

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5608552号
(P5608552)

(45) 発行日 平成26年10月15日(2014.10.15)

(24) 登録日 平成26年9月5日(2014.9.5)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A
A O 1 H 5/00 (2006.01)	A O 1 H 5/00 A

請求項の数 21 (全 50 頁)

(21) 出願番号	特願2010-504380 (P2010-504380)	(73) 特許権者	503087223
(86) (22) 出願日	平成20年4月21日 (2008.4.21)		アグリカルチャー ビクトリア サービス
(65) 公表番号	特表2010-524474 (P2010-524474A)		ーズ プロプライエタリー リミテッド
(43) 公表日	平成22年7月22日 (2010.7.22)		オーストラリア国 3049 ビクトリア
(86) 国際出願番号	PCT/AU2008/000556		, アトウッド, ミッケルハム ロード
(87) 国際公開番号	W02008/128293		475
(87) 国際公開日	平成20年10月30日 (2008.10.30)	(73) 特許権者	502155345
審査請求日	平成23年4月20日 (2011.4.20)		ラトローブ ユニバーシティ
(31) 優先権主張番号	11/789,526		オーストラリア国、ビクトリア州 308
(32) 優先日	平成19年4月24日 (2007.4.24)		3、バンデウーラ、プレンティ ロード
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100108453
前置審査			弁理士 村山 靖彦
		(74) 代理人	100064908
			弁理士 志賀 正武

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改変プロモーターを使用する植物老化の操作

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

植物の老化を操作する方法であって、該植物に改変 myb 遺伝子プロモーターを含む遺伝子構築物を導入することを含み、

前記改変 myb 遺伝子プロモーターが、

配列中の 1 つ以上の根もしくは花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された、配列番号 1 のヌクレオチド配列を含み、イソペンテニルトランスフェラーゼ (ipt) 遺伝子に作動可能に連結され、かつ

(a) 根特異的モチーフの各々がコンセンサス配列 A T A T T もしくは A A T A T を含む、1 つ以上の根特異的モチーフ、あるいは

(b) 花粉特異的モチーフの各々がコンセンサス配列 T T C T もしくは A G A A を含む、1 つ以上の花粉特異的モチーフ、

を欠失もしくは不活化させるように改変される、方法。

【請求項 2】

前記改変 myb 遺伝子プロモーターが、配列中の 1 ~ 10 個の根特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された配列番号 1 のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記改変 myb 遺伝子プロモーターが、配列中の 1 ~ 30 個の花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された配列番号 1 のヌクレオチド配列を含む、請求項 1

10

20

に記載の方法。

【請求項 4】

前記 *myb* 遺伝子プロモーターが *Arabidopsis* 由来である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 改変 *myb* 遺伝子プロモーター が、配列番号 2、3 および 4 からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 イソペンテニルトランスフェラーゼ (*ipt*) 遺伝子 が、*Agrobacterium*、*Lotus* および *Petunia* からなる群より選択される属由来のものである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 7】

前記 イソペンテニルトランスフェラーゼ (*ipt*) 遺伝子 が、配列番号 5、7 および 9、ならびに配列番号 6、8 および 10 の配列を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列 からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記遺伝子構築物が、植物細胞のアグロバクテリウム媒介型 形質転換 または微粒子銃型形質転換 (*biolistic transformation*) によって前記植物に導入される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 9】

前記遺伝子構築物が組み込まれた植物細胞を選択し、次いで培養して形質転換植物を再生させる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

植物の老化を操作することができるベクターであって、該ベクターは、改変 *myb* 遺伝子プロモーター を含み、

前記改変 *myb* 遺伝子プロモーターが、

配列中の 1 つ以上の根もしくは花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された、配列番号 1 のヌクレオチド配列を含む、イソペンテニルトランスフェラーゼ (*ipt*) 遺伝子 に作動可能に連結され、かつ

30

(a) 根特異的モチーフの各々がコンセンサス配列 A T A T T もしくは A A T A T を含む、1 つ以上の根特異的モチーフ、あるいは

(b) 花粉特異的モチーフの各々がコンセンサス配列 T T C T もしくは A G A A を含む、1 つ以上の花粉特異的モチーフ、

を欠失もしくは不活化させるように改変される、ベクター。

【請求項 11】

さらにターミネーターを含み、前記プロモーター、遺伝子およびターミネーターが作動可能に連結されている、請求項 10 に記載のベクター。

【請求項 12】

前記改変 *myb* 遺伝子プロモーターが、配列中の 1 ~ 10 個の根特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された配列番号 1 の ヌクレオチド配列 を含む、請求項 10 または 11 に記載のベクター。

40

【請求項 13】

前記改変 *myb* 遺伝子プロモーターが、配列中の 1 ~ 30 個の花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された配列番号 1 の ヌクレオチド配列 を含む、請求項 10 または 11 に記載のベクター。

【請求項 14】

前記 改変 *myb* 遺伝子プロモーター が *Arabidopsis* 由来のものである、請求項 10 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 15】

50

前記改変myb遺伝子プロモーターが、配列番号2、3および4からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項10～14のいずれか1項に記載のベクター。

【請求項16】

前記イソペンテニルトランスフェラーゼ(*ipt*)遺伝子が、*Agrobacterium*、*Lotus*および*Petunia*からなる群より選択される属由来のものである、請求項10～15のいずれか1項に記載のベクター。

【請求項17】

前記イソペンテニルトランスフェラーゼ(*ipt*)遺伝子が、配列番号5、7および9、ならびに配列番号6、8および10の配列を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項10～16のいずれか1項に記載のベクター。

10

【請求項18】

変更された老化特性を有するトランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分であって、前記植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分は、改変myb遺伝子プロモーターを含む遺伝子構築物を含み、

前記改変myb遺伝子プロモーターが、

配列中の1つ以上の根もしくは花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させるように改変された、配列番号1のヌクレオチド配列を含み、イソペンテニルトランスフェラーゼ(*ipt*)遺伝子に作動可能に連結され、かつ

(a) 根特異的モチーフの各々がコンセンサス配列A T A T TもしくはA A T A Tを含む、1つ以上の根特異的モチーフ、あるいは

20

(b) 花粉特異的モチーフの各々がコンセンサス配列T T C TもしくはA G A Aを含む、1つ以上の花粉特異的モチーフ、

を欠失もしくは不活化させるように改変される、

トランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分。

【請求項19】

請求項18に記載のトランスジェニック植物細胞由来のトランスジェニック植物、植物種子、または他の植物部分。

【請求項20】

請求項18に記載のトランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分由来のトランスジェニック植物、植物種子、または他の植物部分。

30

【請求項21】

請求項1に記載の方法により製造され、変更された老化特性を有するトランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この出願は、2003年3月5日に出願された表題「*Manipulation of plant senescence using an MYB gene promoter and cytokinin biosynthesis gene*」の米国特許出願第10/363,723号の一部継続であり、米国特許出願第10/363,723号は、2001年8月30日に出願された表題「*Manipulation of Plant Senescence Using An MYB Gene Promoter and Cytokinin Biosynthesis Genes*」の国際特許出願PCT/AU01/01092からの優先権を主張し、国際特許出願PCT/AU01/01092は、2000年9月6日に出願された表題「*Manipulation of Plant Senescence Using An MYB Gene Promoter and Cytokinin Biosynthesis Genes*」の豪国特許出願PQ9946からの優先権を主張する。これらの内容は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

40

50

【 0 0 0 2 】

本発明は、植物の老化を操作する方法に関する。また、本発明は、かかる方法に有用なベクター、改変された老化特性を有する形質転換植物、ならびにかかる植物の植物細胞、種子および他の部分に関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 3 】

葉の老化は、細胞死の前に細胞の代謝的および構造的変化を伴う。また、活発に生長している領域への栄養素の再循環も伴う。

【 0 0 0 4 】

サイトカイニンによる植物および植物器官の老化の調節は、農業上重要な成果をもたらす。葉内のサイトカイニンレベルの上昇は、老化を遅延させる傾向がある。その産物（イソペンテニルトランスフェラーゼ）がサイトカイニン合成の重要な段階を触媒する *i p t* 遺伝子の発現を調節するために、いくつかのプロモーターが使用されている。しかしながら、一般に、*i p t* 遺伝子を過剰発現するトランスジェニック植物は、根およびシュートの生長の遅延、根の無形成、頂芽優性の低下、および葉面積の減少を有することが報告されている。

10

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

本発明の目的は、先行技術に伴う問題点または欠点の1つ以上を解決または少なくとも軽減することである。

20

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 6 】

一態様において、本発明は、植物に、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された改変 *m y b* 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む遺伝子構築物を導入することを含む、植物の老化を操作する方法を提供する。

【 0 0 0 7 】

老化の操作は、植物および/または特定の植物の器官に関連するものである。種々の植物の器官、例えば、葉、根、シュート、茎、塊茎、花、走根、および果実などの老化が操作され得る。植物および植物器官の老化の操作は、例えば、園芸製品および切り花における果実、花、葉および塊茎の貯蔵寿命の増大、園芸作物の腐り易さの低減、老化遅延葉内の炭素固定の増大による収穫率の増大、飼料植物におけるバイオマス生産の向上、採種の向上などの農業上重要な成果をもたらし得る。

30

【 0 0 0 8 】

「老化の操作」は、一般的に、非形質転換対照植物と比べて形質転換植物における老化の遅滞に関する。しかしながら、一部の適用用途では、植物の老化を促進あるいは改変することが望ましい場合があり得る。老化は、例えば、アンチセンス遺伝子を利用することにより促進あるいは改変され得る。

【 0 0 0 9 】

40

有効量の前記遺伝子構築物は、任意の適当な手法、例えば、形質導入、トランスフェクションまたは形質転換によって植物に導入され得る。「有効量」とは、前記植物、または該植物に由来する植物、植物種子もしくは他の植物部分において同定可能な表現型形質がもたらされるのに十分な量を意図する。かかる量は、適切な当業者が植物の種類、投与経路および他の関連要素を考慮することによって容易に決定され得る。かかる当業者は、適当な量および投与方法を容易に決定することができよう。例えば、*Maniatisら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor*（その全開示内容は、引用により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。

【 0 0 1 0 】

50

「改変myb遺伝子プロモーター」とは、通常myb遺伝子と関連しているプロモーターであって、前記プロモーター内の1つ以上の根特異的モチーフおよび/または花粉特異的モチーフが欠失もしくは不活化されるように改変されたプロモーターを意図する。

【0011】

本出願人は理論に拘束されることを望まないが、前記myb遺伝子プロモーター内の1つ以上の根特異的モチーフの欠失もしくは不活化により、一部の植物種で根の発育に影響し得る植物の成長点におけるサイトカイニン生合成酵素をコードする遺伝子の漏出性(leaky)発現の問題が軽減または解決され得ると仮定する。また、前記myb遺伝子プロモーター内の1つ以上の花粉特異的モチーフの欠失もしくは不活化により、一部の植物種で花粉の発育に影響し得る花粉におけるサイトカイニン生合成酵素をコードする遺伝子の漏出性発現の問題が軽減または解決され得ると仮定する。

10

【0012】

好ましくは、改変myb遺伝子プロモーターは、改変myb32遺伝子プロモーターである。好ましくは、改変myb遺伝子プロモーターはArabidopsis由来のもの、より好ましくはシロイヌナズナ(Arabidopsis thaliana)由来のものである。

【0013】

本発明に従って改変され得る好適なプロモーターは、Liら、Cloning of three MYB-like genes from Arabidopsis (PGR 99-138) Plant Physiology 121:313(1999) (その全開示内容は、引用により本明細書に組み込まれる)に記載されたものである。

20

【0014】

「根特異的モチーフ」とは、植物の根内の関連遺伝子の発現を指令する3~7ヌクレオチド、好ましくは4~6ヌクレオチド、より好ましくは5ヌクレオチドの配列を意図する。

【0015】

好ましくは、根特異的モチーフは、コンセンサス配列A T A T TまたはA A T A Tを含む。

【0016】

好ましくは、前記myb遺伝子プロモーター内の1~10個、より好ましくは3~8個、さらにより好ましくは5~7個の根特異的モチーフを欠失もしくは不活化させ、好ましくは欠失させる。

30

【0017】

根特異的モチーフは、個々のモチーフを除去すること、または1つ以上のモチーフを含む該プロモーターの断片を除去することにより欠失させ得る。例えば、シロイヌナズナmyb遺伝子プロモーターのヌクレオチド1~530、好ましくはヌクレオチド110~530の領域の全部または一部を欠失させ得る。

【0018】

該欠失は、例えば制限エンドヌクレアーゼで核酸を切断し、切断末端をライゲートし、断片が除去されたプロモーターを作製することにより行なわれ得る。

40

【0019】

例えば、改変シロイヌナズナmyb遺伝子プロモーターは、162~176位のXcmI部位と520~525位のSspI部位の間の断片を除去することにより作製され得る。これにより、7つの根特異的モチーフのうち6つが欠失した改変myb遺伝子プロモーターが作製される。あるいはまた、例えば、520~525位のSspI部位の上流の領域を欠失させること、またはヌクレオチド1~120の領域を、162~176位のXcmI部位と520~525位のSspI部位の間の領域とともに欠失させることにより、7つの根特異的モチーフすべてを欠失させ得る。

【0020】

根特異的モチーフは、該モチーフ内の1つ以上のヌクレオチドを、好ましいコンセンサ

50

ス配列を有しなくなるように付加、欠失、置換または誘導体化することにより不活化させ得る。

【 0 0 2 1 】

好ましくは、改変 m y b 遺伝子プロモーターは、添付の図 2、3 および 4 に示す配列（それぞれ、配列番号 2、3 および 4）、ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 2 2 】

「花粉特異的モチーフ」とは、植物の花粉内の関連遺伝子の発現を指令する 3 ~ 7 ヌクレオチド、好ましくは 4 ~ 6 ヌクレオチド、より好ましくは 4 または 5 ヌクレオチドの配列を意図する。

【 0 0 2 3 】

好ましくは、花粉特異的モチーフは、T T C T および A G A A からなる群より選択されるコンセンサス配列を含む。

【 0 0 2 4 】

好ましくは、前記 m y b 遺伝子プロモーター内の 1 ~ 3 0 個、より好ましくは 3 ~ 1 5 個、さらにより好ましくは 4 ~ 1 0 個の花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させ、好ましくは欠失させる。

【 0 0 2 5 】

花粉特異的モチーフは、個々のモチーフを除去すること、または 1 つ以上のモチーフを含む該プロモーターの断片を除去することにより欠失させ得る。例えば、ヌクレオチド 1 ~ 5 4 0、好ましくはヌクレオチド 3 9 0 ~ 5 4 0 のシロイヌナズナ m y b 遺伝子プロモーターの領域の全部または一部を欠失させ得る。

【 0 0 2 6 】

該欠失は、例えば制限エンドヌクレアーゼで核酸を切断し、切断末端をライゲートし、断片が除去されたプロモーターを作製することにより行なわれ得る。

【 0 0 2 7 】

例えば、改変シロイヌナズナ m y b 遺伝子プロモーターは、1 6 2 ~ 1 7 6 位の X c m I 部位と 5 2 0 ~ 5 2 5 位の S s p I 部位の間の断片を除去することにより作製され得る。これにより、2 3 個の花粉特異的モチーフのうち 4 個が欠失した改変 m y b 遺伝子プロモーターが作製される。あるいはまた、例えば、5 2 0 ~ 5 2 5 位の S s p I 部位の上流の領域を欠失させることにより 1 0 個の花粉特異的モチーフを欠失させ得る。

【 0 0 2 8 】

花粉特異的モチーフは、該モチーフ内の 1 つ以上のヌクレオチドを、好ましいコンセンサス配列がなくなるように付加、欠失、置換または誘導体化することにより不活化させ得る。

【 0 0 2 9 】

好ましくは、改変 m y b 遺伝子プロモーターは、添付の図 2、3 および 4 に示す配列（それぞれ、配列番号 2、3 および 4）ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 3 0 】

本発明のさらなる態様において、植物に、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された m y b 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む遺伝子構築物を導入することを含む、植物のバイオマスを増大させる方法が提供される。

【 0 0 3 1 】

m y b 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体は、完全長の m y b 遺伝子プロモーターまたは改変 m y b 遺伝子プロモーターであり得る。

【 0 0 3 2 】

完全長の m y b 遺伝子プロモーターは、m y b 3 2 遺伝子プロモーターであり得る。好ましくは、m y b 遺伝子プロモーターは A r a b i d o p s i s 由来のもの、より好まし

10

20

30

40

50

くはシロイヌナズナ由来のものである。最も好ましくはmyb遺伝子プロモーターは、添付の図1に示す配列（配列番号1）ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む。

【0033】

好適なプロモーターは、Liら、Cloning of three MYB-like genes from Arabidopsis (PGR 99-138) Plant Physiology 121 : 313 (1999)に記載されたものである。

【0034】

改変myb遺伝子プロモーターは、本明細書において前述の改変myb遺伝子プロモーターであり得る。

10

【0035】

「バイオマスの向上」とは、非形質転換対照植物と比べて形質転換植物における、総葉面積、累積葉面積、葉の生長動態（dynamics）（すなわち、経時的な葉の数）、走根長さ、開花植物の割合および花1つまたは種蒔き面積あたりの種子収量からなる群より選択される生長特性の向上または増大を意図する。また、「バイオマスの向上」は、非形質転換対照植物と比べて形質転換植物における走根死の割合の低下または減少を包含する。

【0036】

特に、本発明によるトランスジェニック植物の種子重量（すなわち、千個の種子の重量）は非トランスジェニック対照植物と識別不可能であるが、同等の開花強度の非トランスジェニック対照植物と比較すると、花1つまたは種蒔き面積あたりの基準で示す総種子収量は、トランスジェニック植物において有意に高いことを、本出願人らは見出した。

20

【0037】

myb遺伝子プロモーターまたは改変myb遺伝子プロモーターに関連する「機能的に活性な」とは、その断片または改変体（類縁体、誘導体もしくは変異型など）が、本発明の方法による植物の老化の操作能を有することを意図する。かかる改変体には、天然に存在する対立遺伝子改変体および天然に存在しない改変体が包含される。1つ以上のヌクレオチドの付加、欠失、置換および誘導体化が想定されるが、修飾によって該断片または改変体の機能的活性の低下がもたらさないものとする。

【0038】

好ましくは、機能的に活性な断片または改変体は、該断片または改変体に相当する上記配列の関連部分と少なくともほぼ80%の同一性を有し、より好ましくは少なくともほぼ90%の同一性、最も好ましくは少なくともほぼ95%の同一性を有する。好ましくは、該断片は、少なくとも20ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも50ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも100ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも200ヌクレオチド、最も好ましくは少なくとも300ヌクレオチドのサイズを有する。

30

【0039】

「サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子」とは、カイネチン、ゼアチンおよびベンジルアデニンなどのサイトカイニンの合成に関与している酵素をコードする遺伝子、例えば、イソペンチルトランスフェラーゼ（ipt）をコードする遺伝子、またはsho遺伝子（例えば、Petunia由来のもの）などのipt様遺伝子を意図する。好ましくは、該遺伝子は、イソペンテニルトランスフェラーゼ（ipt）遺伝子またはsho遺伝子である。好ましい実施形態において、該遺伝子は、Agrobacterium、より好ましくはAgrobacterium tumefaciens; Lotus、より好ましくはミヤコグサ（Lotus japonicus）；およびPetunia、より好ましくはツクバネアサガオ（Petunia hybrida）からなる群より選択される種に由来するものである。

40

【0040】

最も好ましくは、該遺伝子は、添付の図6、8および10に示す配列（配列番号5、7および9）、添付の図7、9および11に示すポリペプチドをコードする配列（配列番号6、8および10）ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択さ

50

れるヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 4 1 】

サイトカイニン生合成酵素をコードする遺伝子に関連する「機能的に活性な」とは、その断片または改変体（類縁体、誘導体または変異型など）が、本発明の方法による植物の老化の操作能を有することを意図する。かかる改変体には、天然に存在する対立遺伝子改変体および天然に存在しない改変体が包含される。ヌクレオチドの1つ以上の付加、欠失、置換および誘導体化が想定されるが、該修飾によって該断片または改変体の機能的活性の低下をもたらさないものとする。好ましくは、機能的に活性な断片または改変体は、該断片または改変体に相当する上記配列の関連部分と少なくともほぼ80%の同一性を有し、より好ましくは少なくともほぼ90%の同一性、最も好ましくは少なくともほぼ95%の同一性を有する。かかる機能的に活性な改変体および断片としては、例えば、保存的核酸変化、または対応するアミノ酸配列内の1つ以上の残基の保存的アミノ酸置換をもたらす核酸変化を有するものが挙げられる。例えば、機能的に活性な改変体は、図6、8または10に示す配列の1つ以上の保存的核酸置換を含むものであり得、得られる機能的に活性な改変体は、それぞれ図7、9または11に示すアミノ酸配列をコードする。好ましくは、該断片は、少なくとも20ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも50ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも100ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも500ヌクレオチドのサイズを有する。

10

【 0 0 4 2 】

遺伝子構築物は植物に、任意の適当な手法によって導入され得る。本発明の遺伝子構築物を植物細胞内に組み込むための手法（例えば、形質導入、トランスフェクションまたは形質転換）は、当業者によく知られたものである。かかる手法としては、アグロバクテリウム媒介型誘導、組織、細胞およびプロトプラストへのエレクトロポレーション、プロトプラスト融合、生殖器官内への注入、未熟胚内への注入ならびに細胞、組織、カルス、未熟および成熟胚に対する高速プロジェクトイル誘導、微粒子銃形質転換ならびにその組合せが挙げられる。手法の選択は、形質転換対象の植物の種類に大きく依存し、適切な当業者によって容易に決定され得る。

20

【 0 0 4 3 】

本発明の遺伝子構築物が組み込まれる細胞は、後述するようにして選択し、次いで、当該技術分野でよく知られた手法を用いて適切な培地中で培養すると、形質転換植物が再生し得る。例えば温度、pHなどの培養条件は当業者には自明であろう。得られた植物は、当該技術分野でよく知られた方法を用い、有性生殖または無性生殖のいずれかによって形質転換植物の後続世代を生成してもよい。

30

【 0 0 4 4 】

本発明の方法は、さまざまな植物、例えば、単子葉[草（例えば、牧草、芝生およびバイオエネルギー草、例えば、ペレニアルライグラス、トールフェスク、イタリアンライグラス、レッドフェスキュー、リードカナリーグラス、ビッグブルーステム、コードグラス、ネピアグラス、野生ライムギ、野生サトウキビ、ススキ属（*Miscanthus*））、トウモロコシ、オートムギ、小麦および大麦）など]、双子葉[*Arabidopsis*、タバコ、大豆、クローバ（例えば、シロツメクサ、ムラサキツメクサ、サブタレニアンクローバ）、アルファルファ、アブラナ、アブラナ科野菜、レタス、ホウレンソウなど]および裸子植物に適用され得る。

40

【 0 0 4 5 】

本発明のさらなる態様において、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された改変myb遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む植物の老化を操作することができるベクターが提供される。

【 0 0 4 6 】

本発明のまたさらなる態様において、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結されたm

50

y b 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む、植物のバイオマスを増大させることができるベクターが提供される。

【0047】

m y b 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体は、本明細書において上記の完全長のm y b 遺伝子プロモーターまたは改変m y b 遺伝子プロモーターであり得る。

【0048】

本発明のこの態様の好ましい実施形態において、ベクターは、さらにターミネーターを含むものであり得、前記プロモーター、遺伝子およびターミネーターは、作動可能に連結されている。

【0049】

「作動可能に連結されている」とは、前記プロモーターが植物細胞において前記遺伝子の発現をもたらす得ること、および前記ターミネーターが植物細胞において前記遺伝子の発現を終了させ得ることを意図する。好ましくは、前記プロモーターは前記遺伝子の上流であり、前記ターミネーターは前記遺伝子の下流である。

【0050】

ベクターは、任意の適当な型のものであり得、ウイルス系または非ウイルス系であり得る。ベクターは、発現ベクターであり得る。かかるベクターとしては、染色体、非染色体および合成の核酸配列、例えば、植物ウイルスの誘導体；細菌系プラスミド；Agrobacterium tumefaciens由来のTiプラスミドの誘導体；Agrobacterium rhizogenes由来のRiプラスミドの誘導体；ファージDNA；酵母人工染色体；細菌系人工染色体；バイナリー細菌系人工染色体；プラスミドとファージDNAの組合せから誘導したベクターが挙げられる。しかしながら、植物細胞内で複製可能または組込み可能またはバイアブルである限り、任意の他のベクターが使用され得る。

【0051】

プロモーター、遺伝子およびターミネーターは、任意の適当な型のものであり得、標的植物細胞に対して内在性であってもよく、外来性であってもよいが、標的植物細胞において機能性であるものとする。

【0052】

また、本発明のベクターに使用され得るさまざまなターミネーターは、当業者に充分知られている。ターミネーターは、プロモーター配列と同じ遺伝子由来のものであってよく、異なる遺伝子由来のものであってよい。特に好適なターミネーターは、ポリアデニル化シグナル(CaMV 35S ポリAなど)ならびにノパリンシンターゼ(nos)遺伝子およびオクトピンシンターゼ(ocs)遺伝子由来の他のターミネーターである。

【0053】

ベクターには、プロモーター、遺伝子およびターミネーターに加えて、さらに、遺伝子の発現に必要なエレメント、例えば、ベクターバックボーン、複製起点(ori)、マルチクロニング部位、スパーサー配列、エンハンサー、イントロン(トウモロコシユビキチンUbiquitinイントロンなど)、抗生物質耐性遺伝子および他の選択可能マーカー遺伝子[ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ(nptII)遺伝子、ハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼ(hph)遺伝子、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ(barまたはpat)遺伝子など]、ならびにレポーター遺伝子(-グルクロニダーゼ(GUS)遺伝子(gusA)など]が種々の組合せで含まれることがあり得る。また、ベクターには、翻訳開始のためのリボソーム結合部位を含めてもよい。また、ベクターには、発現の増幅のための適切な配列を含めてもよい。

【0054】

形質転換宿主細胞選択のための表現型形質をもたらすのに選択可能マーカー遺伝子を使用することの代替法として、形質転換細胞内のベクターの存在を、当該技術分野でよく知られた他の手法、例えば、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)、サザンブロットハイブリダ

