



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201821613 A

(43) 公開日：中華民國 107 (2018) 年 06 月 16 日

(21) 申請案號：106132189 (22) 申請日：中華民國 106 (2017) 年 09 月 20 日

(51) Int. Cl. : C12N15/11 (2006.01) C12N15/66 (2006.01)
 C12N15/82 (2006.01) C12N5/07 (2010.01)
 A01H5/10 (2006.01)

(30) 優先權：2016/09/20 美國 62/397,212
 2017/09/14 世界智慧財產權組織 PCT/US17/51493

(71) 申請人：美商 22 世紀有限公司 (美國) 22ND CENTURY LIMITED, LLC (US)
 美商

(72) 發明人：拉斯頓 保羅 RUSHTON, PAUL (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：4 共 93 頁

(54) 名稱

用於控制腺毛中之大麻素及其他化合物之毛茸特異性啟動子

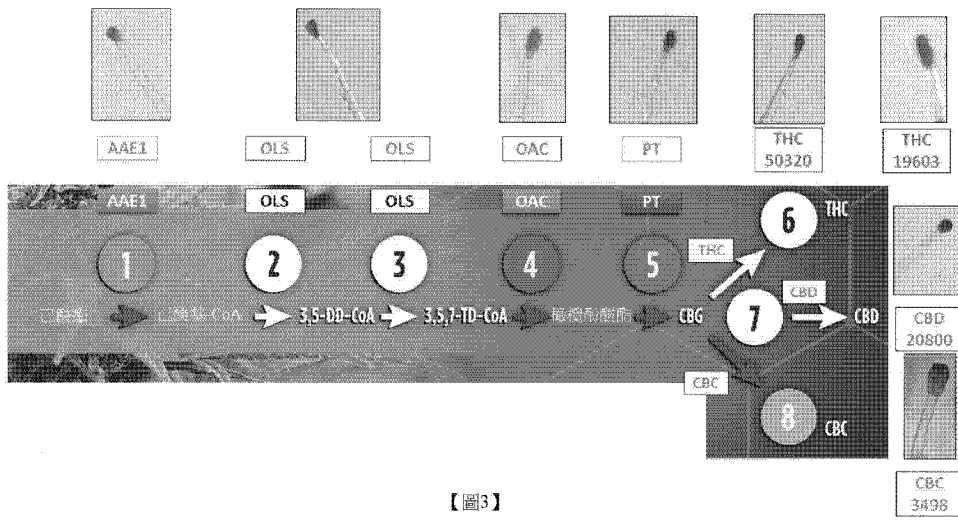
TRICHOME SPECIFIC PROMOTERS FOR THE MANIPULATION OF CANNABINOIDS AND OTHER COMPOUNDS IN GLANDULAR TRICHOMES

(57) 摘要

本發明技術提供來自大麻(Cannabis)之大麻素生物合成酶基因之毛茸特異性啟動子、該等毛茸特異性啟動子之核苷酸序列及該等啟動子用於調節生物體中之大麻素及其他化合物之產生的用途。本發明技術亦提供包含該等毛茸特異性啟動子之嵌合基因、載體及轉殖基因細胞及生物體，包括植物細胞及植物。亦提供使用該等毛茸特異性啟動子在細胞及生物體中表現核酸序列的方法。

The present technology provides trichome specific promoters of cannabinoid biosynthesis enzyme genes from Cannabis, nucleotide sequences of the trichome specific promoters, and uses of the promoters for modulating the production of cannabinoids and other compounds in organisms. The present technology also provides chimeric genes, vectors, and transgenic cells and organisms, including plant cells and plants, comprising the trichome specific promoters. Also provided are methods for expressing nucleic acid sequences in cells and organisms using the trichome specific promoters.

指定代表圖：



【圖3】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於控制腺毛中之大麻素及其他化合物之毛茸特異性啟動子

【英文發明名稱】

TRICHOME SPECIFIC PROMOTERS FOR THE MANIPULATION OF CANNABINOIDS AND OTHER COMPOUNDS IN GLANDULAR TRICHOMES

【技術領域】

本發明技術大體上係關於自大麻之大麻素生物合成酶基因的毛茸特異性啟動子、毛茸特異性啟動子之核苷酸序列、及調節大麻素產生或調節生物體中之生化物之其他毛茸特異性產生的啟動子之用途。本發明技術亦關於轉殖基因細胞及生物體，包括植物細胞及植物，包含毛茸特異性啟動子。

【先前技術】

提供以下描述以幫助讀者理解。所提供之資訊或所引用之文獻中無一者經承認為先前技術。

植物毛茸為表皮隆凸，包括覆蓋葉子、苞片及莖之分支及未分支絨毛、小泡、鉤、刺及刺毛。存在兩種主要毛茸之種類，其可基於其產生及分泌或儲存次級代謝物(即腺毛及非腺毛)的能力來進行區分。非腺毛呈現低代謝活性且主要藉由物理方式為植物提供保護。相反地，存在於多個植物物種(包括一些茄科物種(例如菸草、番茄)亦及大麻)之葉上的腺毛具有高代謝活性且積聚代謝物，其可表示高達10-15%之葉子乾燥重量(Wagner 等人, *Ann. Bot.* 93:3-11 (2004))。腺毛能夠分泌(或儲存)次級代謝物作為

防衛機制。

印度大麻 (*Cannabis sativa* L.) (大麻 (cannabis、hemp、marijuana))，一種已培養數千年的一年生草本植物，含有一組稱為大麻素的獨特次級代謝物，其構成萜酚的群組。大麻素主要合成且積聚於腺毛中，該等腺毛在印度大麻植物之雌花上以高密度且在印度大麻植物之雄花上以較低密度存在。毛茸之儲存腔中之大麻素的積聚有益於植物，因為大麻素已知對其他植物細胞而言有細胞毒性，且已展示引發大麻及菸草細胞懸浮液培養物中之細胞凋亡 (Sirikantaramas 等人, *Plant Cell Physiol.* 46:1578-1582 (2005))。大麻素藉由三步生物合成方法形成：聚酮形成、芳族異戊烯化及環化(圖1)。大麻素路徑由己醯基-CoA供應，其形成由己醯基-CoA合成酶催化。大麻素生物合成中之第一個酶促步驟為由稱為橄欖酚酸合成酶 (olivetolic acid synthase, OLS1) 之丁烯酮合成酶 (tetraketide synthase enzyme, TKS) 形成3,5,7-三氧十二烷醯-CoA。大麻素生物合成中之第二個酶促步驟為由橄欖酚酸環化酶 (olivetolic acid cyclase, OAC) 形成橄欖酚酸 (olivetolic acid)。下一步驟為藉由芳族異戊烯基轉移酶 (aromatic prenyltransferase) 異戊烯化橄欖酚酸以形成大麻萜酚酸 (cannabigerolic acid, CBGA)。CBGA為用於生物合成不同主要種類之大麻素的中央分支點中間物。替代性環化CBGA之戊烯基側鏈得到 Δ^9 四氫大麻酚酸 (Δ^9 tetrahydrocannabinolic acid, THCA) 或其異構體大麻二酚酸 (cannabidiolic acid, CBDA) 或大麻吡烯酸 (cannabichromenic acid, CBCA)。THCA及CBDA隨後藉由在儲存期間非酶促反應或煙熏去羧基，分別得到 Δ^9 -四氫大麻酚 (Δ^9 -tetrahydrocannabinol, THC) 或大麻二酚 (cannabidiol, CBD) (圖1)。

大麻素為寶貴的植物衍生之天然產物。由於其眾所周知的對神經起顯著作用的效果，諸如大麻(marijuana)及大麻(hashish)的大麻製備已使用幾世紀。由於其藉由哺乳動物大麻素受體而起作用的能力，大麻素已再次引起醫學應用之關注。主要大麻素包括 Δ^9 -四氫大麻酚(THC)，負責大麻消耗之影響精神及治療效果之化合物，及大麻二酚(CBD)，其具有神經保護性特性。(Gaoni & Mechoulam, J. Am. Chem. Soc. 86:1646-1647 (1964)；Mechoulam等人, J. Clin. Pharmacol. 42:11S-19S (2002))。THCA為大麻之藥株中之主要大麻素，而CBDA係為纖維或種子而生長的大麻形式中之主要大麻素。目前探索大麻素以實現治療性目的，包括治療慢性疼痛、噁心、控制患有多發性硬化症或癲癇症之患者中之痙攣及顫抖，以及關節炎之療法。指導毛茸中之大麻素產生的可能性避免植物代謝路徑及效能之干擾。相應地，需要識別毛茸特異性啟動子以調節生物體(包括轉殖基因植物、轉殖基因細胞及其衍生物)中大麻素之合成，其允許靶向毛茸中特異性基因表現。

【發明內容】

本文揭示毛茸特異性啟動子及此等啟動子用於指導植物毛茸中之編碼核酸序列之表現的用途。

在一個態樣中，本發明提供包含選自由以下組成之群之核苷酸序列的合成DNA分子：(a)闡述於以下中之任一者中之核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33；及(b)至少約80%與以下中之任一者之核苷酸序列一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子，其中核苷酸序列與異源核酸

可操作地連接。

在一些實施例中，本發明提供包含與一或多個編碼多肽之核酸序列可操作地連接的合成DNA分子之表現載體。

在一些實施例中，本發明提供包含表現載體之經基因工程改造之宿主細胞。在一些實施例中，經基因工程改造之宿主細胞為印度大麻細胞。在一些實施例中，經基因工程改造之宿主細胞為菸草(*Nicotiana tabacum*)細胞。

在一些實施例中，本發明提供包含含有嵌合核酸構築體的細胞之經基因工程改造之植物，該嵌合核酸構築體包含合成DNA分子。在一些實施例中，經基因工程改造之植物屬於茄科(family Solanacea)。在一些實施例中，經工程改造之茄科植物為菸草(*N. tabacum*)植物。在一些實施例中，經基因工程改造之植物屬於大麻科(family Cannabaceae)。在一些實施例中，經工程改造之大麻科植物為印度大麻植物。在一些實施例中，本發明提供自經基因工程改造之植物之種子，其中種子包含嵌合核酸構築體。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:1中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:1之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:2中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:2之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:3中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:3之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:5中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:5之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:6中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:6之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:8中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:8之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:9中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:9之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:11中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:11之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具

有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:12中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:12之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:13中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:13之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:14中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:14之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:16中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:16之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:17中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:17之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:18中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ

ID NO:18之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:19中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:19之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:21中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:21之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:22中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:22之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:23中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:23之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:24中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:24之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:25中所

闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:25之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:26中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:26之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:28中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:28之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:29中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:29之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:31中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:31之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:32中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:32之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，本發明為合成DNA分子提供如SEQ ID NO:33中所闡述之核苷酸序列。在一些實施例中，本發明提供具有至少約80%與SEQ ID NO:33之核苷酸序列一致的核苷酸序列之合成DNA分子，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一個態樣中，本發明提供包含整合至其基因組中之嵌合基因的經基因工程改造之植物或植物細胞，嵌合基因包含與同源核酸序列或異源核酸序列可操作地連接之毛茸特異性啟動子，其中啟動子選自由以下組成之群：(a)SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33中之任一者之核苷酸序列；及(b)至少約80%與以下中之任一者之核苷酸序列一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子。

在一些實施例中，經基因工程改造之植物或植物細胞屬於茄科。在一些實施例中，茄科植物為菸草。在一些實施例中，經基因工程改造之植物屬於大麻科。在一些實施例中，經工程改造之大麻科植物為印度大麻。

在一個態樣中，本發明提供一種用於表現植物毛茸中多肽之方法，其包含：(a)將包含選自由以下組成之群之核苷酸序列的表現載體引入宿主細胞中：(i)闡述於以下中之任一者中之核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33；及(ii)至少約80%與以下中之任一者之核苷酸序列一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子；其中該(i)或(ii)核酸序列與一或多個編碼多肽的核酸序列可操作地連接；及(b)在允許表現多肽之條件下生長

植物。

在另一態樣中，本發明提供一種用於增加宿主植物毛茸中大麻素之方法，其包含：(a)將包含選自由以下組成之群之核苷酸序列的表現載體引入宿主細胞中：(i)闡述於以下中之任一者中之核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33；及(ii)至少約80%與以下中之任一者之核苷酸序列一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子；其中該(i)或(ii)核酸序列與一或多個編碼大麻素生物合成路徑之酶的核酸序列可操作地連接；及(b)在允許表現大麻素生物合成路徑酶之條件下生長植物；其中大麻素生物合成路徑酶之表現導致植物之大麻素含量相對於在類似條件下生長之對照植物增加。

在該方法之一些實施例中，大麻素生物合成路徑酶為大麻二酚酸(CBDA)合成酶、大麻吡烯酸(CBCA)合成酶或 Δ^9 四氫大麻酚酸(THCA)合成酶。

在一些實施例中，該方法進一步包含為植物提供大麻萜酚酸(CBGA)。

在一些實施例中，本發明提供一種用於製造經基因工程改造之植物之方法，該植物之 Δ^9 四氫大麻酚(THC)含量、大麻吡烯(CBC)含量及/或大麻二酚(CBD)含量相對於對照植物增加。

本文中描述及主張之技術具有多種屬性及其實施例，包括但不限於此簡要發明內容中闡述或描述或提及之彼等。其不意欲全部包括在內且本文中描述及主張之發明不限於此簡要發明內容中鑑定之特徵或實施例或由此

簡要發明內容中鑑定之特徵或實施例限制，其僅出於說明之目的且不限制地包括在內。其他實施例可揭示於以下實施方式中。

在一個態樣中，本發明提供包含選自由以下組成之群之核苷酸序列的合成DNA分子：(a)闡述於SEQ ID NO:31、32或33中之任一者的核苷酸序列；及(b)至少約80%與SEQ ID NO:31、32或33中之任一者之核苷酸序列一致的核苷酸序列，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子，其中核苷酸序列與異源核酸可操作地連接。

在一些實施例中，本發明提供包含與一或多個編碼多肽之核酸序列可操作地連接的合成DNA分子之表現載體。

在一些實施例中，本發明提供包含表現載體之經基因工程改造之宿主細胞。在一些實施例中，經基因工程改造之宿主細胞為印度大麻細胞。在一些實施例中，經基因工程改造之宿主細胞為菸草細胞。

在一些實施例中，本發明提供包含含有嵌合核酸構築體的細胞之經基因工程改造之植物，該嵌合核酸構築體包含合成DNA分子。在一些實施例中，經工程改造之植物為菸草植物。在一些實施例中，經工程改造之植物為印度大麻植物。

在一些實施例中，本發明提供自5個中之任一者的經基因工程改造之植物的種子，其中種子包含嵌合核酸構築體。

在一個態樣中，本發明提供包含闡述於SEQ ID NO:33中之核苷酸序列的合成DNA分子。

在一些實施例中，本發明提供包含與一或多個編碼多肽之核酸序列可操作地連接的合成DNA分子之表現載體。

在一些實施例中，本發明提供包含表現載體之經基因工程改造之宿

主細胞。在一些實施例中，經基因工程改造之宿主細胞為印度大麻細胞。在一些實施例中，經基因工程改造之宿主細胞為菸草細胞。

在一些實施例中，本發明提供包含含有嵌合核酸構築體的細胞之經基因工程改造之植物，該嵌合核酸構築體包含合成DNA分子。在一些實施例中，經工程改造之植物為菸草植物。在一些實施例中，經工程改造之植物為印度大麻植物。

在一些實施例中，本發明提供自經工程改造之植物之種子，其中種子包含嵌合核酸構築體。

【圖式簡單說明】

圖1描繪大麻素生物合成路徑，其使主要大麻素在印度大麻、 Δ^9 -四氫大麻酚酸(THCA)及大麻二酚酸(CBDA)中形成。

圖2A-2B展示啟動子：本文中所描述之實驗中採用之報導基因設計。各啟動子與GUS報導基因耦合，且啟動子活性在染色時由藍色表示(**圖2A**)。**圖2B**為菸草毛茸中大麻素生物合成酶基因啟動子之毛茸特異性表現之全葉視圖。展示自代表性啟動子(CBDA合成酶20800基因啟動子)之結果。自大麻素生物合成路徑中其他啟動子之結果在性質上一致(未圖示)。**圖2B**展示報導基因之表現受限於毛茸。

圖3展示自菸草毛茸中完全大麻素生物合成路徑之啟動子之毛茸特異性表現。啟動子活性由GUS報導基因之活性所引起的藍色表示。自路徑中之每一基因之代表性啟動子展示毛茸特異性表現且因此自路徑中之基因之所有啟動子將指導毛茸中之表現。

圖4A展示本發明技術之4 × Cannabinoid On (CANON)片段合成啟動子之設計。**圖4B**展示本發明技術之4 × CANON片段合成啟動子之毛茸特

異性表現。合成啟動子之活性由GUS報導基因之活性所引起的藍色表示。

【實施方式】

相關申請案之交互參照

本申請案主張2016年9月20日申請之美國臨時專利申請案第62/397,212號之優先權，該案之內容以全文引用之方式併入本文中。

I. 引言

本發明技術係關於二十三個與大麻素生物合成路徑有關的酶之毛茸特異性啟動子之核酸序列的發現：(1)橄欖酚合成酶(olivetol synthase, OLS；亦稱作丁烯酮合成酶)啟動子；(2) OLS1啟動子；(3) OLS2啟動子；(4)橄欖酚酸環化酶(OAC)啟動子；(5) OAC1啟動子；(6)芳族異戊烯基轉移酶(PT)啟動子；(7) PT1啟動子；(8)己醯基-CoA合成酶(AAE1-1)啟動子；(9)己醯基-CoA合成酶(AAE1-1')啟動子；(10)己醯基-CoA合成酶(AAE3)啟動子；(11)己醯基-CoA合成酶(AAE12)啟動子；(12) CBDA合成酶(CBDAS)啟動子；(13) CBDA合成酶1 (CBDAS1)啟動子；(14) CBDA合成酶(CBDAS) 20800啟動子；(15) CBDA合成酶(CBDAS) 20800'啟動子；(16) THCA合成酶(THCAS) 19603啟動子；(17) THCA合成酶(THCAS) 19603'啟動子；(18) THCA合成酶(THCAS) 50320啟動子；(19) THCA合成酶(THCAS) 50320'啟動子；(20) THCA合成酶(THCAS) 1330啟動子；(21) THCA合成酶(THCAS) 1330'啟動子；(22) CBDA合成酶(CBDAS) 3498啟動子；及(23) CBDA合成酶(CBDAS) 3498'啟動子。

已測定各啟動子之核酸序列。(i)橄欖酚合成酶(OLS)啟動子、(ii)OLS1啟動子及(iii) OLS2啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:1、2及3中，且OLS之開放閱讀框架(ORF)闡述於SEQ ID NO:4中。

橄欖酚酸環化酶(OAC)啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:5中，OAC1 啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:6中，且OAC之ORF闡述於SEQ ID NO:7中。芳族異戊烯基轉移酶(PT)啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:8中，PT1啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:9中，且PT之ORF闡述於SEQ ID NO:10中。(i)己醯基-CoA合成酶(AAE1-1)啟動子、(ii)己醯基-CoA合成酶(AAE1-1')啟動子、(iii)己醯基-CoA合成酶(AAE3)啟動子及(iv)己醯基-CoA合成酶(AAE12)啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:11、12、13及14中，且己醯基-CoA (AAE-1)之ORF闡述於SEQ ID NO:15中。(i) CBDA合成酶(CBDAS)啟動子、(ii) CBDAS合成酶1 (CBDAS1)啟動子、(iii) CBDA合成酶(CBDAS) 20800啟動子及(iv) CBDA合成酶(CBDAS) 20800'啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:16、17、18及19中，且CBDA合成酶(CBDAS)之ORF之核酸序列闡述於SEQ ID NO:20中。(i) THCA合成酶(THCAS) 19603啟動子、(ii) THCA合成酶(THCAS) 19603'啟動子、(iii) THCA合成酶(THCAS) 50320 啟動子、(iv) THCA合成酶(THCAS) 50320'啟動子、(v) THCA合成酶(THCAS) 1330啟動子及(vi) THCA合成酶(THCAS) 1330'啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:21、22、23、24、25及26中，且THCAS之ORF闡述於SEQ ID NO:27中。CBCA合成酶(CBCAS) 3498啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:28中，CBCA合成酶(CBCAS) 3498'啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:29中，且CBCA合成酶(CBCAS)之ORF闡述於SEQ ID NO:30中。

本發明技術亦關於用於足以指導毛茸特異性表現之「cannabinoid on」或「CANON」啟動子片段之核酸序列的發現。足以指導腺毛中之毛

茸特異性表現的CANON片段之核酸序列闡述於SEQ ID NO:31中。包含四個共同CANON片段的複本之4 × CANON片段合成啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:33中。

鑒於對植物細胞之已知諸如THC的大麻素之細胞毒性影響，在強廣泛啟動子(如花椰菜嵌紋病毒(Cauliflower Mosaic Virus, CaMV) 35S)下驅使其產生之基因之表現可導致整個植物中之代謝路徑擾動，且可對植物發育及生理有有害後果。因此，作為與植物之其餘部分有受限交流之不同實體的毛茸代表代謝工程改造之潛在目標。

相應地，在一些實施例中，本發明技術提供自大麻素生物合成基因之先前未發現的毛茸特異性啟動子或可用於基因操縱宿主植物(諸如印度大麻、茄科植物及無法自然地產生大麻素的其他科植物及物種)中大麻素(例如，THC、CBD、CBC、CBG)之合成的其生物學上活性的片段。

II. 定義

在本說明書中採用之所有技術術語常用於生物化學、分子生物學及農業中；因此，其由本發明技術所屬領域中之彼等熟習技術者理解。彼等技術術語可發現例如於以下中：Molecular Cloning: A Laboratory Manual 第3版，第1-3卷，Sambrook及Russel編(Cold Spring Harbor Laboratory出版, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001)；Current Protocols In Molecular Biology, Ausubel等人編(Greene Publishing Associates及Wiley-Interscience, New York, 1988) (包括定期更新)；Short Protocols In Molecular Biology: A Compendium Of Methods From Current Protocols In Molecular Biology 第5版,第1-2卷，Ausubel等人編(John Wiley & Sons, Inc., 2002)；Genome Analysis: A Laboratory Manual, 第

1-2卷, Green等人編(Cold Spring Harbor Laboratory出版, Cold Spring Harbor, N.Y., 1997)。涉及植物生物學技術之方法在本文中經描述且亦詳細地描述於論文中, 諸如Methods In Plant Molecular Biology: A Laboratory Course Manual, Maliga等人編(Cold Spring Harbor Laboratory出版, Cold Spring Harbor, N.Y., 1995)。

「**嵌合核酸**」包含編碼序列或其與不同於與其中編碼序列自然地存在之細胞相關之核苷酸序列的核苷酸序列有關之片段。

術語「**編碼**」係指藉由其基因經由轉錄及轉譯之機制將資訊提供至細胞的方法, 自該細胞一系列胺基酸可集成特異性胺基酸序列以產生活性酶。由於基因密碼之簡併, DNA序列中某些基本變化不改變蛋白之胺基酸序列。

「**內源性核酸**」或「**內源性序列**」對待經基因工程改造之植物或生物體為「**天然的**」, 亦即原生的。其係指存在於待經基因工程改造之植物或生物體之基因組中的核酸、基因、多核苷酸、DNA、RNA、mRNA或cDNA分子。

「**外源性核酸**」係指核酸、DNA或RNA, 其經由人類之努力已經引入細胞(或細胞之祖先)中。該等外源性核酸可為自然地發現於其經引入的細胞中之序列或其片段之複本。

如本文所用, 「**表現**」表示經由基因之轉錄產生RNA產物或產生由核苷酸序列編碼的多肽產物。「**過度表現**」或「**上調**」用於表示在細胞或植物(包括其衍生之所有後代植物)中之特定基因序列或其變異體表現相對於對照細胞或植物已藉由基因工程改造增加。

