



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1496401 B

(45) 授权公告日 2010.05.26

(21) 申请号 02806446.1

(22) 申请日 2002.03.12

(30) 优先权数据

69489/01 2001.03.12 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2003.09.12

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2002/002315 2002.03.12

(87) PCT申请的公布数据

W002/072818 JA 2002.09.19

(73) 专利权人 三得利控股株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 柿本辰男 榊原均

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 段承恩 陈海红

(51) Int. Cl.

C12N 15/09 (2006.01)

C12N 5/14 (2006.01)

C12N 9/10 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

A01H 5/00 (2006.01)

(56) 对比文件

EP 0911412 A, 1999.04.28, 全文.

EP 1033405 A, 2000.09.06, 全文.

作者:Town, C. D. and Kaul, S.. 标

题:Protein sequence Database Accession No. AAG52395. Protein sequence Database 卷号: 期号: 2001, 全文.

作者:EU Arabidopsis

sequencing, project. 标题:Protein sequence Database Accession No. CAB87756. Protein sequence Database 卷号: 期号: 2000, 全文.

作者:EU Arabidopsis

sequencing, project. 标题:Protein Sequence Database Accession No. CAB79375. Protein Sequence Database 卷号: 期号: 2000, 全文.

作者:Town, C. D. and Kaul, S. 标题:Protein sequence Database Accession No. AAG50809. Protein sequence Database 卷号: 期号: 2001, 全文.

作者:AthanasiosTheoiogis et al.. 标题:Sequence and analysis of chromosome 1 of the plant Arabidopsis thaliana. Nature 卷号: 408 期号: 2000, 40816-820.

审查员 王启扬

权利要求书 1 页 说明书 36 页 附图 2 页

(54) 发明名称

编码细胞分裂素合成相关蛋白质的基因

(57) 摘要

本发明提供例如鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 由来的编码序列编号 2, 4, 6, 8, 10, 12 或 14 中所示的氨基酸序列的基因。

1. 一种编码具有细胞分裂素合成活性的蛋白质的基因,所述基因为:
 - (1) 所编码的蛋白质由序列编号 6,8,10 任一者中记载的氨基酸序列组成,或者
 - (2) 所编码的蛋白质由相对于序列编号 6 或 8 中记载的氨基酸序列经过 1 个或几个氨基酸的添加,缺失和 / 或被其他氨基酸置换而被修饰的氨基酸序列组成,或者
 - (3) 与由序列编号 5 或 7 中记载的碱基序列组成的核酸在严格条件下杂交。
2. 通过权利要求 1 中记载的基因编码的蛋白质。
3. 含有权利要求 1 中记载的基因构成的载体。
4. 通过权利要求 3 中记载的载体转化的不为繁殖材料的宿主细胞。
5. 权利要求 4 中记载的宿主细胞,被转化的宿主细胞为植物细胞。
6. 一种细胞分裂素合成酶的制备方法,其特征在于,培养通过权利要求 3 中记载的载体转化的宿主,或使之繁殖,然后从该宿主中获得细胞分裂素合成酶。
7. 被导入了权利要求 1 中记载的基因的不为繁殖材料的植物细胞。
8. 一种调节植物或植物细胞成长的方法,将权利要求 1 中记载的基因导入植物或植物细胞后,使该基因表达。
9. 诱导植物或植物细胞的不定芽形成的方法,将权利要求 1 中记载的基因导入植物或植物细胞后,使该基因表达。

编码细胞分裂素合成相关蛋白质的基因

[0001] 发明所属技术领域

[0002] 本发明涉及编码细胞分裂素生物合成相关蛋白质的基因, 以及其利用方法及其获得方法。

背景技术

[0003] 细胞分裂素是一种重要的植物激素, 具有诱导细胞分裂、形成新芽、打破腋芽的休眠、防止老化、促进果实的肥大等各种各样的作用。细胞分裂素具有在腺嘌呤或腺苷的 6 位氮原子上连有二甲基烯丙基 (异戊烯基) 的结构, 或者进一步将异戊烯基羟基化的结构作为基本骨架。在植物病原性的细菌中, 已知含有细胞分裂素合成酶的细菌。其中, 关于土壤杆菌属的细胞分裂素合成酶 IPT 和 TZS, 已知具有将二甲基烯丙基焦磷酸 (DMAPP) 的二甲基烯丙基转移到腺苷一磷酸 (AMP) 的 6 位氮原子上的活性。这步反应被认为是合成细胞分裂素的最重要的步骤。但是, 植物具有的细胞分裂素合成酶, 以及编码其的基因还没有被确定。

[0004] 发明的公开

[0005] 本发明将提供编码催化细胞分裂素合成的酶的基因, 以及通过其编码的蛋白质及其用途。另外, 本发明还将提供确定该基因的方法。

[0006] 本发明者们发现从鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 获得编码催化细胞分裂素合成的酶的新基因的方法, 并得到了编码催化细胞分裂素合成的酶的新基因。

[0007] 因此, 本发明提供编码与细胞分裂素合成相关的蛋白质的基因。具体来说, 是在植物中未被报道过的, 催化细胞分裂素的导入腺嘌呤的 N6 位侧链的反应的酶。

[0008] 更具体来说, 本发明提供编码具有序列编号 2、4、6、8、10、12 或 14 记载的氨基酸序列, 且与细胞分裂素合成相关的蛋白质的基因。本发明还提供编码具有在序列编号 2、4、6、8、10、12, 或 14 中经过 1 个或多个氨基酸的添加, 缺失和 / 或被其他氨基酸置换而被修饰的氨基酸序列的, 且与细胞分裂素合成相关的蛋白质的基因。更进一步, 本发明提供能与序列编号 1、3、5、7、9、11 或 13 记载的核酸、特别是 DNA 或其部分在严格条件下杂交, 并编码与细胞分裂素的合成相关的蛋白质的基因。

[0009] 本发明还提供含有上述基因的载体。

[0010] 本发明进一步提供通过上述载体被转化的宿主。该宿主可以是植物细胞, 也可以是植物体。

[0011] 本发明还提供将上述宿主进行培养, 栽培, 从而制备与细胞分裂素合成相关的蛋白质的方法。

[0012] 本发明还提供将上述基因导入植物或植物细胞中, 通过使该基因表达, 从而调节植物或者植物细胞成长的方法。即、通过使该基因表达, 来促进不定芽的形成、打破侧芽的休眠、防止花和叶的老化以及果实的成熟、提高花的持久性和维持光合作用、促进果实的肥大, 防止落果、控制花成等, 调节各种与细胞分裂素相关的生理功能。

[0013] 附图的简单说明

[0014] 图 1 是显示质粒 pTK015 的结构图。

[0015] 图 2 是通过 pHM4-AtIPT5 转化的鼠耳芥再生的植物体的照片。

[0016] 发明的实施形态

[0017] 本发明者推定在细胞分裂素的合成中,催化在腺嘌呤骨架的 N6 位导入异戊烯基(二甲基烯丙基)的反应是限速步骤。作为编码与细胞分裂素合成有关的异戊烯基转移酶的基因,已知有根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 的 T-DNA 编码的 *ipt* (gene4) 基因和 Ti-质粒的 *vir* 区域中存在的 *tzs* 基因、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 的几种中存在的 *ptz* 基因、藤黄红球菌 (*Rhodococcus faciens*) 的 *ipt* 基因、以及草生欧文氏菌 (*Erwinia herbicola*) 的 *etz* 基因。这其中,土壤杆菌属 (*Agrobacterium*) 的 *tzs* 和 *ipt*,假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 的 *ptz*,红球菌属 (*Rhodococcus*) 的 *ipt* 基因产物在试管中显示出了 DMAPP:AMP 二甲基烯丙基转移酶的活性。此外,多数生物都具有将异戊烯基从 DMAPP 转移到 tRNA 的酶。植物的细胞分裂素如果也是通过腺嘌呤骨架的异戊烯基化被合成的话,那么催化反应的酶也可能具有和上面提到的异戊烯基转移酶相同的序列。因此,我们首先比较了这些基因产物的氨基酸序列,找出了保守氨基酸残基。它的序列为 :GxTxxGK[ST]xxxxx[VLI]xxxxxxx[VLI][VLI]xxDxxQx[57.60][VLI][VLI]xGG[ST]。其中,x 表示任意的氨基酸残基,用 [] 括起来的氨基酸残基表示其中的氨基酸残基的任意一种,[a, b] 表示 a 或以上,b 或以下数量的任意种类的氨基酸残基。

[0018] 运用 TAIR Pattern Matching program,我们检索了鼠耳芥的基因组序列,找出了被认为含有上述氨基酸序列的基因或推定的基因区域。这些基因有如下 8 个基因:

[0019] AT4g24650(基因组计划推定的基因区域的编号)、

[0020] T20010_210(基因组计划推定的基因区域的编号)、

[0021] T16G12(登录号 AC068809)基因组克隆的 29375-30301bp、

[0022] MDB19.12(基因组计划推定的基因区域的编号)、

[0023] MVI11.6(基因组计划推定的基因区域的编号)、

[0024] T26J14.3(基因组计划推定的基因区域的编号)、

[0025] F2J7.12(基因组计划推定的基因区域的编号)、

[0026] AF109376

[0027] 这 8 个基因及推定基因中,AF109376 的 cDNA 已经被克隆,并注明为 tRNA 异戊烯基转移酶的 mRNA。其余 7 个基因中,T20010_210、MDB19.12、AT4g24650、MVI11.6、T26J14.3、F2J7.12 的全长 cDNA 还没有分离出来,是推定基因,注明为可能是 tRNA 异戊烯基转移酶。至于 T16G12(登录号 AC068809)基因组克隆的 29375-30301bp,还没有注明。

[0028] 与 AT4g24650、T20010_210、T16G12(登录号 AC068809)基因组克隆的 29375-30301bp 相对应的 cDNA、MDB19.12、MVI11.6、T26J14.3、F2J7.12 的基因或推定基因分别被记为 AtIPT4、AtIPT3、AtIPT5、AtIPT7、AtIPT8、AtIPT1、AtIPT6。另外,各碱基序列分别在序列编号 1,3,5,7,9,11 及 13 中显示,而与其对应的氨基酸序列分别在序列编号 2,4,6,8,10,12 及 14 中显示。

[0029] 通常,在培养基中存在细胞分裂素时,鼠耳芥的愈伤组织会形成叶和芽(以下称为枝芽),反之,如果不存在细胞分裂素的话,枝芽一点都不会形成,或者,即使形成的话,频率也非常低。因此,如果将基因导入愈伤组织中并使之表达时,如果愈伤组织在没有细胞分

裂素存在的条件下,也能很好地形成枝芽的话,可认为导入的基因为细胞分裂素合成酶,或者是编码与细胞分裂素应答相关的蛋白质的基因。

[0030] 或者,也可以将得到的基因用大肠杆菌或酵母等的基因表达系进行表达,通过测定酶活性,可确认得到的基因为细胞分裂素合成酶,或是编码与细胞分裂素应答相关的蛋白质的基因。

[0031] 从以上可知,在本发明中,首次可分离・鉴定植物由来的细胞分裂素合成酶,或者编码与细胞分裂素合成相关的蛋白质的基因。

[0032] 本发明还发现,植物的细胞分裂素合成酶可使 DMAPP 的 DMA 基转移到 ATP 和 ADP 上。

[0033] 作为本发明的基因,例如,可列举编码序列编号 2,4,6,8,10,12 或 14 中记载的氨基酸序列的基因。但是,众所周知,具有通过多个氨基酸的添加,缺失和 / 或被其他氨基酸置换而被修饰的氨基酸序列的蛋白质,也可保持与原蛋白质相同的功能。因此,编码含有对于序列编号 2,4,6,8,10,12 或 14 中记载的氨基酸序列通过一个或多个氨基酸的添加,缺失和 / 或被其他氨基酸置换而被修饰的氨基酸序列的,且与细胞分裂素合成酶,或细胞分裂素合成活性相关的蛋白质的被修饰的基因,也同属于本发明的范畴。

[0034] 这里,修饰的程度是指,通过本专利申请前成为公知技术手段的,例如,位点特异性诱变、PCR 等方法,所能达到的可能的程度。在保持细胞分裂素合成酶,或与细胞分裂素合成相关活性的同时,成为修饰对象的氨基酸数目例如为 100 个或以下,例如为 50 个或以下,优选 25 个或以下,例如为 10 个或以下。

[0035] 本发明还提供能与具有序列编号 1,3,5,7,9,11 或 13 中记载的碱基序列的核酸,以及其部分在严格条件下杂交的,且编码细胞分裂素合成酶或者具有与细胞分裂素合成相关的活性的蛋白质的 DNA 构成的基因。这里的严格条件是指,例如在 5xSSC、50℃ 的条件下进行杂交的条件。另外,合适的杂交温度根据碱基序列以及碱基序列的长短而不同,可适当选择进行实施。

[0036] 作为上述杂交对象的基因源,可使用从具有细胞分裂素合成酶,或具有与细胞分裂素合成相关活性的蛋白质的植物、微生物等制备得到的 cDNA 文库、基因组 DNA 文库等,例如,作为植物可列举鼠耳芥、玉米、杨树、矮牵牛花、烟草、水稻、番茄、桉树等。

[0037] 如上得到的编码细胞分裂素合成酶,或者是与细胞分裂素合成相关的蛋白质的基因的碱基序列,与序列编号 1,3,5,7,9,11 或 13 中所示的碱基序列有 50%或以上,60%或以上,优选 70%或以上,或 80%或以上,例如 90%或以上的同源性。

[0038] 编码具有序列编号 2,4,6,8,10,12 或 14 中所示的氨基酸序列的蛋白质的基因,如实施例在具体描述的一样,作为 cDNA 和基因组 DNA,可以从鼠耳芥得到。

[0039] 另外,编码具有被修饰过的氨基酸序列的蛋白质的 DNA,可以以具有固有的碱基序列的 DNA 为基础,使用常用的位点特异性诱变或 PCR 法合成。例如,通过天然的 cDNA 或基因组 DNA 的限制性内切酶处理,得到希望修饰的 DNA 片段,然后以此为模板,用已导入希望变异部分的引物进行位点特异性诱变或 PCR,从而得到导入了所希望的修饰后的 DNA 片段。最后将导入了该变异的 DNA 片段与编码目的蛋白质其他部分的 DNA 片段连接上即可。

[0040] 或者,在要得到编码由缩短的氨基酸序列构成的蛋白质的 DNA 时,可以将编码例如比目标氨基酸序列长的氨基酸序列,例如全长氨基酸序列的 DNA 用希望的限制性内切酶