10

20

30

40

50

イゼーション解析、組織化学的アッセイ（例えば、GUSアッセイ）、薄層クロマトグラフィ（TLC）、ノーザンおよびウエスタンブロットハイブリダイゼーション解析などによって調べてもよい。

【0055】

当業者には、ベクターの種々の成分は、前記遺伝子の発現がもたらされるように作動可能に連結されていることが認識されよう。本発明のベクターの成分を作動可能に連結させるための手法は、当業者には充分知られている。かかる手法としては、リンカー（例えば、1つ以上の制限酵素部位を含む合成リンカーなど）の使用が挙げられる。

【0056】

本発明のさらなる態様において、改変された老化特性または向上したバイオマスを有するトランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分が提供される。好ましくは、前記植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分は、本発明によるベクターを含む。好ましくは、トランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分は、本発明による方法によって生成されるものである。

【0057】

また、本発明は、本発明の植物細胞由来のトランスジェニック植物、植物種子、または他の植物部分を提供する。

【0058】

また、本発明は、本発明の植物由来のトランスジェニック植物、植物種子、または他の植物部分を提供する。

【0059】

次に、本発明を、以下の実施例および添付の図面に関して、より十分に説明する。しかしながら、以下の説明は例示にすぎず、上記の本発明の一般説明をなんら制限するものと解釈されるべきでないことを理解されたい。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

（項目1）

植物の老化を操作する方法であって、該植物に、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された改変myb遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む遺伝子構築物を導入することを含み、該改変myb遺伝子プロモーターにおいて、1つ以上の根特異的モチーフおよび/または花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させている、方法。

（項目2）

各々がコンセンサス配列ATA TTまたはAATA Tを含む1つ以上の根特異的モチーフを欠失もしくは不活化させる、項目1に記載の方法。

（項目3）

各々がコンセンサス配列TTC TまたはAGAAを含む1つ以上の花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させる、項目1に記載の方法。

（項目4）

前記myb遺伝子プロモーターがArabidopsis由来である、項目1に記載の方法。

（項目5）

前記myb遺伝子プロモーターが、配列番号2、3および4、ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、項目1に記載の方法。

（項目6）

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする前記遺伝子が、イソペンテニルトランスフェラーゼ(ipf)遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体である、項目1に記載の方法。

（項目7）

10

20

30

40

50

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする前記遺伝子が、Agrobacterium、LotusおよびPetuniaからなる群より選択される属由来のものである、項目6に記載の方法。

(項目8)

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする前記遺伝子が、配列番号5、7および9、配列番号6、8および10の配列を有するポリペプチドをコードする配列、ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、項目7に記載の方法。

(項目9)

前記遺伝子構築物が、植物細胞のアグロバクテリウム媒介型または微粒子銃型形質転換(biolistic transformation)によって前記植物に導入される、項目1に記載の方法。

(項目10)

前記遺伝子構築物が組み込まれた植物細胞を選択し、次いで培養して形質転換植物を再生させる、項目9に記載の方法。

(項目11)

植物の老化を操作することができるベクターであって、該ベクターは、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された改変myb遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含み、前記改変myb遺伝子プロモーターにおいて、1つ以上の根特異的モチーフおよび/または花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化させている、ベクター。

(項目12)

さらにターミネーターを含み、前記プロモーター、遺伝子およびターミネーターが作動可能に連結されている、項目11に記載のベクター。

(項目13)

前記改変myb遺伝子プロモーターにおいて、各々がコンセンサス配列ATA TTまたはAATA Tを含む前記1つ以上の根特異的モチーフが欠失もしくは不活化されている、項目11に記載のベクター。

(項目14)

前記改変mybプロモーターにおいて、各々がコンセンサス配列TTC TまたはAGAAを含む1つ以上の花粉特異的モチーフが欠失もしくは不活化されている、項目11に記載のベクター。

(項目15)

前記myb遺伝子プロモーターがArabidopsis由来のものである、項目11に記載のベクター。

(項目16)

前記myb遺伝子プロモーターが、配列番号2、3および4、ならびにその機能的に活性な断片および改変体からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、項目11に記載のベクター。

(項目17)

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする前記遺伝子が、イソペンテニルトランスフェラーゼ(ipt)遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体である、項目11に記載のベクター。

(項目18)

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする前記遺伝子が、Agrobacterium、LotusおよびPetuniaからなる群より選択される属由来のものである、項目17に記載のベクター。

(項目19)

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする前記遺伝子が、配列番号5、7

10

20

30

40

50

および 9、ならびに配列番号 6、8 および 10 の配列を有するポリペプチドをコードする配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、項目 17 に記載のベクター。

(項目 20)

変更された老化特性を有するトランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分であって、該植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分は、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された改変 myb 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む遺伝子構築物を含み、該改変 myb 遺伝子プロモーターにおいて、1 つ以上の根特異的モチーフおよび / または花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化されている、トランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分。

10

(項目 21)

植物に、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された改変 myb 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む遺伝子構築物を導入することを含む方法によって生成される、項目 20 に記載のトランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分であって、該改変 myb 遺伝子プロモーターにおいて、1 つ以上の根特異的モチーフおよび / または花粉特異的モチーフを欠失もしくは不活化されている、トランスジェニック植物細胞、植物、植物種子、または他の植物部分。

(項目 22)

項目 20 に記載の植物細胞由来のトランスジェニック植物、植物種子、または他の植物部分。

20

(項目 23)

項目 20 に記載の植物由来のトランスジェニック植物、植物種子、または他の植物部分。

(項目 24)

植物の老化を操作する方法であって、該方法は、該植物に、コンセンサス配列 A T A T T または A A T A T を有する 1 ~ 10 個の根特異的モチーフが欠失もしくは不活化されているか、またはコンセンサス配列 T T C T または A G A A を有する 1 ~ 30 個の花特異的モチーフが欠失もしくは不活化されている改変 myb 遺伝子プロモーターを含む遺伝子構築物を導入することを含み、該改変 myb 遺伝子プロモーターが i p t または s h o 遺伝子に作動可能に連結されている、方法。

30

(項目 25)

植物のバイオマスを増大させる方法であって、該植物に、サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された myb 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む遺伝子構築物を導入することを含む、方法。

(項目 26)

サイトカイニンの生合成に関与している酵素をコードする遺伝子またはその機能的に活性な断片もしくは改変体に作動可能に連結された myb 遺伝子プロモーターまたはその機能的に活性な断片もしくは改変体を含む、植物のバイオマスを増大させることができるベクター。

40

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図 1】図 1 は、シロイヌナズナの myb 32 遺伝子 (a t m y b 32) 由来のプロモーターのヌクレオチド配列である A t m y b 32 プロモーター配列を示し (配列番号 1)、M Y B 型、花粉特異的および根特異的モチーフを強調表示している。W A A C C A (下線 / イタリアン体) M Y B 1 A T ; G T T A G T T (太字 / 線で囲んだ範囲) M Y B 1 L E P R ; C C W A C C (線で囲んだ範囲) M Y B P Z M ; G G A T A (イタリアン体) M Y B S T 1 ; A G A A A (下線) 花粉 1 L E L A T 5 2 ; A T A T T (太字) 根モチーフ T A P O X 1。

【図 2】図 2 は、X c m I - S s p I 植物配列欠失型 A t m y b 32 プロモーター配列改

50

変体 (A t m y b 3 2 x s) を示す。M Y B 型、花粉特異的および根特異的モチーフを強調表示している。W A A C C A (下線/イタリック体) M Y B 1 A T ; G T T A G T T (太字/線で囲んだ範囲) M Y B 1 L E P R ; C C W A C C (線で囲んだ範囲) M Y B P Z M ; A G A A A (下線) 花粉 1 L E L A T 5 2 ; A T A T T (太字) 根モチーフ T A P O X 1 (配列番号 2)。

【図 3】図 3 は、すべての根モチーフを欠失させた A t m y b 3 2 プロモーター改変体配列を示す。M Y B 型、花粉特異的および根特異的モチーフを強調表示している。W A A C C A (下線/イタリック体) M Y B 1 A T ; C C W A C C (線で囲んだ範囲) M Y B P Z M ; A G A A A (下線) 花粉 1 L E L A T 5 2 (配列番号 3)。

【図 4】図 4 は、S s p I 部位上流配列を欠失させた A t m y b 3 2 プロモーター改変体配列を示す。M Y B 型、花粉特異的および根特異的モチーフを強調表示している。W A A C C A (下線/イタリック体) M Y B 1 A T ; C C W A C C (線で囲んだ範囲) M Y B P Z M ; A G A A A (下線) 花粉 1 L E L A T 5 2 (配列番号 4)。

【図 5】図 5 は、A t m y b 3 2 プロモーター配列および A t m y b 3 2 x s プロモーター配列内のモチーフを示す。

【図 6】図 6 は、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 由来のイソペンテニルトランスフェラーゼ (i p t) 遺伝子のヌクレオチド配列 (配列番号 5) を示す。

【図 7】図 7 は、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 由来のイソペンチルトランスフェラーゼ遺伝子の推定アミノ酸配列 (配列番号 6) を示す。

【図 8】図 8 は、ミヤコグサ由来のイソペンチルトランスフェラーゼ遺伝子のヌクレオチド配列 (配列番号 7) を示す。

【図 9】図 9 は、ミヤコグサ由来のイソペンチルトランスフェラーゼ遺伝子の推定アミノ酸配列 (配列番号 8) を示す。

【図 10】図 10 は、ツクバネアサガオ由来のサイトカイニン生合成 S h o 遺伝子のヌクレオチド配列 (配列番号 9) を示す。

【図 11】図 11 は、ツクバネアサガオ由来のサイトカイニン生合成 S h o 遺伝子の推定アミノ酸配列 (配列番号 10) を示す。

【図 12】図 12 は、a t m y b 3 2 : : i p t トランスジェニックシロツメクサ (T r i f o l i u m r e p e n s) 植物の P C R およびサザン D N A 解析を示す。a) 制限酵素部位およびサザンハイブリダイゼーション解析に使用されたプローブの位置を示す p a t m y b 3 2 : : i p t の T - D N A 領域、b) P C R 増幅させた 5 9 9 b p n p t l l 産物および 5 8 3 b p i p t 産物の臭化エチジウム染色 1 % アガロースゲル、c) i p t プローブとハイブリダイズさせた P C R 陽性シロツメクサ植物から単離した H i n d I I I 消化全ゲノム D N A のサザンプロットハイブリダイゼーション、d) n p t l l プローブとハイブリダイズさせた P C R 陽性シロツメクサ植物から単離した H i n d I I I 消化全ゲノム D N A のサザンプロットハイブリダイゼーション。レーン 1 ~ 2 : 2 つの独立したカナマイシン耐性 c v . H a i f a 再生体 (r e g e n e r a n t)、コード : それぞれ、H m i 0 1、H m i 0 8 ; レーン 3 ~ 1 2 : 1 2 個の独立したカナマイシン耐性 c v . I r r i g a t i o n 再生体、コード : それぞれ、I m i 0 6、I m i 0 7、I m i 0 8、I m i 0 9、I m i 1 0、I m i 1 1、I m i 1 2、I m i 1 4、I m i 1 6、I m i 1 8 ; レーン C : 非形質転換シロツメクサ ; レーン P : 陽性対照プラスミド p a t m y b 3 2 i p t。

【図 13】図 13 は、a t m y b 3 2 : : i p t トランスジェニックシロツメクサ (T . r e p e n s) 植物における i p t m R N A 発現の R T - P C R 解析を示す。レーン 1 ~ 1 1 は、図 4 . 8 の場合の対応植物コードを有する 1 1 種類の独立したトランスジェニック系統由来の試料である ; レーン C、対照非形質転換植物 ; レーン P、陽性対照としてのプラスミド。全 R N A を葉組織から単離した。全 R N A (1 3 μ g) を各逆転写反応に使用し、R T 産物の 1 / 5 を P C R によって増幅させた。右側のゲル上の D N A 産物は、2 x 3 0 サイクルの集中的 (i n t e n s i v e) P C R によって増幅させた。1 つおきのレーンにロードした対応 R T - P C R 反応液には、逆転写酵素は添加しなかった。

10

20

30

40

50

【図14】図14は、*atmyb32::ipt*トランスジェニックシロツメクサ (*T. repens*) 植物から切除した葉の老化バイオアッセイを示す。各植物系統から少なくとも30枚の葉を、各系統の走根上の類似した位置から収集した。A. 切除した葉の総数に対する分数としての黄変葉の数。B. 光の下で水上に2週間維持した葉の典型的な外観。植物系統に対するキー：それぞれ、HC、ICおよびHmg、Img、非形質転換および *atmyb32::gus* Aトランスジェニック植物 (cv. *Haifa* および *Irrigation*) ; それぞれ、01および08、*atmyb32::ipt*トランスジェニック *Haifa* 系統 *Hmi01* および *Hmi08* ; それぞれ、11、12、16および18、*atmyb32::ipt*トランスジェニック *Irrigation* 系統 *Imi11*、*Imi12*、*Imi16* および *Imi18*。

10

【図15】図15は、対照植物 (左) と比較した *atmyb32::ipt*トランスジェニックシロツメクサ (*T. repens*) (右) 植物における、A) 一般的な植物の形態、B) 正常なシュートの発育、およびC) 正常な根の発育を示す。

【図16】図16は、*pBMV kAtMYB32-900::ipt* [遺伝子：イソペンチルトランスフェラーゼ (IPT) ; ベクター： *pBMV kAtMYB32-900::ipt-nos* (バックボーン *pPZPRCS2*) ; 選択可能マーカー： *spec* ; 植物選択可能マーカーカセット： *35S::kan::35ST* ; 遺伝子プロモーター： *AtMYB32-900* ; 遺伝子ターミネーター： *nos.*] のベクターの詳細を示す。

【図17】図17は、ベクター *pBMV kAtMYB32-900::ipt-nos* のヌクレオチド配列 (配列番号11) を示す。

20

【図18】図18は、*pBMV kAtMYB32xs::ipt-nos* [遺伝子：イソペンチルトランスフェラーゼ (IPT) ; ベクター： *pBMV kAtMYB32XS::ipt-nos* (バックボーン *pPZPRCS2*) ; 選択可能マーカー： *spec* ; 植物選択可能マーカーカセット： *35S::kan::35ST* ; 遺伝子プロモーター： *AtMYB32-xs* ; 遺伝子ターミネーター： *nos.*] のベクターの詳細を示す。

【図19】図19は、ベクター *pBMV kAtMYB32xs::ipt-nos* のヌクレオチド配列 (配列番号12) を示す。

【図20】図20は、*pBMV hAtMYB32-900::ipt-nos* [遺伝子：イソペンチルトランスフェラーゼ (IPT) ; ベクター： *pBMV hAtMYB32-900::ipt-nos* (バックボーン *pPZPRCS2*) ; 選択可能マーカー： *spec* ; 植物選択可能マーカーカセット： *35S::hph::35ST* ; 遺伝子プロモーター： *AtMYB32-900* ; 遺伝子ターミネーター： *nos.*] のベクターの詳細を示す。

30

【図21】図21は、ベクター *pBMV hAtMYB32-900::ipt-nos* のヌクレオチド配列 (配列番号13) を示す。

【図22】図22は、*pBMV hAtMYB32xs::ipt-nos* [遺伝子：イソペンチルトランスフェラーゼ (IPT) ; ベクター： *pBMV hAtMYB32XS::ipt-nos* (バックボーン *pPZPRCS2*) ; 選択可能マーカー： *spec* ; 植物選択可能マーカーカセット： *35S::hph::35ST* ; 遺伝子プロモーター： *AtMYB32-xs* ; 遺伝子ターミネーター： *nos.*] のベクターの詳細を示す。

40

【図23】図23は、ベクター *pBMV hAtMYB32xs::ipt-nos* のヌクレオチド配列 (配列番号14) を示す。

【図24】図24は、*pBSubn-AtMYB32-900::ipt-nos* [遺伝子：イソペンチルトランスフェラーゼ (IPT) ; ベクター： *pBSubn-AtMYB32-900::ipt-nos* (バックボーン *pPZPRCS2*) ; 選択可能マーカー： *spec* ; 植物選択可能マーカーカセット： *Ubi::bar::nos* ; 遺伝子プロモーター： *AtMYB32-900* ; 遺伝子ターミネーター： *nos.*] のベクターの詳細を示す。

【図25】図25は、ベクター *pBSA tMYB32900::ipt-nos* のヌクレオチド配列 (配列番号15) を示す。

50

【図26】図26は、pBMVhATMYB3-900::ipt-nosおよびpBMVhATMYB32xs::ipt-nosを含むトランスジェニックアブラナの生成を示す。A. アブラナ種子をインビトロで発芽させる；B. 胚軸部を7日齢の実生から切除し、アグロバクテリウム懸濁液を接種する；CおよびD. ハイグロマイシン選択下、接種胚軸部からの再生；E~J. pBMVhATMYB3-900::ipt-nosおよびpBMVhATMYB32xs::ipt-nosベクターを有するトランスジェニックT₀アブラナ植物。

【図27】図27は、小麦の微粒子銃形質転換のためのプロセスを示す。

【図28】図28は、小麦(*Triticum aestivum* L. MPB Bobwhite 26)の微粒子銃形質転換を示す。ドナー植物生産(AおよびB)；接合子胚単離(CおよびD)；グルホシネート選択下での再生(E~G)；選択下での根形成(H)；トランスジェニック子孫の回収のための閉鎖温室条件下でのT₀植物栽培(I)。

【図29】図29は、キメラAtmyb32::ipt遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物の隔離圃場試験を示す。

【図30】図30は、キメラAtmyb32::ipt遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物と、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物での生長速度と生長動態の比較評価を示す。A)生長速度 B)生長動態 C)生長特性(45日後) 白抜きの四角(明) トランスジェニックシロツメクサ、黒塗りの四角(暗) 非トランスジェニック対照シロツメクサ

【図31】図31は、隔離圃場条件下での、キメラAtmyb32::ipt遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物(すなわち、LXR 12、LXR 18およびLXR 11)と、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物(すなわち、WT)の開花強度(すなわち、1m²あたりの成熟花の数)を示す。

【図32】図32は、隔離圃場条件下での、キメラAtmyb32::ipt遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物(すなわち、LXR 12、LXR 18およびLXR 11)と、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物(すなわち、WT)の種子重量(すなわち、千個の種子の重量、単位：グラム)を示す。

【図33】図33は、隔離圃場条件下での、キメラAtmyb32::ipt遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物(すなわち、LXR 12、LXR 18およびLXR 11)と、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物(すなわち、WT)の花1つあたりの種子収量(単位：ミリグラム)を示す。

【図34】図34は、隔離圃場条件下での、キメラAtmyb32::ipt遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物(すなわち、LXR 12、LXR 18およびLXR 11)と、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物(すなわち、WT)の単位面積あたりの種子収量(単位：kg/ヘクタール)を示す。

【図35】図35は、キメラpBMVkATMYB3-900::ipt-nosおよびpBMVkATMYB32xs::ipt-nos遺伝子を含むトランスジェニックアルファルファ植物の生成を示す。A. アルファルファクロンC2-3、C2-4および19-17由来の葉柄外植片をアグロバクテリウム懸濁液の接種に使用し、カナマイシンの存在下での選択後、形質転換胚形成性カルスの発生をもたらす；B~D. インビトロで培養した体細胞胚からの、pBMVkATMYB3-900::ipt-nosおよびpBMVkATMYB32xs::ipt-nosベクター由来のキメラ遺伝子を有するトランスジェニックアルファルファ小植物の再生。

【図36】図36は、トランスジェニックアブラナ植物(T1 LXRアブラナ植物Line 4)のPCR解析を示す。ゲノムDNAは、T₁ LXR04系統の異なるトランスジェニックアブラナ植物から単離し、A. 選択可能マーカー(hph)またはB. 目的の候補遺伝子(IPT)に特異的なプライマーを用いてPCRに供した。

【図37】図37は、T₁トランスジェニックアブラナ植物におけるIPT遺伝子の発現解析を示す(T1 LXRアブラナの葉での相対IPT発現)。

【図38】図38は、切り取って7日後、野生型対照子葉と比較したときの、切り取り子

10

20

30

40

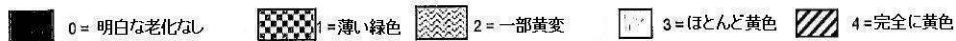
50

葉の老化の遅延を示すトランスジェニックアブラナを示す。

【図39】図39は、切り取って7日後のT₁トランスジェニックアブラナ子葉の老化スコアを示す。

【0061】

【化1】



【図40】図40は、切り取って14日後、野生型対照子葉と比較したときの、切り取り若幼葉の老化の遅延を示すトランスジェニックアブラナを示す。

【図41】図41は、切り取って14日後、T₁トランスジェニックアブラナの第1の若幼葉の老化スコアを示す。

【0062】

【化2】



【図42】図42は、トランスジェニック小麦系統のサザンハイブリダイゼーション解析を示す。レーンは、MW - 分子量；WT - 野生型；トランスジェニック小麦系統LXR3、LXR4、LXR13、LXR16ならびに10pgおよび20pgを含む陽性対照プラスミドを含む。

【図43】図43は、独立したT₁トランスジェニック小麦系統の発現解析（小麦におけるIPT定量的発現）を示す。定量的転写物の値は、標的配列を含むプラスミドDNAで得た標準曲線を用いて、フェトモル（fmol）/マイクログラムRNAで測定した。試料は、候補遺伝子IPTに対して高、中および低クラスを発現を表す。

【図44】図44は、温室栽培T₁トランスジェニック小麦植物の表現型多様性を示す。A．ヌル対照小麦植物と比較したとき、正常表現型を示すT₁ LXR 13小麦植物。B．ヌル対照小麦植物と比較したとき、成長阻害表現型および止め葉数の増加を示すT₁ LXR 04小麦植物。

【図45】図45は、切り取って7日後、ヌル対照葉と比較したときの、葉の老化の遅延を示すトランスジェニック小麦を示す。

【発明を実施するための形態】

【0063】

実施例

実施例1

A t m y b 3 2 プロモーター配列およびプロモーター配列改変体

A t m y b b 3 2 プロモーター配列およびその改変体を図1～4に示す。

【0064】

実施例2

サイトカニン生合成遺伝子

本発明における使用に適したサイトカニン生合成遺伝子の例を、図6、8および10に示す。また、好適な遺伝子としては、図7、9および11に示すポリペプチドをコードするものが挙げられる。

【0065】

実施例3

トランスジェニックシロツメクサ植物の生成

トランスジェニックシロツメクサ植物（*Trifolium repens* cv. *Hafia*および*Irrigation*）を、キメラatmyb32::ipt遺伝子バイナリーベクター（図12a）を使用し、アグロバクテリウム媒介型形質転換によって生成した。トランスジェニック植物を、iptプライマーおよびnpt11プライマー（図12b）を用いてPCRによってスクリーニングした。HindIII消化ゲノムDNA試料をサザンDNAハイブリダイゼーション解析に供すると、iptプローブとnpt11

プローブの両方によって、4.4 kb より大きいDNA断片がすべてのレーンに検出されることが示され、これは、完全長T-DNAの存在およびそのシロツメクサゲノム内への組み込みを示す(図12)。トランスジェニック系統Hmi01、Imi06、Imi11およびImi18(それぞれ、レーン1、3、5、8および12)は、ゲノム内に組み込まれた単一コピーの完全長T-DNAを有するようであった。他のトランスジェニック系統は、多コピーのatmyb32::ipt導入遺伝子を有した。

【0066】

実施例4

トランスジェニックシロツメクサ植物におけるIPT遺伝子発現

トランスジェニックシロツメクサ(T. repens)植物におけるatmyb32::ipt導入遺伝子の発現を、RT-PCRによって評価した。ipt mRNAは、調べたatmyb32::iptトランスジェニックシロツメクサ植物すべての葉組織内で検出され、種々のレベルのPCR産物が検出された(図13)。

【0067】

実施例5

トランスジェニックシロツメクサ植物における切り取り葉の老化の遅延

atmyb32::iptトランスジェニック植物の切り取り葉の老化を評価するための実験を行なった。1週間以内に、両方の品種の非形質転換型およびatmyb32::gusAトランスジェニックシロツメクサ植物から切り取られた葉において、急速な黄変が観察された。トランスジェニック系統Hmi01、Hmi08、Imi16およびImi18では、老化の遅延が示されたが、Imi11とImi12では、7日間の最後までに黄変の兆候は示されなかった。2週間後、すべてのatmyb32::iptトランスジェニック植物の葉は、非形質転換型およびatmyb32::gusA対照トランスジェニック植物のものよりもずっと緑色であった(図14)。切除した葉における老化の程度は、cv. Halfaでは、HC、Hmg>Hmi01>Hmi08、ならびにcv. Irrigationでは、ICおよびImg>Imi16>Imi18>Imi11およびImi12の順であった。HCは、Halfa非形質転換対照であり、Hmgは、Halfa atmyb32::gusA対照であり、ICは、Irrigation非形質転換対照であり、Imgは、Irrigation atmyb32::gusA対照である。Hmi01、Hmi08、Imi16、Imi18、Imi11およびImi12は、それぞれ、品種Halfa(H)およびIrrigation(I)に由来する独立したatmyb32::iptトランスジェニックシロツメクサ植物である。

【0068】

実施例6

トランスジェニックシロツメクサ植物における植物の形態と根の発育

正常な植物の形態ならびに正常なシュートの発育と正常な根の発育が、atmyb32::iptトランスジェニックシロツメクサ植物において観察され(図6)、したがって、atmyb32プロモーターの制御下でのipt遺伝子の発現の調節は、トランスジェニックシロツメクサ植物の根発育にも頂芽優性にもマイナスの影響を及ぼさないことが示された(表1)。

【0069】

10

20

30

40

【表 1】

表1

形質転換体	品種	構築物	<i>ipt</i> コピー数	表現型
Hmi01	Haifa	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	正常
Hmi08	Haifa	<i>Atmyb32::ipt</i>	>3	正常
Imi06	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	正常
Imi07	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	3	正常
Imi09	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	>3	正常
Imi10	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	>3	正常
Imi11	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	正常
Imi12	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	2	正常
Imi16	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	2	正常
Imi18	Irrigation	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	正常

分析した10種類の独立した *atmyb32::ipt* トランスジェニックシロツメクサ系統において、正常な植物の形態および正常な根発育が観察された。この10種類の独立した *atmyb32::ipt* トランスジェニックシロツメクサ系統の推定 *ipt* 遺伝子コピー数を示す。

