



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0100841

(43) 공개일자 2014년08월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 19/00 (2006.01) *C12N 15/62* (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01) *C12N 15/82* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0014122

(22) 출원일자 2013년02월07일

심사청구일자 2013년02월07일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

김재연

경남 진주시 새평거로 75, 406동 804호 (평거동,
평거휴먼시아4단지)

(74) 대리인

리앤목특허법인

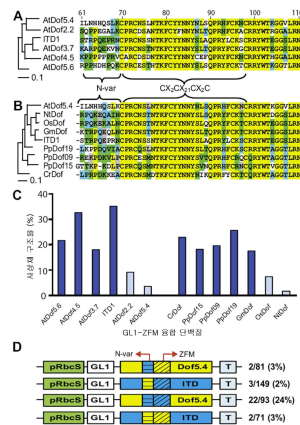
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 원형질연락사를 통해 이동 가능한 복합체 및 그를 이용하여 식물 세포 간 목적 물질을 이동시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 식물 세포 간 원형질연락사를 통해 이동 가능한 복합체 및 그를 이용하여 목적 물질을 식물 세포 간 원형질연락사를 통해 이동시키는 방법에 관한 것이다. 원형질연락사를 통해 이동할 수 없는 목적물질을 본 발명의 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드와 결합시킴으로써 원형질연락사를 통해 이동시킬 수 있다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R33-10002

부처명 교육과학기술부

연구사업명 WCU 사업

연구과제명 체관발달 유지 및 장거리이동 신호로 작용하는 체관단백질의 동정, 이동 메커니즘 및 기능적 특성분석

기여율 1/2

주관기관 경상대학교

연구기간 2008.12.01 ~ 2013.08.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ00798402

부처명 농림수산식품부 (농촌진흥청)

연구사업명 차세대바이오그린 21 사업

연구과제명 고부가가치 생물소재 생산을 위한 시스템생물학 기반구축

기여율 1/2

주관기관 경상대학교

연구기간 2010.05.01 ~ 2014.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 및 목적 물질을 포함하는 원형질연락사를 통해 이동 가능한 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 펩티드는 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 것인 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 목적 물질은 핵산, 탄수화물, 지질, 당지질, 단백질 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 복합체.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 단백질은 세포-자율 단백질 (cell-autonomous protein)인 것인 복합체.

청구항 5

제3항에 있어서 상기 단백질의 크기는 1kDa 내지 80kDa인 것인 복합체.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 목적 물질은 단백질이고, 상기 복합체는 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 및 상기 목적 물질을 결합시킨 융합 단백질인 것인 복합체.

청구항 7

서열번호 1의 아미노산 서열로 구성된 펩티드.

청구항 8

제6항의 상기 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 제조하는 단계;

상기 벡터를 아라비도시스 탈리아나에 형질 도입시키는 단계; 및

상기 융합 단백질을 아라비도시스 탈리아나 세포 내에서 발현시키는 단계를 포함하는 상기 목적 물질을 원형질 연락사를 통해 이동시키는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 식물 세포 간 원형질연락사를 통해 이동 가능한 복합체 및 그를 이용하여 목적 물질을 식물 세포 간 원형질연락사를 통해 이동시키는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 식물계에서 조절 단백질 및 mRNA의 세포간 이동은 식물 발달의 비-세포-자율 (non-cell-autonomous: NCA) 통제를 가능하게 하는 원형질연락사 (plasmodesmata: PD)에 의해 확립된 심플라즘 (symplasm) 연락 채널에 의해 촉진된다 (1-7). 주요 발달 프로그램의 중요한 조절자로서 역할하는 전사 인자 (transcription factor: TF)가 본 발명의 주요 대상이다. 처음 보고된 내부 NCA-TF는 옥수수 KNOTTED1 (KN1)이다 (8-10). KN1은 싹 (shoot)의 끝 분열조직의 sub-L1 층에서 발현되는 것으로 알려졌으나, 상기 단백질은 그것이 세포 운명 결정하는 것을 조절하는 L1 층에서 검출된다 (8, 11).

[0003] Antirrhinum 꽃 호메오 단백질인 DEFICIENS 및 GLOBOSA (12), 뿌리 발달에 관련된 전사 인자, 예를 들면

Arabidopsis GRAS 패밀리 멤버, SHORT ROOT (SHR) (13), 및 CAPRICE, Myb-like DNA-결합 도메인 단백질 (14,15)은 특성이 잘 알려진 다른 NCA-TF의 예를 나타낸다. SHR의 경우, 이는 중심주 (stele)에서 발현되나 그의 작용 부위는 이 조직들을 벗어나 있고, 이는 피층/내배엽 초기의 불균형한 세포 불균형 및 내배엽 세포 운명을 조절한다. 흥미롭게도, SHR에 있는 보존된 GRAS 도메인 및 핵 위치화 (localization)는 이동을 위해 필요한 것으로 밝혀졌다 (16).

[0004] 이와 같은 NCA-TF의 세포간 이동은 선택적 (10, 14-17) 또는 비선택적 (18-21) 경로를 포함할 수 있다. 어떤 단백질은 PD를 통한 단순한 확산에 의해 비선택적으로 이동할 수 있다. LFY 및 세포질에 위치한 GFP (녹색 형광 단백질)도 이러한 경로를 따르는 것으로 나타났다 (18, 21, 22). 이러한 단백질들은 서로 상호작용하고 PD를 통해 세포 간 이동하기 위한 특이적 모티프를 필요로 하지 않는 것으로 보인다. 반대로, NCA-TF의 선택적인 이동은 그들의 표적화 및 PD를 통한 이동을 중개하는 특이적 펩티드 또는 모티브와 관련 있다 (10, 15, 22-25).

[0005] 본 발명은 TF의 아라비도시스 Dof 패밀리의 NCA 능력에 대한 것이다. 그의 세포 간 이동 형식을 밝히기 위해 자세한 분석이 INTERCELLULAR TRAFFICKING DOF 1 (ITD1)에 대해서 행하여졌다. 돌연변이 분석은 ITD1 내의 모티프가 PD를 통하여 이동하는데 필요하고 충분하다는 것을 밝혀냈다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 목적 물질을 식물 세포 간 원형질연락사를 통해 이동시키는 복합체 및 그를 이용하여 목적 물질을 원형질연락사를 통해 이동시키는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 일 양태는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 및 목적 물질을 포함하는 원형질연락사를 통해 이동 가능한 복합체를 제공한다.

[0008] "원형질연락사"는 다세포 식물체에서 이웃한 세포벽 내에 원형질막으로 형성된 통로로 세포질이 세포 외부 방향으로 확장된 것을 의미한다. 충분히 작은 크기의 물질들 (800 Da이하)은 원형질연락사를 통해 비선택적으로 확산이 가능하나 일정 정도 이상의 크기를 갖는 물질들은 원형질연락사가 에너지를 사용하여 선택적으로 투과시킨다.

[0009] "목적 물질"은 원형질연락사를 통해 다른 세포로 이동시켜 생리활성조절에 관여하거나 약리효과를 발현할 수 있는 것 또는 세포 내에서 생물학적 활성을 갖는 물질을 의미한다. 예를 들면, 핵산, 탄수화물, 지질, 당지질, 단백질 등이 있을 수 있다. 상기 목적 물질은 그 자체만으로는 원형질연락사를 통해 이동할 수 없는 물질일 수 있다. 이러한 물질의 예로서, 크기가 커서 원형질연락사를 통해 확산되지 못하는 물질, 세포-자율 단백질 (cell-autonomous protein) 등이 있다.

[0010] 서열번호 1의 아미노산 서열은 아라비도시스 탈리아나 (Arabidopsis thaliana)의 전사인자 단백질로서, Dof 패밀리 멤버 중 하나인 AtDof4.1의 61번째 아미노산 잔기부터 110번째 아미노산 잔기까지의 아미노산 서열을 의미한다. 상기 아미노산 서열 부분은 AtDof4.1의 N-말단 가변영역과 징크 핑거 도메인 영역으로 상기 부분이 원형질연락사를 통해 선택적인 이동을 하는데 충분하고도 필요한 것으로 본 발명의 실험에 의해 증명되었다. 따라서 상기 목적물질과 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드가 연결되는 경우 상기 목적물질은 식물세포 내의 원형질연락사를 통해 이동할 수 있다.

[0011] 상기 하나 이상의 목적 물질은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드와 물리/화학적 공유 결합, 비공유 결합으로 연결되거나, 또는 매개체를 이용하여 통합되거나 (incorporated) 융합된 (fused) 형태로 연결될 수 있다. 상기 목적물질은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 연결될 수 있다. 상기 목적 물질이 단백질인 경우 그 단백질의 cDNA를 PCR을 통해 획득한 후 벡터를 이용한 클로닝 기법으로 융합된 단백질을 수득할 수 있거나, 또는 화학적인 융합방법이 있다. 예를 들어, 활성이 있는 목적 물질을 여러 링커 (linker)와 연결한 후 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드와 결합 반응시킬 수 있다.

[0012] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 펩티드는 서열번호 2의 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0013] 서열번호 2의 아미노산 서열은 아라비도시스 탈리아나의 전사인자 단백질인 AtDof4.1의 아미노산 서열을 의미한다.

다. 서열번호 2의 아미노산 서열은 AtDof4.1 단백질의 N-말단 가변 영역 및 징크 핑거 도메인 (ZFM) 영역을 포함하므로 상기 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩티드와 연결된 상기 목적물질은 식물 세포 내 원형질연락사를 통하여 이동할 수 있다.