切断,其结果,在得到的 DNA 片段不编码目标氨基酸序列的全体时,则合成由不足部分的序列构成的 DNA 片段,然后将二者连接起来即可。

[0041] 或者也可使用相对于具有序列编号 2,4,6,8,10,12 或 14 中记载的氨基酸序列的蛋白质的抗体,来得到细胞分裂素合成酶,以及具有细胞分裂素合成相关活性的蛋白质。也可使用抗体克隆其他生物的细胞分裂素合成酶,或者具有细胞分裂素合成相关活性的蛋白质。

[0042] 因此,本发明还涉及含有上述基因的重组载体,特别是表达载体、以及被该载体转化的宿主。作为宿主,可以使用原核生物或真核生物。作为原核生物可以使用细菌、例如属于埃希氏菌属 (*Escherichia*) 的细菌,例如大肠杆菌 (*Escherichia Coli*),可以是芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的微生物,如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 等常用的宿主微生物。作为真核宿主可以是低等真核生物,如酵母或丝状真菌等真核微生物。作为酵母可以列举酵母属 (*Saccharomyces*) 微生物,如酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 等,作为丝状真菌可以列举曲霉属 (*Aspergillus*) 微生物,如米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*),以及青霉属 (*Penicillium*) 微生物。进而,还可以用动物细胞或植物细胞。作为动物细胞可以使用小鼠、大鼠、猴、人等的细胞系,具体如 COS 细胞、Vero 细胞、CHO 细胞、L 细胞、C127 细胞、BALB/c3T3 细胞、Sp-2/0 细胞等。作为植物细胞可以使用烟草、鼠耳芥的培养细胞、杨属、桉属、合欢属等的培养细胞。

[0043] 进而,昆虫细胞、如家蚕细胞 (*Bombyx mori*),或者家蚕的成虫本身也可用作宿主。此外,也可使用例如草地夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 细胞、粉纹夜蛾 (*Trichoplusia ni*) 细胞。

[0044] 作为表达载体,可以使用质粒,噬菌体,噬粒、病毒(杆状病毒(baculovirus)(昆虫中发现)、痘苗病毒(vaccinia virus)(动物细胞中发现)等)。

[0045] 本发明的表达载体,依赖于要将其导入的宿主,含有表达控制区域、如启动子、终止子、复制起点等。作为细菌用表达载体的启动子,可使用 lac 启动子,作为酵母用启动子,可以使用如甘油醛 3-磷酸脱氢酶激酶启动子、PH05 启动子、adhI 启动子、pqr 启动子等,作为丝状真菌用启动子,可以使用淀粉酶启动子、trpC 启动子等。

[0046] 另外,作为昆虫用启动子,可以列举杆状病毒多角体蛋白(baculoviruspolyhedrin)启动子等,作为动物细胞用启动子,可以列举猿猴病毒(SimianVirus)40 的早期及晚期启动子、CMV 启动子、HSV-TK 启动子或 SR α 启动子等。作为植物用启动子,可以列举花椰菜花叶病毒(Cauliflowermosaic virus)的 35S 启动子、胭脂碱(nopaline)合成酶的启动子,作为诱导型启动子,可以列举谷胱甘肽-S-转移酶 II 系基因的启动子、hsp80-启动子、二磷酸核酮糖羧化酶小亚基基因的启动子等。

[0047] 另外,在表达载体中,一个优选的方案是使用除上述外,还含有增强子、拼接信号、poly A 添加信号、选择标志(如二氢叶酸还原酶基因(氨基嘌呤抗性)、neo 基因(G418 抗性)等的载体。另外,使用增强子时,在基因的上游或下游插入例如,SV40 的增强子等。

[0048] 通过表达载体进行的宿主转化中,可以使用本领域常用的方法进行,这些方法记载在例如,Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley&Sons 公司 1995 年版中。转化体的培养也可按照通常的方法操作。从培养物中纯化细胞分裂素合成相关蛋白质,可按照用于蛋白质分离、纯化的常用方法进行,例如,超滤,各种柱层析,例如使用琼脂糖的

柱层析等。

[0049] 按照现在的技术水平,在组成型或诱导型的启动子的调控下,连接该 cDNA 或基因,在使用土壤杆菌属的系统或使用基因枪、电穿孔等的系统,将该基因导入植物中使之表达,由此,在即使通过向培养基中加入植物激素来人为调节,个体再生也是困难的植物,如玫瑰等中,可以促进不定芽的形成。更进一步,通过调控编码细胞分裂素的合成相关的蛋白质的基因表达,可以调节细胞分裂素在植物中显示的各种生理功能,如侧芽的伸长、防止老化、开花期、促进果实的肥大、防止落果等。

实施例

[0050] 以下,通过实例,具体阐述本发明。分子生物学的手法,除非特别说明,依照 Molecular cloning(Sambrook et al.1989) 来操作。

[0051] 实施例 1、编码细胞分裂素合成相关蛋白质的基因的检索和分离

[0052] 将根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 的 *tzs* 基因 (ACCESSION X03933-1, PROTEIN_ID CAA27572.1)、根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 的 *ipt* 基因 (ACCESSION AB025109-1, PROTEIN#ID BAA76344.1)、丁香假单孢菌 (*Pseudomonas syringae*) 的 *ptz* 基因 (ACCESSION X03679-1, PROTEIN_ID CAA27315.1)、藤黄红球菌 (*Rhodococcus fascians*) 的 *ipt* 基因 (ACCESSION Z29635-4, PROTEIN_ID CAA82744.1)、草生欧文氏菌 (*Erwinia herbicola*) 的二甲基烯丙基转移酶基因 (ACCESSION Z46375-2, PROTEIN_ID CAA86510.1)、以及大肠杆菌 (*Escherichia coli*) tRNA 的 δ -2-异戊烯基焦磷酸酯 (IPP) 转移酶基因 (ACCESSION U14003-83, PROTEIN_ID AAA97067.1) 的基因产物的氨基酸序列,用氨基酸序列比较软件 MacVector 6.5.3 的 Clustal V 来解析后,结果发现了保守序列 GxTxxGK[ST]xxxxx[VLI]xxxxxxx[VLI][VLI]xxDxxQx[57,60][VLI][VLI]xGG[ST]。其中, x 表示任意的氨基酸残基,用 [] 括起来的氨基酸残基表示其中的氨基酸残基的任意一种, [a, b] 表示 a 或以上, b 或以下数量的任意种类的氨基酸残基。

[0053] 接着,为了分离被认为含有上述保守氨基酸序列样式的基因或推定基因区域,我们用 TAIR Pattern Matching program 在鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的基因组数据库中进行检索。结果发现,由国际基因组计划推定的基因区域编号 AT4g24650、T20010_210、MDB19.12、MVI11.6、T26J14.3、F2J7.12、AF109376 和 T16G12(登录号 AC068809) 的基因组克隆的 29375-30301bp 这 8 个基因是含有上述保守氨基酸序列的基因。

[0054] 这 8 个基因中,只有 AF109376 的 cDNA 已经被克隆,注明为 tRNA 异戊烯基转移酶 mRNA。但是,AT4g24650、T20010_210、MDB19.12、MVI11.6、T26J14.3、F2J7.12 的全长 cDNA 还没有被分离出来,注明为可能是 tRNA 异戊烯基转移酶。至于 T16G12(登录号 AC068809) 的基因组克隆的 29375-30301bp,连作为推定功能都还没被注明。就是说,对于这 8 个基因只是在电脑上推测出的功能,实验上还没有进行功能解析,实际功能还不清楚。另外,酶活性也没有测定过,酶底物是什么也不清楚。

[0055] 与 AT4g24650 (AtIPT4)、T20010_210 (AtIPT3)、T16G12(登录号 AC068809) 的基因组克隆的 29375-30301bp 对应的 cDNA (AtIPT5)、MDB19.12 (AtIPT7)、MVI11.6 (AtIPT8)、T26J14.3 (AtIPT1)、F2J7.12 (AtIPT6) 的碱基序列分别在序列编号为 1,3,5,7,9,11 和 13 中示出。

[0056] 另外,包括这些碱基所编码的氨基酸序列(序列编号分别为2,4,6,8,10,12,14),以及从DNA数据库(如DNA Data Bank of Japan(DDBJ)、(<http://www.ddbj.nig.ac.jp>)检索得到的有同源性的氨基酸序列,用Clustal W程序(<http://www.ddbj.nig.ac.jp/E-mail/clustalw-e.html>、Thompson, et al. 1994, Nucl. Acids Res. 22, 4673-4680.)作成分子系统树。其结果,在序列编号2,4,6,8,10,12,14显示的序列,显示出与真核生物或细菌的DMAPP:tRNA 异戊烯基转移酶,或者土壤杆菌等目标植物病原菌的细胞分裂素合成相关的异戊烯基转移酶形成了家族。而且,在序列编号2,10,12,14中显示的氨基酸序列形成了一个亚组。作为与这个亚组近缘的基因有来自矮牵牛花的AAL883819(DDBJ 登录号)和来自水稻的BAB86364(DDBJ 登录号)。另外,在序列编号4,6,8中显示的氨基酸序列也形成了一个亚组,这个亚组中有来自百脉根的AW720363(DDBJ 登录号)。

[0057] 实施例2、在植物中编码细胞分裂素合成相关蛋白质的基因的过量表达

[0058] 1) 向植物转导的基因载体的构建

[0059] 将pBI35T(WO 01/16332)用EcoRI和HindIII处理,得到含有花椰菜花叶病毒(Cauliflower mosaic virus)35S RNA基因的启动子、多克隆位点、及35S RNA基因的终止子的DNA片段。然后将此片段与pGPTV-KAN(Becker R et al, Plant Molecular Biology 20, 1195-97, 1992)用HindIII和EcoRI处理后生成的两个片段中较长的片段相连接,得到pTK015(图1)。另外,用同样的方法,将含有花椰菜花叶病毒(Cauliflower mosaic virus)35S RNA基因的启动子、多克隆位点、及35S RNA基因的终止子的DNA片段,与pGPTV-Bar(Becker R et al, Plant Molecular Biology 20, 1195-97, 1992)用HindIII和EcoRI处理后生成的两个片段中较长的片段相连接,得到pTK016。

[0060] AF109376的预测开放阅读框架,是将鼠耳芥(Arabidopsis thaliana)的cDNA文库作为PCR反应的模板DNA,作为引物,使用引物398(5'-TCCCCGGGCG ATGATGATGTTAAACCCTAGC-3')(序列编号15)和引物-399(5'-TCCCCGGTCAATTTACTTCTGCTTCTTGAAGCTTC)(序列编号16),pfxDNA聚合酶(GIBCO BRL),94℃ 2分钟后,(94℃、15秒;53℃、30秒;68℃、2分40秒)X40循环的条件下保温,使DNA扩增。纯化扩增后的DNA后,用SmaI处理,再次纯化DNA后,将其克隆到pTK015的SmaI位点,选择在花椰菜花叶病毒(Cauliflower mosaic virus)35S RNA基因的启动子(35S启动子)的下游按有义方向克隆的产物,作为pTK015-AF109376。

[0061] AtIPT4是以鼠耳芥(Arabidopsis thaliana)的基因组DNA为PCR反应模板,以引物421(AAAATGAAGTGAATGACAAAATGGTTGTG-3')(序列编号17)和引物407(5'-GTCCAA ACTAGTTAAGACTTAAAAATC-3')(序列编号18)为引物,并使用pfxDNA聚合酶(GIBCO BRL),在94℃ 2分钟后,(94℃、15秒;53℃、20秒;68℃、1分)X42循环的条件下保温,使DNA扩增。纯化后克隆到pTK015的SmaI位点。将35S启动子的下游有义方向的克隆产物,作为pTK015-AtIPT4。

[0062] AtIPT3是以鼠耳芥(Arabidopsis thaliana)的基因组DNA为PCR反应模板,作为引物使用引物703(5'-CACCAGCAAGTTTATATTGCAAAGCGT-3')(序列编号19)和引物705(5'-GTTGTAACACGTAAAAGATAAGGGTG-3')(序列编号20),作为耐热性DNA合成酶使用Herculase(商标)(STRATAGENE公司产)使DNA扩增。PCR反应的条件为92℃ 1分钟后,反复操作35次(92℃、30秒;55℃、30秒;70℃、2分30秒)。DNA纯化后,克隆到pTK016的SmaI位

点的平末端。选择 AtIPT3 在 35S 启动子的下游有义方向的克隆产物,作为 pTK016-AtIPT3。

[0063] 将 pTK015 用 SmaI 和 KpnI 切断后,用キアゲン公司的 QUIA 快速 PCR 纯化试剂盒纯化。在其中,通过克隆引物 852 (5'-CTCGAGTTGGCGCGCCACCCGGGATTAATTAAGACTAG TGGGGTAC-3') (序列编号 27) 和引物 853 (5'-CCCACTAGTCTTAATTAATCCCGGTGGCGCGCCAACT CGAG-3') (序列编号 28),变更了 pTK015 的多克隆位点的序列。这里,因为引物 852 和 853 是含有互相互补序列的合成 DNA,因此,该操作通过将 pTK015 用 SmaI 和 KpnI 切断后的片段,与引物 852 和引物 853 在连接酶存在下,在常规条件下保温来进行。将这样得到的质粒命名为 pHM4。pHM4 与 pTK015 的不同之处只是多克隆位点不同。pTK015 的多克隆位点中独有的位点是 XbaI, XhoI, AscI, SmaI, PacI, SpeI, KpnI 和 SalI。

[0064] 将 4 μ g 的 pHM4 用 20 单位的 BamHI 切断后,通过将其一半量在 200 μ M 的脱氧 ATP,脱氧 TTP,脱氧 CTP,脱氧 GTP,1 单位的 pfu DNA 聚合酶 (Stratagene 公司) 存在下,在 70°C 保温 30 分钟,形成平末端。然后将其用 20 单位牛小肠碱性磷酸酶 (Calf Intestine Alkaline Phosphatase) (タカラ 公司) 在 37°C 处理 1 小时,再用 QUII 快速 PCR 纯化试剂盒 (キアゲン 公司) 纯化 DNA。在其中,克隆从鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的基因组 DNA,使用耐热性 DNA 聚合酶 Herculase (Stratagene 公司),引物 918 (5'-ATG ACA GAA CTC AAC TTC CAC CT-3') (序列编号 29) 和引物 879 (5'-CAAAAAAAGATCTAATTTTGCACCAAATGCCG CTT-3') (序列编号 30) 进行扩增 (94°C、20 秒;55°C、30 秒;72°C、1 分的周期,循环 35 次) 得到的 DNA 片段,然后再次将其克隆,得到 pHM4-AtIPT1。