【0070】

実施例7

植物形質転換用のベクターの作製

植物のアグロバクテリウム媒介型形質転換のため、4種類のバイナリーベクターを作製した(図16~19)。各ベクターは、pPZP200ベクターバックボーン(Hajdukiewiczら, 1994)を有し、キメラ *Atmyb32-900::ipt-nos* または *Atmyb32-xs::ipt-nos* のいずれかを、キメラ *35S::nptII-35st* または *35S::hph-35st* 選択可能マーカーカセットとともに、またはなしで含む。

【0071】

形質転換ベクターの1つは、微粒子銃形質転換のために構築した(図20および21)。この形質転換ベクターは、キメラ *Atmyb32-900::ipt-35st* をキメラ *Ubi::bar-nos* 選択可能マーカーカセットとともに含む。

【0072】

Atmyb32 プロモーター、プロモーター改変体 *Atmyb32xs*、イソペンチルトランスフェラーゼ遺伝子ならびにターミネーター *35st* および *nos* を、Gateway(商標)(Invitrogen)適合プライマーを用いてPCRによって増幅し、pDONR221エンターベクター内にクローニングした。続いて、これらを組換えを用いて、慣用的にクローニングされる選択可能マーカーカセットを含むデスティネーションベクター内にクローニングした。すべてのベクターは、厳密な品質保証プロトコルに従って完全に配列決定した。

【0073】

実施例8

アブラナ(*Brassica napus*)のアグロバクテリウム媒介型形質転換

Atmyb32 プロモーター(図1)および根特異的モチーフを欠失させた *Atmyb32xs* 改変体プロモーター配列(図2)の制御下のキメラ *ipt* 遺伝子を含むバイナリーベクター pBMVhATMYB3-900::ipt-nos(図20)および pBMVhATMYB32xs::ipt-nos(図22)を、*Brassica napus*

s 胚軸セグメントのアグロバクテリウム媒介型形質転換に使用した (図 26)。

【0074】

Brassica napus の種子を 70 % エタノール中で 2 分間表面消毒し、滅菌水中で 3 回洗浄し、次いで、1 % (w/v) の次亜塩素酸カルシウムおよび 0.1 % (v/v) の Tween 20 を含有する溶液中で、30 分間さらに表面消毒する。種子を滅菌水中で少なくとも 3 回洗浄し、1 × Murashige and Skoog (Murashige and Skoog Physiol. Plant, 15: 473 - 497, 1962) 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、2 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8) を含有し、4 g/L の Gelrite を添加した固形発芽培地を入れた 120 ml 容の培養容器内に植え付ける。容器を 16 時間明 / 8 時間暗条件下、25 °C で 7 日間インキュベートして発芽を促進する。

10

【0075】

7 日後、*Brassica napus* の実生 (実生全体) を、1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、3 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8) からなる液体培地に移す。実生を集め、根と子葉を除去した後、胚軸を 7 ~ 10 mm 切片に切断し、1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、3 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8) からなり、6.4 g/L の Bacto-Agar で固化したプレコンディショニング培地を入れた 9 × 1.5 cm のペトリ皿の上で平板培養する。

20

【0076】

胚軸部を 24 時間培養した後、1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、100 μM のアセトシリンゴン、3 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8) からなるアグロバクテリウム懸濁液 OD₆₀₀ = 0.2 を 30 分間接種する。

【0077】

接種後、胚軸部を滅菌ペーパータオル上にプロットし、1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、100 μM のアセトシリンゴン、1 mg/L の 2,4-D、3 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8、8 g/L の Bacto-Agar で固化) を入れた 9 × 1.5 cm のペトリ皿に移す。外植片を 16 時間明 / 8 時間暗条件下、25 °C で 72 時間インキュベートして共存培養する。

30

【0078】

共存培養後、20 ~ 30 個の胚軸外植片を 1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、1 mg/L の 2,4-D、3 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8) からなり、8 g/L の Bacto-Agar (250 mg/L のチメンチンおよびハイグロマイシン耐性シュートを選択するための 10 mg/L のハイグロマイシンを補給) で固化した固形選択培地を入れた 9 × 1.5 cm のペトリ皿に移す。プレート を 16 時間明 / 8 時間暗条件下、25 °C でインキュベートする。

40

【0079】

7 日後、胚軸外植片を、1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg/L の MES、1 mg/L の 2,4-D、3 % (w/v) のスクロースを補給、pH 5.8) からなり、8 g/L の Bacto-Agar (4 mg/L の BAP、2 mg/L のゼアチン、5 mg/L の硝酸銀、250 mg/L のチメンチンおよび 10 mg/L のハイグロマイシンを補給) で固化した固形再生培地を入れた 9 × 2.0 cm のペトリ皿に移す。プレート を、蛍光灯条件 (16 時間明 / 8 時間暗の光周期; 55 μmol m⁻² s⁻¹) 下の直接照明下、25 °C で 4 週間インキュベートしてシュートの発育を促進する。

【0080】

50

再生を毎週モニタリングし、胚軸外植片を、固形再生培地 RM (4 mg / l のベンジルアデニン、2 mg / l のゼアチン、5 mg / l の硝酸銀、250 mg / l のチメンチンおよび 10 mg / l のハイグロマイシンを補給) を入れた新たな 9 × 2 . 0 cm のペトリ皿に 6 ~ 8 週間移し、シュートの発育を促進する。

【 0 0 8 1 】

ハイグロマイシン耐性 (Hyg^r) シュートを、1 × Murashige and Skoog 多量養素、1 × 微量栄養素および B5 有機ビタミン群 (500 mg / L の MES、1 mg / L の 2, 4 - D、1 % (w / v) のスクロースを補給、pH 5 . 8) からなり、8 g / l の Bacto - Agar (250 mg / l のチメンチンを補給) で固化した固形根誘導培地 RIM1 を入れた 120 ml 容器に移す。シュートを、直接蛍光灯 (16 時間明 / 8 時間暗の光周期 ; 55 μmol m⁻² 秒⁻¹) 下、25 °C でインキュベートしてシュートの伸張と根の発育を 4 ~ 5 週間にわたって促進する。シュートと根系の発育を有する Hyg^r シュートをすべて土壌に移し、温室条件下で生長させる。

10

【 0 0 8 2 】

実施例 9

小麦 (*Triticum aestivum* L.) の微粒子銃形質転換

Atmyb32 プロモーター (図 1) および根特異的モチーフを欠失させた Atmyb32xs 変体プロモーター配列 (図 2) の制御下の キメラipt 遺伝子を含む形質転換ベクターを、小麦 (*Triticum aestivum* L. MPB Bobwhite 26) の微粒子銃形質転換に使用した。代表的なベクターを図 24 に示す。小麦の微粒子銃形質転換の手順の概略を図 27 に示す。形質転換手順は、以下の工程を含む。

20

【 0 0 8 3 】

工程 1 (ドナー植物生産) :

Triticum aestivum (Bobwhite 26) の種子をドナー植物材料の生産に使用する。小麦植物は、堆肥化したマツ樹皮、パーライトおよびバーミキュライトからなる種苗用 (nursery) ミックス中で栽培し、鉢 1 つあたり植物 5 本とし、最大鉢サイズを 20 cm とする。植物をほぼ 22 ~ 24 °C の温室条件下に 12 ~ 16 週間維持する (図 28 A)。止め葉から最初の穂状花序 (spike) が現れたら植物にタグを付け、開花 12 ~ 15 日後に最も高い頭部から胚を収集する。

【 0 0 8 4 】

30

工程 2 (第 1 日目)

所望の発育段階の穂状花序を採取する (図 28 B)。穀果を穂状花序から取り出し、0 . 8 % (v / v) の NaOCl 溶液中で 20 分間表面消毒し、滅菌蒸留中で少なくとも 4 回すすぐ。

【 0 0 8 5 】

長さ 10 mm までの胚を各穀果から、解剖顕微鏡を用いて無菌的に切除し (軸部の取り出し)、軸面を下にして、2 × Murashige and Skoog (1962) 多量養素、1 × 微量栄養素および有機ビタミン群、40 mg / L のチアミン、150 mg / L の L - アスパラギン (15 % (w / v) のマルトース、0 . 8 % (w / v) の Sigma 製寒天および 2 . 5 mg / L の 2, 4 - D を補給) からなる浸透圧培地 (E3 マルトース) 上で培養する (図 28 C および D)。胚を、15 mL の培地を入れた 60 mm × 15 mm の透明なポリプロピレン製ペトリ皿の上で培養する。培養プレートで、暗所にて 4 時間インキュベートした後、ボンバードメント (bombardment) を行なう。胚には、900 psi で 6 cm の BioRad PDS1000 遺伝子銃で、1 μg のベクタープラスミド DNA (0 . 6 μm の金粒子上に沈殿させたもの) を用いてボンバードメントを行なう。ボンバードメント後、胚を浸透圧培地上で、暗所にて一晚インキュベートする。

40

【 0 0 8 6 】

工程 3 (第 2 日目) :

胚を、2 × Murashige and Skoog (1962) 多量養素および 1 ×

50

微量栄養素ならびに有機ビタミン群、40 mg / L のチアミン、150 mg / L の L - アスパラギン (6 % (w / v) のスクロース、0.8 % (w / v) のSigma 製寒天および2.5 mg / L の2, 4 - D を補給) からなるカルス誘導培地 (E3 カルス) に移す。胚を24 で暗所にて2週間培養する。

【0087】

工程4 (第16日目) :

E3 カルス上での2週間の培養後、胚から胚誘導性カルスが発生し、2 x Murashige and Skoog (1962) 多量栄養素および1 x 微量栄養素ならびに有機ビタミン群、40 mg / L のチアミン、150 mg / L の L - アスパラギン (2 % (w / v) のスクロース、0.8 % (w / v) のSigma 製寒天、5 mg / L のD, L ホスフィノトリシン (PPT) を補給、植物生長調節因子なし) からなる選択培地 (E3 Select) 上に継代培養する (図28E ~ G)。培養物を、さらに14日間、E3 Select 上で24 にて明るい場所で12時間の光周期でインキュベートする。

10

【0088】

工程5 (第30日) :

E3 Select 上での14日間の培養後、胚誘導性カルスを新たなE3 Select 上で、さらに14日間継代培養する (図28E - G)。

【0089】

工程6 (第44日) :

E3 Select 上で約4週間後、生長中の小植物を胚性カルス塊から切除し、根誘導培地 (RM) を入れた65 mm x 80 mm または65 mm x 150 mm のポリカーボネート製組織培養容器内で、さらに3週間生長させる。根誘導培地は、1 x Murashige and Skoog (1962) 多量栄養素、微量栄養素ならびに有機ビタミン群、40 mg / L のチアミン、150 mg / L の L - アスパラギン (2 % (w / v) のスクロース、0.8 % (w / v) のSigma 製寒天、および5 mg / L のPPT を補給) からなるものである (図28H)。残りの胚誘導性カルスはE3 Select 上で、さらに14日間継代培養する。

20

【0090】

工程7 (第65日以降) :

RM 上で3週間より長く生存し、健全な根形成を有する再生小植物を、泥炭と砂 (1 : 1) からなる種苗用ミックス中に植え、種苗用湿度チャンバシステムにて高湿度で22 ~ 24 に維持する (図28)。2週間後、植物を湿度チャンバから取り出し、手での水やりと、液状肥料 Aquasol (商標) の供給を毎週、充分生長するまで与える。T₀ 植物をゲノムDNAと分子解析のために試料採取する。T₁ 種子を採取し、ハイスループットQ - PCR 解析のために植える (図28J)。

30

【0091】

実施例10

トランスジェニックシロツメクサ植物の農業生産力

非トランスジェニック対照シロツメクサ植物のものと比べた atmyb32::ipt トランスジェニックシロツメクサ (Trifolium repens) 植物の農業生産力を、環境制御生長チャンバ条件下で隔離圃場試験にて評価した (図29)。

40

【0092】

生長制御チャンバ条件下で評価したキメラ atmyb32::ipt 遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物は、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物と比べて、有意なバイオマス蓄積の向上および老化の兆候の低減を示した (図30)。キメラ atmyb32::ipt 遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物は、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物と比べて、総葉面積の増大、累積葉面積増大、葉の高生長動態 (すなわち、経時的な葉の数)、走根長さの増大および開花植物%の増大ならびに走根の老化および枯死の低減を示した (図30A ~ C)。

【0093】

50

また、トランスジェニックシロツメクサ植物をもたらす3つの独立した *atmyb32::ipt* (すなわち、*LXR 12*、*LXR 18*および*LXR 11*)の種子収量の成績を、隔離圃場条件下で、非トランスジェニック対照植物(すなわち、野生型、*WT*)と比較評価した。非トランスジェニック対照植物(すなわち、*WT*)と識別不可能な開花強度(すなわち、 1 m^2 あたりの成熟花の数)を有するトランスジェニックシロツメクサ植物をもたらした2つの独立した *atmyb32::ipt* (すなわち、*LXR 12*および*LXR 18*)を、圃場評価に選択した(図31)。

【0094】

キメラ *Atmyb32::ipt* 遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物(すなわち、*LXR 12*、*LXR 18*および*LXR 11*)の種子重量(すなわち、千個の種子の重量)は、非トランスジェニック対照シロツメクサ植物(すなわち、*WT*)と識別不可能であったが(図32)、花1つあたり(図33)、および種蒔き面積あたり(図34)の基準で示す総種子収量は、同等の開花強度の非トランスジェニック対照シロツメクサ植物(すなわち、*WT*)と比べて、キメラ *Atmyb32::ipt* 遺伝子発現トランスジェニックシロツメクサ植物(すなわち、*LXR 12*および*LXR 18*)において2倍であった。

【0095】

実施例11

アルファルファ(*Medicago sativa*)のアグロバクテリウム媒介型形質転換

根特異的モチーフを欠失させた *Atmyb32xs* 改変体プロモーター配列(図2)の制御下のキメラ *ipt* 遺伝子を含むバイナリーベクター *pBMVKA TMYB32xs::ipt-nos* (図18)を、高度に再生可能なアルファルファ(*M. sativa*)クローンC2-3、C2-4および19-17由来の *Medicago sativa* の葉柄外植片のアグロバクテリウム媒介型形質転換に使用した(図35)。

【0096】

バイナリーベクター *pBMVKA TMYB32xs::ipt-nos* を保有する *Agrobacterium tumefaciens* 株 *LB4404* との共存培養後、アルファルファ外植片をセフォタキシム含有培地で洗浄し、 25 mg/l のカナマイシンを含有する選択培地で、胚誘導性カルスの誘導に使用した。トランスジェニック胚形成性アルファルファカルスを回収し、トランスジェニックアルファルファシュートを再生させ、これを根発育培地に移し、*Atmyb32xs* 改変体プロモーターの制御下で、キメラ *ipt* 遺伝子発現トランスジェニックアルファルファ植物の回収に至るようにした(図35)。

【0097】

本明細書において開示および規定した本発明は、本文または図面に記載し、これらから明白な個々の特徴の2つ以上の択一的なあらゆる組合せに拡張されることは理解されよう。このような種々の組合せはすべて、本発明の種々の択一的態様を構成する。

【0098】

実施例12

トランスジェニックアブラナ植物の生成

トランスジェニックアブラナ植物(*Brassica napus*)を、キメラ *atmyb32::ipt* 遺伝子を保有するバイナリーベクター(図20および22)を用いて、*Agrobacterium* 媒介型形質転換によって生成した。遺伝子改変を、候補遺伝子(*IP T*)または選択可能マーカー(*hph*)の存在について、 T_1 世代でPCRを用いてキャラクタライズした(図36)。

【0099】

図36は、トランスジェニックアブラナ植物のPCR解析を示す。ゲノムDNAを T_1 *LXR04* 系統の種々のトランスジェニックアブラナ植物から単離し、選択可能マーカー(*hph* 遺伝子)または目的の候補遺伝子(*IP T*)に特異的なプライマーを用いてP

10

20

30

40

50

C Rに供した。図36Aでは、h p h特異的プライマーを用いてゲノムDNAから産物を増幅し、アガロースゲル上で可視化した。図36Bは、蛍光PCR法を用いてゲノムDNAを増幅するためのIPT特異的プライマーの使用を示す。これらのプライマーは、PCR産物の蓄積量に反比例する検出可能な蛍光をもたらし標的配列に特異的である。

【0100】

実施例13

トランスジェニックアブラナ植物におけるIPT遺伝子発現

トランスジェニックアブラナにおけるatmyb32::ipt導入遺伝子の発現を、標的配列に特異的な蛍光RT-PCR法を用いて評価した(図37)。組織内のIPT mRNAを検出し、相対発現レベルを系統間およびヌル対照と比較した。ヌル対照は、形質転換プロセスを受けたが、交配後、標的配列を含まない子孫系統である。

10

【0101】

実施例14

トランスジェニックアブラナ植物における切り取り葉の老化の遅延

atmyb32::iptトランスジェニック植物の切り取り葉の老化を評価するための実験を行なった。図38~41は、アブラナにおける候補遺伝子の発現に関する切り取り葉の老化(detached senescence)アッセイのデータを示す。切り取り子葉と葉のアッセイは、老化を誘導し、形質転換アブラナの老化表現型を野生型対照と比較して評価するために行なった。切り取り葉の老化アッセイの第7日目および第14日目、老化の進行を、各組織試料について、0-老化の可能性の兆候なし；1-初期の老化の兆候がみられ、緑色が薄くなっている；2-さらに老化が進行、黄変が目立つようになっている；3-組織がほぼ黄変しているが、薄緑色が明白に残っている；4-完全な黄変に進行；5-黄変し、一部脱色および壊死斑を伴う、のいずれかとして定性的にスコアリングした(図39および41)。

20

【0102】

実施例15

トランスジェニック小麦植物の生成

小麦の遺伝的形質転換は、図27および28に概要を示したTriticum aestivum L Bobwhite 26系統小麦由来の接合子胚の微粒子銃形質転換に基づいたものとした。

30

【0103】

キメラatmyb32::ipt遺伝子を小麦ゲノム内に、パーティクルボンバードメントによって、ベクターバックボーン配列もまたゲノム内に組み込まれるように完全体プラスミドを用いて挿入した(図24)。

【0104】

形質転換ベクターは十分に配列決定されたものとした(図25)。遺伝子改変は、候補遺伝子の存在について、T₁世代でサザン解析によってキャラクタライズした(図42)。

【0105】

図42は、トランスジェニック小麦植物のサザンハイブリダイゼーション解析を示す。ゲノムDNAを異なるT₁系統のトランスジェニック小麦植物から単離し、制限酵素で消化し、候補遺伝子コピー数を測定した。対照は、非形質転換野生型Triticum aestivum「Bobwhite 26」である。消化物を電気泳動させ、ナイロン膜に移し、プローブとしての完全長DIG標識IPT遺伝子とプローブ結合させた。ある範囲のコピー数が観察された。

40

【0106】

実施例16

トランスジェニック小麦植物におけるIPF遺伝子発現

AtMYB32プロモーターによって駆動させたIPT遺伝子を含む温室栽培トランスジェニックT₁小麦植物の若幼葉組織から、RNAを抽出し、第1cDNA鎖を調製した

50

。

【0107】

導入遺伝子の定量的発現は、標的配列のためのプローブ系 q R T - P C R 法を用いて調べた。各構築物の高、中および低発現系統の代表例を図 4 3 に示す。また、内在性スクロースシンターゼ遺伝子に対して設計されたプライマー/プローブセットを対照として使用した。対照遺伝子のすべての増幅プロットは、互いの 1 サイクル内で始まり、これは、G M O の検出レベル差が発現の多様性によるものであることを示す。

【0108】

P C R プライマーおよびプローブは、ともに、P C R 産物の蓄積量に比例する検出可能な蛍光をもたらす標的配列に特異的である。検出対象の標的配列を含む連続希釈プラスミド D N A を用いて、定量的ための標準曲線を作成した。

10

【0109】

実施例 1 7

トランスジェニック小麦植物の植物形態

生長特性の違いを、温室内で、トランスジェニック小麦系統内および系統間で観察した。T₁小麦植物間で主に観察された表現型には、植物丈、分けつ (t i l l e r i n g) 強度、葉の数、ならびに植物性バイオマスの抑制が含まれた (図 4 4) 。

【0110】

実施例 1 8

トランスジェニック小麦植物における切り取り葉の老化の遅延

20

切り取り葉アッセイを使用し、ヌル対照と比較したときの形質転換小麦葉の誘導老化および老化表現型を評価 (a s s e s) した (図 4 5) 。ヌル対照は、形質転換プロセスを受けたが、交配後、標的配列を含まない子孫系統である。

【0111】

また、本明細書で用いる用語「～を含む/包含する (c o m p r i s e) 」 (またはその文法的語尾変化) は、用語「～を含む (i n c l u d e) 」と等価であり、他の要素または特徴の存在を排除するものと解されるべきでないことは理解されよう。

【0112】

本明細書で挙げた文献は、参照目的のためにすぎず、該文献を含めることによって該文献が関連技術分野における周知の一般知識の一部を構成することの承認ではない。

30

【0113】

最後に、種々の変形、変更および/または付加が、本明細書に概要を示した本発明の精神から逸脱することなく行なわれ得ることを理解されたい。

【 図 1 】

```

1 gtttgtgtct tctagattaa tcttccaac ttttgatba ccaaaaaaat tatctaaacta
61 agatgttctc cttttttctt tagaattctt aacgaattta tttttatact gatttgaata
<<< XomX >>>
121 tacttaattt ggtcatttgg atgcoccttta caactocctt accaaactca ctatggcaaa
181 tatatactat ttctcattgt aacataaatg tccataaatt gnaattaaat ogttgogta
241 cgaacccttc caactttgtc caaaaaoaaa atccttataa ctatttactt taatgtaaat
301 atatctctta cttttgtttt tacaacotta gctcaaaaaa atttattatt tggogataaaa
361 aatcatatcg aacaaactcg atgatttttt ttcttttaag ttattaatga aactaaaata
421 tagaaaaaaa cagatgaac caaattttca cctatctaac tacttaataa taatgtgatt
< SepT>
481 aaatttggtt aagtttgaaa agttttctta gaaatgtgaa atattgatca cagtttctat
541 tgcataaact accaaacaaa cgcattgtcg cactcataat tatgtgttca cactcaaac
601 taggttaata agtaataaag tagacaacta gactcaggtt tgaagaaccc ataaaagcca
661 tataggtttt ttctcattgaa actgcgaaca cgcattgtgt aatgttgcag ttcttagttt
721 tgatacaaac aacaaacaaa acattttaat cttagattaa aaagaaaaaa gagaacggcg
781 cccactagoc actccttcaa acgtgtctta ccaactctct tctagaacaa aattaggttt
841 caactctctc ttccaacccc cctctctctc cctctctctt ttctctcaac cactctctca
901 taaagcccta atttcttctat cacaagaatc agagaagaaa a

```

Figure 1.

【 図 2 】

```

1 gtttgtgtct tctagattaa tcttccaac ttttgatba ccaaaaaaat tatctaaacta
61 agatgttctc cttttttctt tagaattctt aacgaattta tttttatact gatttgaata
121 tacttaattt ggtcatttgg atgcoccttta caactocctt accaaactca ttgatcacag
181 ttctcattgc taaatacacc aacaaaacgc atgtcgccat tcataatta ggtttcaaac
241 ctacaactag gctaataagt aaataagtag acaactagac tcaggtttga aaaaacccta
301 aaagccatat agcgttttct cattgaactc cgcgaacaga tctgttgaat gttgcagttt
361 ctagttttga tacaacaaa caaaaacaca atttaatttt agattaaaa gaaaaaagag
421 aacggagccc actagccact ccttcaaacg tgccttaaca actctctctt agaaaaaaat
481 taggcttcac cttctctctt ccaaccccct cctctctctt cctctctctt ctaaaaacat
541 cctctcaata agocctaatt ttctctacac aagaatcaga agagaagaa

```

Figure 2.

【 図 7 】

```

1 MDLHLIPGT CTGKTTTAA LAQGTGLPL SLDRVCCQP LSTGSRPTV EELGTTTRYL
61 LDDRPLVEGI IAAKAHRL IEIVYNHEAN GGLILEGGST SLINMARNIS YNSADFRWHT
121 IRHKLDPQET PMKAARKYV QMLHPAAGHS IIGELVYLWN EPLRLPKLE IDGVRYAMLF
181 ASQNQTADM LQLDANNEG KLINGIAQV FFIARQEQK FQVQNAAFD GFEGHPFGWY
241 *

```

Figure 7.

【 図 8 】

```

1 atgtccatct caatgctaatt gtcagacta agcaaacctt taataaacgt tccctgcagt
61 ggcataaaaaa tgcagatcag gcagattcaa aaggagaag tagtgttgtt gatggagct
121 acagggacag gaaagtcaaa gctctccatt gaactcgaca cctgtttccc ctaagaatcc
181 atcaactcag acaagattaa aatctacac ggctctgaca tgcatacaca caaaatctcc
241 aaggaagaaa aacgtggaat ccccccacc cctcctggaa ctaaaaaccc taacacagac
301 ttaacccgag cagattctcag tgaactgtcc acocccgcca ttgacgcaat cacaagccgc
361 gaacaccttc cgaatcagc cggaggttcg aactctacc tggagcggtt aatcgacgac
421 gacgactaca aattccgact gaggtacagc ttctgtgcgc tctgggtoga cgtggcaatg
481 cgggtgtggt actcaatcgt ggogcgogct gtggatcaga tgcctcggag cggaaatgggt
541 gagagactga gacggttttt caacgcgaac ggogactact cgaagggaat cagaagagcg
601 attggggttc ctgaattcga cgaatatttc cggcggaag ggttcgcga tgaggaaaacg
661 aggaatttgt tactggagcg agcgtgtagg gagatgaagg tgaacacggt caagctcogc
721 aggaagcaat tggggaagat tcaagagctg agaatgtga agaggtggga gattoacogt
781 gttgatgcga cgcoggttgt ttggaagcgt ggggagaggg ctgatgagc gtggcggaag
841 gtgggtggcg agcctagtcg tatgatgca ggcagtttc tgcataagga aagaagtgat
901 gtgaatgttg ttcttgccgg ttccagagtg ccggcggttc caacggagag tgttatggcg
961 gcggcgacgt gtttag

```

Figure 8.

