

90.2.05 修正
平 月 日
補充

(修正頁)

申請日期	86 年 12 月 9 日
案 號	86118520
類 別	C12N1/21.15/64.15/10.A01N83/02

公告本 A4 C4

(以上各欄由本局填註) A01H/00

490486

發明專利說明書

一、發明 新型名稱	中 文	蘇力桿菌之殺蟲性蛋白質及其用途
	英 文	Bacillus thuringiensis's insecticidal protein and uses thereof
二、發明人 創作	姓 名	(1) 尾山和彦 (2) 今村圭一 (3) 御堂直樹
	國 籍	(1) 日本 (2) 日本 (3) 日本
	住、居所	(1) 日本國神奈川縣横浜市港北區師岡町七六〇番地 明治製菓株式会社藥品総合研究所内 (2) 日本國神奈川縣横浜市港北區師岡町七六〇番地 明治製菓株式会社藥品総合研究所内 (3) 日本國神奈川縣横浜市港北區師岡町七六〇番地 明治製菓株式会社藥品総合研究所内
三、申請人	姓 名 (名稱)	(1) 明治製菓股份有限公司 明治製菓株式会社
	國 籍	(1) 日本
	住、居所 (事務所)	(1) 日本國東京都中央區京橋二丁目四番一六號
	代 表 人 姓 名	(1) 北里一郎

申請日期	86 年 12 月 9 日
案 號	86118520
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書		
一、發明 名稱	中 文	
	英 文	
二、發明人 創作	姓 名	(4) 谷野茂樹 (5) 加藤明子 (6) 岩田道顯
	國 籍	(4) 日本 (5) 日本 (6) 日本
	住、居所	(4) 日本國神奈川縣横浜市港北區師岡町七六〇番地 明治製菓株式会社藥品総合研究所内 (5) 日本國神奈川縣横浜市港北區師岡町七六〇番地 明治製菓株式会社藥品総合研究所内 (6) 日本國神奈川縣横浜市港北區師岡町七六〇番地 明治製菓株式会社藥品総合研究所内
三、申請人	姓 名 (名稱)	
	國 籍	
	住、居所 (事務所)	
	代 表 人 姓 名	

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

國 (地區) 申請專利，申請日期： 案號： ， ☐有 ☐無主張優先權

日本	1996 年 12 月 10 日	8-329309	☒ 有主張優先權
日本	1997 年 10 月 8 日	9-275497	☒ 有主張優先權

有關微生物已寄存於： ， 寄存日期： ， 寄存號碼：

食品工業發展研究所	1997 年 12 月 5 日	CCRC910094
-----------	-----------------	------------

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝
訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明()

發明背景

發明領域

本發明為關於有效驅除害蟲之蘇力桿菌(Bacillus thuringiensis) 之新菌株、生產該菌株之結晶性蛋白質包涵體、構成該包涵體之殺蟲性蛋白質、及編號該蛋白質之基因。又，本發明為關於害蟲驅除劑及害蟲驅除之方法。

背景技術

微生物殺蟲劑被認為比化學合成殺蟲劑對自然環境所造成之負擔少，且為取代化學合成殺蟲劑之有效的防除害蟲手段。事實上，由1960年初開始於防除各種鱗翅目昆蟲之目的中，已使用蘇力桿菌(Bacillus thruingiensis , 以下稱為「B t 菌」) 本身，或此菌所生產之結晶性蛋白質包涵體(crystalline inclusions , 以下簡稱為「C I」) 作為有效成分之微生物殺蟲劑(以下簡稱「B t 劑」) 。

B t 菌為革蘭氏陽性桿菌，於孢子形成期中，於其細胞內生產C I (H. Hofte & H. R. Whiteley; Microbiol. Rev., 53卷，242頁，1989年) 。若對此C I 具有敏感性之昆蟲攝取此C I ，則昆蟲於數小時後停止攝食行動，且於其後死亡。由於此類C I 作用對昆蟲為具專一性，故B t 劑可稱為對動物和植物不顯示毒性且可確保高安全性之農藥。

C I 構成成分之殺蟲性蛋白質為由編碼B t 菌質體和基因組D N A 之基因所轉錄、轉譯而生產。迄今編編殺蟲

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

五、發明說明書)

性蛋白質之基因雖已單離 1 0 0 個以上之基因，但已知編碼此等基因之殺蟲性蛋白質的殺蟲活性為依據其胺基酸序列之不同而異（P. A. Kumar 等；Advances in Applied Microbiology，4 2 卷，1 頁，1 9 9 6 年）。因此，具有新的殺蟲活性之 B t 菌，乃被認為具有新的殺蟲性蛋白質基因。

市售之 B t 劑其最普遍使用之 B t 菌為 Bacillus thuringiensis serovar. Kurstaki HD-1（以下簡稱「H D - 1」）（Microbial Control of Pest and Plant Disease 1970-1980, H. D. Burges 編，Academic Press 發行，3 5 - 4 4 頁，1 9 8 1 年）。

以 H D - 1 作為有效成分之 B t 劑，可有效使用於作為對化學合成農藥抗性顯著發達之如粉蛾之小型鱗翅目之害蟲驅除劑。但是，近年，報告在野外出現對 H D - 1 抗性發達之粉蛾，成為防除害蟲上之大問題。

又，屬於大型鱗翅目之夜蛾科的斜紋夜盜為對於化學合成農業敏感性低，為難防除之害蟲，對於植物造成甚大迫害。而且，如斜紋夜盜之夜蛾科害蟲，以先前之 B t 劑所達到之防除效果於實用上並不夠充分，故期望開發出對於此些害蟲有效防除之 B t 劑。所謂夜蛾科害蟲，特別是夜盜類對於 B t 劑之敏感性低者，其原因被認為係為

（1）夜盜類並不具有與 C I 中之殺蟲性蛋白質結合之受體（稻垣秀一郎；化學和生物，3 0 卷，7 4 頁，1 9 9 2 年）。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

錄

五、發明說明書

(2) 經由夜盜類消化液中所進行之分解、吸附、惰
性化等令 C I 中之蛋白質無法到達作用點之受體等，故需
求對於夜盜類具有殺蟲活性之新穎 C I。

由自然界所分離之 B t 菌大部分為不僅對鱗翅昆蟲，
且對於其他昆蟲亦顯示殺蟲活性，而對於標的害蟲顯示出
可供實用之殺蟲活性之菌株，則極其微少。認為其係因為
經由 B t 菌所生成之 C I，經過下列過程而令標的昆蟲致
死。

- (1) 經由標的昆蟲攝食
- (2) 於消化管內經由 C I 溶解生成前毒素 (protoxin
，殺蟲性蛋白質)
- (3) 經由酵素令前毒素活化成毒素 (加工作用)
- (4) 活化之毒素 (經加工作用之殺蟲性蛋白質) 與
昆蟲中腸細胞受體結合形成細孔
- (5) 令昆蟲中之腸細胞崩壞

又，昆蟲消化管內之環境為各個昆蟲所特有，與昆蟲
之食餌具有密切之關係。因此，與食餌共同被昆蟲食入開
始之表現出殺蟲活性之 C I，為在昆蟲消化管內受到惰性
化或活化乃為各個昆蟲所特有之反應。而僅有在各個昆蟲
之中腸內完成上述 (1) ~ (5) 過程之 C I，可對此昆
蟲顯示出殺蟲活性。另一方面，已知 B t 菌生活環中形態
之一之芽胞為對 C I 之殺蟲活性顯示出顯著的相乘效果。
R.Milne 等 (L. A. Hickle 編，American Chemical Society
發行 Analytical Chemistry of Bacillus thuringiensis, 22 頁

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 4)

， 1 9 9 0 年) 報告經由芽胞之存在而令 2 種 C I 之殺蟲活性逆轉。又， W. J. Moar 等 (Appl. Environ. Microbiol., 6 1 卷， 2 0 8 6 頁， 1 9 9 5 年) 報告僅攝食 B t 菌所生產之 C I 之害蟲，比攝食 C I 和芽胞混合物時，易於獲得顯著的抗性。此顯示 B t 菌所生產之 C I 和芽胞 2 種成分以極密切之關係與昆蟲相互作用，關於迴避出現對 B t 劑具有抗性之昆蟲之芽胞所擔任之角色乃受到注目。

發明概要

本發明者此回成功單離出顯示寬廣的防除害蟲範圍之 B t 菌。此 B t 菌對於包含夜蛾科之害蟲具有高防除效果。

本發明者等又發現 B t 菌為比 H D - 1 於鹼性 (p H 9 ~ 1 0) 條件下生產出顯示更專一溶解性及安定性之 C I，僅以 C I 而對斜紋夜盜和粉蛾顯示出高殺蟲效果、C I 與芽胞共存下比 C I 單獨時對於斜紋夜盜顯示出更顯著提高之殺蟲活性，經由令可溶化 C I 與芽胞共存，則可恢復殺蟲活性。

本發明者等再者清楚得知該 B t 菌所生產之殺蟲性蛋白質的胺基酸序列，並單離出編碼該胺基酸序列之基因。

因此，本發明為以提供不僅對鱗翅目昆蟲，且對於其他昆蟲亦顯示殺蟲活性之 B t 菌為其目的。本發明又以提供該 B t 菌所生產之殺蟲性蛋白質、編碼該蛋白質之基因，具有該基因之載體，具有該基因之宿主為其目的。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明\$)

若依據本發明，則以提供生產殺蟲性蛋白質之轉形植物、害蟲驅除劑、害蟲之驅除方法為其目的。

本發明之新菌株為以寄存編號 F E R M B P - 6 1 6 2 於工業技術院生命工學工業技術研究所，所寄存之菌株 S S K - 1 0 。此菌株為屬於蘇力桿菌 (Bacillus thuringiensis) 。

本發明之殺蟲性蛋白質為含有下述 (a) 或 (b) 之胺基酸序列：

(a) 序列編號 2 所記載之胺基酸序列，或 (b) 1 個以上胺基酸為被取代、缺失、加成或插入且具有殺蟲活性之序列編號 2 所記載之胺基酸序列。

微生物之寄存

本發明之新菌株 S S K - 1 0 為於 1 9 9 6 年 1 1 月 1 2 日，於工業技術院生命工學工業技術研究所（日本茨城縣築波市東 1 丁目 1 - 3 號）寄存。寄存編號為 F E R M B P - 6 1 6 2 。

圖面之簡單說明

圖 1 為示出關於本發明之殺蟲性蛋白質之基因轉錄分析結果之圖示。With RT：使用含有 R T 之反應液，Without RT：使用不含 R T 之反應液。

發明之具體說明

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

錄

五、發明說明()

微生物

本發明之菌株 S S K - 1 0 為由埼玉縣坂戶市內之房屋塵埃所單離，具有如表 1 所示之特性。

表 1

菌落形態：以 B t 菌典型之大菌落，且表面發暗。

增殖期之細胞形態：以 B t 菌所典型者。

形態性質：運動性桿菌（1 . 0 - 1 . 2 μ × 3 . 0 - 5 . 0 μ ）。

革蘭氏染色：陽性

孢子形狀：橢圓形。未觀察到孢子所造成之孢子囊的顯著膨大。

鞭毛之血清型：被分類於 H 7（或 serovar aizawai）*。

細胞內含物：大型之兩角錐型結晶性蛋白質包涵體（以 S D S - P A G E 測定具有約 1 3 0 k D a 之分子量）。

殺蟲性蛋白質：被分類於 Cry9n。對於同質檢索結果最為類似之 Cry9Ca(Appl. Environ. Microbiol., 62, 8 0 頁（1 9 9 6）)亦僅顯示出 7 1 % 之相同性。

好氣性、厭氣性之區別：為通性厭氣性。

生化性狀：過氧化氫酶反應 陽性

卵磷脂酶反應 陽性

V P 反應 陽性

*：H 血清之製作及菌株之分類為依據 Ohba, M. & Aizawa, K., J. Invertebr. Pathol., 15, 139-140(1978)。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

更詳細說明關於本發明新菌株 S S K - 1 0 所生產之 C I 及芽胞所示出之極具特徵性之性質。

若依據 T. D. Tang (Appl. Environ. Microbiol., 62 卷, 564 頁, 1996 年), 則於被分類成 C r y I 之殺蟲性蛋白質中, 特別以對夜蛾科之夜盜類為高殺蟲活性之 C r y I C, 對於粉蛾之殺蟲活性不過為 H D - 1 所生產之 C r y I A (a) 之約 1 / 10。又, 於特表平 5 - 509235 號公報中, 雖示出含有 C r y I C 及 C r y I A 之 B t 菌的殺蟲活性, 但其所揭示之 B t 菌對於 Spodoptera Frugiperda 之殺蟲活性為 H D - 1 之 3 倍, 對於粉蛾之效果為 2 至數倍。相對地, S S K - 1 0 菌株所生產之 C I 對於斜紋夜盜顯示出為 H D - 1 之 C I 之 30 倍以上, 對於粉蛾亦顯示為 H D - 1 之 C I 之 5 倍以上之殺蟲活性。再者, S S K - 1 0 菌株之 C I 比 H D - 1 之 C I, 於鹼性條件下 (p H 9 ~ 10) 顯示出更專一之溶解性和高安定性。

又, 由 S S K - 1 0 株所得之殺蟲性蛋白質基因鹼基序列之同質性檢索 (GenBank、E M B L、D D B J、P D B 序列) 結果, 對於已知之 B t 殺蟲性蛋白質基因之相同性低, 且即使對於最類似之 Cry9Cal (B. Lambert 等, Appl. Environ. Microbiol, 62 卷, 80 頁, 1996 年) 於胺基酸程度上亦僅為 71% 之相同性。B t 殺蟲性蛋白質為以 130 k d 至 140 k d 之前毒素型式被生產, 且其在昆蟲之中腸內被分解成 60 k d 至 70 k d 之毒素。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明

實際上，已知此毒素為顯示殺蟲活性，且前毒素之 C 終端側於本質上之殺蟲活性中並非必要（H. Hofte & H. R. Whiteley; Microbiol. Rev., 53 卷，242 頁，1989 年）。於是，只對於活性所必要之 N 終端側的第 1 至 700 個胺基酸進行同質性檢索（GenBank CDS translations, PDB, Swiss Prot, PIR），結果對於最類似之 Cry9Ca1 亦僅顯示出 60% 之相同性，且得知此基因顯然為新基因。

由上述可知 SSK-10 株為生產新穎 CI 之新菌株。

又，若令 SSK-10 菌株所生產之芽胞與 CI 組合，則可亢進殺蟲活性，若與單獨不顯示殺蟲活性之可溶化 CI（以下簡稱「SCI」）組合，則可恢復其殺蟲活性。再者，得知此作用在進行通常培養時所存在之芽胞與 CI 之比率中可充分表現。因此，培養終了後不需調整培養物中之芽胞和 CI（或 SCI）之比率，於用本發明新菌株 SSK-10 所生產之 CI 及芽胞下，則可供給對於害蟲完成度極高之 Bt 劑。

本發明之菌叢 SSK-10 可在通常之條件下進行培養。例如，於含有葡萄糖等之碳源和大豆粉等之氮源之培養基中，培養溫度以 20 ~ 40℃ 為適當。培養方法可在好氣條件下進通氣攪拌培養 1 ~ 4 日為較佳。

殺蟲性蛋白質及其基因

若依據本發明，則提供菌株 SSK-10 所生產之殺

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明()