「**基因工程改造**」涵蓋將核酸或特異性突變引入宿主生物體中的任

何方法。舉例而言，在其用遏止基因表現之多核苷酸序列轉形時植物經基因工程改造，使得靶基因之表現相比於對照植物減少。在此情形下，「**經基因工程改造**」包括轉殖基因植物及植物細胞。經基因工程改造之植物或植物細胞可為任何天然途徑(亦即，涉及非外來核苷酸序列)之產物，藉由僅引入衍生自宿主植物物種或衍生自性相容植物物種之核酸序列來實施。參見例如美國專利申請案第2004/0107455號。

「**異源核酸**」或「**同源核酸**」係指核酸或胺基酸序列與宿主細胞或宿主生物體之間的關係，尤其在轉殖基因生物體之情形下。同源序列自然地發現於宿主物種(例如，用大麻基因轉形之大麻植物)中，而異源序列無法自然地發現於宿主細胞(例如，用自大麻植物之序列轉形之菸草植物)中。該等異源核酸可包含為自然地發現於已經引入的細胞中之序列之複本的區段或其片段。視情形而定，術語「同源物」或「同源」可替代地指為常見上代序列(例如，其可為直系同源物)之後裔的序列。

「**增加**」、「**減少**」、「**調節**」、「**更改**」或其類似術語係指：與在類似條件下生長但無變異之情況下的類似變種、菌株或細胞比較，得到增加、減少、調節或更改。在一些情況下，此可為非轉形對照、模擬轉形對照或載體轉形對照。

「**分離之核酸分子**」意指已自其天然環境中移出的核酸分子、DNA或RNA。舉例而言，出於本發明技術之目的，將DNA構築體中所含之重組DNA分子視為分離的。經分離之DNA分子之其他實例包括維持於異源宿主細胞中之重組DNA分子或在溶液中部分或基本上經純化之DNA分子。經分離之RNA分子包括本發明技術之DNA分子之活體外RNA轉錄物。根據本發明技術之經分離之核酸分子進一步包括以合成方式產生的該

等分子。

「**植物**」為涵蓋整個植物、植物器官(例如，葉子、莖、根等)、種子、分化或未分化植物細胞及其後代之術語。植物材料包括但不限於種子、懸浮培養物、胚胎、分生組織部分、癒合組織、葉子、根、芽、莖、果實、配子體、孢子體、花粉及小孢子。

「**植物細胞培養**」意謂植物單位之培養物，諸如，處於不同發育階段的原生質體、細胞培養細胞、植物組織中之細胞、花粉、花粉管、胚珠、胚囊、合子及胚胎。在本發明技術之一些實施例中，提供轉殖基因組織培養或轉殖基因植物細胞培養，其中轉殖基因組織或細胞培養包含本發明技術之核酸分子。

「**啟動子**」意謂自轉錄之起點的DNA上游之區域，該轉錄之起點與識別及結合RNA聚合酶及其他蛋白有關以使轉錄起始。「**組成性啟動子**」為在整個植物生命中且在大部分環境條件下有活性的啟動子。組織特異性、組織較佳型、細胞類型特異性及誘導性啟動子構成「**非組成性啟動子**」之類別。「**毛茸特異性啟動子**」為相比於植物之根、葉子、莖或其他組織中之表現，較佳地指導毛茸組織中之可操作地連接的基因之表現的啟動子。「**可操作地連接**」係指在啟動子序列起始且介導與第二序列對應的DNA序列之轉錄時啟動子與第二序列之間的功能連接。一般而言，「可操作地連接」意謂經連接之核酸序列為連續的。

在兩個多核苷酸(核酸)或多肽序列之情形下的「**序列一致性**」或「**一致性**」包括指在指定區域上進行最大對應比對時相同的兩個序列中之殘基。當序列一致性之百分比用於指代蛋白時，應認識到，不一致的殘基位置通常因為保守胺基酸取代而不同，其中胺基酸殘基取代具有類似化學特

性(諸如電荷及疏水性)的其他胺基酸殘基，且因此不改變分子之功能特性。在序列於保守取代方面不同的情況下，序列一致性百分比可向上調節以校正取代之保守性質。因為該等保守取代而不同之序列據稱具有「**序列相似性**」或「**相似性**」。進行此調節的方式為熟習此項技術者所熟知。通常此涉及將保守取代作為部分而非全部失配來進行評分，由此增加序列一致性百分比。因此，例如，在一致胺基酸給出1分，且非保守取代給出0分時，保守取代給出0與1之間之得分。保守取代之得分例如根據Meyers及Miller, *Computer Applic. Biol. Sci.* 4:11-17 (1988)之演算法，例如如程式PC/GENE (Intelligenetics, Mountain View, California, USA)中所實施來計算。

序列一致性百分比之在此描述中之使用表示藉由經比較窗比較兩個最佳比對序列來測定的值，其中比較窗中之多核苷酸序列部分相比於用於最佳比對兩個序列的參考序列(其不包含添加或缺失)可包含添加或缺失(亦即空隙)。藉由如下步驟計算百分比：測定兩個序列中存在之一致核酸鹼基或胺基酸殘基的位置數，得到匹配位置數，將匹配位置數除以比較窗中之總位置數且將結果乘以100，得到序列一致性百分比。

術語「**遏止**」或「**下調**」同義地用於表示在細胞或植物(包括其衍生之所有後代植物)中之特定基因序列或其變異體相對於對照細胞或植物已藉由基因工程改造減少的表現。

「**毛茸**」在此涵蓋不同類型之毛茸，腺毛及/或非腺毛。

「**毛茸細胞**」係指組成毛茸結構之細胞，諸如腺或分泌細胞、基本細胞及莖或條狀細胞、細胞外腔及表皮細胞 毛茸亦可由一個單細胞組成。

「大麻」或「大麻植物」係指產生大麻素之大麻屬中之任何物種，諸如印度大麻及其種間雜種。

「變異體」為偏離特定基因或多肽之標準或給定核苷酸或胺基酸序列之核苷酸或胺基酸序列。術語「同功異型物」、「同型」及「類似物」亦係指核苷酸或胺基酸序列的「變異體」形式。藉由添加、移除或取代一或多個胺基酸或改變核苷酸序列來改變的胺基酸序列可視為變異序列。多肽變異體可具有「保守」變化，其中經取代之胺基酸具有類似結構或化學特性，例如用異白胺酸替代白胺酸。多肽變異體可具有「非保守」變化，例如用色胺酸替代甘胺酸。類似微小變異亦可包括胺基酸缺失或插入或兩者。判定哪一胺基酸殘基可經取代、插入或缺失的指導，可使用此項技術中熟知之電腦程式(諸如載體NTI程式組(Vector NTI Suite) (InforMax, MD)軟體)來發現。變異體亦可指「改組基因」，諸如描述於Maxygen指定之專利(參見例如美國專利第6,602,986號)中之彼等。

如本文所使用，術語「約」將為一般熟習此項技術者理解且將在一定程度上視使用其之上下文而變化。若使用一般熟習此項技術者並不清楚的術語，則給定使用該術語之上下文，「約」將意謂特定術語至多加或減10%。

術語「生物學上活性片段」或「功能片段」或「具有啟動子活性之片段」係指核酸片段，其能夠賦予一或多個不同類型之植物組織及器官上發現的一或多個毛茸類型及/或一或多個毛茸細胞中之轉錄。生物學上活性片段賦予毛茸特異性及/或至少毛茸較佳表現，且其作為SEQ ID NO:1、3、5、7、9或11-15之啟動子較佳具有至少類似強度(或較高強度)。此可藉由用該種片段轉形植物、較佳與報導基因可操作地連接、且

定性(時空轉錄)及/或定量檢定毛茸中啟動子活性來測試。在一些實施例中，在腺毛中進行量測時，本發明技術之啟動子及/或啟動子片段之強度在數量上一致於或高於CaMV 35S啟動子之強度。在一些實施例中，本文中所描述之毛茸啟動子之生物學上活性片段可為約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%或約99%之啟動子的全長序列核酸序列。在其他實施例中，本文中所描述之毛茸啟動子之生物學上活性核酸片段可為例如至少約10個連續核酸。在又其他實施例中，本文中所描述之毛茸啟動子之生物學上活性核酸片段可為：

- (1) OLS啟動子(例如，SEQ ID NO:1)之約10個連續核酸高至約554個連續核酸；
- (2) OLS1啟動子(SEQ ID NO:2)之約10個連續核酸高至約550個連續核酸；
- (3) OLS2啟動子(SEQ ID NO:3)之約10個連續核酸高至約558個連續核酸；
- (4) OAC啟動子(例如，SEQ ID NO:5)之約10個連續核酸高至約996個連續核酸；
- (5) OAC1啟動子(例如，SEQ ID NO:6)之約10個連續核酸高至約992個連續核酸；
- (6) PT啟動子(例如，SEQ ID NO:8)之約10個連續核酸高至約1361個連續核酸；
- (7) PT1啟動子(例如，SEQ ID NO:9)之約10個連續核酸高至約1357個連續核酸；
- (8) AAE1-1啟動子(例如，SEQ ID NO:11)之約10個連續核酸高至約805個連續核酸；
- (9) AAE1-1'啟動子(例如，SEQ ID NO:12)之約10個連續核酸高至約800個連續核酸；
- (10) AAE3啟動子(例如，SEQ ID NO:13)之約10個連續核酸高至約1000個連續核酸；
- (11) AAE12啟動子(例如，SEQ ID NO:14)之約10個連續核酸高至約869個連續核酸；
- (12) CBDA合成酶啟動子(例如，SEQ

ID NO:16)之約10個連續核酸高至約420個連續核酸；(13) CBDAS1啟動子(例如，SEQ ID NO:17)之約10個連續核酸高至約416個連續核酸；(14) CBDAS 20800啟動子(例如，SEQ ID NO:18)之約10個連續核酸高至約535個連續核酸；(15) CBDAS 20800'啟動子(例如，SEQ ID NO:19)之約10個連續核酸高至約531個連續核酸；(16) THCAS 19603啟動子(例如，SEQ ID NO:21)之約10個連續核酸高至約800個連續核酸；(17) THCAS 19603'啟動子(例如，SEQ ID NO:22)之約10個連續核酸高至約796個連續核酸；(18) THCAS 50320啟動子(例如，SEQ ID NO:23)之約10個連續核酸高至約796個連續核酸；(19) THCAS 50320'啟動子(例如，SEQ ID NO:24)之約10個連續核酸高至約792個連續核酸；(20) THCAS 1330啟動子(例如，SEQ ID NO:25)之約10個連續核酸高至約720個連續核酸；(21) THCAS 1330'啟動子(例如，SEQ ID NO:26)之約10個連續核酸高至約716個連續核酸；(22) CBCAS 3498啟動子(例如，SEQ ID NO:28)之約10個連續核酸高至約804個連續核酸；或(23) CBCAS 3498'啟動子(例如，SEQ ID NO:29)之約10個連續核酸高至約800個連續核酸。在又其他實施例中，毛茸啟動子之生物學上活性片段可為任何值之此等兩個數量之間之連續核酸，諸如但不限於約20個、約30個、約40個、約50個、約60個、約70個、約80個、約90個、約100個、約110個、約120個、約130個、約140個、約150個、約160個、約170個、約180個、約190個、約200個、約250個、約300個、約350個、約400個、約450個、約500個、約550個、約600個、約650個、約700個、約750個、約800個、約850個、約900個、約950個、約1000個、約1050個、約1100個、約1150個、約1200個、約1250個或約1300個連續核酸。

III.使用毛茸特異性啟動子之宿主細胞及生物體之基因工程改造

A.毛茸特異性啟動子

本發明技術之揭示內容係關於鑑定二十三個啟動子，其能夠在毛茸細胞中調整可操作地連接至其上的編碼核酸序列之轉錄。

相應地，本發明技術提供具有以下之經分離之聚核苷酸：至少約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%與描述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33中之任一者中之核酸序列一致的核酸序列，其中核酸序列能夠在毛茸細胞中調整可操作地連接至其上的編碼核酸序列之轉錄。兩個核酸序列之間的差異可存在於參考核苷酸序列之5'或3'末端位置處或彼等末端位置之間之任何位置處，其以單個核苷酸穿插於參考序列中，或以一或多個連續組穿插於參考序列中。

本發明技術亦包括SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33之生物學上活性「變異體」，其中一或多個鹼基缺失、取代、插入或添加，其中核酸序列能夠在毛茸細胞中調整可操作地連接至其上的編碼核酸序列之轉錄。SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33之變異體包括包含至少約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或更高地與SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33核酸序列一致的核酸序列，且其在其活性中為毛茸特異性。

在本發明技術之一些實施例中，使用此項技術中已知之方法，諸如基於PCR之DNA修飾或標準突變誘發技術或藉由化學方式合成經修飾之多核苷酸，修飾多核苷酸(啟動子)以在分子序列中形成變異，以促進其提高活性。

相應地，闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33中之序列可截短或缺失且仍保持指導毛茸中之可操作地連接的核酸序列之轉錄之能力。啟動子區域之最小長度可藉由此項技術中已知之標準技術(包括但不限於移除限制酶片段或核酸酶消化)系統地自經分離之聚核苷酸之5'及3'末端移除序列來測定。

亦可使用本發明技術之毛茸特異性啟動子以表現將減少或抑制植物中內源基因之表現的核酸。該等核酸可編碼反義核酸、核酶、有義遏止劑或抑制內源基因之表現的其他產物。

亦可使用本發明技術之毛茸特異性啟動子以在「分子養殖(molecular farming)」應用中表現蛋白或肽。該等蛋白或肽包括但不限於工業酶、抗體、治療劑及營養產品。

在一些實施例中，可藉由多種方法設計或工程改造新穎雜合啟動子。多個啟動子含有上游序列，其活化、提高或限定啟動子之強度及/或特異性。參見例如Atchison, *Ann. Rev. Cell Biol.* 4:127 (1988)。T-DNA基因，例如含有位於轉錄起始部位之上游、定義轉錄起始部位及其他上游要素的「TATA盒」，調節轉錄水準。

B.用於毛茸特異性表現之Cannabinoid On (CANON)片段

在一些實施例中，本發明技術之揭示內容亦關於鑑定足以指導可操作地連接至其上之編碼核酸序列之毛茸特異性表現的稱為「Cannabinoid

On」或「CANON」片段之核酸分子。

171-鹼基對CANON片段(SEQ ID NO:31)示於下**表1**中。共同CANON片段(突出顯示)連同推定TATA盒(加粗底線)、5' UTR及起始密碼子(加粗底線的「atg」)於**表1**中示為SEQ ID NO:32。共同序列衍生自來自THCA合成酶19603、1330及50320、CBCA合成酶3498及CBDA合成酶20800之毛茸特異性啟動子。171-鹼基對CANON片段(SEQ ID NO:31)足以指導菸草(及大麻)之腺毛中之毛茸特異性表現。

稱為「4 × CANON片段合成啟動子」的包含最小啟動子(亦即TATA盒、轉錄之起點及第一ATG)之一個複本之前之CANON片段之四個複本的核酸序列亦於**表1**中示為SEQ ID NO:33。SEQ ID NO:33之第一CANON片段以粗體展示，隨後第二片段以加底線展示，隨後第三片段以粗體展示，且第四片段以加底線展示。

表1.CANON片段序列。

Cannabinoid On (「CANON」)片段(171 bp) atgatgccaaactattcaatgtacaatgtacattttatTTTTaataagggcttcacctaacia aggtgcctaatttttgtgaacttttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaatta taaaatatttaagtcaatttctttgccccactccaatatataatgt (SEQ ID NO:31)
具有推定TATA盒、5'UTR及起始密碼子(232 bp)之CANON片段 atgatgccaaactattcaatgtacaatgtacattttatTTTTaataagggcttcacctaacia aggtgcctaatttttgtgaacttttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaatta taaaatatttaagtcaatttctttgccccactccaatatataatgt tataaataggataat tctcaattcatagtaattcaaaaatcattaggactaaagaaaa atg (SEQ ID NO:32)
4 × CANON片段合成啟動子(709 bp) atgatgccaaactattcaatgtacaatgtacattttatTTTTaataagggcttcacctaacia aggtgcctaatttttgtgaacttttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaatta taaaatatttaagtcaatttctttgccccactcca atgatgccaaactattcaatgtacaat <u>gtacattttatTTTTaataagggcttcacctaaciaaggtgcctaatttttgtgaactttttt</u> <u>ttaccacatgtgactatttaatgactatcaaattataaaatatttaagtcaatttctttgcc</u> <u>cccactccatgatgccaaactattcaatgtacaatgtacattttatTTTTaataagggcttca</u> <u>cctaaciaaggtgcctaatttttgtgaacttttttttaccacatgtgactatttaatgacta</u> <u>tcaaattataaaatatttaagtcaatttctttgccccactcca</u> atgatgccaaactattcaa <u>tgtacaatgtacattttatTTTTaataagggcttcacctaaciaaggtgcctaatttttgtga</u> <u>acttttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaattataaaatatttaagtcaatt</u> <u>tctttgccccactccaatatataatgttataaataggataattctcaattcatagtaattc</u> <u>aaaaatcattaggactaaagaaaaatg</u> (SEQ ID NO:33)

CANON片段足以指導增益功能啟動子中之毛茸特異性表現。不希望

受理論所束縛，咸信CANON片段對多種大麻素生物合成酶基因(包括THCA、CBDA及CBCA合成酶)之毛茸特異性表現負責。

C. 核酸構築體

在一些實施例中，本發明技術之毛茸特異性啟動子序列及CANON片段或其生物學上活性片段可併入至核酸構築體中，諸如表現構築體(亦即表現載體)，其可在宿主細胞(諸如植物毛茸細胞)中經引入及複製。該等核酸構築體可包括與本發明技術之啟動子序列或CANON片段中之任一者可操作地連接之異源核酸。因此在一些實施例中，本發明技術提供闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33中之啟動子或CANON片段或其生物學上活性片段中之任一者用於在重組細胞或生物體(諸如植物細胞或植物)中表現同源核酸序列或異源核酸序列的用途。在一些實施例中，此用途包含將闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33中之啟動子或CANON片段或其生物學上活性片段中之任一者可操作地連接至同源核酸序列或異源核酸序列以形成核酸構築體且轉形宿主，諸如植物或植物細胞。在一些實施例中，編碼與產生大麻素之生物合成路徑有關之酶(例如闡述於SEQ ID NO:4、7、10、15、20、27或30中之核酸序列之至少一者)的不同基因可適用作可與本發明技術之毛茸特異性啟動子或CANON片段可操作地連接的轉基因。在一些實施例中，本發明技術之核酸構築體調節一或多種調節大麻素生物合成之蛋白的表現。在一些實施例中，本發明技術之核酸構築體可用於調節毛茸細胞中之大麻素或其他化合物(例如萜類)之表現。

在一些實施例中，表現載體包含含有選自由以下組成之群之核酸序列的啟動子或CANON片段：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-

19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽之cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。在另一實施例中，植物細胞株包含含有啟動子或CANON片段之表現載體，該啟動子或CANON片段包含選自由以下組成之群之核酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29、及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。在另一實施例中，轉殖基因植物包含含有啟動子或CANON片段之表現載體，該啟動子或CANON片段包含選自由以下組成之群之核酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。在另一實施例中，提供用於基因調節大麻素之產生之方法，該等方法包含：引入包含含有選自由以下組成之群之核酸序列的啟動子或CANON片段之表現載體：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。

在另一實施例中，表現載體包含含有選自由以下組成之群之核酸序列的一或多個啟動子或CANON片段：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。在另一實施例中，植物細胞株包含含有選自由以下組成之群之核酸序列的一或多個啟動子：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。在另一實施例中，轉殖基因植物包含含有選自由以下組成之群之核酸序列的一或多個啟動子或CANON片段：SEQ ID NOs: 1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。在另一實施例中，提供用於基因調節大麻素之產生水準之方法，該等方法包含將包含含有選自由以下組成之群之核酸序列的一或多個啟動子或CANON片段之表現載體引入宿主細胞中：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33，或其生物學上活性片段，與編碼多肽的cDNA可操作地連接，諸如橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶

(AEE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶中之一或多者。

構築體可包含在載體內，諸如適用於在適當宿主(植物)細胞中表現的表現載體。應瞭解，能夠製造包含所引入之DNA序列之植物的任何載體將為足夠的。

適合之載體已為熟習此項技術者所熟知，且描述於通用技術文獻中，諸如Pouwels等人, *Cloning Vectors, A Laboratory Manual*, Elsevier, Amsterdam (1986)。已描述用於植物轉形之載體(參見例如Schardl等人, *Gene* 61:1-14 (1987))。在一些實施例中，核酸構築體質體載體或二元載體。適合之載體之實例包括Ti質體載體。

能夠在毛茸特異性調節序列(例如啟動子、CANON片段)的控制下引入核苷酸序列或嵌合基因之重組核酸構築體(例如表現載體)可使用此項技術中通常已知的標準技術製備。為產生嵌合基因，在5'到3'方向可操作地連接的表現載體通常包含毛茸特異性啟動子序列或CANON序列，其指導下游同源核酸序列或異源核酸序列之轉錄，且視情況隨後3'未轉譯核酸區域(3'-UTR)，其編碼在植物細胞中起作用以使得終止轉錄且將聚腺苷酸核苷酸添加至編碼蛋白之mRNA之3'端的聚腺苷酸化信號。同源核酸序列或異源核酸序列可為編碼蛋白或肽的序列，或其可為經轉錄為活性RNA分子(諸如適合於使宿主細胞或生物體中之基因或基因家族沉默的有義和/或反義RNA)的序列。表現載體亦通常含有可選標記。典型的5'至3'調節序列包括轉錄起始部位、核糖體結合位點、RNA處理信號、轉錄終止部位及/或聚腺苷酸化信號。

在一些實施例中，本發明技術之表現載體可含有終止序列，其安置於本發明技術之核酸分子之下游，使得mRNA之轉錄終止，且添加聚腺苷

酸序列。例示性終止子包括根癌農桿菌胭脂脲合成酶終止子 (Agrobacterium tumefaciens nopaline synthase terminator, Tnos)、根癌農桿菌甘露糖合成酶終止子 (Agrobacterium tumefaciens mannopine synthase terminator, Tmas) 及 CaMV 35S 終止子 (CaMV 35S terminator, T35S)。終止區域包括豌豆核酮糖雙磷酸羧化酶小次單元終止區域 (pea ribulose biphosphate carboxylase small subunit termination region, TrbcS) 或 Tnos 終止區域。表現載體亦可含有強化子、起始密碼子、拼接信號序列及靶向序列。

在一些實施例中，本發明技術之表現載體可含有選擇標記，藉由其經轉形細胞可在培養物中經鑑定。標記可與異源核酸分子，亦即與啟動子可操作地連接之基因相關聯。如本文所使用，術語「標記」係指編碼准許選擇或篩選含有標記之植物或細胞的特性或表現型的基因。在植物中，例如，標記基因將編碼抗生素或除草劑抗性。此使得可自不經轉形或轉染的細胞當中選擇經轉形細胞。

適合之可選標記之實例包括但不限於腺苷脫胺酶 (adenosine deaminase)、二氫葉酸還原酶 (dihydrofolate reductase)、濕黴素 (hygromycin)-B-磷酸轉移酶、胸苷激酶 (thymidine kinase)、黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸-核糖基轉移酶 (xanthine-guanine phospho-ribosyltransferase)、嘉磷塞 (glyphosate) 及固殺草抗性 (glufosinate resistance) 及胺基-糖苷 3'-O-磷酸轉移酶 (康黴素 (kanamycin)、新黴素 (neomycin) 及 G418 抗性)。標記可包括 G418、濕黴素、博萊黴素 (bleomycin)、康黴素及慶大黴素 (gentamicin) 之抗性。構築體亦可含有可選標記基因 bar，其為除草草胺磷類似物 (如草丁膦銨) 賦予抗性。參見例如 Thompson 等人, EMBO J.