- [0014] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 목적 물질은 핵산, 탄수화물, 지질, 당지질, 단백질 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0015] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 목적물질은 단백질이고, 상기 단백질은 세포-자율 단백질 (cell-autonomous protein)일 수 있다. "세포-자율 단백질"은 다른 세포로 이동하지 않고 발현된 세포 내에서 자신의 역할을 하는 단백질을 의미한다. 상기 세포-자율 단백질의 경우 다른 세포로 이동할 필요가 없기 때문에 식물 세포 내에서 발현된 경우 다른 식물 세포로 원형질연락사를 통해 이동할 수 없으나 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드와 결합시키면 원형질연락사를 통해 이동할 수 있다. 상기 세포-자율 단백질의 예로 아라비도시스 탈리아나의 GLABROUS1 단백질, 아라비도시스 탈리아나의 AtDof5.4 단백질을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0016] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 목적 물질이 단백질인 경우, 상기 단백질의 크기가 1kDa 내지 80kDa일 수 있다.
- [0017] 원형질연락사를 통해 이동시키고자 하는 단백질의 크기가 일정 크기 이상인 경우 원형질연락사를 통해 이동시키기 어려우나, 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드와 연결됨으로써 원형질연락사를 통해 선택적으로 이동시킬 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 목적 물질은 단백질이고, 상기 복합체는 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 및 상기 목적 물질을 결합시킨 융합 단백질일 수 있다.
- [0019] 상기 융합 단백질은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 단백질인 목적물질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 식물체 내에서 발현시킴으로써 획득할 수 있다. 상기 벡터는 상기 목적 물질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 PCR를 사용하여 증폭시켜 제한효소를 이용하여 식물체에 형질전환시킬 수 있는 적절한 벡터에 삽입함으로써 제조할 수 있다. 이 때 상기 목적물질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 N-말단 영역에 연결될 수도 있고 C-말단 영역에 연결될 수도 있다. 이와 같은 벡터 제조 방법은 당업계에 잘 알려져 있다 (33).
- [0020] 본 발명의 일 양태는 서열번호 1의 아미노산 서열로 구성된 펩티드를 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명의 일 양태는 서열번호 1의 아미노산 서열로 구성된 펩티드 또는 그를 코딩하는 핵산을 포함하는 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 목적 물질을 원형질연락사를 통해 이동시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다. 또한, 상기 조성물은 목적 물질이 원형질연락사를 통해 이동될 수 있도록 상기 펩티드 또는 핵산과 융합시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일 양태는 상기 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 제조하는 단계;
- [0023] 상기 벡터를 아라비도시스 탈리아나에 형질 도입시키는 단계; 및
- [0024] 상기 융합 단백질을 아라비도시스 탈리아나 세포 내에서 발현시키는 단계를 포함하는 상기 목적 물질을 원형질연락사를 통해 이동시키는 방법을 제공한다.
- [0025] 상기 벡터를 제조하는 단계는 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드 및 원형질연락사를 통해 이동시키고자 하는 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 제조하는 단계를 의미한다. 일반적인 재조합 벡터를 제조하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다 (33). 상기 벡터는 당업계에 통상적인 발현 프로모터, 종결인자, 선택마커, 리포터 유전자, 태그서열, 효소 인지 서열, 다중 클로닝 부위 등을 포함할 수 있다.
- [0026] 상기 벡터를 아라비도시스 탈리아나에 형질 도입시키는 단계는 당업계에 식물의 형질전환 방법으로 잘 알려진 아그로박테리움법을 사용할 수 있고, 아그로박테리움법 중에서도 deeping method, vacuum infiltration 또는 tissue culture를 사용할 수 있다 (34, 35). 상기 벡터로 형질 전환된 아라비도시스 탈리아나는 적절한 항생제를 포함하는 MS 플레이트에서 발아시킴으로써 선택되어질 수 있다.
- [0027] 상기 융합단백질을 아라비도시스 탈리아나 세포 내에서 발현시키는 단계는 상기 벡터로 형질 전환된 아라비도시스 탈리아나를 MS 플레이트 또는 흙에서 성장시키는 것에 의해 수행될 수 있다.

발명의 효과

[0028] 원형질연락사를 통해 이동할 수 없는 목적물질을 본 발명의 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드와 결합시킴으로써 원형질연락사를 통해 이동시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 실시예 1 및 실시예 2에 따른 다양한 단백질들의 식물 세포 간 이동 여부를 나타낸다.
 도 2는 실시예 2 및 실시예 3에 따른 사상체 구조 (trichome rescue)의 결과를 도시한다.
 도 3은 실시예 4, 5 및 6에 따른 각 전사인자의 징크 핑거 모티프 간의 서열 비교, 사상체 구조 여부를 나타낸다.
 도 4는 J0571 인헨서 트랩 주에서 관찰된 GFPex 발현 패턴을 나타낸다.
 도 5는 ITD1-mCherry이 어린 잎에서 엽육조직-상피층 경계를 이동할 수 있다는 것을 나타낸다.
 도 6은 35개의 아라비도시스 Dof 패밀리의 멤버로부터의 ZFM 범위 영역의 서열들을 정렬시킨 것을 도시한다. ZFM 만이 높은 수준의 서열 보존을 나타낸다. ZFM; CX₂CX₂CX₂C. 붉은 상자는 ITD1 (AtDof4.1)를 나타낸다.
 도 7은 전장 단백질 서열에 기초한 아라비도시스 Dof 패밀리의 이웃 인접 나무 (neighbor joining tree)를 나타낸다. 흰 박스는 실시예 4의 사상체 구조 분석에서 세포 간 이동 능력을 시험한 ZFM의 Dof 멤버를 나타낸다. 막대= 0.05% 서열 차이. 세포-자율 Dof: 적색 글자, 비-세포-자율 Dof: 청색 글자.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다. 이하의 실시예에서 다음의 실험 재료 및 방법을 사용하였다.

[0031] (1) 식물 재료, 성장 조건 및 식물 형질도입

[0032] 인헨서 트랩 주 J0571을 아라비도시스 생물학 연구 센터로부터 얻었고, gl1-1 돌연변이 (36)를 상기 실시예의 사상체 구조 (trichome rescue) 스크리닝에 사용하였다. *N. benthamiana*, *O. sativa* cv. Japonica, *Glycine max* 및 *Chlamydomonas reinhardtii* 중 (strain) CC-503 cw92 mt+ 로부터의 잎 및 *Physcomitrella patens* 배양을 계놈 DNA를 분리하는데 사용하였다. 씨앗들은 MS 플레이트 또는 흙에 직접 발아시켰다. 형질전환 (transgenic) 식물들은 적절한 항생제 (50 mg/L의 카나마이신 또는 히그로마이신)를 포함하는 MS 플레이트에 선택되어 졌다. 2주된 형질전환된 식물을 토양으로 이식시켰다. 식물을 22℃ 및 60% RH, 16:8 h 명/암 상황에서 성장시켰다. 빛 세기 150 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 이다.

[0033] (2) 사상체 구조 분석에 있어서의 점수

[0034] 사상체 구조 분석을 종래 기술된 것 (17)과 같이 수행하였다. 사상체 구조주의 수는 토양에서 성장시킨 4주된 식물의 로제트 앞에서 계산되었다.

[0035] (3) 동일초점 레이저 스캐닝 및 전자 현미경

[0036] 1주된 아라비도시스 묘목을 뿌리 및 잎에서 GFP의 세포 분포를 조사하기 위해 사용하였다. 올림푸스 (모델 FV1000, 도쿄, 일본) 동일 초점 레이저 스캐닝 현미경, 488 및 543 nm에서 여기, GFP 및 mCherry에 대해 각각 510-540 및 587-625nm에서 방사를 사용하여 형광 이미지를 얻었다. 스캐닝 전자 현미경 (SEM)에 관하여, 1주된 묘목의 잎의 두 번째 쌍을 종래에 기술된 것 (37)과 같이 준비하고 JSM-6380LV (JEOL Ltd., 일본) SEM 상에서 관찰하였다.

[0037] (4) 소프트웨어 및 웹 자원

[0038] CNLS Mapper 소프트웨어 (31)를 예측된 핵 위치화 신호를 찾는데 사용하였다. 서열 정렬은 ClustalW2 소프트웨어 (38)를 사용하여 수행하였다. 벡터 지도의 구성 및 in-silico 클로닝을 Vector NTI version 9 (Invitrogen)에서 수행하였다. 계통 발생 나무는 MEGA4 소프트웨어 (39)를 사용하여 작성하였다.