【 図 9 】

```

1 MSISMLMRL RQPLINVPCS GKLSMRQTG KEKVLVMGA TGTGSKLSI DLATCFPSEI
61 INSDKIQYD GLDIVYMKIS KEEQIGIHH LLGTQNPMD FTAGDFSDCS TAAIDAITSR
121 DHLPIAGGS NSYLEALID DQYKFRSDY FCLLMVDMV PVLDSYVAAR VQMLRSGKLV
181 EELRPFNNAN QDYSRGIRRA IQVPEDFYV RRGFADEET RKLLERAVR EMVKNTKGM
241 RRQLGKIQL RNKRWIEHR VQVTPVFKR GEAEAMNRK VVAEPSAIV AQFLYAKSD
301 VNVVSGGRV PAGSTESVMA AATC*

```

Figure 9.

【 図 3 】

```

1 tacttaattt ggtcatttgg atgcoccttta caactocctt accaaactca ttgatcacag
61 ttctcattgc taaatacacc aacaaaacgc atgtcgccat tcataatta ggtttcaaac
121 ctacaactag gctaataagt aaataagtag acaactagac tcaggtttga aaaaacccta
181 aaagccatat agcgttttct cattgaactc cgcgaacaga tctgttgaat gttgcagttt
241 ctagttttga tacaacaaa caaaaacaca atttaatttt agattaaaa gaaaaaagag
301 aacggagccc actagccact ccttcaaacg tgccttaaca actctctctt agaaaaaaat
361 taggcttcac cttctctctt ccaaccccct cctctctctt cctctctctt ctaaaaacat
421 cctctcaata agocctaatt ttctctacac aagaatcaga agagaagaa

```

Figure 3.

【 図 4 】

```

1 attgatcaca gttttctatt ctaaaatcac caacaaaagc catgtcgaca ttcataatta
61 ggtttctaca cctacaacta ggctaataag taataaagta gacaactaga ctacggtttg
121 aaaaacccta aagaccata tagcgttttc tcaattgaac tgcgaacagc atcgtgtgaa
181 tgttgcagtt ttctagttttg atacaacaa caaaaacac aatttaattc tagatataaa
241 agaaaaaagc gaaacggagcc cactagccac tcttcaaac gttccttacc aactctcttc
301 taaaaacaaa ttaggcttca cttctctctt ccaaccccct cctctctctt cctctctctt
361 tctcaaccca tctctccta aagccctaatt ttctctacac caagaatcaga agagaagaa

```

Figure 4.

【 図 6 】

```

1 atggacctgc attcaatttt cggtcacact tgcacaggaa agacgacgac cgcgtagctc
61 cttgcacagc agacagggtt tccagctcct tgcgttgatc ggttccaatg ctgtcctcaa
121 ctatcaacgc gaacggagcc accaacagtg gaagaactga aaggaacgac cgcgtctcac
181 cttgtgacgc cgcctctggt ggaagggtat atcgacgaca agcaacgcta ccatgagctg
241 atcgagaggg tgtataatca tggagccaac ggcgggctta ttcttgaggg aggatccacc
301 tctgtgtcga actgcagtc gogaaacagc tatttgagtg cagatcttcg ttgcatattt
361 attcgccaca agttaccoga ccaagagaac ttcatgaaag cgcgcaagcg cagagtttaag
421 cagatgttgc acccgcctgc aggcctattc attatcga agttgttga ttcttggaat
481 gaacctcggc tgaagcccat ttgaaagag atcgatggat atcgatagc catgtgtttt
541 gctagccaga accagatcac ggcagatag ctattgcaag ttgaacgaaa tatggaaggt
601 aagttgatta atggatcgc tcaggagat ttactccatg cgcgocacaa ggaacagaaa
661 ttcccccaag ttaacgcagc cgttttcgac ggaatcgag gtatccogtt cggagtgat
721 tag

```

Figure 6.

【 図 10 】

```

1 atgttaattg tagtacatat tattagatc acacgcatca tatctcac cttaacccat
61 aatcatctcc attccttat gtttagatca ttatcataca atcaacagca cctcaaatc
121 ctacacaaac cgaaccacag ggtactcoga agaaacatgt cgtcatccac ttagtgaca
181 ataacccgoc ccaacaaaa aaaaacaaa aaaaatcatg taataatggy tgcacagagt
241 tcaagaaaaa caaaactctc aatagacctc gtcacagtc actatctctt tccgaatc
301 attaacctcg acaaaatcca aattacaaaa gtttaaaaa taaccacaaa caaaatcact
361 gtacccagac gaogtggcgt agtccatcat ttactcgcgc agattgaacc cgaacttaac
421 ttctctctct ctcattctcg gtaactgtct ggtcaacga ttaactccat tattaatcgc
481 cataaaatcc cactctcgt tgggtgggtcc aactcatata tcaacgcttt attacaacac
541 cgtttcgacc cggattttta cctgatcca aaoccggttc attttatca ccaagagtta
601 cgtcacacac gttgttttat ttgggtcgat gtattaaac cggttttgaa tgaattttg
661 gataaacggg togatgagat gatgaactgc ggtatgtatg aagaactgca acagttttt
721 aaagaaaaaa ggttttcoga tccgggttg gaaocgggtc ggcacacggc gttgaggaaa
781 gctagagggg tacoggaaaat ggaagaggtat tttaagaaga gctgtacgta tgaagaagca
841 gtgagggaia taaaagaaaa cagctggcgg tttagaaga agcagatgtg gaagatccaa
901 cgtttgagag aagcaggggt ggaactcaaa agagttagat ccaagagagc attgtggag
961 gctagagta ataagaagga aaagggaatt atttgggaan acaagtagt ggaaccagat
1021 gtcacagatt tgaacggtt ttgttggac tga

```

Figure 10.

【 図 11 】

```

1 MLIVVHISI TRIIFITLH NHLHLMFRS LSNHKLHLK LTNPTTRVL RNMSSVTVT
61 IGPQTQKNK KIIVIMATG SKSKLSIDL VTRHYPFSEI INSDKIQIT GLNITNKIT
121 VPDRRGVVHH LLGEIDPDFN FSPSHFRSIA GQRINSIINR HKLPFLVGS NSYIALLTN
181 RFDPDFNDS NPVHISNEL RYNCFFIWD VLNPLVNEYL DKRVDMMS GMYEELQFF
241 KENRFSDPGL EPRGATGLR AIGVPEMERY FKSCCTYEEA VREIKENTWR LAKQMKIQL
301 RLREAGMDLQ RVDATEAFVE AMSNKEKEI INEKQVPEPS VKIVNRFLD *

```

Figure 11.

【 図 13 】

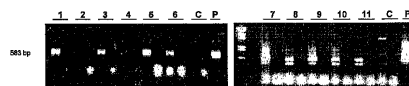


Figure 13.

【図 15】

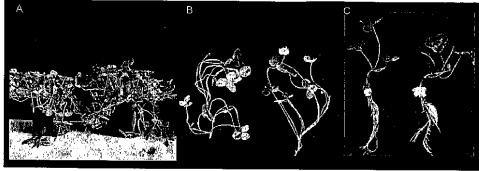


Figure 15.

【図 17 - 1】

```
1 gtcocogato acogagocog tgagotacoo agocotgoc goocogocoo caacogttot
61 tgaatocagaa oocogagggoc agocotgocog cagagttocag gogctgocog ctgaatataa
121 atcaaaactc attagatita atgaggtana gagaataga gcaaaagoc gacacagota
181 agtgcocgoc gtcocagocog acogacagoc aaggtotgaa ogttgocog ootgocagoc
241 acogocagoc tgaagocgggt caactttocg ttgocoggg agtatocac caagctgaag
301 atgtacoggy tacogcaagc caagacocatt acogcagctc tatctgaatc ootgocagoc
361 otacocaggt aatgagocaa atgaataaat gagtataga ttttagogy otaagaggg
421 ogcotaggaa aatocagaa acocagggoc cagocoggt gaaatgococ tgtgtgggg
481 acoggggggt tggocogggog taagocoggt gattgtocag oggtotgoc atggacoggt
541 aacococag cagaggaat oggtogggc gtcocacoo atocogggoc gtaacatocg
601 gogcoggggt ggtgatgac ctggtggaga agtgaagoc cagocogggoc gococogggc
661 aacogtoca gdcagagoc ogococgggt aatogtgoc agcoggggt gatocacoc
721 gcaaaagac cagocacoc ogococgggt gtcocoggt gattagagc cagocacog
781 gogcagagoc acogatttt ttogttocag tgcotatga cgtggcacc ogcagatgc
841 gogcogtat gacgtggoc gttttocog tgcogagoc gacocagoc gogcoggggt
901 tgatocogta ogagottoca gacggocagc tagagtttc cagagggoc gogcoggtg
961 ocaggtgtgt gattacagc ctggtactga tgcogtttc cactatocac gaatocaga
1021 acogatacog ggaagggag gacagacag cagcoggggt gttocgocac caggtgocg
1081 acgtactoc gttgtggoc ogagocgggt goggaagoc gaagacagc ctggtagaaa
1141 octgattog gtaaacac acogaggtt cagtagocg tacgaagag gdcagagacg
1201 gogcoggtgt gacogtatoc gagggtgaag octgattag octgataag atogtaaga
1261 gcaaaacog gogcogggag tacatgaga tocagtago tgatggatg tacocogaga
1321 tcaacagag cagacacoc gacgtgcta cgttcaoc cgtacttt ttgatogac
1381 ocgcatoggy cgttttoto taocogctgy cagcogggc cagagggag gdcagagoc
1441 gatgtgtgt caagacgac taocagocg gtcocagoc cagaggttc aagaagttt
1501 gttcagocg gogcaggtt atoggttoca atgctgoc ggaatagat ttgaagag
1561 agcggggggt ggtgtggoc atoggttoca tgcotatga tgcotatga cagcaggtg
1621 octcoggggt ttocattagc acogcagag tgcagggag aattgocac goggggaa
1681 aaggtcagaa aggtotott octgtgata gacgtatc ttggaaocaa aagocgtaca
1741 ttggagacog gaacoggtat attggagac caagcogta cgtgggac cgttcaoc
1801 tgaatgagc tgatatana gagaacag gogatttt cgtcacaac tcttanaac
1861 ttattaaaac tcttanaac ogcoggtgt gtcacacat gtcogcagc ogcagcog
1921 aagaggtcga aagagocot acottoggt cgtgocgt octacogoc gogcoggtg
1981 gtcoggtat cagcoggtgt ggcogtoca aatgctggt octacogoc gacatocac
2041 cagggcgggt acagcogoc cgtgocac tocacogoc gogocacac caagocacoc
2101 tgocogcog gtttgtgta tgcoggtga aactogac acatgagc cagcagagc
2161 gtcacogct gtcgtgaag gacoggggt agcagacag cagcoggggt cagcogcog
2221 ggtgtggog ggtgtggog cagcoggtg acocogtgc gtagogtag cagaggtat
2281 aotgottaa ctatggocg taagacaga ttgactgag agtgaacac atgoggtgtg
2341 aatagocga cagtgocga aggaacac acogcogoc gogototoc gcttctocg
2401 tcaogtgc gogcogcog gtcogtgc gogcoggggt ggtacagc cactaagag
2461 oggtatagc gttatocac gacoggggt atagocag aagacagc tgcagacag
2521 gacagacaa gacogggagc agtaaaag cagcoggtgt gogcogttt cagcogcog
2581 gogcogcog gacogcogc aacatagc gacogcog gacogcog aacogcogc
2641 gacatagc atacogcog ttococogt gacogcogc octgocgt octgtgocg
2701 cagcogcog tacogcagc octgocgt ttococogt gacogcogc gogcogcog
2761 atagocogc octgagat ctacogcog gtaggtgtg tgcotocag octgogcog
2821 tgaacagac cagcogcog cagcogcog gogcogcog octgacat octgtgagc
2881 cagcogcog aagacagc ttatococ gacogcog cagcogcog aagcagc aggtagc
```

【図 17 - 2】

```
2941 gacogaggt ttagcoggt gacacaggt tottgaggt gtcogtaac taogcota
3001 ctgaagagc agtatgtgt atogcogot gtcogagoc agtatcote ggaacagag
3061 ttgtagtgc ttgacogoc aacacacac cagcoggtgt cgtgtgttt ttgtgtgga
3121 agcagaggt taogcogoc aacacaggt ctacagagc tottgtgtc ttgtgtgga
3181 gtcogcogc taogcogoc aacacacac gtaagaggt ttgtgtgtc octgtatgt
3241 ctocacatt gtcogcogc taatgtgac gttacacac aacacagc gacgtgac
3301 gatagttgt ctgtgagoc ttatgtgtc agtgcotc atogcoggt taogcogc
3361 cagagcogc taogcogc agtatcote gacacacat attgocac taotgtgt
3421 atogcogc taogcogc gacacacat totacacat ctgocogc gacacagoc
3481 ttcttcttc gtcacagc agcgtgtc gtcacagc tgcacogc atactggoc
3541 gacagcogc octgtgoc gtcogcogc acatcogc gogcoggt cagcoggt
3601 gogcogc aatgogc acagcagc atacacat gtcacogc agcogcog
3661 gogcogc taogcogc taaggttc tttagocot caatagat ctgttgag
3721 acogcagc agtatcote cagcogc gtcacacag cagcogc atgtgtgt
3781 ttgtgagc agtatcog atacagc atogcogc gtcacagc acotgagc
3841 atgtgtgt gtcacagc totacacat agtgcogc tagcogc agcogcog
3901 atgtgtgt cgtgacac aatgtgtgt totacagc ggaacac gtcotcote
3961 gggagcogc aatgtcote aatgtgtgt atacagc gogcoggt ttacacagc
4021 octagcogc cagcagc acacacat taogcogc gtcacogc gacacac
4081 gogcogc acacacat gtcacagc gtcogcogc gacacac gacacagc
4141 atactgtgt atgtgtgt cgtacogc gtcacogc octcogc atgtgtgt
4201 ttgtgtgt gogcogc cgtgogc acacacat gtcacagc octcogc
4261 cagcogc cgtacogc ttgtgtgt gacacagc gacacagc taocacac
4321 aacacagc taacagc cagcagc cagcogc cgtgacac cgtgogc
4381 gtcogcogc cgtgogc gacacagc atgtgtgt atgtgtgt cagcogc
4441 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc agcogcog
4501 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4561 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4621 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4681 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4741 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4801 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4861 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4921 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
4981 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5041 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5101 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5161 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5221 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5281 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5341 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5401 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5461 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5521 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5581 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5641 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5701 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5761 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
5821 acacagc atgtgtgt atgtgtgt gtcacagc gacacagc cgtgogc
```

【図 17 - 3】

```
5881 gtcacagc ttgtgtgt aatgogc cgtgocag ttgtgtgt taogcogc
5941 ttgacacac aagacacac ttgtgtgt cgtgocag cgtgocag agcogcog
6001 gtcacagc atgtgtgt aagacacac cagcogcog gtcacagc atgtgtgt
6061 agcogcog cgtgocag cgtgocag gacgtgtgt gacacagc atgtgtgt
6121 ttgocagc atgtgtgt aagacacac ttgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6181 gtcogcogc atgtgtgt gacacagc ttgtgtgt gtcacagc atgtgtgt
6241 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6301 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6361 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6421 gacacagc atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6481 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6541 aacacac atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6601 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6661 gtcogcogc atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6721 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6781 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6841 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6901 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
6961 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7021 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7081 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7141 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7201 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7261 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7321 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7381 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7441 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7501 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7561 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7621 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7681 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7741 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7801 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7861 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7921 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
7981 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8041 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8101 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8161 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8221 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8281 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8341 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8401 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8461 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8521 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8581 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8641 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8701 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
8761 atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt atgtgtgt taogcogc gtcogcogc
```

【図 17 - 4】

8821 tatgggtgtt tctttatg gacactga getttatgc tgcagtgcc gagagatgc
 8881 ggtacccccc ggggtccgac aggtccaa ttagcttag atgtgatcc atbtgtctt
 8941 ccgccttcca gtttaacata tcaagtgtt acagatata ttggccggtt aaactaaag
 9001 aaagaggtgt tttatgatc aacgtatct taaaagggt tgaanaagtt tatccgttc
 9061 tcaatttgta tgtctatgc aacccaggg ttccctctgg gataaagta ctttgatcca
 9121 accoatgcgt tgcatactgt cagtcggct atgacgttcc gtgcagccgt cttctgaaaa
 9181 gcaactgtcg caacagtcct aagtttagc aaaggttgc cccctgcctt tttctgtgg
 9241 tttcttgttc ggtgttttta gtgcataaa gtagaatact tgcactaga accggagaca
 9301 ttaagccatg acaagagcgg ccgcgcgtgt cctgtcggc tatcccggtg tcaagacoga
 9361 gcaacagagc tgaacaaac aacggcgga actgcacgg gccgcgtgca ccaagtggt
 9421 ttcagagagc atcaacggca ccagcgga ccgcgcggag ctgcacaga tctttgaca
 9481 cctacgcctt ggcaggtgt tgaactgac aagctagac ccgttcggcc gccacagcc
 9541 gcaactactg caacttgcgt agcatatca ggaagccgg ccgggcctgc gtgcctggc
 9601 agagccgggt gcgcacacca cccagcggt ccgcgcgtat gtttgacgc tgttcgcgg
 9661 catgtgcggc ttgcaggtct cctaatcat cgaacgcac ccgagcggtt gcagagcga
 9721 caagcgccga ggggtgaagt ttgaccccg cctacaccta acccggtcac agatgcgc
 9781 ccgcgcggag ctatgcacgc aggaagcgg caacgtgaaa gggcggtctg cactgttgc
 9841 cgtgtcctgc tgcacccctg acccgccct tgcacgcga gaggaaagta cgcacacga
 9901 gccacagcgg ccgcgtgctt tctgtgcga cgaatgacac gacgcgcgg ccctgcgcg
 9961 gccgcgaagt caagccagac agaaacacac ccaaacccgt accagagcg ccagacaga
 10021 ccgtttttta ttaacagaa gatccaggg gatgtgatg ccgcgcgtta cgtttgcag
 10081 ccgcgcggcg aagcttcaac gtgcgcgtg atgaaatcc tggccggttt gttctgcag
 10141 aagtcggcgg cctggcgccg cagcttgccg gctgaagaaa ccgcgcggcg cctctataaa
 10201 aggtgatgtg tattttgata aaacagctg cgtcagtcgg tgcgtcgtta tatgtgga
 10261 tggatgaata acaaatatg aacaggagc cctgaaggt talogctgta cttaacaga
 10321 aagcggtggt aggaagagc acatcgcaa ccaatctaga ccgcgcgtt caaatgcgc
 10381 gggcgatgt tctgttgtt gattccgat ccaagggacg tgcgcgcgt tggcgcgcc
 10441 tggcggaaga tcaacgccta accgttgtg ctgcagcag ccacagatt gacgcgcgc
 10501 tgaagcgaat ccgcgcggcg gacttgtag tgaagcagc aggcgcgcgc gggcgagct
 10561 tgggttgttc ggcacacag gcaagcctat tctgttgtat tccgtgtcag ccaagcctt
 10621 aagcactatg ggcacacag gacttgtgt agtgtgtta gcaagcatt gaggtaacg
 10681 atgagaggtt caagcgccg tttgttgtt ccgcgcgtat caaagcagc ccgactgcg
 10741 gtagaggttg ccagggcgtg gccggtagc agtgcacat tcttga

Figure 17.

【図 19 - 1】

1 gtcccgatc accgagcggt tgaatcac aggcactgac gccgcggca caacgcttt
 61 tgaatcaga accgagggcg agctgtccg cgaagctcag gctgtgccc ctgaatcaa
 121 atcaaaactc atttgagta atgagtaaa gagaataa gcaaaagac acaacagcta
 181 agtccgccc gtccagcgcc accgacgac aagctgcaa cgttgcacc cctgcagac
 241 accgacga tgaaggggt caacttccg ttgcgcggc agatcacac aagctgaag
 301 atgtaagcgt tgaagcagc aagacacat accgagctg tatctgaca cagcgcgag
 361 ctaagcaggt aatgagcaa atgataaat ggttagatg attttgccc ctgaagagc
 421 cggatgga aatcaagaa aacagagac ccgcgcgtg gactgcaca tgggtggc
 481 aacggcggtt tggcagcgg taagcgctg gttgtctg ccgcgccta alggcctgg
 541 aaccccaag ccgcaggaat ccggtgacg gtgcacaa ccgcgcgcg gtaacatg
 601 gccgcgcgt ggttgatga ctggttgaga agttgaagg ccgcgcggcc gccacggcg
 661 aacgatacga ggcagagca ccgcgcgtg aatcgtgga accgcgcgt gatgatac
 721 gcaagaaac ccgcgcagc ccgcgcgcg gtgcgcgtc gattagagc ccgcgcag
 781 gcaagagca acaagattt ttgcttcca tgcctatga cgtgggcac ccgatactg
 841 gcaacatca ggaactgac gtttccctc tgcgcagc tgcgcagca gctgcgag
 901 tgaactgca cgaactcca gacgggacg tagagtttc ccgagcgcg ccggaatg
 961 ccagctgga gatacaga ctggtatga tggcggttc ccaatcaac gaaactga
 1021 accgatccg ggaaggaag ggcagacag ccgcgcgtt gttcgtcca cagcttgcc
 1081 acgtacaata gttctgcgt ccgcgcgtg ggcgaagca gaaagacac ctggtgaaa
 1141 cctgctatg gttaaacac accgacgtt ccatgacg taccagagc gccacagc
 1201 gccgcgtgt gagggtatc gagggtgaag ccttgatg ccgtacaag atcgtaaa
 1261 gcaaaacgg gccgcggag taaatgaga tgcagatg tgggtgatg taacgcgga
 1321 tcaacagag caagaaacc gactgtgta cgttccac cgtattctt ttgactgac
 1381 ccgcgcgtg ccgtttctc taacgcgtg ccgcgcgcg ccgcgcagc gaaagacga
 1441 gatgttgtt caagcagc taccagacg gggcgagc ccgaggttc aagaattct
 1501 gtttccgtt ggcagagc atgggtcca algaactgc ggaactgct tgaagagc
 1561 agcgcgcca gctgcgcg atctatgca tgcagatcc caactgac gggcgagc
 1621 cctgcgcgt tctctatg accgagcga tgcagagca aatgcctta gaaaggaaa
 1681 aagtgaaa aggtctctt cctgtgata gcaatcac tgggaacca aagcgtaca
 1741 ttgggaacg gaacccgat atgggaac caacagcta cactggac ccgtcacca
 1801 tgaatgac tgaataaaa gaaanaaag gctatttcc cgtcaaaa tcttaaaa
 1861 tatataaa ttttaaaac ccgcgcgtt gttcaaat gttcgcac ccgcgcgcg
 1921 aagagctca aagagcct accctcgt cgtcgctc cctacgcc ccgcgcgt
 1981 gtcgcctat ccgcgcgtt ggcgcctca aatggctg ctaacgcca ggaactcat
 2041 ccgaggggt agggcgcg cgtgtccac tgcgcgcgt gccgcgcgt caaggaacc
 2101 tgcctgcgt cttgtgtga tgcagtgaa taactgac aatgcagct cccgcagc
 2161 gtaacagct gttgtgag ggtgcggg agacacac ccgcgcgt ccgcgcgcg
 2221 ggtgtgccc gttgtgcgg ccgcgcgtt acccagcac gtagcagc cgttgtgat
 2281 actgtgtaa ctatgcga taccagcga ttgtacag agtgcacat atggtgtgt
 2341 aaataacga cagatgcta aggaagaaa accgcacag gctctcttc gctctccg
 2401 tcaatgac gttgcgtg gttgtcgg tgcgcgcg gttacagc cactcaagg
 2461 cgttaacag gttatcaca gaacagggg ataacgcg aagaacatg tgaagaaa
 2521 gcaagcaaa ccgcgcgac ctaaaaag ccgcgtgct ggcgttttc ctagctctc
 2581 gccgcctga cagatgac aaaaacgac gttcaagta gaggtaga aacgcgcga
 2641 gactataaa atcaacac tttccctg gactgcct cgtgcgtct ccttccga
 2701 ccgcgcgt taccagat ccgtccgt tctccctc tccgcctg ggcgtcttc
 2761 atagctcac cgttgatg ctacagtc gttagctgt tgcctcac cttgcgtgt
 2821 tgcacgaac ccgcgttc ccgcgcgtt gcccttct cgttaacta cgttgtgat
 2881 caaacccgt aagacacac ttatgcac tggcagc cactgtaac aggtataga
 2941 gagcagcta ttagagcgt gtaacaggt tctgaagt gttgctaac taagctaca
 3001 ctgaagac agtatgtgt atctgcctc tgcagagc agtcaact gaaanaagc