9:2519-23 (1987))。亦可使用此項技術中已知之其他適合之選擇標記。

可使用可見標記，諸如綠色螢光蛋白(**green florescent protein**，**GFP**)。亦已描述基於細胞分裂之對照鑑定或選擇經轉形植物的方法。參見例如WO 2000/052168及WO 2001/059086。

亦可包括細菌或病毒來源之複寫序列以使載體在細菌或噬菌體宿主中選殖。較佳地，使用廣泛宿主範圍原核複製起點。可包括細菌之可選標記以使得選擇含所需構築體之細菌細胞。適合之原核可選標記亦包括諸如康黴素或四環素的抗生素之抗性。

如本領域中已知，編碼額外功能之其他核酸序列亦可存在於載體中。舉例而言，當農桿菌為宿主時，可包括**T-DNA**序列以便於連續轉移至且併入植物染色體中。

本發明之技術之核酸序列或其生物學上活性片段是否能夠賦予毛茸中之特異性轉錄且活性是否「強」可使用不同方法進行測定。定性方法(例如，組織學**GUS** (β -葡糖苷酸酶)染色)用於測定啟動子或**CANON**片段之時空活性(亦即，啟動子或**CANON**片段在某一組織或器官(例如，毛茸，或在某些環境/發育條件下)中是否有活性)。定量方法(例如螢光**GUS**檢定)相比於對照組亦量化活性程度。適合之對照包括但不限於用空載體轉形(陰性對照)或用包含其他啟動子(諸如芥菜屬(*Arabidopsis*) **CER6**啟動子，其在菸草之表層及毛茸中有活性)之構築體轉形之植物。

為測試或量化本發明技術之啟動子或**CANON**片段之活性，如SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33中所闡述之核酸序列或其生物學上活性片段，可與已知核酸序列(例如，報導基因，諸如**gusA**，或編碼特異性蛋白之任何基因)可操作地連接，且可使用

已知方法用於轉形植物細胞。啟動子或CANON片段之活性可例如藉由定量RT-PCR或其他基於PCR的方法來檢測毛茸細胞中之下游核酸序列之RNA轉錄物之水準來檢定(及視情況定量)。作為替代方案，若報導基因因為gus基因，則報導蛋白或報導蛋白之活性可藉由例如螢光GUS檢定來檢定及定量。

在一些實施例中，本發明技術之啟動子可用於驅使毛茸細胞中所關注之異源核酸之表現。異源核酸可編碼任何人造重組或天然存在之蛋白，諸如分別如SEQ ID NO:4、7、10、15、20、27及30中所闡述之大麻素生物合成路徑酶橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AAE1-1)、CBDA合成酶、THCA合成酶或CBCA合成酶。

D. 宿主植物及細胞及植物再生

可採用本發明技術之核酸構築體以轉形宿主細胞，諸如植物細胞。在一些實施例中，本發明技術之核酸構築體用於轉形植物之至少一部分細胞。可藉由本領域熟習此項技術者已知之不同方法將此等表現載體短暫引入宿主植物細胞中或穩定整合至宿主植物細胞之基因組中，以產生轉殖基因植物。

將核酸構築體引入至細胞或植物中之方法為此項技術中所熟知的。將核酸構築體(例如表現載體)引入至植物毛茸中以產生轉殖基因植物的適合之方法包括但不限於農桿菌介導之轉形、粒子槍傳遞、顯微注射、電穿孔、聚乙二醇輔助之原生質體轉形及脂質體介導之轉形。轉形雙子葉植物之方法主要使用根癌農桿菌。

蘋果毛根病細菌(*Agrobacterium rhizogenes*)可用於產生包括大麻及

菸草之植物之轉殖基因鬚根培養物，如例如由Guillon等人, *Curr. Opin. Plant Biol.* 9:341-6 (2006)所描述。「菸草鬚根」係指具有自整合於基因組中且在培養物中生長而不補充生長素及其他植物激素之蘋果毛根病細菌之Ri質體的T-DNA菸草根。

另外，植物可藉由根瘤菌(*Rhizobium*)、苜蓿根瘤菌(*Sinorhizobium*)或百脈根根瘤菌(*Mesorhizobium*)轉形來轉形。(Broothaerts等人, *Nature* 433: 629-633 (2005))。

植物細胞或植物轉形後，所需DNA併入至其中的彼等植物細胞或植物可藉由該等方法來選擇，如抗生素抗性、除草劑抗性、對胺基酸類似物的耐受性或使用表現型標記。

轉殖基因植物可用於習知植物育種流程，諸如雜交、自交或回交，以產生含有轉基因的額外轉殖基因植物。

適合之宿主細胞包括植物細胞。任何植物可為適合之宿主，包括單子葉植物或雙子葉植物，諸如；玉蜀黍(*maize*)/玉米(玉米(*Zea*)物種，例如玉米(*Z. mays*)、二倍體多年生類玉米種(*Z. diploperennis*) (*chapule*)、繁茂類玉米種(*Zea luxurians*) (危地馬拉大芻草(*Guatemalan teosinte*))、玉米亞種韋韋特南戈大芻草(*huehuetenangensis*) (*San Antonio Huista teosinte*)、墨西哥類玉米亞種(*Z. mays subsp. mexicana*) (墨西哥大芻草)、小穎類玉米亞種(*Z. mays subsp. parviglumis*) (*Balsas teosinte*)、四倍體多年生玉米(*Z. perennis*)(常年性大芻草)及拉氏玉米(*Z. ramosa*)、麥(小麥屬(*Triticum*)物種)、大麥(例如大麥芽(*Hordeum vulgare*))、燕麥((例如燕麥(*Avena sativa*))、高粱(雙色高粱(*Sorghum bicolor*))、粗麥(黑麥(*Secale cereale*))、大豆(甘胺酸屬，例如黑豆(*G. max*))、棉(棉屬

(*Gossypium*)物種，例如陸地棉(*G. hirsutum*)、海島棉(*G. barbadense*)、甘藍型屬(例如甘藍型油菜(*B. napus*)、芥菜(*B. juncea*)、蕓苔(*B. oleracea*)、蕪菁(*B. rapa*)等)、葵花(油葵(*Helianthus annuus*))、菸草(菸草物種)、苜蓿(紫苜蓿(*Medicago sativa*))、水稻(稻屬(*Oryza*)物種，例如栽培稻印棟(*O. sativa indica*)栽培品種或山茶(*japonica*)栽培品種)、草料草、珀爾粟(狼尾草(*Pennisetum*)物種，例如禦穀(*P. glaucum*))、樹木物種、植物物種，諸如番茄(*Lycopersicon*)屬(近來再分為屬於茄屬(the genus *Solanum*))，例如番茄(番茄(*L. esculentum*))，合成番茄(syn. *Solanum lycopersicum*))，諸如，櫻桃番茄，櫻桃番茄變種(var. *cerasiforme*)或現有番茄，醋栗番茄變種(var. *pimpinellifolium*)或樹木番茄(樹番茄(*S. betaceum*))，合成樹番茄(*Cyphomandra betaceae*)、馬鈴薯(馬鈴薯(*Solanum tuberosum*))及其他茄屬物種，諸如茄子(茄子(*Solanum melongena*))、香瓜茄(人參果(*S. muricatum*))、可可納果(*cocona*) (斯氏茄(*S. sessiliflorum*))及奎東茄(*naranjilla*) (可樂茄(*S. quitoense*))；胡椒(甜椒(*Capsicum annuum*)、辣椒(*Capsicum frutescens*))、豌豆((例如豌豆(*Pisum sativum*))、豆((例如菜豆(*Phaseolus*)物種)、胡蘿蔔(*Daucus carota*)、萵苣屬(*Lactuca*)物種(諸如萵苣(*Lactuca sativa*)、山萵苣(*Lactuca indica*)、萵苣多年生(*Lactuca perennis*))、胡瓜(黃瓜(*Cucumis sativus*))、瓜(香瓜(*Cucumis melo*))、夏季產南瓜(*zucchini*) (西葫蘆(*Cucurbita pepo*)、南瓜(*squash*) (印度南瓜(*Cucurbita maxima*)、西葫蘆(*Cucurbita pepo*)、墨西哥南瓜(*Cucurbita mixta*))、南瓜(*pumpkin*) (西葫蘆(*Cucurbita pepo*))、西瓜(西瓜(*Citrullus lanatus*)合成西瓜(syn. *Citrullus vulgaris*))、球芽果實物種(葡萄、桃、李子、草莓、芒果、

瓜)、觀賞植物物種((例如,玫瑰、矮牽牛(Petunia)、菊花(Chrysanthemum)、百合(Lily)、鬱金香(Tulip)、大丁草(Gerbera)物種)、木本樹木(例如白楊屬(Populus)、柳屬(Salix)、櫟屬(Quercus)、桉樹(Eucalyptus)之物種)、纖維物種,例如亞麻(Linum usitatissimum)及大麻(hemp)(印度大麻)。在一些實施例中,植物為印度大麻。在一些實施例中,植物為菸草。

因此在一些實施例中,本發明技術涵蓋包含闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29及31-33中之核酸序列或其生物學上活性片段的毛茸特異性啟動子及/或CANON片段之用途,以基因操縱宿主植物(諸如印度大麻、茄科植物,諸如菸草,及其他植物家族及不自然地產生大麻素的物種)中大麻素(例如THC、CBD、CBC)或其他分子之合成。

本發明技術亦涵蓋細胞培養系統(例如,植物細胞培養、細菌或真菌細胞培養、人類或哺乳動物細胞培養、昆蟲細胞培養),其包含用本文所描述之核酸分子轉形的經基因工程改造之細胞。在一些實施例中,提供包含含有本發明技術之啟動子或CANON片段的細胞之細胞培養。

不同檢定可用於判定植物細胞是否基因表現中之變化,例如Northern墨點法或定量逆轉錄酶PCR(reverse transcriptase PCR, RT-PCR)。所有轉殖基因植物可藉由習知方法自經轉形細胞再生。該等轉殖基因植物可經傳播且自花授粉以產生同種接合品系。該等植物產生含有所引入之特性之基因的種子,且可生長以產生將產生經選擇之表現型的植物。

為提高毛茸細胞中所關注之分子之表現及/或積聚及/或為便於純化自

毛茸細胞之分子，可採用下調至少一種對植物毛茸為內源性之分子的方法。毛茸已知含有干擾毛茸細胞中其他分子之產生的多種化合物及代謝物。此等化合物及代謝物包括例如蛋白酶、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、多酚、酮、萜類及生物鹼。已描述該等毛茸組分之下調。參見例如美國專利第7,498,428號。

實例

以下實例僅以說明而非作為限制之方式提供。熟習此項技術者將容易識別可經改變或修改以產生基本相同或類似之結果的多種非關鍵性參數。實例決不應理解為限制本發明技術之範疇，如隨附申請專利範圍所界定。

實例1：鑑定毛茸特異性啟動子

(i) 橄欖酚合成酶(OLS)啟動子、(ii) OLS1啟動子及(iii) OLS2啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:1、2及3中，且OLS之開放閱讀框架(ORF)闡述於SEQ ID NO:4中。橄欖酚酸環化酶(OAC)啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:5中，OAC1啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:6中，且OAC之ORF闡述於SEQ ID NO:7中。芳族異戊烯基轉移酶(PT)啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:8中，PT1啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:9中，且PT之ORF闡述於SEQ ID NO:10中。(i) 己醯基-CoA合成酶(AAE1-1)啟動子、(ii) 己醯基-CoA合成酶(AAE1-1')啟動子、(iii) 己醯基-CoA合成酶(AAE3)啟動子及(iv) 己醯基-CoA合成酶(AAE12)啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:11、12、13及14中，且己醯基-CoA(AAE-1)之ORF闡述於SEQ ID NO:15中。(i) CBDA合成酶(CBDAS)啟動子、(ii) CBDA合成酶1 (CBDAS1)啟動子、(iii) CBDA合成酶(CBDAS)

20800啟動子及(iv) CBDA合成酶(CBDAS) 20800'啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:16、17、18及19中，且CBDA合成酶(CBDAS)之ORF之核酸序列闡述於SEQ ID NO:20中。(i) THCA合成酶(THCAS) 19603啟動子、(ii) THCA合成酶(THCAS) 19603'啟動子、(iii) THCA合成酶(THCAS) 50320啟動子、(iv) THCA合成酶(THCAS) 50320'啟動子、(v) THCA合成酶(THCAS) 1330啟動子及(vi) THCA合成酶(THCAS) 1330'啟動子之核酸序列分別闡述於SEQ ID NO:21、22、23、24、25及26中，且THCAS之ORF闡述於SEQ ID NO:27中。CBCA合成酶(CBCAS) 3498啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:28中，CBCA合成酶(CBCAS) 3498'啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:29中，且CBCA合成酶(CBCAS)之ORF闡述於SEQ ID NO:30中。

毛茸特異性啟動子使用在大麻素生物合成路徑中有生物合成酶基因之編碼區域之BLAT檢索設施藉由檢索印度大麻之基因組序列草圖來鑑定。對於各基因組序列命中(genomic sequence hit)，運行基因預測程式(使用FGENESH程式)以形成第一ATG。轉錄之起始藉由在NCBI NR資料庫中將基因組序列與最長可用cDNA序列相比較隨後形成。多序列對準(用於CBDA及THCA合成酶基因)及查詢PLACE資料庫兩者形成TATA盒區域。隨著起始密碼子、轉錄之起始及TATA盒形成，驗證啟動子之位置及序列。

實例2：用於指導在菸草中產生大麻素之毛茸特異性啟動子

大麻素在大麻毛茸中合成且積聚。橄欖酚合成酶(OLS)、橄欖酚酸環化酶(OAC)、芳族異戊烯基轉移酶(PT)、己醯基-CoA合成酶(AAE1-1)、CBDA合成酶、CBCA合成酶及THCA合成酶為大麻素生物合成路徑之

酶。相應地，吾人預期此等酶之各者之啟動子將指導毛茸細胞中編碼核酸之表現。此實例表明使用本發明技術之毛茸特異性啟動子或其生物學上活性片段以在不自然地產生大麻素的植物及植物細胞中表現大麻素生物合成酶。

方法

載體構築體。啟動子序列(SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33)置於適用於在菸草細胞中表現之載體(諸如Ti質體載體)中之GUS-A標記前。根據此項技術中已知之方法，構築體併入至根癌農桿菌中且用於轉形菸草。構築體在康黴素選擇下轉形且再生，且主要再生體(T₀)生長以產生種子。

作為對照組，含有菸草NtCPS2啟動子之構築體轉形至菸草中。NtCPS2啟動子已展示在指導菸草中毛茸特異性表現方面高度有效(Sallaud等人, *The Plant Journal* 72:1-17 (2012))。

表現分析。定量及定性β-葡糖苷酸酶(GUS)活性分析在T₁植物上進行。對啟動子活性之定性分析使用組織學GUS檢定且藉由使用螢光顯微鏡觀測綠色螢光蛋白(Green Fluorescent Protein, GFP)而進行。為GUS檢定，不同植物部分在大氣氧與含Xglue (5-溴-4-氯-3-吡啶基-β-D-葡糖苷酸環己胺鹽)基質之磷酸緩衝液(1 mg/mL, K₂HPO₄, 10 μM, pH 7.2, 0.2% Triton X-100)存在下在37°C下培育隔夜。樣品藉由用乙醇反覆洗滌脫色。非轉殖基因植物用作陰性對照。預期具有OLS:GUS、OAC:GUS、PT:GUS、AAEE1-1:GUS、CBDAS:GUS、CBCAS:GUS及THCAS:GUS之轉殖基因植物之毛茸將展示亮藍色毛茸，而此等轉殖基因植物之非毛茸組織及非轉殖基因對照植物之毛茸將不經染色。

對啟動子活性之定量分析使用螢光GUS檢定進行。總蛋白樣品由年輕葉子材料製備；樣品由混合葉片製備。新鮮葉子材料在PBS中使用金屬珠粒研磨隨後離心且採集清液層。

結果

包含本發明技術之啟動子或其生物學上活性片段的用表現載體基因工程改造之植物及植物細胞呈現毛茸特異性轉錄活性。如圖2B中所示，用CBDAS 20800:GUS轉形之轉殖基因植物之毛茸展示亮藍色毛茸，而植物之非毛茸組織不經染色。大麻素生物合成路徑中其他啟動子之毛茸特異性表現在性質上類似(圖3)。展示於圖3中之結果證明自菸草毛茸中完整大麻素生物合成路徑之啟動子之毛茸特異性表現。相應地，此等結果證明自如本文中所描述之完整大麻素生物合成路徑之啟動子適用於相比於在植物之根、葉子、莖或其他組織中的表現，較佳指導可操作地連接之基因在毛茸組織中的表現。此毛茸特異性表現將為操作毛茸特異性生物化學化合物(諸如細胞毒性大麻素)之生物合成的關鍵手段。另外，此等啟動子將對於旨在將菸草或大麻毛茸用作控制特異性生物化學化合物之產生之生物工廠的策略而言為至關重要的。

實例3：鑑定「Cannabinoid On」(「CANON」)片段以指導菸草中之毛茸特異性表現

「Cannabinoid On (「CANON」)」片段之核酸序列闡述於SEQ ID NO:31中。CANON片段之核酸序列連同推定TATA盒、5'UTR及起始密碼子闡述於SEQ ID NO:32中。4 × CANON片段合成啟動子之核酸序列闡述於SEQ ID NO:33中。共同CANON片段自THCA合成酶19603、1330、50320、CBCA合成酶3498及CBDA合成酶20800由毛茸特異性啟動子衍

生。

方法

CANON片段使用BLAT檢索設施藉由檢索紫色Kush基因組序列來鑑定。使用THCA合成酶基因之紫色Kush基因組序列之BLAT檢索得到以下結果：

BLAT檢索結果*

行為	查詢	得分	起始	終止	Q尺寸	一致性	染色體	鏈	起始	終止	長度
瀏覽器	細節	TRCA	379	401	979	979	100.0%	骨架	19000	19301	302
瀏覽器	細節	TRCA	458	481	979	979	100.0%	骨架	50101	50402	302
瀏覽器	細節	TRCA	468	491	979	979	100.0%	骨架	1639	1670	302
瀏覽器	細節	TRCA	130	153	979	979	100.0%	骨架	3496	3797	302
瀏覽器	細節	TRCA	275	298	979	979	100.0%	骨架	6174	6475	302
瀏覽器	細節	TRCA	271	294	979	979	100.0%	骨架	9966	10267	302
瀏覽器	細節	TRCA	351	374	979	979	100.0%	骨架	17067	17368	302
瀏覽器	細節	TRCA	222	245	979	979	100.0%	骨架	46103	46404	302
瀏覽器	細節	TRCA	206	229	979	979	100.0%	骨架	39163	39464	302
瀏覽器	細節	TRCA	196	219	979	979	100.0%	骨架	20303	20604	302
瀏覽器	細節	TRCA	167	190	979	979	100.0%	骨架	11036	11337	302
瀏覽器	細節	TRCA	256	279	979	979	100.0%	骨架	17075	17376	302
瀏覽器	細節	TRCA	142	165	979	979	100.0%	骨架	59317	59618	302
瀏覽器	細節	TRCA	126	149	979	979	100.0%	骨架	12052	12353	302
瀏覽器	細節	TRCA	109	132	979	979	100.0%	骨架	67000	67301	302
瀏覽器	細節	TRCA	101	124	979	979	100.0%	骨架	29955	30256	302
瀏覽器	細節	TRCA	127	150	979	979	100.0%	骨架	14962	15263	302
瀏覽器	細節	TRCA	123	146	979	979	100.0%	骨架	4033	4334	302

選擇突出顯示之啟動子以進一步分析，且比較五個啟動子之序列。五個啟動子展示自轉譯之起始至推定TATA盒之約160個鹼基對上游的高序列相似性，但TATA盒之極少序列相似性上游。

共同序列由五個啟動子衍生，且序列用於使用稱為「4 × CANON片段合成啟動子」的合成啟動子測試菸草毛茸中毛茸特異性啟動子活性。4 × CANON片段合成啟動子包含共同CANON片段之四個複本，其未發現於自然界中，在最小啟動子(TATA盒、轉錄之起始及第一ATG)之一個複本前面。菸草用置於如實例2中所描述之GUS-A標記前的4 × CANON片段合成啟動子轉形，且進行GUS表現分析。

結果

如圖4B中所示，4 × CANON片段合成啟動子指導毛茸中之表現。相應地，此等結果證明CANON片段足以指導增益功能啟動子中毛茸特異性

表現，且因此對多個大麻素生物合成酶基因(包括THCA、CBDA及CBCA合成酶)之毛茸特異性表現負責。

等效

本發明技術就描述於本申請案中之特定實施例而言不受限，具體實施例僅僅為說明本發明技術之個別態樣。如熟習此項技術者將顯而易知，在不背離本發明技術之精神及範疇的情況下可對其作出諸多修改及改變。除本文中所列舉之彼等者外，熟習此項技術者自前述描述將顯而易見在本發明技術之範疇內之功能上等效之方法及裝置。該等修改及改變意欲屬於隨附申請專利範圍之範疇內。本發明技術僅受隨附申請專利範圍之項目以及此申請專利範圍所授權之等效物之完整範疇限制。應理解，本發明技術不限於特定方法、試劑、化合物組合物或生物系統，其當然可改變。亦應理解，本文所用之術語僅出於描述特定實施例之目的，且不欲作為限制。

另外，在根據Markush群組描述本發明之特徵及態樣時，熟習此項技術者應認識到，本發明亦從而根據Markush群組成員之任何個別成員或子群組進行描述。

熟習此項技術者應理解，出於任何及所有目的，尤其就提供書面描述而言，本文所揭示之所有範圍亦涵蓋其任何及所有可能的子範圍及子範圍組合。任何列出範圍可因足夠描述而容易地識別且能夠將同一範圍分解為至少相同的兩份、三份、四份、五份、十份等。作為非限制性實例，本文所論述之各範圍可容易地分解為下部三分之一、中間三分之一及上部三分之一等。熟習此項技術者亦應理解，所有語言，諸如「高達」、「至少」、「大於」、「小於」及其類似者均包括所列舉之數字且係指可隨後如上文所論述分解為子範圍之範圍。最終，熟習此項技術者將理解，範圍包括

各個別成員。因此，舉例而言，具有1-3個細胞之群組係指具有1個、2個或3個細胞之群組。類似地，具有1-5個細胞之群組係指具有1個、2個、3個、4個或5個細胞之群組，以此類推。

所有所提及或所引用至本文中之公開可用文獻，諸如專利、專利申請案、臨時申請案及公開案，包括Genbank寄存編號，在與本說明書之明確教示內容保持一致的程度上以全文引用之方式合併，包括所有圖式及表格。

在以下申請專利範圍內闡述其他實施例。

序列表

SEQ ID NO:1 (554 bp)**丁烯酮合成酶/橄欖酚合成酶(OLS)啟動子**

AAAAATAAAATTAATAAAATTTTTAATTATTAATATCATTTTTATTTTTTAA
TAAATAAATATCATTTTTATATTATTATAAATATGTATAAAGTTTTAATTG
TATACAAGAAGTCTTATAGTAAGAGTATACACCTTACATCATAATAACTA
CTCGATCTGAAATCAATGGTCAAGAAAAGTTCCTACCGGTAGGAAACTT
TTGCTAGATCCTACCATAGTCTTCCCTTATATTTATTATGTAGAATCTAT
TATTATATCTAATAATTAACAAATATTAACAAATCATTTTTGAAAAATTAT
ATTAATAAAAAAAAAACTTGAAAAGTCAAAGATTAACCATCAATTTGCCAAAT
CAAATTAGTGAGAAAGTAGGTATTATATACCTAACACTCATTTTACATAT
GTCTAGACGTTTATATGTATAGCGTTGTTGTGTGTAATAAGTTCACCTGT
AGTATCTTGTACATACATAATATATATATATAGGTGTGTTTGTGAACAAAT
TATATTATCACACATACACAACCTCATTATTATCATAATAATAATAATACC
ATGG