[0065] 用与构建 pHM4-AtIPT1 相同的方法,将克隆了从鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的基因组 DNA,使用引物 533 (5'-ATTATGCAAAATCTTACGTCCACATTCGTC-3') (序列编号 31) 和引物 881 (5'-ACAGGATCCTCACACTTTGTCTTTCACCAAG-3') (序列编号 32) 作为引物扩增后的 DNA 片段的产物,再经进一步克隆,得到 pHM4-AtIPT8。

[0066] 将从序列编号 5 中记载的翻译起始点 ATG 上游 66bps 开始,包括序列编号 6 的全部编码区域的序列,使用引物 856 (5'-CCGCTCGAGATGAAGCCATGCATGACGGCTC-3') (序列编号 33) 和引物 857 (5'-GGACTAGTCACCGGGAATCGCCGCCA-3') (序列编号 34),以从 Columbia 野生株 (宝酒造 公司) 中提取出来的基因组 DNA 为模板,进行 PCR 扩增。由于这些引物中含有限制性内切酶的切点,因此将 PCR 产物用 XhoI 和 SpeI 处理,再将该 DNA 片段克隆到在植物中过量表达的载体 pHM4 中,将其命名为 pHM4-AtIPT5。

[0067] 2) 向植物中导入基因

[0068] 使用土壤杆菌属,将 pTK015, pTK015-AF109376, pTK015-AtIPT4 和 pTK016-AtIPT3 转入鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的愈伤组织中。使用土壤杆菌属转入基因的方法,是依据 Akama 等的方法 (Akama, K. et al. 1992 Plant Cell Rep. 12, 7-11.)。将基因导入后的愈伤组织,在不含细胞分裂素的培养基 [在 GM 培养基 (Akama, K. et al. 1992 Plant Cell Rep. 12, 7-11.) 中,含有 50 μ g/ml 卡那霉素硫酸盐,100 μ g/ml 头孢噻肟,100 μ g/ml 万古霉素和 0.3 μ g/ml 吡啶乙酸] 和含有细胞分裂素的培养基 (在不含细胞分裂素的培养基中加入了 0.5 μ g/ml 反式玉米素的培养基) 中分别培养。观察 2 周后发现,用 pTK015 和 pTK015-AF109376 转化后的愈伤组织,在不含细胞分裂素的培养基中都没有枝芽形成,而只在含有细胞分裂素的培养基中都形成了枝芽。与此相对,用 pTK015-AtIPT4 转化后的愈伤组织,在不含细胞分裂素和含有细胞分裂素的培养基中,都有枝芽形成。另外,用

pTK016-AtIPT3 转化后的愈伤组织也一样,在不含细胞分裂素和含有细胞分裂素的培养基中,都有枝芽形成。

[0069] 将分别导入了 pHM4, pHM4-AtIPT1, pHM4-AtIPT8, pHM4-AtIPT5 的鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 愈伤组织,在含有 $0.2 \mu\text{g/ml}$ 吲哚乙酸, $50 \mu\text{g/ml}$ 卡那霉素, $100 \mu\text{g/ml}$ 头孢噻肟,但不含有细胞分裂素的培养基中培养,操作方法与在愈伤组织中导入 AtIPT4 的实施例相同。结果发现,导入 pHM4 后的愈伤组织没有形成枝芽,而导入 pHM4-AtIPT1, pHM4-AtIPT8 和 pHM4-AtIPT5 后的愈伤组织形成了枝芽。

[0070] 由此表明,在 AtIPT4 和 AtIPT3 中,具有枝芽诱导能力和细胞分裂素合成能力。

[0071] 另外显示,通过 AtIPT1, AtIPT5, AtIPT8 的过量表达,可以引起细胞分裂素应答。

[0072] 3) pHM4-AtIPT5 在植物中的过量表达

[0073] 将 pHM4-AtIPT5 使用减压浸润土壤杆菌感染法(荒木崇、秀润社、细胞工学别册、植物细胞工学系列 4、模型植物的实验指南、109 ~ 113 页)在鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中进行转化,将得到的种子在含有 $50 \mu\text{g/ml}$ 卡那霉素的 MS 琼脂培养基中栽培,筛选转化体。将这些转化体在加入有 1/2 浓度 MS 培养基的蛭石上栽培时,发现在多个体中形成了极多的侧芽(成为浓密状)(图 2)。而作为对照栽培的 pHM4 的转化体,则没有观察到上述表现型。由此可知,如果过剩表达 AtIPT5,则缺乏顶端优势,但可促进侧芽形成。

[0074] 实例 3、细胞分裂素合成相关蛋白质的酶活性测定

[0075] 1) 酶活性测定用质粒的构建

[0076] 以实例 2 中构建的 pTK015-AtIPT4 作为 PCR 反应的模板,作为引物使用引物 480 (5'-GGAATTCATATGAAGTGTAATGACAAAATGGTTG-3')(序列编号 21) 和引物 481 (5'-GAAGATC TGTCCAACTAGTTAAGACTTAAAAATC-3')(序列编号 22),使用 LA taq(宝酒造),将编码区域进行扩增。将其纯化后,用 NdeI 和 BglIII 处理,再次纯化 DNA。然后将此 DNA 片段克隆到 pET16b(Novagen 公司)的 NdeI 和 BamHI 位点之间,做成 pET16b-AtIPT4。

[0077] 另外,以 pTK015-AF109376 为 PCR 反应的模板,作为引物使用引物 550 (5'-GATCCCCGGCATATGA TGATGTTAAACCCTAGC-3')(序列编号 23) 和引物 551 (5'-ACGG TACCCATATGTCAATTTACTTCTGCTTCTTGAAC-3')(序列编号 24),作为耐热性 DNA 聚合酶使用 Herculase(Stratagene 公司),将编码区域进行扩增。将其用 NdeI 处理后,克隆到 pET16b 的 NdeI 位点,制成 pET16b-AF109376。

[0078] 进一步,以鼠耳芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的基因组 DNA 为 PCR 反应的模板,作为引物使用引物 741 (5'-TTATACATA TGAAGCCATGCATGACGGCTCTAAG-3')(序列编号 25) 和引物 742 (5'-CGGGATCCTCACCGGGAATCGCCGCCA-3')(序列编号 26),作为耐热性酶使用 LA taq(宝酒造),将编码区域进行扩增。将其纯化后,用 NdeI 和 BamHI 处理,然后克隆到 pET15b(Novagen 公司)的 NdeI 和 BamHI 之间,做成 pET15b-AtIPT5。

[0079] 2) 大肠杆菌提取液的酶活性测定

[0080] 如前所述,AtIPT1, AtIPT4, AtIPT8 和 AtIPT6 形成了一个亚组,AtIPT3, AtIPT5 和 AtIPT7 形成了另一个亚组。分别对于一个基因,在大肠杆菌中测定活性。

[0081] 将导入了 pET16b-AtIPT4, pET16b-AF109376, 或者 pET15b-AtIPT5 的大肠杆菌 AD494(DE3)pLysS 株在 20°C , 1mM IPTG 存在下培养 12 小时后,离心收集细菌,向菌体中加入缓冲溶液 A (25mM Tris-HCl, 50mM KCl, 5mM β -巯基乙醇, 1mM PMSF, $20 \mu\text{g/ml}$ 亮氨酸)以

使 OD600 = 100 后,通过冻融破碎大肠杆菌。然后将其在 300000g 下离心 10 分钟,回收上清液。将该上清液 10 μ l,与含有 60 μ M DMAPP、5 μ M 3 HAMP (722GBq/mmol)、10mM MgCl₂ 的缓冲溶液 A 10 μ l, 25°C 下保温 30 分钟。然后,向该反应液中加入 Tris-HCl (pH = 9) 使之成为 50mM,加入牛小肠碱性磷酸酶至终浓度为 2 单位/30 μ l,通过在 37°C 保温 30 分钟进行脱磷酸反应。将反应液用 C18 反相薄层色谱(移动相为 50% 甲醇)展开,通过放射自显影检测反应产物。结果发现,在加入了含有 pET16b-AtIPT4 和 pET15b-AtIPT5 的大肠杆菌的提取液的反应液中,有异戊烯基腺苷的生成。然而,在导入了含有 pET16b-AF109376 的大肠杆菌的提取液中,未见有异戊烯基腺苷的生成。

[0082] 3) 纯化蛋白质的酶活性测定

[0083] 与实施例 3-(1) 同样,将 AtIPT4 克隆到 pET32b (Novagen 公司) 中,与实施例 3-(2) 同样,调制大肠杆菌提取液,将其称为样品 A。向样品 A 800 μ l 中加入 400 μ l Ni-NT 琼脂糖悬浊液(通过沉淀含有 110 μ l Ni-NT 琼脂糖, 30mM NaH₂PO₄ (pH8), 15mM 咪唑, 0.9M NaCl, 7.5mM β -巯基乙醇, 0.5mM PMSF, 30 μ g/ml 亮肽素)。将该悬浊液称为样品 B。将样品 B 离心,分成上清(样品 C)和沉淀部分。向沉淀中加入洗液(20mM NaH₂PO₄ (pH8), 10mM 咪唑, 0.3M NaCl, 5mM β -巯基乙醇, 0.5mM PMSF, 10 μ g/ml 亮肽素),用通过离心回收的操作将琼脂糖洗涤 4 次。然后将该 Ni-NT 琼脂糖悬浮于 500 μ l 洗液中,将其称为样品 D。将样品 D 50 μ l 与 50 μ l 2X 其中含有 0.25 μ M 的 3 H 标记的各种核酸 ATP, ADP, AMP、腺苷、腺嘌呤之一的反应液(25mM Tris-HCl (pH7.5), 75mM KCl, 10mM MgCl₂, 10 μ g/ml 亮肽素, 1mM PMSF, 66 μ M DMAPP) 混合,在 23°C 下反应 30 分钟,向该反应液中加入 700 μ l 乙酸乙酯,搅拌,离心后,回收乙酸乙酯层 550 μ l。向其中加入 500 μ l 蒸馏水,再次搅拌,离心后,分离乙酸乙酯层 350 μ l,向其中再加入 500 μ l 蒸馏水,再次搅拌,离心后,向乙酸乙酯层中的 50 μ l 乙酸乙酯中,加入 0.5ml 的 ACSII (ファルマシア),用液体闪烁计数器测定放射能。结果发现,DMAPP 的二甲基烯丙基被高效率的转移到了 ATP 和 ADP 上。由此可见,AtIPT4 产物具有将二甲基烯丙基转移到 ATP 和 ADP 上的活性。

[0084] 使用纯化过的重组 AtIPT4 蛋白质 (2ng/ml),在 0.4mM DMAPP 的存在下,测定相对于 ATP 的 K_m 为 18 μ M。此数值是比得上 tzs 相对于 AMP 的 K_m 11.1 μ M 的数值 (Morris et al. Aust. J. Plant Physiol. 20, 621-637, 1933)。另外,在 200 μ M ATP 存在下,测定相对于 DMAPP 的 K_m 时,为 6.5 μ M。

[0085] 同样,AtIPT1 也编码具有将二甲基烯丙基转移到 ATP 和 ADP 上的活性的蛋白质。

[0086] 4) 反应产物的鉴定

[0087] 将上述的样品 D 与等量的 2X 反应液(含有 1mM ATP 和 1mM DMAPP) 混合,在 25°C 使之反应 1 小时。离心后,将上清分成 2 等份,将其中一份用牛小肠碱性磷酸酶处理。分别用 3 倍体积的丙酮稀释后,在 -80°C 保存 30 分钟后,在 17,000xg 下离心 30 分钟,除去蛋白质。将上清液减压干燥后,溶解于甲醇。将其中一部分用 Chemocobond ODS-W 柱 (Chemco 公司) 分馏。先用 20mM KH₂PO₄ 洗脱 15 分钟后,用含有从 20mM KH₂PO₄ 到 4mM KH₂PO₄ 的 80% 乙醇水溶液进行 30 分钟线性梯度洗脱。未用牛小肠碱性磷酸酶处理的样品,在 Chemocobond ODS-W 柱层析主要出现了 2 个峰,其中先出现的峰的保留时间与 ATP 一致,后出现的峰(峰 A) 的保留时间与 ATP、腺苷、异戊烯基腺苷中任一个的保留时间都不相同。用牛小肠碱性磷酸酶处理的样品,在 Chemocobond ODS-W 柱层析也主要出现了 2 个峰,其中先出现的峰的保

留时间与腺苷一致,后出现的峰(峰B)的保留时间与异戊烯基腺苷的保留时间一致。

[0088] 将峰A和峰B的馏分干燥后,溶解于乙醇中,用快原子轰击质谱(JMS-SX102或JEOL MStation, JEOL DATUM Ltd.)进行解析。结果为,来自峰A的化合物的信号,由于阻碍3磷酸基离子化,所以没有得到。来自峰B的化合物的信号为m/z值为336和204,前者与异戊烯基腺苷相对应,后者与异戊烯基腺苷的分解产物相对应。由此可知,峰A是作为异戊烯基腺苷被磷酸化的化合物异戊烯基ATP(也称为iPTP)。

[0089] 产业上的可利用性

[0090] 使序列编号2,6所示的基因在大肠杆菌表达时,均显示有细胞分裂素合成活性。另外,在将序列编号2,4,6,10,12所示的基因的酶在植物中过量表达时,可以引起细胞分裂素应答。同时也发现,序列编号2,10,12和14或序列编号4,6和8,分别在分子系统上具有极近的关系。因此,这些都可认为是细胞分裂素合成酶。通过调控本发明的基因以及类似基因的表达,可以调节细胞分裂,分化,腋芽的成长,调节营养成分的分配,抑制老化,生殖成长以及种子的成长等。而且,由于是植物基因,因此在导入了这些基因的植物中表达的蛋白质不太可能出现毒性。

[0091] 由于作为细胞分裂素合成的基质,可以高效率的利用ATP,因此可以期待,与以AMP为基质的细菌由来的细胞分裂素合成基因相比,本发明的基因应该在植物体内发挥更良好的机能。

[0092] 序列表

[0093] <110>三得利株式会社

[0094] <120>编码细胞分裂素合成相关蛋白质的基因

[0095] <130>

[0096] <160>34

[0097] <170>Patent In version 3.1

[0098] <210>1

[0099] <211>957

[0100] <212>DNA

[0101] <213>鼠耳芥

[0102] <220>

[0103] <221>CDS

[0104] <222>(1)..(957)

[0105] <223>编码细胞分裂素合成酶样蛋白质的DNA的核苷酸序列(AtIPT4)