【図 19 - 2】

3061 ttgtagctc ttagtcggc aaacaacaa ccgtgtgag ccgtgttt ttgtttga
 3121 agcgcagat taaggcgca aaaaagat ctcaagaga tcttttgtt ttctttaa
 3181 ggtctgagc taagtgaac agaaacac gtaagagat ttggtatg atgatatat
 3241 ctccaaatt gttgaggtt tatatgac gttcaaaat aataaaga gactgaact
 3301 gatagtgtg ctgtgagcaa tttgttgt atgactata atogctgag ttaacgcgg
 3361 agagcgccg tgcgttgga cgaatttca gtagaactt attgagcag taactgtgt
 3421 atctgcctt tgcagtgtg gaaacattt tcaactgat ctgcgcgca ggcacagga
 3481 tcttctctt gtaacagta agtgtctta gttcaagta tgaagcgtt atactggcg
 3541 ggcagcgct caattgcca gtgcgcgac caatcttcg ccgcgcgtt ccgcgttat
 3601 ggtgtgac taagtggga caagtagc actcaattc gttactcgc agtcagcgt
 3661 ggcgcgggt tcaataggt taagtgtta tttagcgt caaatagatc cgttcgga
 3721 accgatcaa agcttctc ccgcgcgtt ctaacagag ccagctatg ttcttgtt
 3781 ttgtgcaga agtagcgg atcaatgtg atctgcgt gtcgaagat acatgaaga
 3841 atgtatgtc gctgcacat tcaaatgt agtgcgct tagtgatga accgcagga
 3901 ttgtgtgt cgtgcacac aatgtgat tcaacagc ggaatctc gctcttcca
 3961 ggggaagc agtttcaa agtgtgtg tcaaaact cccgcgtgt tcaatgaag
 4021 ctacgctca ccgtaacg caaatcata tcaatgtg gtttcagcg gcatcaca
 4081 ggcagcgtt caaatgac ggcgcgac cgtgttga gatggctc gatagcga
 4141 actacactg atagtgtt cgaattgt ggaatcgc ctccacac gattttaa
 4201 ttgttttg ccgcgcgt cgtgtgta acatgttgc tgcacata caacacat
 4261 gcaacccg agtaacggt ttgtgtgt gttgcgcg gtagactg taacacaaa
 4321 aaactgtca taacagag cactgaac ccgcgcgt ccgttacac cgtgtctt
 4381 gttcaaggt ctgagcag tgcgtgag cagtacgt acttgata accgtaga
 4441 accgaagc gttatgtcc actggtgt tgcgcgaa gatcaacg agcaagct
 4501 tgcctgtt caatacaca tgcacctc ccgcgcgt cgtgttcc aacccgcga
 4561 gtttgtgt cgtcttccg aatgacgt gtaacagc caagctgc cgtctcaa
 4621 cgtcttcc gttgcgcg tgcgcggt atggtgac tgcacagct gttgttgt
 4681 tgcgcgtt ccgttcgg ccgtgtgt gttgtgtt cagatatt ttgtgtta
 4741 caaatgac gttagaca attaataa cactgcgc gttttatg taatgata
 4801 accgcgaat gaattctg agtagctg atcatttaa attagagc ccgcgcga
 4861 tctctctt agtagagc cttaataa atagatata caggtaag ccgcgcga
 4921 ataaagac gccaggtga ttaacatt ttgatagaa agttgtct ccgcagtg
 4981 tccaaagt ggaacccac ccgcgcgg cactgtgga aagaagag ttaacacac
 5041 gtttcaag caagtgtt gttgtgata atgtgtg gacacact tgcctact
 5101 caaatatc aagatcac tcaagaga caaaggggt atgagact ttaacaaag
 5161 gttatctg ggaacccc tgaatcca ttgcgcgt atgtcttc ttaacaaag
 5221 gactgaga aaggaaggt gctcaaaa atgcatac tgcgttaa gaaactat
 5281 cgtcaagt cctctgag accgtgct caaagtga ccccccac cggagcgt
 5341 cgttgaaaa gaagcgtc caacagct tcaaacga gttgtgat gttatctc
 5401 caatgaag aggtagag caacatcca ctactctg caaacctt ccttatata
 5461 aggaattca tttacttt agggacag ctgaaagt ttcaaaaa gaggatg
 5521 caatctat taccgac ctcttact atctccgc ggtacggg aggttctg
 5581 ggcgttgg tggagagct atgtgact cactgagc aacacacat ccgtgctc
 5641 gtcgcgcg tgttgtgt gtcgcgcg gggcgccg tcttttgt caagacgac
 5701 cgtgcgcg cctgagta atgcgac ggcgcgcg ggtatctg gtcgcgcg
 5761 ccgcgcgt atgcgcag tgtgtgac gttgttgt aagcgagc gttctgtg
 5821 ctattggc aagtcgcg gcaatctc ctgtatct acctgtct tgcgcgaa
 5881 tctgaacta tgcgtgat agtggcgt ctgcacgc tgcacgcg taactgcca
 5941 ttcgcacac aagcaaaa tgcacgag cgaagata ctgagta agcgtctt
 6001 gttgacag atgattga agaaagat cagggtgt ccgcgcga actgtgct
 6061 aggtcaag ccgcgcgc ccgcgcgt gattctgt tgaacagc agtgcgtg
 6121 ttcgcgaca tcaagtgga aagtgccg tttctggt ctaactgct tgcgcgcg

【図 19 - 3】

6181 ggtgtggcg accgcatac ggaactagc ttggtaccc gttatgtg tgaagcct
 6241 aggtgagc ggtgtgag ctttgtgt cttagagc cgtatgag cgtatgag
 6301 accgcgtt ttctgtgg ttctgtgag ttctgtgag cccagcttt ttctgtgag
 6361 ttggtgagc aaaaatcac agtctctc taacatac tctctctc tttcttca
 6421 gaataatg ttgtagtct caagtaag gaattaggt tcttaggt ttctgtgag
 6481 gttgtgag taaagaaa ccttagtat tatgttat tgaataac tctctaat
 6541 aaaaattc atctcaaa caaatcca gttaccca cttattata ctagtgtat
 6601 attaactgt cgtgttat tcaatggt ccgtgtgac aatcaacc cttaggata
 6661 caggttaata actaaacg tcaagta ggcgcgcg caagtaaa accagcga
 6721 gtaattat aatttgtat aagaagtg gtttgtct tctagatca tctcaaac
 6781 ttgtattat caaaaat taaataat actaatga actgttct taagaaat
 6841 aagatata ctttttact tatataa taactaat ctttaatt gttccttca
 6901 caactctt caaaaat tgaacagc tctatgtt aaaaacca caaacagga
 6961 ttgcgcatt caaatatg ttctcaac taacatag caataagta aatagaga
 7021 caactagat cagtttga aaaaacca agcctata cgttttct atgaactg
 7081 gcaacagc cgtgtgat ttgcgttt tagtttat ctaaacaa aaaaacaa
 7141 ttaattata gataaaa aaaaagga ccgcgcga ctgacacat ctcaaatg
 7201 gtttcaaa ctctctta gaacaaat aggttcaa cttctctc actcctctc
 7261 tctctctc tctctctt taacaact tctcaaaa gctcaatt ctctcaaa
 7321 agatcaga gaagacaa gtttgaac aaagcggt taactgaa aactatg
 7381 accgtatc aatttgtt caactgca caggaagc gacgcgcg atagctgt
 7441 ccgcgcag aggttcca gttcttgc ttgagcgt ccaatgct ctaactat
 7501 caacgcag ccgcgcga accgtgag aactgaag ccgcgcgt ctaactgt
 7561 atgctgag cgtgtgag ggtatcat cagcaagca agtctcat aggtgat
 7621 agagtgta taactag gccacagc ggttatct ttggggga tcaactgt
 7681 tgcactgt cagcgcca aacgatct ggtgtgag ttttgtgt ctattatc
 7741 gccacagt accgcaca gacactca tgaagcgc caagcgca gttagaga
 7801 tgttgccc cgtgcgcg ctttatata tcaaggtt ggttatct ttgagagc
 7861 ccgtgagc gcaactgt aagagtg atgagctg atagatgt ttgttga
 7921 gccacaca gatacaga gatatact ttgagtg gacagagc gaagatgt
 7981 ttgtaagt gatcgcag gatattca tcatgcgc ccaagcga cgaatgt
 8041 ccaagatga ccgcgcgt ttgcagat tgaagtc ttgttga atgtatgt
 8101 taacagct tttgtaca agtgagat tcaaacat ttgcataaa gttttat
 8161 atgtactt gttgcgtt ttgcagat tatcaata ttttgtga atagttaa
 8221 gattgata ataatgtt aatgacga gttattgt agtaggtt ttatgtat
 8281 agtccaca ttaacatt aatcgat gaaacaaa atatagc caaactga
 8341 taattatg ccgcgcgt cttatgtt actagatca acttatat aatagatga
 8401 taattatg ccgcgcgt atctatga ttgcagtg cgtatcac gttatctg
 8461 aaggttca agtgagc gaaacaga taattat tttatgtt atagtgtt
 8521 cgcagcga cgttgtat cgtcagct ggcagatg ggttcagc ccgcgcgt
 8581 accgcgca gttagtg agttggt agttgtt ttcgcgtt ctttgtat
 8641 tatagtg ttgcagga tattgggg taaacatg aagaagag gttattat
 8701 atacagata tttaaggg cgtgaagc ttatcgtt cgtcatgt tatgtgat
 8761 caacacag gtttctct ggtataag taattgat caacatct gttgatg
 8821 ttgagtcg ttgtgact cagtgaac gttctgca aatagact cgaacatc
 8881 atagttag cgaagcgt ccgcgcgt ctcttgtt cgttttgt tgcgtgtt
 8941 tatgtgata atgtgata ctgcata gaaacgga ctaagca tgaagag
 9001 ccgcgcgt ggtgtgag gataagc cgtgaac ggcgcgcg actgaaga
 9061 caacgcgc gactgag ccgcgcgt caacagat tttcagca agtgcagc
 9121 caacagcg gacgcgcg agtgcagc gatgtgac caatagc ccgcgcgt
 9181 ttgtacag accagtag ccgcgcgt ccgcgcga ccgcacac tgaactga
 9241 ccgcgcgt caggagcg ccgcgcgt ggtatg cgaagcgt ggcgcgcg

【図 19 - 4】

9301 caacacagoc goocgocgca tgggtttgac cgtgttgcoc ggcattgocg agttcgagoc
9361 ttoccttaac atogacocga ocogagocgg gogcagagoc gocaagggoc gggcgttgaa
9421 gtttgococ ococctacoc toacocogoc acagatocog caocogocog agctgacga
9481 ocagggaagg ocococgtga aagagggocg tgcactgctt ggcgtgcato gctocacoc
9541 gtaocgocga ctggagocga ctggaggaag gacgocacac gagcogcaga ggcgcgttgc
9601 ctctcgttgg gactgaatga cggagcoga ogocotggoc ggcgcgaga atgaagocga
9661 agaggaacaa gactgaacoc gacacggagc ggcacggocg aacocgtttt cactacoga
9721 gacgatocag ogagatgaat ogcgocggcg taagtgttcg agcgcococga gcaotcoca
9781 acocgtggcg tgcataaact cctggocggt tbtctgatag ccaagctggc ggcotggocg
9841 gccaagcttg ocgotgaaga aacocagocg ogocgotaaa aaagtgatg tgtatttggg
9901 taaaacagct tgcgtcatgc ggtgcgtgcg tatatgatgc gatagtaaa taaaacaata
9961 cgcgaaggga acgatgaag gttatgcgtg tacttaacaa gaaaagcgcg taaggcaaga
10021 cgaacatocg aacacatcga gcoocggococ tgcacatocg cggggcogac gtctgtttag
10081 tgcattcoga tgcocaggcg agtcocggcg atggcgocg cg-cggggga gtaacacag
10141 taacogttat cggocagcga cgcocggcga tgcacocga cgtgaaggoc atocggocg
10201 ggcagttcgt agtgaacagc ggcagcgcoc agggcgoga cttggctgtg tocgcgatca
10261 agcagcoga cttcgtgtct atcoggcg cgcacagcct taacacata tggcgacncg
10321 cgcacgttgt ggcagtggtt aagcagcoga tbgagttcac ggcaggaagc atacaagcgg
10381 ccttctcgt tgcgcggcg atacaagca cgcacatcgg cgtgaaggt gcgcagcgc
10441 tggcgggga cgcagtcococ atbtctga

Figure 19.

【図 21 - 1】

1 gtoocgtatc aogcagggcg tgcagtaacc aggcactgcg goocgocgca caacogttct
61 tgcactaaga ocogagggcg acgotgocog cgcagctcog ggcgtggcg ctgaataaa
121 atcaaaactc atttgatga atgggttaaa gagaataatg gcaaaagac caacocgcta
181 agtgocggcg gtoocagocg acocgaocag aagctgocaa cgttgocogc cctggcagc
241 acgcacoga tgaaggggtt caacttcaag ttgcocggcg aggtatacac caagtcaga
301 atgtacggcg taocgocagg caagacacat acocgctgc tctctgata cctgcogcg
361 ctacacagat aatgagocaa atgataaact gactagatga attttagcg ctaaaagagg
421 ogcgttgaa aatcaagaac aacacggcac cgcagcogtg gactgococ tctgttgagg
481 aacggcggtt tggcagocg taagocggcg gctgtctgc ggcocctga atgcactgg
541 aacococagg ocogaggaat cggcgtgacg gtogocaaoc atcgcgcoc gtacaaatcg
601 gcgcgcgctt ggtgatgac ctgttgaga agtgaaggc cgcgcagcgc cgcocagcgc
661 aacgacatga ggcagaaga ogccocgggt aatcgtggca agcgcgcgt gatgaatcc
721 gcaagaatc cgcgcaccg cgcgcagocg gtcgcogctc gatlagaga cgcocaaag
781 ggcagacga acagatctt ttctgcga tctctatga cgtgggacoc cgcgatagtc
841 ggcagatcac ggcgtgcgc gtttccgc tctcgaagc tgcagaagc gactggcagg
901 tgcctcgtc cgcgttcca ggcgggacg tagaggttc cgcagggcg ggcgcgtg
961 caagtgctg gatataga ctgtactga tggcggttc cacttaac gactacaga
1021 acgatacog ggaaggaag ggcagcagc cgcgcggcgt gttcogtcca cacttgagg
1081 acgtactoca gttctgcgg cgcgcgatg ggcgaaga gaaagcagc cgtgtgaa
1141 cctgcattcg gtttaaacoc aogcagctg cactgcagc tactgaagc gcaagcagc
1201 ggcgcgttgt gaogttatc gaggtgaag cctgttagc cgcgtaca atcgtaaaga
1261 ggcgaacogc ggcgcggag tactatgaga tgcagtagc gacttgatg taocgcaga
1321 tcaacagaag caagaacocg ggcgtgctga cgttcaacc cgtatctt ttactgcctc
1381 cgcgcgtcgc cgttttct tactcgcgtg acgcgcgcgc cgcaggaagc gcaagaagc
1441 gatgttgtt caagaagtc tactgaacga gtcgcagc cgcaggttc aagagttct
1501 gtttcaocgt ggcagagct atcggttcaa atgactgc atgactgc tgaagagg
1561 agcggggcgg ggcgtgcgc atcactga tgcgtacgc caactgctc gaggcgag
1621 cactgcgcg ttctaatgt aagagcaga tgcagggca aatgoccta cgaaggga
1681 aagtgcaaa aggtctctt cctgtgata gcaactcat tgggaacoc aagcgtaca
1741 tggggaacgc gaacocgtac attgggaac caagccta cactgggaac cgttcaaca
1801 tgcagtagc tactataaa ggaaaaaag ggcatttct cgcctaaca tcttaaac
1861 tctataaaa tctataaac cgcgtgctt gtcataact gtcggcagc cgcagcagc
1921 aaggtgcgc aaaaagcct acocctcgt cgcgtgcct cactgaacoc ggcgttgc
1981 ggcgcctat cgcgcgcgt ggcgccta aatggcgcg cgcgcgcga ggaactcac
2041 cggcgcgga aagaagcgc cgcgcgcgc tgcgcgcgc ggcgcgcgc caaggaacoc
2101 gctcgcgc gttcgtgga tgcagtgga aactctga acactgac cgcgcgcgc
2161 gtcacagctt gctgtgaag ggcgcgcgc agcagcagc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
2221 ggtgttgcg ggtgtgcgc cgcgcgcgc acocagcgc gtcgcgcgc cgcgcgcgc
2281 actgtgtaa cctgtgcgc tgcagcaga tctactgag agtgcacat atcgcgtg
2341 aactagocga actgactga aggaagaa acactgac ggcgtcttc gctctcgc
2401 tcaactgac gctgcgcgc gtcgtgcgc tgcgcgcgc ggtactgct cactcaagg
2461 cgttaagct gttactaca gactcaggg ataacagc aagaacatg tgcagaaa
2521 ggcgaacaa ggcaggaac cgttaagc cgcgcgtct ggcgttctc cactgctcc
2581 ggcgcgcgc cgcgcgcgc aaaaagcgc gtcacgta aggttgga acocgcagc
2641 gactataag ataacagcgc tctcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
2701 cactgcgcgc tgcgcgcgc cgcgcgcgc tctcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
2761 atagctcgc cgtaggtat cactgcgc tgcgcgcgc tgcgcgcgc cgcgcgcgc
2821 tgcagaaac cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

【図 21 - 2】

2881 caacocggc agcagcgcg tctcgcgc tgcgcgcgc cactggaac aggtataga
2941 ggcgcggga tgcagcgcg gtcacagct tctgaagct gtcgcgcgc tactataga
3001 ctgaagga agtatttgt atcgcgcgc cgtgcagc agttaccta ggaanaag
3061 tctgtatgc ctgcgcgc aaaaacac ocgctgtag cgtgtgtt tctgttga
3121 agcagcag tactgcoga aaaaaggt atcaagaaga tcttctgct tttctacga
3181 gctgcagc tgcaggaac gaaactcac gttagggat tttgtctg cactgataat
3241 ctcccaatt gttagggct tactatgac gcttaaaat ataaagca gactgact
3301 gatagtttg ctgcgcga tctgtgct agtgcata atcgttgg ttaocgcgc
3361 cgaagcgc toggttgaa cgaattcta gtagacat atttcgcac taactgtg
3421 atcgcgcct tgcagtagt gaaactat tcaactgac cgcgcgcgc ggcagcga
3481 tctctctct tcaagata agcgtgcta gttcaaga tgcgcgcgc atactggc
3541 ggcgcgcgc cactgcca gtcgcgcgc acactcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
3601 ggcgcgcgc aactgcca ggcgcgcgc acactcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
3661 ggcgcgcgc tcaactgct taaggttca tttagcgc caactgac cgttgcga
3721 acgcgcga aggttctc cgcgcgcgc atcaacagc cgcgcgcgc tctctgct
3781 tctgcgcga agtgcgcgc atcaagct atcgcgcgc ggcgcgcgc acactgac
3841 atcgcgcgc gtcgcgcgc tcaactgct agtgcgcgc tactgaga agcgcgcgc
3901 atcgcgcgc gtcgcgcgc atcgcgcgc tcaactgct agtgcgcgc ggcgcgcgc
3961 ggcgcgcgc aggttcca aggttctg atcaactc ggcgcgcgc tctctgac
4021 ctgcgcgc cgcgcgcgc acactgac tcaactgct ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4081 ggcgcgcgc acactgac ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4141 atcgcgcgc atcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4201 tctgttgg ggcgcgcgc cgtgcgcgc acactgct gtcgcgcgc atcaactc
4261 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4321 aacactgct tcaactgac cactgacac cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
4381 ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4441 acgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4501 ggcgcgcgc acactgac ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4561 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4621 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4681 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4741 acactgac ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4801 acgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4861 tctctgta aggtgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4921 atcaactc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
4981 tcaactc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5041 ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5101 acactgac ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5161 ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5221 ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5281 ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5341 ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5401 cactgac ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5461 aggaagct tctctgct aggcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5521 cgcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5581 tgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5641 ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5701 atcgcgcgc ggcgcgcgc atcaactc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5761 aggaagct tgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc

【図 21 - 3】

5821 caaggggtt cactgga ggcgcgcgc aacgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5881 ggcgcgcgc cactgga ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
5941 atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6001 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6061 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6121 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6181 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6241 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6301 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6361 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6421 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6481 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6541 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6601 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6661 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6721 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6781 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6841 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6901 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
6961 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7021 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7081 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7141 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7201 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7261 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7321 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7381 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7441 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7501 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7561 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7621 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7681 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7741 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7801 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7861 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7921 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
7981 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8041 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8101 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8161 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8221 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8281 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8341 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8401 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8461 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8521 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8581 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8641 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
8701 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc atcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc

【図 2 1 - 4】

8761 tatcatataa tttctgttga attagcttaa goattgaata attaacatgt aatgcagac
 8821 gttattatgt agattgggtt ttatgattag agtcccgaaa ttatacattt aatagagat
 8881 agaaaaoaaa atatagcgog caaacatgga taattatag ogcgoggtgt catctatggt
 8941 actagatcaa actttattat acatattgga ttogtgcgaa tgoagtogot acottaggac
 9001 cgttatagtt atgcaaaaa gattattatg ttattatagg ttgttcttta tgggaaact
 9061 gaoggtotta tgcotgcaag tgcgagaga tgcggttaac gccocggcgt cgcagagoot
 9121 aagtttagct tgaagtgtga tcaagtgtgc gtcttcgcgc ttcaatttaa actatcagtg
 9181 ttgcagga taatttggcg ggttaaccta agaaaaaga cgtttattaa gaataacgga
 9241 tatttaaaa ggggtgaaaa ggtttaccta ttgtccatt ttatgtgaa tgcaaacac
 9301 aggttccccc tgggtatcaa agtacttga tcaaacccct ccgttgtcat agtgcagtcg
 9361 gttcttgacg ttcagtgca agctgtcttg aaaaagacat gtgcacaaag tccatagtta
 9421 ogcgacaggo tgcgpgcgt cccttttctt ggggtttctt ttgtcggtgt ttatgtgca
 9481 taagttagaa tacttgagac tgaagacgga gaattatcgc catgaacag aggcgtgcgc
 9541 ctgctgtgct ggtctatgc ogcgtaaga cgcagacga ggaattgca aaocaaaggy
 9601 cgaantgaa ogcgpgcgtg tgcacaaagc ttgttccga gaagtcaac ggcacacggc
 9661 ggcacgcgcc ggaagtgcgc aggtatgctt acaactcag ccctgcgac gttgtgcaag
 9721 tgcacagctt agacgtcgtt gccgcagga ccgcgacact actgacatt gcgcagcga
 9781 tccagagagc ogcgogcggt ctgcgtagcc tggcagagcc gtcggccgc acocacccgc
 9841 ogcgccgcgt catgtgtgtt acgtgttgtt ccgcacgtc cgaattgagc gtttccctaa
 9901 tcatcgagac caoccgagcc gggcgagagc ogcgacagcc cgaagtgtt aagtttgcc
 9961 ccgcgcctac cctccacccc gcaacagatg cgcacgcgc ogagtcat gaacaggaag
 10021 gcgcacagct gaagagagcg gctgacgtg ttgcgtgaa tgcgtgaa ctgtacogcg
 10081 caattagagc cagcgagga gtacgcgcaa cgcagtcgag gcggcggtgt gcttccgtg
 10141 aggaagcatt gacagagga cgcgcctggy ogcgccgca gaatgaagc caagaggaac
 10201 aagcatgaaa cgcacacagc agcgacagga cgaacgttt tcatcagcc aagagatga
 10261 ggcggagatg atcgcgccg gttacgtgtt cgaacgcgc gcgcagctct caacgtgtg
 10321 gctgcatgaa atcctgcgc gtttgtgta tgcacagct gcgcgcgtgc cgcgcagctt
 10381 gcgcgtgaa gaacacagc gcgcgcctct aaaaagtgta ttgtattgt agtaaacag
 10441 ctgctgcat ggcgtgcgtt cgtatgatg cgaatgagta aataacaaa taocgaaggy
 10501 gaacgcagga aggtatgcg tgaattatgc cgaagaggy gttcccgga gaagccatc
 10561 gaacccatc tgcgcgcgc cctgaacct gcgcggggcg agttctgtt agtcgatcc
 10621 gatcccgag gcagtgcgc ogattggcg agattggcg aagtaaac gctaacggtt
 10681 gtgcgtcgt accgcgcgc gattgagcc gacgtgagc ccatcgccg gcgcgactc
 10741 gtagtgatgc acgagagcc cgcgcgcgc gactggctt tgcctgcag caagcagcc
 10801 gacttgctg tgaatcggt cgtgcgcgc actgacaa tgcgcgcac cgcgcagct
 10861 gtgagctg tgaagagcc catgaggtt acgattgaa gtcacagc ggccttgct
 10921 gtgtcgcg cgaacaaag cagcgcatc ggggtgaggy ttgcgcagc gctgcgaggy
 10981 taagagctgc ccaattgtga

Figure 21.