蟲性蛋白質。

本發明之殺蟲性蛋白質為含有序列編號 2 之胺基酸序列。又，於本發明之殺蟲性蛋白質中，亦包含令序列編號 2 之胺基酸序列中之 1 個以上（例如，1 至數個）胺基酸加成、插入、取代、及缺失者，且為具有殺蟲活性者。序列編號 2 之胺基酸序列的胺基酸加成、插入、取代、及缺失若為參照序列編號 2 所記載之序列，則業者顯然可無特別困難性地將其製造。

本發明中，所謂的「具有殺蟲活性之蛋白質」，為指業者所評價察見殺蟲活性之蛋白質，例如意指與試驗例 1 - 3、及 5 - 7 同樣之條件中進行實驗時，被評價察見殺蟲活性之蛋白質。

本發明之殺蟲性蛋白質為如後述實驗例所示，對於鱗翅目昆蟲、鞘翅目昆蟲、和／或雙翅目昆蟲顯示出殺蟲活性。特別對於鱗翅目、夜蛾科之斜紋夜盜和粉蛾顯示出高殺蟲活性。

鱗翅目昆蟲可列舉斜紋夜盜（Spodoptera litura）、Spodoptera exigua、夜盜蛾（Mamesta brassicae）、粉蛾（Plutella xylostella）、Hyphantria cunea、Adoxophyes sp.、Autographa nigrisigna、Pieris rapae。

鞘翅目昆蟲可列舉 Anomala cuprea、Popillia japonica、Lissorhoptrus oryzophilus、Aulacophora femoralis。

雙翅目昆蟲可列舉 Aedes aegypti、尖音庫蚊（Culex pipiens）。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

線

五、發明說明(10)

本發明之殺蟲性蛋白質亦可為結晶性蛋白質包涵體之形態。此類形態之蛋白質為經由令本發明之殺蟲性蛋白質於微生物，特別是經轉形之大腸桿菌中表現，或者經由培養本發明之新菌株 S S K - 1 0 則可取得。於大腸桿菌中之表現方法述於後。

本發明之殺蟲性蛋白質亦可為可溶化之結晶性蛋白質包涵體之形態。此類形態之蛋白質可例如經由令本發明之蛋白質，溶解於鹼性溶劑中而取得。

若依據本發明，則為提供編碼本發明殺蟲性蛋白質之核苷酸序列。此核苷酸序列之典型序列為具有序列編號 1 之 D N A 序列之部分或全部。

若取得本發明殺蟲性蛋白質之胺基酸序列，則可輕易定出編碼其之核苷酸序列，且可選擇出編碼序列編號 2 之胺基酸序列的各種核苷酸序列。因此，所謂編碼本發明殺蟲性蛋白質之核苷酸序列，為指序列編號 1 之 D N A 序列之部分或全部，且加上亦指編碼相同胺基酸之 D N A 序列並且具有簡併關係之密碼組為以 D N A 序列型式之序列，且再亦包含對應其之 R N A 序列。

本發明之核苷酸序列可為來自天然者，且亦可為全部合成者。又，亦可利用部分來自天然物者進行合成所得者。

編碼本發明殺蟲性蛋白質之基因，例如可依據以下之方法由 S S K - 1 0 單離。首先，由 S S K - 1 0 株萃取出 D N A，以適當的限制酶切斷後，使用噬菌體載體和質

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

五、發明說明 (1)

體載體，將來自 S S K - 1 0 株之 D N A 製作成基因庫。由序列編號 1 所記載之核苷酸序列合成適當的引子，並使用其且以來自 S S K - 1 0 株之 D N A 作為模板，進行 P C R，令基因之 D N A 斷片放大。使用此 D N A 斷片作為探針，進行基因庫之篩選。如此處理，則可單離出基因之全長鏈 D N A。

除了以 D N A 斷片作為探針，進行篩選之方法以外，亦可製作對抗本發明殺蟲性蛋白質之抗體，並使用其進行染色體基因庫或 c D N A 基因庫之篩選，單離出基因。

又，以來自 S S K - 1 0 株之 D N A 作為模板，合成本發明殺蟲性蛋白質基因之開讀框 (O R F) 的 5' 終端和 3' 終端之引子，且使用其進行 P C R，則亦可單離出新穎基因之全長鏈 D N A。

再者，亦可由染色體基因庫或 c D N A 基因庫，依基因工程領域所慣用之方法，例如使用部分胺基酸序列之資料為基準所作成之適當的 D N A 探針進行篩選之方法等則可取得。

於基因中導入變異之方法，可列舉使用通常市售之突變作用套件之方法和使用導入變異之引子進行 P C R 之方法 (P C R 及其應用，桼原佳之等編、羊土社、63 - 67 頁、1990 年) 等。

若依據本發明，則可提供包含令本發明核苷酸序列於宿主內可複製，並且令此核苷酸序列所表現之蛋白質為呈可表現狀態之載體。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

修正
年 月 日
補充

A7
B7

五、發明說明 (12)

再者，若依據本發明，則可提供經由此載體所轉形之宿主細胞。此宿主－載體系並無特別限定，且可使用與其他蛋白質之融合蛋白質表現系等。

載體可列舉質體載體、Ti質體載體等。

本發明之載體，於將其實際上導入宿主細胞並表現所欲之蛋白質中，除了前述本發明之核苷酸序列以外，亦可含有控制其表現之序列（例如，啟動基因序列、終止基因序列、增強子序列、轉錄調節區、SD序列等）和用於選擇宿主細胞之基因標記（例如，新黴素耐性基因、康納黴素耐性基因）等。又，此載體亦可包含令本發明核苷酸序列反轉形式（例如，以縱排）。其可依據常法令以存在於載體中，且以此載體轉形宿主細胞之方法亦可使用此領域所慣用之方法。本發明之載體構築程序及方法可使用基因工程領域所慣用之方法。

又，宿主細胞可列舉微生物（例如，如大腸桿菌及假單胞菌之革蘭氏陰性菌，如桿菌之革蘭氏陽性菌，如霉菌及酵母菌之真菌類）。

將轉形之宿主細胞（例如，大腸桿菌）於適當之培養基中培養，並由其培養物則可取得本發明之殺蟲性蛋白質。因此，若依據本發明之另外態樣，則為提供本發明殺蟲性蛋白質之製法。轉形之宿主細胞的培養及其條件為可與所使用之細胞本質上相同。又，亦可依據常法由培養液進行本發明殺蟲性蛋白質之回收、精製。

若如此依據本發明，則不僅Bt菌，對於其他以外之

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (3)

異種生物（微生物、植物等）亦可安定且大量生產出殺蟲性蛋白質。又，經由對 S S K - 1 0 株以外之 B t 菌導入本發明之核苷酸序列，則亦可製作殺蟲活性被增強，並控制更廣範圍昆蟲之有效的轉形 B t 菌株。

再者，業者顯然可在 S S K - 1 0 株中導入一個或數個外來 B t 殺蟲性蛋白質基因，作出令殺蟲活性增強，並控制、驅除更廣範圍昆蟲之有效的轉形 B t 菌株。

若依據本發明，則可選出作為宿主之植物細胞或植物。因此，若依據本發明，則為提供害蟲耐性之轉形植物。轉形植物可列舉單子葉植物（例如，稻、玉黍蜀、小麥、蘆筍）、雙子葉植物（例如，馬鈴薯、甜菜糖、人參、花椰菜、萵苣、蕃茄、茄子、煙草、甜瓜、黃瓜、大豆、蘋果、橙、草莓、白楊、棉花、石竹、矮牽牛、苜蓿、薄荷）。

於植物細胞或植物導入基因，可依據顆粒槍法、P E G 法、電穿孔法、微注射法等之直接導入法、或經由土壤桿菌之 T i 質體載體的間接導入法等予以進行。雙子葉植物及其細胞之轉形可例如依據 Vaeck M.等, Nature 328 33-37(1987)之記載而實施，單子葉植物及其細胞轉形可例如依據 Hong Y.等, Scientia Agricultura Sinica 22 1-5(1989)之記載而實施。業者顯然可令轉形之植物細胞再分化，取得完全之植物體。

若依據本發明，則為提供前述害蟲耐性之轉形植物種子。本發明之種子可由再生轉形植物細胞所得之植物，或

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

線

五、發明說明 (14)

由轉形之植物所取得。

害蟲驅除劑及害蟲驅除法

本發明之蛋白質為具有殺蟲活性。因此，若依據本發明，則為提供含有本發明殺蟲性蛋白質作為有效成分之害蟲驅除劑。此處，所謂害蟲驅除劑為用以意指包含植物保護劑、害蟲防除劑、殺蟲劑、防蟲劑等。

本發明害蟲驅除劑中所含有之蛋白質，由增強殺蟲活性之觀點而言，以組合使用 S S K - 1 0 所生產之芽胞為較佳。

可溶化結晶性蛋白質包涵體若與芽胞組合使用，則可恢復其殺蟲活性（參照後述試驗例）。因此，於使用可溶化結晶性蛋白質包涵體作為有效成分之情形中，以共同使用芽胞為較佳。此可溶化結晶性蛋白質包涵體較佳使用於驅除消化酶少之昆蟲。

本發明之新菌株為如前述生產殺蟲性蛋白質。因此，於本發明之又一態樣中，為提供含有本發明新菌株之害蟲驅除劑。

又，於本發明之再一態樣中，為提供含有經轉形可生產本發明殺蟲性蛋白質之微生物的害蟲驅除劑。

本發明之害蟲驅除劑亦可組合含有本發明之新菌株、轉形之微生物、和本發明之殺蟲性蛋白質之全部或部分。

本發明之害蟲驅除劑可經由對一般害蟲蔓延之植物或預測蔓延之植物，例如播撒以水之稀釋劑所稀釋之害蟲驅

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

錄

五、發明說明 (15)

除劑、或就此害蟲驅除劑原樣播撒施行驅除害蟲。

本發明之害蟲驅除劑可使用於保護害蟲易蔓延之廣泛範圍之植物。以本發明方法所保護之重要植物的具體例除了包心菜等所代表之青菜類以外，可為花椰菜等之果菜類、玉黍蜀、棉花、馬鈴薯、稻、及柑橘、落葉果樹等。除此以外亦可列舉馬路、公園、植林地及森林等之非農耕地之樹木等。

可依據本發明方法撲滅之害蟲，可列舉前述之害蟲。

本發明之害蟲驅除劑例如可將 S S K - 1 0 菌株之培養液或導入編號本發明殺蟲性蛋白質基因之轉形微生物的培養液予以濃縮（例如，離心分離，過濾），其次添加所欲的適當配合劑（例如，界面活性劑、濕潤劑、固體稀釋劑、分散劑及紫外線安定劑等），並作成水合劑、粉劑、安瓿劑等任意劑型。

又，本發明之害蟲驅除劑組成物視需要和／或所欲，亦可於製劑時或播撒時，含有各種殺蟲劑、殺菌劑、除草劑、植物生長調節劑、增效劑（亦含有培養上清液中所含之活性增強物質等）、誘引劑、植物營養劑。肥料等，且亦可再含有本發明菌株以外之 B t 菌，和本發明蛋白質以外之殺蟲性蛋白質。

若依據本發明，則為提供包含對於受到害蟲迫害、或恐受到迫害之植物，以本發明之殺蟲性蛋白質，本發明之菌株，和／或經轉形可生產本發明殺蟲性蛋白質之微生物予以處理之害蟲驅除方法。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

錄

五、發明說明 (6)

此處，所謂的「害蟲驅除方法」為用於意指包含保護植物之方法、害蟲防除方法、殺蟲方法、防蟲方法等。

於本發明之害蟲驅除法中，可將本發明之殺蟲性蛋白質、本發明之新菌株、和／或經轉形可生產本發明殺蟲性蛋白質之微生物就其原樣播撒，且亦可將前述害蟲驅除劑就其原樣或予以稀釋播撒。經由害蟲驅除方法所撲滅之害蟲及所保護之植物為與害蟲驅除劑相同。

實施例

依據下述例詳述本發明，但本發明不被其所限定。

實施例 1

本發明 B t 菌 S S K - 1 0 菌株之選取

由日本全國採集土壤及塵埃，並依據大庭等之方法（J. Invertebrate. Pathology, 47 卷，12 頁，1986 年）分離 B t 菌。將分離之 B t 菌以普通之洋菜培養基（肉萃取物 1.0 % 蛋白胨 1.0 %，NaCl 0.5 %、洋菜 2.0 %，pH 7.2）培養後，將生成之芽胞和 C I 之混合物於所述之滅菌水中懸浮並調製成指定濃度之芽胞和 C I 之混合懸浮液。以此懸浮液處理直徑 5 公分之包心菜葉切片，並令各種害蟲攝食，判定 B t 菌的殺蟲活性。

其結果，選取對於斜紋夜盜呈最高殺蟲活性之 S S K - 1 0 菌株。

五、發明說明 (17)

實施例 2

C I 之精製

令本發明之 S S K - 1 0 菌株於滅菌水中懸浮後，於普通之營養洋菜培養基上均勻塗布並於 2 8 ℃ 下培養 5 日。確認形成芽胞及生產 C I 後，於平板培養基中添加滅菌蒸餾水，以離心分離回收芽胞及 C I 混合物之丸狀物並以滅菌蒸餾水清洗 3 回。其後，加入少量滅菌蒸餾水令其懸浮後，依 R. Milne(J. Invertebrate Pathology 2 9 卷，2 3 0 頁，1 9 9 7 年)之 Urographin 密度梯度 (4 0 ~ 7 0 %) 法將 C I 單離，並以水清洗 3 回。單離之 C I 再度使用 Urographin 密度梯度 (6 0 - 7 0 %) 法予以精製後，以水清洗 5 回。單離之 C I 於位相顯微鏡下確認純度 9 9 % 以上，並將其冷凍乾燥。以上述方法，由 1 克 (濕重量) 芽胞及 C I 混合物丸狀物取得 3 5 毫克 (乾燥重量) 之 C I 。使用 H D - 1 菌株作為對照且同樣地調製 C I 。

實施例 3

菌株之液體培養

於普通之營養液體培養基 (肉萃取物 0 . 3 % 、 葡萄糖 0 . 5 % 、 蛋白胨 0 . 4 % 、 N a C l 0 . 1 % ， p H 7 . 2 ， 5 m l / 6 份試管) 中，植入一白金耳已於洋菜培養基上生長之本菌株，並於 2 8 ℃ 下來回振盪培養 1 0 ~ 2 4 小時。將如此處理所得之培養液 0 . 5 m l 植

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、發明說明 (8)

菌至已放入 1 0 0 m l 普通營養液體培養基之 5 0 0 m l 三角燒瓶中，並於 2 8 0 ℃ 下迴轉振盪 (2 5 0 r p m) 培養 2 日。於指定時間培養後，將培養液離心分離 (1 5 , 0 0 0 r p m , 2 0 分鐘)，取得呈固形殘渣之丸狀物。所得之丸狀物以適量水洗淨 3 回，並再離心分離 (1 5 , 0 0 0 r p m , 2 0 分鐘)。其後冷凍乾燥，每 1 個三角燒瓶中取得約 4 0 0 m g 之冷凍乾燥物。秤量此乾燥物並使用蒸餾水稀釋後，供於各種殺蟲試驗。使用 H D - 1 作為對照並依同樣之方法調製乾燥物。

試驗例 1

C I 對於斜紋夜盜之殺蟲活性

將實施例 2 之方法所調製之 C I 稀釋至指定濃度，加入鋪展劑，並播撒於包心菜葉切片上，於塑膠杯中風乾後，於每杯中放入 5 頭斜紋夜盜之 3 齡幼蟲。杯上加蓋並放置於 2 5 ℃ 之恆溫室中，判定 3 日後之生死並依據 Probit 法算出半對數致死濃度 (L C 5 0)。