[0106] <400>1

[0107] atg aag tgt aat gac aaa atg gtt gtg atc atg ggt gcc acc ggt tct 48

[0108] Met Lys Cys Asn Asp Lys Met Val Val Ile Met Gly Ala Thr Gly Ser

[0109] 1 5 10 15

[0110] ggc aag tca tca ctc tct gtt gat ctc gct tta cat ttt aaa gcc gag 96

[0111] Gly Lys Ser Ser Leu Ser Val Asp Leu Ala Leu His Phe Lys Ala Glu

[0112] 20 25 30

[0113] atc atc aac tct gac aaa atg cag ttc tac gat ggc ttg aag atc acc 144

[0114]	Ile Ile Asn Ser Asp Lys Met Gln Phe Tyr Asp Gly Leu Lys Ile Thr	
[0115]	35 40 45	
[0116]	acg aat caa tcg acc att gaa gat cga cgt gga gtg cca cat cac ctt	192
[0117]	Thr Asn Gln Ser Thr Ile Glu Asp Arg Arg Gly Val Pro His His Leu	
[0118]	50 55 60	
[0119]	ctc ggt gaa cta aac ccg gag gct gga gaa gtc aca gcg gca gaa ttt	240
[0120]	Leu Gly Glu Leu Asn Pro Glu Ala Gly Glu Val Thr Ala Ala Glu Phe	
[0121]	65 70 75 80	
[0122]	cgc gtt atg gcg gct gaa gcc atc tcc gag att act caa cgt aaa aag	288
[0123]	Arg Val Met Ala Ala Glu Ala Ile Ser Glu Ile Thr Gln Arg Lys Lys	
[0124]	85 90 95	
[0125]	ctc cca atc ctt gcc ggt gga tcc aac tca tac att cat gct ctc ctt	336
[0126]	Leu Pro Ile Leu Ala Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Ile His Ala Leu Leu	
[0127]	100 105 110	
[0128]	gca aaa tct tat gac cct gaa aac tat ccg ttt tct gat cac aag ggc	384
[0129]	Ala Lys Ser Tyr Asp Pro Glu Asn Tyr Pro Phe Ser Asp His Lys Gly	
[0130]	115 120 125	
[0131]	tca atc tgc tcc gag ttg aaa tat gat tgt tgt ttc att tgg ata gat	432
[0132]	Ser Ile Cys Ser Glu Leu Lys Tyr Asp Cys Cys Phe Ile Trp Ile Asp	
[0133]	130 135 140	
[0134]	gtg gat cag tct gtg tta ttc gag tat ctt tct tta cgt ttg gat ctt	480
[0135]	Val Asp Gln Ser Val Leu Phe Glu Tyr Leu Ser Leu Arg Leu Asp Leu	
[0136]	145 150 155 160	
[0137]	atg atg aag tca ggt atg ttc gag gag atc gct gag ttc cac cgc tct	528
[0138]	Met Met Lys Ser Gly Met Phe Glu Glu Ile Ala Glu Phe His Arg Ser	
[0139]	165 170 175	
[0140]	aag aag gcc ccg aaa gag cca ttg ggg ata tgg aag gct ata gga gtg	576
[0141]	Lys Lys Ala Pro Lys Glu Pro Leu Gly Ile Trp Lys Ala Ile Gly Val	
[0142]	180 185 190	
[0143]	caa gag ttt gat gac tac ctc aaa atg tac aag tgg gac aat gac atg	624
[0144]	Gln Glu Phe Asp Asp Tyr Leu Lys Met Tyr Lys Trp Asp Asn Asp Met	
[0145]	195 200 205	
[0146]	gat aaa tgg gac cct atg aga aag gag gct tat gag aag gcg gtg aga	672
[0147]	Asp Lys Trp Asp Pro Met Arg Lys Glu Ala Tyr Glu Lys Ala Val Arg	
[0148]	210 215 220	
[0149]	gcc atc aaa gaa aac aca ttt cag ctc aca aag gat caa atc acg aag	720
[0150]	Ala Ile Lys Glu Asn Thr Phe Gln Leu Thr Lys Asp Gln Ile Thr Lys	
[0151]	225 230 235 240	
[0152]	atc aac aag ctg aga aat gcc ggg tgg gac ata aag aag gtg gat gct	768

[0153] Ile Asn Lys Leu Arg Asn Ala Gly Trp Asp Ile Lys Lys Val Asp Ala
 [0154] 245 250 255
 [0155] aca gca tcg ttt cga gag gca att agg gca gcc aag gaa ggc gaa ggt 816
 [0156] Thr Ala Ser Phe Arg Glu Ala Ile Arg Ala Ala Lys Glu Gly Glu Gly
 [0157] 260 265 270
 [0158] gta gcc gag atg cag aga aag ata tgg aac aag gaa gtg ttg gaa ccg 864
 [0159] Val Ala Glu Met Gln Arg Lys Ile Trp Asn Lys Glu Val Leu Glu Pro
 [0160] 275 280 285
 [0161] tgt gtg aag att gtc agg agc cac ttg gac caa ccg atc aac tat tat 912
 [0162] Cys Val Lys Ile Val Arg Ser His Leu Asp Gln Pro Ile Asn Tyr Tyr
 [0163] 290 295 300
 [0164] tat tat tac ttt tat tta cta aaa aga ttt tta agt ctt aac tag 957
 [0165] Tyr Tyr Tyr Phe Tyr Leu Leu Lys Arg Phe Leu Ser Leu Asn
 [0166] 305 310 315
 [0167] <210>2
 [0168] <211>318
 [0169] <212>PRT
 [0170] <213> 鼠耳芥
 [0171] <400>2
 [0172] Met Lys Cys Asn Asp Lys Met Val Val Ile Met Gly Ala Thr Gly Ser
 [0173] 1 5 10 15
 [0174] Gly Lys Ser Ser Leu Ser Val Asp Leu Ala Leu His Phe Lys Ala Glu
 [0175] 20 25 30
 [0176] Ile Ile Asn Ser Asp Lys Met Gln Phe Tyr Asp Gly Leu Lys Ile Thr
 [0177] 35 40 45
 [0178] Thr Asn Gln Ser Thr Ile Glu Asp Arg Arg Gly Val Pro His His Leu
 [0179] 50 55 60
 [0180] Leu Gly Glu Leu Asn Pro Glu Ala Gly Glu Val Thr Ala Ala Glu Phe
 [0181] 65 70 75 80
 [0182] Arg Val Met Ala Ala Glu Ala Ile Ser Glu Ile Thr Gln Arg Lys Lys
 [0183] 85 90 95
 [0184] Leu Pro Ile Leu Ala Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Ile His Ala Leu Leu
 [0185] 100 105 110
 [0186] Ala Lys Ser Tyr Asp Pro Glu Asn Tyr Pro Phe Ser Asp His Lys Gly
 [0187] 115 120 125
 [0188] Ser Ile Cys Ser Glu Leu Lys Tyr Asp Cys Cys Phe Ile Trp Ile Asp
 [0189] 130 135 140
 [0190] Val Asp Gln Ser Val Leu Phe Glu Tyr Leu Ser Leu Arg Leu Asp Leu
 [0191] 145 150 155 160

[0192]	Met Met Lys Ser Gly Met Phe Glu Glu Ile Ala Glu Phe His Arg Ser	
[0193]	165 170 175	
[0194]	Lys Lys Ala Pro Lys Glu Pro Leu Gly Ile Trp Lys Ala Ile Gly Val	
[0195]	180 185 190	
[0196]	Gln Glu Phe Asp Asp Tyr Leu Lys Met Tyr Lys Trp Asp Asn Asp Met	
[0197]	195 200 205	
[0198]	Asp Lys Trp Asp Pro Met Arg Lys Glu Ala Tyr Glu Lys Ala Val Arg	
[0199]	210 215 220	
[0200]	Ala Ile Lys Glu Asn Thr Phe Gln Leu Thr Lys Asp Gln Ile Thr Lys	
[0201]	225 230 235 240	
[0202]	Ile Asn Lys Leu Arg Asn Ala Gly Trp Asp Ile Lys Lys Val Asp Ala	
[0203]	245 250 255	
[0204]	Thr Ala Ser Phe Arg Glu Ala Ile Arg Ala Ala Lys Glu Gly Glu Gly	
[0205]	260 265 270	
[0206]	Val Ala Glu Met Gln Arg Lys Ile Trp Asn Lys Glu Val Leu Glu Pro	
[0207]	275 280 285	
[0208]	Cys Val Lys Ile Val Arg Ser His Leu Asp Gln Pro Ile Asn Tyr Tyr	
[0209]	290 295 300	
[0210]	Tyr Tyr Tyr Phe Tyr Leu Leu Lys Arg Phe Leu Ser Leu Asn	
[0211]	305 310 315	
[0212]	<210>3	
[0213]	<211>1011	
[0214]	<212>DNA	
[0215]	<213> 鼠耳芥	
[0216]	<220>	
[0217]	<221>CDS	
[0218]	<222>(1).. (1011)	
[0219]	<223> 编码细胞分裂素合成酶样蛋白质的 DNA 的核苷酸序列 (AtIPT3)	
[0220]	<400>3	
[0221]	atg atc atg aag ata tct atg gct atg tgc aaa caa cca ttg cct cct	48
[0222]	Met Ile Met Lys Ile Ser Met Ala Met Cys Lys Gln Pro Leu Pro Pro	
[0223]	1 5 10 15	
[0224]	tcg ccg act tta gac ttc cct cca gcg aga ttt ggt ccc aat atg cta	96
[0225]	Ser Pro Thr Leu Asp Phe Pro Pro Ala Arg Phe Gly Pro Asn Met Leu	
[0226]	20 25 30	
[0227]	act cta aac cca tac ggt cca aag gac aaa gtt gtg gtc atc atg ggt	144
[0228]	Thr Leu Asn Pro Tyr Gly Pro Lys Asp Lys Val Val Val Ile Met Gly	
[0229]	35 40 45	
[0230]	gct acc ggg aca ggc aag tca cga ctc tcc gtg gat ata gcc aca cgt	192

[0231]	Ala Thr Gly Thr Gly Lys Ser Arg Leu Ser Val Asp Ile Ala Thr Arg	
[0232]	50 55 60	
[0233]	ttt cgg gct gag atc ata aac tca gac aag ata caa gtc cac caa ggt	240
[0234]	Phe Arg Ala Glu Ile Ile Asn Ser Asp Lys Ile Gln Val His Gln Gly	
[0235]	65 70 75 80	
[0236]	cta gac att gta acc aac aag atc acg agc gag gag agc tgc ggg gta	288
[0237]	Leu Asp Ile Val Thr Asn Lys Ile Thr Ser Glu Glu Ser Cys Gly Val	
[0238]	85 90 95	
[0239]	ccg cac cat ctc ctc ggc gtc ttg ccg cct gaa gcc gac tta acc gcc	336
[0240]	Pro His His Leu Leu Gly Val Leu Pro Pro Glu Ala Asp Leu Thr Ala	
[0241]	100 105 110	
[0242]	gcg aat tac tgt cac atg gcg aat ctc tcc att gaa tcc gtc cta aac	384
[0243]	Ala Asn Tyr Cys His Met Ala Asn Leu Ser Ile Glu Ser Val Leu Asn	
[0244]	115 120 125	
[0245]	cgt gga aag ctt cca atc atc gtt gga ggt tcc aac tct tac gtg gag	432
[0246]	Arg Gly Lys Leu Pro Ile Ile Val Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Val Glu	
[0247]	130 135 140	
[0248]	gct cta gtg gat gac aaa gaa aac aag ttc agg tcg aga tac gac tgt	480
[0249]	Ala Leu Val Asp Asp Lys Glu Asn Lys Phe Arg Ser Arg Tyr Asp Cys	
[0250]	145 150 155 160	
[0251]	tgt ttt cta tgg gtg gac gtg gea ctt ccc gtt ttg cac ggg ttc gtg	528
[0252]	Cys Phe Leu Trp Val Asp Val Ala Leu Pro Val Leu His Gly Phe Val	
[0253]	165 170 175	
[0254]	tct gag aga gtt gac aag atg gtg gag agt gga atg gtt gag gaa gtc	576
[0255]	Ser Glu Arg Val Asp Lys Met Val Glu Ser Gly Met Val Glu Glu Val	
[0256]	180 185 190	
[0257]	aga gaa ttt ttc gac ttt tcg aac tct gat tac tca aga ggg atc aag	624
[0258]	Arg Glu Phe Phe Asp Phe Ser Asn Ser Asp Tyr Ser Arg Gly Ile Lys	
[0259]	195 200 205	
[0260]	aaa gca atc gga ttt ccg gag ttt gac agg ttt ttc agg aac gag cag	672
[0261]	Lys Ala Ile Gly Phe Pro Glu Phe Asp Arg Phe Phe Arg Asn Glu Gln	
[0262]	210 215 220	
[0263]	ttc ttg aat gtg gaa gac aga gaa gaa ctg tta agt aaa gtg ttg gaa	720
[0264]	Phe Leu Asn Val Glu Asp Arg Glu Glu Leu Leu Ser Lys Val Leu Glu	
[0265]	225 230 235 240	
[0266]	gaa ata aag agg aat aca ttt gag tta gct tgt agg cag aga gaa aag	768
[0267]	Glu Ile Lys Arg Asn Thr Phe Glu Leu Ala Cys Arg Gln Arg Glu Lys	
[0268]	245 250 255	
[0269]	atc gaa cgg ttg aga aaa gtg aag aag tgg tct att cag aga gtg gat	816