SEQ ID NO:2 (550 bp)**丁烯酮合成酶/橄欖酚合成酶1 (OLS1)啟動子**

AAAAATAAAATTAATAAAATTTTTAATTATTAATATCATTTTTATTTTTTAA
TAAATAAATATCATTTTTATATTATTATAAATATGTATAAAGTTTTAATTG
TATACAAGAAGTCTTATAGTAAGAGTATACACCTTACATCATAATAACTA
CTCGATCTGAAATCAATGGTCAAGAAAAGTTCCTACCGGTAGGAAACTT
TTGCTAGATCCTACCATAGTCTTCCCTTATATTTATTATGTAGAATCTAT
TATTATATCTAATAATTAACAAATATTAACAAATCATTTTTGAAAAATTAT
ATTAATAAAAAAAAAACTTGAAAAGTCAAAGATTAACCATCAATTTGCCAAAT
CAAATTAGTGAGAAAGTAGGTATTATATACCTAACACTCATTTTACATAT
GTCTAGACGTTTATATGTATAGCGTTGTTGTGTGTAATAAGTTCACCTGT
AGTATCTTGTACATACATAATATATATATATAGGTGTGTTTGTGAACAAAT
TATATTATCACACATACACAACCTCATTATTATCATAATAATAATAATAAT

SEQ ID NO:3 (558 bp)**丁烯酮合成酶/橄欖酚合成酶2 (OLS2)啟動子**

AAAAATAAAATTAATAAAATTTTTAATTATTAATATCATTTTTATTTTTTAA
TAAATAAATATCATTTTTATATTATTATAAATATGTATAAAGTTTTAATTG
TATACAAGAAGTCTTATAGTAAGAGTATACACCTTACATCATAATAACTA
CTCGATCTGAAATCAATGGTCAAGAAAAGTTCCTACCGGTAGGAAACTT
TTGCTAGATCCTACCATAGTCTTCCCTTATATTTATTATGTAGAATCTAT
TATTATATCTAATAATTAACAAATATTAACAAATCATTTTTGAAAAATTAT
ATTAATAAAAAAAAAACTTGAAAAGTCAAAGATTAACCATCAATTTGCCAAAT
CAAATTAGTGAGAAAGTAGGTATTATATACCTAACACTCATTTTACATAT
GTCTAGACGTTTATATGTATAGCGTTGTTGTGTGTAATAAGTTCACCTGT
AGTATCTTGTACATACATAATATATATATATATAGGTGTGTTTGTGAACA
ATTATATTATCACACATACACAACCTCATTATTATTAGCATAATAATAATA
ATAATAAT

SEQ ID NO:4 (1158 bp)**橄欖酚合成酶(OLS) ORF**

1 atgaatcattc ttcgtgctga gggtcocggcc tccgttctcg ccattggcac cgccaatccg
 61 gagaacattt tattacaaga tgagtttctt gactactatt ttcgcgtcac caaaagtga
 121 cacatgactc aactcaaaga aaagtttcga aaaatatgtg acaaaagtat gataaggaaa
 181 cgtaactggt tcttaaatga agaacaccta aagcaaaacc caagattggg ggagcacgag
 241 atgcaaactc tggatgcacg tcaagacatg ttggtagttg aggttccaaa acttggaag
 301 gatgcttgtg caaaggccat caaagaatgg ggtcaacca agtctaaaat cactcattta
 361 atcttcaact ggcacatcaac cactgacatg cccgggtgcag actaccattg cgttaagctt
 421 ctccgactga gtcctctcagt gaagcgtgtg atgatgtatc aactaggctg ttatgggtgg
 481 ggaaccgttc tacgcattgc caaggacata gcagagaata acaaaggcgc acgagttctc
 541 gccgtgtggt gtgacataat ggcttgcttg tttcgtgggc cttcagagtc tgacctgaa
 601 ttactagtgg gacaagctat ctttggtgat ggggtgctg cgggtgattgt tggagctgaa
 661 cccgatgagt cagttgggga aaggccgata tttgagttgg tgtcaactgg gcaaacatc
 721 ttaccaaact cgggaaggaa tattggggga catataaggg aagcaggact gatatttgat
 781 ttacataagg atgtgcctat gttgatctct aataatattg agaaatgttt gattgaggca
 841 tttactccta ttgggattag tgattggaac tccatatttt ggattacaca cccaggtggg
 901 aaagctatth tggacaaagt ggaggagaag ttgcatctaa agagtgataa gtttgtggat
 961 tcacgtcatg tgctgagtga gcatgggaat atgtctagct caactgtctt gtttgttatg
 1021 gatgagttga ggaagaggtc gttggaggaa gggaagtcta ccaactggaga tggatttgag
 1081 tgggggtgtc tttttgggtt tggaccaggt ttgactgtcg aaagagtggg cgtgcgtagt
 1141 gttcccatca aatattaa

SEQ ID NO:5 (996 bp)**橄欖酚酸環化酶(OAC)啟動子**

AATTTTTGACAATTTTTTTAATATAACTAACTTGAAGATAATTCCTAAT
 ACGAATAAATACAGAAAATATAAACAGTTTTTGTATAACACTTTTAGATC
 AGATTATAATTAATTTTTATATTTTTGATAAAAAAATCAATTGAGGGTCC
 TATTTGTACCATTTTAGAAAATATAGTGTCATTTTTATTATTTAGTAAA
 ACAGAGAGTCTAATGCGTAACTTTTACAAAAATACATGGTCCAAAATAGT
 ATTTACCCTTTTAATTTTTATTAGCAACTGTCCCAAAAAAATATGTTTTGA
 TGACTGACGTACGGGAATGTAAAGTTTTGTAATAGTGTATTGATTCAAAG
 ACAACATAAAGACATCAATCTGAAATCGATTTCAATGTCCCAAAAACACA
 TTAATGAGCCTTAATTGCATCCGATAATCATTTTTCCATTGGTTTTATTAC
 TTCTCATATATATAGACATCACATATATGATAGGATTTCTTGAGAATAAT
 GTTAACATTGAGATTTTTATTACAACCTGATATATTGATTATGCTTAGATG
 GCTTGAATTTGAGCGACATATATAGAAAGAGTATAGAATGATATATATGC
 ACATCCAAAATATGTACCAAAAATATTAGGTGACAATTTAGATAAATGGAA
 GAGAAAATTATAGAAAATGAGGGTTTTATATTTTTGTGGTTATTTAATTT
 TAGACATAGTGTGATCCAATAATTTTAGGATGTATAATTGTTAGGCACAT
 GGATTACTTGTTTTTTTTATTAAGTATAACCTTACAAAGTAGATGGTAGTA
 ATTAATGTAGAAGGTTCCAATAATGTATTTATATAAATTGTTAGGCATGC
 AAAGCCTAATTAATTAATAAATGAGGGTGGCCAATGGCCACTATATATAT
 CAAGGCATCGACTGTATGTAGCATAATGTGATTTATATAATTATCAAAAA
 AAAAAAATAAAAATAAGAAGAAGAAGAAAGTTGAGAAAGACCATGG

SEQ ID NO:6 (992 bp)**橄欖酚酸環化酶1 (OAC1)啟動子**

AATTTTTGACAATTTTTTTTAAATATAACTAACTTGAAGATAATTCCTAAT
 ACGAATAAATACAGAAAATATAAACAGTTTTTGTATAACACTTTTAGATC
 AGATTATAATTAAATTTTATATTTTTGATAAAAAAATCAATTGAGGGTCC
 TATTTGTACCATTTTAGAAAATATAGTGTCCATTTTTATTATTTAGTAAA
 ACAGAGAGTCTAATGCGTAACTTTTACAAAAATACATGGTCCAAAATAGT
 ATTTACCCTTTAATTTTATTAGCAACTGTCCCAAAAAAATATGTTTTGA
 TGACTGACGTACGGGAATGTAAAGTTTTGTAAATAGTGTATTGATTCAAAG
 ACAACATAAAGACATCAATCTGAAATCGATTTCAATGTCCCAAAAACACA
 TTAATGAGCCTTAATTGCATCCGATAATCATTTTCCATTGGTTTTATTAC
 TTCTCATATATATAGACATCACATATATGATAGGATTTCTTGAGAATAAT
 GTTAACATTGAGATTTTTATTACAACCTGATATATTGATTATGCTTAGATG
 GCTTGAATTTGAGCGACATATATAGAAAGAGTATAGAATGATATATATGC
 ACATCCAAAATATGTACCAAAATATTAGGTGACAATTTAGATAAATGGAA
 GAGAAAATTATAGAAAATGAGGGTTTATATTTTTGTGGTTATTTAATTT
 TAGACATAGTGTGATCCAATAATTTTAGGATGTATAATTGTTAGGCACAT
 GGATTACTTGTTTTTTTATTAAGTATAACCTTACAAAGTAGATGGTAGTA
 ATTAATGTAGAAGGTTCCAATAATGTATTTATATAAATTGTTAGGCATGC
 AAAGCCTAATTAATAAATAAATGAGGGTGGCCAATGGCCACTATATATAT
 CAAGGCATCGACTGTATGTAGCATAATGTGATTTATATAATTATCAAAAA
 AAAAAATAAAAAAAGAAGAAGAAGAAAGTTGAGAAAGAGA

SEQ ID NO:7 (485 bp)**橄欖酚酸環化酶(OAC) ORF**

1 aaaaaagaag aagaagaaga aagttgagaa agagaatggc agtgaagcat ttgattgtat
 61 tgaagttcaa agatgaaatc acagaagccc aaaaggaaga atttttcaag acgtatgtga
 121 atcttgtgaa tatcatccca gccatgaaag atgtatactg gggtaaagat gtgactcaa
 181 agaataagga agaagggtag actcacatag ttgaggtaac atttgagagt gtggagacta
 241 ttcaggacta cattattcat cctgcccattg ttggatttgg agatgtctat cgttctttct
 301 gggaaaaact tctcattttt gactacacac cacgaaagta gactatatat agtagccgac
 361 caagctgect tcatcttcoat cttctcaaat aatatatcta atatctaatt atataataat
 421 aactacttaa taaaagactg tgtttataac attaaataat aataataata aagtcttttg
 481 tagct

SEQ ID NO:8 (1361 bp)**芳族異戊烯基轉移酶(PT)啟動子**

TCAAACCAGATTTTTTATAATAATTT
 ACACACCAATTAACCTAAGAAATTCTAACTAGAGTTAGTGTGTAATTAGAA
 GGAGTATCAAGGTAACCTATCTCCTTTGTCTCTTTAAATTTTTAAAAGAA
 AAGCTaTTGTTGTAATTAGTTTGGATTTTATGGGTTAGGTTTTGTAGAGT
 TTGTTTGAGCTTAAAATTGTTGTTGGTTTGATTTAAGGTTGAATTCGTG
 TTGGTTTGTAAAGATTTTAGCTGATGTAGTTCGTGTTGGAGGAGTTCGAGT
 TTTTGAAGTCAAAGTCCACTCAACAATATGGTGAAATTAGTTTTAGGTGG
 TTTTAGATGCTTTTGAAGTGTATGTTTTGTTTAGATTACCCCTCTTTTTGG
 TAAGTTTGATAGCCTTTGGTCAAGGAATGACTTAATTTTGAAGGTCTGAA
 AGTTGAGTAGTTTTGAAGTCTTTTCTGCCAAAATGGTTTCGAATGAGTT
 GTACTTGTCATATGTGATTTGAGTGGTAAGGTTTCGGAAGGGTAGTCCTAG
 ACAGTGTTTTCAATGATTAGGTTTGGGGTTGGTGAATCTAGAGTTAAGAG
 CCTAGAGTTTTGGTTGCTTGGATTGGTGTGACCTGGTTGTTAGTATCCTT
 ATCAAGGGATCCCGAATAGGTGATGAGTGAGGTTTGGATGGTATATTCTG
 GATCAAAATTTTTAGATGGGGTCCAACTGATAGTTTCAAAAATGTGTGT
 GTGTGTCTGGTTAAGGATTTATTTTGGGAAGGCTCTAGTTGGGAGGTCTC
 GGATTGGAAGTCTAGATGTGAGGCTCCGGGTAGGAGGGTCTGTAGGAA
 GATTCTAGATGGTATTTGGTGGTTCGAGATGAGGGATTTCCGAACATGTTT
 TAATAGTTACAATAATTCATAAAATTTCAACACTAAATCAAAATATTAAT
 TTTGATATGATTGTATAAAATTTAATCTCATCGTAGTGTAGAGCTCTACAT
 GCATGCATGGTTTGTATAGCCATAATTAATTAATTAGGCAAGAAAGATAG
 ATGTGCCTACCATGCATGACTTCTAAAACATGGATGACTTTAAATTTTGA
 AACCAAGCAAAAATTGTTTTACTATAAAATCTTGTTAATTTTTTCATTATTG
 ATATCACTATGTTATTCTAACCCCTTTCGTAGCCATAATTAGTTAATTAGG
 CAAGAAAGATAGATGTGCCTACCATGCATGACTTCTAAAACATGGATGAC
 TTTAAATTTTGAACCAAGCAAAAATTTACTATAAAATCTTGTTATT
 TTTTCATTATTGATATCACTATGTTATTCTAACCCCTTCTTTCCCTCATT
 TTTTCTTAATATTC AATCAATAATAATCTCCATGG

SEQ ID NO:9 (1357 bp)

芳族異戊烯基轉移酶1 (PT1)啟動子

TCAAACCAGATTTTTTATAATAATTT
 ACACACCAATTAACCTAAGAAATTCTAACTAGAGTTAGTGTGTAATTAGAA
 GGAGTATCAAGGTAACCTATCTCCTTTGTCTCTTTAAATTTTTAAAAGAA
 AAGCTaTTGTTGTAATTAGTTTGGATTTTATGGGTTAGGTTTTGTAGAGT
 TTGTTTGAGCTTAAAATTGTTGTTGGTTTGATTTAAGGTTGAATTCGTG
 TTGGTTTGTAAAGATTTTAGCTGATGTAGTTCGTGTTGGAGGAGTTCGAGT
 TTTTGAAGTCAAAGTCCACTCAACAATATGGTGAAATTAGTTTTAGGTGG
 TTTTAGATGCTTTTGAAGTGTATGTTTTGTTTAGATTACCCCTCTTTTTGG
 TAAGTTTGATAGCCTTTGGTCAAGGAATGACTTAATTTTGAAGGTCTGAA
 AGTTGAGTAGTTTTGAAGTCTTTTCTGCCAAAATGGTTTCGAATGAGTT
 GTACTTGTCATATGTGATTTGAGTGGTAAGGTTTCGGAAGGGTAGTCCTAG
 ACAGTGTTTTCAATGATTAGGTTTGGGGTTGGTGAATCTAGAGTTAAGAG
 CCTAGAGTTTTGGTTGCTTGGATTGGTGTGACCTGGTTGTTAGTATCCTT
 ATCAAGGGATCCCGAATAGGTGATGAGTGAGGTTTGGATGGTATATTCTG
 GATCAAAATTTTTAGATGGGGTCCAACTGATAGTTTCAAAAATGTGTGT

GTGTGTCTGGTTAAGGATTTATTTTGGGAAGGCTCTAGTTGGGAGGTCCCT
 GGATTGGAAGTTCTAGATGTGAGGCTCCGGGTAGGAGGGTCCCTGTAGGAA
 GATTCTAGATGGTATTTGGTGGTTCGAGATGAGGGATTTCCGAACATGTTT
 TAATAGTTACAATAATTCATAAATTTTCAACACTAAATCAAAAATATTAAT
 TTTGATATGATTGTATAAATTTAATCTCATCGTAGTGTAGAGCTCTACAT
 GCATGCATGGTTTGTATAGCCATAATTAATTAATTAGGCAAGAAAGATAG
 ATGTGCCTACCATGCATGACTTCTAAAACATGGATGACTTTAAATTTTGA
 AACCAAGCAAAAATTGTTTTACTATAAATCTTGTTAATTTTTCATTATTG
 ATATCACTATGTTATTCTAACCCCTTTCGTAGCCATAATTAGTTAATTAGG
 CAAGAAAGATAGATGTGCCTACCATGCATGACTTCTAAAACATGGATGAC
 TTTAAATTTTGAACCAAGCAAAAATTATTTTACTATAAATCTTGTTATT
 TTTTCATTATTGATATCACTATGTTATTCTAACCCCTTCTTTCCCTCATT
 TTTTCTTAATATTCAATCAATAATAATCTCC

SEQ ID NO:10 (1188 bp)

芳族異戊烯基轉移酶(PT) ORF

1 atgggactct catcagtttg taccttttca tttcaaacta attaccatac tttattaaat
 61 cctcacaata ataatcccaa aacctcatta ttatgttato gacaccccaa aacaccaatt
 121 aaatactcctt acaataatth tccctctaaa cattgetcca ccaagagttt tcatctacaa
 181 aacaaatgct cagaatcatt atcaatcgca aaaaattcca ttagggcagc tactacaaat
 241 caaactgagc ctccagaatc tgataatcat tcagtagcaa ctaaaatttt aaactttggg
 301 aaggcatggt ggaaacttca aagaccatat acaatcatag catttacttc atgogcttgt
 361 ggattgtttg ggaaagagtt gttgcataac acaaatttaa taagttggtc tetgatgttc
 421 aaggcattct tttttttggt ggctatatta tgcattgctt cttttacaac taccatcaat
 481 cagatttaag atcttcacat tgacagaata aacaagcctg atctaccaat agcttcaggg
 541 gaaatatcag taaacacagc ttggattatg agcataattg tggcactggt tggattgata
 601 ataactataa aaatgaaggg tggaccactc tatatatttg gctactggtt tggatttttt
 661 ggtgggattg tctattctgt tccaccattt agatggaagc aaaatccttc cactgcattt
 721 cttctcaatt tcctggccca tattattaca aatttcacat tttattatgc cagcagagca
 781 getcttgccc taccatttga gttgaggcct tcttttactt tcctgctagc atttatgaaa
 841 tcaatgggtt cagctttggc tttaatcaaa gatgcttcag acgttgaagg cgacactaaa
 901 tttggcatat caaccttggc aagtaaatat ggttcagaa acttgacatt attttgttct
 961 ggaattgttc tcctatccta tgtggctgct atacttgctg ggattatctg gccccaggct
 1021 ttcaacagta acgtaatggt actttctcat gcaatcttag cattttgggtt aatctccag
 1081 actcgagatt ttgcgttaac aaattaogac ccggaagcag gcagaagatt ttaogagttc
 1141 atgtggaagc tttattatgc tgaatattta gtatatgtt tcatataa

SEQ ID NO:11 (805 bp)

己醯基-CoA合成酶(AAE1-1)啟動子

ATAATGTTATTTATTATTTAATACAATATGACATTTATACAGCGTACCAA
 ACGAGCCCATAATGTATTGCAATTGTATTGTTGTACGAATTAAAATAATA
 AAATACTAATTAAGTTAATATTGTAAGATAGATAATATGGCAAACAAATA
 AATAATTTTCAGTTGAGAATATGTACAAAATTAAAGTTGATTTTACAAGA
 AACAAGTAGTACTAATTAAAATGGTAGATTTACATATAGTGTTTCGTTAAA
 TTTGAAAAAAGAAAACGACTAATTCATTGGAAAATTGATTGTGGAAGAAA
 TCAAAAATTTGGTGGCTGAACCGCCCTAGTTACTTAAACACAATTCATAAAA
 CAACCCTACACTACTTACCCTACACTATATACGTATATTTTTTTTTTTATA
 TTCCATTTGTTAATAAAAATAAATATGCATTGTTATTATGTGTACCAAGAT
 GCTAATACGGTGACGTTTTATATAAGTTTATAATTTTTTTATTAAAGTAAA
 ACAATTGTC CCTCAATATTAATTAAGAAAATAAGTAGGTTTTAGCATT
 TCTCATGATAAATAAGTAGGAGTAGTAAGTATATTAATTTATATGCATAT
 GTTAAAAGGCAACACAGTGATAGGTTGTGTAGTACGTACCCAAACCAAT
 TCCAGCCTAATCCATTATTAATGAGCAAGTCCTTGATAAAAATAAGGTGCA
 TGTTGTTAGATCAAATAACCCGTCCCGAAATCCAATATATATATATATAT
 AATATTCAAACCTCTCTCTTTCTATCTTCGTACAATTTAATAGAAGTAACC
 ATGGG

SEQ ID NO:12 (800 bp)

己醯基-CoA合成酶(AAE1-1')啟動子

ATAATGTTATTTATTATTTAATACAATATGACATTTATACAGCGTACCAA
 ACGAGCCCATAATGTATTGCAATTGTATTGTTGTACGAATTAAAATAATA
 AAATACTAATTAAGTTAATATTGTAAGATAGATAATATGGCAAACAAATA
 AATAATTTTCAGTTGAGAATATGTACAAAATTAAAGTTGATTTTACAAGA
 AACAAGTAGTACTAATTAAAATGGTAGATTTACATATAGTGTTTCGTTAAA
 TTTGAAAAAAGAAAACGACTAATTCATTGGAAAATTGATTGTGGAAGAAA
 TCAAAAATTTGGTGGCTGAACCGCCCTAGTTACTTAAACACAATTCATAAAA
 CAACCCTACACTACTTACCCTACACTATATACGTATATTTTTTTTTTTATA
 TTCCATTTGTTAATAAAAATAAATATGCATTGTTATTATGTGTACCAAGAT
 GCTAATACGGTGACGTTTTATATAAGTTTATAATTTTTTTATTAAAGTAAA
 ACAATTGTC CCTCAATATTAATTAAGAAAATAAGTAGGTTTTAGCATT
 TCTCATGATAAATAAGTAGGAGTAGTAAGTATATTAATTTATATGCATAT
 GTTAAAAGGCAACACAGTGATAGGTTGTGTAGTACGTACCCAAACCAAT
 TCCAGCCTAATCCATTATTAATGAGCAAGTCCTTGATAAAAATAAGGTGCA
 TGTTGTTAGATCAAATAACCCGTCCCGAAATCCAATATATATATATATAT
 AATATTCAAACCTCTCTCTTTCTATCTTCGTACAATTTAATAGAAGTAATA

SEQ ID NO:13 (1000 bp)

己醯基-CoA合成酶(AAE3)啟動子

TAAAAATTAGATTATATTTTTATCAGAATTTTTATTTATATTTTTTCATC
 GAGTTACGTTGATTTAACGTATGTTGACGGTGCTTATAATTGTCTATTAT
 TTTTAAGTTATATACACGCACTACTTACGTAAATTTAGTTGGCAGATTTT
 CTGTCTCTATGGGCTATATTGTTGGACATCAGCTATCTCATTAAATTAATA
 ATACCATACTTTTTCTTAAAAGTTAAATAAAAACAAAATTATACACGCACT
 GATTCGAATGGTGTAGCCACGCACTTGCTAAGTCTGTTACTAGTTCTGT
 AGGAGTTAATGTGTGGACTGATGCTTGCTTAGATTTTATCAGCTATCTC

ATTAATTAATAATACCATACTTTTTCTTAAAAGTTAAATAAAAACAAAATT
 ATACACGCACTACGATAAGGATTATATAAATGATTAACATAAAAAATATCT
 ATTTAACATGCCATACCGCGAAAGGTTTTGCGCCATTCGATGGTGTCCGG
 GATCTCGACGCTCTCCCTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGCAGCCCAGT
 AGTAGGTTGAGGCCGTTGAGCACCGCCGCGCAAGGAATGGTGCATGCAA
 GGAGATGGCGCCCAACAGTCCCCCGGCCACGGGGCCTGCCACCATACCCA
 CGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAGCCCGATCTTCCCA
 TCGGTGATGTCGGCGATATAGGCGCCAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGT
 GATGCCGGCCACGATGCGTCCGGCGTAGAGGATCGAGATCTCGATCCCGC
 GAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCC
 CTCTAGAAATAAATTTTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACCATGAAACA
 CCACCACCACCACCACCACCACGGTGGTCTGGTTCCGCGTGGTTCCCATG
 ATCAAACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTCCGAATTCGCCCTTATGGAG

SEQ ID NO:14 (869 bp)