[0039] (5) UAS 융합 시스템 및 다른 벡터의 제조

[0040] pZY375 (David Jackson Lab, CSHL으로부터 얻음) 벡터 (서열번호 18)를 SalI/SacI으로 제한효소 처리하여 GFP_{Per} 서열을 제거하고 그 후 SalI/SacI 사이에 있는 mCherry 서열을 상기 제거된 부분에 삽입하여 pCCL276 (UAS::mCherry)를 획득하였다. 히스톤-2B (H2B) 단편 코딩 영역을 프라이머 H2B-Avr-d1 및 H2B-HpaK-r1로 증폭시켜 pCCL276의 AvrII/KpnI 부위에 삽입하여 pCCL284 (UAS::mCherry-H2B)를 얻었다. GW 단편 (하기 실시예에서 원형질연락사를 통해 이동하는지 여부를 살펴보기 위해 도입하였던 ITD1 N-var 및 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 3), ITD1을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 4), AtDof2.2을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 5), AtDof2.2 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 6), AtDof5.6 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 7), AtDof4.5 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 8), AtDof3.7 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 9), AtDof5.4 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 10), CrDof ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 11), PpDof15 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 12), PpDof09 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 13), PpDof19 ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 14), GmDof ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 15), OsDof ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 16), NtDof ZFM을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열번호 17) 중 하나를 의미한다)을 XhoI 단편으로서 pEarlyGate103으로부터 얻었고, pCCL276에 있는 SalI 부위에 삽입하여 pCCL292 (UAS::GWmCherry)을 얻었다. pCCL292를 AvrII/KpnI 제한효소 처리하고 H2B 단편을 삽입하여 pCCL306 (UAS::GW-mCherry-H2B)을 얻었다. pCCL702 (pRbcS::GL1-GW) 게이트웨이 목적지 벡터를 클로닝 하기 위해 GW 단편을 프라이머 attR-Bsgl-d1/attR-BKpn-r1로 pDest22 (Invitrogen)로부터 증폭시키고, pK1401 (David Jackson Lab, CSHL으로부터 얻음) (서열번호 19)의 BglIII/KpnI 부위에 삽입하였다.

[0041] 전장 및 단백질 단편의 개방 리딩 프레임 (open reading fram:ORF)을 서열 특이적 프라이머 (표 1) 및 Pfu DNA 폴리머라제 (Solgent, Korea)를 사용하여 제조자의 지시에 따라 PCR로 증폭시켰다. attB 부위가 옆에 있는 PCR 생산물을 pDonr207에 BP 반응 키트 (Invitrogen, USA)를 사용하여 제조자의 지시에 따라 클로닝시켰다. 본 발명에 사용된 모든 PCR 프라이머가 표 1에 나타난다. 필요한 발현 벡터를 얻기 위해, 상기 기술된 엔트리 (entry) 벡터에 클로닝된 표적 단편을 LR 반응 키트 (Invitrogen, USA)를 사용하여 제조자의 지시에 따라 원하는 목적지 벡터에 이전시켰다.

[0042] (6) 본 발명에 사용된 프라이머

표 1

[0043]

프라이머 명칭	서열번호	프라이머 명칭	서열번호
UAS_ApaI_F	20	Dof-Cr-GW-d1	72
NOS_ApaI_R	21	Dof-Cr-GW-r1	73
Dof4.1_F	22	attB1-ad-F*	74
Dof4.1_R	23	attB2-ad-R*	75
Dof4.1_ZFM_F	24	mCherry-S-d1	76
Dof4.1_ZFM_R	25	mCherry-AvrKSac-r3	77
Dof4.1-ΔZFM_F	26	H2B-Avr-d1	78
Dof4.1-ΔZFM_R	27	H2B-HpaK-r1	79
Dof5.4_F	28	attR-Bsgl-d1	80
Dof5.4_R	29	attR-BKpn-r1	81
Dof5.4-ZFM_F	30	Dof4.1-del1_F1Bg	82
Dof5.4-ZFM_R	31	Dof4.1-del1_R1k	83
CrDof-ZFM_F	32	Dof4.1-del2_F2Bg	84
CrDof-ZFM_R	33	Dof4.1-del2_R2k	85
PpDof19-ZFM_F	34	Dof4.1-del3_F3Bg	86
PpDof19-ZFM_R	35	Dof4.1-del3_R3k	87
Dof4.1_GW_d1	36	Dof4.1-del4_F4Bg	88
Dof4.1_GW_d2	37	Dof4.1-del4_R4k	89
Dof4.1_GW_d3	38	Dof4.1-del5_F5Bg	90
Dof4.1_GW_d4	39	Dof4.1-del5_R5k	91
Dof4.1_GW_d5	40	Dof2.2-ZFM_F3Bg	92
Dof4.1_GW_r1	41	Dof2.2-ZFM_R3k	93
Dof4.1_GW_r2	42	Dof5.4-ZFM_F3Bg	94
Dof4.1_GW_r3	43	Dof5.4-ZFM_R3k	95

Dof4.1_GW_r4	44	2Myc_BamHI_F1	96
Dof4.1_GW_r5	45	2Myc_BglIII_R1	97
Dof4.1_GW_r6	46	2Myc_BglIII_F2	98
Dof4.1_GW_r7	47	2Myc_KpnI_R2	99
Dof2.2_GW_d1	48	GL1_AscI_F	100
Dof2.2_GW_r1	49	Dof2.2-ZFM_BamHI_R	101
Dof2.2_GW_d2	50	Dof5.4-ZFM_BamHI_R	102
Dof2.2_GW_r2	51	PpMKN1-3_BglIII_F	103
Dof3.7_GW_d2	52	PpMKN1-3_KpnI_R	104
Dof3.7_GW_r2	53	PpMKN2_BglIII_F	105
Dof4.5_GW_d1	54	PpMKN2_KpnI_R	106
Dof4.5_GW_r1	55	PpMKN4_BamHI_F	107
Dof5.6_GW_d1	56	PpMKN4_KpnI_R	108
Dof5.6_GW_r1	57	PpMKN6_BamHI_F	109
Dof5.4_GW_d1	58	PpMKN6_KpnI_R	110
Dof5.4_GW_r1	59	PpHD6_BglIII_F	111
Dof-Os04-GW-d1	60	PpHD6_KpnI_R	112
Dof-Os04-GW-r1	61	CrGSM1_BglIII_F	113
Dof-Nt-GW-d1	62	CrGSM1_KpnI_R	114
Dof-Nt-GW-r1	63	CrHDG1_BglIII_F	115
Dof-Gm-GW-d1	64	CrHDG1_KpnI_R	116
Dof-Gm-GW-r1	65	CrGSP1_BglIII_F	117
Dof-Pp09-GW-d1	66	CrGSP1_KpnI_R	118
Dof-Pp09-GW-r1	67	CrCO_BglIII_F	119
Dof-Pp15-GW-d1	68	CrCO_KpnI_R	120
Dof-Pp15-GW-r1	69	CrYABBY_BglIII_F	121
Dof-Pp19-GW-d1	70	CrYABBY_KpnI_R	122
Dof-Pp19-GW-r1	71		

[0044] 실시예 1: 아라비도시스 뿌리 및 잎 조직에서 ITD1의 세포 간 이동

[0045] 세포-자율 (cell-autonomous) 및 비-세포-자율 (non-cell-autonomous:NCA) TF 간의 진화적 관계를 알아보기 위해, 아라비도시스 TF의 게놈-범위 스크리닝을 수행하였다. 이 스크리닝을 통해, 본 발명자들은 Dof 패밀리로 부터 추정 NCA-TF인 AtDof4.1를 분리하였고 세포 간 이동 도프 1 (INTERCELLULAR TRAFFICKING DOF 1: ITD1)으로 이름지었다. 이 NCA-TF의 이동 능력을 조사하기 위해 Haseloff J0571 인핸서 트랩 주의 배경에서 상류 활성화 서열 (Upstream Activation Sequence: UAS)의 통제 하에서 다양한 ITD1-mCherry 융합을 발현시켰다 (26, <http://www.arexdb.org/db>).

[0046] 도 1은 실시예 1 및 실시예 2에 따른 다양한 단백질들의 식물 세포 간 이동 여부를 나타낸다. (A-C) mCherry는 피층 (C) 및 내피 (E)에 있는 합성 부위로부터 측면 뿌리 캡 (L), 상피 (Ep) 및 중심주 (St)를 포함하는 뿌리 끝 전체에 걸친 세포로의 넓은 범위에 걸친 이동을 보인다. (D-F) Myb88-mCherry는 발현 부위를 벗어나 이동하는데 실패하였다. (G-I) ITD1-mCherry는 바깥의 한 개 세포층 및 내부의 다중 세포층 이동 (화살표 머리)을 보인다. 내부 상자: 상자 영역의 확대. (J-L) mCherry-H2B는 피층 및 내피 세포의 핵에 제한된다. (M-O) ITD1-mCherry-H2B는 그의 발현 도메인의 외부에 mCherry 형광을 나타내고 이는 PD를 통한 이동 능력을 나타낸다. 내부 상자: mCherry 신호를 밝게 조정하여 대비시킴. 막대= 20 μ m

[0047] 이 J0571주는 UAS::GFP 리포터를 뿌리의 피층 및 내배엽 내에 발현시킨다 (도 1의 A, D 및 도 4). 이 실험의 대조군으로서, 형광의 세포 패턴을 UAS::mCherry (27 kDa) 리포터에 대해 조사하였다. 도 1의 B에 나타난 바와 같이 mCherry의 유리 형태는 그의 합성 부위 (도 1의 A에 나타남)로부터 뿌리 끝 전체의 대부분의 세포 타입으로 이동할 수 있다 (도 1의 B 및 C). 이는 대부분의 뿌리 세포들을 서로 연결하고 있는 PD가 27 kDa mCherry의 비-선택적인 세포 간 이동을 확산을 통해 허용하도록 충분히 팽창한다는 것을 나타낸다. 반대로, 더 큰 Myb88-mCherry 융합 (81 kDa)은 그의 합성 부위를 벗어나 이동하지 못했다 (도 1의 D-F) Myb88-mCherry 식물로부터의 적색 형광은 피층 세포 및 내배엽 세포의 핵에 제한된다. 이는 더 큰 크기 및/또는 핵에 격리된 mCherry 융합 단백질이 PD를 통하여 확산하는 것이 방해되었다는 것을 의미한다.