表 2

C I 對於斜紋夜盜之殺蟲活性

試料名	L C 5 0 (p p m)
S S K - 1 0	7 . 5
H D - 1 (對照)	> 2 5 0

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

訂

錄

五、發明說明 (9)

由此可知 S S K - 1 0 株之 C I 對於斜紋夜盜之活性，為 H D - 1 之 C I 的 3 0 倍以上。

試驗例 2

C I 對於粉蛾之殺蟲活性

將實施例 2 之方法所調製之 C I 稀釋至指定濃度，加入鋪展劑，並播撒於包心菜葉切片上，於塑膠杯中風乾後，於每杯中放入 5 頭粉蛾之 2 齡幼蟲。杯上加蓋並放置於 2 5 ℃ 之恆溫室中，判定 3 日後之生死並依據 Probit 法算出半對數致死濃度 (L C 5 0) 。

表 3

C I 對於粉蛾之殺蟲活性

試料名	L C 5 0 (p p m)
S S K - 1 0	0 . 7 9
H D - 1 (對照)	4

由此可知 S S K - 1 0 株之 C I 對於粉蛾之活性，為 H D - 1 之 C I 的 5 倍以上。

試驗例 3

S S K - 1 0 菌株對於 B t 菌抗性粉蛾之效果

於兵庫縣岩岡地區採集對現存之以 H D - 1 菌株作為主成分之 B t 菌呈抗性的粉蛾 (岩岡系) ，並將 S S K -

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、發明說明 20)

10 菌株對此系統之效果與對於敏感性系統之效果進行比較。將實施例 3 之方法所調製之乾燥物中加入鋪展劑之溶液，稀釋至指定濃度，並播撒於包心菜葉切片，於塑膠杯中風乾後，每杯放入 5 頭岩岡系或敏感性系粉蛾 2 齡幼蟲。杯上加蓋並置於 25℃ 之恆溫室中，於 3 日後判定其生死。使用 Toaro-CT 水合劑〔東亞合成化學工業(株)〕作為對照藥劑。結果為依 Probit 法算出半對數致死濃度 (LC₅₀)，以對於岩岡系之 LC₅₀ 除以對於敏感性系之 LC₅₀，算出抗性比。

抗性比 =
$$\frac{\text{對於 Bt 劑抗性系統之半對數致死濃度 (LC}_{50}\text{)}}{\text{對於 Bt 劑敏感性系統之半對數致死濃度 (LC}_{50}\text{)}}$$

其結果示於表 4。

表 4

對於 B t 劑抗性粉蛾之殺蟲活性	
試料名	抗性比
S S K - 1 0	3 . 5 9
Toaro-CT 水合劑*(對照)	5 0 . 1

*東亞合成化學工業(株)

試驗例 4

S S K - 1 0 菌株所生產之 C I 的溶解性和安定性

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

訂

線

修正
補充

年 月 日

A7
B7

五、發明說明 (21)

將實施例 2 之方法所調製之 S S K - 1 0 及 H D - 1 菌株的 C I ，懸浮於 5 0 m M N a ₂ C O ₃ - N a H C O ₃ 溶液 (p H 9 . 5) 並於 3 7 ° C 下保溫。於 3 0 分鐘後採樣並離心分離，令離心前之懸浮液及離心後之上清液以 S D S - 聚丙稀鹽胺進行解析。結果以上清液中之 1 3 0 k d 蛋白質量除以離心前之 1 3 0 k d 蛋白質量並算出溶解率。其結果示於表 5 。

表 5

C I 之溶解性

試料名	溶解率 (%)
S S K - 1 0	> 9 0
H D - 1	< 5 0

又，於 3 7 ° C 保溫並於指定時間後採樣，且以 S D S - 聚丙稀鹽胺電泳解析 1 3 0 k d 之蛋白質量。以立即懸浮後 (0 小時) 之蛋白質量視為 1 0 0 ，以殘存率型式將安定性經時地作成表。其結果示於表 6 。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(2)

表 6

C I 之安定性

試料名	殘存率(%)			
	0小時後	2小時後	6小時後	24小時後
S S K -10	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 5
H D -1	1 0 0	8 5	4 0	0

試驗例 5

C I 及 S C I 對於斜紋夜盜之殺蟲活性

(1) C I 溶液之調製

於實施例 2 之方法所調製之 S S K - 1 0 菌株的 C I 中，加入含有鋪展劑之溶液，並稀釋調製成指定濃度。

(2) S C I 溶液之調製

令實施例 2 之方法所調製之 S S K - 1 0 菌株的 C I 懸浮於 5 0 m M N a ₂ C O ₃ - N a H C O ₃ 溶液 (p H 9 . 5)，並於 3 7 ° C 下加溫 1 小時。令其可溶化後，以離心分離取得上清液，且於此上清液中加入含有鋪展劑之溶液，並稀釋調製成指定濃度。

(3) 殺蟲活性之測定及結果

令上述 (1) 及 (2) 之方法所調製之 C I 及 S C I 溶液播撒於包心菜葉切片上，於塑膠杯中風乾後，每杯中放入 5 頭斜紋夜盜 3 齡幼蟲。杯上加蓋並放置於 2 5 ° C 之

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

修正
年 月 日
87.12.31
補充

A7
B7

五、發明說明 (23)

恆溫室中，判定 3 日後之生死。其結果示於表 7。

表 7

C I 及 S C I 對於斜紋夜盜之殺蟲活性

試料名	死蟲率 (%)
C I (1 0 0 p p m)	1 0 0
S C I (1 0 0 p p m)	0

試驗例 6

芽胞對於斜紋夜盜殺蟲活性所造成之效果

令含有實施例 3 之方法所調製之 C I 和芽胞之 S S K - 1 0 菌體乾燥物懸浮於 5 0 m M Na_2CO_3 - NaHCO_3 (p H 9 . 5) 溶液，並於 3 7 ° C 下加溫 1 小時。於顯微鏡下確認 C I 完全溶解後，經由離心分離調製成上清液 (含 S C I 之部分) 和沈澱 (含芽胞之部分) 。又，將實施例 2 之方法所得之 C I 調製成與 S S K - 1 0 菌體乾燥物中所含之 C I 為相同濃縮並供於試驗。令各試料以含有鋪展劑之溶液稀釋至指定濃度，並播撒於包心菜葉切片。於塑膠杯中風乾後，每杯中放入 5 頭斜紋夜盜之 3 齡幼蟲。於杯上加蓋並放置於 2 5 ° C 之恆溫室中，於 3 日後判定生死。其結果示於表 8。

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

五、發明說明(4)

表 8

芽胞對於斜紋夜盜殺蟲活性所造成之相乘效果

試料名	CI 或 SCI 之濃度(ppm)	芽胞濃度(ppm)	死蟲率(%)
SCI	25	0	0
CI	25	0	60
SCI+芽胞	25	75	75
CI+芽胞	25	75	100
芽胞	25	75	0

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

試驗例 7

對於尖音庫蚊 (Culex Pipiens) 之殺蟲活性

將實施例 3 之方法所調製之 S S K - 1 0 菌株的菌體乾燥物以脫離子水稀釋至指定濃度，並移至玻璃器皿中。於其中，放入孵化第 4 日之尖音庫蚊幼蟲 2 0 頭，並放置於 2 5 ℃ 之恆溫室中。

判定 2 4 小時後之生死且依據 Probit 法算出半對數致死濃度 (L C 5 0) 為 3 7 . 2 p p m ，顯然 S S K - 1 0 菌株之菌體乾燥物亦對於雙翅目昆蟲顯示出殺蟲活性。

實施例 4

S S K - 1 0 株所生產之新穎殺蟲性蛋白質基因之選殖

(1) S S K - 1 0 株之基因庫之製作

將 S S K - 1 0 株 (F E R M B P - 6 1 6 2) 於

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (25)

Luria_Bertani(LB)培養基中 28℃ 下培養一晚。離心集菌後，使用 ISOPLANT(Nippongene 公司製)，依據所附手冊單離 DNA。單離之 DNA 以 Sau 3A 部分分解後，以鹼性磷酸酯酶處理，將 DNA 斷片之 5' 終端予以脫磷酸化。將此 DNA 斷片插入噬菌體載體 Lambda DASH II(Stratagene 公司)。將如此處理所得之重組噬菌體載體以 Gigapack III Gold Packaging Extract (Stratagene 公司)依據所附手冊進行生體外包裝。其後，令此重組噬菌體感染大腸桿菌 XL 1 - Blue MRA (P2) 株，於平板中培養並形成噬菌斑。

(2) 探針之製作

試為 SSK-10 株之殺蟲性蛋白質基因，亦與已知之 Bt 殺蟲性蛋白質基因間含有被良好保存之區域。因此，解析已知之 Bt 殺蟲性蛋白質基因之鹼基序列，並合成相當於被良好保存之 2 處區域之引子（序列編號 3 及序列編號 4）。使用此些引子，以 SSK-10 株所單離之 DNA 作為模板進行 PCR，令約 1 kb 之 DNA 斷片放大，故顯然經由此些引子可令 SSK-10 株之殺蟲性蛋白質基因放大。於下述 (3) 之篩選中，使用經由反應液中混入螢光素 - I I - d U T P (Amersham 公司) 之 PCR 所放大之經螢光素標幟之 DNA 斷片作為探針。

(3) 新穎殺蟲性蛋白質基因之選殖

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (26)

於 (1) 中所製作之形成噬菌斑之平板上，擺放 Hybond-N⁺膜 (Amersham 公司)，令噬菌斑附著。此膜以鹼處理，令膜上之重組噬菌體 D N A 變性成單股吸附於膜上。將噬菌體 D N A 所吸附之膜放入聚乙烯袋，於添加使用 Hybridization Buffer Tablets (Amersham 公司)所調製之緩衝液且密閉後，於 6 5 °C 下培養 1 小時。將上述之螢光素所標幟之探針熱變性並添加於其中，於 6 5 °C 下進行一晚雜交。其後，將膜洗淨，令螢光素所標幟之噬菌斑，以鹼性磷酸酯酶所標幟之抗螢光素抗體予以標幟。如此處理，則可令鹼性磷酸酯酶所標幟之噬菌斑可經由氮蘭四唑氫和 X - 磷酸酯而呈色，並使強力雜交探針之噬菌斑可視化，選出陽性選殖株。由此陽性選殖株，於探針中將含有相同區域之 5 ' 上游側和 3 ' 下游側之 D N A 斷片以限制酶將其切出，並次選殖至 pBluescript II (Stratagene 公司)。

(4) 鹼基序列之決定

由 (3) 中所製作之重組 pBluescript，使用 Kilo-Sequence 用 Deletion Kit (宝酒造公司)，依據所附之手冊，製作所嵌入之 D N A 斷片長度為各短至約 3 0 0 b p 之缺失選殖株 (deletion clone)。此些缺失選殖株之鹼基序列之決定為使用 Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Perkin-Elmer, Japan 公司)，依據所附之手冊進行反應，並以 3 7 3 A D N A 定序機 (Perkin-Elmer Japan 公司) 進行解析。如此所決定之含有 S S K - 1 0

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(7)

株新穎殺蟲性蛋白質基因之 3867 bp DNA 斷片的鹼基序列為示於序列表之序列編號 1。此鹼基序列為含有 3453 bp 之 ORF，此 ORF 為編碼 1150 個胺基酸、pI 4.79、129.9 kd 之蛋白質。此蛋白質之胺基酸序列為示於序列表之序列編號 2

(5) 同質性檢索

SSK-10 株之新穎殺蟲性蛋白質基因之鹼基序列於使用資料鹼基之同質性檢索 (GenBank、EMBL、DDBJ、PDB 序列)，結果對於已知之 Bt 殺蟲性蛋白質基因之相同性低，且即使對於最類似之 Cry9Cal (B. Lambert 等，Appl. Environ. Microbiol., 62 卷，80 頁，1996 年) 於胺基酸程度亦僅為 71% 之相同性。Bt 殺蟲性蛋白質為以 130 kd 至 140 kd 之前毒素型式被生產，且其在昆蟲之中腸內分解成 60 kd 至 70 kd 之毒素。實際上，已知此毒素為顯示出殺蟲活性，且前毒素之 C 終端側本質之殺蟲活性上並非必要 (H. Hofte & H. R. Whitely; Microbiol Rev., 53 卷，242 頁，1989 年)。於是，只對於活性所必要之 N 終端側第 1 至 700 個胺基酸進行同質性檢索 (GenBank CDS translations、PDB、Swiss Prot、PIR)，對於最類似之 Cry9Cal 亦僅顯示 60% 之相同性，可知此基因顯然為新基因。

實施例 5

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明書(8)

新穎殺蟲性蛋白質基因之轉錄

(1) 由 S S K - 1 0 株單離 R N A

將一白金耳之 S S K - 1 0 株植菌至 2 0 m l 之 L B 培養基中，並於 2 8 ℃ 下培養。培養開始後，於第 1 3 . 0 、 1 6 . 5 、 2 0 . 0 、 2 3 . 5 小時，採集 0 . 5 m l 之培養液。於相差顯微鏡下，於培養開始後第 1 6 . 5 小時開始觀察 C I 。所採樣之培養液為立即離心集菌後，使用 RNeasy Mini Kit(Kiagen 公司)，依據所附之手冊單離 R N A 。將如此單離之 R N A 進行 D N a s e 處理，並令混入之 D N A 分解後，使用於以下所述之 Reverse Transcriptase (R T) - P C R 解析。

(2) 經由 R T - P C R 轉錄之解析

P C R 所使用之引子為使用序列編號 5 之序列（相當於序列編號 1 之 4 6 1 - 4 8 0 ）和序列編號 6 之序列（相當於序列編號 1 之 1 0 2 1 - 1 0 4 0 ）。轉錄之解析為藉由使用 R N A P C R K i t (A M V) V e r . 2 . 1 （宝酒造公司）之 R T - P C R 予以進行，逆轉錄反應之引子為使用無規九核苷酸，P C R 之引子為使用上述之引子，並依據所附之手冊進行反應。對於各樣品未加入逆轉錄酶地進行同樣之反應，且確認於 R N A 樣品中未混入 D N A 。反應終了後，以 2 % 瓊脂糖膠進行電泳，泳動後之膠於溴化乙錠溶液中培養，其後於 U V 照射下進行

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 29)

相片拍攝。結果示於圖 1。如此可知 S S K - 1 0 株之新穎殺蟲性蛋白質基因為伴隨 C I 之生產而明顯地被轉錄。

實施例 6

新穎殺蟲性蛋白質於大腸桿菌表現所得之蛋白質的殺蟲活性

(1) 蛋白質表現用載體之製作

將新穎基因之轉譯起始密碼組 (A T G , 序列編號 1 之 2 1 1) 上游 3 個鹼基 (A G T) 以 C A T 取代, 變更 N d e I 之辨識序列 (C A T A T G)。將由此 N d e I 部位至新穎基因終止密碼組 (T G A) 之 7 個鹼基下游的 B a m H I 部位 (G G A T C C , 序列編號 1 之 3 6 7 0) 為止之斷片, 插入蛋白質表現用載體 p E T - 1 1 a (Stratagene 公司) 之 N d e I 和 B a m H I 部位之間。如此則可構築新穎殺蟲性蛋白質於大腸桿菌中生產所用之載體。

(2) 新穎殺蟲性蛋白質於大腸桿菌之表現和精製

將 (1) 所製作之載體導入蛋白質表現用之大腸桿菌 B L 2 1 (D E 3) 株。新穎殺蟲性蛋白質之生產為依據所附之手冊, 經由異丙基 - β - D - 硫代吡喃半乳糖苷 (I P T G) 所誘導之蛋白質表現而進行。於 I P T G 存在下所培養之大腸桿菌, 以 S D S 聚丙烯醯胺電泳, 確認產