己醯基-CoA合成酶(AAE12)啟動子

GTGACAAACTGAAGAATTCTGTTTATTTTATTTTATACATT
 AGTGATGTTTTTTACTTTTTTAGAGTTATTTTTATGCCTATGTAATTTGC
 ATATTGTAGTGGAGTTTATGCAGTTATTTTTTTGTTGTTATTTAGTTGTT
 TAACTAAGAGAAATAAATATATATATTTTTTTATTTGIGCGTTGTTTTTAT
 TTTATTTTTTAAGTTGACGTAAGTGTTGATGCTCAATTAATTTTTATATT
 AACATAAAATTGTTATTGTGTTGCTTATTCGTTGCTATTGAGTTATTTCA
 ATATTGTACTTTTTGAAGTTTTTGTCTTATAAATTTATTTTTATTTGCAT
 AACATATGATAAACTTTAATGGATTTATATGTTACGGTTAAGTTGTTTTT
 TAGTTGCTTTTTGTGTTGTTGTTTAGTTGTTTTGCGCTGAGAAAAGAAGCC
 CTATACGTTAAAATTCACTTTGTCCGAATTCGCCACGTGGCAACTACTGC
 TACGTTCTGACGCTACAGATTGTGAGCGTCAGGCAAGTCTGAATGCTTTG
 TCCCGCACTCACGTGTGAGTCTCACTCGCCACATAGCCATATGTGTGCC
 ACACATCTCCTTGCGCATCTAGGGGAGTTTTTCTACTGTATTTTTGTAAA
 TAAGAACTTTGAAAATAGTATATTTGAAATTAATAAATAATATAAATGT
 TTATTTTTACTTTATAGTAGTATAAATATTTATTTAAGATAATTTAACTT
 AAAATAGAAAAAATCTCAAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
 AATTTTTATATTTATGAAAATTTCCCGTATAAAAAGGGAAGATTTTTTTTT
 TTAATAATTAGTAGGTAAGTAATAGGATG

SEQ ID NO:15 (2351 bp)

己醯基-CoA合成酶(AAE1-1) ORF

```

1 tcttggagtg tatatataga tatatatata catttctcca tttttggcca cccaaattac
61 ctaaattgaa ttctgtctgt tctgtcttct ccgccataaa taacaattga tttctctgt
121 tctttcaagt ttttgtcaac tgagtactga gatccagtct gagtcgacac ttgtagaggt
181 tcgaaaatgg cgcagaagaa gtttattttt gaggttgaaa aggctaagga agctaaggat
241 ggaaggcctt ccatgggacc tgtttatcga agtatgtacg ccaaggatgg ctttctctct
301 ccgattgatg gattggattg ttgttgggat gtgtttaggc tttctgtgga gagaaatcct
361 ggaacaaaaa tctctggctg ccgggaggtt gtggatggga aggctggaaa gtatgtttgg
421 caaacttata aggaggttta tgattgtgtg ataaaacttg gaaatgccat gcgcagttgt
481 ggtttcggag aaggagacaa atgtggtatc tatggtgcca attgctctga atggattatg
541 agcatgcagg cttgcaatgc tcatggactc tattgtgttc cgttgtatga caccttaggt
601 gctaatagcaa ttgagtttgt cataaaacat gccgaggtta caattgcttt tgcagaagag
661 aaaaagcttc ctgagctggt gaaaacactt cctaacacca cagactatth aaaaacactt
721 gtgagctttg ggaaggtcac accggaacaa agggaatctg ttgaaaagtt tggattgaag
781 atctattcct ggggaagagtt cttgcaattg ggtgattgta aagatttctga tcttccagtg
841 aaaaagaaaa ctgatatatg cactataatg tatactagtg gaactactgg tgaccocaaag
901 ggagtactga tatccaatga gagcatcatt tctcttttgg ctggggtgag gcgattgctt
961 gagagtgtaa atgaaaagtt gaccgagaaa gatgtatttc tttcatatct tccccttgca
1021 catatcttct atcgggtgat tgaggagtta tttattttgc atggtgctct aatcgggttc
1081 tggcgtggcg atgtcaaatt attacttgaa gacattgggg agctaaaacc aactatthtc
1141 tgtgccgttc ccctgtgtct ggatagagtc tatgctggtt tgacgcagaa gatttctgct
1201 gggggattct taaagaagac tctcttcaat ttctcactc cacgcaagta taataacatg
1261 cgaaaggggc ttaaaccagg ggacgcagct ccattatgtg acaaaattgt atthtagtaag
1321 gtgaagcaag gtttgggagg taatgtgctg ctattctgt ctggagctgc gcctctagct
1381 cctcatgttg aagcttactt acgagttgtg acatgtgctc atgthtgcca aggataggg
1441 ctaactgaaa cttgtgctgg gacatttgtc tctgatacaa atgaactacc aatgctcggg
1501 acagttggct cctcagttacc caatgttgat gtatgtctgg aatcagttcc ggaaatggga
1561 tatgatgccc ttgcagaagt accgcgtgga gaagtatgtg tgaaggggaag caccttattc
1621 tctgggtact acaaacgtga agacttaacc aaggaggtca tgattgatgg gtggttccat
1681 acaggtgatg ttggtgagtg gcaagcagat ggaagcttga aatcattga ccgtaagaaa
1741 aatattthca aactthctca aggagaatat gtggcagttg agaacttga gaacatttat
1801 ggtcttgttt ctgacattga ctcaatatgg gthtacggga acagcttctga gthcttctc
1861 gttgctgtga ttaaccctga ccagcaagca cttgaactg gggccggaga gaataatata
1921 tctggtgact tcaagtccat ttgtgaaaat ccaagagcaa aggaatacat thtgggagag
1981 ctcaataaga ttggcaaaga gaaaaagttg aaaggthtg agthcataag agctgttcc
2041 cttgaccag aggcatttga catagaactg gactthatta ctccaacata taagaaaaag
2101 agaccctcag tctcaaaata ctaccagag gthattgata acatgtacaa ggaaggaac
2161 aagccctagg cctgaaagat ataatagaca thtagagctt cactthctaa ththcttca
2221 cacacttccc atthctctct ctctcttact thttacacta taataatta acaaggtth
2281 ctgtgttgta aatgacattt taatattthc atagthctca ththtcaatt cttagaggac
2341 gththtgattg g

```

SEQ ID NO:16 (420 bp)

CBDA合成酶(CBDAS)啟動子

GTTAATAAACATACTTGTGAGTAGATCTAAGATCCTGGTAAAATAATTCCCAACATATT
TCAATCGTAAATTCATGAGTGATTCTTATCACTTCTTAAAAAAAAGATAT
AAAGATCCATAGATAAATAT TTGCTAGTCC TTTCTTTCCA TAGTCAACTT
CAATATGGCA TCTTAACTTC TTTCCATCAA CAAATGATGC TCAACTACTT
AATGTACAAT TTATATTTAT TTTTAGTAAG GGATACACCT AACCAATGATG
CCTAATTTTG GTGAATTTTT TTTTACCACA TGTGACTTAA TGATATCAAA
TTTGAAATA TTTAGTTAAT TTATTTGCCC CTGCTCCATT ATATAAAGCT
ATAAATAGGA TAGTTCTTAA TTCATAGTAA TTCAAAAATT ATTAGAACTA
AAGAACCATG G

SEQ ID NO:17 (416 bp)

CBDA合成酶1 (CBDAS1)啟動子

GTTAATAAACATACTTGTGAGTAGATCTAAGATCCTGGTAAAATAATTCCCAACATATT
TCAATCGTAAATTCATGAGTGATTCTTATCACTTCTTAAAAAAAAGATAT
AAAGATCCATAGATAAATAT TTGCTAGTCC TTTCTTTCCA TAGTCAACTT
CAATATGGCA TCTTAACTTC TTTCCATCAA CAAATGATGC TCAACTACTT
AATGTACAAT TTATATTTAT TTTTAGTAAG GGATACACCT AACCAATGATG
CCTAATTTTG GTGAATTTTT TTTTACCACA TGTGACTTAA TGATATCAAA
TTTGAAATA TTTAGTTAAT TTATTTGCCC CTGCTCCATT ATATAAAGCT
ATAAATAGGA TAGTTCTTAA TTCATAGTAA TTCAAAAATT ATTAGAACTA
AAGAAAA

SEQ ID NO:18 (535 bp)

CBDA合成酶(CBDAS) 20800啟動子

AGACGTT ATAGCTTTATTGTCTAAATT TCTTGGGGTA GTTTTGTCCC ATGTTGCTCG
CTTACTTTTAGAAGTTCAAAG TTTGACAAAA CATGCTATTC GGTATACAA
TGAGCTATCC
TAGTTCAAGG AGATTCCTGT GCTATTTGTG GATGTCTACA TTGTAAATTC
ATGAGTGATT CTTATAACTT TATTAATAA AAGACAAATA GATCCATAGA
TAAATATTTG CAAGTGCTTT CTTGTCATAG CAATTTTTTTT TTACATAGGT
AATTTAAAAA ATTCATCTTA ACTTTTTTTC ATCAATAAAT GATGCTCAAT
TATTC AATGC ACCATGTACA TTTATTTTTA ATAAGGGCTG CACCTAACAA
AGGTGCCTAA TTTTGGTAAA AAAGAAATTA CGGCATGTGA ATATTTAATG
AGCATCAAAT TACAAAATAT TTAGCTAATT TCTTTACCCC CACTCCAATC
TATAAAGCTA TAAATAGGAT AATTTTCCAT TCATAGTAAT TTCCAACATT
ACGACTAAAG AACCATGG

SEQ ID NO:19 (531 bp)

CBDA合成酶(CBDAS) 20800'啟動子

AGACGTT ATAGCTTTATTGTCTAAATT TCTTGGGGTA GTTTTGTCCC ATGTTGCTCG
CTTACTTTTAGAAGTTCAAAG TTTGACAAAA CATGCTATTC GGTATACAA
TGAGCTATCC
TAGTTCAAGG AGATTCCTGT GCTATTTGTG GATGTCTACA TTGTAAATTC

ATGAGTGATT CTTATAACTT TATTAATAA AAGACAAATA GATCCATAGA
TAAATATTTG CAAGTGCTTT CTTGTCATAG CAATTTTTTTT TTACATAGGT
AATTTAAAAA ATTCATCTTA ACTTTTTTTC ATCAATAAAT GATGCTCAAT
TATTCAATGC ACCATGTACA TTTATTTTTA ATAAGGGCTG CACCTAACAA
AGGTGCCTAA TTTTGGTAAA AAAGAAATTA CGGCATGTGA ATATTTAATG
AGCATCAAAT TACAAAATAT TTAGCTAATT TCTTTACCCC CACTCCAATC
TATAAAGCTA TAAATAGGAT AATTTTCCAT TCATAGTAAT TTCCAACATT
ACGACTAAAG AAAA

SEQ ID NO:20 (1635 bp)

CBDA合成酶(CBDAS) ORF

1 atgaagtgct caacattctc cttttggttt gtttgcaaga taatattttt ctttttctca
61 ttcaatatcc aaacttccat tgctaactct cgagaaaact tccttaaatg cttctcgcaa
121 tatattccca ataatgcaac aaatctaaaa ctcgatataca ctcaaaaaca cccattgtat
181 atgtctgtcc taaattcgac aatacacaat cttagattca cctctgacac aacccccaaa
241 ccacttggtta tggtaactcc ttcacatgtc tctcatatcc aaggcaactat totatgctcc
301 aagaaagtgt gcttgcagat tcgaactoga agtgggtggtc atgattctga gggcatgtcc
361 tacatatctc aagtcaccat tggttatagta gacttgagaa acatgcggtc aatcaaaaata
421 gatgttcata gccaaaactgc atggggttgaa gccggagcta cccttgagaga agtttattat
481 tgggttaatg agaaaaatga gaatcttagt ttggcggtg ggtattgccc tactgtttgc
541 gcaggtggac acttgggtgg aggaggetat ggaccattga tgagaaacta tggcctcgcg
601 gctgataata tcattgatgc acacttagtc aacgttcatg gaaaagtgct agatcgaaaa
661 tctatggggg aagatctctt ttgggcttta cgtgggtggtg gagcagaaaag cttcggaatc
721 attgtagcat ggaaaattag actgggttget gtcccaaagt ctactatggt tagtgtaaa
781 aagatcatgg agatacatga gcttgtcaag ttagttaaca aatggcaaaa tattgettac
841 aagtatgaca aagatattat actcatgact cacttcataa ctaggaacat tacagataat
901 caagggaga ataagacagc aatacacact tacttctctc cagtttctct tgggtggagt
961 gatagtctag tcgacttgat gaacaagagt tttcctgagt tgggtattaa aaaaacggat
1021 tgcagacaat tgagctggat tgatactatc atctctata gtggtgttgt aaattacgac
1081 actgataatt ttaacaagga aattttgctt gatagatccg ctgggcagaa cgggtgcttc
1141 aagattaagt tagactacgt taagaaacca attccagaac ctgtatttgt ccaaattttg
1201 gaaaaattat atgaagaaga tataggagct gggatgtatg cgttgtacco ttaocgggtgt
1261 ataatggatg agatttcaga atcagcaatt ccattccctc atcgagctgg aatcttgtat
1321 gagttatggt acatattgtag ttgggagaag caagaagata acgaaaagca tctaaactgg
1381 attagaaata tttataactt catgactcct tatgtgtcca aaaatccaag attggcatat
1441 ctcaattata gagaccttga tataggaata aatgatccca agaatccaaa taattacaca
1501 caagcacgta tttggggtga gaagtatttt ggtaaaaatt ttgacaggct agtaaaaagt
1561 aaaaccctgg ttgatcccaa taactttttt agaaacgaac aaagcatccc acctcttcca
1621 cggcatcgtc attaa

SEQ ID NO:21 (800 bp)

THCA合成酶(THCAS) 19603啟動子

CTTATCACTC ATTCGGGAGC AACTTAAAAA AATTACAATT ATTATGAAAG
 ACGGCACAAA AAGCGAATTA ATTACCTAAT CGTAAATAAA AGAAATTTTA
 CATAAATATA TTATATAAATT TTATATTATT CATAAAAAAT ATAAAATAGT
 ATTAGACTGA ATTGAGATTT GATTCGTAAC TAAAAATTAA TTTCTTTAAT
 GTAAAATTTT AAAAACAAAT TATTAAAACC GCGTGAAGCG CGGATCTATT
 CCCTAGTTGA ATAATAAAGT AGATAGTAGA GGAGGTTAGA ATTTATAAATT
 TTTCATTTAA ATATTTGAAT TTACTIONTACT GTTCTTTGTT ATTCTTCATT
 TAATTTTGCT ATTTGTTATT TTACTIONTTCA AAAATTATAA TTTTAATTAC
 CAAATAAAAA GTAAAATAGA TATTGGTACT TGATATTCAC TCTTTATGGG
 AACCATAATA AACTATAAAA GTCATTATGT GTACTIONGCTA CCATAGGCAC
 CTATATCCCA CAAACTAGCT ACCATAGCCA ATTTCTTGTT TTTTGTTTCC
 AATATCCAAT TTTTATTGAT GCCAAACTAT TCAATGTACA ATGTACATTT
 ATTTTCAATA AGGGCTTCAC CTAACAAAGG TGCCTAATTT TAGTTGATTT
 ATTTTTTATC ACATGTGACT ATTTAATGAC TATCAAATTA TAAAATATTT
 AAGTCAATTT ATTTGCCCCA ACTCCAATAT ATAATATTAT AAATAGGATA
 GTTCTCAATT CCTAATAATT CAAAAAATCA TTAGGACTGA AGAACCATGG

SEQ ID NO:22 (796 bp)

THCA合成酶(THCAS) 19603'啟動子

CTTATCACTC ATTCGGGAGC AACTTAAAAA AATTACAATT ATTATGAAAG
 ACGGCACAAA AAGCGAATTA ATTACCTAAT CGTAAATAAA AGAAATTTTA
 CATAAATATA TTATATAAATT TTATATTATT CATAAAAAAT ATAAAATAGT
 ATTAGACTGA ATTGAGATTT GATTCGTAAC TAAAAATTAA TTTCTTTAAT
 GTAAAATTTT AAAAACAAAT TATTAAAACC GCGTGAAGCG CGGATCTATT
 CCCTAGTTGA ATAATAAAGT AGATAGTAGA GGAGGTTAGA ATTTATAAATT
 TTTCATTTAA ATATTTGAAT TTACTIONTACT GTTCTTTGTT ATTCTTCATT
 TAATTTTGCT ATTTGTTATT TTACTIONTTCA AAAATTATAA TTTTAATTAC
 CAAATAAAAA GTAAAATAGA TATTGGTACT TGATATTCAC TCTTTATGGG
 AACCATAATA AACTATAAAA GTCATTATGT GTACTIONGCTA CCATAGGCAC
 CTATATCCCA CAAACTAGCT ACCATAGCCA ATTTCTTGTT TTTTGTTTCC
 AATATCCAAT TTTTATTGAT GCCAAACTAT TCAATGTACA ATGTACATTT
 ATTTTCAATA AGGGCTTCAC CTAACAAAGG TGCCTAATTT TAGTTGATTT
 ATTTTTTATC ACATGTGACT ATTTAATGAC TATCAAATTA TAAAATATTT
 AAGTCAATTT ATTTGCCCCA ACTCCAATAT ATAATATTAT AAATAGGATA
 GTTCTCAATT CCTAATAATT CAAAAAATCA TTAGGACTGA AGAAAA

SEQ ID NO:23 (796 bp)

THCA合成酶(THCAS) 50320啟動子

TTATTTAAAT TTCTCAGAGA GATATAGAGA ATTTACAATA GGTCAAGTTG
 TATATTTTTT AATCCGAATA ATTAATGCTT TTGAATATCC ATCATCAATA
 TTGAATAATA AAGTAGATAG CAGAGGAGAT TAGAACTCAT AATTTTTTCAT
 TTATATTTTT GAATTTAGTT TACTGTTCTT TATTATTCTT CATTTAATTT
 TGCTATATGT TATTTTACTT TTCAAAAATT CTAATTTTGA TTACCAAATA
 AAAAATAAAA TATATATTGG TACTTCATAT TTAGTTTTTA TGGGAATGAT
 AATGAATGAT ATTGTAATAA ACTATAAAAG TAATTTTGTA TACTTGCATA
 GTTCTTAATT TTTACCCAAA AAAATATATA TTAATGAAAA AAAAAGGTGG
 AAAGTGCCAT AGGCACCTAT ATCCCACAAA CTAGCTATAA GATATTGAAA
 GACAAATAGA TCCATAGATA AATATTTGCG TGTCTTTCTT TTTCATATCT
 AATTTTTTGT TTTTTTATTT TTTTCCAATA GTCAATTTTG GCAGCTTAAC
 TTCTTTCCAT AAATAATGAT GCCAAACTAT TCAATGTAAA ATTTAGATTT
 ATTTTCATTA AGGGCTTCAC CTAACAAATG TGCCTAATTT TTGTGGATTT
 TTTTACCATA TGTCGCTATT TAATGACTAC CAAATTATAG AATTATTTAA
 GTCAATTTCT CAGTCCCCGC TCCAATATAT AAAGTTATAG AAAGGACAAT
 TCTTAATTCA TAGTAATTCA AAAATCATTA AGACTAAAAA CCATGG

SEQ ID NO:24 (792 bp)

THCA合成酶(THCAS) 50320'啟動子

TTATTTAAAT TTCTCAGAGA GATATAGAGA ATTTACAATA GGTCAAGTTG
 TATATTTTTT AATCCGAATA ATTAATGCTT TTGAATATCC ATCATCAATA
 TTGAATAATA AAGTAGATAG CAGAGGAGAT TAGAACTCAT AATTTTTTCAT
 TTATATTTTT GAATTTAGTT TACTGTTCTT TATTATTCTT CATTTAATTT
 TGCTATATGT TATTTTACTT TTCAAAAATT CTAATTTTGA TTACCAAATA
 AAAAATAAAA TATATATTGG TACTTCATAT TTAGTTTTTA TGGGAATGAT
 AATGAATGAT ATTGTAATAA ACTATAAAAG TAATTTTGTA TACTTGCATA
 GTTCTTAATT TTTACCCAAA AAAATATATA TTAATGAAAA AAAAAGGTGG
 AAAGTGCCAT AGGCACCTAT ATCCCACAAA CTAGCTATAA GATATTGAAA
 GACAAATAGA TCCATAGATA AATATTTGCG TGTCTTTCTT TTTCATATCT
 AATTTTTTGT TTTTTTATTT TTTTCCAATA GTCAATTTTG GCAGCTTAAC
 TTCTTTCCAT AAATAATGAT GCCAAACTAT TCAATGTAAA ATTTAGATTT
 ATTTTCATTA AGGGCTTCAC CTAACAAATG TGCCTAATTT TTGTGGATTT
 TTTTACCATA TGTCGCTATT TAATGACTAC CAAATTATAG AATTATTTAA
 GTCAATTTCT CAGTCCCCGC TCCAATATAT AAAGTTATAG AAAGGACAAT
 TCTTAATTCA TAGTAATTCA AAAATCATTA AGACTAAAAA AA

SEQ ID NO:25 (720 bp)

THCA合成酶(THCAS) 1330啟動子

TTTTCAATTG ATTTAATTTT TTATATTGAT ATAAAGAATT TGCAATACAT
 TGAGTTTCTT AACCCGAATA TTAAACGGTT TTGAATATCT TCATCATTGA
 TTGAATAATA AAGTGGATAG TAGAGGGAAT TAGAATCCAT AATTTTTTAT
 TTATATATTT GAAGTTAGTT TATTATTCTT TGCTATCCTT CATTTAATTT
 TGCTATTTGT TATTTTAGTT TCAAAAATTT ATTTTTCATT ACAAATAAA
 AAATAAGATA GGATATTGGT ACTTGATAAG TCTTCTTTGT GGAAACGATA
 ATCGGTATTA TTAGGTATAT TTGCATATTT CAATATTATT GCAAAAAATA
 AATATATTAA TAAATAAAGT GGAAGGTGCC ATAGGTACCT ATATCCACAA
 ACTAGCATAT TGAAAGAAAA TGGATCCAAG GATAAATATT TGCAAGTCTT
 TTTTTTTTTG CATAGCCAAT TTCTTTTTTT ATTATTATTT TAATAGAATA
 TTTCAAAGG GCATCTAACA TTTATTTTTA ATAAGGACTG CACCTAACAA
 AGGTGCCTAA TTTTGTGAA CTTTTTTTTA CCACATGTGA CTATTTAATG
 AGTACTAAAT TATGAAATAT TTAGTTAATT TCTTTGCCCC CGCTCCAATA
 TATAATGCTA TAAATAGCAT AATTTTCTAT TCATAGTAAT TCAAAAATCA
 TTAGGACTAA AGAACCATGG

SEQ ID NO:26 (716 bp)

THCA合成酶(THCAS) 1330'啟動子

TTTTCAATTG ATTTAATTTT TTATATTGAT ATAAAGAATT TGCAATACAT
 TGAGTTTCTT AACCCGAATA TTAAACGGTT TTGAATATCT TCATCATTGA
 TTGAATAATA AAGTGGATAG TAGAGGGAAT TAGAATCCAT AATTTTTTAT
 TTATATATTT GAAGTTAGTT TATTATTCTT TGCTATCCTT CATTTAATTT
 TGCTATTTGT TATTTTAGTT TCAAAAATTT ATTTTTCATT ACAAATAAA
 AAATAAGATA GGATATTGGT ACTTGATAAG TCTTCTTTGT GGAAACGATA
 ATCGGTATTA TTAGGTATAT TTGCATATTT CAATATTATT GCAAAAAATA
 AATATATTAA TAAATAAAGT GGAAGGTGCC ATAGGTACCT ATATCCACAA
 ACTAGCATAT TGAAAGAAAA TGGATCCAAG GATAAATATT TGCAAGTCTT
 TTTTTTTTTG CATAGCCAAT TTCTTTTTTT ATTATTATTT TAATAGAATA
 TTTCAAAGG GCATCTAACA TTTATTTTTA ATAAGGACTG CACCTAACAA
 AGGTGCCTAA TTTTGTGAA CTTTTTTTTA CCACATGTGA CTATTTAATG
 AGTACTAAAT TATGAAATAT TTAGTTAATT TCTTTGCCCC CGCTCCAATA
 TATAATGCTA TAAATAGCAT AATTTTCTAT TCATAGTAAT TCAAAAATCA
 TTAGGACTAA AGAAAG