[0270] Ile Glu Arg Leu Arg Lys Val Lys Lys Trp Ser Ile Gln Arg Val Asp
 [0271] 260 265 270
 [0272] gcg act cca gtc ttt aca aag cga agg tcc aag atg gat gct aac gtg 864
 [0273] Ala Thr Pro Val Phe Thr Lys Arg Arg Ser Lys Met Asp Ala Asn Val
 [0274] 275 280 285
 [0275] gcc tgg gag agg ctc gtg gct gga cca agc aca gat act gtg tcg cgg 912
 [0276] Ala Trp Glu Arg Leu Val Ala Gly Pro Ser Thr Asp Thr Val Ser Arg
 [0277] 290 295 300
 [0278] ttt ctg ctg gac att gcc agc cga cga ccg ctc gtg gaa gct tca aca 960
 [0279] Phe Leu Leu Asp Ile Ala Ser Arg Arg Pro Leu Val Glu Ala Ser Thr
 [0280] 305 310 315 320
 [0281] gcg gtt gcg gcc gcc atg gaa cgc gag ttg tcg cgg tgt cta gtg gcg 1008
 [0282] Ala Val Ala Ala Ala Met Glu Arg Glu Leu Ser Arg Cys Leu Val Ala
 [0283] 325 330 335
 [0284] tga 1011
 [0285] <210>4
 [0286] <211>336
 [0287] <212>PRT
 [0288] <213> 鼠耳芥
 [0289] <400>4
 [0290] Met Ile Met Lys Ile Ser Met Ala Met Cys Lys Gln Pro Leu Pro Pro
 [0291] 1 5 10 15
 [0292] Ser Pro Thr Leu Asp Phe Pro Pro Ala Arg Phe Gly Pro Asn Met Leu
 [0293] 20 25 30
 [0294] Thr Leu Asn Pro Tyr Gly Pro Lys Asp Lys Val Val Val Ile Met Gly
 [0295] 35 40 45
 [0296] Ala Thr Gly Thr Gly Lys Ser Arg Leu Ser Val Asp Ile Ala Thr Arg
 [0297] 50 55 60
 [0298] Phe Arg Ala Glu Ile Ile Asn Ser Asp Lys Ile Gln Val His Gln Gly
 [0299] 65 70 75 80
 [0300] Leu Asp Ile Val Thr Asn Lys Ile Thr Ser Glu Glu Ser Cys Gly Val
 [0301] 85 90 95
 [0302] Pro His His Leu Leu Gly Val Leu Pro Pro Glu Ala Asp Leu Thr Ala
 [0303] 100 105 110
 [0304] Ala Asn Tyr Cys His Met Ala Asn Leu Ser Ile Glu Ser Val Leu Asn
 [0305] 115 120 125
 [0306] Arg Gly Lys Leu Pro Ile Ile Val Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Val Glu
 [0307] 130 135 140
 [0308] Ala Leu Val Asp Asp Lys Glu Asn Lys Phe Arg Ser Arg Tyr Asp Cys

[0309]	145	150	155	160
[0310]	Cys Phe Leu Trp Val Asp Val Ala Leu Pro Val Leu His Gly Phe Val			
[0311]		165	170	175
[0312]	Ser Glu Arg Val Asp Lys Met Val Glu Ser Gly Met Val Glu Glu Val			
[0313]		180	185	190
[0314]	Arg Glu Phe Phe Asp Phe Ser Asn Ser Asp Tyr Ser Arg Gly Ile Lys			
[0315]		195	200	205
[0316]	Lys Ala Ile Gly Phe Pro Glu Phe Asp Arg Phe Phe Arg Asn Glu Gln			
[0317]		210	215	220
[0318]	Phe Leu Asn Val Glu Asp Arg Glu Glu Leu Leu Ser Lys Val Leu Glu			
[0319]	225	230	235	240
[0320]	Glu Ile Lys Arg Asn Thr Phe Glu Leu Ala Cys Arg Gln Arg Glu Lys			
[0321]		245	250	255
[0322]	Ile Glu Arg Leu Arg Lys Val Lys Lys Trp Ser Ile Gln Arg Val Asp			
[0323]		260	265	270
[0324]	Ala Thr Pro Val Phe Thr Lys Arg Arg Ser Lys Met Asp Ala Asn Val			
[0325]		275	280	285
[0326]	Ala Trp Glu Arg Leu Val Ala Gly Pro Ser Thr Asp Thr Val Ser Arg			
[0327]		290	295	300
[0328]	Phe Leu Leu Asp Ile Ala Ser Arg Arg Pro Leu Val Glu Ala Ser Thr			
[0329]	305	310	315	320
[0330]	Ala Val Ala Ala Ala Met Glu Arg Glu Leu Ser Arg Cys Leu Val Ala			
[0331]		325	330	335
[0332]	<210>5			
[0333]	<211>990			
[0334]	<212>DNA			
[0335]	<213> 鼠耳芥			
[0336]	<220>			
[0337]	<221>CDS			
[0338]	<222>(1)..(990)			
[0339]	<223> 编码细胞分裂素合成酶样蛋白质的 DNA 的核苷酸序列 (AtIPT5)			
[0340]	<400>5			
[0341]	atg aag cca tgc atg acg gct cta aga caa gtg att caa cca ttg tcg			48
[0342]	Met Lys Pro Cys Met Thr Ala Leu Arg Gln Val Ile Gln Pro Leu Ser			
[0343]	1	5	10	15
[0344]	ttg aac ttc caa gga aac atg gtg gac gtt ccg ttt ttc cgg cga aaa			96
[0345]	Leu Asn Phe Gln Gly Asn Met Val Asp Val Pro Phe Phe Arg Arg Lys			
[0346]		20	25	30
[0347]	gac aag gtt gtt ttc gtc atg gga gcc acc gga acc ggc aaa tct cgt			144

[0348]	Asp Lys Val Val Phe Val Met Gly Ala Thr Gly Thr Gly Lys Ser Arg	
[0349]	35 40 45	
[0350]	cta gcc att gac cta gcc act cgt ttt ccg gcg gag att gta aac tcc	192
[0351]	Leu Ala Ile Asp Leu Ala Thr Arg Phe Pro Ala Glu Ile Val Asn Ser	
[0352]	50 55 60	
[0353]	gac aag atc cag gtc tat aaa ggt cta gac att gtg act aac aaa gtc	240
[0354]	Asp Lys Ile Gln Val Tyr Lys Gly Leu Asp Ile Val Thr Asn Lys Val	
[0355]	65 70 75 80	
[0356]	act cct gag gaa agc ctt ggc gtt cct cac cac ctt ctc ggc acc gtc	288
[0357]	Thr Pro Glu Glu Ser Leu Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Thr Val	
[0358]	85 90 95	
[0359]	cac gac act tac gaa gat ttc acg gcg gag gat ttt cag cgt gaa gca	336
[0360]	His Asp Thr Tyr Glu Asp Phe Thr Ala Glu Asp Phe Gln Arg Glu Ala	
[0361]	100 105 110	
[0362]	atc agg gcc gtc gag tca atc gtc cag aga gac cgt gtc ccg atc ata	384
[0363]	Ile Arg Ala Val Glu Ser Ile Val Gln Arg Asp Arg Val Pro Ile Ile	
[0364]	115 120 125	
[0365]	gcc ggt ggt tcc aat tct tac atc gag gct ctg gtc aac gat tgc gtt	432
[0366]	Ala Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Ile Glu Ala Leu Val Asn Asp Cys Val	
[0367]	130 135 140	
[0368]	gac ttc cgg tta agg tat aat tgt tgc ttc ttg tgg gtc gac gtc tct	480
[0369]	Asp Phe Arg Leu Arg Tyr Asn Cys Cys Phe Leu Trp Val Asp Val Ser	
[0370]	145 150 155 160	
[0371]	aga ccg gtt tta cac tcg ttt gtc tcg gag cga gtt gat aag atg gtt	528
[0372]	Arg Pro Val Leu His Ser Phe Val Ser Glu Arg Val Asp Lys Met Val	
[0373]	165 170 175	
[0374]	gat atg ggt ctc gtc gac gag gtt cgc cgc atc ttc gat ccg tct tcg	576
[0375]	Asp Met Gly Leu Val Asp Glu Val Arg Arg Ile Phe Asp Pro Ser Ser	
[0376]	180 185 190	
[0377]	tcg gat tac tcc gct gga att cgc cga gcc att gga gtt cca gag ctc	624
[0378]	Ser Asp Tyr Ser Ala Gly Ile Arg Arg Ala Ile Gly Val Pro Glu Leu	
[0379]	195 200 205	
[0380]	gac gaa ttt ctc cgt tcg gag atg cgg aat tat ccg gcg gag acg acg	672
[0381]	Asp Glu Phe Leu Arg Ser Glu Met Arg Asn Tyr Pro Ala Glu Thr Thr	
[0382]	210 215 220	
[0383]	gag aga ctt ctt gaa acg gcg atc gag aag att aaa gag aac act tgt	720
[0384]	Glu Arg Leu Leu Glu Thr Ala Ile Glu Lys Ile Lys Glu Asn Thr Cys	
[0385]	225 230 235 240	
[0386]	ttg ctt gcg tgt aga caa ttg cag aag att caa agg ctt tac aag cag	768

[0387] Leu Leu Ala Cys Arg Gln Leu Gln Lys Ile Gln Arg Leu Tyr Lys Gln
 [0388] 245 250 255
 [0389] tgg aag tgg aac atg cac cgt gtc gac gcg acg gag gtt ttt ctc cga 816
 [0390] Trp Lys Trp Asn Met His Arg Val Asp Ala Thr Glu Val Phe Leu Arg
 [0391] 260 265 270
 [0392] cga gga gaa gaa gct gat gag gct tgg gat aac tca gtg gct cat ccg 864
 [0393] Arg Gly Glu Glu Ala Asp Glu Ala Trp Asp Asn Ser Val Ala His Pro
 [0394] 275 280 285
 [0395] agc gca ctc gcc gtc gaa aag ttc ctt agt tac agc gat gac cac cat 912
 [0396] Ser Ala Leu Ala Val Glu Lys Phe Leu Ser Tyr Ser Asp Asp His His
 [0397] 290 295 300
 [0398] ttg gaa ggc gcc aat att ctc cta ccg gag atc tct gcc gtt ccg cct 960
 [0399] Leu Glu Gly Ala Asn Ile Leu Leu Pro Glu Ile Ser Ala Val Pro Pro
 [0400] 305 310 315 320
 [0401] ctt cca gcc gcc gtg gcg gcg att tcc cgg 990
 [0402] Leu Pro Ala Ala Val Ala Ala Ile Ser Arg
 [0403] 325 330
 [0404] <210>6
 [0405] <211>330
 [0406] <212>PRT
 [0407] <213> 鼠耳芥
 [0408] <400>6
 [0409] Met Lys Pro Cys Met Thr Ala Leu Arg Gln Val Ile Gln Pro Leu Ser
 [0410] 1 5 10 15
 [0411] Leu Asn Phe Gln Gly Asn Met Val Asp Val Pro Phe Phe Arg Arg Lys
 [0412] 20 25 30
 [0413] Asp Lys Val Val Phe Val Met Gly Ala Thr Gly Thr Gly Lys Ser Arg
 [0414] 35 40 45
 [0415] Leu Ala Ile Asp Leu Ala Thr Arg Phe Pro Ala Glu Ile Val Asn Ser
 [0416] 50 55 60
 [0417] Asp Lys Ile Gln Val Tyr Lys Gly Leu Asp Ile Val Thr Asn Lys Val
 [0418] 65 70 75 80
 [0419] Thr Pro Glu Glu Ser Leu Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Thr Val
 [0420] 85 90 95
 [0421] His Asp Thr Tyr Glu Asp Phe Thr Ala Glu Asp Phe Gln Arg Glu Ala
 [0422] 100 105 110
 [0423] Ile Arg Ala Val Glu Ser Ile Val Gln Arg Asp Arg Val Pro Ile Ile
 [0424] 115 120 125
 [0425] Ala Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Ile Glu Ala Leu Val Asn Asp Cys Val

[0426]	130	135	140	
[0427]	Asp Phe Arg Leu Arg Tyr Asn Cys Cys Phe Leu Trp Val Asp Val Ser			
[0428]	145	150	155	160
[0429]	Arg Pro Val Leu His Ser Phe Val Ser Glu Arg Val Asp Lys Met Val			
[0430]		165	170	175
[0431]	Asp Met Gly Leu Val Asp Glu Val Arg Arg Ile Phe Asp Pro Ser Ser			
[0432]		180	185	190
[0433]	Ser Asp Tyr Ser Ala Gly Ile Arg Arg Ala Ile Gly Val Pro Glu Leu			
[0434]		195	200	205
[0435]	Asp Glu Phe Leu Arg Ser Glu Met Arg Asn Tyr Pro Ala Glu Thr Thr			
[0436]	210	215	220	
[0437]	Glu Arg Leu Leu Glu Thr Ala Ile Glu Lys Ile Lys Glu Asn Thr Cys			
[0438]	225	230	235	240
[0439]	Leu Leu Ala Cys Arg Gln Leu Gln Lys Ile Gln Arg Leu Tyr Lys Gln			
[0440]		245	250	255
[0441]	Trp Lys Trp Asn Met His Arg Val Asp Ala Thr Glu Val Phe Leu Arg			
[0442]		260	265	270
[0443]	Arg Gly Glu Glu Ala Asp Glu Ala Trp Asp Asn Ser Val Ala His Pro			
[0444]		275	280	285
[0445]	Ser Ala Leu Ala Val Glu Lys Phe Leu Ser Tyr Ser Asp Asp His His			
[0446]	290	295	300	
[0447]	Leu Glu Gly Ala Asn Ile Leu Leu Pro Glu Ile Ser Ala Val Pro Pro			
[0448]	305	310	315	320
[0449]	Leu Pro Ala Ala Val Ala Ala Ile Ser Arg			
[0450]		325	330	
[0451]	<210>7			
[0452]	<211>990			
[0453]	<212>DNA			
[0454]	<213> 鼠耳芥			
[0455]	<220>			
[0456]	<221>CDS			
[0457]	<222>(1)..(990)			
[0458]	<223> 编码细胞分裂素合成酶样蛋白质的 DNA 的核苷酸序列 (AtIPT7)			
[0459]	<400>7			
[0460]	atg aag ttc tca atc tca tca ctg aag cag gta caa cca atc ttg tgc			48
[0461]	Met Lys Phe Ser Ile Ser Ser Leu Lys Gln Val Gln Pro Ile Leu Cys			
[0462]	1	5	10	15
[0463]	ttc aag aac aag cta tct aag gtc aac gtc aac tct ttt ctc cat ccc			96
[0464]	Phe Lys Asn Lys Leu Ser Lys Val Asn Val Asn Ser Phe Leu His Pro			