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明書

生約 130kd 之新穎殺蟲性蛋白質。此蛋白質於大腸桿菌中為以包涵體型式生產，此包涵體於菌體以溶菌酶、DNase I 處理後，經由離心分離則可以沈澱物型式精製。

(3) 新穎殺蟲性蛋白質之殺蟲活性

a) 新穎殺蟲性蛋白質對於斜紋夜盜之殺蟲活性

使用(2)中所精製之試料作為新穎殺蟲性蛋白質，並以試驗例6所調製之芽胞添加至終濃度為100mg/l。將各試料以含有鋪展劑之溶液稀釋至指定濃度，並播撒於包心菜葉切片上。於塑膠杯中風乾後，於每杯中放入5頭斜紋夜盜之3齡幼蟲。於杯上加蓋並放置於25℃之恆溫室中，於3日後判定生死。其結果示於表9。

表 9

新穎殺蟲性蛋白質對於斜紋夜盜之殺蟲活性

試料名	殺蟲性蛋白質濃度(ppm)	殺蟲率(%)
新穎殺蟲性蛋白質	100	0
新穎殺蟲性蛋白質+芽胞*	100	50
芽胞*	0	0

一般，已知由於夜盜類消化液中強力的蛋白酶活性，故可溶化CI對於夜盜類之殺蟲活性為比原來之CI弱。又，已知即使經由大腸桿菌所生產之不具結晶構造之Bt

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 §1)

殺蟲性蛋白質亦比經由 B t 所生產之來自相同基因的 C I
，對於斜紋夜盜之殺蟲活性更弱 (M. Keller 等，Insect
Biochem. Molec. Biol., 26 卷，365 頁，1996 年)
。此現象如表 7 所示，亦可於 S S K - 10 株之 C I 中觀
察到，但如表 8 所示，經由可溶化所降低之活性可由添加
芽胞而恢復。於大腸桿菌中所生產之新穎殺蟲性蛋白質之
活性亦如表 9 所示，於單獨下未察見活性，但藉由添加
S S K - 10 株之芽胞，則令其殺蟲活性恢復，可結論新
穎殺蟲性蛋白質為令 S S K - 10 株之 C I 活性再現。

(b) 新穎殺蟲性蛋白質對於 B t 劑抗性粉蛾之效果

將新穎殺蟲性蛋白質對於大阪府所採集之粉蛾 (抗性
系) 之效果與對於敏感性系統之效果進行比較。S S K -
10 株為使用實施例 3 之方法所調製之乾燥物。將各試料
以加入鋪展劑之溶液稀釋至指定濃度，並播撒於包心菜葉
切片上，於塑膠杯中風乾後，於每杯中放入 5 頭抗性系或
敏感性系粉蛾 3 齡幼蟲。於杯上加蓋且放置於 25℃ 之恆
溫室中，3 日後判定生死。使用 T o a r o - C T 水合劑
〔東亞合成化學工業 (株) 〕作為對照藥劑。

結果為依 Probit 法計算半對數致死濃度 (L C 50) ，
以對於抗性系之 L C 50 除以對於敏感性系之 L C 50 ，算出
抗性比。結果示於表 10 。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 \$2)

表 1 0

新穎殺蟲性蛋白質對於 B t 劑抗性粉蛾之殺蟲活性

試料名	抗性比
新穎殺蟲性蛋白質	0 . 3 5
S S K - 1 0	3 . 2 1
Toaro-CT 水合劑 * (對照)	1 6 . 3

*東亞合成化學工業(株)

如此得知新穎殺蟲性蛋白質對於 B t 劑抗性粉蛾顯示出高的殺蟲活性。

其次，於以下記載本發明各種製劑之配合比例及種類例。

製劑例 1

水合劑

本發明之 C I 及芽胞含有物 …… 5 0 %

Sorpol 8070 …… 10%

(陰離子界面活性劑：東邦化學工業 (株) 商品名)

Neucalgen WG-2 …… 5 %

(陰離子界面活性劑：竹本油脂 (株) 商品名

Serogen …… 3 %

(羧甲基纖維素：第一工業製藥 (株) 商品名)

中性無水硫酸鈉 …… 1 6 %

Laziolite # 200 …… 1 6 %

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 §3)

將上述均勻混合弄碎作成水合劑
使用時，將上述水合劑稀釋 5 0 0 ~ 4 0 0 0 倍並播撒。

製劑例 2

粉劑

本發明之 C I 及芽胞含有物 …… 3 %

Capres # 80 …… 1 %

(白炭：鹽野義製藥(株)商品名)

磷酸二異丙酯 …… 2 %

滑石 …… 9 4 %

將上述均勻混合弄碎作成粉劑。

製劑例 3

可流動劑

本發明之 C I 及芽胞含有物 …… 3 0 %

聚乙二醇 …… 5 %

黃蓍樹膠 …… 0 . 2 %

Neucalgen FS-1 …… 3 %

(非離子型界面活性劑：竹本油脂(株)商品名)

Neucalgen FS-4 …… 5 %

(陰離子界面活性劑：竹本油脂(株)商品名)

聚矽氧烷 …… 0 . 1 %

水 …… 6 . 7 %

除了本發明之 C I 及芽胞含有成分以外，將上述成分

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 §4)

均勻溶解，並於其中加入本發明之 C I 及芽胞含有物且良好攪拌後，予以濕式弄碎取得可流動劑。使用時，將上述可流動劑稀釋至 2 5 ~ 2 0 0 0 倍並播撒。

序列表

序列編號： 1

序列長度： 3 8 6 7

序列類型：核 酸

股數：雙 股

拓撲學：直鏈狀

序列種類：基因組 D N A

假設序列：無

反意義：無

起源

生物名：蘇力桿菌 (Bacillus thuringiensis)

株名：S S K - 1 0

序列特徵

表示特徵之記號：C D S

存在位置：2 1 1 .. 3 6 6 3

決定特徵之方法：P

表示特徵之記號：mat peptide

存在位置：2 1 1 .. 3 6 6 6

決定特徵之方法：P

序列

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

A7
B7

五、發明說明 \$5)

GAACCGAAGG TTTGTAAAAA AGAAATTGGA ATAAATACCA TCCATTTTTT CAAGAAAGAT 60
TTTTTTATTA GAAAGGAATC TTTCTTACAC AGGAGAATAC TAAGATTGAG AGTAGAGATA 120
TATAGATGTC AATACAATAA AGAGTCTGTC AGGTTTTTTG AAAGATATGA TTTGAACATG 180
TAATAGATTT ATAGTATAGG AGGAAAAAGT ATG AAT CGA AAT AAT CCA AAT GAA 234
Met Asn Arg Asn Asn Pro Asn Glu

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明(6)

	1	5	
TAT GAA ATT ATT GAT GCC CCC TAT TGT GGG TGT CCG TCA GAT GAT GAT			282
Tyr Glu Ile Ile Asp Ala Pro Tyr Cys Gly Cys Pro Ser Asp Asp Asp			
10	15	20	
GTG AGG TAT CCT TTG GCA AGT GAC CCA AAT GCA GCG TTC CAA AAT ATG			330
Val Arg Tyr Pro Leu Ala Ser Asp Pro Asn Ala Ala Phe Gln Asn Met			
25	30	35	40
AAC TAT AAA GAG TAT TTA CAA ACG TAT GAT GGA GAC TAC ACA GGT TCT			378
Asn Tyr Lys Glu Tyr Leu Gln Thr Tyr Asp Gly Asp Tyr Thr Gly Ser			
45	50	55	
CTT ATC AAT CCT AAC TTA TCT ATT AAT CCT AGA GAT GTA CTA CAA ACA			426
Leu Ile Asn Pro Asn Leu Ser Ile Asn Pro Arg Asp Val Leu Gln Thr			
60	65	70	
GGT ATT AAT ATT GTG GGA AGA ATA CTA GGG TTT TTA GGT GTT CCA TTT			474
Gly Ile Asn Ile Val Gly Arg Ile Leu Gly Phe Leu Gly Val Pro Phe			
75	80	85	
GCG GGT CAA CTA GTT ACT TTC TAT ACC TTT CTC TTA AAT CAG TTG TGG			522
Ala Gly Gln Leu Val Thr Phe Tyr Thr Phe Leu Leu Asn Gln Leu Trp			
90	95	100	
CCA ACT AAT GAT AAT GCA GTA TGG GAA GCT TTT ATG GCG CAA ATA GAA			570
Pro Thr Asn Asp Asn Ala Val Trp Glu Ala Phe Met Ala Gln Ile Glu			
105	110	115	120
GAG CTA ATC GAT CAA AAA ATA TCG GCG CAA GTA GTA AGG AAT GCA CTC			618
Glu Leu Ile Asp Gln Lys Ile Ser Ala Gln Val Val Arg Asn Ala Leu			
125	130	135	

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 §7)

GAT GAC TTA ACT GGA TTA CAC GAT TAT TAT GAG GAG TAT TTA GCA GCA	666
Asp Asp Leu Thr Gly Leu His Asp Tyr Tyr Glu Glu Tyr Leu Ala Ala	
140 145 150	
TTA GAG GAG TGG CTG GAA AGA CCG AAC GGA GCA AGA GCT AAC TTA GTT	714
Leu Glu Glu Trp Leu Glu Arg Pro Asn Gly Ala Arg Ala Asn Leu Val	
155 160 165	
ACA CAG AGG TTT GAA AAC CTG CAT ACT GCA TTT GTA ACT AGA ATG CCA	762
Thr Gln Arg Phe Glu Asn Leu His Thr Ala Phe Val Thr Arg Met Pro	
170 175 180	
AGC TTT GGT ACG GGT CCT GGT AGT CAA AGA GAT GCG GTA GCG TTG TTG	810
Ser Phe Gly Thr Gly Pro Gly Ser Gln Arg Asp Ala Val Ala Leu Leu	
185 190 195 200	
ACG GTA TAT GCA CAA GCA GCG AAT TTG CAT TTG TTA TTA TTA AAA GAT	858
Thr Val Tyr Ala Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Leu Leu Leu Lys Asp	
205 210 215	
GCA GAA ATC TAT GGG GCA AGA TGG GGA CTT CAA CAA GGG CAA ATT AAC	906
Ala Glu Ile Tyr Gly Ala Arg Trp Gly Leu Gln Gln Gly Gln Ile Asn	
220 225 230	
TTA TAT TTT AAT GCT CAA CAA GAA CGT ACT CGA ATT TAT ACC AAT CAT	954
Leu Tyr Phe Asn Ala Gln Gln Glu Arg Thr Arg Ile Tyr Thr Asn His	
235 240 245	
TGC GTG GAA ACA TAT AAT AGA GGA TTA GAA GAT GTA AGA GGA ACA AAT	1002
Cys Val Glu Thr Tyr Asn Arg Gly Leu Glu Asp Val Arg Gly Thr Asn	
250 255 260	
ACA GAA AGT TGG TTA AAT TAC CAT CGA TTC CGT AGA GAG ATG ACA TTA	1050

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

Thr Glu Ser Trp Leu Asn Tyr His Arg Phe Arg Arg Glu Met Thr Leu

265 270 275 280

ATG GCA ATG GAT TTA GTG GCC CTA TTC CCA TTC TAT AAT GTG CGA CAA 1098

Met Ala Met Asp Leu Val Ala Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Val Arg Gln

285 290 295

TAT CCA AAT GGG GCA AAT CCA CAG CTT ACA CGT GAA ATA TAT ACA GAT 1146

Tyr Pro Asn Gly Ala Asn Pro Gln Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asp

300 305 310

CCA ATC GTA TAT AAT CCA CCA GCT AAT CAG GGA ATT TGC CGA CGT TGG 1194

Pro Ile Val Tyr Asn Pro Pro Ala Asn Gln Gly Ile Cys Arg Arg Trp

315 320 325

GGG AAT AAT CCG TAT AAT ACA TTT TCT GAA CTT GAA AAT GCT TTT ATT 1242

Gly Asn Asn Pro Tyr Asn Thr Phe Ser Glu Leu Glu Asn Ala Phe Ile

330 335 340

CGC CCG CCA CAT CTT TTT GAA AGG TTG AAC AGA TTA ACT ATT TCT AGA 1290

Arg Pro Pro His Leu Phe Glu Arg Leu Asn Arg Leu Thr Ile Ser Arg

345 350 355 360

AAC CGA TAT ACA GCT CCA ACA ACT AAT AGC TTC CTA GAC TAT TGG TCA 1338

Asn Arg Tyr Thr Ala Pro Thr Thr Asn Ser Phe Leu Asp Tyr Trp Ser

365 370 375

GGT CAT ACT TTA CAA AGC CAA CAT GCA AAT AAC CCG ACG ACA TAT GAA 1386

Gly His Thr Leu Gln Ser Gln His Ala Asn Asn Pro Thr Thr Tyr Glu

380 385 390

ACT AGT TAC GGT CAG ATT ACC TCT AAC ACA CGT TTA TTC AAT ACG ACT 1434

Thr Ser Tyr Gly Gln Ile Thr Ser Asn Thr Arg Leu Phe Asn Thr Thr

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 \$9)

395	400	405	
AAT GGA GCC CGT GCA ATA GAT TCA AGG GCA AGA AAT TTT GGT AAC TTA			1482
Asn Gly Ala Arg Ala Ile Asp Ser Arg Ala Arg Asn Phe Gly Asn Leu			
410	415	420	
TAC GCT AAT TTG TAT GGC GTT AGC AGC TTG AAC ATT TTC CCA ACA GGT			1530
Tyr Ala Asn Leu Tyr Gly Val Ser Ser Leu Asn Ile Phe Pro Thr Gly			
425	430	435	440
GTG ATG AGT GAA ATC ACC AAT GCA GCT AAT ACG TGT CGG CAA GAC CTT			1578
Val Met Ser Glu Ile Thr Asn Ala Ala Asn Thr Cys Arg Gln Asp Leu			
445	450	455	
ACT ACA ACT GAA GAA CTA CCA CTA GAG AAT AAT AAT TTT AAT CTT TTA			1626
Thr Thr Thr Glu Glu Leu Pro Leu Glu Asn Asn Asn Phe Asn Leu Leu			
460	465	470	
TCT CAT GTT ACT TTC TTA CGC TTC AAT ACT ACT CAG GGT GGC CCC CTT			1674
Ser His Val Thr Phe Leu Arg Phe Asn Thr Thr Gln Gly Gly Pro Leu			
475	480	485	
GCA ACT CTA GGG TTT GTA CCC ACA TAT GTG TGG ACA CGT GAA GAT GTA			1722
Ala Thr Leu Gly Phe Val Pro Thr Tyr Val Trp Thr Arg Glu Asp Val			
490	495	500	
GAT TTT ACG AAC ACA ATT ACT GCG GAT AGA ATT ACA CAA CTA CCA TGG			1770
Asp Phe Thr Asn Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ile Thr Gln Leu Pro Trp			
505	510	515	520
GTA AAG GCA TCT GAA ATA GGT GGG GGT ACT ACT GTC GTG AAA GGT CCA			1818
Val Lys Ala Ser Glu Ile Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Lys Gly Pro			
525	530	535	

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 40)