SEQ ID NO:27 (1635 bp)

THCA合成酶(THCAS) ORF

1 atgaattgct cagcattttc cttttggttt gtttgcaaaa taatattttt ctttctctca
 61 ttcaatatcc aaatttcaat agctaactct caagaaaact tccttaaatg cttctcggaa
 121 tatattccta acaatccagc aatccaaaa ttcataataca ctcaacacga ccaattgtat
 181 atgtctgtcc tgaattcgac aatacaaaat cttagattca cctctgatac aaccccaaaa
 241 ccactcggtta ttgtcactcc ttcaaagtgc tcccatatcc aggccagtat tctctgtccc
 301 aagaaagttg gtttgcagat tcgaactcga agcgggtggcc atgatgctga gggatgtccc
 361 tacatatctc aagtcccatt tgttgtagta gacttgagaa acatgcattc gatcaaaata
 421 gatgttcata gccaaaactgc gtgggttgaa gccggagcta cccttggaga agttttattat

481 tggatcaatg agaagaatga gaatttttagt tttcctgggtg ggtattgccc tactggtggc
 541 gtaggtggac acttttagtgg aggaggctat ggagcattga tgcgaaatta tggccttgcg
 601 gctgataata tcattgatgc acacttagtc aatgttgatg gaaaagttct agatcgaaaa
 661 tccatgggag aagatctatt ttgggctata cgtgggtggag gaggagaaaa ctttggaaac
 721 attgcagcat ggaaaatcaa actgggttgt gtcccatcaa agtctactat attcagtgtt
 781 aaaaagaaca tggagataca tgggcttgtc aagttattta acaaatggca aaatattgct
 841 tacaagtatg acaaagattt agtactcatg actcacttca taacaaagaa tattacagat
 901 aatcatggga agaataagac tacagtacat ggttacttct cttcaatttt tcatggtgga
 961 gtggatagtc tagtcgactt gatgaacaag agctttcctg agttgggtat taaaaaaact
 1021 gattgcaaag aatttagctg gattgatata accatcttct acagtgggtg tgtaaatttt
 1081 aacactgcta attttaaaaa ggaaattttg cttgatagat cagctgggaa gaagacggct
 1141 ttctcaatta agttagacta tgttaagaaa ccaattccag aaactgcaat ggtcaaaaatt
 1201 ttggaaaaat tatatgaaga agatgtagga gctgggatgt atgtgttga ccttacgggt
 1261 ggtataatgg aggagatttc agaatcagca attccattcc ctcatcgagc tggaaataatg
 1321 tatgaacttt ggtacactgc ttcctgggag aagcaagaag ataatgaaaa gcatataaac
 1381 tgggttcgaa gtgtttataa ttttacgact ctttatgtgt cccaaaatcc aagattggcg
 1441 tatctcaatt atagggacct tgatttagga aaaactaate ctgagagtc taataattac
 1501 acacaagcac gtatttgggg tgaaaagtat ttgggtaaaa attttaacag gttagttaag
 1561 gtgaaaacca aagctgatcc caataatttt ttagaaaacg aacaaagtat cccacctctt
 1621 ccaccgcatc atcat

SEQ ID NO:28 (804 bp)

CBCA合成酶(CBCAS) 3498啟動子

GATAATTTTT CTTCCAAATT TAATAGTATC TTTTATATAA GTTCAGTCAT
 GTTTTTCTTA TGTAAGTTAG GCTATTAATT ATTTTGATGT ATTTATTATA
 TTGTATGTCG TTTACTGCAT TCTGCCAACA TTGGTTTTTG TCGATTTATG
 ATATATAATA TGATATGCTG TTAAGTTAGA GGTAAGATTC AATTTATTTA
 AGATTATTTA ATTTGCGCTT TTATTATATA CATCTTCTAG TTGTAATTAA
 TGGGGTAGAA TTAAGACTGT GTTTTGAATT AATATCGGTA TTAGAATAGG
 ATTTGCATGA CTATATTTCT ACCTTACCAA GTTTTTTATC TGATAACACC
 CTTTCACTTA TTATTTTCTT ATTTTAAATT TATTTAT
 ATTTTTACCATATTTCTATTTATACTAATCTTAAGTGGTACATTACCTCCCTGTG
 GATACGACATATA
 ATCTGTTTACTATCGTGACCGAAGTATAACTAATTGGGCGACATCACACCTATA
 TCCCACAAACTAGCTACTATAGTCAATTTCTTGTTTTTTTTCCAATAGCCAATT
 TTAAATGATGCCAAACTATTCAATGTATAATGTACATTTATTTTAAATAAGGGC
 TTCACCTAACAAATGTGCCTAATTTTAGTTAATTTATTTTTTTATCGCATCTTA
 CTATTTAAAGGAACTATCAAATTATAAAATATTTATGTCAATTCATTTGCCCA
 ACTCCAATATATAATATTATAAATAGGATAGTTCTCTATTCATAATAATTCAAA
 ATATCATTAGGACTGAAGAACCATGG

SEQ ID NO:29 (800 bp)

CBCA合成酶(CBCAS) 3498'啟動子

GATAATTTTT CTTCCAAATT TAATAGTATC TTTTATATAA GTTCAGTCAT
 GTTTTTCTTA TGTAAGTTAG GCTATTAATT ATTTTGATGT ATTTATTATA
 TTGTATGTCG TTTACTGCAT TCTGCCAACA TTGGTTTTTG TCGATTTATG
 ATATATAATA TGATATGCTG TTAAGTTAGA GGTAAGATTC AATTTATTTA
 AGATTATTTA ATTTGCGCTT TTATTATATA CATCTTCTAG TTGTAATTAA
 TGGGGTAGAA TTAAGACTGT GTTTTGAATT AATATCGGTA TTAGAATAGG
 ATTTGCATGA CTATATTTCT ACCTTACCAA GTTTTTTATC TGATAACACC
 CTTTCACTTA TTATTTTCTT ATTTTAAATT TATTTAT
 ATTTTTACCATATTCTATTTATACTAATCTTAAGTGGTACATTACCTCCCTGTG
 GATACGACATATA
 ATCTGTTTACTATCGTGACCGAAGTATAACTAATTGGGCGACATCACACCTATA
 TCCCACAAACTAGCTACTATAGTCAATTTCTTGTTTTTTTTTCCAATAGCCAATT
 TTAAATGATGCCAAACTATTCAATGTATAATGTACATTTATTTTTAAATAAGGGC
 TTCACCTAACAAATGTGCCTAATTTTAGTTAATTTATTTTTTTATCGCATCTTA
 CTATTTAAAGGAAGTATCAAATTATAAAATATTTATGTCAATTCATTTGCCCA
 ACTCCAATATATAATATTATAAATAGGATAGTTCTCTATTCATAATAATTCAA
 ATATCATTAGGACTGAAGAAAA

SEQ ID NO:30 (1635 bp)

CBCA合成酶(CBCAS) ORF

1 atgaattgct caacattctc cttttggttt gtttgcaaaa taatattttt ctttctctca
 61 ttcaatatcc aaatttcaat agctaactct caagaaaact tccttaaatg cttctcggaa
 121 tatattccta acaatccagc aaatccaaaa ttcataataca ctcaacacga coaattgtat
 181 atgtctgtcc tgaattcgac aatacaaaat cttagattca cctctgatac aacccccaaa

241 ccaactcgta ttgtcactcc ttcaaatgtc tcccatatcc aggccagtat tctctgctcc
 301 aagaaagttg gtttgcagat tcgaactcga agcgggtggcc atgatgctga gggtttgctc
 361 tacatatctc aagtcccatt tgctatagta gacttgagaa acatgcatac ggtcaaagta
 421 gatattcata gccaaaactgc gtgggttgaa gccggagcta cccttgagaa agtttattat
 481 tggatcaatg agatgaatga gaattttagt tttcctgggtg ggtattgccc tactgttgcc
 541 gtaggtggac acttttagtgg aggaggctat ggagcattga tgcgaaatta tggccttgcc
 601 gctgataata tcattgatgc acacttagtc aatgttgatg gaaaagtctt agatcgaaaa
 661 tccatgggag aagatctatt ttgggctata cgtgggtggag gaggagaaaa ctttggaatc
 721 attgcagcat gtaaaatcaa acttggtggt gtcccatcaa aggctactat attcagtgtt
 781 aaaaagaaca tggagataca tgggcttgct aagttattta acaaatggca aaatattgct
 841 tacaagtatg acaaagattt aatgctcacg actcacttca gaactaggaa tattacagat
 901 aatcatggga agaataagac tacagtacat ggttacttct cttccatttt tcttggtgga
 961 gtggatagtc tagttgactt gatgaacaag agctttcctg agttgggtat taaaaaaact
 1021 gattgcaaag aattgagctg gattgatata accatcttct acagtgggtg tgtaaattac
 1081 aacactgcta attttaaaaa ggaaattttg cttgatagat cagctgggaa gaagacggct
 1141 ttctcaatta agttagaacta tggtaagaaa ctaatacctg aaactgcaat ggtcaaaatt
 1201 ttggaaaaat tatatgaaga agaggttaga gttgggatgt atgtgttgta cccttacggt
 1261 ggtataatgg atgagatttc agaatcagca attccattcc ctcatcgagc tggaaataatg
 1321 tatgaacttt ggtacactgc tacctgggag aagcaagaag ataacgaaaa gcatataaac
 1381 tgggttcgaa gtgtttataa tttcacaact ccttatgtgt cccaaaatcc aagattggcg
 1441 tatctcaatt atagggacct tgatttagga aaaactaatc ctgagagtc taataattac
 1501 acacaagcac gtatttgggg tgaaaagtat tttggtaaaa attttaacag gttagttaag
 1561 gtgaaaacca aagctgatcc caataatttt ttagaaaacg aacaaagtat ccacctctt
 1621 ccaccgcgtc atcat

SEQ ID NO:31 (171 bp)

CANON片段

atgatgccaaactattcaatgtacaatgtacatttatttttaataagggcttcacctaacaa
 aggtgcctaatttttgtgaactttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaatta
 taaaatatttaagtcaattttctttgccccactccaatatataatgt

SEQ ID NO:32 (232 bp)

具有推定TATA盒、5'UTR及起始密碼子之CANON片段

atgatgccaaactattcaatgtacaatgtacatttatttttaataagggcttcacctaacaa
 aggtgcctaatttttgtgaactttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaatta
 taaaatatttaagtcaattttctttgccccactccaatatataatgt tataaataggataat
 tctcaattcatagtaattcaaaaatcattaggactaaagaaaa atg

SEQ ID NO:33 (709 bp)

4 × CANON片段合成啟動子

atgatgccaaactattcaatgtacaatgtacatttatttttaataagggcttcacctaacia
aggtgcctaattttgtgaactttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaatta
taaaatatttaagtcaatttctttgccccactccatgatgccaaactattcaatgtacaat
gtacatttatttttaataagggcttcacctaaciaaggtgcctaattttgtgaacttttt
ttaccacatgtgactatttaatgactatcaaattataaaatatttaagtcaatttctttgccc
cactccatgatgccaaactattcaatgtacaatgtacatttatttttaataagggcttca
cctaaciaaggtgcctaattttgtgaactttttttaccacatgtgactatttaatgacta
tcaaattataaaatatttaagtcaatttctttgccccactccatgatgccaaactattcaa
tgtacaatgtacatttatttttaataagggcttcacctaaciaaggtgcctaattttgtga
actttttttaccacatgtgactatttaatgactatcaaattataaaatatttaagtcaatt
tctttgccccactccaatataatggtataaataggataattctcaattcatagtaattc
aaaaatcattaggactaaagaaaaatg

【補充序列表】

<110> 美商22世紀有限公司

<120> 用於控制腺毛中之大麻素及其他化合物之毛茸特異性啟動子

<130> 045952-0458

<140> TW 106132189

<141> 2017-09-20

<150> PCT/US17/51493

<151> 2017-09-14

<150> 62/397,212

<151> 2016-09-20

<160> 33

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 554

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 1

```

aaaaataaaa ttaataaatt ttaattatt aatatcattt tattttttaa taaataaata      60
tcatttttat attattataa tatgtataaa gttttaattg tatacaagaa gtcttatagt      120
aagagtatac accttacatc ataataacta ctogatctga aatcaatggt caagaaaagt      180
tcctaccgg taggaaactt ttgctagatc ctaccatagt ctcccttat atttattatg      240
tagaatctat tattatctct aataattaac aaatattaac aatcatttt gaaaaattat      300
atataaaaaa aaacttgaaa agtcaaagat taaccatcaa ttgccaat caaattagt      360
agaaagtagg tattatatac ctaacactca tttacatat gtctagacgt ttatatgtat      420
agcgttggtg tgtgaataa gttcacttgt agtatcttgt acatacataa tatatatata      480
taggtgtgtt tgtgaacaat tatattatca cacatacaca actcattatt atcataataa      540
taataatacc atgg                                                    554

```

<210> 2

<211> 550

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 2

```

aaaaataaaa ttaataaatt ttaattatt aatatcattt tattttttaa taaataaata      60
tcatttttat attattataa tatgtataaa gttttaattg tatacaagaa gtcttatagt      120
aagagtatac accttacatc ataataacta ctogatctga aatcaatggt caagaaaagt      180
tcctaccgg taggaaactt ttgctagatc ctaccatagt ctcccttat atttattatg      240

```

tagaatctat tattatatct aataattaac aaatattaac aaatcatttt gaaaaattat 300
 attaaaaaaaa aaacttgaaa agtcaaagat taaccatcaa ttfgccaaat caaattagtg 360
 agaaagtagg tattatatac ctaacactca tttacatat gtctagacgt ttatatgtat 420
 agcgttggtg tgtgtaataa gttcacttgt agtatcttgt acatacataa tatatatata 480
 taggtgtgtt tgtgaacaat tatattatca cacatacaca actcattatt atcataataa 540
 taataataat 550

<210> 3
 <211> 558
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 3
 aaaaataaaa ttaataaatt ttaattatt aatatacttt tattttttta taataaata 60
 tcatTTTTat attattataa tatgtataaa gttttaattg tatacaagaa gtcttatagt 120
 aagagtatac accitacatc ataataacta ctcgatctga aatcaatggg caagaaaagt 180
 tccctaccgg taggaaactt ttgctagatc ctaccatagt cttcccttat atttattatg 240
 tagaatctat tattatatct aataattaac aaatattaac aaatcatttt gaaaaattat 300
 attaaaaaaaa aaacttgaaa agtcaaagat taaccatcaa ttfgccaaat caaattagtg 360
 agaaagtagg tattatatac ctaacactca tttacatat gtctagacgt ttatatgtat 420
 agcgttggtg tgtgtaataa gttcacttgt agtatcttgt acatacataa tatatatata 480
 tatagggtgtg tttgtgaaca attatattat cacacataca caactcatta ttattagcat 540
 aataataata ataataat 558

<210> 4
 <211> 1158
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 4
 atgaatcadc ttcgtgctga ggggccggcc tccgttctcg ccattggcac cgccaatccg 60
 gagaacattt tattacaaga tgagtttctt gactactatt ttcgcgtcac caaaagtgaa 120
 cacatgactc aactcaaaga aaagtttoga aaaatattgt acaaaagtat gataaggaaa 180
 cgtaactgtt tcttaaatga agaacacctc aagcaaaccc caagattggt ggagcacgag 240
 atgcaaacctc tggatgcacg tcaagacatg ttggtagtgt aggttccaaa acttgggaag 300
 gatgcttgtg caaaggccat caaagaatgg ggtcaacca agtctaaaat cactcattta 360

atcttcacta ggcgatcaac cactgacatg cccgggtgcag actaccattg cgctaagctt 420
 ctccggactga gtccctcagt gaagcgtgtg atgatgtatc aactaggctg ttatgggtgg 480
 ggaaccggtc tacgcattgc caaggacata gcagagaata acaaaggcgc acgagttctc 540
 gccgtgtgtt gtgacataat ggcttgcttg tttcgtgggc cttcagagtc tgacctcgaa 600
 ttactagtgg gacaagctat ctttgggtgat ggggctgctg cgggtattgt tggagctgaa 660
 cccgatgagt cagttgggga aaggccgata tttgagttgg tgtcaactgg gcaaacaatc 720
 ttacaaaact cggaaggaac tattggggga catataaggg aagcaggact gatatttgat 780
 ttacataagg atgtgcctat gttgatctct aataatattg agaaatgttt gattgaggca 840
 tttactccta ttgggattag tgattggaac tccatatttt ggattacaca cccaggtggg 900
 aaagctattt tggacaaagt ggaggagaag ttgcatctaa agagtataa gtttgtggat 960
 tcacgtcatg tgctgagtga gcatgggaat atgtctagct caactgtctt gtttgttatg 1020
 gatgagttga ggaagaggtc gttggaggaa gggaaagtcta ccaactggaga tggatttgag 1080
 tgggggtgtc tttttgggtt tggaccaggt ttgactgtcg aaagagtggg cgtgcgtagt 1140
 gttcccatca aatattaa 1158

<210> 5
 <211> 996
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 5
 aatTTTTgac aatTTTTttt aatataacta acttgaagat aattcctaata acgaataaat 60
 acagaaaata taaacagttt tgttataaca cttttagatc agattataat taaatTTTTat 120
 atTTTTgata aaaaaatcaa ttgagggtcc tatttgtacc atTTTtagaaa atatagtgtc 180
 cattTTTTatt atTTtagtaaa acagagagtc taatgcgtaa cttttacaaa aatacatggt 240
 ccaaaaatagt atTTaccctt taatTTTTatt agcaactgtc ccaaaaaaaa tatgtTTTTga 300
 tgactgacgt acgggaatgt aaagTTTTgt aatagtgtat tgattcaaag acaacataaa 360
 gacatcaatc tgaaatcgat ticaatgtcc caaaaacaca ttaatgagcc ttaattgcat 420
 ccgataatca ttttccattg gttttattac ttctcatata tatagacatc acatatatga 480
 taggatttct tgagaataat gttaacattg agattTTTTat tacaactgat atattgatta 540
 tgcttagatg gcttgaattt gagcgacata tatagaaaga gtatagaatg atatatatgc 600
 acatccaaaa tatgtaccaa aatattaggt gacaatttag ataaatggaa gagaaaatta 660
 tagaaaaatg agggTTTTata tttttgtggt tatttaattt tagacatagt gtgatccaat 720
 aatTTtagga tgtataattg ttaggcacat ggattacttg tttttttatt aagtataacc 780
 ttacaaagta gatggttagta attaatgtag aaggttccaa taatgtattt atataaattg 840

ttaggcatgc aaagcctaata taattaataa atgagggtgg ccaatggcca ctatatatat 900
 caaggcatcg actgtatgta gcataatgtg atttatataa ttatcaaaaa aaaaaataa 960
 aaataagaag aagaagaaag ttgagaaaga ccatgg 996

<210> 6
 <211> 992
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 6
 aatittigac aatitttttt aatataacta acttgaagat aattcctaata acgaataaat 60
 acagaaaata taaacagttt tgttataaca cttttagatc agattataat taaatittat 120
 attttgata aaaaaatcaa ttgagggtcc tatttgtacc attttagaaa atatagtgtc 180
 catitttatt atttagtaaa acagagagtc taatgcgtaa cttttacaaa aatacatggt 240
 ccaaaatagt atttaccctt taatittatt agcaactgtc ccaaaaaaaaa tatgttttga 300
 tgactgacgt acgggaatgt aaagttttgt aatagtgtat tgattcaaag acaacataaa 360
 gacatcaatc tgaaatcgat ttcaatgtcc caaaaacaca ttaatgagcc ttaattgcat 420
 ccgataatca ttttccattg gttttattac ttctcatata tatagacatc acatatatga 480
 taggatttct tgagaataat gttaacattg agatittttat tacaactgat atattgatta 540
 tgcttagatg gcittgaattt gagcgacata tatagaaaga gtatagaatg atatatatgc 600
 acatccaaaa tatgtaccaa aatattaggt gacaatttag ataaatggaa gagaaaatta 660
 tagaaaaatg agggtttata tttttgtggt tatttaattt tagacatagt gtgatccaat 720
 aatitttagga tgtataattg ttaggcacat ggattacttg tttttttatt aagtataacc 780
 ttacaaagta gatggtagta attaatgtag aaggttccaa taatgtattt atataaattg 840
 ttaggcatgc aaagcctaata taattaataa atgagggtgg ccaatggcca ctatatatat 900
 caaggcatcg actgtatgta gcataatgtg atttatataa ttatcaaaaa aaaaaataa 960
 aaataagaag aagaagaaag ttgagaaaga ga 992

<210> 7
 <211> 485
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 7
 aaaaaagaag aagaagaaga aagttgagaa agagaatggc agtgaagcat ttgattgtat 60
 tgaagttaa agatgaaatc acagaagccc aaaaggaaga atttttcaag acgtatgtga 120
 atcttgtgaa tatcatccca gccatgaaag atgtatactg gggtaaagat gtgactcaaa 180

agaataagga agaaggggtac actcacatag ttgaggtaac atttgagagt gttggagacta 240
 ttcaggacta cattattcat cctgcccattg ttggatttgg agatgtctat cgttctttct 300
 gggaaaaact tctcattttt gactacacac cacgaaagta gactatata agtagccgac 360
 caagctgcct tcatcttcat cttctcaaat aatataicta atatctaatt atataataat 420
 aactacttaa taaaagactg tgtttataac attaataat aataataata aagtcttttg 480
 tagct 485