[0465]	20	25	30	
[0466]	aaa gaa aaa gtc atc ttt gtg atg gga gct acc gga tcg ggt aag tct			144
[0467]	Lys Glu Lys Val Ile Phe Val Met Gly Ala Thr Gly Ser Gly Lys Ser			
[0468]	35	40	45	
[0469]	cgt ctc gcc atc gac cta gca act cgt ttt caa gga gag atc ata aac			192
[0470]	Arg Leu Ala Ile Asp Leu Ala Thr Arg Phe Gln Gly Glu Ile Ile Asn			
[0471]	50	55	60	
[0472]	tcc gac aag att caa ctt tac aag ggc cta gac gtc cta aca aac aaa			240
[0473]	Ser Asp Lys Ile Gln Leu Tyr Lys Gly Leu Asp Val Leu Thr Asn Lys			
[0474]	65	70	75	80
[0475]	gtc acc cct aaa gaa tgc cga ggc gtg cct cac cac ttg ctt gga gta			288
[0476]	Val Thr Pro Lys Glu Cys Arg Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Val			
[0477]	85	90	95	
[0478]	ttc gac tcc gaa gcc gga aac cta acg gcc acc cag tat agc cgc ctt			336
[0479]	Phe Asp Ser Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ala Thr Gln Tyr Ser Arg Leu			
[0480]	100	105	110	
[0481]	gcg tca caa gca atc tcg aaa ctc tca gcg aac aac aag ctt ccc ata			384
[0482]	Ala Ser Gln Ala Ile Ser Lys Leu Ser Ala Asn Asn Lys Leu Pro Ile			
[0483]	115	120	125	
[0484]	gta gcc ggt gga tca aac tct tac atc gaa gca ctt gtt aat cat tcc			432
[0485]	Val Ala Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Ile Glu Ala Leu Val Asn His Ser			
[0486]	130	135	140	
[0487]	tcg ggg ttt tta tta aac aac tac gat tgt tgt ttc att tgg gtc gac			480
[0488]	Ser Gly Phe Leu Leu Asn Asn Tyr Asp Cys Cys Phe Ile Trp Val Asp			
[0489]	145	150	155	160
[0490]	gtt tcc tta ccc gta ctt aac tcc ttt gtc tca aaa cgt gtc gac cgc			528
[0491]	Val Ser Leu Pro Val Leu Asn Ser Phe Val Ser Lys Arg Val Asp Arg			
[0492]	165	170	175	
[0493]	atg atg gaa gca gga tta ctc gaa gaa gta aga gaa gtg ttc aat cca			576
[0494]	Met Met Glu Ala Gly Leu Leu Glu Glu Val Arg Glu Val Phe Asn Pro			
[0495]	180	185	190	
[0496]	aaa gcg aat tac tcc gta ggg ata cga cga gct atc gga gtc ccc gag			624
[0497]	Lys Ala Asn Tyr Ser Val Gly Ile Arg Arg Ala Ile Gly Val Pro Glu			
[0498]	195	200	205	
[0499]	ctc cat gaa tat tta cgt aac gaa tct cta gtg gac cgt gcc aca aaa			672
[0500]	Leu His Glu Tyr Leu Arg Asn Glu Ser Leu Val Asp Arg Ala Thr Lys			
[0501]	210	215	220	
[0502]	agt aaa atg ctt gac gta gcc gtt aaa aat atc aaa aag aac act gag			720
[0503]	Ser Lys Met Leu Asp Val Ala Val Lys Asn Ile Lys Lys Asn Thr Glu			

[0504]	225	230	235	240	
[0505]	att tta gct tgt cga cag tta aaa aag att caa cgg ctt cac aag aag				768
[0506]	Ile Leu Ala Cys Arg Gln Leu Lys Lys Ile Gln Arg Leu His Lys Lys				
[0507]		245	250	255	
[0508]	tgg aag atg tct atg cat cgt gtt gac gcc act gag gtg ttc ttg aaa				816
[0509]	Trp Lys Met Ser Met His Arg Val Asp Ala Thr Glu Val Phe Leu Lys				
[0510]		260	265	270	
[0511]	cgc aac gta gaa gaa caa gac gag gct tgg gag aat ctt gta gcg aga				864
[0512]	Arg Asn Val Glu Glu Gln Asp Glu Ala Trp Glu Asn Leu Val Ala Arg				
[0513]		275	280	285	
[0514]	cca agc gag aga atc gtc gat aag ttt tat aat aat aat aac caa ctg				912
[0515]	Pro Ser Glu Arg Ile Val Asp Lys Phe Tyr Asn Asn Asn Asn Gln Leu				
[0516]		290	295	300	
[0517]	aaa aat gat gat gtt gag cac tgt ttg gcg gca tct tac ggc gga gga				960
[0518]	Lys Asn Asp Asp Val Glu His Cys Leu Ala Ala Ser Tyr Gly Gly Gly				
[0519]	305	310	315	320	
[0520]	agt gga agt aga gcc cac aat atg ata tga				990
[0521]	Ser Gly Ser Arg Ala His Asn Met Ile				
[0522]		325			
[0523]	<210>8				
[0524]	<211>329				
[0525]	<212>PRT				
[0526]	<213> 鼠耳芥				
[0527]	<400>8				
[0528]	Met Lys Phe Ser Ile Ser Ser Leu Lys Gln Val Gln Pro Ile Leu Cys				
[0529]	1	5	10	15	
[0530]	Phe Lys Asn Lys Leu Ser Lys Val Asn Val Asn Ser Phe Leu His Pro				
[0531]		20	25	30	
[0532]	Lys Glu Lys Val Ile Phe Val Met Gly Ala Thr Gly Ser Gly Lys Ser				
[0533]		35	40	45	
[0534]	Arg Leu Ala Ile Asp Leu Ala Thr Arg Phe Gln Gly Glu Ile Ile Asn				
[0535]		50	55	60	
[0536]	Ser Asp Lys Ile Gln Leu Tyr Lys Gly Leu Asp Val Leu Thr Asn Lys				
[0537]	65	70	75	80	
[0538]	Val Thr Pro Lys Glu Cys Arg Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Val				
[0539]		85	90	95	
[0540]	Phe Asp Ser Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ala Thr Gln Tyr Ser Arg Leu				
[0541]		100	105	110	
[0542]	Ala Ser Gln Ala Ile Ser Lys Leu Ser Ala Asn Asn Lys Leu Pro Ile				

[0543]	115	120	125	
[0544]	Val Ala Gly Gly Ser Asn Ser Tyr Ile Glu Ala Leu Val Asn His Ser			
[0545]	130	135	140	
[0546]	Ser Gly Phe Leu Leu Asn Asn Tyr Asp Cys Cys Phe Ile Trp Val Asp			
[0547]	145	150	155	160
[0548]	Val Ser Leu Pro Val Leu Asn Ser Phe Val Ser Lys Arg Val Asp Arg			
[0549]	165	170	175	
[0550]	Met Met Glu Ala Gly Leu Leu Glu Glu Val Arg Glu Val Phe Asn Pro			
[0551]	180	185	190	
[0552]	Lys Ala Asn Tyr Ser Val Gly Ile Arg Arg Ala Ile Gly Val Pro Glu			
[0553]	195	200	205	
[0554]	Leu His Glu Tyr Leu Arg Asn Glu Ser Leu Val Asp Arg Ala Thr Lys			
[0555]	210	215	220	
[0556]	Ser Lys Met Leu Asp Val Ala Val Lys Asn Ile Lys Lys Asn Thr Glu			
[0557]	225	230	235	240
[0558]	Ile Leu Ala Cys Arg Gln Leu Lys Lys Ile Gln Arg Leu His Lys Lys			
[0559]	245	250	255	
[0560]	Trp Lys Met Ser Met His Arg Val Asp Ala Thr Glu Val Phe Leu Lys			
[0561]	260	265	270	
[0562]	Arg Asn Val Glu Glu Gln Asp Glu Ala Trp Glu Asn Leu Val Ala Arg			
[0563]	275	280	285	
[0564]	Pro Ser Glu Arg Ile Val Asp Lys Phe Tyr Asn Asn Asn Asn Gln Leu			
[0565]	290	295	300	
[0566]	Lys Asn Asp Asp Val Glu His Cys Leu Ala Ala Ser Tyr Gly Gly Gly			
[0567]	305	310	315	320
[0568]	Ser Gly Ser Arg Ala His Asn Met Ile			
[0569]	325			
[0570]	<210>9			
[0571]	<211>993			
[0572]	<212>DNA			
[0573]	<213> 鼠耳芥			
[0574]	<220>			
[0575]	<221>CDS			
[0576]	<222>(1).. (993)			
[0577]	<223> 细胞分裂素合成酶样蛋白质的氨基酸序列 (AtIPT8)			
[0578]	<400>9			
[0579]	atg caa aat ctt acg tcc aca ttc gtc tct cct tcc atg atc ccg atc			48
[0580]	Met Gln Asn Leu Thr Ser Thr Phe Val Ser Pro Ser Met Ile Pro Ile			
[0581]	1	5	10	15

[0582]	act tct ccg cgg ctg cga ctg cca cca cca cga tca gta gtt ccc atg	96
[0583]	Thr Ser Pro Arg Leu Arg Leu Pro Pro Pro Arg Ser Val Val Pro Met	
[0584]	20 25 30	
[0585]	act acc gtt tgc atg gaa caa tca tac aag caa aaa gtg gtt gtg atc	144
[0586]	Thr Thr Val Cys Met Glu Gln Ser Tyr Lys Gln Lys Val Val Val Ile	
[0587]	35 40 45	
[0588]	atg gga gcc acc gga tca ggc aag tca tgc ctc tca atc gat cta gca	192
[0589]	Met Gly Ala Thr Gly Ser Gly Lys Ser Cys Leu Ser Ile Asp Leu Ala	
[0590]	50 55 60	
[0591]	act cgt ttc tct ggc gag atc gtc aat tcc gac aag att caa ttc tac	240
[0592]	Thr Arg Phe Ser Gly Glu Ile Val Asn Ser Asp Lys Ile Gln Phe Tyr	
[0593]	65 70 75 80	
[0594]	gat gga ttg aag gtc act acg aat caa atg agc atc ctt gag aga tgt	288
[0595]	Asp Gly Leu Lys Val Thr Thr Asn Gln Met Ser Ile Leu Glu Arg Cys	
[0596]	85 90 95	
[0597]	gga gtc cct cac cat ctc ctt ggt gag ctc cct ccg gat gat agc gaa	336
[0598]	Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Glu Leu Pro Pro Asp Asp Ser Glu	
[0599]	100 105 110	
[0600]	cta act acc tcc gaa ttc cgc tct ttg gcg tcg cgg tcc atc tcc gag	384
[0601]	Leu Thr Thr Ser Glu Phe Arg Ser Leu Ala Ser Arg Ser Ile Ser Glu	
[0602]	115 120 125	
[0603]	att act gct cgt gga aac ctc ccg att ata gct ggt gga tca aac tcc	432
[0604]	Ile Thr Ala Arg Gly Asn Leu Pro Ile Ile Ala Gly Gly Ser Asn Ser	
[0605]	130 135 140	
[0606]	ttc att cat gct ctc ctt gtc gac cgt ttt gac ccc aaa acc tat cca	480
[0607]	Phe Ile His Ala Leu Leu Val Asp Arg Phe Asp Pro Lys Thr Tyr Pro	
[0608]	145 150 155 160	
[0609]	ttc tct tct gag aca tcc atc tct tcc ggc ttg agg tac gag tgt tgc	528
[0610]	Phe Ser Ser Glu Thr Ser Ile Ser Ser Gly Leu Arg Tyr Glu Cys Cys	
[0611]	165 170 175	
[0612]	ttc ctt tgg gtg gat gtc tca gtg tcg gtc ctg ttc gag tac ctc tcg	576
[0613]	Phe Leu Trp Val Asp Val Ser Val Ser Val Leu Phe Glu Tyr Leu Ser	
[0614]	180 185 190	
[0615]	aaa cgt gtc gac cag atg atg gag tca ggg atg ttc gag gag cta gcc	624
[0616]	Lys Arg Val Asp Gln Met Met Glu Ser Gly Met Phe Glu Glu Leu Ala	
[0617]	195 200 205	
[0618]	ggt ttc tac gac ccg aga tat tcc ggg tcc gca atc cga gcc cac ggg	672
[0619]	Gly Phe Tyr Asp Pro Arg Tyr Ser Gly Ser Ala Ile Arg Ala His Gly	
[0620]	210 215 220	

[0621] att cac aag acc ata gga ata ccc gag ttc gac cgg tac ttc agc tta 720
 [0622] Ile His Lys Thr Ile Gly Ile Pro Glu Phe Asp Arg Tyr Phe Ser Leu
 [0623] 225 230 235 240
 [0624] tac ccg cct gag aga aag cag aag atg tcc gaa tgg gac caa gca aga 768
 [0625] Tyr Pro Pro Glu Arg Lys Gln Lys Met Ser Glu Trp Asp Gln Ala Arg
 [0626] 245 250 255
 [0627] aag ggg gcg tat gac gaa gct gtc caa gag atc aaa gag aac aca tgg 816
 [0628] Lys Gly Ala Tyr Asp Glu Ala Val Gln Glu Ile Lys Glu Asn Thr Trp
 [0629] 260 265 270
 [0630] agg ctt gcg aag aag cag att gag agg atc atg aag ctg aaa agc agc 864
 [0631] Arg Leu Ala Lys Lys Gln Ile Glu Arg Ile Met Lys Leu Lys Ser Ser
 [0632] 275 280 285
 [0633] gga tgg gac att cag agg ttg gac gct acg ccg tca ttt gga aga tcg 912
 [0634] Gly Trp Asp Ile Gln Arg Leu Asp Ala Thr Pro Ser Phe Gly Arg Ser
 [0635] 290 295 300
 [0636] tca aga gag att tgg gac aat act gtt ttg gat gaa agc atc aag gtt 960
 [0637] Ser Arg Glu Ile Trp Asp Asn Thr Val Leu Asp Glu Ser Ile Lys Val
 [0638] 305 310 315 320
 [0639] gtg aaa cgc ttc ttg gtg aaa gac aaa gtg tga 993
 [0640] Val Lys Arg Phe Leu Val Lys Asp Lys Val
 [0641] 325 330
 [0642] <210>10
 [0643] <211>330
 [0644] <212>PRT
 [0645] <213> 鼠耳芥
 [0646] <400>10
 [0647] Met Gln Asn Leu Thr Ser Thr Phe Val Ser Pro Ser Met Ile Pro Ile
 [0648] 1 5 10 15
 [0649] Thr Ser Pro Arg Leu Arg Leu Pro Pro Pro Arg Ser Val Val Pro Met
 [0650] 20 25 30
 [0651] Thr Thr Val Cys Met Glu Gln Ser Tyr Lys Gln Lys Val Val Val Ile
 [0652] 35 40 45
 [0653] Met Gly Ala Thr Gly Ser Gly Lys Ser Cys Leu Ser Ile Asp Leu Ala
 [0654] 50 55 60
 [0655] Thr Arg Phe Ser Gly Glu Ile Val Asn Ser Asp Lys Ile Gln Phe Tyr
 [0656] 65 70 75 80
 [0657] Asp Gly Leu Lys Val Thr Thr Asn Gln Met Ser Ile Leu Glu Arg Cys
 [0658] 85 90 95
 [0659] Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Glu Leu Pro Pro Asp Asp Ser Glu