GGA TTT ACA GGA GGG GAT ATA CTT CGA AGA ACG GAC GGT GGT GCA GTT	1866
Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Asp Gly Gly Ala Val	
540	545
GGA ACG ATT AGA GCT AAT GTT AAT GCC CCA TTA ACA CAA CAA TAT CGT	1914
Gly Thr Ile Arg Ala Asn Val Asn Ala Pro Leu Thr Gln Gln Tyr Arg	
555	560
ATA AGA TTA CGC TAT GCT TCG ACA ACA AGT TTT GTT GTT AAT TTA TTT	1962
Ile Arg Leu Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Ser Phe Val Val Asn Leu Phe	
570	575
GTT AAT AAT AGT GCG GCT GGC TTT ACT TTA CCG AGT ACA ATG GCT CAA	2010
Val Asn Asn Ser Ala Ala Gly Phe Thr Leu Pro Ser Thr Met Ala Gln	
585	590
AAT GGT TCT TTA ACA TAC GAG TCG TTT AAT ACC TTA GAG GTA ACT CAT	2058
Asn Gly Ser Leu Thr Tyr Glu Ser Phe Asn Thr Leu Glu Val Thr His	
605	610
ACT ATT AGA TTT TCA CAG TCA GAT ACT ACA CTT AGG TTG AAT ATA TTC	2106
Thr Ile Arg Phe Ser Gln Ser Asp Thr Thr Leu Arg Leu Asn Ile Phe	
620	625
CCG TCT ATC TCT GGT CAA GAA GTG TAT GTA GAT AAA CTT GAA ATC GTT	2154
Pro Ser Ile Ser Gly Gln Glu Val Tyr Val Asp Lys Leu Glu Ile Val	
635	640
CCA ATT AAC CCG ACA CGA GAA GCG GAA GAA GAT TTA GAA GAT GCA AAG	2202
Pro Ile Asn Pro Thr Arg Glu Ala Glu Glu Asp Leu Glu Asp Ala Lys	
650	655
AAA GCG GTG GCG AGC TTG TTT ACA CGT ACA AGG GAT GGA TTA CAG GTA	2250

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

Lys Ala Val Ala Ser Leu Phe Thr Arg Thr Arg Asp Gly Leu Gln Val

665 670 675 680

AAT GTG ACA GAT TAC CAA GTC GAT CAG GCG GCA AAT TTA GTG TCG TGC 2298

Asn Val Thr Asp Tyr Gln Val Asp Gln Ala Ala Asn Leu Val Ser Cys

685 690 695

TTA TCA GAT GAA CAA TAT GGG CAT GAT AAA AAG ATG TTA TTG GAA GCC 2346

Leu Ser Asp Glu Gln Tyr Gly His Asp Lys Lys Met Leu Leu Glu Ala

700 705 710

GTA CGC GCA GCA AAA CGC CTC AGC CGC GAA CGC AAC TTA CTT CAA GAT 2394

Val Arg Ala Ala Lys Arg Leu Ser Arg Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp

715 720 725

CCA GAT TTT AAT GAA ATA AAT AGC ACA GAA GAA AAT GGC TGG AAG GCA 2442

Pro Asp Phe Asn Glu Ile Asn Ser Thr Glu Glu Asn Gly Trp Lys Ala

730 735 740

AGT AAC GGT GTT ACT ATT AGC GAG GGC GGT CCA TTC TTT AAA GGT CGT 2490

Ser Asn Gly Val Thr Ile Ser Glu Gly Gly Pro Phe Phe Lys Gly Arg

745 750 755 760

GCA CTT CAG TTA GCA AGC GCA CGT GAA AAT TAC CCA ACA TAC ATC TAT 2538

Ala Leu Gln Leu Ala Ser Ala Arg Glu Asn Tyr Pro Thr Tyr Ile Tyr

765 770 775

CAA AAG GTA GAT GCA TCG ACG TTA AAA CCT TAT ACA CGA TAT AAA CTA 2586

Gln Lys Val Asp Ala Ser Thr Leu Lys Pro Tyr Thr Arg Tyr Lys Leu

780 785 790

GAT GGA TTT GTG CAA AGT AGT CAA GAT TTA GAA ATT GAC CTC ATT CAT 2634

Asp Gly Phe Val Gln Ser Ser Gln Asp Leu Glu Ile Asp Leu Ile His

訂

本紙張尺度適用中國國家標準 (CNS) A4規格 (210×297公釐)

五、發明說明 42)

795	800	805	
CAT CAT AAA GTC CAC CTC GTG AAA AAT GTA CCA GAT AAT TTA GTA TCT	2682		
His His Lys Val His Leu Val Lys Asn Val Pro Asp Asn Leu Val Ser			
810	815	820	
GAT ACT TAT TCT GAT GGC TCA TGT AGT GGA ATT AAC CGT TGT GAG GAA	2730		
Asp Thr Tyr Ser Asp Gly Ser Cys Ser Gly Ile Asn Arg Cys Glu Glu			
825	830	835	840
CAA CAT CAG GTA GAT GTG CAG CTA GAT GCG GAG GAT CAT CCA AAG GAT	2778		
Gln His Gln Val Asp Val Gln Leu Asp Ala Glu Asp His Pro Lys Asp			
845	850	855	
TGT TGT GAA GCG GCT CAA ACA CAT GAG TTT TCT TCC TAT ATT CAT ACA	2826		
Cys Cys Glu Ala Ala Gln Thr His Glu Phe Ser Ser Tyr Ile His Thr			
860	865	870	
GGT GAT CTA AAT GCA AGT GTA GAT CAA GGC ATT TGG GTT GTA TTG CAG	2874		
Gly Asp Leu Asn Ala Ser Val Asp Gln Gly Ile Trp Val Val Leu Gln			
875	880	885	
GTT CGA ACA ACA GAT GGT TAT GCG ACG TTA GGA AAT CTT GAA TTG GTA	2922		
Val Arg Thr Thr Asp Gly Tyr Ala Thr Leu Gly Asn Leu Glu Leu Val			
890	895	900	
GAG GTT GGT CCA TTA TCG GGT GAA TCT TTA GAA CGA GAA CAA AGA GAT	2970		
Glu Val Gly Pro Leu Ser Gly Glu Ser Leu Glu Arg Glu Gln Arg Asp			
905	910	915	920
AAT GCG AAA TGG AAT GAA GAG GTA GGA AGA AAG CGT GCA GAA ACA GAT	3018		
Asn Ala Lys Trp Asn Glu Glu Val Gly Arg Lys Arg Ala Glu Thr Asp			
925	930	935	

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 43)

CGC ATA TAT CAA GAT GCG AAA CAA GCA ATT AAC CAT CTA TTT GTA GAC	3066
Arg Ile Tyr Gln Asp Ala Lys Gln Ala Ile Asn His Leu Phe Val Asp	
940 945 950	
TAT CAA GAT CAA CAA TTA AGT CCA GAG GTA GGG ATG GCG GAT ATT ATT	3114
Tyr Gln Asp Gln Gln Leu Ser Pro Glu Val Gly Met Ala Asp Ile Ile	
955 960 965	
GAT GCT CAA AAT CTT ATC GCA TCA ATT TCA GAT GTA TAT AGC GAT GCA	3162
Asp Ala Gln Asn Leu Ile Ala Ser Ile Ser Asp Val Tyr Ser Asp Ala	
970 975 980	
GTA CTG CAA ATC CCT GGG ATT AAC TAC GAG ATG TAT ACA GAG TTA TCC	3210
Val Leu Gln Ile Pro Gly Ile Asn Tyr Glu Met Tyr Thr Glu Leu Ser	
985 990 995 1000	
AAT CGA TTA CAA CAA GCA TCG TAT CTG TAT ACG TCT CGA AAT GTC GTG	3258
Asn Arg Leu Gln Gln Ala Ser Tyr Leu Tyr Thr Ser Arg Asn Val Val	
1005 1010 1015	
CAA AAT GGG GAC TTT AAC AGT GGT TTA GAT AGT TGG AAT GCA ACA ACT	3306
Gln Asn Gly Asp Phe Asn Ser Gly Leu Asp Ser Trp Asn Ala Thr Thr	
1020 1025 1030	
GAT ACA GCT GTT CAG CAG GAT GGC AAT ATG CAT TTC TTA GTT CTT TCC	3354
Asp Thr Ala Val Gln Gln Asp Gly Asn Met His Phe Leu Val Leu Ser	
1035 1040 1045	
CAT TGG GAT GCA CAA GTT TCT CAA CAA TTT AGA GTA CAG CCG AAT TGT	3402
His Trp Asp Ala Gln Val Ser Gln Gln Phe Arg Val Gln Pro Asn Cys	
1050 1055 1060	
AAA TAT GTG TTA CGT GTG ACA GCG AAG AAA GTA GGG AAC GGA GAT GGA	3450

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 45)

序 列 編 號 : 2

序 列 長 度 : 1 1 5 0

序 列 類 型 : 胺 基 酸

序 列 種 類 : 蛋 白 質

起 源

生 物 名 : 蘇 力 桿 菌 (Bacillus thuringiensis)

株 名 : S S K - 1 0

序 列

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (46)

Met Asn Arg Asn Asn Pro Asn Glu Tyr Glu Ile Ile Asp Ala Pro Tyr
1 5 10 15
Cys Gly Cys Pro Ser Asp Asp Asp Val Arg Tyr Pro Leu Ala Ser Asp
 20 25 30
Pro Asn Ala Ala Phe Gln Asn Met Asn Tyr Lys Glu Tyr Leu Gln Thr
 35 40 45
Tyr Asp Gly Asp Tyr Thr Gly Ser Leu Ile Asn Pro Asn Leu Ser Ile
 50 55 60
Asn Pro Arg Asp Val Leu Gln Thr Gly Ile Asn Ile Val Gly Arg Ile
65 70 75 80
Leu Gly Phe Leu Gly Val Pro Phe Ala Gly Gln Leu Val Thr Phe Tyr
 85 90 95
Thr Phe Leu Leu Asn Gln Leu Trp Pro Thr Asn Asp Asn Ala Val Trp
 100 105 110
Glu Ala Phe Met Ala Gln Ile Glu Glu Leu Ile Asp Gln Lys Ile Ser
 115 120 125
Ala Gln Val Val Arg Asn Ala Leu Asp Asp Leu Thr Gly Leu His Asp
 130 135 140
Tyr Tyr Glu Glu Tyr Leu Ala Ala Leu Glu Glu Trp Leu Glu Arg Pro
145 150 155 160
Asn Gly Ala Arg Ala Asn Leu Val Thr Gln Arg Phe Glu Asn Leu His

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (47)

165					170					175						
Thr	Ala	Phe	Val	Thr	Arg	Met	Pro	Ser	Phe	Gly	Thr	Gly	Pro	Gly	Ser	
180					185					190						
Gln	Arg	Asp	Ala	Val	Ala	Leu	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Gln	Ala	Ala	Asn	
195					200					205						
Leu	His	Leu	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Glu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Arg	Trp	
210					215					220						
Gly	Leu	Gln	Gln	Gly	Gln	Ile	Asn	Leu	Tyr	Phe	Asn	Ala	Gln	Gln	Glu	
225					230					235					240	
Arg	Thr	Arg	Ile	Tyr	Thr	Asn	His	Cys	Val	Glu	Thr	Tyr	Asn	Arg	Gly	
245					250					255						
Leu	Glu	Asp	Val	Arg	Gly	Thr	Asn	Thr	Glu	Ser	Trp	Leu	Asn	Tyr	His	
260					265					270						
Arg	Phe	Arg	Arg	Glu	Met	Thr	Leu	Met	Ala	Met	Asp	Leu	Val	Ala	Leu	
275					280					285						
Phe	Pro	Phe	Tyr	Asn	Val	Arg	Gln	Tyr	Pro	Asn	Gly	Ala	Asn	Pro	Gln	
290					295					300						
Leu	Thr	Arg	Glu	Ile	Tyr	Thr	Asp	Pro	Ile	Val	Tyr	Asn	Pro	Pro	Ala	
305					310					315					320	
Asn	Gln	Gly	Ile	Cys	Arg	Arg	Trp	Gly	Asn	Asn	Pro	Tyr	Asn	Thr	Phe	
325					330					335						
Ser	Glu	Leu	Glu	Asn	Ala	Phe	Ile	Arg	Pro	Pro	His	Leu	Phe	Glu	Arg	
340					345					350						
Leu	Asn	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Asn	Arg	Tyr	Thr	Ala	Pro	Thr	Thr	
355					360					365						

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 43)

Asn Ser Phe Leu Asp Tyr Trp Ser Gly His Thr Leu Gln Ser Gln His
370 375 380

Ala Asn Asn Pro Thr Thr Tyr Glu Thr Ser Tyr Gly Gln Ile Thr Ser
385 390 395 400

Asn Thr Arg Leu Phe Asn Thr Thr Asn Gly Ala Arg Ala Ile Asp Ser
405 410 415

Arg Ala Arg Asn Phe Gly Asn Leu Tyr Ala Asn Leu Tyr Gly Val Ser
420 425 430

Ser Leu Asn Ile Phe Pro Thr Gly Val Met Ser Glu Ile Thr Asn Ala
435 440 445

Ala Asn Thr Cys Arg Gln Asp Leu Thr Thr Thr Glu Glu Leu Pro Leu
450 455 460

Glu Asn Asn Asn Phe Asn Leu Leu Ser His Val Thr Phe Leu Arg Phe
465 470 475 480

Asn Thr Thr Gln Gly Gly Pro Leu Ala Thr Leu Gly Phe Val Pro Thr
485 490 495

Tyr Val Trp Thr Arg Glu Asp Val Asp Phe Thr Asn Thr Ile Thr Ala
500 505 510

Asp Arg Ile Thr Gln Leu Pro Trp Val Lys Ala Ser Glu Ile Gly Gly
515 520 525

Gly Thr Thr Val Val Lys Gly Pro Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu
530 535 540

Arg Arg Thr Asp Gly Gly Ala Val Gly Thr Ile Arg Ala Asn Val Asn
545 550 555 560

Ala Pro Leu Thr Gln Gln Tyr Arg Ile Arg Leu Arg Tyr Ala Ser Thr

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 49)

565 570 575
Thr Ser Phe Val Val Asn Leu Phe Val Asn Asn Ser Ala Ala Gly Phe
580 585 590
Thr Leu Pro Ser Thr Met Ala Gln Asn Gly Ser Leu Thr Tyr Glu Ser
595 600 605
Phe Asn Thr Leu Glu Val Thr His Thr Ile Arg Phe Ser Gln Ser Asp
610 615 620
Thr Thr Leu Arg Leu Asn Ile Phe Pro Ser Ile Ser Gly Gln Glu Val
625 630 635 640
Tyr Val Asp Lys Leu Glu Ile Val Pro Ile Asn Pro Thr Arg Glu Ala
645 650 655
Glu Glu Asp Leu Glu Asp Ala Lys Lys Ala Val Ala Ser Leu Phe Thr
660 665 670
Arg Thr Arg Asp Gly Leu Gln Val Asn Val Thr Asp Tyr Gln Val Asp
675 680 685
Gln Ala Ala Asn Leu Val Ser Cys Leu Ser Asp Glu Gln Tyr Gly His
690 695 700
Asp Lys Lys Met Leu Leu Glu Ala Val Arg Ala Ala Lys Arg Leu Ser
705 710 715 720
Arg Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Pro Asp Phe Asn Glu Ile Asn Ser
725 730 735
Thr Glu Glu Asn Gly Trp Lys Ala Ser Asn Gly Val Thr Ile Ser Glu
740 745 750
Gly Gly Pro Phe Phe Lys Gly Arg Ala Leu Gln Leu Ala Ser Ala Arg
755 760 765

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (10)