<210> 8

<211> 1361

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 8

tcaaaccaga tttttataa taatttacac accaattaac taagaaattc taactagagt 60
 tagtgtgaa ttagaaggag tatcaaggta acctatctcc ttgtctctt taaattttta 120
 aaagaaaagc tattgttcta attagtttgg attttatggg ttaggttttg tagagtttgt 180
 ttgagcttaa aattgttgtt ggtttgattt aagggtgaat tctgtgttgg tttgtaagat 240
 tttagctgat gtagttcgtg ttggaggagt tcgagttttt gaactcaaag tccactcaac 300
 aatatgggtga aattagtttt aggtggtttt agatgctttt gaagtgtatg ttttgtttag 360
 attacctctt ttttggtaag ttgatagcc tttggcaag gaatgactta attttgaagg 420
 tctgaaagt gagtagtttt gaactctttt ctgcccaaaa tggtttcgaa tgagttgtac 480
 ttgtcatatg tgatttgagt ggtaaggttc ggaagggtag tcctagacag tgttttcaat 540
 gattaggttt ggggttgggt aatctagagt taagagccta gagttttggt tgcttggatt 600
 ggtgtgacct ggttgttagt atccttatca agggatcccg aataggtgat gtagtgggtt 660
 tggatggtat attctggatc aaaattttta gatgggtcc aaactgatag tttcaaaaat 720
 gtgtgtgtgt gtctggttaa ggatttattt tgggaaggct ctagtggga ggtcctggat 780
 tggaaagtct agatgtgagg ctccgggtag gagggctctg taggaagatt ctagatggta 840
 tttggltggtc gagatgaggg atttccgaac atgttttaat agttacaata attcataaat 900
 tttcaacact aaatcaaaa ataatitttg atatgattgt ataaatttaa tctcatcgta 960
 gtgtagagct ctacatgcat gcatggtttg tatagccata attaattaat taggcaagaa 1020
 agatagatgt gcctaccatg catgacttct aaaacatgga tgactttaaa ttttgaacc 1080
 aagcaaaaat tgttttacta taaatcttgt taattttca ttattgatat cactatgta 1140
 ttctaaccct ttcgtagcca taattagtta attaggcaag aaagatagat gtgcctacca 1200
 tgcattgactt ctaaaacatg gatgacttta aattttgaaa ccaagcaaaa attattttac 1260
 tataaatctt gttatttttt cattattgat atcactatgt tattctaac ctttctttcc 1320

ctcatttttt cttaatattc aatcaataat aatctccatg g 1361

<210> 9
 <211> 1357
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 9
 tcaaaccaga ttttttataa taatttacac accaattaac taagaaatc taactagagt 60
 tagtgttgaa ttagaaggag tatcaaggta acctatctcc tttgtctctt taaattttta 120
 aaagaaaagc tattgttgta attagtttgg attttatggg ttaggttttg tagagtttgt 180
 ttgagcttaa aattgtttgt ggtttgattt aaggttgaat tctgtgttg tttgtaagat 240
 tttagctgat gtagttcgtg ttggaggagt tcgagttttt gaactcaaag tccactcaac 300
 aatatgggtga aattagtttt aggttggttt agatgctttt gaagtgtatg tttgttttag 360
 attaccctct ttttggttaag ttgatagcc tttggtcaag gaatgactta attttgaagg 420
 tctgaaagtt gagtagtttt gaactctttt ctgcccaaaa tggtttcgaa tgagttgtac 480
 ttgtcatatg tgatttgagt ggtaaggttc ggaagggtag tccatagacag tgttttcaat 540
 gattaggttt ggggttggtg aatctagagt taagagccta gagttttggt tgcttgatt 600
 ggtgtgacct ggttgtagt atccttatca agggatcccg aataggtagt gagtgaggtt 660
 tggatgggtat attctggatc aaaattttta gatggggctc aaactgatag tttcaaaaat 720
 gtgtgtgtgt gtctggitaa ggatttattt tgggaaggct ctagtggga ggtcctggat 780
 tggaaagtct agatgtgagg ctccgggtag gagggctctg taggaagatt ctatagtgta 840
 tttggtggtc gagatgaggg atttccgaac atgttttaat agttacaata attcataaat 900
 tttcaacact aatcaaaaat attaattttg atatgattgt ataaatttaa tctcatcgta 960
 gtgtagagct ctacatgat gcatggtttg tatagccata attaatatt taggcaagaa 1020
 agatagatgt gcctaccatg catgacttct aaaacatgga tgactttaaa ttttgaacc 1080
 aagcaaaaat tgttttacta taaatcttgi taatttttca ttatgatat cactatgta 1140
 ttctaaccct ttcgtagcca taattagtta attaggcaag aaagatagat gtgcctacca 1200
 tgcattgactt ctaaacatg gatgacttta aattttgaaa ccaagcaaaa attattttac 1260
 tataaatctt gttatttttt cattattgat atcactatgt tattctaacc ctttctttcc 1320
 ctcatttttt cttaatattc aatcaataat aatctcc 1357

<210> 10
 <211> 1188
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 10

```

atgggactct catcagtttg taccttttca tticaaacta attaccatac tttattaat      60
cctcacaata ataatcccaa aacctcatta ttatgttata gacaccccaa aacaccaatt     120
aaatactctt acaataatit tccctctaaa cattgctcca ccaagagttt tcatctacaa     180
aacaatgct cagaatcatt atcaatcgca aaaaattcca ttagggcagc tactacaaat     240
caaactigagc ctccagaatc tgataatcat tcagtagcaa ctaaatttt aaactttggg     300
aaggcatggt ggaaacttca aagaccatat acaatcatag catttacttc atgcgcttgt     360
ggattgtttg ggaaagagtt gtigcataac acaaatttaa taagttggtc tctgatgttc     420
aaggcattct ttttttgggt ggctatatta tgcattgctt cttttacaac taccatcaat     480
cagatttacg atcttccatc tgacagaata aacaagcctg atctaccact agcttcaggg     540
gaaatatacag taaacacagc ttggattatg agcataattg tggcactggt tggattgata     600
ataactataa aaatgaaggg tggaccactc tatatatttg gctactgitt tggatTTTT     660
ggtgggattg tctattctgt tccaccattt agatggaagc aaaatccttc cactgcattt     720
cttctcaatt tectggccca tattattaca aatttccatc tttattaigc cagcagagca     780
gctcttggcc taccatttga gttgaggcct tcttttactt tectgctagc atttatgaaa     840
tcaatgggtt cagctttggc tttaatcaaa gatgcttcag acgttgaagg cgacactaaa     900
tttggcatal caaccttggc aagtaaatac ggttccagaa acttgacatt attttgttct     960
ggaattgttc tectatccta tgtggctgct aacttggctg ggattatctg gccccaggct    1020
ttcaacagta acgtaatggt actttctcat gcaatcttag cattttggtt aatcctccag    1080
actcgagatt ttgcgttaac aaattacgac ccggaagcag gcagaagatt ttacgagttc    1140
atgtggaagc tttattatgc tgaatattta gtatatgttt tcatataa                    1188

```

<210> 11

<211> 805

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 11

```

ataatgftat ttattattta atacaatatg acatttatac agcgtaccaa acgagcccat      60
aatgtattgc aattgtattg ttgtacgaat taaaataata aaatactaat taagttaata     120
ttgtaagata gataatatgg caaacaaata aataattttc agttgagaat atgtacaaaa     180
ttaaagttga ttttacaaga aacaagtagt actaattaaa atggtagatt tacatatagt     240
gttcgttaaa tttgaaaaaa gaaaacgact aattcattgg aaaattgatt gtggaagaaa     300
tcaaaatttg gtggctgaac cgccctagtt acttaacaca attcataaaa caaccctaca     360

```

ctacttacc tacactatat acgtatattt tttttttata ttccatttgt taataaaata 420
aatatgcatt gttattatgt gtaccaagat gctaatacgg tgacgtttta tataagttta 480
taatttttta ttaaagtaaa acaattgtcc ctcaatatta aattaaagaa aataagtagg 540
tttttagcatt tctcatgata aataagtagg agtagtaagt atattaattt atatgcatat 600
gttaaaaggc aacacagtga taggttgtgt agtacgtacc caaaccaaat tccagcctaa 660
tccattatta atgagcaagt ccttgataaa ataaggtgca tgttgttaga tcaaataacc 720
cgtcccgaaa tccaatatat atatatatat aatattcaaa ctctctcttt ctatcttctg 780
acaatttaat agaagtaacc atggg 805

<210> 12
<211> 800
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 12
ataatgttat ttattattta atacaatatg acattttatac agcgtaccaa acgagcccat 60
aatgtattgc aattgtattg ttgtacgaat taaaataata aaatactaat taagttaata 120
ttgtaagata gataatatgg caaacaaata aataattttc agttgagaat atgtacaaaa 180
ttaaagtga ttttacaaga aacaagtagt actaattaaa atggtagatt tacatatagt 240
gttcgttaaa tttgaaaaaa gaaaacgact aattcattgg aaaattgatt gtggaagaaa 300
tcaaaaattig gtggctgaac cgccctagtt acttaacaca attcataaaa caaccctaca 360
ctacttacc tacactatat acgtatattt tttttttata ttccatttgt taataaaata 420
aatatgcatt gttattatgt gtaccaagat gctaatacgg tgacgtttta tataagttta 480
taatttttta ttaaagtaaa acaattgtcc ctcaatatta aattaaagaa aataagtagg 540
tttttagcatt tctcatgata aataagtagg agtagtaagt atattaattt atatgcatat 600
gttaaaaggc aacacagtga taggttgtgt agtacgtacc caaaccaaat tccagcctaa 660
tccattatta atgagcaagt ccttgataaa ataaggtgca tgttgttaga tcaaataacc 720
cgtcccgaaa tccaatatat atatatatat aatattcaaa ctctctcttt ctatcttctg 780
acaatttaat agaagtaata 800

<210> 13
<211> 1000
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 13
taaaaattag attatatttt tatcagaatt ttttatttat atttttcatc gagttacgtt 60

```

gatttaacgt atgttgacgg tgcctataat tgtctattat ttttaagtta tatacacgca      120
ctacttacgt aaatttagtt ggcagatitt ctgtctctat gggctatatt gttggacatc      180
agctatctca ttaattaata ataccatact ttttcttaaa agttaaataa aacaaaatta      240
tacacgcact gattcgaatg gtgtagccca cgcacttgct aagtctgtta ctagttctgt      300
aggagttaat gtgtggactg atgcttgcc tagatttat cagctatctc attaattaat      360
aataccatac ttttcttaa aagttaaata aaacaaaatt atacacgcac tacgataagg      420
attatataaa tgattaacta aaaaatatct atttaacatg ccataccgcg aaaggttttg      480
cgccattcga tgggtgccgg gatctcgacg ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa      540
gcagcccagt agtaggttga ggcggttgag caccgccgcc gcaaggaatg gtgcatgcaa      600
ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaaca      660
agcgcctcat agcccgaagt ggcgagcccg atcttcccca tcggtgatgt cggcgatata      720
ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggcc acgatgcgtc cggcgtagag      780
gatcgagatc tcgatcccg gaaattaata cgactcacta taggggaatt gtgagcggat      840
aacaattccc ctctagaaat aatttgttt aactttaaga aggagatata ccatgaaaca      900
ccaccaccac caccaccacc acggtggctt ggttccgct ggttcccatg atcaacaag      960
tttgtacaaa aaagcaggct ccgaattcgc ccttatggag      1000

```

<210> 14
<211> 869
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

```

<400> 14
gtgacaaact gaagaattct gttatttta tttatacat tagtgatgtt ttttactttt      60
ttagagttat ttttatgctt atgtaatttg catattgtag tggagtttat gcagttatft      120
ttttgttgtt atttagttgt ttaactaaga gaaataaata tatatatttt ttatttgtgc      180
gttgttttta ttttattttt taagttgacg taagtgttga tgctcaatta atttttatat      240
taacataaaa ttgttattgt gtgtgcttatt cgttgcctatt gagttatttc aatattgtac      300
tttttgaagt ttttgtctta taaatttatt tttatttgca taacatatga taaactttaa      360
tggatttata tgttacgggt aagttgtttt ctagttgctt ttgtgttgtt gtttagttgt      420
tttgcgctga gaaaagaagc cctatacgtt aaaatfcaact ttgtccgaat tcgccacgtg      480
gcaactactg ctacgttctg acgctacaga ttgtgagcgt caggcaagtc tgaatgcttt      540
gtcccgcact cacgtgtgag tctcactcgc ccacatagcc atatgtgtgc cacacatctc      600
cttgcgcate taggggagtt tttctactgt atttttgtaa ataagaaact ttgaaaatag      660
tatattttaa attaataaat aatataaatg tttattttta cttatagtag tataaatatt      720

```

tatttaagat aattttaact taaaatagaa aaaatctcaa aaaaaataa aataaaataa 780
 actatacctt taatTTTTat atttatgaaa atttcccgta taaaaggga gattTTTTt 840
 tttaaaatta gtaggtaagt aataggatg 869

<210> 15
 <211> 2351
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 15
 tcttggagtg tatatataga tatatatata catttctcca tttttggcca cccaaattac 60
 ctaaattgaa ttcgtcgtgt tcgtctttct ccgccataaa taacaattga tttccttcgt 120
 tctttcaagt ttttgtcaac tgagtactga gatccagtct gagtcgacac ttgtagaggt 180
 tcgaaaatgg cgcagaagaa gtttatTTTT gaggttgaaa aggctaagga agctaaggat 240
 ggaaggcctt ccattgggacc tgtttatcga agtatgtacg ccaaggatgg ctttctctct 300
 ccgattgatg gatggattg ttgttgggat gtgttttaggc tttctgtgga gagaaatcct 360
 ggaaacaaaa tgctcggctg ccgggaggtt gtggatggga aggctggaaa gtatgtttgg 420
 caaacttata aggaggTTta tgattgtgtg ataaaacttg gaaatgccat gcgcagttgt 480
 ggtttcggag aaggagacaa atgtggtatc tatggtgcca attgctctga atggattatg 540
 agcatgcagg ctgcaatgc tcatggactc tattgtgttc cgttgtatga caccttaggt 600
 gctaattgcaa ttgagtttgt cataaaacat gccgaggTTa caattgcttt tgcagaagag 660
 aaaaagcttc ctgagctgtt gaaaacactt cctaacacca cagactatTT aaaaacactt 720
 gtgagctttg ggaaggTcac accggaacaa agggaaTctg ttgaaaagtt tggattgaag 780
 atctattcct gggaagagtt ctgcaattg ggtgattgta aagatttTga tcttccagtg 840
 aaaaagaaaa ctgatatatg cactataatg tatactagtg gaactactgg tgacccaaag 900
 ggagtactga tatccaatga gagcatcatt tctcttttgg ctggggTgag gcgattgctt 960
 gagagtTtaa atgaaaagtt gaccgagaaa gatgtatttc tttcatatct tccccTgca 1020
 catatcttTc atcgggtgat tgaggagTTa tttatTTTgc atggTgcctc aatcgggttc 1080
 tggcgtggcg atgtcaaat attactTgaa gacattgggg agctaaaacc aactatTTc 1140
 tgtgccgttc cccgtgtgct ggatagagtc tatgctggtt tgacgcagaa gatttctgct 1200
 gggggattct taaagaagac tctcttcaat ttgcatact cacgcaagta taataacatg 1260
 cgaaaggggc ttaaacacgg ggacgcagct ccattatgtg acaaaattgt atttagtaag 1320
 gtgaagcaag gtttgggagg taatgtgcgg ctTattctgt ctggagctgc gcctctagct 1380
 cctcatgttg aagcttactt acgagttTg acatgtgctc atgtttgcca aggatatggg 1440
 ctaactgaaa cttgtgcggg gacattTgtc tcgataccaa atgaactacc aatgctcggt 1500

acagttggtc ctccagtacc caatgttgat gtatgtctgg aatcagttcc ggaaatggga 1560
 tatgatgccc ttgcagaagt accgcgtgga gaagtaigtg tgaaggggaag caccttattc 1620
 tctgggtact acaaacgtga agacttaacc aaggagggtca tgattgatgg gtggttccat 1680
 acaggtgatg ttggtgagtg gcaagcagat ggaagcttga aaatcattga ccgtaagaaa 1740
 aatattttca aactttctca aggagaatat gtggcagttg agaacttaga gaacatttat 1800
 ggtcttgttt ctgacattga ctcaatatgg gtttacggga acagcttcga gtccttctc 1860
 gttgctgtga ttaacccgaa ccagcaagca cttgaacgtt gggccggaga gaataatata 1920
 tctggtgact tcaagtccat ttgtgaaaat ccaagagcaa aggaatacat ttggggagag 1980
 ctcaataaga ttggcaaaga gaaaaagttg aaaggttttg agttcataag agctgttcac 2040
 cttgaccagc aggcatttga catagaacgt gaccttatta ctccaacata taagaaaaag 2100
 agacccagc tgcctaaata ctaccagagt gttattgata acatgtacaa ggaaggaaac 2160
 aagcccagga cctgaaagat ataatagaca tttagagctt cactttctaa tatttcttca 2220
 cacacttccc attttcatct ctctcttact tattacacta taaataatta acaaggttta 2280
 ctgtgttgta aatgacattt taatattttc atagtctcaa tgtttcaatt cttagaggac 2340
 gttttgattg g 2351

<210> 16
 <211> 420
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 16
 gtttaataaac atacttgtga gtagatctaa gatcctggta aaataattcc caacatattt 60
 caatcgtaaa ttcatgagtg attcttatca ctcttataaa aaaagatata aagatccata 120
 gataaatatt tgctagtcc ttttttccat agtcaacttc aatatggcat cttaacttct 180
 ttccatcaac aaatgatgct caactactta atgtacaatt tataatttatt tttagtaagg 240
 gatacaccta acaatgatgc ctaattttgg tgaatttttt tttaccacat gtgacttaat 300
 gatatcaaat ttggaaatat ttagttaatt tatttgcccc tgctccatta tataaagcta 360
 taaataggat agttcttaat tcatagtaat tcaaaaatta ttagaactaa agaaccatgg 420

<210> 17
 <211> 416
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 17

gttaataaac atacttgta gtagatctaa gatcctggta aaataattcc caacatattt 60
 caatcgtaaa ttcattgagtg attcttatca ctctcttaaaa aaaagatata aagatccata 120
 gataaatatt tgctagtcct ttctttccat agtcaacttc aatatggcat cttacttctt 180
 ttccatcaac aaatgatgct caactactta atgtacaatt tatatttatt tttagtaagg 240
 gatacaccta acaatgatgc ctaattttgg tgaatTTTTT tttaccacat gtgacttaat 300
 gatatcaaat ttggaaatat ttagttaatt tatttgcgcc tgcctcatta tataaagcta 360
 taaataggat agttcttaat tcatagtaat tcaaaaatta ttagaactaa agaaaa 416

<210> 18
 <211> 535
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 18
 agacgttata gctttattgt ctaaatttct tggggtagtt ttgtcccatg ttgctcgctt 60
 actttagaag ttcaaagttt gacaaaacat gctattcggg tataacaatga gctatcctag 120
 ttcaaggaga ttccctgtgct atttgtggat gtctacattg taaattcatg agtgattctt 180
 ataactttat taaaaaaaaag acaaatagat ccatagataa atatttgcaa gtgctttctt 240
 gtcatagcaa ttttttttta cataggtaat ttaaaaaatt catcttaact tttttcatc 300
 aataaatgat gctcaattat tcaatgcacc atgtacattt atttttaata agggctgcac 360
 ctaacaaagg tgcctaattt tggtaaaaaa gaaattacgg catgtgaata tttaatgagc 420
 atcaaattac aaaatattta gctaatttct ttacccccac tccaatctat aaagctataa 480
 ataggataat ttccattca tagtaatttc caacattacg actaaagaac catgg 535

<210> 19
 <211> 531
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 19
 agacgttata gctttattgt ctaaatttct tggggtagtt ttgtcccatg ttgctcgctt 60
 actttagaag ttcaaagttt gacaaaacat gctattcggg tataacaatga gctatcctag 120
 ttcaaggaga ttccctgtgct atttgtggat gtctacattg taaattcatg agtgattctt 180
 ataactttat taaaaaaaaag acaaatagat ccatagataa atatttgcaa gtgctttctt 240
 gtcatagcaa ttttttttta cataggtaat ttaaaaaatt catcttaact tttttcatc 300
 aataaatgat gctcaattat tcaatgcacc atgtacattt atttttaata agggctgcac 360
 ctaacaaagg tgcctaattt tggtaaaaaa gaaattacgg catgtgaata tttaatgagc 420

atcaaattac aaaatattta gctaatttct ttacccccac tccaatctat aaagctataa 480
 ataggataat tttccattca tagtaatttc caacattacg actaaagaaa a 531

<210> 20
 <211> 1635
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 20
 atgaagtgct caacattctc cttttggttt gtttgcaaga taatattttt ctttttctca 60
 ttcaatatcc aaacttccat tgctaactct cgagaaaact tecttaaatg ctctcgcga 120
 tatattcca ataatgcaac aaatctaaaa ctcgatatac ctcaaaaca cccattgtat 180
 atgtctgtcc taaattcgac aatacacaat cttagattca cctctgacac aacccccaaa 240
 ccacttgta tegtactcc ttacatgtc tctcatatcc aaggcactat tctatgctcc 300
 aagaaagtgg gcttgcagat tcgaactcga agtgggtggc atgattctga gggcatgtcc 360
 tacatatctc aagtcccatt tgttatagta gacttgagaa acatgcggtc aatcaaaata 420
 gatgttcata gccaaactgc atgggttgaa gccggagcta cccttggaga agtttattat 480
 tgggttaaatg agaaaaatga gaatcttagt ttggcggctg ggtattgccc tactgtttgc 540
 gcagggtggac actttggtgg aggaggctat ggaccattga tgagaaacta tggcctcgcg 600
 gctgataata tcattgatgc acacttagtc aacgttcatg gaaaagtgct agatcgaaaa 660
 tctatggggg aagatctctt ttgggcttta cgtgggtggg gagcagaaaag ctccggaatc 720
 attgtagcat ggaaaattag actgggttgc gtcccaaagt ctactatgtt tagtggtaaa 780
 aagatcatgg agatacatga gcttgtcaag ttagttaaca aatggcaaaa tattgcttac 840
 aagtatgaca aagatttatt actcatgact cacttcataa ctaggaacat tacagataat 900
 caagggaaga ataagacagc aatacacact tacttctctt cagttttctt tggaggagt 960
 gatagtctag tcgacttgat gaacaagagt tttcctgagt tgggtattaa aaaaacggat 1020
 tgcagacaat tgagctggat tgatactatc atcttctata gtgggtgtgt aaattacgac 1080
 actgataatt ttaacaagga aattttgctt gatagatccg ctgggcagaa cgggtctttc 1140
 aagattaagt tagactacgt taagaaacca attccagaat ctgtatttgt ccaaattttg 1200
 gaaaaattat atgaagaaga tataggagct gggatgtatg cgttgtacc ttacgggtgt 1260
 ataatggatg agatttcaga atcagcaatt ccattccctc atcgagctgg aatcttgtat 1320
 gagttatggt acatatgtag ttgggagaag caagaagata acgaaaagca tctaaactgg 1380
 attagaaata ttatfaactt catgactcct tatgtgtcca aaaatccaag attgcatat 1440
 ctcaattata gagacctga tataggaata aatgatcca agaatccaa taattacaca 1500
 caagcacgta tttggggatga gaagtatttt ggtaaaaatt ttgacaggct agtaaaagt 1560

aaaaccctgg ttgatcccaa taactttttt agaaacgaac aaagcatccc acctcttcca 1620
 cggcatcgtc attaa 1635

<210> 21
 <211> 800
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 21
 cttatcactc attcgggagc aacttaaaaa aattacaatt attatgaaag acggcacaaa 60
 aagcgaatta attacctaatt cgtaaataaa agaaatttta cataaatata ttatataatt 120
 ttatattatt cataaaaaat ataaaatagt attagactga attgagattt gattcgtaac 180
 taaaaattaa tttctttaat gtaaaatitt aaaaacaaat tattaacc gcgtgaagcg 240
 cggatctatt ccctagtga ataataaagt agatagtaga ggaggttaga atttataatt 300
 tttcatttaa atatttgaat ttactttact gttctttggt attcttcatt taattttgct 360
 atttgttatt ttacttttca aaaattataa ttttaattac caaataaaaa gtaaaataga 420
 tattggfact tgatattcac tctttatggg aaccataata aactataaaa gtcattatgt 480
 gtacttgcta ccataggcac ctatatccca caaactagct accatagcca atttcttgtt 540
 ttttgtttcc aatatccaat ttttattgat gccaaactat tcaatgtaca atgtacattt 600
 atttcaata agggcttcac ctaacaaagg tgcctaattt tagttgattt atttttatc 660
 acatgtgact atttaatgac tatcaatta taaaatattt aagtcaattt atttgcccca 720
 actccaatat ataattattat aaataggata gttctcaatt cctaataatt caaaaaatca 780
 ttaggactga agaaccatgg 800

<210> 22
 <211> 796
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 22
 cttatcactc attcgggagc aacttaaaaa aattacaatt attatgaaag acggcacaaa 60
 aagcgaatta attacctaatt cgtaaataaa agaaatttta cataaatata ttatataatt 120
 ttatattatt cataaaaaat ataaaatagt attagactga attgagattt gattcgtaac 180
 taaaaattaa tttctttaat gtaaaatitt aaaaacaaat tattaacc gcgtgaagcg 240
 cggatctatt ccctagtga ataataaagt agatagtaga ggaggttaga atttataatt 300
 tttcatttaa atatttgaat ttactttact gttctttggt attcttcatt taattttgct 360

attgttatt ttactttca aaaattataa ttttaattac caaataaaaa gtaaaataga 420
 tattggfact tgatattcac tctttatggg aaccataata aactataaaa gtcattatgt 480
 gtacttgcta ccataggcac ctatatccca caaactagct accatagcca atttcttgtt 540
 ttttgtttcc aatatccaat ttttattgat gccaaactat tcaatgtaca atgtacattt 600
 attttcaata agggcttcac ctaacaaagg tgcctaattt tagttgattt attttttate 660
 acatgtgact atftaatgac taicaaatta taaaatattt aagtcaattt atttgcccca 720
 actccaatat ataattat aaataggata gttctcaatt cctaataatt caaaaaatca 780
 ttaggactga agaaaa 796