【図 2 3 - 2】

2701 cccgtgcgt taocggatac ctgtccgct ttctccctt gggagagtg gcgctttct
 2761 atagctcaag agttaggatt ctcagttggy ttgatgtgct tgcctcaag ctggcggtg
 2821 tgcacgaacc cccgttgag ccgcagcgt gcgccttact cgttaactat cgttttggt
 2881 ccaaccoggt aagcacagac ttatgcgca ttgcagagc cactgtgaa aggattaga
 2941 ggcgaggtta tgttagoggt gctacagagc tcttgagtg gtcgctaac taoggtaca
 3001 ctagaagga agtacttggt actcgcctt tgcgtgaac agttacttt ggaanaagag
 3061 ttgttgctc ttgatccgg aaaaacaaa cccgtggtag cgtgtgttt ttgtttgca
 3121 agcagcagat taocgoga aaaaaggat ctaagaaga tcccttgatc ttcttaagc
 3181 ggtctgagc taagtggaac gaacctaac gttaaaggt ttgtgtatg catgataat
 3241 cctccattt gttagggtt tattatgag ccttaaaat aataaaga gantgact
 3301 gatagttyg ctgtagcga ttatgtctt agtgatcta atcgttgag ttaacgcgc
 3361 cgaagcgog gctgcttga agaatctta ctagacact attgcgac taacttgyt
 3421 actatgcct tcaagtgtg gacaattct tcaactgat ctgcgcgca ggcacagga
 3481 tcttctctt gtaagaata agctgtgta cctcaagta ttgcagtg gtcggtgtt atactggcc
 3541 ggcagcgogt ccaatgcca gtcgcgcgc acatccctg gcgcgattt gcggttaact
 3601 gcgtgtaac aaatgggga caactgaac actcaattc gctactgc agccagctg
 3661 ggcgcgagtt tcaatagct taagtttca tttagcgtt caaatagat ctgttcagga
 3721 accgataca agagtctct cgcgcgtga ctaaccaag caactgatg ttctctgt
 3781 ttgttcagca agtaggcag atcaatgctg atcgtgtgt gctcagagt acctgaaga
 3841 atgtacttg gctgcactc tccaattgc actcagtg tgaoggtgt tagttgata agcgaacga
 3901 atgtgtgct cgtgcacac aaggtgtgac tctacagcg ggaatcatc gctcttcaa
 3961 ggggaagcog aagtttcaa aagtgctgt atcaagctg gcgcgtgtt tctactaag
 4021 cttaagctta cgttaacgc caactcaat tcaatgtgt gcttcagcg gcaatccact
 4081 gcggagcgt acaaatgac ggcgcgcaac cgcgttgga gatgagctg gatgagcga
 4141 actactctg atagttagt cgtacttgc actcaagta gctactgcg ctcccccact gatgttaac
 4201 ttgttttag ggcgatgoc cgtcgtgta actcagtg tgaoggtgt tgcctcaat actcaaat
 4261 cgaacccagc cgttaacgc ttgtgtgtg gatgcgcgc gcaatagct taocccaaa
 4321 aaactgtca taacagagc ontagaac ogcactgc oggttaac cgtgtgct
 4381 gttcaagtt cgtgacagc tgcgtgagc agtttagct acttgatca cagcttaag
 4441 accgaagag gctatgtgc acttggtgtg tgcocgaatt gatcaaggy agcaagctg
 4501 tgcactgtt acaatacaa tgcataccc ogcgatga ctaacaggy atcaacgcga
 4561 gcttagtgc cgttctctt aatgacatg gtaacatg caagctgtg cgccttcaa
 4621 cgtctctcc gctgacgc tcccgagct agggctgcg tgcacaggt ggtgatttg
 4681 tgcagagct ccgctcggy agctgttgc tgcgtggtg caggaataat ttgtgttaa
 4741 acaattgac gcttagcga cttaataca cactgggac gcttttaag taatgaata
 4801 acgcgaatt gaattccg agtagtagg atccattaa actatagag cgcgcgata
 4861 tctctotta aggtagagc ccttaata ataggataa caggttaag cgcgcgag
 4921 ctaaaagac ggcagtgaa ttaacact ttgatagaa agttgctct cgcagagtg
 4981 tccaaagat gaaacccac ccacggagc catcgtgga aaagaagag tccaacoc
 5041 gcttcaagc caagtggatt gatgtgaaa atgtgtgag cgcgaactc tgcctactc
 5101 caagatata aagataagc tctgaaga ccaagggct attgacatt ttaacaaag
 5161 ggtatatac ggaacccoc tgcgattca ttgcgcgtt actgtact tcaacaaag
 5221 gcaagtga aaggaaggy gcaactga atgcactat tgcgataag gaaggtcat
 5281 cgtcaagat gctctcgc acagtgcc caagatga ccccccac cgcagagcat
 5341 cgtggaaaa gaagagctt caaacgct ttaacagga gttgattgt gctgatact

【図 2 3 - 1】

1 gtcccgatc acgcagcgog tgaactaac aggcactgc gcgcgcgca caacgctct
 61 tgaactcaa cccgagggog acgtgcgc ogaggtcac gctgtgcgc ctgaataaa
 121 atcaaaact atttgattt ataggtaaa gaaaaatga gcaaaagc aaacagcct
 181 agtgcgcgc gtccgcgc acgcagcag aagctgcaa cgttgccgc cgtgcagac
 241 acgcgcga tgaacgggt caactttag tgcgcgcgc aggtacac caagctgag
 301 atgtacgog taccgcaag caagcactt acagagctg tatctgaa cactgcgag
 361 ctacacagt aatgacga atgaactaa agtagatga atttagog ctaaaagag
 421 cgcgattgaa atcaacga accagacac cgcgcgcgt gaatgcoc ctgtgtgag
 481 aacggcggt tgcgcagcg taagcgctg gttgtctg ogcgctgca atgcactg
 541 aaccccaag ccgcaggaat cgcgtgac gtgcacaa atccgcgcgt gtaacatg
 601 gcgcgcgt ggtgatgac ctgtgtgaa agtgaagc ogcgagcc cgcgcgcgc
 661 aagctgca ggcgaagca cgcgcgcgt aatcgtgca agcgcgct gatcgatcc
 721 gnaagatc cgcgaacgc cgcgcgcgc gtgcgcgc gtgcgcgc gatagag ogcgcaag
 781 gcgcgcgc accagattt ttgttcaa tgcctatga cgtggcaac cgcgcgcgc
 841 gcaactat ggcgtgac gtttctgc ttgcgcgc tgcgcgcgc gctgcaag
 901 gcaactat ggcgtgac ggcgcgcgc tagagctt cgcgcgcgc gctgcaag
 961 caagtgtg ggaatgac ctgtgac ogcgagcc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 1021 accgacac ggaaggaag ggaacagc cgcgcgcgt gttcgcgc cactgtgag
 1081 actgataa gttctgcgc cgcgcgcgc ggaacagc gaagagac cgtgtgaaa
 1141 cgtgactg gtaaaacac acgcgcgc ctgcgcgc tagagagc gcaacagac
 1201 gcgcgcgt gacgttatc gagggtgag cgttgatg cgcgcgcgc atgtgaga
 1261 gcaaacagc ggcgcgcgc tcatgaga tgcagtag gattgagc tgcgcgcgc
 1321 tcaacagag caagacgc gactgtga cgttcaac cgtacttt ttgatgct
 1381 cgcgcgcgc cgtttttct tgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc gcaacagc
 1441 gattgtgt caagacac tcaacagca gtcgcgcgc ogcgagct aagaagct
 1501 gttcactg gcaacagc atcgcgcgc atgcgcgc ggaagact ttgaagag
 1561 agcggggca gctgcgcgc atcactga tgcgcgcgc caactgac gaggcgag
 1621 cactgcgc tctactgt cgcgcgcgc aggcgcgc gctgagca aatgcgcgc
 1681 aagtgaaa aggttctt cgttgatga gctgactt tgggaacac aagcgtgaa
 1741 ttgggaac gaacccgac atgggaac caaacgca cactggac cgtgcaac
 1801 tgaatgac tgaataaaa gagaanaag gctatttt cgcctaaa totttaa
 1861 ttaataaa totttaaag cgcgcgcgc gctgactt gctgactt gctgactt
 1921 aagagctga aagagcgt accctgct cgtgcgcgc ctaacgcgc gcgcgcgc
 1981 gtcgcgcgc ogcggcgc ggcgcgcgc aagtgctg ctaagcgc gcaactat
 2041 cagggcggc aagagcgc cgcgcgcgc tgcgcgcgc ggcgcgcgc caagcgcgc
 2101 gtcgcgcgc gtttgctga tgaactga aactctgc actgactt cgcgcgcgc
 2161 gtaacact gctgtgac ggaatgcgc agcagacac cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 2221 ggtgtgag ggtgtgag cgcgcgcgc accactgc gtaagatg cgcgcgcgc
 2281 actgctga ctatgcgc taagagca ttgactag agtgactt atgcgcgc
 2341 aatacgc caagtgat aggaataa accactgc gctgcgcgc gctgcgcgc
 2401 tcaactgc gctgcgcgc gctgcgcgc tgcgcgcgc ggtatgct caatcagc
 2461 cgtatgac gttatcgc gaactgcgc aagagcgc aagagcgc tgaacagc
 2521 gcaacagca ggcgcgcgc cgtataag cgcgcgcgc ggcgcgcgc cactgctc
 2581 ggcgcgcgc cgcgcgcgc aaaaacgc gctatgca ggcgcgcgc accgcgcgc
 2641 gactaagc atacgcgc ttcgcgcgc ggcgcgcgc cgtgcgcgc cgtgcgcgc

【図 2 3 - 3】

5401 cactgact agggtagc caaatcaa ctactctg caagacct cctctata
 5461 aggaagct ttctcttg aggcagac cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 5521 cgcgcgcgc atgagatg aaaaagcgc aactcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
 5581 tgcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
 5641 gtcgcgcgc ctcgcgcgc ggcgcgcgc gtcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5701 agtcgcgc caagagctt tatgttat ggcgcgcgc atgcgcgc cgcgcgcgc
 5761 cgcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc ctcgcgcgc cgcgcgcgc
 5821 caagagct cactgctga gactgcgc aacgcgcgc cgcgcgcgc gtcgcgcgc
 5881 tgcgcgcgc cactgctga atgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
 5941 cactgctga caagagct gtcgcgcgc ctcgcgcgc ctcgcgcgc gtcgcgcgc
 6001 ctcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc gtcgcgcgc
 6061 ogcgagct cactgact agtcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6121 tgcgcgcgc ttgcgcgc aacactgc tgcgcgcgc gtcgcgcgc cgcgcgcgc
 6181 tgcgcgcgc aggcagctt tgcgcgcgc cgcgcgcgc gtcgcgcgc ctcgcgcgc
 6241 ggcgcgcgc gtcgcgcgc atgcgcgc aggcgcgc ctcgcgcgc ggcgcgcgc
 6301 agtcgcgc atgcgcgc cgcgcgcgc atgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 6361 atgcgcgc gtcgcgcgc aactgcgc atgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 6421 caactgcgc atgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 6481 cgcgcgcgc ggcgcgcgc ctcgcgcgc gtcgcgcgc atgcgcgc ggcgcgcgc
 6541 agactgcgc cgcgcgcgc ttctgcgc aagagctt cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6601 tctacaaa tctctctc tctctctc tctctctc tctctctc tctctctc
 6661 aaggaacta ggttctct aggttctg tctctctg atgataag aaactctg
 6721 tatgtatt ttgtttaa atctctct caataact tctctctc aaactctg
 6781 tctctgac tcaacttt tctctctg tctctctg tctctctg tctctctg
 6841 gtcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc atgcgcgc atgcgcgc atgcgcgc
 6901 gtcgcgcgc ggcgcgcgc tcaacagc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 6961 gtcgcgcgc gtcgcgcgc tcaactct aaactctg tcaacaaa aactctct
 7021 actaactg tctctctt tctctctg tctctctg tctctctg tctctctg
 7081 aataacta atgtctct ttgtgctt tttaacac ctcgcgcgc atgcgcgc
 7141 cacttctat tcttaact ccaacaaa cgcgcgcgc atgcgcgc atgcgcgc
 7201 caactcaac tagctata agtaataa tgcgcgcgc gactgcgc ggcgcgcgc
 7261 aaaaagca tatagctt tctctctg actgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
 7321 ttctctgt tgcgcgcgc aaacaaaac caactctt atgcgcgc aaggaataa
 7381 ggcgcgcgc cgcgcgcgc actctctc actgcgcgc cgcgcgcgc tctctctg
 7441 aactgcgc cactctct tctctctc tctctctc tctctctc tctctctc
 7501 cactctct tcaagcgc atctctct cactgcgc aaggaataa cactgcgc
 7561 aaaaagca aggtctct caaaaact atgcgcgc atgcgcgc cgcgcgcgc
 7621 tgcgcgcgc aggcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7681 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7741 ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7801 ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7861 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 7921 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 7981 tcaacagc cgcgcgcgc cactgcgc cactgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
 8041 atactcaag agtgctta ttgtgact ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc

【図 23 - 4】

8101 atogatgat atogatatgc catgttgitt gtagaocaa accagatcac ggcagatag
 8161 ctattgcagc ttgacgocaaa tatgagaggt aagttgatta atgggatcgc toagagatag
 8221 ttcactcatg ogcgococaaa ggaacagaaa ttacccocag ttaacgcagc ogctttogac
 8281 gmatcgagc gtcatcggtt cggagtgat tagtaacca gcttttctgt acaaatgtgg
 8341 atcgttcaaa catttgagca taagatttct taagattgaa tctgttgcc gttcttgctc
 8401 tgattatcat atatttctgt ttgatatgc ttgaacatgt aataattaac atgtaatgca
 8461 tgaagtatt tatgagatgt gttttatga tttagatcgc goaatataac attataagc
 8521 cgataaaaaa oaaatatag ogcgocaaat aggataaatt atogcgogcg gtgcatatca
 8581 tgttaactaga tocaatttta ttatatagat ttgataaatt acgtgogctg gottatoca
 8641 tggctgcagc tgcaggaatt cagcggttaa ctataacgtt ctaaggttag cgtagocaaa
 8701 cagctattat ggtattatgt ggtgttcttt tatgocgaca atgacgogtt tatcgctga
 8761 gttcgogcagc gatcgogtta cgcgcgggca gtgcagcgc ctaaggttag cttcgagctg
 8821 gatcagatgt tctgttcocg cctcaagttt aaactatcag tttttgacag gatatactg
 8881 cgggttaaac taagaaaaa gagcgtttat tagataaagc gatatttaaa agggcgtgaa
 8941 aagtttctc cgttgocaa ttgtatgt cagcacaac aacgggttcc cctcgggctc
 9001 aagtttctc gatcaaaccc ctcgcgtctg atagtgcagc oggtctctga cgttcagctg
 9061 agcgttctc tgaanaacac atgtgocaaa agtcttaagt taagcagacg gctgcgcgcc
 9121 tgccttttct ctggcgtttt cttgtctgtt gtttttagtg cataaagtag aatacctgag
 9181 actagaaacg gagacattac gcaactgaac agagcgcgc cgtctgctgt ctggctatg
 9241 cccggttcag cccgcagcagc caggcttga ccaacacacg gctggaactg cccgcgcgcg
 9301 gctgcacaaa gctgttttcc gagaagatca cgcgcacacg ggcgcagcgc cggagctggt
 9361 caggatgct tgaccactta cgcctgggag acgttgtagc agtgacacag ctagacgcgc
 9421 tggcgcgagc caccgcgacg ctactggaca ttgcgcagcg catcgcagcg gccgcgcggt
 9481 gctcgttagc cctggcagag cgttgggcgc acacacacac gccgcgcggt cgcattggtg
 9541 tgaacgtgtt cgcgcggaat gcgcggttc agcgttccct aatcatcgac cgcacacgga
 9601 gccgcgcgga gccgcgcgag gccgcgaggt tgaagtttgg cccgcgcgcct accctacccc
 9661 cgcgcacagat cgcgcgcgcg cgcgcgtaga tgcacacgga aggcgcgaac gtgaagaggt
 9721 cgttcgcact tcttggtgtg catcgctcga cctctacgc ogcacttagc cgcgcgcggt
 9781 aagtgacgc caccgcagcg aggcgcgcgc gtgccttcgc tgagagacga ttgacgcggt
 9841 cgcgcgcgcct ggcgcgcgcg ggaatgaac gcaacagaga acagacatga aaccgcacca
 9901 ggaacgcgag ggaacgcgct ttttctaac cgaagagatc gaggcgagga tgatcgcggt
 9961 cgggtacgtg ttcgcgcgcg cgcgcgcgct ctaacgcggt cgcgcgcggt aatcctggc
 10021 cgtttgtctc gatgcgcagc ttgcgcgcgc ggcgcgcgct ttgcgcgcgc aagaacacga
 10081 ggcgcgcgct ctaaaaggtt gatgtgatt ttgataaaac aggttgagtc atgcgcgcgc
 10141 tctgttatgt atgcgttagc taataaaaca aatcgcagag ggaacgcgct gaaggtatc
 10201 cgtgttaacta accgaacagc cgcgcgcgcg aagagacga tgcacacga tctgcgcgcg
 10261 gccctgcac cgcgcgcgcg cgtgttctg ttatgtatct cgcgtcccca ggcgcggtgc
 10321 cgcgtatggg cgcgcgcgcg ggaagatcaa cgcgcgcgcg ttgtgcgcat cgcgcgcgcg
 10381 acgattgaac ggcgcgcgga ggcacgcgc cgcgcgcgct tctgtatgt cgcgcgcgcg
 10441 cccgcgcgcg cgcgcgcgcg tctgttcgcg atcagagcag cgcgcgcgcg gctgtatgc
 10501 gtgcgcgcaa gcccttcaga catatgggac aacgcgcgac tggtagagct ggttaagcag
 10561 cgcattgagc tgcgcgcgcg aggcgcgcga ggcgcgcgcg tctgttcgcg ggcgcgcgca
 10621 gccgcgcgca tgcgcgcgcg ggttgccgag ggcgcgcgcg ggtacgcgct gccacttctt
 10681 ga

Figure 23.

【図 25 - 1】

1 ttatacatag ttgataaatt actgcccgc gtgggggcat cactagtct agagcgcgcg
 61 ccaacgcggt ggaacgcagc cttttgttcc ctttagtagc ggttaatttc agcgttgccg
 121 taactatgtt catagctgtt tctgtgtga aattgttctc cgtcacaact toacacacac
 181 atacgcgcgc ggaacataaa gtgtaagcc ttgggttgcct aatgagttag caaactaca
 241 ttaattgtgt tgcgtcactt gccgcgttcc cagtcgggaa accgtgtgtt ccagctgcct
 301 taatgaatgc gcaacgcgcg ggggagagcg gtttgcgta ttgggcgttc tctcgttcc
 361 tgcgtcactt actgcgtgcg ctcgctgttt cgttcgcgcg gagcgtatc agctcactca
 421 aagcgcgtaa taagtttctc caccagatca ggggataacg caggaagaa catgtagca
 481 aagcgcgcgc aagagcgcgc gaacgttaaa aagcgcgcgc tgcgtgctt tttcctaggt
 541 ctcgcgcgcgc ctagcgcgca tcaaaaaat cgaagctcaa cgcgcgcgcg ggcacacgcg
 601 acagagctat aagatacaca ggcgttccgc ctcggaagct cctcgtgcgc ctcctgtgtt
 661 cgcgcgcgcgc cgttcacgcg ataactgtcc gcttttctcc ctcgcgcgcgc cgttgccgct
 721 tctcactagt cagcgttagt gtatctcagt tgcgttagt tgcgtcgcgc caagtcgcgc
 781 tctgtgcacg caacccgcgc toagcgcgcgc cgcgcgcgcct tatcgcgtaa ctatcgttct
 841 gactcacaac cgttaagaca cgaacttagc ccaatggcgc cagcgcgcgc taacaggtt
 901 agcagagcga ggtatgttag agtgcgcaca ggttcttga agtgcgcgc taactacgcgc
 961 taactagaa ggaacgtatt tctgtatgc gctcgtgcga agcgcgcgc taactgcgaa
 1021 agagttgcta gcttctgac cgcacaacaa accacgcgcg gtacgcgcgc ttttttgtt
 1081 tgaacgcgc agataacgc cgaaaaaaa ggtctcagc aagatccttt gatctttctt
 1141 agcgggtgtg agcgtcagtg gaacgaacac taactgaag ggttttgtt gatgagta
 1201 tcaaaaagga tcttcactca gatcttcta aataaaaaat gaagtgttaa atcaacttaa
 1261 agtatatagt agtaaacgtt gctgcagct taacatgct taactgcgta ggaactatc
 1321 toagcgcgcct gctatcttg ttatcactca gttgcgcgc tccgcgcgcg gtatgact
 1381 acgataagcg aggtgttacc atctgcgcgc agtgcgcgc tgatcgcgc agacacgcgc
 1441 tcaacgcgcct cagatttacc agcacaacac cgcgcgcgcg gaggcgca ggcgcgcgc
 1501 ggtcgcgaa cttatgcgc ctcactcagc tctattaat gttcgcgcgc agtgcgcgc
 1561 agtagctgc cagttatag ttgcgcgcgc gttgtgcga tgcgcgcgc catgtgcgc
 1621 tcaacgcgcct cgtttgtgtt gcttctcgc agcgcgcgc tccacagctt ccaacagctt
 1681 acatgacccc ccatgtgtt caaaaaagc gtagcgcgc tgcgtctcc gatcgtgtt
 1741 agagtaggt tgcgcgcgcg gttatcact aggttatgt cagcgcgcgc taactcgcgc
 1801 actgcgcgc cactgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc
 1861 tgaagatagt gtagcgcgc agcgcgcgc cgtgcgcgc cgtgcgcgc agtgcgcgc
 1921 ggcgcgcgc cgaacagctt aagagctgc atcactgga agtgcgcgc agtgcgcgc
 1981 ctcacagga tcttcacgc gttgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc
 2041 gtagcttcgc cacttttacc tttcgcgcgc gtttctggt agcgcgcgc tgcacacgc
 2101 atgcgcgcgc aagagagctt aggcgcgcgc cgaagagctt gaactatct actcttctt
 2161 tttcactat attgagctt tctgcgcgc cgttcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc
 2221 tgtattaga aataaaca aatagaggtt cgcgcgcgc tccgcgcgc agtgcgcgc
 2281 ggcgcgcgc gtagcgcgc atagcgcgc ggcgcgcgc ggtgcgcgc agtgcgcgc
 2341 gtagcgcgc cgcgcgcgc agcgcgcgc ccttcgcgc tcttcgcgc ccttcgcgc
 2401 agcgcgcgc gtttccgcgc tcaagcgcgc aatgcgcgc ccttcgcgc agtgcgcgc
 2461 agtgcgcgc ggcgcgcgc cccacacac ctagcgcgc gtagcgcgc agtgcgcgc
 2521 cgcgcgcgc gatagcgcgc ttttcgcgc tgcgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc
 2581 ggcgcgcgc tcaacacgc aacacacac aacacacac agtgcgcgc ttttcgcgc
 2641 taagagattt tgcgcgcgc ggcgcgcgc ttaaaaaa agtgcgcgc acaaaactt

【図 25 - 2】

2701 aacgcgaatt ttaacaaatt ataacgctt acaatttcaa ttgcgcgcgc aggtgcgcgc
 2761 acgttgaggc aggcgcgcgc gtagcgcgcct cttgcgtatt agcgcgcgc ggaacaggg
 2821 gctgtgcgc aggcgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc ttccgcgcgc agcgcgcgc
 2881 aacgcgcgc cagtgcgcgc taacgcgcgc ctaacgcgcgc agtgcgcgc agcgcgcgc
 2941 cgcgcgcgc cgcgcgcgc gatgcgcgc atagcgcgc ctaacgcgc agcgcgcgc
 3001 atgcgcgcgc gatgcgcgc gatgcgcgc atagcgcgc ctaacgcgc agcgcgcgc
 3061 attttgtttt ctatgcgcgc ttaacgcgc aatgcgcgc ctaacgcgc acaacgcgc
 3121 ctacataata agcgcgcgc ttaacgcgc atattatcat gttacgcgc attacgcgc
 3181 aattataga taactgcgc aagcgcgcgc aagcgcgcgc atattataga cttatgcgc
 3241 caaattgttt aagcgcgc agtgcgcgc atgcgcgcgc ggtgcgcgc agcgcgcgc
 3301 ggcgcgcgc cgcgcgcgc agtgcgcgc ggcgcgcgc cagcgcgcgc cgtgcgcgc
 3361 gctgcgcgc cgcgcgcgc agcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgtgcgcgc
 3421 cgcgcgcgc cgcgcgcgc agcgcgcgc cgcgcgcgc cgtgcgcgc cgtgcgcgc
 3481 cgcgcgcgc agcgcgcgc ggtgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggtgcgcgc
 3541 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc agtgcgcgc ggtgcgcgc cgcgcgcgc
 3601 cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 3661 cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 3721 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 3781 cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 3841 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 3901 agaacgcgc cgcgcgcgc aatgcgcgc tgaagcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 3961 gctgcgcgc atgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc aatgcgcgc cgcgcgcgc
 4021 tttattatga tagatgcgc cgcgcgcgc gatgcgcgc atagcgcgc cgcgcgcgc
 4081 cgtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc atagcgcgc cgcgcgcgc
 4141 cgcgcgcgc aatgcgcgc cgcgcgcgc gatgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4201 ataaatcac cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4261 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4321 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4381 atgcgcgc atgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4441 ggtgcgcgc aatgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4501 cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4561 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4621 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4681 aagtgacga tgcgcgcgc tgcgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4741 cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4801 cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 4861 ggcgcgcgc tgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 4921 ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 4981 tgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
 5041 ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 5101 cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5161 ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5221 cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5281 cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5341 aatttttgtt cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc

【図 25 - 3】

5401 aatgcgcgc tagtttgtt aatgcgcgc ctaacataga ataaataga tgcacataaa
 5461 aatgcgcgc ataaacaca taacacaca accacacac agtgcgcgc taacataga
 5521 ggcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc cttgcgcgc aaaaaagga ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5581 gataaacgc tagcgcgc tgcgcgcgc actgcgcgc cttgcgcgc agtgcgcgc
 5641 gctgcgcgc atgcgcgc ataaacgcgc tgcgcgcgc ggcgcgcgc tgcgcgcgc
 5701 cgcgcgcgc agtgcgcgc tgcgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 5761 aaaaaaagga tagtgcgc ttttcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 5821 ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5881 ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc
 5941 ctttcgcgc aaaaaaagga tgcgcgcgc aatgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6001 taacgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6061 aacacacac taacacacac atgcgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6121 ggcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6181 atgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6241 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6301 ttttcgcgc ggcgcgcgc aatgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6361 atgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6421 agaacgcgc atgcgcgc agtgcgcgc atgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6481 cgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6541 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6601 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6661 atgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6721 atgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6781 cgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6841 agaacgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6901 atgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 6961 agaacgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7021 ggcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7081 cgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7141 ggcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7201 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7261 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7321 cgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7381 cgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7441 aacacacac atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7501 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7561 ggcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7621 agtgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7681 cgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7741 atgcgcgcgc atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7801 aacacacac atgcgcgc agtgcgcgc agtgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
 7861 ta

Figure 25.

【 図 2 8 】

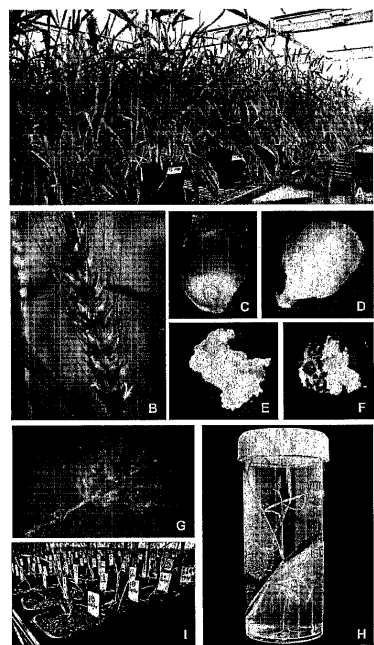


Figure 28.

【 図 2 9 】

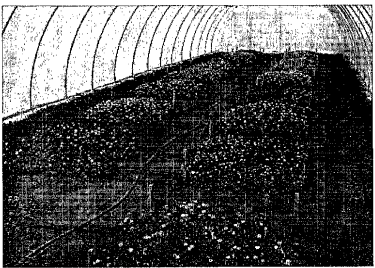
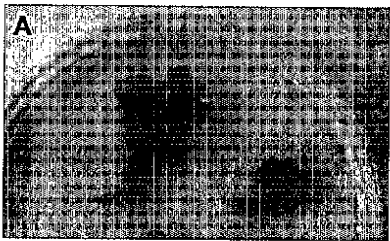
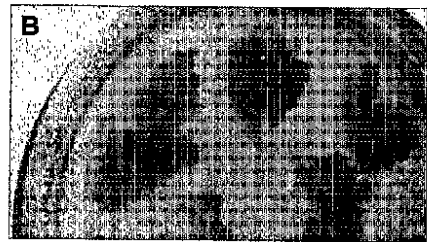


Figure 29.