Glu Asn Tyr Pro Thr Tyr Ile Tyr Gln Lys Val Asp Ala Ser Thr Leu
770 775 780

Lys Pro Tyr Thr Arg Tyr Lys Leu Asp Gly Phe Val Gln Ser Ser Gln
785 790 795 800

Asp Leu Glu Ile Asp Leu Ile His His His Lys Val His Leu Val Lys
805 810 815

Asn Val Pro Asp Asn Leu Val Ser Asp Thr Tyr Ser Asp Gly Ser Cys
820 825 830

Ser Gly Ile Asn Arg Cys Glu Glu Gln His Gln Val Asp Val Gln Leu
835 840 845

Asp Ala Glu Asp His Pro Lys Asp Cys Cys Glu Ala Ala Gln Thr His
850 855 860

Glu Phe Ser Ser Tyr Ile His Thr Gly Asp Leu Asn Ala Ser Val Asp
865 870 875 880

Gln Gly Ile Trp Val Val Leu Gln Val Arg Thr Thr Asp Gly Tyr Ala
885 890 895

Thr Leu Gly Asn Leu Glu Leu Val Glu Val Gly Pro Leu Ser Gly Glu
900 905 910

Ser Leu Glu Arg Glu Gln Arg Asp Asn Ala Lys Trp Asn Glu Glu Val
915 920 925

Gly Arg Lys Arg Ala Glu Thr Asp Arg Ile Tyr Gln Asp Ala Lys Gln
930 935 940

Ala Ile Asn His Leu Phe Val Asp Tyr Gln Asp Gln Gln Leu Ser Pro
945 950 955 960

Glu Val Gly Met Ala Asp Ile Ile Asp Ala Gln Asn Leu Ile Ala Ser

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

A7
B7

五、發明說明 (5/)

	965	970	975
Ile Ser Asp Val Tyr Ser Asp Ala Val Leu Gln Ile Pro Gly Ile Asn			
980	985	990	
Tyr Glu Met Tyr Thr Glu Leu Ser Asn Arg Leu Gln Gln Ala Ser Tyr			
995	1000	1005	
Leu Tyr Thr Ser Arg Asn Val Val Gln Asn Gly Asp Phe Asn Ser Gly			
1010	1015	1020	
Leu Asp Ser Trp Asn Ala Thr Thr Asp Thr Ala Val Gln Gln Asp Gly			
1025	1030	1035	1040
Asn Met His Phe Leu Val Leu Ser His Trp Asp Ala Gln Val Ser Gln			
1045	1050	1055	
Gln Phe Arg Val Gln Pro Asn Cys Lys Tyr Val Leu Arg Val Thr Ala			
1060	1065	1070	
Lys Lys Val Gly Asn Gly Asp Gly Tyr Val Thr Ile Gln Asp Gly Ala			
1075	1080	1085	
His His Arg Glu Thr Leu Thr Phe Asn Ala Cys Asp Tyr Asp Val Asn			
1090	1095	1100	
Gly Thr His Val Asn Asp Asn Ser Tyr Ile Thr Lys Glu Leu Val Phe			
1105	1110	1115	1120
Tyr Pro Lys Thr Glu His Met Trp Val Glu Val Ser Glu Thr Glu Gly			
1125	1130	1135	
Thr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Glu Phe Ile Glu Thr Gln Glu			
1140	1145	1150	

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

錄

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (12)

序 列 編 號 : 3

序 列 長 度 : 2 1

序 列 類 型 : 核 酸

股 數 : 單 股

拓 撲 學 : 直 鏈 狀

序 列 種 類 : 其 他 核 酸 合 成 D N A

序 列

A G R W C C A G G A T T T A Y A G G A G G

序 列 編 號 : 4

序 列 長 度 : 2 0

序 列 類 型 : 核 酸

股 數 : 單 股

拓 撲 學 : 直 鏈 狀

序 列 種 類 : 其 他 核 酸 合 成 D N A

序 列

C C C C T G T A T C A A T A T A G R A A

序 列 編 號 : 5

序 列 長 度 : 2 0

序 列 類 型 : 核 酸

股 數 : 單 股

拓 撲 學 : 直 鏈 狀

序 列 種 類 : 其 他 核 酸 合 成 D N A

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

A7
B7

五、發明說明 (3)

序 列

T A G G T G T T C C A T T T G C G G G T

序 列 編 號 : 6

序 列 長 度 : 2 0

序 列 類 型 : 核 酸

股 數 : 單 股

拓 撲 學 : 直 鏈 狀

序 列 種 類 : 其 他 核 酸 合 成 D N A

序 列

T C T C T A C G G A A T C G A T G G T A

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

90. 2. 05 修正
年 月 日 補充

A5
B5

四、中文發明摘要(發明之名稱：蘇力桿菌之殺蟲性蛋白質及其用途)
本發明為以提供不僅對鱗翅目昆蟲，且對其他昆蟲亦顯示殺蟲活性之 B t 菌、生產該 B t 菌之殺蟲性蛋白質及其基因、生產殺蟲性蛋白質之宿主、及害蟲驅除劑為其目的。

本發明之新菌株為以寄存編號 F E R M B P - 6 1 6 2 寄存，為屬於蘇力桿菌 (Bacillus thuringiensis) 之菌株 S K K - 1 0 。本發明之殺蟲性蛋白質為 (a) 序列編號 2 所記載之胺基酸序列、或 (b) 含有 1 個以上胺基酸為被取代、缺失、加成或插入且具有殺蟲活性之序列編號 2 所記載之胺基酸序列。

英文發明摘要(發明之名稱：Bacillus thuringiensis's insecticidal protein and uses thereof)

An objective of the present invention is to provide Bt bacteria having insecticidal activity not only against insects of the Lepidoptera but also against other insects, an insecticidal protein produced by said Bt bacteria, the genes encoding the protein, hosts to produce the insecticidal protein, and insect pest exterminating agents.

The new strain according to the present invention is strain SSK-10, which is classified into Bacillus thuringiensis, deposited under the access number of FERM BP-6162. The protein according to the present invention comprises (a) an amino acid sequence of SEQ ID NO: 1, or (b) an amino acid sequence of SEQ ID NO: 2 which has insecticidal activity wherein one or more amino acids are substituted, deleted, added or inserted.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

修正
年 月 日
91.3.20 補充

第 86118520 號 專利 申請 案

中文 申請 專利 範圍 修正 本

民國 9 1 年 3 月 修正

1 . 一種 由 下述 (a) 胺 基 酸 序 列 所 組 成 之 源 自 蘇 力 桿 菌 S S K - 1 0 (寄 存 號 碼 C C R C 9 1 0 0 9 4) 之 蛋 白 質 :

(a) 序 列 編 號 2 所 記 載 之 胺 基 酸 序 列 ,

Met	Asn	Arg	Asn	Asn	Pro	Asn	Glu	Tyr	Glu	Ile	Ile	Asp	Ala	Pro	Tyr
1				5						10				15	
Cys	Gly	Cys	Pro	Ser	Asp	Asp	Asp	Val	Arg	Tyr	Pro	Leu	Ala	Ser	Asp
				20						25				30	
Pro	Asn	Ala	Ala	Phe	Gln	Asn	Met	Asn	Tyr	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	Thr
				35						40				45	
Tyr	Asp	Gly	Asp	Tyr	Thr	Gly	Ser	Leu	Ile	Asn	Pro	Asn	Leu	Ser	Ile
				50						55				60	
Asn	Pro	Arg	Asp	Val	Leu	Gln	Thr	Gly	Ile	Asn	Ile	Val	Gly	Arg	Ile
				65						70				75	
Leu	Gly	Phe	Leu	Gly	Val	Pro	Phe	Ala	Gly	Gln	Leu	Val	Thr	Phe	Tyr
										85				90	
Thr	Phe	Leu	Leu	Asn	Gln	Leu	Trp	Pro	Thr	Asn	Asp	Asn	Ala	Val	Trp
										100				105	
Glu	Ala	Phe	Met	Ala	Gln	Ile	Glu	Glu	Leu	Ile	Asp	Gln	Lys	Ile	Ser
										115				120	
Ala	Gln	Val	Val	Arg	Asn	Ala	Leu	Asp	Asp	Leu	Thr	Gly	Leu	His	Asp
										130				135	
Tyr	Tyr	Glu	Glu	Tyr	Leu	Ala	Ala	Leu	Glu	Glu	Trp	Leu	Glu	Arg	Pro
										145				150	
Asn	Gly	Ala	Arg	Ala	Asn	Leu	Val	Thr	Gln	Arg	Phe	Glu	Asn	Leu	His
										155				160	

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

165	170	175	
Thr Ala Phe Val Thr Arg Met Pro Ser Phe Gly Thr Gly Pro Gly Ser			
180	185	190	
Gln Arg Asp Ala Val Ala Leu Leu Thr Val Tyr Ala Gln Ala Ala Asn			
195	200	205	
Leu His Leu Leu Leu Leu Lys Asp Ala Glu Ile Tyr Gly Ala Arg Trp			
210	215	220	
Gly Leu Gln Gln Gly Gln Ile Asn Leu Tyr Phe Asn Ala Gln Gln Glu			
225	230	235	240
Arg Thr Arg Ile Tyr Thr Asn His Cys Val Glu Thr Tyr Asn Arg Gly			
245	250	255	
Leu Glu Asp Val Arg Gly Thr Asn Thr Glu Ser Trp Leu Asn Tyr His			
260	265	270	
Arg Phe Arg Arg Glu Met Thr Leu Met Ala Met Asp Leu Val Ala Leu			
275	280	285	
Phe Pro Phe Tyr Asn Val Arg Gln Tyr Pro Asn Gly Ala Asn Pro Gln			
290	295	300	
Leu Thr Arg Glu Ile Tyr Thr Asp Pro Ile Val Tyr Asn Pro Pro Ala			
305	310	315	320
Asn Gln Gly Ile Cys Arg Arg Trp Gly Asn Asn Pro Tyr Asn Thr Phe			
325	330	335	
Ser Glu Leu Glu Asn Ala Phe Ile Arg Pro Pro His Leu Phe Glu Arg			
340	345	350	
Leu Asn Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asn Arg Tyr Thr Ala Pro Thr Thr			
355	360	365	

(請先閱讀背面之注意事項)

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Asn Ser Phe Leu Asp Tyr Trp Ser Gly His Thr Leu Gln Ser Gln His
370 375 380

Ala Asn Asn Pro Thr Thr Tyr Glu Thr Ser Tyr Gly Gln Ile Thr Ser
385 390 395 400

Asn Thr Arg Leu Phe Asn Thr Thr Asn Gly Ala Arg Ala Ile Asp Ser
405 410 415

Arg Ala Arg Asn Phe Gly Asn Leu Tyr Ala Asn Leu Tyr Gly Val Ser
420 425 430

Ser Leu Asn Ile Phe Pro Thr Gly Val Met Ser Glu Ile Thr Asn Ala
435 440 445

Ala Asn Thr Cys Arg Gln Asp Leu Thr Thr Thr Glu Glu Leu Pro Leu
450 455 460

Glu Asn Asn Asn Phe Asn Leu Leu Ser His Val Thr Phe Leu Arg Phe
465 470 475 480

Asn Thr Thr Gln Gly Gly Pro Leu Ala Thr Leu Gly Phe Val Pro Thr
485 490 495

Tyr Val Trp Thr Arg Glu Asp Val Asp Phe Thr Asn Thr Ile Thr Ala
500 505 510

Asp Arg Ile Thr Gln Leu Pro Trp Val Lys Ala Ser Glu Ile Gly Gly
515 520 525

Gly Thr Thr Val Val Lys Gly Pro Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu
530 535 540

Arg Arg Thr Asp Gly Gly Ala Val Gly Thr Ile Arg Ala Asn Val Asn
545 550 555 560

Ala Pro Leu Thr Gln Gln Tyr Arg Ile Arg Leu Arg Tyr Ala Ser Thr

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

565					570					575									
Thr Ser Phe Val Val Asn Leu Phe Val Asn Asn Ser Ala Ala Gly Phe																			
580					585					590									
Thr Leu Pro Ser Thr Met Ala Gln Asn Gly Ser Leu Thr Tyr Glu Ser																			
595					600					605									
Phe Asn Thr Leu Glu Val Thr His Thr Ile Arg Phe Ser Gln Ser Asp																			
610					615					620									
Thr Thr Leu Arg Leu Asn Ile Phe Pro Ser Ile Ser Gly Gln Glu Val																			
625					630					635					640				
Tyr Val Asp Lys Leu Glu Ile Val Pro Ile Asn Pro Thr Arg Glu Ala																			
645					650					655									
Glu Glu Asp Leu Glu Asp Ala Lys Lys Ala Val Ala Ser Leu Phe Thr																			
660					665					670									
Arg Thr Arg Asp Gly Leu Gln Val Asn Val Thr Asp Tyr Gln Val Asp																			
675					680					685									
Gln Ala Ala Asn Leu Val Ser Cys Leu Ser Asp Glu Gln Tyr Gly His																			
690					695					700									
Asp Lys Lys Met Leu Leu Glu Ala Val Arg Ala Ala Lys Arg Leu Ser																			
705					710					715					720				
Arg Glu Arg Asn Leu Leu Gln Asp Pro Asp Phe Asn Glu Ile Asn Ser																			
725					730					735									
Thr Glu Glu Asn Gly Trp Lys Ala Ser Asn Gly Val Thr Ile Ser Glu																			
740					745					750									
Gly Gly Pro Phe Phe Lys Gly Arg Ala Leu Gln Leu Ala Ser Ala Arg																			
755					760					765									

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

Glu Asn Tyr Pro Thr Tyr Ile Tyr Gln Lys Val Asp Ala Ser Thr Leu
770 775 780

Lys Pro Tyr Thr Arg Tyr Lys Leu Asp Gly Phe Val Gln Ser Ser Gln
785 790 795 800

Asp Leu Glu Ile Asp Leu Ile His His His Lys Val His Leu Val Lys
805 810 815

Asn Val Pro Asp Asn Leu Val Ser Asp Thr Tyr Ser Asp Gly Ser Cys
820 825 830

Ser Gly Ile Asn Arg Cys Glu Glu Gln His Gln Val Asp Val Gln Leu
835 840 845

Asp Ala Glu Asp His Pro Lys Asp Cys Cys Glu Ala Ala Gln Thr His
850 855 860

Glu Phe Ser Ser Tyr Ile His Thr Gly Asp Leu Asn Ala Ser Val Asp
865 870 875 880

Gln Gly Ile Trp Val Val Leu Gln Val Arg Thr Thr Asp Gly Tyr Ala
885 890 895

Thr Leu Gly Asn Leu Glu Leu Val Glu Val Gly Pro Leu Ser Gly Glu
900 905 910

Ser Leu Glu Arg Glu Gln Arg Asp Asn Ala Lys Trp Asn Glu Glu Val
915 920 925

Gly Arg Lys Arg Ala Glu Thr Asp Arg Ile Tyr Gln Asp Ala Lys Gln
930 935 940

Ala Ile Asn His Leu Phe Val Asp Tyr Gln Asp Gln Gln Leu Ser Pro
945 950 955 960

Glu Val Gly Met Ala Asp Ile Ile Asp Ala Gln Asn Leu Ile Ala Ser

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

965	970	975	
Ile Ser Asp Val Tyr Ser Asp Ala Val Leu Gln Ile Pro Gly Ile Asn			
980	985	990	
Tyr Glu Met Tyr Thr Glu Leu Ser Asn Arg Leu Gln Gln Ala Ser Tyr			
995	1000	1005	
Leu Tyr Thr Ser Arg Asn Val Val Gln Asn Gly Asp Phe Asn Ser Gly			
1010	1015	1020	
Leu Asp Ser Trp Asn Ala Thr Thr Asp Thr Ala Val Gln Gln Asp Gly			
1025	1030	1035	1040
Asn Met His Phe Leu Val Leu Ser His Trp Asp Ala Gln Val Ser Gln			
1045	1050	1055	
Gln Phe Arg Val Gln Pro Asn Cys Lys Tyr Val Leu Arg Val Thr Ala			
1060	1065	1070	
Lys Lys Val Gly Asn Gly Asp Gly Tyr Val Thr Ile Gln Asp Gly Ala			
1075	1080	1085	
His His Arg Glu Thr Leu Thr Phe Asn Ala Cys Asp Tyr Asp Val Asn			
1090	1095	1100	
Gly Thr His Val Asn Asp Asn Ser Tyr Ile Thr Lys Glu Leu Val Phe			
1105	1110	1115	1120
Tyr Pro Lys Thr Glu His Met Trp Val Glu Val Ser Glu Thr Glu Gly			
1125	1130	1135	
Thr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Glu Phe Ile Glu Thr Gln Glu			
1140	1145	1150	