<210> 23
 <211> 796
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 23
 ttatttfaat ttctcagaga gatatagaga atttacaata ggtcaagttg tatatttttt 60
 aatccgaata attaatgctt ttgaatatcc atcatcaata ttgaataata aagtagatag 120
 cagaggagat tagaactcat aatttttcat ttatattttt gaatttagtt tactgttctt 180
 tattattctt catttaattt tgctatatgt tattttactt ttcaaaaatt ctaattttga 240
 ttaccaata aaaaataaaa tatatattgg tacttcatat ttagttttta tgggaatgat 300
 aatgaatgat attgtaataa actataaaag taatttttga tacttgcata gttcttaatt 360
 ttaccacaaa aaaatatata ttaatgaaaa aaaaagggtgg aaagtgccat aggcacctat 420
 atcccacaaa ctagctataa gatattgaaa gacaaataga tccatagata aatatttgcg 480
 tgcctttct tttcatatct aattttttgt ttttttattt ttttccaata gtcaattttg 540
 gcagcttaac ttctttccat aaataatgat gccaaactat tcaatgtaaa atttagattt 600
 atttcatta agggcttcac ctaacaaatg tgcctaattt ttgtggattt tttaccata 660
 tgcgctatt taatgactac caaattatag aattatttaa gtcaatttct cagtccccgc 720
 tccaatatat aaagttag aaaggacaat tcttaattca tagtaattca aaaatcatta 780
 agactaaaaa ccatgg 796

<210> 24
 <211> 792
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 24
 ttatttfaat ttctcagaga gatatagaga atttacaata ggtcaagttg tatatttttt 60

aatccgaata attaatgctt ttgaatatcc atcatcaata ttgaataata aagtagatag 120
cagaggagat tagaactcat aatftttcat ttatattttt gaatttagtt tactgttctt 180
tattattctt catttaattt tgctatatgt tattttactt ttcaaaaatt ctaattttga 240
ttaccaata aaaaataaaa tatatattgg tacttcatat ttagttttta tgggaatgat 300
aatgaatgat attgtaataa actataaaag taatftttgta tacttgcata gttcttaatt 360
tttaccctaaa aaaatatata ttaatgaaaa aaaaagggtgg aaagtgccat aggcacctat 420
atcccacaaa ctagctataa gatattgaaa gacaaataga tccatagata aatatttgcg 480
tgtcctttct tttcatatct aatfttttgt ttttttattt tttccaata gtcaattttg 540
gcagcttaac ttctttccat aaataatgat gccaaactat tcaatgtaaa atttagattt 600
atfttcatta agggcttcac ctaacaaatg tgccfaattt ttgtggattt tttaccata 660
tgtogctatt taatgactac caaattatag aattatttaa gtcaatttct cagtccccgc 720
tccaatatat aaagttatag aaaggacaat tcttaattca tagtaattca aaaatcatta 780
agactaaaaa aa 792

<210> 25
<211> 720
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 25
tttcaattg atttaattc ttatattgat ataaagaatt tgcaatacat tgagtttctt 60
aaccgaata ttaaacgggt ttgaatatct tcatcattga ttgaataata aagtgatag 120
tagagggaat tagaatccat aatfttttat ttatataatt gaagttagtt tattattctt 180
tgctatcctt catttaattt tgctatttgt tatttttagtt tcaaaaattt atftttcatt 240
acaaaataaa aaataagata ggatattgggt acttgataag tcttctttgt ggaaacgata 300
atcggatatta ttaggtatat ttgcatattt caatattatt gcaaaaata aatataataa 360
taataaaagt ggaagggtgcc ataggfacct atatacaca actagcatat tgaaagaaaa 420
tggatccaag gataaatatt tgcaagtctt tttttttttg catagccaat ttcttttttt 480
attattattt taatagaata tttcaaaaagg gcatctaaca tttattttta ataaggactg 540
cacctaaca aggtgcctaa tttttgtgaa ctttttttta ccacatgtga ctatttaatg 600
agtactaaat tatgaaatat ttagtttaatt tctttgcccc cgtccaata tataatgcta 660
taaatagcat aatftttctat tcatagtaat tcaaaaatca ttaggactaa agaaccatgg 720

<210> 26
<211> 716
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 26
 ttttcaattg atttaatttc ttatatgat ataaagaatt tgcaatacat tgagtttctt 60
 aaccogaata ttaaocggtt ttgaatatct tcatcattga ttgaataata aagtggatag 120
 tagagggaat tagaatccat aatfttttat ttatatatft gaagttagtt tattattctt 180
 tgctatcctt catttaattt tgctatfttg tattfttagtt tcaaaaattt atftttcatt 240
 acaaaaataa aaataagata ggatattggg acttgataag tcttctfttg ggaaacgata 300
 atcggatatta ttaggtatat ttgcatatft caatattatt gcaaaaaata aatatattaa 360
 taaataaagt ggaagggtgcc ataggtacct atatccacaa actagcatat tgaaagaaaa 420
 tggatccaag gataaatatt tgcaagtctt ftftftfttg catagccaat ftctftftft 480
 attattatft taatagaata ftftcaaaagg gcatctaaaca ftftatftfta ataaggactg 540
 cacctaacaa aggtgcctaa ftftftgtgaa cftftftfta ccacatgtga ctatttaatg 600
 agtactaaat tatgaaatat ttagtftaatt tctfttgcct cgctccaata tataatgcta 660
 taaatagcat aatfttctat tcatagtaat tcaaaaatca ttaggactaa agaaag 716

<210> 27
 <211> 1635
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 27
 atgaattgct cagcatttft cftfttggtt gtttgcaaaa taatattftt cfttctctca 60
 ttcaatatcc aaatttcaat agctaactct caagaaaact tctttaaatt cftctcggaa 120
 tatafttcta acaatccagc aaatccaaaa ttcatataca ctcaacacga ccaattgtat 180
 atgtctgtcc tgaattcgac aatacaaaat cfttagattca cctctgatac aaccccaaaa 240
 ccactcgtta ttgtcactcc ttcaaatgtc tccatattcc aggccagtat tctctgctcc 300
 aagaaagttg gtttgagat tccaactcga agcggttggc atgatgctga gggtatgtcc 360
 tacatatctc aagtccatt tgtttagta gacttgagaa acatgcattc gatcaaaaata 420
 gatgttcata gccaaactgc gtgggttgaa gccggagcta cccttggaga agtttattat 480
 tggatcaatg agaagaatga gaatfttagt ftctctggtg ggtattgccc tactgttggc 540
 gtaggtggac actfttagtg aggaggctat ggagcattga tgcgaaatta tggccttgcg 600
 gctgataata tcatgatgc acacttagtc aatgttgatg gaaaagttct agatcgaaaa 660
 tccatgggag aagatctatt ttgggctata cgtggtggag gaggagaaaa cfttggaatc 720
 attgagcat ggaaaatcaa actggttgtt gtccatcaa agtctactat attcagtgtt 780

aaaaagaaca tggagataca tgggcttgtc aagttattta acaaatggca aaatattgct 840
 tacaagtatg acaaagattt agtactcatg actcacttca taacaaagaa tattacagat 900
 aatcatggga agaataagac tacaglacat ggftacttct cttcaatttt tcatggtgga 960
 gtggatagtc tagtcgactt gatgaacaag agctttcctg agttgggtat taaaaaaact 1020
 gattgcaaag aatttagctg gattgataca accatcttct acagtgggtg tgtaaatfff 1080
 aacactgcta attttaaaaa ggaaattttg cttgatagat cagctgggaa gaagacggct 1140
 ttctcaatta agttagacta tgtaagaaa ccaattccag aaactgcaat ggtcaaaaatt 1200
 ttggaaaaat tatatgaaga agatgtagga gctgggatgt atgtgttgta cccttacggt 1260
 ggtataatgg aggagatttc agaatcagca attccattcc ctcacgagc tggaaataatg 1320
 tatgaacttt ggiacactgc ttctgggag aagcaagaag ataatgaaaa gcatataaac 1380
 tgggttcgaa ggtttataa ttttacgact ccttatgtgt cccaaaatcc aagattggcg 1440
 tatctcaatt atagggacct tgatttagga aaaactaatc ctgagagtcc taataattac 1500
 acacaagcac gtatttgggg tgaaaagtat tttggtaaaa attttaacag gttagttaag 1560
 gtgaaaacca aagctgatcc caataatttt tttagaaacg aacaaagtat cccacctctt 1620
 ccaccgcatc atcat 1635

<210> 28
 <211> 804
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 28
 gataatffff ctccaaatt taatagtatc ttttatataa gttcagtcac gtttttctta 60
 tgtaagttag gctattaatt atttgatgt atttattata ttgtatgtcg ttactgcat 120
 tctgccaaca ttggtttttg tggattatg atatataata tgatatgctg ttaagttaga 180
 ggtaagattc aatttattta agattattta atttgcgctt ttattatata catcttctag 240
 ttgtaattaa tggggtagaa ttaagactgt gttttgaatt aatatacggta ttagaatagg 300
 atttgcatga ctatatttct accttaccac gttttttatc tgataacacc ctttcaacta 360
 ttatfffft attttaatt ttttatatt ttaccatat tctatttata ctaacttta 420
 gtggtacatt acctccctgt ggatacgaca tataatctgt ttactatcgt gaccgaagta 480
 taactaattg ggcgacatca cacctatata ccacaaacta gctactatag tcaatffff 540
 gtttttttcc caatagccaa ttttaaatga tgccaaacta ttcaatgtat aatgtacatt 600
 tatttttaaat aagggcttca cctaacaaat gtgcctaatt ttagttaatt tatttttita 660
 tgcacatcta ctatttaaag gaactatcaa attataaaat atttatgtca attcatttgc 720
 cccaactcca atatataata ttataaatag gatagttctc tattcataat aattcaaaaat 780

atcattagga ctgaagaacc atgg

804

<210> 29
 <211> 800
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 29
 gataattttt ctccaatt taatagtatc tttatataa gttcagtcac gtttttctta 60
 tgtaagttag gctattaatt attttgatgt atttattata ttgtatgtcg tttactgcat 120
 tctgccaaca ttgggttttg tcgatttatg atatataata tgatatgctg ttaagttaga 180
 ggtaagattc aatttattta agattattta atttgcgctt ttattatata catcttctag 240
 ttgtaattaa tggggtagaa ttaagactgt gttttgaatt aatatcggta ttagaatagg 300
 atttgcatga ctatatttct accttaccac gttttttatc tgataacacc ctttcaacta 360
 ttattttctt atttttaatt tatttatatt ttaccatat tctatttata ctaatcttaa 420
 gtggtacatt acctccctgt ggatacgaca tataatctgt ttactatcgt gaccgaagta 480
 taactaattg ggcgacatca cacctatc ccacaaacta gctactatag tcaatttctt 540
 gtttttttcc caatagccaa ttttaaatga tgccaaacta ttcaatgtat aatgtacatt 600
 tattttaaat aagggttcca cctaacaaat gtgcctaatt ttagttaatt tatttttita 660
 tgcacctta ctatttaag gaactatcaa attataaaat atttatgtca attcatttgc 720
 cccaactcca atatataata ttataaatag gatagttctc tattcataat aattcaaaa 780
 atcattagga ctgaagaaaa 800

<210> 30
 <211> 1635
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 30
 atgaattgct caacattctc cttttggttt gtttgcaaaa taatattttt ctttctctca 60
 ttcaatatcc aaatttcaat agctaactct caagaaaact tctttaaag cttctcggaa 120
 tatattccta acaatccage aaatccaaaa tcatataca ctcaacacga ccaattgtat 180
 atgtctgtcc tgaattcgac aatacaaaat cttagattca cctctgatac aacccccaaa 240
 ccaactgtta ttgtcactcc ttcaaatgtc tccatatacc aggccagtat tctctgctcc 300
 aagaaagtig gtttgcagat tcgaactcga agcgggtggcc atgatgctga gggtttgtcc 360
 tacatatctc aagtccatt tgctatagta gacttgagaa acatgcatac ggtcaaagta 420
 gatattcata gccaaactgc gtgggttgaa gccggagcta cccttggaga agtttattat 480

tggatcaatg agatgaatga gaattttagt tttcctggg ggtattgcc tactgttggc 540
 gtaggtggac actttagtgg aggaggctat ggagcatlga tgcgaaatta tggccttgcg 600
 gctgataata tcattgatgc acacttagtc aatgttgatg gaaaagtct agatcgaaaa 660
 tccatgggag aagatctatt ttgggctata cgtgggtggag gaggagaaaa ctttggaatc 720
 attgcagcat gtaaaatcaa acttgttgtt gtcccatcaa aggctactat attcagtgtt 780
 aaaaagaaca tggagataca tgggcttgtc aagttattta acaaatggca aaatattgct 840
 tacaagtatg acaaagattt aatgctcacg actcacttca gaactaggaa tattacagat 900
 aatcatggga agaataagac tacagtlacat ggttacttct cttccatttt tcttgggtgga 960
 ggggatagtc tagttgactt gatgaacaag agctttcctg agttgggtat taaaaaaact 1020
 gattgcaaag aattgagctg gattgataca accatcttct acagtgggtg tgtaaattac 1080
 aacactgcta attttaaaaa ggaaatittg ctgatagat cagctgggaa gaagacggct 1140
 ttctcaatta agttagacta tgttaagaaa ctaatactg aaactgcaat ggtcaaaatt 1200
 ttggaaaaat tatatgaaga agaggtagga gttgggatgt atgtgttga cccctacggg 1260
 ggtataatgg atgagatttc agaatcagca attccattcc ctcatcgagc tggataaatg 1320
 tatgaacttt ggtacactgc tacctgggag aagcaagaag ataacgaaaa gcatataaac 1380
 tgggttcgaa gtgtttataa tttcacaact ccttatgtgt cccaaaatcc aagattggcg 1440
 tatctcaatt atagggacct tgatttagga aaaactaatc ctgagagtcc taataattac 1500
 acacaagcac gtatttgggg tgaagaatgt tttggtaaaa attttaacag gttagttaag 1560
 gtgaaaacca aagctgatec caataatitt tttagaaacg aacaaagtat cccacctctt 1620
 ccaccgctc atcat 1635

<210> 31
 <211> 171
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 31
 atgatgcaa actattcaat gtacaatgta catttatttt taataagggc ttcacctaac 60
 aaagggtgct aatttttgtg aacttttttt taccacatgt gactatttaa tgactatcaa 120
 attataaaat atttaagtea atttctttgc cccactcca atatataatg t 171

<210> 32
 <211> 232
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 32
 atgatgccaa actattcaat gtacaatgta catttatttt taataagggc ttcacctaac 60
 aaaggigcct aatttttgtg aacttttttt taccacatgt gactatttaa tgactatcaa 120
 attataaaat atttaagtca atttctttgc cccactcca atatataatg ttataaatag 180
 gataattctc aattcatagt aattcaaaaa tcattaggac taaagaaaaa tg 232

<210> 33
 <211> 709
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之說明：合成聚核苷酸

<400> 33
 atgatgccaa actattcaat gtacaatgta catttatttt taataagggc ttcacctaac 60
 aaaggigcct aatttttgtg aacttttttt taccacatgt gactatttaa tgactatcaa 120
 attataaaat atttaagtca atttctttgc cccactcca tgatgccaaa ctattcaatg 180
 tacaatgtac atttattttt aataagggct tcacctaaca aaggigccta aatttttga 240
 actttttttt accacatgtg actatttaat gactatcaaa ttataaaata ttttaagtcaa 300
 tttctttgcc cccactccat gatgccaaac tattcaatgt acaatgtaca tttattttta 360
 ataagggcct cacctaacaa aggtgcctaa tttttgtgaa ctttttttta ccacatgtga 420
 ctatttaatg actatcaaat tataaaatat ttaagtcaat ttctttgccc ccactccaig 480
 atgccaaact attcaatgta caatgtacat ttatttttaa taagggttc acctaacaaa 540
 ggtgcctaatt ttttgtgaac ttttttttac cacatgtgac tatttaatga ctatcaaatt 600
 ataaaatatt taagtcaatt tctttgcccc cactccaata tataatgta taaataggat 660
 aattctcaat tcatagtaat tcaaaaatca ttaggactaa agaaaaatg 709



201821613

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於控制腺毛中之大麻素及其他化合物之毛茸特異性啟動子

【英文發明名稱】

TRICHOME SPECIFIC PROMOTERS FOR THE MANIPULATION OF CANNABINOIDS AND OTHER COMPOUNDS IN GLANDULAR TRICHOMES

【中文】

本發明技術提供來自大麻(Cannabis)之大麻素生物合成酶基因之毛茸特異性啟動子、該等毛茸特異性啟動子之核苷酸序列及該等啟動子用於調節生物體中之大麻素及其他化合物之產生的用途。本發明技術亦提供包含該等毛茸特異性啟動子之嵌合基因、載體及轉殖基因細胞及生物體，包括植物細胞及植物。亦提供使用該等毛茸特異性啟動子在細胞及生物體中表現核酸序列的方法。

【英文】

The present technology provides trichome specific promoters of cannabinoid biosynthesis enzyme genes from Cannabis, nucleotide sequences of the trichome specific promoters, and uses of the promoters for modulating the production of cannabinoids and other compounds in organisms. The present technology also provides chimeric genes, vectors, and transgenic cells and organisms, including plant cells and plants, comprising the trichome specific promoters. Also provided are methods for expressing nucleic acid sequences in cells and organisms using the trichome specific promoters.

【指定代表圖】

圖3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種合成DNA分子，其包含選自由以下組成之群之核苷酸序列，

(a) 闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33中之任一者中之核苷酸序列；及

(b) 與以下中之任一者之核苷酸序列至少約80%一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性之啟動子，

其中，該核苷酸序列與異源核酸可操作地連接。

【第2項】

一種包含如請求項1之DNA分子的表現載體，其與一或多個編碼多肽的核酸序列可操作地連接。

【第3項】

一種經基因工程改造之宿主細胞，其包含如請求項2之表現載體。

【第4項】

如請求項3之經基因工程改造之宿主細胞，其中該細胞為印度大麻(*Cannabis sativa*)細胞。

【第5項】

如請求項3之經基因工程改造之宿主細胞，其中該細胞為菸草(*Nicotiana tabacum*)細胞。

【第6項】

一種用於製造經基因工程改造之植物或植物細胞的方法，該植物或植物細胞包含整合至其基因組中之嵌合基因，該方法包含：

(a) 將包含該嵌合基因之表現載體引入宿主細胞中，該嵌合基因包含與同源核酸序列或異源核酸序列可操作地連接的毛茸特異性啟動子，其中該啟動子選自由以下組成之群：

(i) SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33中之任一者之核苷酸序列；及

(ii) 與以下中之任一者之核苷酸序列至少約80%一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子；

(b) 使該植物在允許表現該同源核酸或異源核酸之條件下生長。

【第7項】

如請求項6之方法，其中該植物為菸草(*N. tabacum*)植物。

【第8項】

如請求項6之方法，其中該植物為印度大麻(*C. sativa*)植物。

【第9項】

一種用於產生包含嵌合核酸構築體之種子之方法，其包含：

(a) 種植可自如請求項6至8中任一項之方法獲得的經基因工程改造之植物；及

(b) 自該經基因工程改造之植物獲得該等種子。

【第10項】

一種用於在植物毛茸中表現多肽之方法，其包含：

(a) 將包含選自由以下組成之群之核苷酸序列的表現載體引入宿主細胞中：

(i) 闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-

26、28、29或31-33中之任一者中之核苷酸序列；及

(ii) 與以下中之任一者之核苷酸序列至少約80%一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子；

其中(i)或(ii)中之該核酸序列與一或多個編碼多肽的核酸序列可操作地連接；及

(b) 使該植物在允許表現該多肽之條件下生長。

【第11項】

一種用於在宿主植物毛茸中增加大麻素之方法，其包含：

(a) 將包含選自由以下組成之群之核苷酸序列的表現載體引入宿主細胞中：

(i) 闡述於SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33中之任一者中之核苷酸序列；及

(ii) 與以下中之任一者之核苷酸序列至少約80%一致的核苷酸序列：SEQ ID NO:1-3、5、6、8、9、11-14、16-19、21-26、28、29或31-33，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性的啟動子；

其中(i)或(ii)中之該核酸序列與一或多個編碼該大麻素生物合成路徑之酶的核酸序列可操作地連接；及

(b) 使該植物在允許表現該大麻素生物合成路徑酶之條件下生長；

其中該大麻素生物合成路徑酶之表現引起該植物具有與在類似條件下生長之對照植物相比增加之大麻素含量。

【第12項】

如請求項11之方法，其中該大麻素生物合成路徑酶為大麻二酚酸

(CBDA)合成酶、大麻吡烯酸(CBCA)合成酶或 Δ^9 四氫大麻酚酸(THCA)合成酶。

【第13項】

如請求項12之方法，其進一步包含向該植物提供大麻萜酚酸(CBGA)。

【第14項】

如請求項11之方法，其中該植物與對照植物相比具有增加之 Δ^9 四氫大麻酚(THC)、大麻吡烯(CBC)及/或大麻二酚(CBD)含量。

【第15項】

一種合成DNA分子，其包含選自由以下組成之群之核苷酸序列：

(a) 闡述於SEQ ID NO:31、32或33中之任一者中之核苷酸序列；

及

(b) 與SEQ ID NO:31、32或33中之任一者之核苷酸序列至少約80%一致的核苷酸序列，且其編碼具有植物毛茸腺特異性轉錄活性之啟動子，

其中，該核苷酸序列與異源核酸可操作地連接。

【第16項】

一種包含如請求項15之DNA分子的表現載體，其與一或多個編碼多肽的核酸序列可操作地連接。

【第17項】

一種經基因工程改造之宿主細胞，其包含如請求項16之表現載體。

【第18項】

如請求項17之經基因工程改造之宿主細胞，其中該細胞為印度大麻

細胞。

【第19項】

如請求項17之經基因工程改造之宿主細胞，其中該細胞為菸草細胞。

【第20項】

一種用於產生經基因工程改造之植物的方法，該植物包含有包含嵌合核酸構築體之細胞，該嵌合核酸構築體包含如請求項15之合成DNA分子，該方法包含：

- (a) 將如請求項16之表現載體引入宿主細胞中；及
- (b) 使該植物在允許表現該多肽之條件下生長。

【第21項】

如請求項20之方法，其中該植物為菸草植物。

【第22項】

如請求項20之方法，其中該植物為印度大麻植物。

【第23項】

一種用於產生種子之方法，其包含：

- (a) 種植可自如請求項20至22中任一項之方法獲得的經基因工程改造之植物；及
- (b) 自該經基因工程改造之植物獲得該等種子，其中該等種子包含該嵌合核酸構築體。

【第24項】

一種合成DNA分子，其包含闡述於SEQ ID NO:33中之核苷酸序列。

【第25項】

一種包含如請求項24之DNA分子的表現載體，其與一或多個編碼多肽的核酸序列可操作地連接。

【第26項】

一種經基因工程改造之宿主細胞，其包含如請求項25之表現載體。

【第27項】

如請求項26之經基因工程改造之宿主細胞，其中該細胞為印度大麻細胞。

【第28項】

如請求項26之經基因工程改造之宿主細胞，其中該細胞為菸草細胞。

【第29項】

一種用於產生經基因工程改造之植物之方法，該經基因工程改造之植物包含有包含嵌合核酸構築體之細胞，該嵌合核酸構築體包含如請求項24之合成DNA分子；該方法包含：

- (a) 將如請求項25之表現載體引入宿主細胞中；及
- (b) 使該植物在允許表現該多肽之條件下生長。

【第30項】

如請求項29之方法，其中該植物為菸草植物。

【第31項】

如請求項29之方法，其中該植物為印度大麻植物。

【第32項】

一種用於產生包含嵌合核酸構築體之種子之方法，其包含：

- (a) 種植可自如請求項29至31中任一項之方法獲得的經基因工程改

造之植物；及

- (b) 自該經基因工程改造之植物獲得該等種子。