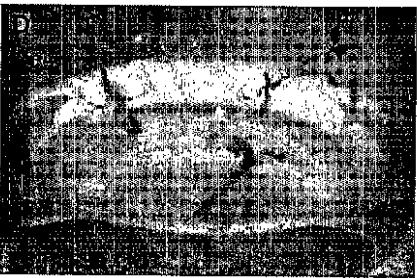
【 図 3 5 A 】



【 図 3 5 B 】



【 図 3 5 D 】



【 図 3 5 C 】



【 図 4 2 】

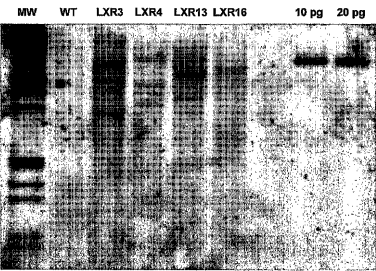


Figure 42

【図5】

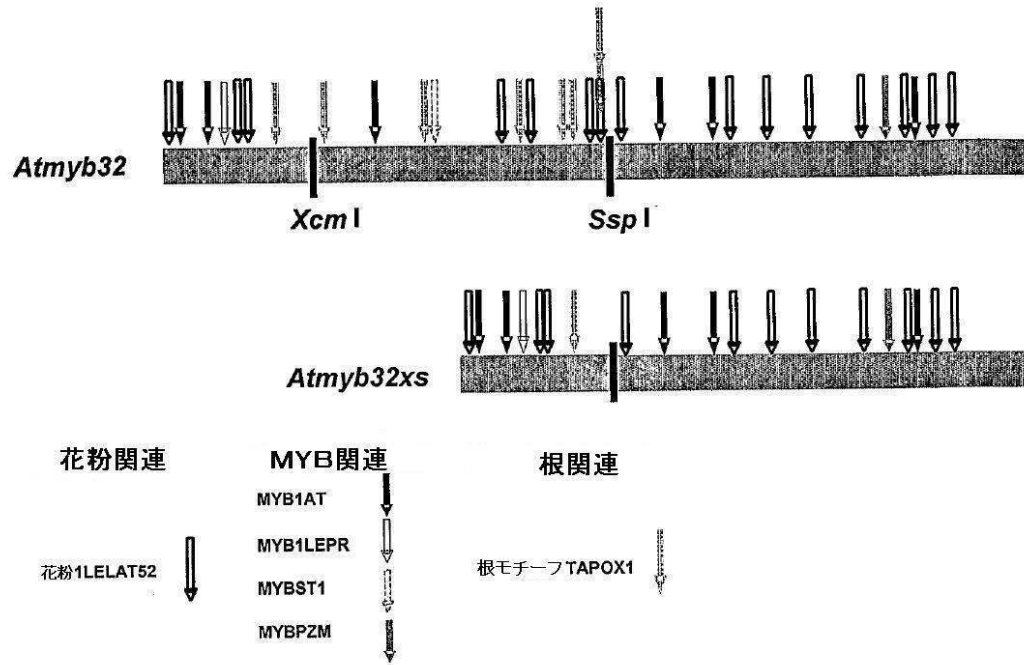


Figure 5.

【 図 12 】

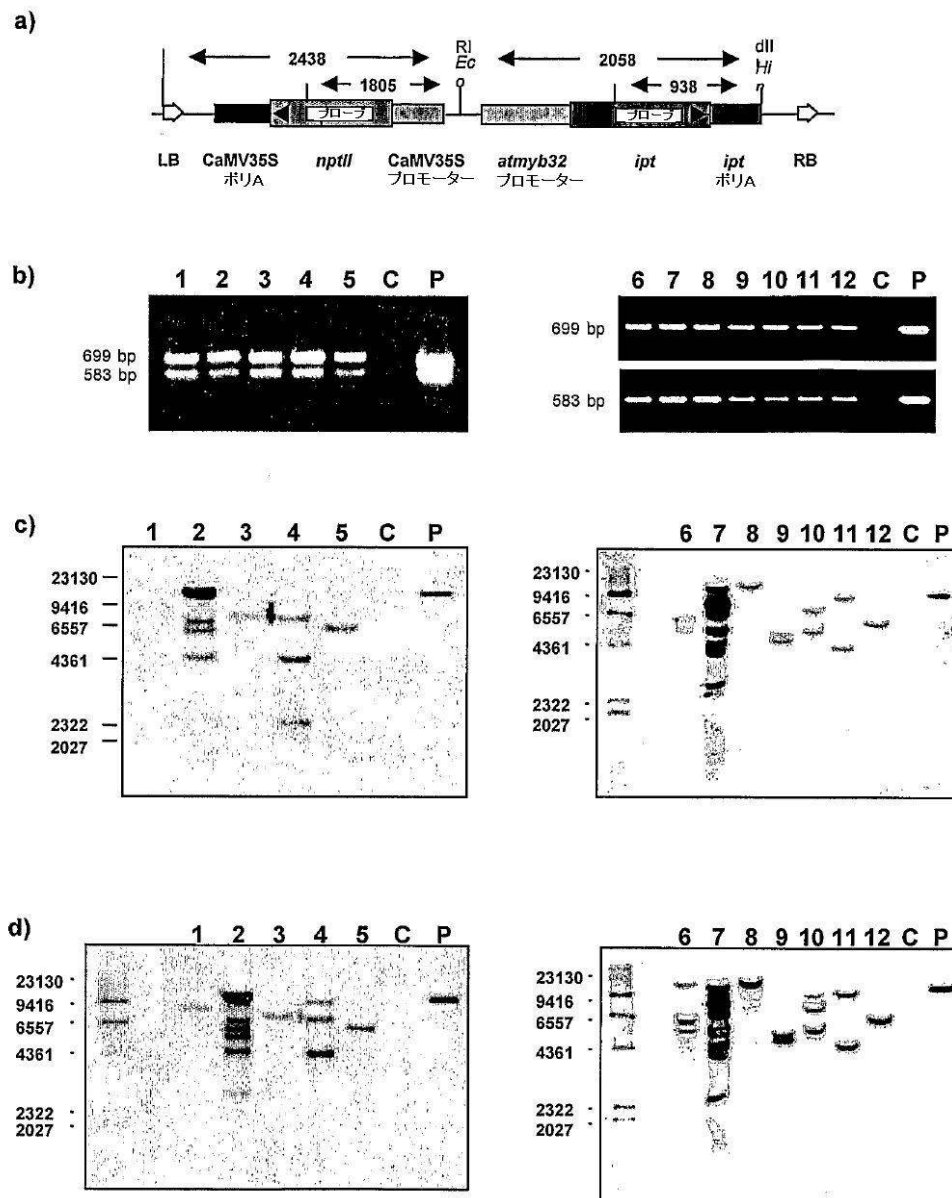


Figure 12.

【図 14】

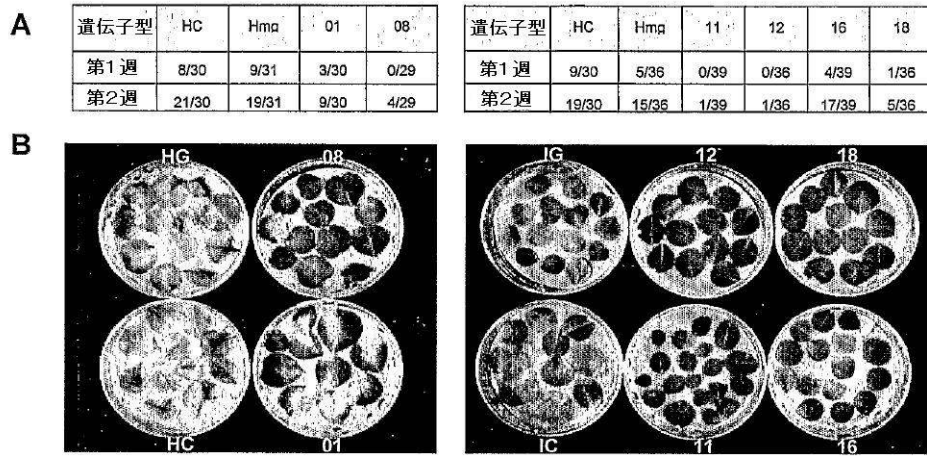


Figure 14.

【図16】

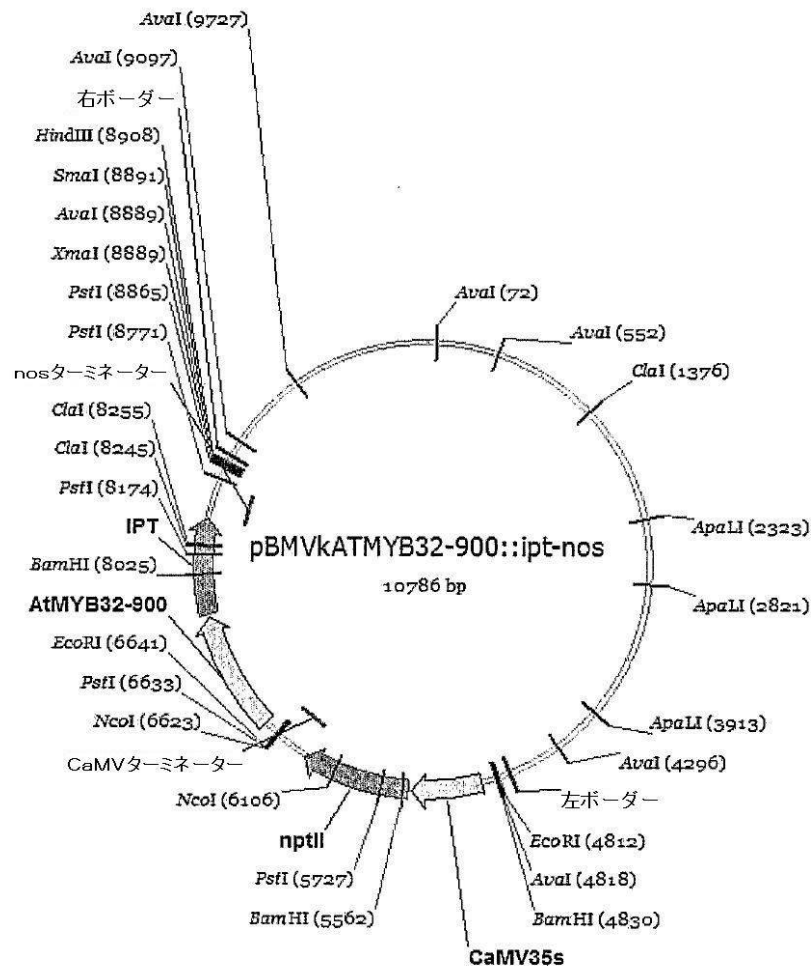


Figure 16.

【図18】

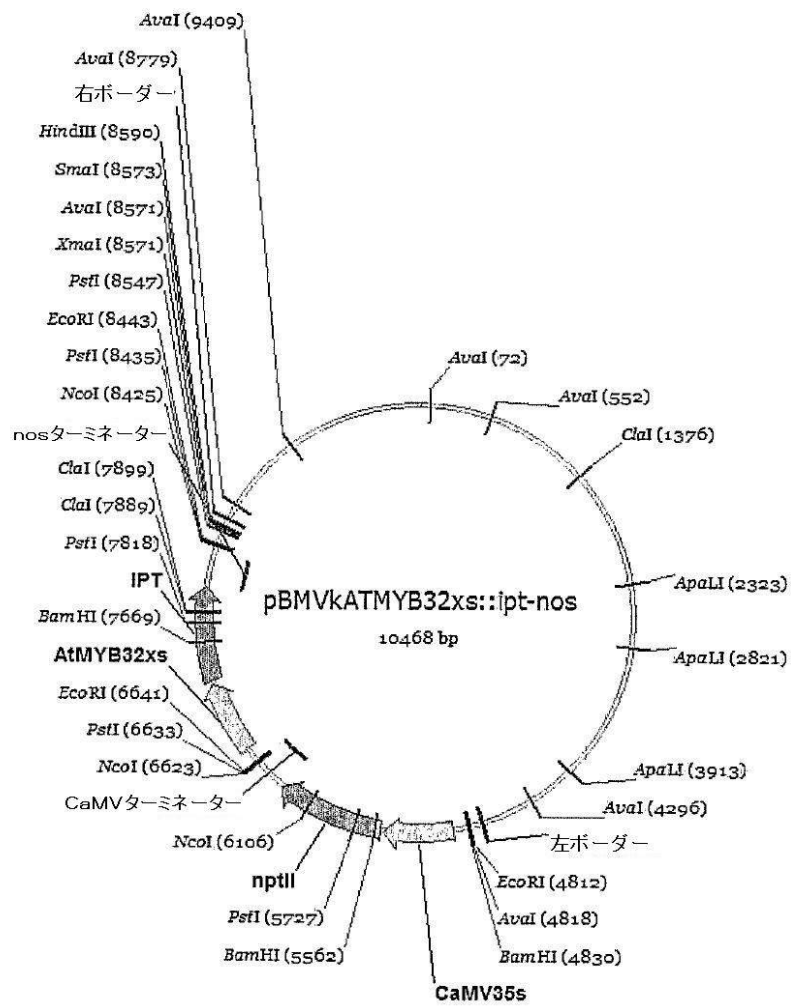


Figure 18.

【図20】

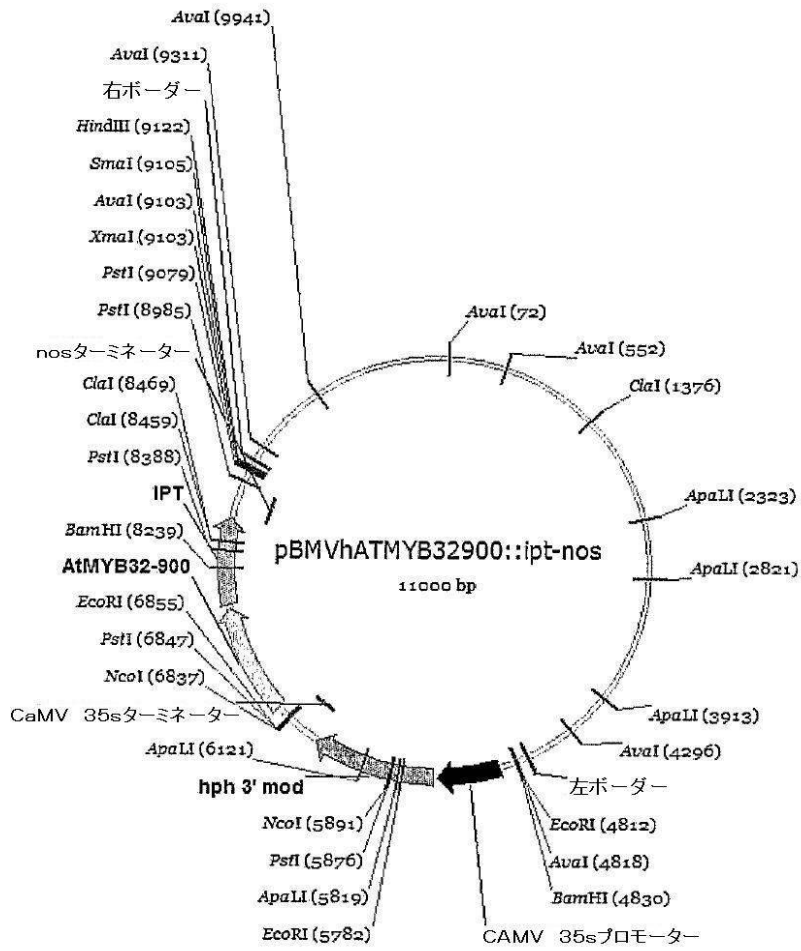


Figure 20.

【図22】

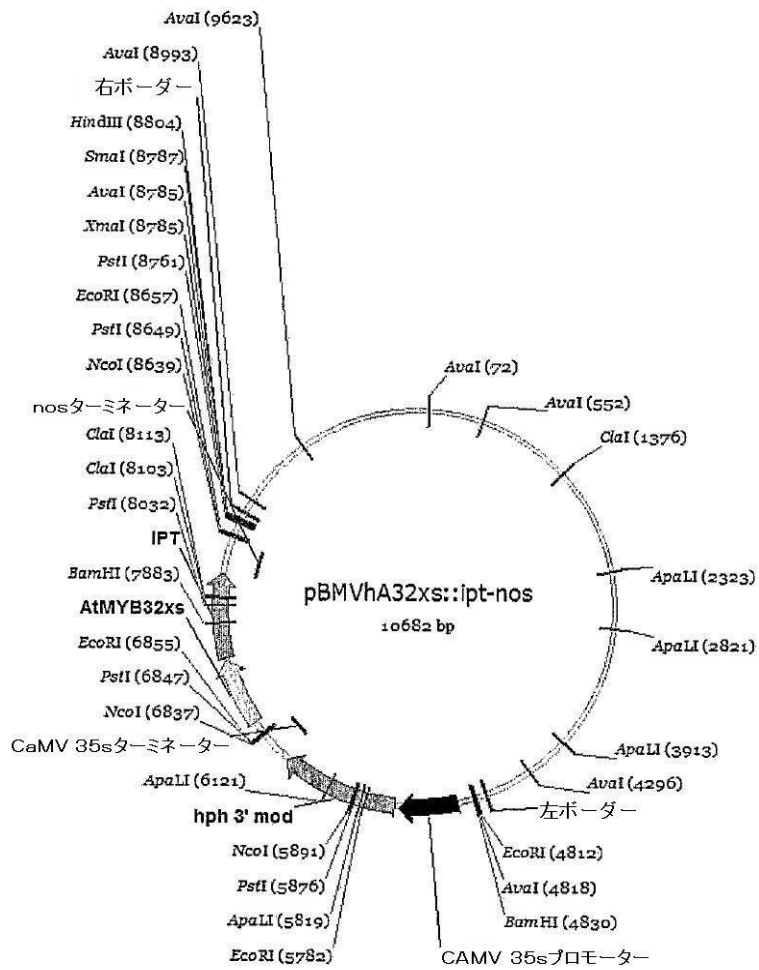


Figure 22.

【 図 2 4 】

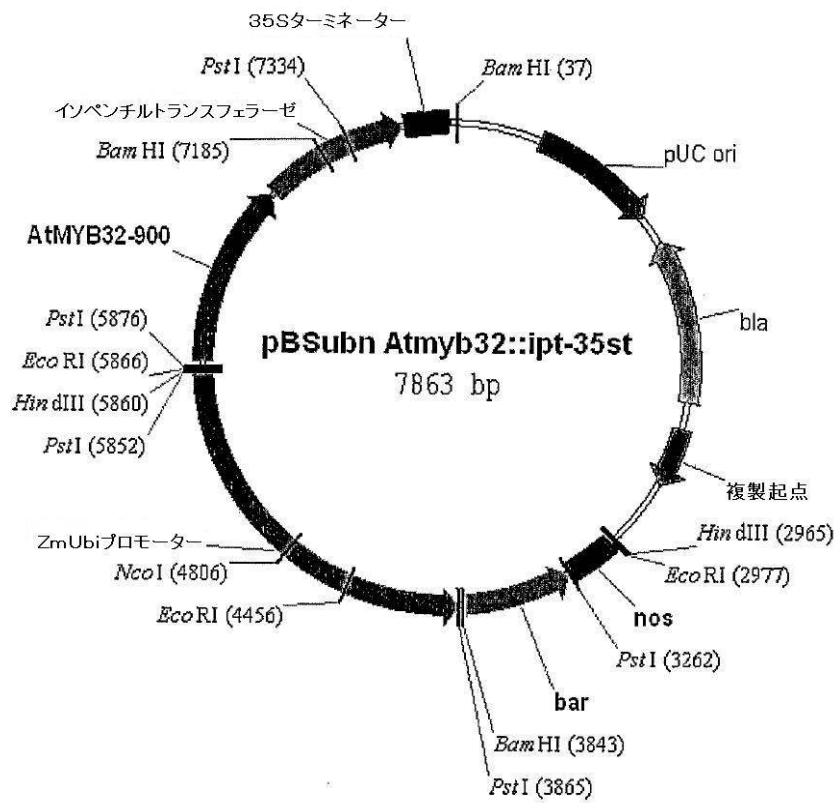


Figure 24.

【図 26】

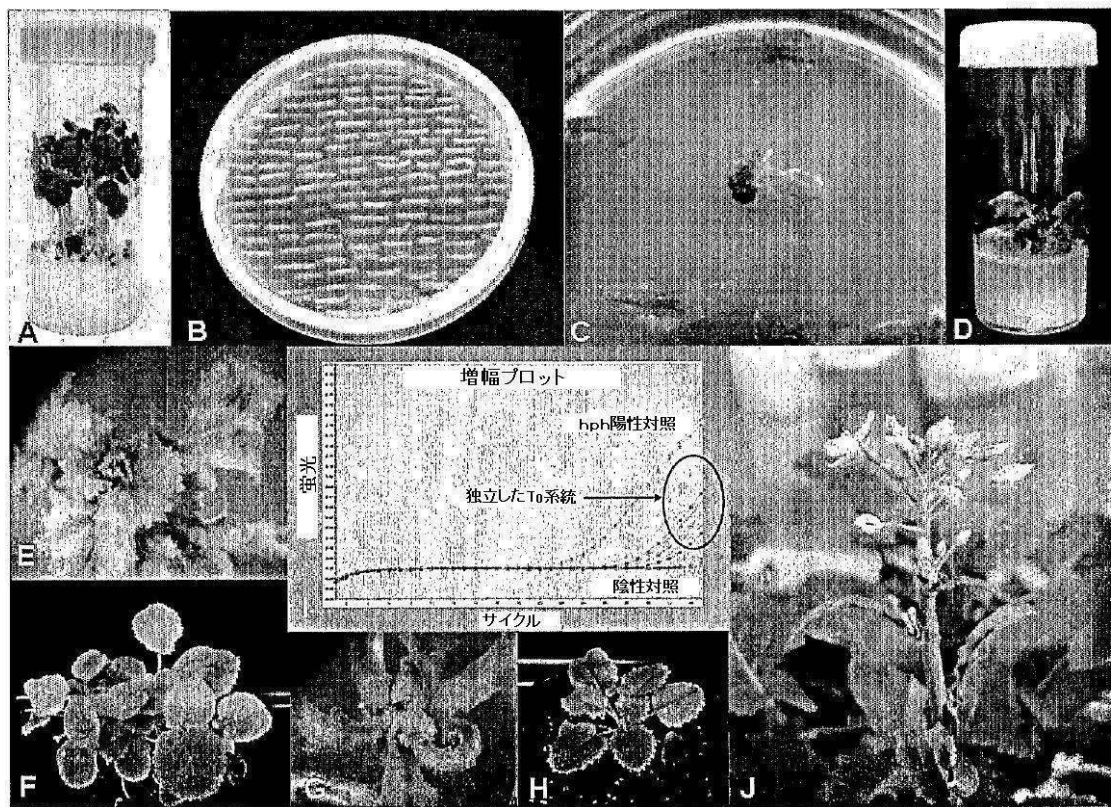


Figure 26.

【図 27】

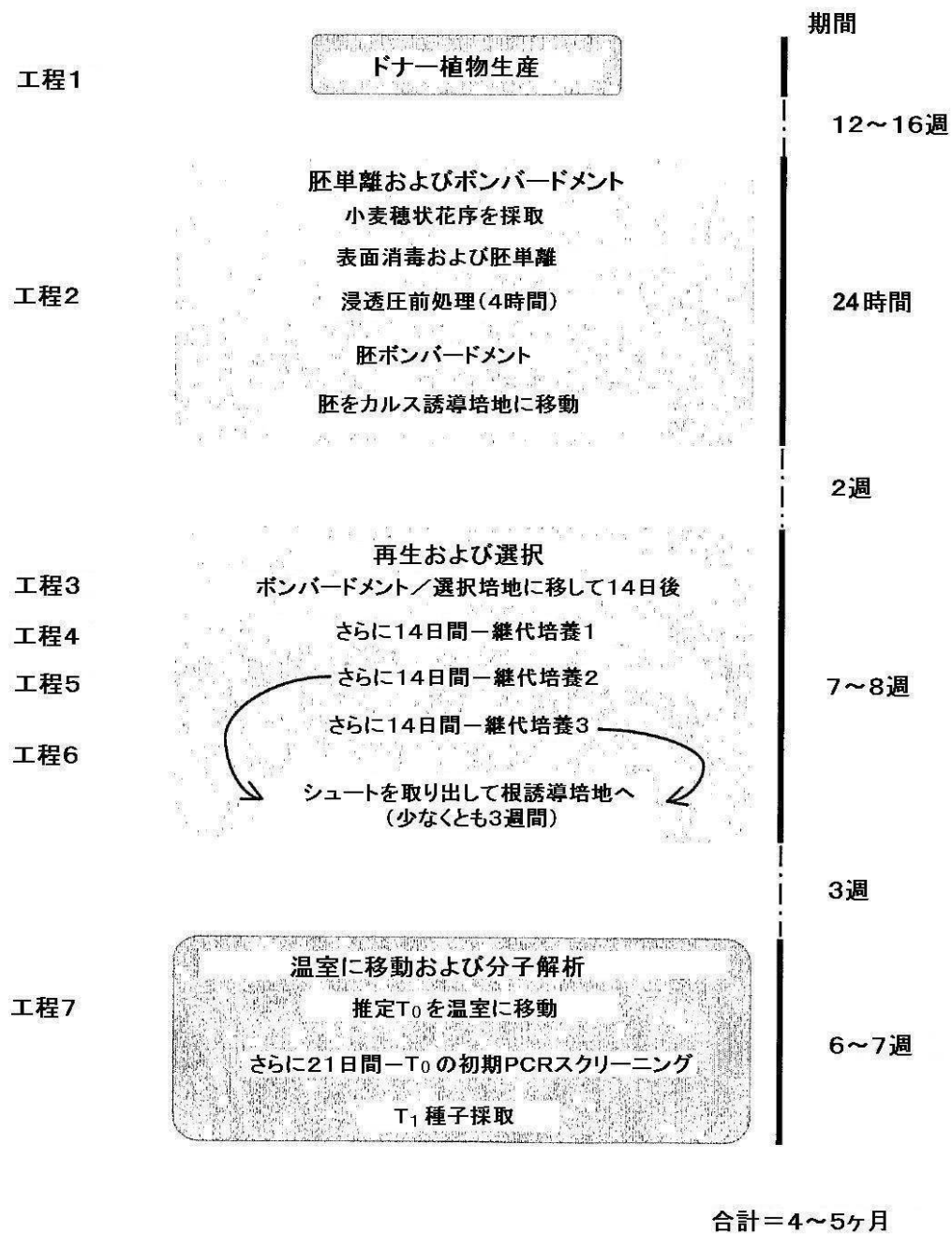


Figure 27.