(請先閱讀背面之注意事項再為本頁)

言
續

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

2 . 一種核苷酸序列，其係編碼如申請專利範圍第 1 項之源自蘇力桿菌 S S K - 1 0 （寄存號碼 C C R C 9 1 0 0 9 4 ）之蛋白質所成者，

GAACCGAAGG TTTGTAAAAA AGAAATTGGA ATAAATACCA TCCATTTTTT CAAGAAAGAT 60
TTTTTTATTA GAAAGGAATC TTTCTTACAC AGGAGAATAC TAAGATTGAG AGTAGAGATA 120
TATAGATGTC AATACAATAA AGAGTCTGTC AGGTTTTTTG AAAGATATGA TTTGAACATG 180
TAATAGATTT ATAGTATAGG AGGAAAAAGT ATG AAT CGA AAT AAT CCA AAT GAA 234
Met Asn Arg Asn Asn Pro Asn Glu

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

	1	5	
TAT GAA ATT ATT GAT GCC CCC TAT TGT GGG TGT CCG TCA GAT GAT GAT			282
Tyr Glu Ile Ile Asp Ala Pro Tyr Cys Gly Cys Pro Ser Asp Asp Asp			
10	15	20	
GTG AGG TAT CCT TTG GCA AGT GAC CCA AAT GCA GCG TTC CAA AAT ATG			330
Val Arg Tyr Pro Leu Ala Ser Asp Pro Asn Ala Ala Phe Gln Asn Met			
25	30	35	40
AAC TAT AAA GAG TAT TTA CAA ACG TAT GAT GGA GAC TAC ACA GGT TCT			378
Asn Tyr Lys Glu Tyr Leu Gln Thr Tyr Asp Gly Asp Tyr Thr Gly Ser			
45	50	55	
CTT ATC AAT CCT AAC TTA TCT ATT AAT CCT AGA GAT GTA CTA CAA ACA			426
Leu Ile Asn Pro Asn Leu Ser Ile Asn Pro Arg Asp Val Leu Gln Thr			
60	65	70	
GGT ATT AAT ATT GTG GGA AGA ATA CTA GGG TTT TTA GGT GTT CCA TTT			474
Gly Ile Asn Ile Val Gly Arg Ile Leu Gly Phe Leu Gly Val Pro Phe			
75	80	85	
GCG GGT CAA CTA GTT ACT TTC TAT ACC TTT CTC TTA AAT CAG TTG TGG			522
Ala Gly Gln Leu Val Thr Phe Tyr Thr Phe Leu Leu Asn Gln Leu Trp			
90	95	100	
CCA ACT AAT GAT AAT GCA GTA TGG GAA GCT TTT ATG GCG CAA ATA GAA			570
Pro Thr Asn Asp Asn Ala Val Trp Glu Ala Phe Met Ala Gln Ile Glu			
105	110	115	120
GAG CTA ATC GAT CAA AAA ATA TCG GCG CAA GTA GTA AGG AAT GCA CTC			618
Glu Leu Ile Asp Gln Lys Ile Ser Ala Gln Val Val Arg Asn Ala Leu			
125	130	135	

(請先閱讀背面之注意事項)

言
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

GAT GAC TTA ACT GGA TTA CAC GAT TAT TAT GAG GAG TAT TTA GCA GCA	666
Asp Asp Leu Thr Gly Leu His Asp Tyr Tyr Glu Glu Tyr Leu Ala Ala	
140 145 150	
TTA GAG GAG TGG CTG GAA AGA CCG AAC GGA GCA AGA GCT AAC TTA GTT	714
Leu Glu Glu Trp Leu Glu Arg Pro Asn Gly Ala Arg Ala Asn Leu Val	
155 160 165	
ACA CAG AGG TTT GAA AAC CTG CAT ACT GCA TTT GTA ACT AGA ATG CCA	762
Thr Gln Arg Phe Glu Asn Leu His Thr Ala Phe Val Thr Arg Met Pro	
170 175 180	
AGC TTT GGT ACG GGT CCT GGT AGT CAA AGA GAT GCG GTA GCG TTG TTG	810
Ser Phe Gly Thr Gly Pro Gly Ser Gln Arg Asp Ala Val Ala Leu Leu	
185 190 " 195 200	
ACG GTA TAT GCA CAA GCA GCG AAT TTG CAT TTG TTA TTA TTA AAA GAT	858
Thr Val Tyr Ala Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Leu Leu Leu Lys Asp	
205 210 215	
GCA GAA ATC TAT GGG GCA AGA TGG GGA CTT CAA CAA GGG CAA ATT AAC	906
Ala Glu Ile Tyr Gly Ala Arg Trp Gly Leu Gln Gln Gly Gln Ile Asn	
220 225 230	
TTA TAT TTT AAT GCT CAA CAA GAA CGT ACT CGA ATT TAT ACC AAT CAT	954
Leu Tyr Phe Asn Ala Gln Gln Glu Arg Thr Arg Ile Tyr Thr Asn His	
235 240 245	
TGC GTG GAA ACA TAT AAT AGA GGA TTA GAA GAT GTA AGA GGA ACA AAT	1002
Cys Val Glu Thr Tyr Asn Arg Gly Leu Glu Asp Val Arg Gly Thr Asn	
250 255 260	
ACA GAA AGT TGG TTA AAT TAC CAT CGA TTC CGT AGA GAG ATG ACA TTA	1050

(請先閱讀背面之注意事項再
本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

六、申請專利範圍

395	400	405	
AAT GGA CCC CGT GCA ATA GAT TCA AGG GCA AGA AAT TTT GGT AAC TTA	1482		
Asn Gly Ala Arg Ala Ile Asp Ser Arg Ala Arg Asn Phe Gly Asn Leu			
410	415	420	
TAC GCT AAT TTG TAT GGC GTT AGC AGC TTG AAC ATT TTC CCA ACA GGT	1530		
Tyr Ala Asn Leu Tyr Gly Val Ser Ser Leu Asn Ile Phe Pro Thr Gly			
425	430	435	440
GTG ATG AGT GAA ATC ACC AAT GCA GCT AAT ACG TGT CGG CAA GAC CTT	1578		
Val Met Ser Glu Ile Thr Asn Ala Ala Asn Thr Cys Arg Gln Asp Leu			
445	450	455	
ACT ACA ACT GAA GAA CTA CCA CTA GAG AAT AAT AAT TTT AAT CTT TTA	1626		
Thr Thr Thr Glu Glu Leu Pro Leu Glu Asn Asn Asn Phe Asn Leu Leu			
460	465	470	
TCT CAT GTT ACT TTC TTA CGC TTC AAT ACT ACT CAG GGT GGC CCC CTT	1674		
Ser His Val Thr Phe Leu Arg Phe Asn Thr Thr Gln Gly Gly Pro Leu			
475	480	485	
GCA ACT CTA GGG TTT GTA CCC ACA TAT GTG TGG ACA CGT GAA GAT GTA	1722		
Ala Thr Leu Gly Phe Val Pro Thr Tyr Val Trp Thr Arg Glu Asp Val			
490	495	500	
GAT TTT ACG AAC ACA ATT ACT GCG GAT AGA ATT ACA CAA CTA CCA TGG	1770		
Asp Phe Thr Asn Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ile Thr Gln Leu Pro Trp			
505	510	515	520
GTA AAG GCA TCT GAA ATA GGT GGG GGT ACT ACT GTC GTG AAA GGT CCA	1818		
Val Lys Ala Ser Glu Ile Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Lys Gly Pro			
525	530	535	

(請先閱讀背面之注意事項再
本頁)

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

GGA TTT ACA GGA GGG GAT ATA CTT CGA AGA ACG GAC GGT GGT GCA GTT 1866
Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Asp Gly Gly Ala Val
540 545 550

GGA ACG ATT AGA GCT AAT GTT AAT GCC CCA TTA ACA CAA CAA TAT CGT 1914
Gly Thr Ile Arg Ala Asn Val Asn Ala Pro Leu Thr Gln Gln Tyr Arg
555 560 565

ATA AGA TTA CGC TAT GCT TCG ACA ACA AGT TTT GTT GTT AAT TTA TTT 1962
Ile Arg Leu Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Ser Phe Val Val Asn Leu Phe
570 575 580

GTT AAT AAT AGT GCG GCT GGC TTT ACT TTA CCG AGT ACA ATG GCT CAA 2010
Val Asn Asn Ser Ala Ala Gly Phe Thr Leu Pro Ser Thr Met Ala Gln
585 590 595 600

AAT GGT TCT TTA ACA TAC GAG TCG TTT AAT ACC TTA GAG GTA ACT CAT 2058
Asn Gly Ser Leu Thr Tyr Glu Ser Phe Asn Thr Leu Glu Val Thr His
605 610 615

ACT ATT AGA TTT TCA CAG TCA GAT ACT ACA CTT AGG TTG AAT ATA TTC 2106
Thr Ile Arg Phe Ser Gln Ser Asp Thr Thr Leu Arg Leu Asn Ile Phe
620 625 630

CCG TCT ATC TCT GGT CAA GAA GTG TAT GTA GAT AAA CTT GAA ATC GTT 2154
Pro Ser Ile Ser Gly Gln Glu Val Tyr Val Asp Lys Leu Glu Ile Val
635 640 645

CCA ATT AAC CCG ACA CGA GAA GCG GAA GAA GAT TTA GAA GAT GCA AAG 2202
Pro Ile Asn Pro Thr Arg Glu Ala Glu Glu Asp Leu Glu Asp Ala Lys
650 655 660

AAA GCG GTG GCG AGC TTG TTT ACA CGT ACA AGG GAT GGA TTA CAG GTA 2250

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

泉

六、申請專利範圍

795	800	805	
CAT CAT AAA GTC CAC CTC GTG AAA AAT GTA CCA GAT AAT TTA GTA TCT			2682
His His Lys Val His Leu Val Lys Asn Val Pro Asp Asn Leu Val Ser			
810	815	820	
GAT ACT TAT TCT GAT GGC TCA TGT AGT GGA ATT AAC CGT TGT GAG GAA			2730
Asp Thr Tyr Ser Asp Gly Ser Cys Ser Gly Ile Asn Arg Cys Glu Glu			
825	830	835	840
CAA CAT CAG GTA GAT GTG CAG CTA GAT GCG GAG GAT CAT CCA AAG GAT			2778
Gln His Gln Val Asp Val Gln Leu Asp Ala Glu Asp His Pro Lys Asp			
845	850	855	
TGT TGT GAA GCG GCT CAA ACA CAT GAG TTT TCT TCC TAT ATT CAT ACA			2826
Cys Cys Glu Ala Ala Gln Thr His Glu Phe Ser Ser Tyr Ile His Thr			
860	865	870	
GGT GAT CTA AAT GCA AGT GTA GAT CAA GGC ATT TGG GTT GTA TTG CAG			2874
Gly Asp Leu Asn Ala Ser Val Asp Gln Gly Ile Trp Val Val Leu Gln			
875	880	885	
GTT CGA ACA ACA GAT GGT TAT GCG ACG TTA GGA AAT CTT GAA TTG GTA			2922
Val Arg Thr Thr Asp Gly Tyr Ala Thr Leu Gly Asn Leu Glu Leu Val			
890	895	900	
GAG GTT GGT CCA TTA TCG GGT GAA TCT TTA GAA CGA GAA CAA AGA GAT			2970
Glu Val Gly Pro Leu Ser Gly Glu Ser Leu Glu Arg Glu Gln Arg Asp			
905	910	915	920
AAT GCG AAA TGG AAT GAA GAG GTA GGA AGA AAG CGT GCA GAA ACA GAT			3018
Asn Ala Lys Trp Asn Glu Glu Val Gly Arg Lys Arg Ala Glu Thr Asp			
925	930	935	

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

CGC ATA TAT CAA GAT GCG AAA CAA GCA ATT AAC CAT CTA TTT GTA GAC 3066
Arg Ile Tyr Gln Asp Ala Lys Gln Ala Ile Asn His Leu Phe Val Asp
940 945 950
TAT CAA GAT CAA CAA TTA AGT CCA GAG GTA GGG ATG GCG GAT ATT ATT 3114
Tyr Gln Asp Gln Gln Leu Ser Pro Glu Val Gly Met Ala Asp Ile Ile
955 960 965
GAT GCT CAA AAT CTT ATC GCA TCA ATT TCA GAT GTA TAT AGC GAT GCA 3162
Asp Ala Gln Asn Leu Ile Ala Ser Ile Ser Asp Val Tyr Ser Asp Ala
970 975 980
GTA CTG CAA ATC CCT GGG ATT AAC TAC GAG ATG TAT ACA GAG TTA TCC 3210
Val Leu Gln Ile Pro Gly Ile Asn Tyr Glu Met Tyr Thr Glu Leu Ser
985 990 " 995 1000
AAT CGA TTA CAA CAA GCA TCG TAT CTG TAT ACG TCT CGA AAT GTC GTG 3258
Asn Arg Leu Gln Gln Ala Ser Tyr Leu Tyr Thr Ser Arg Asn Val Val
1005 1010 1015
CAA AAT GGG GAC TTT AAC AGT GGT TTA GAT AGT TGG AAT GCA ACA ACT 3306
Gln Asn Gly Asp Phe Asn Ser Gly Leu Asp Ser Trp Asn Ala Thr Thr
1020 1025 1030
GAT ACA GCT GTT CAG CAG GAT GGC AAT ATG CAT TTC TTA GTT CTT TCC 3354
Asp Thr Ala Val Gln Gln Asp Gly Asn Met His Phe Leu Val Leu Ser
1035 1040 1045
CAT TCG GAT GCA CAA GTT TCT CAA CAA TTT AGA GTA CAG CCG AAT TGT 3402
His Trp Asp Ala Gln Val Ser Gln Gln Phe Arg Val Gln Pro Asn Cys
1050 1055 1060
AAA TAT GTG TTA CGT GTG ACA GCG AAG AAA GTA GGG AAC GGA GAT GGA 3450

