゼーションアッセイを行った。

【 0 0 3 0 】 ハイブリダイゼーション反応は、5 0 % ホ

ルムアミド、5 × S S P E 液、5 × デンハルト液、0 ・ 5 % S D S 液、0 ・ 2 m g / m l のサケ精子 DNA を加え、4 2 の条件下で 1 6 時間にわたって行われた。

【 0 0 3 1 】 その後、上記フィルターに対して、2 × S S C 液および 0 ・ 1 % S D S 液を用いて 5 5 の条件下で 1 0 分間を必要とする洗浄を 2 回にわたり実施した。洗浄されたフィルターと X 線フィルムを利用し、アイソトープでラベルされたプローブと結合した陽性クローンをスクリーニングした。

【 0 0 3 2 】 このように得られた約 4 5 個の陽性クローンについてそれぞれ、A B I 社製 DNA シーケンサーを用いて塩基配列を決定した。得られた候補クローンの塩基配列の解析から、図 1 ~ 3 に示す配列番号 1 ~ 3 記載のアミノ酸配列を含む 3 種類の新規キチナーゼ遺伝子がそれぞれ秋播小麦から単離されたことが判った。

【 0 0 3 3 】 具体的には、単離されたのは、a ) 7 7 1 塩基・2 5 6 アミノ酸からなり、大麦キチナーゼ遺伝子と 9 8 % ( アミノ酸配列レベル ) の相同性を持ち、図 1 に示す配列番号 1 記載のアミノ酸配列を含む小麦キチナーゼ遺伝子、b ) 9 7 2 塩基・3 2 3 アミノ酸からなり、ライムギキチナーゼ遺伝子と 6 8 % ( アミノ酸配列レベル ) の相同性を持ち、図 2 に示す配列番号 2 記載のアミ

ノ酸配列を含む小麦キチナーゼ遺伝子、c) 960塩基・319アミノ酸からなり、春播コムギキチナーゼと95% (アミノ酸配列レベル) の相同性を持ち、図3に示す配列番号3記載のアミノ酸配列を含む秋播小麦キチナーゼ遺伝子である。

## 【0034】

【発明の効果】本発明によれば、既知のキチナーゼ遺伝子とアミノ酸配列が異なり、腐雪病に対する高度の抵抗性を有し、小麦では新規なキチナーゼ遺伝子が提供され

る。本発明における3種類のキチナーゼ遺伝子は、低温でのキチン分解能を有することから、上記3種類のキチナーゼ遺伝子のうち何れかを植物体に導入することによって、低温環境下で植物を加害する病原菌に対しても抵抗性を付与することになり、雪腐病菌など好冷性植物病原菌に対して高度の抵抗性を有する植物品種を提供することができる。

## 【0035】

## 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

< 110 > Tadaoki Inaba, General Manager of Hokkaido National Agricultural Experiment Station