[0048] UAS::ITD1-mCherry (61.7 kDa) 형질전환 J0571 인핸서 트랩 주의 분석은 비록 약하기는 하나 GFP가 표시된

주변의 양 옆에 형광 신호의 존재를 나타냈다 (도 1의 G-I). 내배엽으로부터 중심주 조직으로의 안쪽 이동이 단지 피층 (cortex)으로부터 외피 (epidermis)로 일어난 바깥쪽 이동에 비해 더 넓은 범위에 걸쳐 있었다. 측면 및 말초 뿌리 캡 세포로의 이동은 관찰되지 않았다. mCherry 및 ITD1-mCherry 간의 이동 패턴의 현저한 차이는 PD 크기 배제 제한에 있어 구별되는 형태 또는 ITD1 이동에 있어서의 선택성을 나타낸다.

[0049] 이러한 두 가지 가능성은 세포-자율 TF로 이전에 알려진 (27) ITD1의 먼 친척인 AtDof2.2로 실험을 수행하여 시험하였다. 이 단백질은 36.7 kDa Dof TF로 ITD1과 유사한 크기 (33.4 kDa)이다. 예상한 대로, 9개의 독립적인 T1 AtDof2.2-mCherry (64.9 kDa) 주의 분석은 형광 신호가 GFPPer에 의해 표시된 발현 구간에 제한된 것을 나타낸다. 이러한 결과는 AtDof2.2가 아닌 ITD1이 PD를 통한 선택적인 이동 능력을 갖는다는 가설을 지지한다.

[0050] J0571 배경에서, UAS::GFPPer 리포터는 또한 잎의 엽육조직 및 성숙한 공변세포에 발현되었다 (도 4 및 도 5의 A). 성숙한 공변 세포는 성숙의 최종 단계 동안 PD의 절단에 의해 심플라즈마로 (symplasmically) 분리된다고 보고되었기 때문에 (28, 29), 본 발명자들은 ITD1이 엽육조직 및 상피층 간에 이동할 수 있는지 시험해 보았다. ITD1-mCherry는 잎 상피 세포에서 검출되었고 서브-상피 층으로부터의 그의 이동을 증명한다 (도 5의 B 및 C). 유사하게, mCherry의 세포-자율 융합 단백질은 발현 부위에 제한된 반면 (도 5의 G-I), 유리 mCherry는 상피 세포에서 검출되었다 (도 5 D-F).

[0051] 도 4는 J0571 인핸서 트랩 주에서 관찰된 GFPPer 발현 패턴을 나타낸다. J0571 식물주는 뿌리 피층 (cortex), 내피 (endodermis), 잎의 엽육조직 (mesophyll) 및 공변세포에서 발현을 통제하는 아라비도시스 내재적 인핸서에 의해 작동되는 GAL4 DNA 결합 도메인 및 VP16 활성화 도메인을 갖는 키메라 TF를 갖는다. G4V16은 상류 활성화 서열 (upstream activation sequence: UAS) 구성 요소에 의해 통제되는 ER-표적화된 mGFP 구조 (GFPPer)의 발현을 활성화시킨다. (A) 아라비도시스의 어린 잎이 표면 동일 초점 현미경 사진이 상피층의 GFP의 존재를 나타낸다. (B) 표면 이미지의 더 높은 확대는 GFP 발현이 공변 세포에 제한되어 있음을 나타낸다. (C) 명시야 (brightfield)에서의 잎 단면은 상피 및 엽육조직의 경계를 나타낸다. (D) 잎 단면의 동일 초점 이미지는 GFP가 엽육 조직에 발현되었음을 나타낸다. (E) 뿌리 종단면의 동일 초점 이미지는 GFP가 피층 및 내피층에 발현되었다는 것을 나타낸다. 약자: C, 피층; E, 내피층; Ep, 상피층; L, 측면 캡 세포; Me, 엽육조직 세포; St, 중심주. 비율 막대: 100 μ m (A), 5 μ m (B), 20 μ m (C, D), 10 μ m (E).

[0052] 도 5는 ITD1-mCherry이 어린 잎에서 엽육조직-상피층 경계를 이동할 수 있다는 것을 나타낸다. (A-C) J0571 인핸서 트랩 주에서 UAS::GFPPer 및 UAS::ITD1-mCherry를 발현하는 형질전환 아라비도시스 식물. (A) 잎의 표면 동일 초점 이미지가 공변 세포 내의 GFPPer의 발현을 나타낸다. (B) ITD1-mCherry 형광 신호가 공변 세포 및 상피 세포 (pavement cell) 모두에서 검출되었다. (C) (A) 및 (B) 이미지의 합침. (D-F) J0571 인핸서 트랩 주에서 UAS::GFPPer 및 UAS::mCherry를 발현시키는 형질전환 아라비도시스 식물. (D) 공변 세포 내에 GFPPer를 발현시키는 잎 표면의 동일 초점 이미지. (E) mCherry 형광 신호가 공변 세포 및 상피 세포 모두에서 검출된다. (F) (D) 및 (E) 이미지의 겹침. (G-I) mCherry와 융합된 세포-자율 전사 인자는 엽육조직-상피세포 경계를 통과하는데 실패하였다. 화살표는 공변세포를 지시한다. 화살표 머리는 큰 액포가 있는 상피 세포의 세포질 주변에서의 mCherry 신호를 지시한다. 막대 = 20 μ m.

[0053] 실시예 2: 선택적인 NCA 경로에 의한 ITD1 운반

[0054] PD를 통한 비선택적 단백질 이동은 단백질의 크기를 증가시키는 것에 의해 또는 세포질 내에서 격리를 통해 봉쇄되거나 현저하게 감소될 수 있다. 히스톤 2B (H2B, 16kDa)은 융합 단백질의 핵 내 격리를 매개할 수 있는 강한 핵 위치화 신호 (nuclear localization signal: NLS)를 갖는 핵 염색질 결합 단백질이다 (30). mCherry-H2B 융합 단백질 (44.2kDa)의 발현은 형광 신호의 뿌리 끝에 있는 GFPPer 표시 발현 구역 내 핵에 감금시켰다 (도 1의 J-L). 따라서 H2B NLS의 활성화는 mCherry가 주변의 세포로 확산되는 것을 방해하였다. 반대로, 식물 주 ITD1-mCherry-H2B (77.5 kDa) 발현 분석은 비록 mCherry-H2B보다 크기는 훨씬 크지만 이 융합 단백질은 여전히 세포에서 세포로 이동할 수 있다는 것을 밝혔다 (도 1의 M-O). 이는 ITD1이 단순한 확산에 의해 이동하는 것이 아니라라는 것을 의미하고 이는 PD의 선택적인 경로를 통해 이동한다는 가설을 지지한다.

[0055] 이 후 발명자들은 ITD1의 선택적인 운반 능력에 대한 추가적인 시험으로써 사상체 구조 분석 (trichome rescue assay)을 사용하였다. 본 발명자들은 ITD1이 이동 기능을 다른 세포-자율 단백질, GLABROUS1 (GL1)에 제공할 수 있는지 궁금하였다. 이를 위해, GL1-ITD1 융합 단백질은 gl1 돌연변이 식물의 엽육에 특별하게 발현시켰다.

[0056] 도 2는 실시예 2 및 실시예 3에 따른 사상체 구조 (trichome rescue)의 결과를 도시한다. (A) GL1-ITD1를 발현

하는 g11 형질전환주가 사상체 구조를 나타냈다. (B) g11 식물은 털 없는 잎을 발달시킨다. (C) 보통 사상체 패턴을 나타내는 야생형 잎. 내부 상자: 상자 영역의 확대. 막대 = 1 mm. (D-F) 상기 나타난 식물의 잎의 스캐닝 전자 현미경 사진 (각각 A-C). 막대= 200 μ m. (G) 예측되는 ITD1의 도메인 구조 및 사상체 구조 분석에 시험된 결손 돌연변이. 숫자들은 특정 모티프 경계 및 결손 부위의 아미노산 잔기에 상응한다. ZFM, 징크 핑거 모티프; NLS, 핵 위치화 서열; SR, 세린 풍부 영역. 낮은 막대: 다섯개의 결손 돌연변이; (-) 사상체 구조 안됨, (+) 사상체 구조. (H) 사상체 구조 분석은 표시된 GL1 융합 단백질로 수행되었다. 사상체 구조 통계는 표 2에 제공된다. KN1 사상체 구조 데이터는 Kim et al (24)로부터 온 것이다.

[0057] 형질전환 주 (T1)의 분석은 GL1-ITD1이 실제로 g11 유전적 배경에서 사상체 발달을 구조 (rescue)할 수 있다는 것을 나타냈다 (도 2의 A). 이 실험의 대조군은 g11 돌연변이 (도 2의 B) 및 야생형 Columbia-0 (도 2의 C) 식물이었다. 동일한 식물 주들로부터의 잎의 스캐닝 전자 현미경 분석은 GL1-ITD1 (도 2의 D) 및 야생형 (도 2의 F) 식물에서는 사상체의 존재를, g11 돌연변이주에서는 사상체의 비존재를 확인시켰다 (도 2의 E).