[0660]	100	105	110
[0661]	Leu Thr Thr Ser Glu Phe Arg Ser Leu Ala Ser Arg Ser Ile Ser Glu		
[0662]	115	120	125
[0663]	Ile Thr Ala Arg Gly Asn Leu Pro Ile Ile Ala Gly Gly Ser Asn Ser		
[0664]	130	135	140
[0665]	Phe Ile His Ala Leu Leu Val Asp Arg Phe Asp Pro Lys Thr Tyr Pro		
[0666]	145	150	155
[0667]	Phe Ser Ser Glu Thr Ser Ile Ser Ser Gly Leu Arg Tyr Glu Cys Cys		
[0668]	165	170	175
[0669]	Phe Leu Trp Val Asp Val Ser Val Ser Val Leu Phe Glu Tyr Leu Ser		
[0670]	180	185	190
[0671]	Lys Arg Val Asp Gln Met Met Glu Ser Gly Met Phe Glu Glu Leu Ala		
[0672]	195	200	205
[0673]	Gly Phe Tyr Asp Pro Arg Tyr Ser Gly Ser Ala Ile Arg Ala His Gly		
[0674]	210	215	220
[0675]	Ile His Lys Thr Ile Gly Ile Pro Glu Phe Asp Arg Tyr Phe Ser Leu		
[0676]	225	230	235
[0677]	Tyr Pro Pro Glu Arg Lys Gln Lys Met Ser Glu Trp Asp Gln Ala Arg		
[0678]	245	250	255
[0679]	Lys Gly Ala Tyr Asp Glu Ala Val Gln Glu Ile Lys Glu Asn Thr Trp		
[0680]	260	265	270
[0681]	Arg Leu Ala Lys Lys Gln Ile Glu Arg Ile Met Lys Leu Lys Ser Ser		
[0682]	275	280	285
[0683]	Gly Trp Asp Ile Gln Arg Leu Asp Ala Thr Pro Ser Phe Gly Arg Ser		
[0684]	290	295	300
[0685]	Ser Arg Glu Ile Trp Asp Asn Thr Val Leu Asp Glu Ser Ile Lys Val		
[0686]	305	310	315
[0687]	Val Lys Arg Phe Leu Val Lys Asp Lys Val		
[0688]	325	330	
[0689]	<210>11		
[0690]	<211>1071		
[0691]	<212>DNA		
[0692]	<213> 鼠耳芥		
[0693]	<220>		
[0694]	<221>CDS		
[0695]	<222>(1).. (1071)		
[0696]	<223> 细胞分裂素合成酶样蛋白质的氨基酸序列 (AtIPT1)		
[0697]	<400>11		
[0698]	atg aca gaa ctc aac ttc cac ctc ctc cca ata atc tcc gat cgc ttc		48

[0699]	Met Thr Glu Leu Asn Phe His Leu Leu Pro Ile Ile Ser Asp Arg Phe	
[0700]	1 5 10 15	
[0701]	acg acg acg acg aca aca tca ccg tgc ttc tgc tca cat tct tct tct	96
[0702]	Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ser Pro Ser Phe Ser Ser His Ser Ser Ser	
[0703]	20 25 30	
[0704]	tct tct tct ctt ctc tct ttc acc aaa cga aga cga aaa cac caa cct	144
[0705]	Ser Ser Ser Leu Leu Ser Phe Thr Lys Arg Arg Arg Lys His Gln Pro	
[0706]	35 40 45	
[0707]	tta gta tca tcc ata cgc atg gaa cag tca cgg tca cgg aat cgg aaa	192
[0708]	Leu Val Ser Ser Ile Arg Met Glu Gln Ser Arg Ser Arg Asn Arg Lys	
[0709]	50 55 60	
[0710]	gac aaa gtc gtc gtc att tta gga gca acc ggc gcc gga aaa tca aga	240
[0711]	Asp Lys Val Val Val Ile Leu Gly Ala Thr Gly Ala Gly Lys Ser Arg	
[0712]	65 70 75 80	
[0713]	ctt tcc gtc gat ctc gct act cgt ttc cct tca gag atc ata aac tcc	288
[0714]	Leu Ser Val Asp Leu Ala Thr Arg Phe Pro Ser Glu Ile Ile Asn Ser	
[0715]	85 90 95	
[0716]	gat aaa atc caa gtc tac gaa gga tta gag atc aca acg aat cag att	336
[0717]	Asp Lys Ile Gln Val Tyr Glu Gly Leu Glu Ile Thr Thr Asn Gln Ile	
[0718]	100 105 110	
[0719]	acg tta caa gac cgt cgc ggc gtt cct cac cat ctc ctc ggc gtc atc	384
[0720]	Thr Leu Gln Asp Arg Arg Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Val Ile	
[0721]	115 120 125	
[0722]	aac ccc gaa cac ggc gaa cta acc gcc gga gag ttt cgc tcc gcc gct	432
[0723]	Asn Pro Glu His Gly Glu Leu Thr Ala Gly Glu Phe Arg Ser Ala Ala	
[0724]	130 135 140	
[0725]	tca aac gtc gtc aaa gag ata act tct cgt caa aag gtt ccg att atc	480
[0726]	Ser Asn Val Val Lys Glu Ile Thr Ser Arg Gln Lys Val Pro Ile Ile	
[0727]	145 150 155 160	
[0728]	gcc ggt gga tct aac tct ttc gtc cac gca ctc tta gct caa cga ttc	528
[0729]	Ala Gly Gly Ser Asn Ser Phe Val His Ala Leu Leu Ala Gln Arg Phe	
[0730]	165 170 175	
[0731]	gac cca aag ttc gat cct ttt tca tcc ggg tgc tgt tta atc agc tcc	576
[0732]	Asp Pro Lys Phe Asp Pro Phe Ser Ser Gly Ser Cys Leu Ile Ser Ser	
[0733]	180 185 190	
[0734]	gat ttg cgt tac gag tgt tgt ttc atc tgg gtc gat gta tgc gag act	624
[0735]	Asp Leu Arg Tyr Glu Cys Cys Phe Ile Trp Val Asp Val Ser Glu Thr	
[0736]	195 200 205	
[0737]	gtt ctc tac gag tat ctt ctc aga aga gtc gac gaa atg atg gat tca	672

[0738] Val Leu Tyr Glu Tyr Leu Leu Arg Arg Val Asp Glu Met Met Asp Ser
 [0739] 210 215 220
 [0740] ggt atg ttc gaa gag ctg tct aga ttc tac gac ccg gtt aaa tcc ggt 720
 [0741] Gly Met Phe Glu Glu Leu Ser Arg Phe Tyr Asp Pro Val Lys Ser Gly
 [0742] 225 230 235 240
 [0743] tta gaa acc cgg ttt ggg att agg aaa gct ata ggt gta ccg gag ttt 768
 [0744] Leu Glu Thr Arg Phe Gly Ile Arg Lys Ala Ile Gly Val Pro Glu Phe
 [0745] 245 250 255
 [0746] gac ggt tac ttc aaa gag tat cca ccg gag aag aag atg ata aag tgg 816
 [0747] Asp Gly Tyr Phe Lys Glu Tyr Pro Pro Glu Lys Lys Met Ile Lys Trp
 [0748] 260 265 270
 [0749] gac gct tta aga aaa gcg gcg tac gat aag gcg gtt gat gat atc aaa 864
 [0750] Asp Ala Leu Arg Lys Ala Ala Tyr Asp Lys Ala Val Asp Asp Ile Lys
 [0751] 275 280 285
 [0752] agg aac acg tgg acg tta gcg aag aga caa gtg aag aag att gag atg 912
 [0753] Arg Asn Thr Trp Thr Leu Ala Lys Arg Gln Val Lys Lys Ile Glu Met
 [0754] 290 295 300
 [0755] cta aaa gac gct ggt tgg gaa ata gaa aga gtt gat gca acg gcg tcg 960
 [0756] Leu Lys Asp Ala Gly Trp Glu Ile Glu Arg Val Asp Ala Thr Ala Ser
 [0757] 305 310 315 320
 [0758] ttt aaa gca gtg atg atg aag agt tcg tcg gag aag aag tgg aga gag 1008
 [0759] Phe Lys Ala Val Met Met Lys Ser Ser Ser Glu Lys Lys Trp Arg Glu
 [0760] 325 330 335
 [0761] aat tgg gaa gag caa gtg ttg gag cca agc gta aag att gtg aag cgg 1056
 [0762] Asn Trp Glu Glu Gln Val Leu Glu Pro Ser Val Lys Ile Val Lys Arg
 [0763] 340 345 350
 [0764] cat ttg gtg caa aat 1071
 [0765] His Leu Val Gln Asn
 [0766] 355
 [0767] <210>12
 [0768] <211>357
 [0769] <212>PRT
 [0770] <213> 鼠耳芥
 [0771] <400>12
 [0772] Met Thr Glu Leu Asn Phe His Leu Leu Pro Ile Ile Ser Asp Arg Phe
 [0773] 1 5 10 15
 [0774] Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ser Pro Ser Phe Ser Ser His Ser Ser Ser
 [0775] 20 25 30
 [0776] Ser Ser Ser Leu Leu Ser Phe Thr Lys Arg Arg Arg Lys His Gln Pro

[0777]	35	40	45
[0778]	Leu Val Ser Ser Ile Arg Met Glu Gln Ser Arg Ser Arg Asn Arg Lys		
[0779]	50	55	60
[0780]	Asp Lys Val Val Val Ile Leu Gly Ala Thr Gly Ala Gly Lys Ser Arg		
[0781]	65	70	75
[0782]	Leu Ser Val Asp Leu Ala Thr Arg Phe Pro Ser Glu Ile Ile Asn Ser		
[0783]	85	90	95
[0784]	Asp Lys Ile Gln Val Tyr Glu Gly Leu Glu Ile Thr Thr Asn Gln Ile		
[0785]	100	105	110
[0786]	Thr Leu Gln Asp Arg Arg Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Val Ile		
[0787]	115	120	125
[0788]	Asn Pro Glu His Gly Glu Leu Thr Ala Gly Glu Phe Arg Ser Ala Ala		
[0789]	130	135	140
[0790]	Ser Asn Val Val Lys Glu Ile Thr Ser Arg Gln Lys Val Pro Ile Ile		
[0791]	145	150	155
[0792]	Ala Gly Gly Ser Asn Ser Phe Val His Ala Leu Leu Ala Gln Arg Phe		
[0793]	165	170	175
[0794]	Asp Pro Lys Phe Asp Pro Phe Ser Ser Gly Ser Cys Leu Ile Ser Ser		
[0795]	180	185	190
[0796]	Asp Leu Arg Tyr Glu Cys Cys Phe Ile Trp Val Asp Val Ser Glu Thr		
[0797]	195	200	205
[0798]	Val Leu Tyr Glu Tyr Leu Leu Arg Arg Val Asp Glu Met Met Asp Ser		
[0799]	210	215	220
[0800]	Gly Met Phe Glu Glu Leu Ser Arg Phe Tyr Asp Pro Val Lys Ser Gly		
[0801]	225	230	235
[0802]	Leu Glu Thr Arg Phe Gly Ile Arg Lys Ala Ile Gly Val Pro Glu Phe		
[0803]	245	250	255
[0804]	Asp Gly Tyr Phe Lys Glu Tyr Pro Pro Glu Lys Lys Met Ile Lys Trp		
[0805]	260	265	270
[0806]	Asp Ala Leu Arg Lys Ala Ala Tyr Asp Lys Ala Val Asp Asp Ile Lys		
[0807]	275	280	285
[0808]	Arg Asn Thr Trp Thr Leu Ala Lys Arg Gln Val Lys Lys Ile Glu Met		
[0809]	290	295	300
[0810]	Leu Lys Asp Ala Gly Trp Glu Ile Glu Arg Val Asp Ala Thr Ala Ser		
[0811]	305	310	315
[0812]	Phe Lys Ala Val Met Met Lys Ser Ser Ser Glu Lys Lys Trp Arg Glu		
[0813]	325	330	335
[0814]	Asn Trp Glu Glu Gln Val Leu Glu Pro Ser Val Lys Ile Val Lys Arg		
[0815]	340	345	350

[0816] His Leu Val Gln Asn
 [0817] 355
 [0818] <210>13
 [0819] <211>1029
 [0820] <212>DNA
 [0821] <213> 鼠耳芥
 [0822] <220>
 [0823] <221>CDS
 [0824] <222>(1)..(1029)
 [0825] <223> 编码细胞分裂素合成酶样蛋白质的 DNA 的核苷酸序列 (AtIPT6)
 [0826] <400>13
 [0827] atg caa caa ctc atg acc ttg tta tca cca cca ctc tct cat tct tct 48
 [0828] Met Gln Gln Leu Met Thr Leu Leu Ser Pro Pro Leu Ser His Ser Ser
 [0829] 1 5 10 15
 [0830] ctc ctt ccc acc gtc act acc aaa ttc ggg tca cca cga tta gtc act 96
 [0831] Leu Leu Pro Thr Val Thr Thr Lys Phe Gly Ser Pro Arg Leu Val Thr
 [0832] 20 25 30
 [0833] acg tgc atg ggc cat gca ggg cgt aaa aat atc aag gat aag gtg gtt 144
 [0834] Thr Cys Met Gly His Ala Gly Arg Lys Asn Ile Lys Asp Lys Val Val
 [0835] 35 40 45
 [0836] ctc atc aca ggt aca aca ggc aca ggc aag tca cgc ctc tca gtc gat 192
 [0837] Leu Ile Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Lys Ser Arg Leu Ser Val Asp
 [0838] 50 55 60
 [0839] ctt gcc acc cgt ttt ttt ccc gcc gag atc ata aac tcg gac aaa atg 240
 [0840] Leu Ala Thr Arg Phe Phe Pro Ala Glu Ile Ile Asn Ser Asp Lys Met
 [0841] 65 70 75 80
 [0842] caa atc tac aag gga ttc gag att gtc aca aat cta atc cca ctg cat 288
 [0843] Gln Ile Tyr Lys Gly Phe Glu Ile Val Thr Asn Leu Ile Pro Leu His
 [0844] 85 90 95
 [0845] gag caa gga gga gtc ccg cac cat ctt cta ggt cag ttc cac cca caa 336
 [0846] Glu Gln Gly Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Gln Phe His Pro Gln
 [0847] 100 105 110
 [0848] gac ggt gaa ctc acc cct gca gag ttc cgt tct ttg gcg aca ctg tcc 384
 [0849] Asp Gly Glu Leu Thr Pro Ala Glu Phe Arg Ser Leu Ala Thr Leu Ser
 [0850] 115 120 125
 [0851] atc tct aaa cta att tct agc aag aaa ctc ccg att gta gtt ggt gga 432
 [0852] Ile Ser Lys Leu Ile Ser Ser Lys Lys Leu Pro Ile Val Val Gly Gly
 [0853] 130 135 140
 [0854] tcc aac tcc ttc aat cac gct cta ctc gcc gag cgt ttt gac ccg gat 480