< 120 > Low Temperature Expression Chitinase cDNA and Method for Their Isolation

< 130 > 11P97

< 140 > JP 1999/081694

< 141 > 1999-3-25

< 150 > JP 1999/081694

< 151 > 1999-3-25

< 160 > 5

< 210 > 1

< 211 > 256

< 212 > PRT

< 213 > Wheat

< 400 > 1

MARFAALAVC AAALLLAVAA GGAAAQGVGS VITRSVYASM LPNRDNSLCP ARGFYTYDAF 60

IAAANTFPGF GTTGSADDIK RDLAAFFGQT SHETTGGTRG AADQFQWGYC FKEEISKATS 120

PPYYGRGPIQ LTGRSNYDLA GRAIGKDLVS NPDLVSTDAV VSFRTAMWFW MTAQGNKPCS 180

HNVALRRWTP TAADTAAGRV PGYGVITNII NGGLECGMGR NDANVDRIGY YTRYCGMLGT 240

ATGGNLDCYT QRNFAS \* 256

< 210 > 2

< 211 > 323

< 212 > PRT

< 213 > Wheat

< 400 > 2

MSTLRARCAT AVLAVLAAA AVTPATAEQC GSQAGGAKCA DCLCCSQFGF CGTTSYDCGP 60

RCQSQCTGCG GGGGGVASIV SRDLFERFLL HRNDAACLAR GFYTYDAFLA AAGAFPAGFT 120

TGDLDRKRE VAAFFGQTSHT ETTGGWPTAP DGPFSWGYCF KQEQGSPPSY CDQSADWPCA 180

PGKQYGRGP IQLTHNYNYG PAGRAIGVDL LNNPDLVATD PTVAFKTAIW FWMTTQSNKP 240

SCHDVITGLW TPTARDSAAG RVPYGVITN VINGGIECGM GQNDKVADRI GFYKRYCDIF 300

GIGYGNNLDC YNQLSFNVGL AAQ \* 323

< 210 > 3

< 211 > 320

< 212 > PRT

< 213 > Wheat

< 400 > 3

MRGVVVVAML AAFAVSAHA EQCGSQAGGA TCPNCLCCSK FGFCGTTSDY CGTGCQSQC 60

GCSGGTPVPV PTPSGGVSS IISQSLFDQM LLHRNDAACL AKGFYNYGAF VAAANSFSGF 120

ATTGSTDVKK REVAAFLAQT SHETTGGWPT APDGPYSWG YCFNQERGATS DYCTPSSQWP 180

CAPGKKYFGR GPIQISHNYN YGPAGQAIGT DLLNNDLVA SDATVSFKTA LWFWMTPQSP 240

11  
 KPSSHDVITG RWSPSGADQA AGRVPGYGI TNIINGGLEC GRGQDGRVAD RIGFYKRYCD 300  
 LLGVSYGDNL DCYNQRPFA \* 320

< 210 > 4  
 < 211 > 23  
 < 212 > DNA  
 < 213 > Wheat  
 < 400 > 4

5' C-A-C-G-A-G-A-C-C-A-C-N-G-G-C-G-G-N-T-G-G-G-C 23  
 < 210 > 5  
 < 211 > 20  
 < 212 > DNA  
 < 213 > Wheat  
 < 400 > 5

5' A-C-N-A-A-T-A-T-C-A-T-C-A-A-C-G-G-C-G-G 20

12

【図面の簡単な説明】

【図 1】配列番号 1 記載のアミノ酸配列を示す図である。

【図 2】配列番号 2 記載のアミノ酸配列を示す図である。

る。

【図 3】配列番号 3 記載のアミノ酸配列を示す図である。

【図 1】

【図 2】

配列番号 1

配列番号 2

10 20 30 40 50 60  
 MARFAALAVC AAALLLAVAA GGAAAQVGS VITRSVYASM LPNRDNLCP ARGFYTYDAF

70 80 90 100 110 120  
 IAAANTFPGF GTTGSADDIK RDLAAFFGQT SHETTGGTRG AADQFQNGYC FKKEISKATS

130 140 150 160 170 180  
 PPHYGRGPIQ LTGRSNYDLA GRAIGKDLVS NPDLVSTDAV VSFRTAMWFN WTAQGNKPSC

190 200 210 220 230 240  
 HNALRRWTP TAADTAAGRV PGYGVITNII NGGLECGMGR NDANVDRIGY YTRYCGMLGT

250 260 270 280 290 300  
 ATGGNLDCYT QRNFAS\*.....

10 20 30 40 50 60  
 MSTLRRCAT AVLAVVLAIA AVTPATAEQC GSQAAGGAKCA DCLCCSQFGF CGTTSDYCGP

70 80 90 100 110 120  
 RCQSQCCTGG GGGGGVASIV SRDLFERFLL HRNDAACLAR GFYTYDAFLA AAGAFPAFGT

130 140 150 160 170 180  
 TGDLDTRKRE VAAFFGQTSR ETGGGWPTAP DGPFSWGYCF KQEQGSPPSY CDQSDNWPCA

190 200 210 220 230 240  
 PGKQYYGRGP IQLTHNYNYG PAGRAIGVDL LNNPDLVATD PTVAFKTAIN FNMITSQSNKP

250 260 270 280 290 300  
 SCHDVIITGLW TPTARDSAAG RVPQYGVITN YINGGIECGM GQNDKVADRI GFYKRYCDIF

310 320 330 340 350 360  
 GIGYGNLDC YNQLSFVGL AAQ\*.....

【図 3】

配列番号 3

10 20 30 40 50 60  
 MRGVVVVAML AAFAVSAHA EQCGSQAGGA TPCNCLCESK FGFCGTTSDY CGTGCQSQC

70 80 90 100 110 120  
 GCSGGTPVPY PTPSGGGVSS IISQSLFDQM LLHRNDAACL AKGFYNYGAF VAAANSFSGF

130 140 150 160 170 180  
 ATTGSTDVKK REVAFLAQT SHETTGGWPT APDGPYSWGY CFNQRGATS DYCTPSSQWP

190 200 210 220 230 240  
 CAPGKKYFGR GPIQISHNYN YGPAGQAIGT DLLNNDLVA SDATVSFKTA LWFWMTPQSP

250 260 270 280 290 300  
 KPSSHDVITG RWSPSGADQA AGRVPGYGI TNIINGGLEC GRGQDGRVAD RIGFYKRYCD

310 320 330 340 350 360  
 LLGVSYGDNL DCYNQRPFA\*.....

フロントページの続き

(56)参考文献 The Journal of Bi  
ological Chemistry, 266 [ 3 ] (1991) p. 1564 - 1573  
Biosci. Biotech. Biochem., 58 [ 2 ] (1994) p.  
322 - 329  
Biosci. Biotech. Biochem., 57 [ 11 ] (1993) p.  
1854 - 1861  
Plant Science, 103  
[ 2 ] (1994) p. 177 - 187

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)  
C12N 15/09 ZNA  
BIOSIS (DIALOG)  
JICSTファイル (JOIS)  
WPI (DIALOG)  
MEDLINE