【図 30】

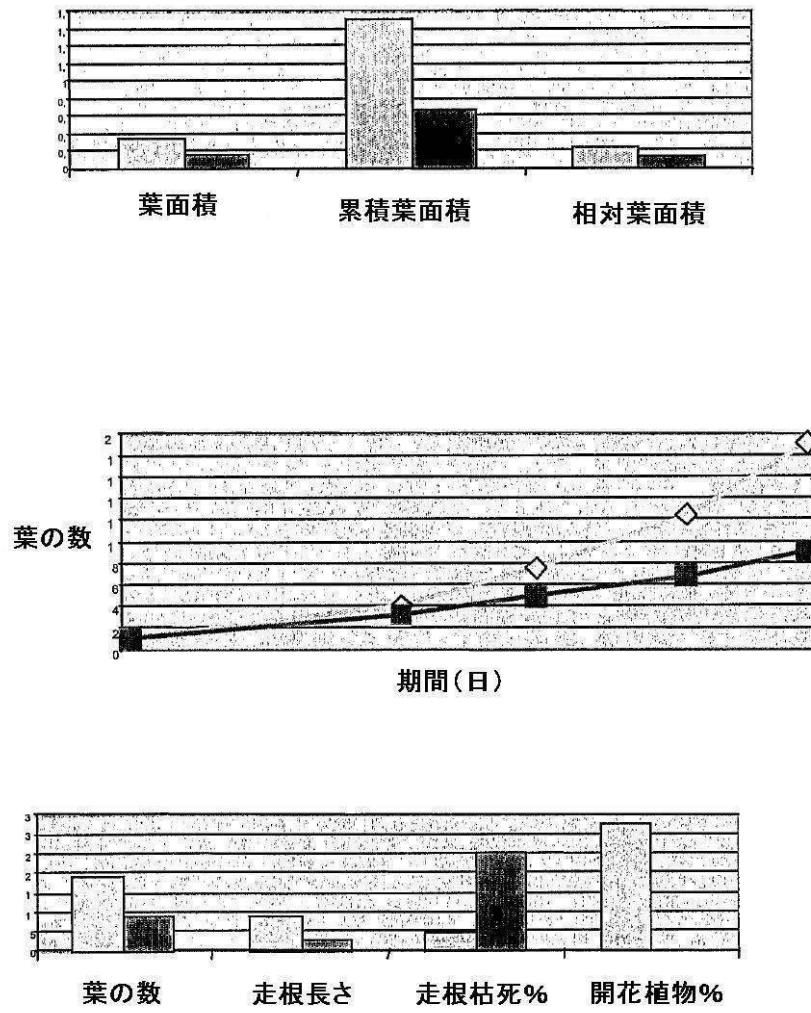


Figure 30.

【図 3 1】

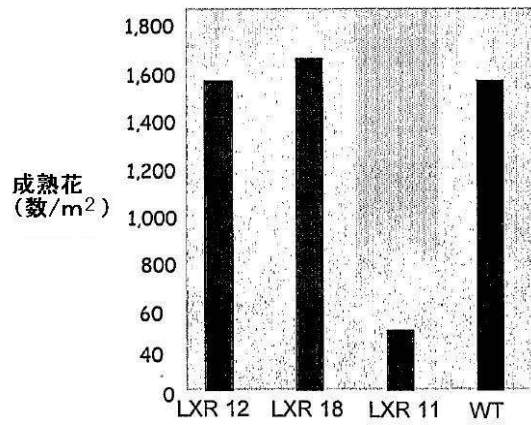


Figure 31.

【図 3 2】

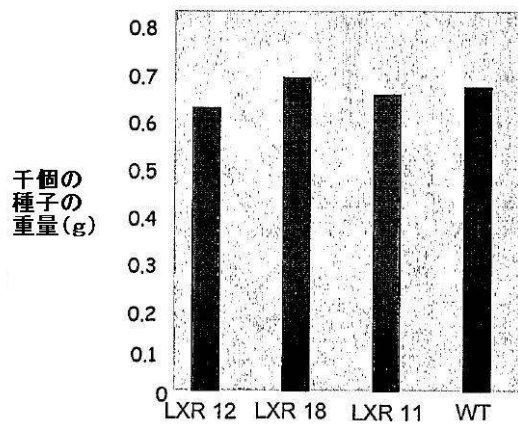


Figure 32.

【図 3 3】

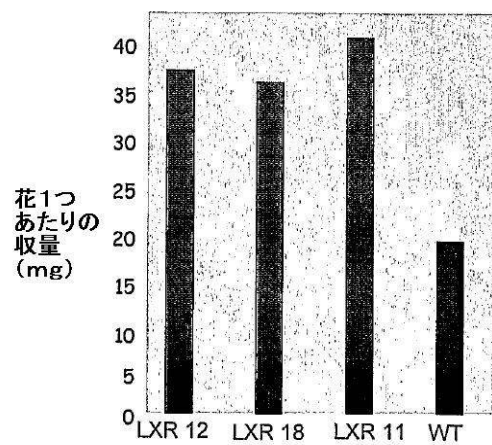


Figure 33.

【図 3 4】

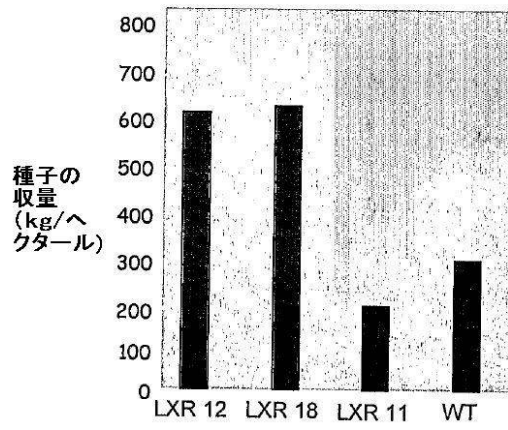
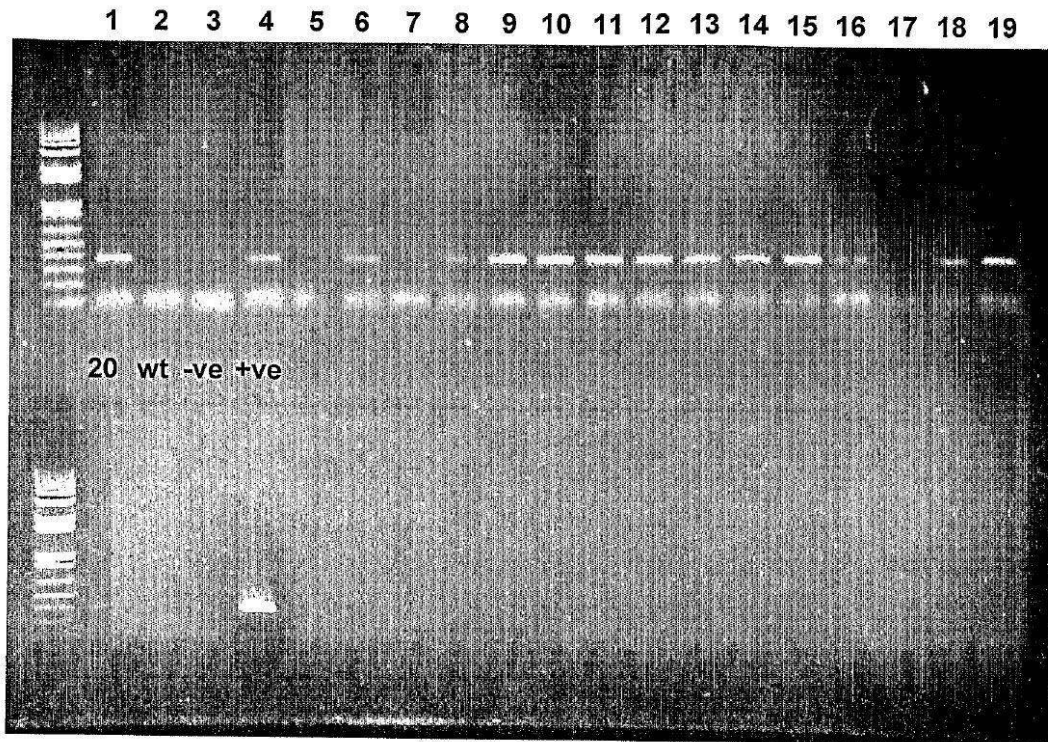


Figure 34.

【図 36】

A.



B.

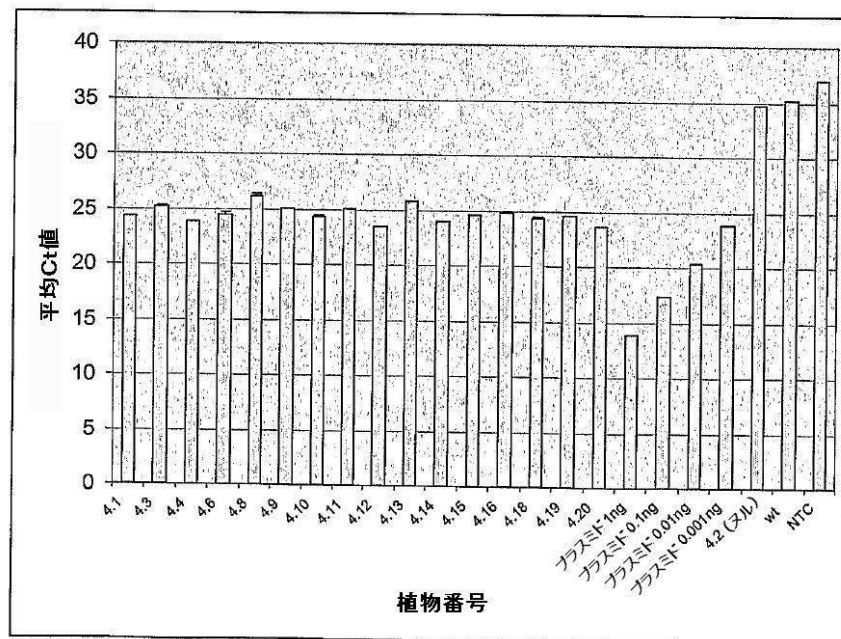


Figure 36

【図 37】

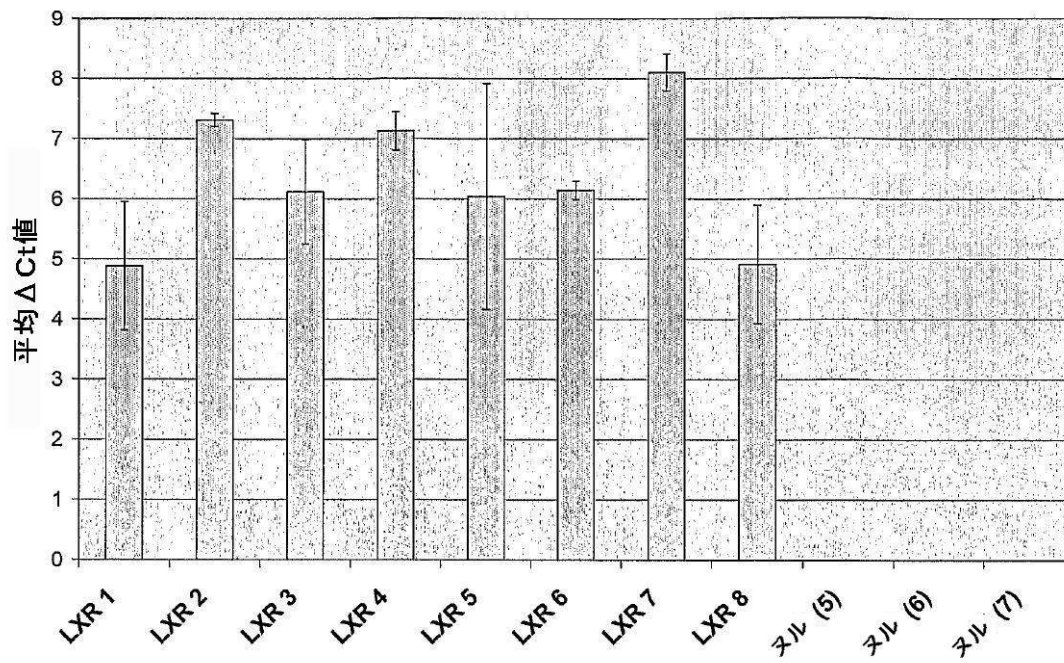


Figure 37

【図 38】

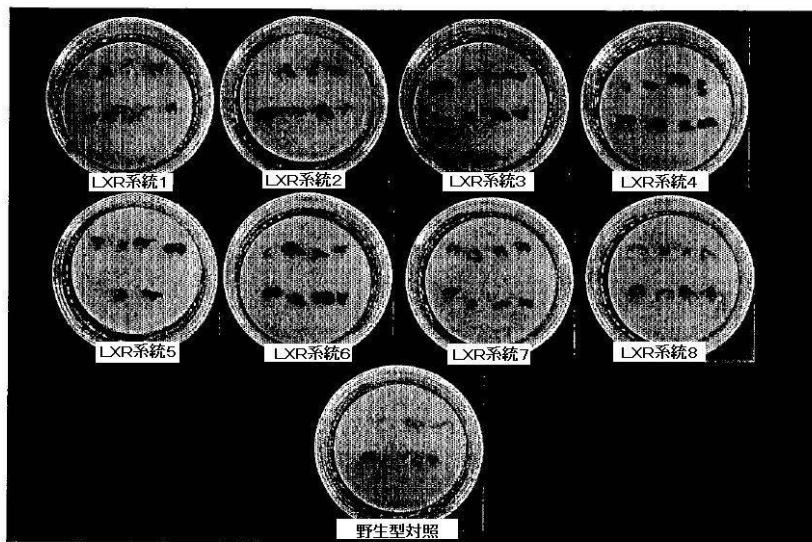


Figure 38

【図 39】

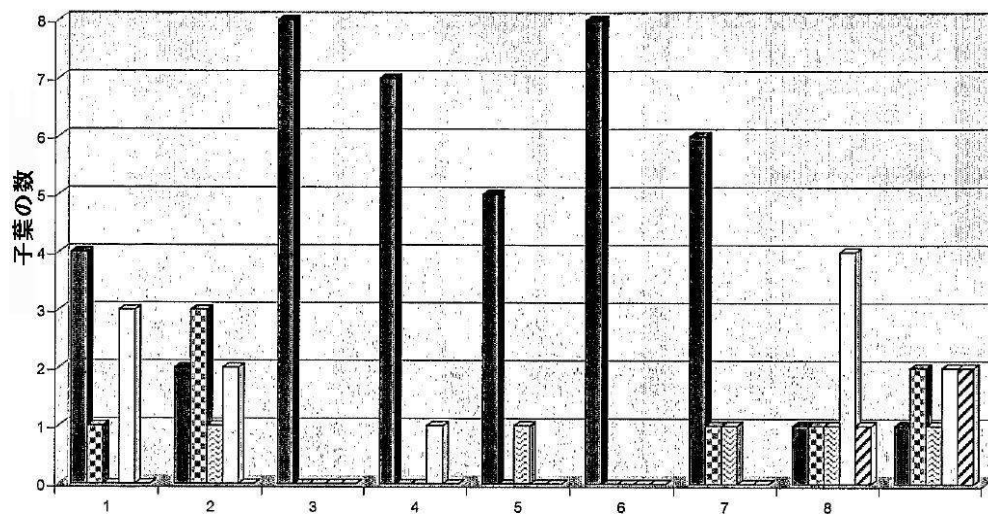


Figure 39

【図 40】

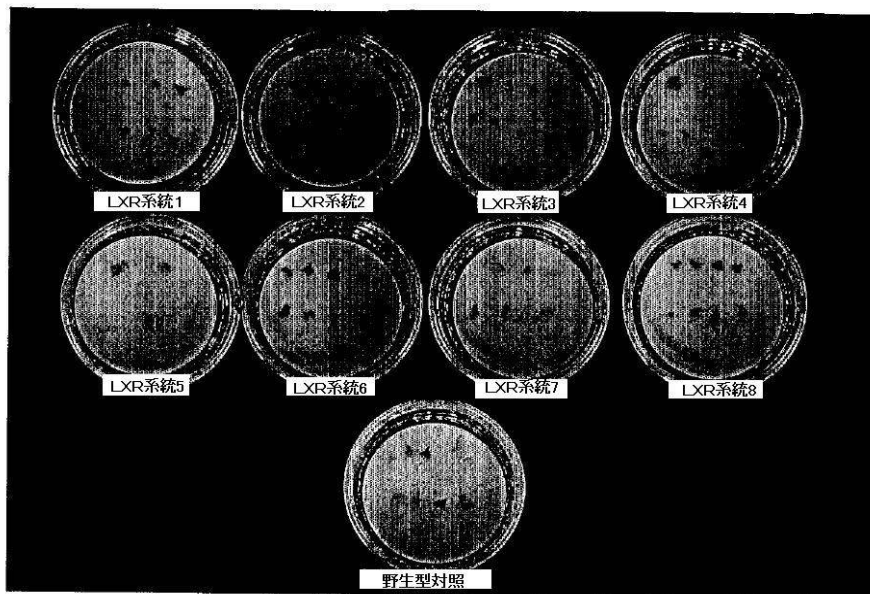


Figure 40

【図 4 1】

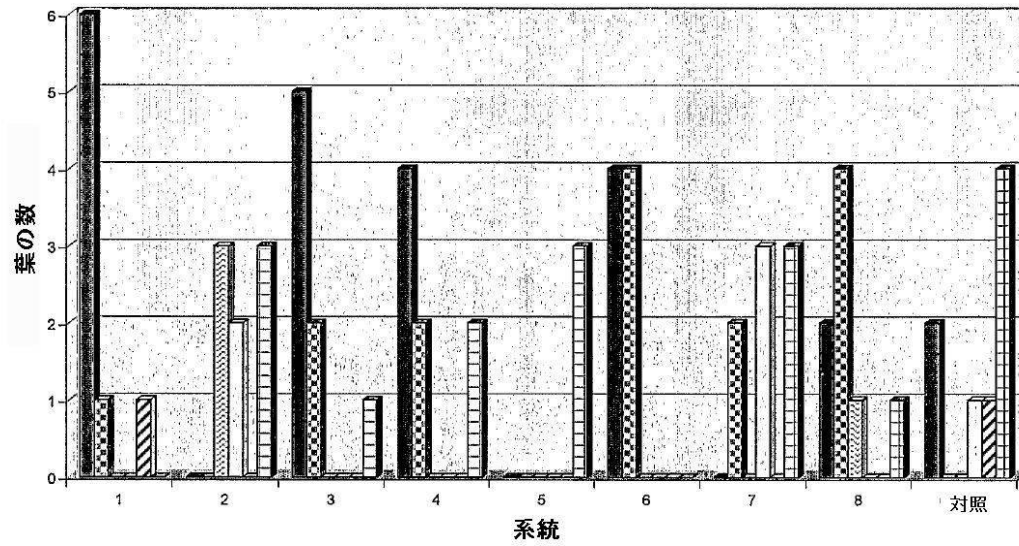


Figure 41

【図 4 3】

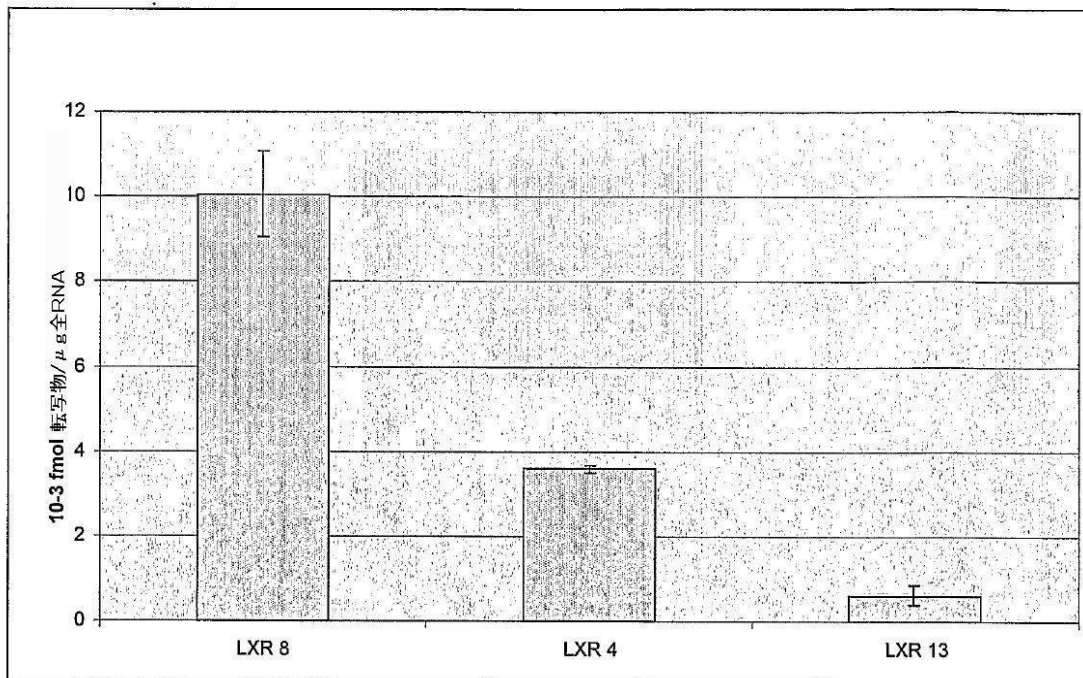


Figure 43

【図 4 4】

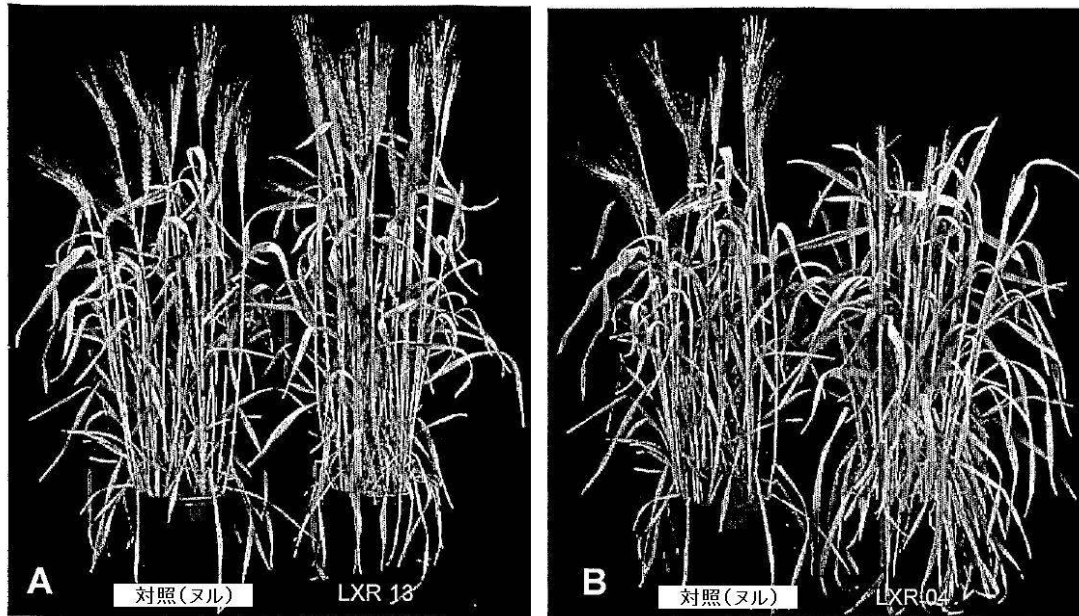


Figure 44

【図 4 5】

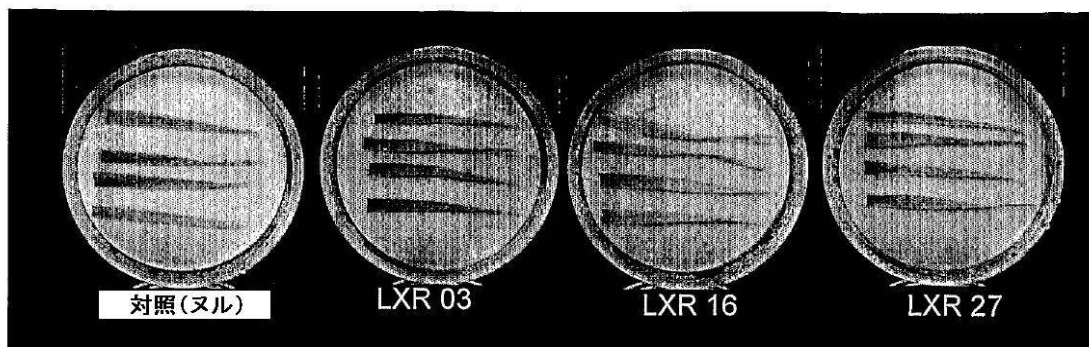


Figure 45

【配列表】

[0005608552000001.app](#)[0005608552000002.xml](#)

 フロントページの続き

- (74)代理人 100089037
弁理士 渡邊 隆
- (74)代理人 100110364
弁理士 実広 信哉
- (72)発明者 スパングェンバーク, ジャーマン
オーストラリア国 3083 ビクトリア, バンドーラ, アーサー ストリート 56
- (72)発明者 ラメージ, カール. マクドナルド
オーストラリア国 3064 ビクトリア, クレイギーバーン, サニーブルック コート 15
- (72)発明者 パルヴィアイネン, メリッサ アン
オーストラリア国 3757 ビクトリア, エデン パーク, ボスコ ドライブ 19
- (72)発明者 パリッシュ, ロジャー ダブリュー.
オーストラリア国 3113 ビクトリア, ワランダイト, ウェブ ストリート 60
- (72)発明者 ヘーゼルウッド, ジョシュア
オーストラリア国 6023 ウェスタンオーストラリア, ダンクレイグ, キンクレイグ ウェイ 24

審査官 太田 雄三

- (56)参考文献 特表平11-501819(JP,A)
特表2004-507271(JP,A)
Plant Sci., 2003年, Vol.165, p.1437-1444
J.Plant Res., 2003年, Vol.116, p.217-220
蛋白質核酸酵素, 2002年, Vol.47, No.12, p.1651-1657

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N 15/09
A01H 5/00
CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamIII)
GenBank/EMBL/DDBJ/GenSeq
PubMed
Cinii
WPIDS(STN)