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

六、申請專利範圍

3. 如申請專利範圍第2項之核苷酸序列，其係具有
序列編號1所記載之核苷酸序列，

ATG AAT CGA AAT AAT CCA AAT GAA										234
Met Asn Arg Asn Asn Pro Asn Glu										
1					5					
TAT GAA ATT ATT GAT GCC CCC TAT TGT GGG TGT CCG TCA GAT GAT GAT										282
Tyr Glu Ile Ile Asp Ala Pro Tyr Cys Gly Cys Pro Ser Asp Asp Asp										
10			15			20				
GTG AGG TAT CCT TTG GCA AGT GAC CCA AAT GCA GCG TTC CAA AAT ATG										330
Val Arg Tyr Pro Leu Ala Ser Asp Pro Asn Ala Ala Phe Gln Asn Met										
25			30			35			40	
AAC TAT AAA GAG TAT TTA CAA ACG TAT GAT GGA GAC TAC ACA GGT TCT										378
Asn Tyr Lys Glu Tyr Leu Gln Thr Tyr Asp Gly Asp Tyr Thr Gly Ser										
45				50				55		
CTT ATC AAT CCT AAC TTA TCT ATT AAT CCT AGA GAT GTA CTA CAA ACA										426
Leu Ile Asn Pro Asn Leu Ser Ile Asn Pro Arg Asp Val Leu Gln Thr										
60			65			70				
GGT ATT AAT ATT GTG GGA AGA ATA CTA GGG TTT TTA GGT GTT CCA TTT										474
Gly Ile Asn Ile Val Gly Arg Ile Leu Gly Phe Leu Gly Val Pro Phe										
75			80			85				
GCG GGT CAA CTA GTT ACT TTC TAT ACC TTT CTC TTA AAT CAG TTG TGG										522
Ala Gly Gln Leu Val Thr Phe Tyr Thr Phe Leu Leu Asn Gln Leu Trp										
90			95			100				
CCA ACT AAT GAT AAT GCA GTA TGG GAA GCT TTT ATG GCG CAA ATA GAA										570
Pro Thr Asn Asp Asn Ala Val Trp Glu Ala Phe Met Ala Gln Ile Glu										
105			110			115			120	
GAG CTA ATC GAT CAA AAA ATA TCG GCG CAA GTA GTA AGG AAT GCA CTC										618
Glu Leu Ile Asp Gln Lys Ile Ser Ala Gln Val Val Arg Asn Ala Leu										
125			130			135				

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

GAT GAC TTA ACT GGA TTA CAC GAT TAT TAT GAG GAG TAT TTA GCA GCA 666
Asp Asp Leu Thr Gly Leu His Asp Tyr Tyr Glu Glu Tyr Leu Ala Ala
140 145 150
TTA GAG GAG TGG CTG GAA AGA CCG AAC GGA GCA AGA GCT AAC TTA GTT 714
Leu Glu Glu Trp Leu Glu Arg Pro Asn Gly Ala Arg Ala Asn Leu Val
155 160 165
ACA CAG AGG TTT GAA AAC CTG CAT ACT GCA TTT GTA ACT AGA ATG CCA 762
Thr Gln Arg Phe Glu Asn Leu His Thr Ala Phe Val Thr Arg Met Pro
170 175 180
AGC TTT GGT ACG GGT CCT GGT AGT CAA AGA GAT GCG GTA GCG TTG TTG 810
Ser Phe Gly Thr Gly Pro Gly Ser Gln Arg Asp Ala Val Ala Leu Leu
185 190 195 200
ACG GTA TAT GCA CAA GCA GCG AAT TTG CAT TTG TTA TTA TTA AAA GAT 858
Thr Val Tyr Ala Gln Ala Ala Asn Leu His Leu Leu Leu Leu Lys Asp
205 210 215
GCA GAA ATC TAT GGG GCA AGA TGG GGA CTT CAA CAA GGG CAA ATT AAC 906
Ala Glu Ile Tyr Gly Ala Arg Trp Gly Leu Gln Gln Gly Gln Ile Asn
220 225 230
TTA TAT TTT AAT GCT CAA CAA GAA CGT ACT CGA ATT TAT ACC AAT CAT 954
Leu Tyr Phe Asn Ala Gln Gln Glu Arg Thr Arg Ile Tyr Thr Asn His
235 240 245
TGC GTG GAA ACA TAT AAT AGA GGA TTA GAA GAT GTA AGA GGA ACA AAT 1002
Cys Val Glu Thr Tyr Asn Arg Gly Leu Glu Asp Val Arg Gly Thr Asn
250 255 260
ACA GAA AGT TGG TTA AAT TAC CAT CGA TTC CGT AGA GAG ATG ACA TTA 1050

(請先閱讀背面之注意事項)

訂線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

六、申請專利範圍

395	400	405	
AAT GGA GCC CGT GCA ATA GAT TCA AGG GCA AGA AAT TTT GGT AAC TTA			1482
Asn Gly Ala Arg Ala Ile Asp Ser Arg Ala Arg Asn Phe Gly Asn Leu			
410	415	420	
TAC GCT AAT TTG TAT GGC GTT AGC AGC TTG AAC ATT TTC CCA ACA GGT			1530
Tyr Ala Asn Leu Tyr Gly Val Ser Ser Leu Asn Ile Phe Pro Thr Gly			
425	430	435	440
GTG ATG AGT GAA ATC ACC AAT GCA GCT AAT ACG TGT CGG CAA GAC CTT			1578
Val Met Ser Glu Ile Thr Asn Ala Ala Asn Thr Cys Arg Gln Asp Leu			
445	450	455	
ACT ACA ACT GAA GAA CTA CCA CTA GAG AAT AAT AAT TTT AAT CTT TTA			1626
Thr Thr Thr Glu Glu Leu Pro Leu Glu Asn Asn Asn Phe Asn Leu Leu			
460	465	470	
TCT CAT GTT ACT TTC TTA CGC TTC AAT ACT ACT CAG GGT GGC CCC CTT			1674
Ser His Val Thr Phe Leu Arg Phe Asn Thr Thr Gln Gly Gly Pro Leu			
475	480	485	
GCA ACT CTA GGG TTT GTA CCC ACA TAT GTG TGG ACA CGT GAA GAT GTA			1722
Ala Thr Leu Gly Phe Val Pro Thr Tyr Val Trp Thr Arg Glu Asp Val			
490	495	500	
GAT TTT ACG AAC ACA ATT ACT GCG GAT AGA ATT ACA CAA CTA CCA TGG			1770
Asp Phe Thr Asn Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ile Thr Gln Leu Pro Trp			
505	510	515	520
GTA AAG GCA TCT GAA ATA GGT GGG GGT ACT ACT GTC GTG AAA GGT CCA			1818
Val Lys Ala Ser Glu Ile Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Lys Gly Pro			
525	530	535	

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

GGA TTT ACA GGA GGG GAT ATA CTT CGA AGA ACG GAC GGT GGT GCA GTT 1866
Gly Phe Thr Gly Gly Asp Ile Leu Arg Arg Thr Asp Gly Gly Ala Val
540 545 550

GGA ACG ATT AGA GCT AAT GTT AAT GCC CCA TTA ACA CAA CAA TAT CGT 1914
Gly Thr Ile Arg Ala Asn Val Asn Ala Pro Leu Thr Gln Gln Tyr Arg
555 560 565

ATA AGA TTA CGC TAT GCT TCG ACA ACA AGT TTT GTT GTT AAT TTA TTT 1962
Ile Arg Leu Arg Tyr Ala Ser Thr Thr Ser Phe Val Val Asn Leu Phe
570 575 580

GTT AAT AAT AGT GCG GCT GGC TTT ACT TTA CCG AGT ACA ATG GCT CAA 2010
Val Asn Asn Ser Ala Ala Gly Phe Thr Leu Pro Ser Thr Met Ala Gln
585 590 595 600

AAT GGT TCT TTA ACA TAC GAG TCG TTT AAT ACC TTA GAG GTA ACT CAT 2058
Asn Gly Ser Leu Thr Tyr Glu Ser Phe Asn Thr Leu Glu Val Thr His
605 610 615

ACT ATT AGA TTT TCA CAG TCA GAT ACT ACA CTT AGG TTG AAT ATA TTC 2106
Thr Ile Arg Phe Ser Gln Ser Asp Thr Thr Leu Arg Leu Asn Ile Phe
620 625 630

CCG TCT ATC TCT GGT CAA GAA GTG TAT GTA GAT AAA CTT GAA ATC GTT 2154
Pro Ser Ile Ser Gly Gln Glu Val Tyr Val Asp Lys Leu Glu Ile Val
635 640 645

CCA ATT AAC CCG ACA CGA GAA GCG GAA GAA GAT TTA GAA GAT GCA AAG 2202
Pro Ile Asn Pro Thr Arg Glu Ala Glu Glu Asp Leu Glu Asp Ala Lys
650 655 660

AAA GCG GTG GCG AGC TTG TTT ACA CGT ACA AGG GAT GGA TTA CAG GTA 2250

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂線

六、申請專利範圍

795	800	805	
CAT CAT AAA GTC CAC CTC GTG AAA AAT GTA CCA GAT AAT TTA GTA TCT			2682
His His Lys Val His Leu Val Lys Asn Val Pro Asp Asn Leu Val Ser			
810	815	820	
GAT ACT TAT TCT GAT GGC TCA TGT AGT GGA ATT AAC CGT TGT GAG GAA			2730
Asp Thr Tyr Ser Asp Gly Ser Cys Ser Gly Ile Asn Arg Cys Glu Glu			
825	830	835	840
CAA CAT CAG GTA GAT GTG CAG CTA GAT GCG GAG GAT CAT CCA AAG GAT			2778
Gln His Gln Val Asp Val Gln Leu Asp Ala Glu Asp His Pro Lys Asp			
845	850	855	
TGT TGT GAA GCG GCT CAA ACA CAT GAG TTT TCT TCC TAT ATT CAT ACA			2826
Cys Cys Glu Ala Ala Gln Thr His Glu Phe Ser Ser Tyr Ile His Thr			
860	865	870	
GGT GAT CTA AAT GCA AGT GTA GAT CAA GGC ATT TGG GTT GTA TTG CAG			2874
Gly Asp Leu Asn Ala Ser Val Asp Gln Gly Ile Trp Val Val Leu Gln			
875	880	885	
GTT CGA ACA ACA GAT GGT TAT GCG ACG TTA GGA AAT CTT GAA TTG GTA			2922
Val Arg Thr Thr Asp Gly Tyr Ala Thr Leu Gly Asn Leu Glu Leu Val			
890	895	900	
GAG GTT GGT CCA TTA TCG GGT GAA TCT TTA GAA CGA GAA CAA AGA GAT			2970
Glu Val Gly Pro Leu Ser Gly Glu Ser Leu Glu Arg Glu Gln Arg Asp			
905	910	915	920
AAT GCG AAA TGG AAT GAA GAG GTA GGA AGA AAG CGT GCA GAA ACA GAT			3018
Asn Ala Lys Trp Asn Glu Glu Val Gly Arg Lys Arg Ala Glu Thr Asp			
925	930	935	

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

訂
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

CGC ATA TAT CAA GAT GCG AAA CAA GCA ATT AAC CAT CTA TTT GTA GAC 3066
Arg Ile Tyr Gln Asp Ala Lys Gln Ala Ile Asn His Leu Phe Val Asp
940 945 950
TAT CAA GAT CAA CAA TTA AGT CCA GAG GTA GGG ATG GCG GAT ATT ATT 3114
Tyr Gln Asp Gln Gln Leu Ser Pro Glu Val Gly Met Ala Asp Ile Ile
955 960 965
GAT GCT CAA AAT CTT ATC GCA TCA ATT TCA GAT GTA TAT AGC GAT GCA 3162
Asp Ala Gln Asn Leu Ile Ala Ser Ile Ser Asp Val Tyr Ser Asp Ala
970 975 980
GTA CTG CAA ATC CCT GGG ATT AAC TAC GAG ATG TAT ACA GAG TTA TCC 3210
Val Leu Gln Ile Pro Gly Ile Asn Tyr Glu Met Tyr Thr Glu Leu Ser
985 990 995 1000
AAT CGA TTA CAA CAA GCA TCG TAT CTG TAT ACG TCT CGA AAT GTC GTG 3258
Asn Arg Leu Gln Gln Ala Ser Tyr Leu Tyr Thr Ser Arg Asn Val Val
1005 1010 1015
CAA AAT GGG GAC TTT AAC AGT GGT TTA GAT AGT TGG AAT GCA ACA ACT 3306
Gln Asn Gly Asp Phe Asn Ser Gly Leu Asp Ser Trp Asn Ala Thr Thr
1020 1025 1030
GAT ACA GCT GTT CAG CAG GAT GGC AAT ATG CAT TTC TTA GTT CTT TCC 3354
Asp Thr Ala Val Gln Gln Asp Gly Asn Met His Phe Leu Val Leu Ser
1035 1040 1045
CAT TGG GAT GCA CAA GTT TCT CAA CAA TTT AGA GTA CAG CCG AAT TGT 3402
His Trp Asp Ala Gln Val Ser Gln Gln Phe Arg Val Gln Pro Asn Cys
1050 1055 1060
AAA TAT GTG TTA CGT GTG ACA GCG AAG AAA GTA GGG AAC GGA GAT GGA 3450

(請先閱讀背面之注意事項再填本頁)

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

Lys Tyr Val Leu Arg Val Thr Ala Lys Lys Val Gly Asn Gly Asp Gly
1065 1070 1075 1080
TAT GTT ACG ATC CAA GAT GGC GCT CAT CAC CGA GAA ACA CTG ACA TTC 3498
Tyr Val Thr Ile Gln Asp Gly Ala His His Arg Glu Thr Leu Thr Phe
 1085 1090 1095
AAT GCA TGT GAC TAC GAT GTA AAT GGT ACG CAT GTA AAT GAT AAT TCG 3546
Asn Ala Cys Asp Tyr Asp Val Asn Gly Thr His Val Asn Asp Asn Ser
 1100 1105 1110
TAT ATT ACA AAA GAA TTG GTG TTC TAT CCA AAG ACG GAA CAT ATG TGG 3594
Tyr Ile Thr Lys Glu Leu Val Phe Tyr Pro Lys Thr Glu His Met Trp
 1115 1120 1125
GTA GAG GTA AGT GAA ACA GAA GGT ACC TTC TAT ATA GAC AGC ATT GAG 3642
Val Glu Val Ser Glu Thr Glu Gly Thr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Glu
 1130 1135 1140
TTC ATT GAA ACA CAA GAG
Phe Ile Glu Thr Gln Glu
1145 1150

- 4 . 如申請專利範圍第 1 項之蛋白質，其為以結晶性蛋白質包涵體之形態。
- 5 . 如申請專利範圍第 1 項之蛋白質，其為以可溶化結晶性蛋白質包涵體之形態。
- 6 . 如申請專利範圍第 1、4 或 5 項之蛋白質，其為由 Bacillus thuringiensis SSK-10 (寄存號碼：C C R C

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

9 1 0 0 9 4) 之菌株所生產。

7 . 一種害蟲之驅除方法，其包含對受到害蟲迫害、或恐受到迫害之植物，以 Bacillus thuringiensis SSK-10 (寄存號碼 C C R C 9 1 0 0 9 4) 之菌株，及／或如申請專利範圍第 1 項所述之蛋白質予以處理者。

8 . 如申請專利範圍第 7 項之方法，其中害蟲為屬於鱗翅目鞘翅目、或雙翅目。

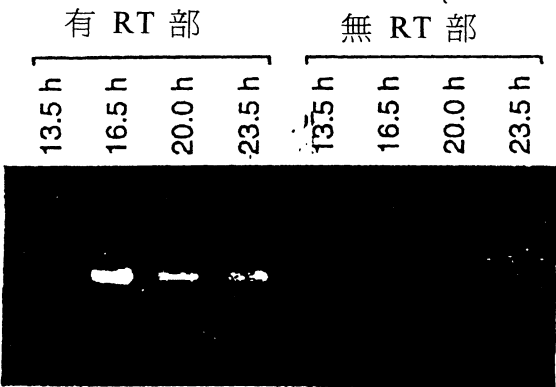
9 . 如申請專利範圍第 7 項之方法，其中害蟲為選自斜紋夜盜 (Spodoptera litura) 、粉蛾 (Plutella xylostella) 、及庫蚊 (Culex pipiens) 。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

修正
82.2.05 補充

///



第 1 圖