[0058] 본 발명자들은 검사한 271개 중 75개의 형질전환 식물, 즉 28%의 구조,에서 사상체 구조를 관찰하였다 (도 2의 H 및 표 2). 대조군으로써 본 발명자들은 세포-자율-TF인 AtDof2.2를 사용하였다. 207개의 독립적인 형질전환 식물 중 단지 9개 만이 그들의 잎에 사상체를 가졌다 (도 2의 H). 이 결과는 AtDof2.2-mCherry가 뿌리 내의 PD를 통해 움직일 수 없다는 것을 나타낸다. ITD1-mCherry-H2B 융합 단백질 실험결과는 ITD1이 GL1과 같은 세포-자율 단백질에 이동 기능을 제공할 수 있는 선택적인 이동 신호를 포함하고 있다는 것을 입증하였다. AtDof2.2에 의해 사상체 구조가 결핍된 것과 같이 이러한 NCA 행동은 아라비도시스 Dof 패밀리의 일반적인 특성이 아니다.

[0059] 표 2: ITD1 결손 실험의 사상체 구조 분석 통계

표 2

단백질/펩티드	독립적인 형질전환 주의 전체 수	사상체 구조된 주의 수	구조율 (%)
AtDof2.2	207	9	4.3
ITD1 ₁₋₂₉₄	271	75	27.7
ITD1 ₁₋₆₀	176	7	4.0
ITD1 ₁₋₂₀₇	181	80	44.2
ITD1 ₆₁₋₂₀₇	122	36	29.5
ITD1 ₆₁₋₂₉₄	110	26	23.6
ITD1 ₆₁₋₁₅₈	274	68	24.8
ITD1 ₆₁₋₁₁₀	233	82	35.2
ITD1 ₁₁₁₋₁₅₈	299	12	4.0
ITD1 ₁₁₁₋₂₀₇	259	10	3.9
ITD1 ₁₅₉₋₂₀₇	297	9	3.0
ITD1 ₂₀₈₋₂₉₄	96	10	10.4

[0061] 실시예 3: ITD1의 징크 핑거 모티프가 세포 간 이동능력을 제공한다.

[0062] 그 후 ITD1에게 NCA 기능을 제공하는 것에 관련될 수 있는 잠재적인 모티프를 식별하기 위해 도메인 구조 분석을 ITD1에 대해 수행하였다. Dof TF 패밀리의 다른 멤버와 같이 ITD1은 보존된 CX₂CX₂₁CX₂C 징크 핑거 모티프 (zinc finger motif: ZFM)를 그의 N-터미널 영역 내에 갖는다 (도 2의 G; 아미노산 잔기 70 - 98). 또한 35개의 잔기 (아미노산 잔기 92-127)로 이루어진 NLS를 CNLS Mapper 소프트웨어를 사용하여 예측하였다 (31); NLS는 ZFM과 부분적으로 오버랩되는 것으로 나타났다. 또한 모티프 스캔 프로그램 (http://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan)은 NLS에 근접하게 위치한 세린 풍부 (SR) 영역을 예측했다.

[0063] PD를 통한 ITD1의 이동을 증대하는 모티프들의 역할을 테스트하기 위해 사상체 구조 분석을 하였다. 다양한 결실을 만들어 일련의 GL1-ITD1 구조를 제공하였고, g11 돌연변이 주에 형질도입시켰다. 처음에는 ITD1 ORF를 다섯 개의 단편으로 분할하였다 (도 2의 G).

[0064] 흥미롭게도 ZFM, NLS 및 SR 영역을 모두 포함하는 ITD11-207, ITD161-207 및 ITD161-294 절편이 ITD11-60 (4%) 또는 ITD1208-294 (10%)에 비해 현저하게 높은 사상체 구조 (각각 44, 30 및 24%)를 증대하였다 (도 2의 H 및 표 2). 본 발명자들은 그 후 ITD161-207 영역을 절단하여 PD 이동에 필요한 기능 모티프를 더 찾아보았다. 이러한 연구는 ITD161-110 및 ITD161-158 (즉, ZFM 범위의 잔기)이 각각 35% 및 25% 구조 비율을 제공하였다는 것을 확인시켰다. 반대로, ITD1111-158, ITD1111-207 및 ITD1159-207는 사상체 구조를 증대하는데 모두 실패하였다 (각각 4, 4 및 3%). 이러한 실험 결과를 통합해 볼 때, DNA 결합 ZFM을 포함하는 ITD161-110 내에 위치한 영역이 ITD1의 PD 이동을 위해 필요하면서도 충분한 것을 확인할 수 있었다.

[0065] 실시예 4: 아라비돕시스 Dof 패밀리 멤버 간 이동 모티프 보존

[0066] 아라비돕시스 Dof 패밀리의 ZFM 범위 영역의 서열 정렬은 높은 정도의 보존을 나타낸다 (도 6). 따라서 본 발명자들은 다른 패밀리 멤버의 ITD161-110과 동등한 영역도 세포간 이동 능력을 GL1에 제공할 수 있는지 시험하였다. 다양한 분기군 (clade) (도 7)으로부터 추가적인 다섯 개의 Dof 멤버를 사상체 구조 분석을 위해 선택하였다. 다섯 개의 Dof 멤버 모두 잎 및 뿌리 기관에서 모두 발현된다 (Genevesgator). 계통 발생 분석 및 ZFM의 서열 상동 관계 레벨로부터 예측된 바와 같이 (도 3의 A), ITD1과 동일한 분기군에 속하는 AtDof3.7 및 AtDof4.5는 현저한 사상체 구조를 증대한 반면 (도 3의 C 및 표 3), 더 멀리 관계된 AtDof2.2 및 AtDof5.4는 사상체 발달을 구조하는데 비효과적이었다. 이 ZFM의 계통 발생학적 분석에 기초할 때, 더 멀리 관계된 AtDof5.6도 사상체 구조를 용이하게 하였다는 것이 주목할 만하다. 유사한 결론이 이 Dof TF의 전체 오픈 리딩 프레임을 사용하여 조합된 계통 발생학적 나무에 의해 지지된다 (도 7). 그러므로 PD를 통한 선택적 이동능력은 초기에 유래된 특성이다.

[0067] 도 3은 실시예 4, 5 및 6에 따른 각 전사인자의 징크 핑거 모티프 간의 서열 비교, 사상체 구조 여부를 나타낸다. (A) 선택된 AtDof 멤버의 징크 핑거 모티프 (ZFM) 범위 영역의 서열들을 정렬시켰다. 이 영역들 간 높은 정도의 서열 보존이 존재한다. 계통 발생 나무 (phylogenetic tree) (왼쪽)는 이 단백질 간의 관계를 나타낸다. 막대 = 0.1% 서열 차이. 숫자들은 ITD1 잔기를 나타낸다. N-var, N-말단 가변 영역; ZFM, CX₂CX₂₁CX₂C. (B) TF의 Dof 패밀리의 선택된 멤버의 ZFM 범위 영역의 서열들을 정렬시켰다 (좋은 표 4에 제공된다). 계통 발생 나무는 왼쪽에 나타난다. 막대=0.1% 서열 차이. (C) 사상체 구조 분석이 GL1에 융합된 나타난 ZFM으로 수행되었다. 사상체 구조 통계는 표 2에 제공된다. (D) ITD1 N-var 및 ZFM 영역 모두가 AtDof5.4를 NCA-TF로 변환하는데 필요하다. 사상체 구조 분석에 사용된 구조들은 표시된 AtDof5.4 (황색) 및 ITD1 (청색)의 N-var 및 ZFM의 교환을 포함하였다. 사상체 구조를 보이는 식물의 수/ 시험된 식물의 전체 수 (% 로서)를 각 구조의 오른쪽에 나타낸다.

[0068] 표 3: 아라비돕시스 및 다른 종의 Dof ZFM으로 수행한 사상체 구조 분석 결과.

표 3

단백질/펩티드	독립된 형질전환 주의 전체 수	사상체 구조된 주의 수	구조율 (%)
AtDof5.6	129	28	21.7
AtDof4.5	159	52	32.7
AtDof3.7	139	25	18.0
ITD1	233	82	35.2
AtDof2.2	163	15	9.2
AtDof5.4	173	6	3.5
CrDof	210	48	22.9
PpDof15	277	50	18.1
PpDof09	240	47	19.6
PpDof19	105	27	25.7
GmDof	212	37	17.5
OsDof	162	12	7.4
NtDof	181	3	1.7

[0070] 실시예 5: Dof TF 패밀리 내의 세포 간 단백질 이동능력의 진화

[0071] TF의 Dof 패밀리는 단세포 녹조류, 하위 및 상위 식물 중에 존재하는 멤버들과 함께 식물 특이적이다 (32). *Chlamydomonas* 에서 단일 Dof 유전자가 보고되었으며 (32), 이 TF가 Dof 패밀리의 고대 선조를 나타내는 것으로 보인다. Dof TF는 아직 PD를 발달시키지 않는 단세포 유기체에서 이미 존재하였기 때문에, 본 발명자들은 특정 Dof TF가 유전자 복제 후 기능화 (subfunctionalization)를 통해 NCA 이동 능력을 얻었을 것으로 가설을 세웠다.

[0072] 상이한 6개의 종의 ZFM에 기초한 계통 발생학적 분석은 이들 간의 높은 정도의 보존을 나타낸다 (도 3의 B 및 표 4). 조류 및 이끼 (관이 없는 관다발 식물 (non-vascular tracheophyte))와 관련된 가변 도메인 서열이 상위 식물인 아라비도시스에서 세포 간 GL1의 이동을 중개하는데 비효율적인지 시험하기 위해 이 종들의 ITD161-110에 상응하는 영역을 사상체 구조 분석에 사용하였다.