[0855]	Ser Asn Ser Phe Asn His Ala Leu Leu Ala Glu Arg Phe Asp Pro Asp	
[0856]	145 150 155 160	
[0857]	att gat cca ttc tct ccc gga tcg agt ctt tca acg atc tgc tct gac	528
[0858]	Ile Asp Pro Phe Ser Pro Gly Ser Ser Leu Ser Thr Ile Cys Ser Asp	
[0859]	165 170 175	
[0860]	cta agg tac aaa tgt tgc atc tta tgg gtt gat gtt tta gag ccg gtt	576
[0861]	Leu Arg Tyr Lys Cys Cys Ile Leu Trp Val Asp Val Leu Glu Pro Val	
[0862]	180 185 190	
[0863]	ctg ttc caa cac ttg tgc aat cgt gtc gac caa atg atc gag tcg gga	624
[0864]	Leu Phe Gln His Leu Cys Asn Arg Val Asp Gln Met Ile Glu Ser Gly	
[0865]	195 200 205	
[0866]	ttg gtc gag cag ctt gcc gaa ttg tac gac cct gtt gta gat tcg ggt	672
[0867]	Leu Val Glu Gln Leu Ala Glu Leu Tyr Asp Pro Val Val Asp Ser Gly	
[0868]	210 215 220	
[0869]	cga cga cta ggg gtt cgg aag acg ata gga gta gag gag ttc gac cga	720
[0870]	Arg Arg Leu Gly Val Arg Lys Thr Ile Gly Val Glu Glu Phe Asp Arg	
[0871]	225 230 235 240	
[0872]	tac ttt aga gta tac cct aag gag atg gac aag gga att tgg gac tta	768
[0873]	Tyr Phe Arg Val Tyr Pro Lys Glu Met Asp Lys Gly Ile Trp Asp Leu	
[0874]	245 250 255	
[0875]	gcg aga aag gcg gcg tac gag gag aca gtg aag ggg atg aaa gag agg	816
[0876]	Ala Arg Lys Ala Ala Tyr Glu Glu Thr Val Lys Gly Met Lys Glu Arg	
[0877]	260 265 270	
[0878]	aca tgt cgg ttg gtg aag aag cag aaa gag aag atc atg aag ctg ata	864
[0879]	Thr Cys Arg Leu Val Lys Lys Gln Lys Glu Lys Ile Met Lys Leu Ile	
[0880]	275 280 285	
[0881]	aga ggt ggt tgg gag att aag agg ctt gac gct acg gcg gca att atg	912
[0882]	Arg Gly Gly Trp Glu Ile Lys Arg Leu Asp Ala Thr Ala Ala Ile Met	
[0883]	290 295 300	
[0884]	gct gag ctg aat caa agt acg gca aag gga gaa gga aag aat ggg aga	960
[0885]	Ala Glu Leu Asn Gln Ser Thr Ala Lys Gly Glu Gly Lys Asn Gly Arg	
[0886]	305 310 315 320	
[0887]	gag att tgg gaa aaa cac att gtg gat gaa agt gtc gag att gtc aag	1008
[0888]	Glu Ile Trp Glu Lys His Ile Val Asp Glu Ser Val Glu Ile Val Lys	
[0889]	325 330 335	
[0890]	aag ttt ttg ttg gaa gtt tag	1029
[0891]	Lys Phe Leu Leu Glu Val	
[0892]	340	
[0893]	<210>14	

[0894] <211>342
 [0895] <212>PRT
 [0896] <213> 鼠耳芥
 [0897] <400>14
 [0898] Met Gln Gln Leu Met Thr Leu Leu Ser Pro Pro Leu Ser His Ser Ser
 [0899] 1 5 10 15
 [0900] Leu Leu Pro Thr Val Thr Thr Lys Phe Gly Ser Pro Arg Leu Val Thr
 [0901] 20 25 30
 [0902] Thr Cys Met Gly His Ala Gly Arg Lys Asn Ile Lys Asp Lys Val Val
 [0903] 35 40 45
 [0904] Leu Ile Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Lys Ser Arg Leu Ser Val Asp
 [0905] 50 55 60
 [0906] Leu Ala Thr Arg Phe Phe Pro Ala Glu Ile Ile Asn Ser Asp Lys Met
 [0907] 65 70 75 80
 [0908] Gln Ile Tyr Lys Gly Phe Glu Ile Val Thr Asn Leu Ile Pro Leu His
 [0909] 85 90 95
 [0910] Glu Gln Gly Gly Val Pro His His Leu Leu Gly Gln Phe His Pro Gln
 [0911] 100 105 110
 [0912] Asp Gly Glu Leu Thr Pro Ala Glu Phe Arg Ser Leu Ala Thr Leu Ser
 [0913] 115 120 125
 [0914] Ile Ser Lys Leu Ile Ser Ser Lys Lys Leu Pro Ile Val Val Gly Gly
 [0915] 130 135 140
 [0916] Ser Asn Ser Phe Asn His Ala Leu Leu Ala Glu Arg Phe Asp Pro Asp
 [0917] 145 150 155 160
 [0918] Ile Asp Pro Phe Ser Pro Gly Ser Ser Leu Ser Thr Ile Cys Ser Asp
 [0919] 165 170 175
 [0920] Leu Arg Tyr Lys Cys Cys Ile Leu Trp Val Asp Val Leu Glu Pro Val
 [0921] 180 185 190
 [0922] Leu Phe Gln His Leu Cys Asn Arg Val Asp Gln Met Ile Glu Ser Gly
 [0923] 195 200 205
 [0924] Leu Val Glu Gln Leu Ala Glu Leu Tyr Asp Pro Val Val Asp Ser Gly
 [0925] 210 215 220
 [0926] Arg Arg Leu Gly Val Arg Lys Thr Ile Gly Val Glu Glu Phe Asp Arg
 [0927] 225 230 235 240
 [0928] Tyr Phe Arg Val Tyr Pro Lys Glu Met Asp Lys Gly Ile Trp Asp Leu
 [0929] 245 250 255
 [0930] Ala Arg Lys Ala Ala Tyr Glu Glu Thr Val Lys Gly Met Lys Glu Arg
 [0931] 260 265 270
 [0932] Thr Cys Arg Leu Val Lys Lys Gln Lys Glu Lys Ile Met Lys Leu Ile

[0933]	275	280	285	
[0934]	Arg Gly Gly Trp Glu Ile Lys Arg Leu Asp Ala Thr Ala Ala Ile Met			
[0935]	290	295	300	
[0936]	Ala Glu Leu Asn Gln Ser Thr Ala Lys Gly Glu Gly Lys Asn Gly Arg			
[0937]	305	310	315	320
[0938]	Glu Ile Trp Glu Lys His Ile Val Asp Glu Ser Val Glu Ile Val Lys			
[0939]	325	330	335	
[0940]	Lys Phe Leu Leu Glu Val			
[0941]	340			
[0942]	<210>15			
[0943]	<211>32			
[0944]	<212>DNA			
[0945]	<213> 人工序列			
[0946]	<220>			
[0947]	<223> 引物 398			
[0948]	<400>15			
[0949]	tcccccgggc gatgatgatg ttaaacccta gc			32
[0950]	<210>16			
[0951]	<211>36			
[0952]	<212>DNA			
[0953]	<213> 人工序列			
[0954]	<220>			
[0955]	<223> 引物 399			
[0956]	<400>16			
[0957]	tcccccgggc caatttactt ctgcttcttg aacttc			36
[0958]	<210>17			
[0959]	<211>30			
[0960]	<212>DNA			
[0961]	<213> 人工序列			
[0962]	<220>			
[0963]	<223> 引物 421			
[0964]	<400>17			
[0965]	aaaatgaagt gtaatgacaa aatggttgtg			30
[0966]	<210>18			
[0967]	<211>27			
[0968]	<212>DNA			
[0969]	<213> 人工序列			
[0970]	<220>			
[0971]	<223> 引物 407			

[0972]	<400>18	
[0973]	gtccaaacta gttaagactt aaaaatc	27
[0974]	<210>19	
[0975]	<211>27	
[0976]	<212>DNA	
[0977]	<213> 人工序列	
[0978]	<220>	
[0979]	<223> 引物 703	
[0980]	<400>19	
[0981]	caccagcaag tttatattgc aaagcgt	27
[0982]	<210>20	
[0983]	<211>27	
[0984]	<212>DNA	
[0985]	<213> 人工序列	
[0986]	<220>	
[0987]	<223> 引物 705	
[0988]	<400>20	
[0989]	gttgtaacca cgtaaaagat aagggtg	27
[0990]	<210>21	
[0991]	<211>35	
[0992]	<212>DNA	
[0993]	<213> 人工序列	
[0994]	<220>	
[0995]	<223> 引物 480	
[0996]	<400>21	
[0997]	ggaattccat atgaagtgtg atgacaaaat ggttg	35
[0998]	<210>22	
[0999]	<211>35	
[1000]	<212>DNA	
[1001]	<213> 人工序列	
[1002]	<220>	
[1003]	<223> 引物 481	
[1004]	<400>22	
[1005]	gaagatctgt ccaaactagt taagacttaa aaatc	35
[1006]	<210>23	
[1007]	<211>33	
[1008]	<212>DNA	
[1009]	<213> 人工序列	
[1010]	<220>	

[1011]	<223> 引物 550	
[1012]	<400>23	
[1013]	gatccccggc atatgatgat gttaaaccct agc	33
[1014]	<210>24	
[1015]	<211>38	
[1016]	<212>DNA	
[1017]	<213> 人工序列	
[1018]	<220>	
[1019]	<223> 引物 551	
[1020]	<400>24	
[1021]	acggtacca tatgtcaatt tacttctgct tcttgaac	38
[1022]	<210>25	
[1023]	<211>34	
[1024]	<212>DNA	
[1025]	<213> 人工序列	
[1026]	<220>	
[1027]	<223> 引物 741	
[1028]	<400>25	
[1029]	ttatacatat gaagccatgc atgacggctc taag	34
[1030]	<210>26	
[1031]	<211>28	
[1032]	<212>DNA	
[1033]	<213> 人工序列	
[1034]	<220>	
[1035]	<223> 引物 742	
[1036]	<400>26	
[1037]	cgggatcctc accgggaaat cgccgcca	28
[1038]	<210>27	
[1039]	<211>46	
[1040]	<212>DNA	
[1041]	<213> 人工序列	
[1042]	<220>	
[1043]	<223> 引物 852	
[1044]	<400>27	
[1045]	ctcgagttgg cgcgccaccc gggattaatt aagactagtg gggtag	46
[1046]	<210>28	
[1047]	<211>42	
[1048]	<212>DNA	
[1049]	<213> 人工序列	

[1050]	<220>	
[1051]	<223> 引物 853	
[1052]	<400>28	
[1053]	cccactagtc ttaattaatc ccgggtggcg cgccaactcg ag	42
[1054]	<210>29	
[1055]	<211>23	
[1056]	<212>DNA	
[1057]	<213> 人工序列	
[1058]	<220>	
[1059]	<223> 引物 918	
[1060]	<400>29	
[1061]	atgacagaac tcaacttcca cct	23
[1062]	<210>30	
[1063]	<211>36	
[1064]	<212>DNA	
[1065]	<213> 人工序列	
[1066]	<220>	
[1067]	<223> 引物 879	
[1068]	<400>30	
[1069]	caaaaaaag atctaatttt gcaccaaag cgctt	36
[1070]	<210>31	
[1071]	<211>30	
[1072]	<212>DNA	
[1073]	<213> 人工序列	
[1074]	<220>	
[1075]	<223> 引物 533	
[1076]	<400>31	
[1077]	attatgcaaa atcttacgtc cacattcgtc	30
[1078]	<210>32	
[1079]	<211>31	
[1080]	<212>DNA	
[1081]	<213> 人工序列	
[1082]	<220>	
[1083]	<223> 引物 881	
[1084]	<400>32	
[1085]	acaggatcct cacactttgt ctttcaccaa g	31
[1086]	<210>33	
[1087]	<211>31	
[1088]	<212>DNA	

[1089]	<213> 人工序列	
[1090]	<220>	
[1091]	<223> 引物 856	
[1092]	<400>33	
[1093]	ccgctcgaga tgaagccatg catgacggct c	31
[1094]	<210>34	
[1095]	<211>27	
[1096]	<212>DNA	
[1097]	<213> 人工序列	
[1098]	<220>	
[1099]	<223> 引物 857	
[1100]	<400>34	
[1101]	ggactagtca ccgggaaatc gccgcca	27

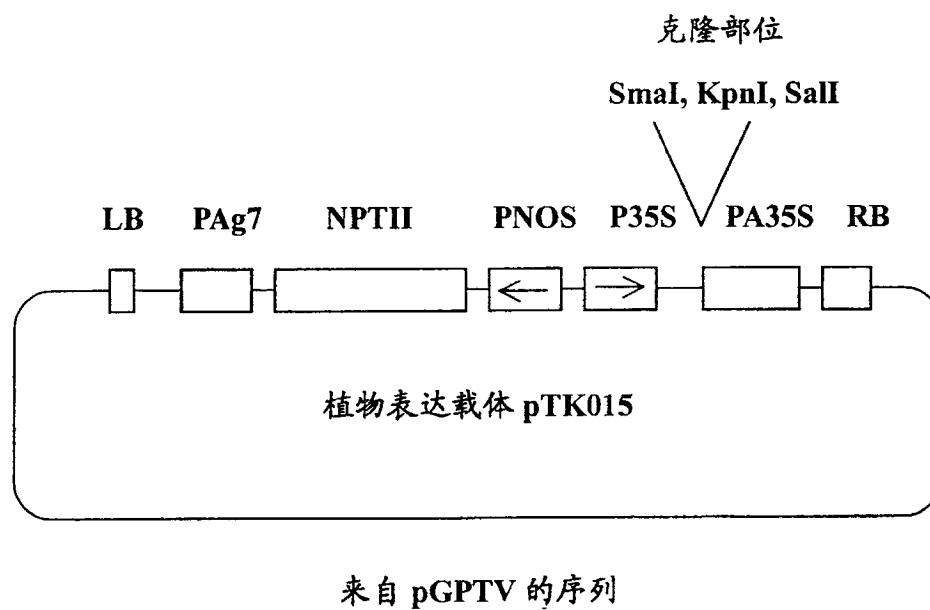


图 1

符号说明：

PAg7 :T-DNA 基因的 7' 终结子。

NPTII :新霉素磷酸转移酶 II

PNOS :胭脂碱合成酶的启动子

P35S :花椰菜花叶病毒 35S RNA 基因的启动子

PA35S :花椰菜花叶病毒 35S RNA 基因的终结子

LB :T-DNA 的左边界

RB :T-DNA 的右边界



图 2