[0073] 놀랍게도 *Chlamydomonas*의 Dof ZFM (CrDof), *Physcomitrella*의 Dof ZFM (PpDof) 및 *Glycine max*의 ZFM (GmDof)과 사상체 구조에 있어서 동일하게 효과적이었다 (도 3의 C 및 표 3). 반대로 *Nicotiana tabacum* 및 *Oryza sativa* 의 Dof ZFM (각각 NtDof, OsDof)은 AtDof5.4의 ZFM과 같이 사상체 구조를 중개하는데 비효율적이었다. 상기 본 발명자들의 AtDof ZFM 시험 결과와 이 결과들을 종합하여 볼때, Dof TF 패밀리의 멤버에게 NCA 기능을 제공하는 이 모티프는 PD 선택적 이동 경로의 진화보다 더 먼저 생겼을 것이라고 추측된다.

[0074] 표 4: Dof ZFM 이동 실험에 사용된 종

표 4

종 명	Accession Number/AGI Code/other name
<i>Arabidopsis thaliana</i> (At)	AtDof2.2 (At2g28810), AtDof3.7 (At3g61850) AtDof4.1 (At4g00940), AtDof,4.5 (At4g21080) AtDof5.4 (At5g60850), AtDof5.6 (At5g62940)
<i>Nicotiana tabacum</i> (Nt)	CAA66601.1
<i>Oryza sativa japonica</i> (Os)	Os04g0567800
<i>Glycine max</i> (Gm)	ABI16018.1
<i>Physcomitrella patens</i> (Pp)	PpDof09 (gi 22491945), PpDof15 (gi 18326732), PpDof19 (gi 7207220)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (Cr)	gi 10126755

[0076] 실시예 6: ITD1 및 AtDof5.4.의 n-가변 영역 및 ZFM 영역의 기능적인 분석.

[0077] 아라비도시스 Dof TF 패밀리의 세포 간 이동 능력에 있어 N-말단 가변 영역 (N-terminal variable region: N-var) 및 ZFM의 역할을 조사하기 위해, 본 발명자들은 ITD1 및 AtDof5.4 도메인이 교환된 일련의 구조를 생성시켰다 (도 3의 D). ITD1의 N-var 영역이 AtDof5.4로 교체되었을 때 사상체 구조는 관찰할 수 없었다. AtDof5.4 N-var 영역을 ITD1으로 상호 교환한 것 또한 그의 이동 능력의 손실을 나타냈다 (도 3의 D). 이 실험은 ITD1 N-var 영역이 필요하나 AtDof5.4에게 NCA 기능을 전하는데 불충분하다는 것을 증명한다. N-var 및 ZFM 영역을 ITD1 및 AtD5.4 간에 교환시킨 동등한 실험은 ITD1이 아닌 변형된 AtDof5.4가 사상체 발달을 구조할 수 있다는 것을 나타냈다 (도 3의 D). 이 연구는 ITD1 N-var 및 ZFM 영역 모두가 PD를 통한 이동을 중재하기에 필요하면서도 충분한 것인 서명 모티프를 포함한다는 것을 입증한다.

[0078] 참고 자료

[0079] 1. Zambryski P, Crawford K (2000) *Annu Rev Cell Develop Biol* 16:393-421.

[0080] 2. Lucas WJ, Lee JY (2004) *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:712-726.

[0081] 3. Cilia ML, Jackson D (2004) *Curr Opin Cell Biol* 16:500-506.

[0082] 4. Oparka KJ (2004). *Trends Plant Sci* 9:33-41.

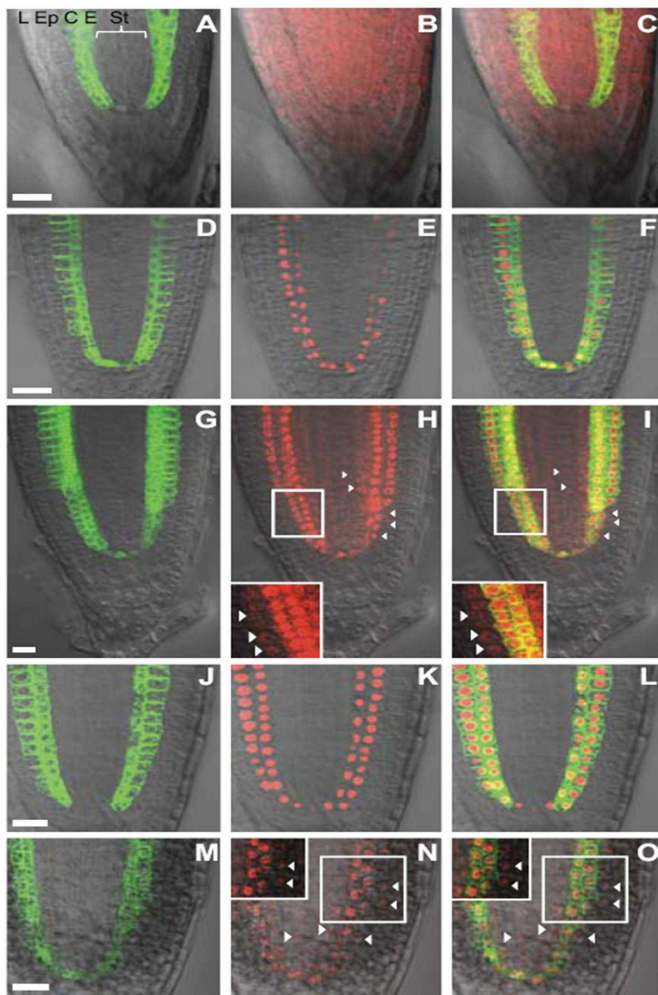
[0083] 5. Gallagher KL, Benfey PN (2005) *Genes Dev* 19:189-195.

[0084] 6. Maule AJ (2008) *Curr Opin Plant Biol* 11:680-686.

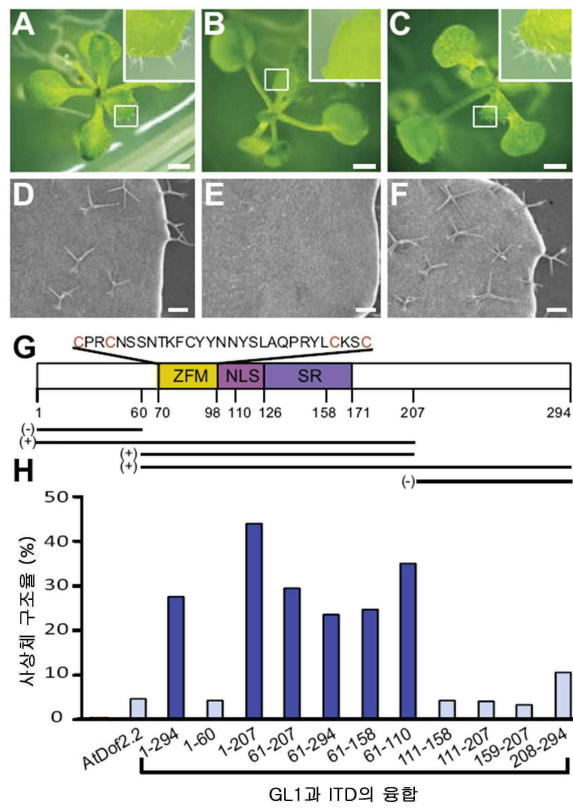
- [0085] 7. Lucas WJ, Ham BK, Kim JY (2009) *Trends Cell Biol* 19:495-503.
- [0086] 8. Vollbrecht E, Veit B, Sinha N, Hake S (1991) *Nature* 350:241-243.
- [0087] 9. Jackson D, Veit B, Hake S (1994) *Development* 120:405-413.
- [0088] 10. Lucas WJ, et al. (1995) *Science* 270:1980-1983.
- [0089] 11. Sinha NR, Williams RE, Hake S (1993) *Genes Dev* 7:787-795.
- [0090] 12. Perbal MC, Haughn G, Saedler H, Schwarz-Sommer Z (1996) *Development* 122:3433-3441.
- [0091] 13. Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey PN (2001) *Nature* 413:307-311.
- [0092] 14. Wada T, et al. (2002) *Development* 129:5409-5419.
- [0093] 15. Kurata T, et al. (2005) *Development* 132:5387-5398.
- [0094] 16. Gallagher KL, Benfey PN (2009) *Plant J* 57:785-797.
- [0095] 17. Lee JY, et al. (2003) *Science* 299:392-396.
- [0096] 18. Wu X, et al. (2003) *Development* 130:3735-3745.
- [0097] 19. Oparka KJ, et al. (1999) *Cell* 97:743-754.
- [0098] 20. Crawford KM, Zambryski PC (2000) *Curr Biol* 10:1032-1040.
- [0099] 21. Crawford KM, Zambryski PC (2001) *Plant Physiol* 125:1802-1812.
- [0100] 22. Kim I, Kobayashi K, Cho E, Zambryski PC (2005) *Proc Natl Acad Sci USA* 102:11945-11950.
- [0101] 23. Gallagher KL, Paquette AJ, Nakajima K, Benfey PN (2004) *Curr Biol* 14:1847-1851.
- [0102] 24. Kim JY, Rim Y, Wang J, Jackson D (2005) *Genes Dev* 19:788-793.
- [0103] 25. Taoka K, Ham BK, Xoconostle-Cazares B, Rojas MR, Lucas WJ (2007) *Plant Cell* 19:1866-1884.
- [0104] 26. Birnbaum K, et al. (2003) *Science* 302:1956-1960.
- [0105] 27. Lee JY, et al. (2006) *Proc Natl Acad Sci USA* 103:6055-6060.
- [0106] 28. Wille AC, Lucas WJ (1984) *Planta* 160:129-142.
- [0107] 29. Ding B, Kwon MO, Hammond R, Owens R (1997) *Plant J* 12:931-936.
- [0108] 30. Boissard-Lorig C, et al. (2001) *Plant Cell* 13:495-509.
- [0109] 31. Kosugi S, Hasebe M, Tomita M, Yanagawa H (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106:10171-10176.
- [0110] 32. Shigyo M, Tabei N, Yoneyama T, Yanagisawa S (2007) *Plant Cell Physiol* 48:179-185.
- [0111] 33. Sambrook et al, 9:31-57, Molecular cloning (2nd edition)
- [0112] 34. Bechtold, N., Ellis, J., and Pelletier, G. (1993). C. R. Acad. Sci. Paris, Life Sciences 316:1194-1199.
- [0113] 35. Clough, S. J. and Bent, A.F. (1998). Plant J. 16: 735-743
- [0114] 36. Oppenheimer DG, Herman PL, Sivakumaran S, Esch J, Marks MD (1991) *Cell* 67:483-493.
- [0115] 37. Rim Y, et al. (2009) *Funct Plant Biol* 36:280-289.
- [0116] 38. Larkin MA, et al. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23:2947-2948.
- [0117] 39. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24:1596-1599.

도면

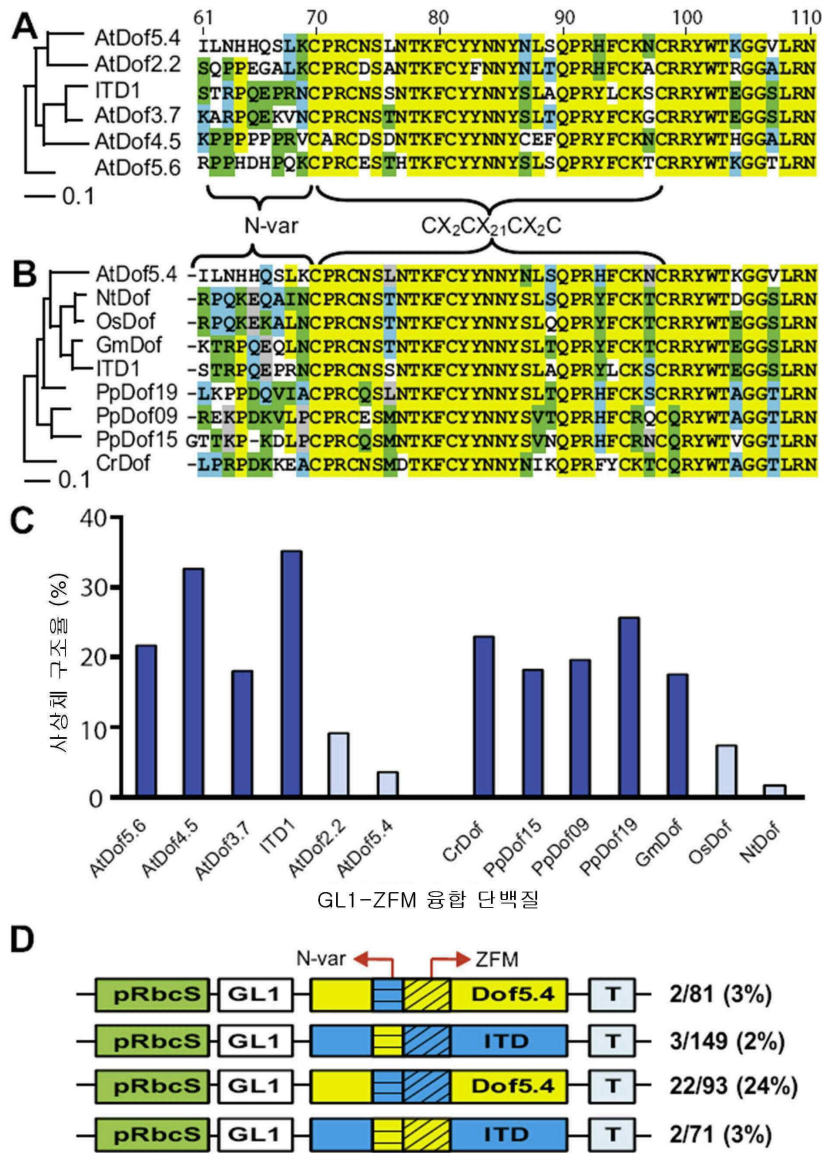
도면1



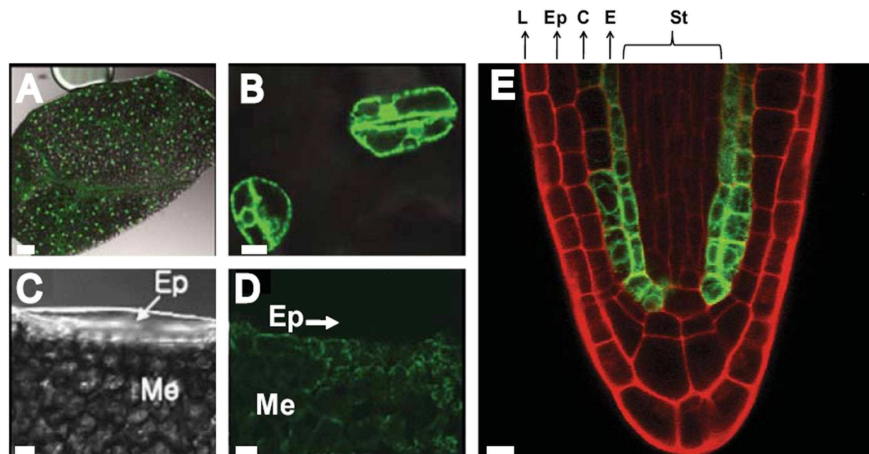
도면2



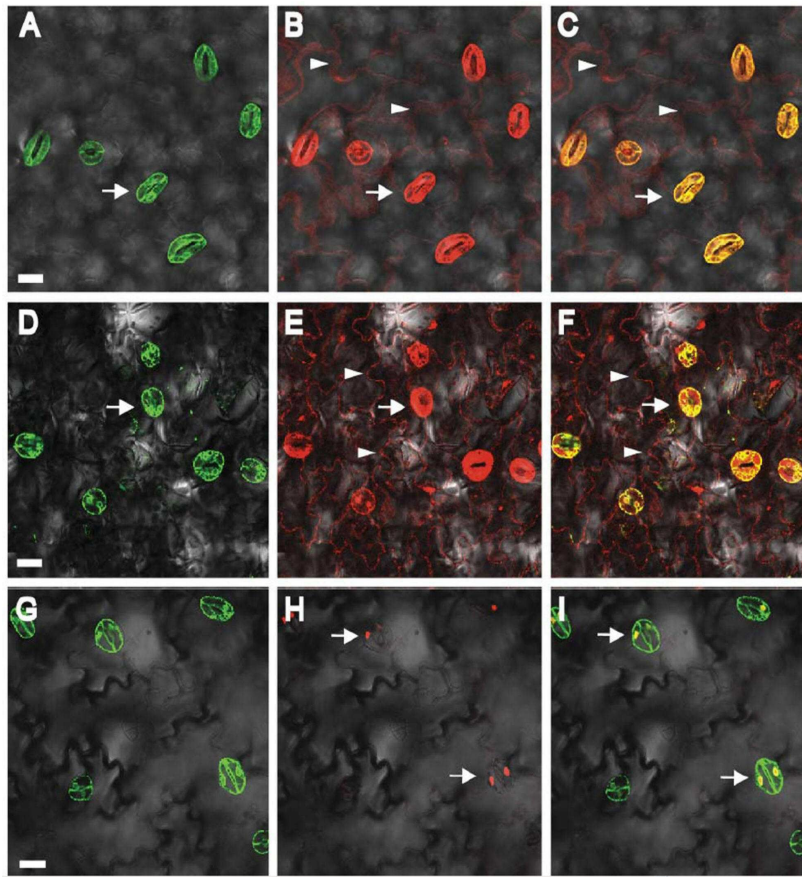
도면3



도면4



도면5

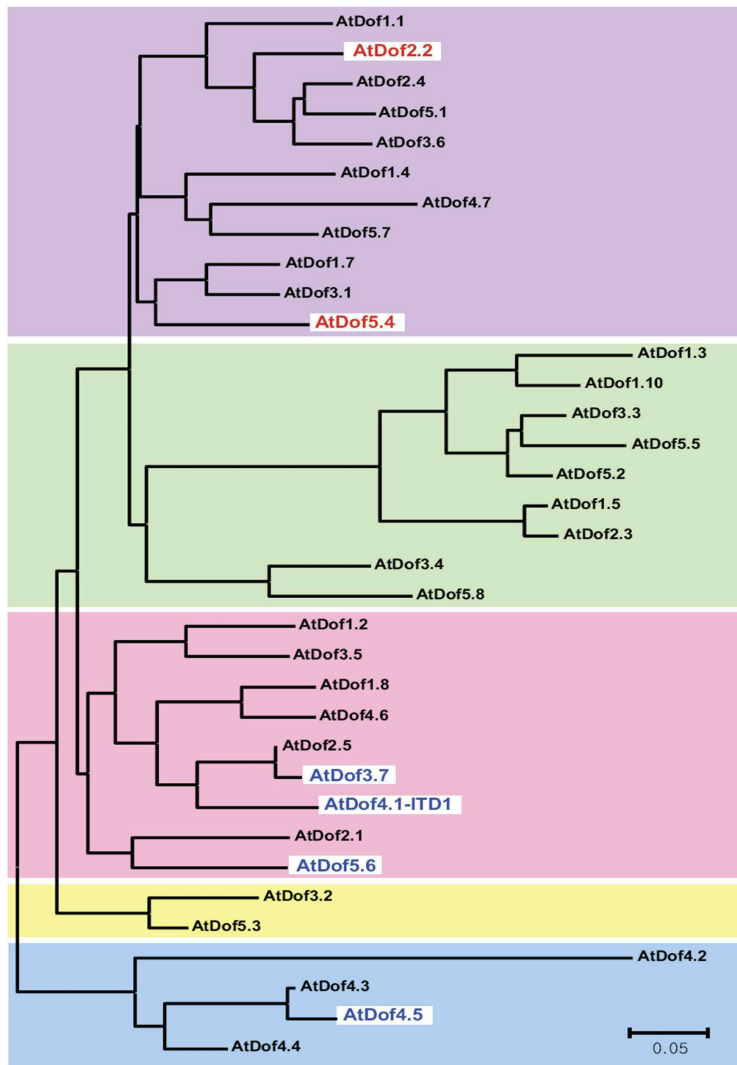


도면6

	130	140	150	160	170	180	190	200	210
AtDof1.1	RQA-NIPPLAGFLKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKKGKNG	NLKSSSSS			
AtDof2.2	RLAKNSQPPEGALKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKKGKSG	NSKSSSSS			
AtDof2.4	RQA-NVALPEALKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKRTKSN	NNNNSTAT			
AtDof5.1	RLA-NIPLPETALKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRSVPV	GGGCRNNKRTKNS	SGGGGTS			
AtDof3.6	RIA-KVPLPEALINCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKRSKRS	SKS--TVVVS			
AtDof4.7	NNKEPSPATQPVLC	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNK				
AtDof4.7	PPSSVAQDQNLKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNK	SIKPNSSMTLP			
AtDof1.8	VERKARPEKDQALNCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKRS	SSSSSSSSSS			
AtDof4.6	GERKARPEKDQAVNCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKRS	SSSSDISNNHSD			
AtDof2.5	VVAERKARPEKLNCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKRS	SSSSSNIQTIP			
AtDof3.7	TMETRKARPEKVNCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKRS	STPLAS--PSNP			
AtDof4.1	LMTTMRTPQEPNCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPFPNSS--TSSST				
AtDof4.2	EMN--VMPPP--RVC	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof4.4	QVNGLRKPPPS-RVC	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof4.3	QVNDVKPPPPPPV	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof4.5	QVNDVKPPPPPPV	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof3.2	LSATRPAPPEQSLCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.3	TAVTRPQPPELALCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof2.1	KKVSRGELGGEAQNCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof3.4	VTVPIS--DQEQQLCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.8	GSVAITPDQEQQLCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof1.7	KQNQPELPQEQQLCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.1	QQQQPQFAEQQLCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.4	AHQNNILNHHQSLKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof1.4	QQQQPQPPQQLKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof1.3	EKTTELKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof1.10	EKSTALKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof3.3	PDGKTLKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.5	--KTLLKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.2	SQEGKLKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof1.5	-DLTAERKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof2.3	-DLTAERKPPDKILCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof5.6	GSRRLRPDHPDQKCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof3.5	WRPNANANAEITPSCP	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				
AtDof1.2	WKLSEYQEAITAPAC	PCDSSNTKFCYNNY	NLTQPRHFCKGCR	RYWTGGALRNVPV	GGGCRNNKLPKIDQSS--				

CX₂CX₂₁CX₂C

도면7



서열 목록

- <110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY
- <120> A complex trafficking through plasmodesmata and method of transporting targeted material through plasmodesmata
- <130> PN092500
- <160> 122
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1
- <211> 50
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> ITD1 N-var + ZFM peptide seq [ITDN'-5.4_ZfM]
- <400> 1

Ser Thr Arg Pro Gln Glu Pro Arg Asn Cys Pro Arg Cys Asn Ser Leu
1 5 10 15

Asn Thr Lys Phe Cys Tyr Tyr Asn Asn Tyr Asn Leu Ser Gln Pro Arg
20 25 30

His Phe Cys Lys Asn Cys Arg Arg Tyr Trp Thr Lys Gly Gly Val Leu
35 40 45

Arg Asn

50

<210> 2

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITD1 protein seq

<400> 2

Met Asp His His Gln Tyr His His His Asp Gln Tyr Gln His Gln Met

1 5 10 15

Met Thr Ser Thr Asn Asn Asn Ser Tyr Asn Thr Ile Val Thr Thr Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Thr Thr Thr Thr Met Asp Ser Thr Thr Ala Thr Thr Met

35 40 45

Ile Met Asp Asp Glu Lys Lys Leu Met Thr Thr Met Ser Thr Arg Pro

50 55 60

Gln Glu Pro Arg Asn Cys Pro Arg Cys Asn Ser Ser Asn Thr Lys Phe

65 70 75 80

Cys Tyr Tyr Asn Asn Tyr Ser Leu Ala Gln Pro Arg Tyr Leu Cys Lys

85 90 95

Ser Cys Arg Arg Tyr Trp Thr Glu Gly Gly Ser Leu Arg Asn Val Pro

100 105 110

Val Gly Gly Gly Ser Arg Lys Asn Lys Lys Leu Pro Phe Pro Asn Ser

115 120 125

Ser Thr Ser Ser Ser Thr Lys Asn Leu Pro Asp Leu Asn Pro Pro Phe

130 135 140

Val Phe Thr Ser Ser Ala Ser Ser Ser Asn Pro Ser Lys Thr His Gln
 145 150 155 160
 Asn Asn Asn Asp Leu Ser Leu Ser Phe Ser Ser Pro Met Gln Asp Lys

165 170 175
 Arg Ala Gln Gly His Tyr Gly His Phe Ser Glu Gln Val Val Thr Gly
 180 185 190
 Gly Gln Asn Cys Leu Phe Gln Ala Pro Met Gly Met Ile Gln Phe Arg
 195 200 205
 Gln Glu Tyr Asp His Glu His Pro Lys Lys Asn Leu Gly Phe Ser Leu
 210 215 220
 Asp Arg Asn Glu Glu Glu Ile Gly Asn His Asp Asn Phe Val Val Asn
 225 230 235 240

Glu Glu Gly Ser Lys Met Met Tyr Pro Tyr Gly Asp His Glu Asp Arg
 245 250 255
 Gln Gln His His His Val Arg His Asp Asp Gly Asn Lys Lys Arg Glu
 260 265 270
 Gly Gly Ser Ser Asn Glu Leu Trp Ser Gly Ile Ile Leu Gly Gly Asp
 275 280 285
 Ser Gly Gly Pro Thr Trp

290

<210> 3
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ITD1 N-var + ZFM DNA seq [ITDN'-5.4_ZfM]

<400> 3
 agcactaggc cgcaagaacc aagaaactgt cctcgttgta attctcttaa cacaaagttc 60
 tgttactaca acaattacaa tctttctcag cctcgtcact tttgcaagaa ctgtcgtcgt 120
 tactggacta aaggtggtgt tctccgtaac 150

<210> 4
 <211> 885
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITD1 CDS sequence

<400> 4

atggaccatc atcagtatca tcatcatgat caataccaac atcagatgat gactagtact	60
aacaataatt cctataacac catcgtcaca acacaaccac caccaacaac aacaacaatg	120
gattcaacaa cagcaacaac tatgataatg gatgacgaga agaagttgat gacgacaatg	180
agcactaggc cgcaagaacc aagaaactgt ccaagatgca actcaagcaa caccaagttt	240
tgttattaca acaactacag cttagcacag cctaggtact tgtgtaagtc ttgtcggaga	300
tattggactg aaggtggctc tctccgtaac gtccccgtag gcggagggtc tagaaagaac	360
aagaagcttc catttcctaa ttcctctact tcttcttcca ccaagaacct cccggatctc	420
aacctctctt tcgtcttcac atcatcagct tcatcatcaa accctagcaa gacgcatcaa	480
aacaataatg acctcagcct atccttctcc tcccctatgc aagacaagcg agctcaaggg	540
cattacggtc atttcagtga gcaagttgtg acaggagggc agaactgtct tttccaagct	600
cctatgggaa tgattcagtt tcgtcaagag tatgatcatg agcaccccaa aaagaatctt	660
gggttttcat tagacaggaa cgaggaagag attggtaatc atgataactt cgttgttaat	720
gaggaaggaa gtaagatgat gtatccttat ggagatcatg aagaccgtca acaacatcac	780
catgtgagac acgatgatgg taataagaag agagaagggt gttcaagcaa tgagctatgg	840
agcggaatca tcctagggtg tgatagtggg ggaccaacat ggtga	885

<210> 5

<211> 1023

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AtDof2.2 DNA seq

<400> 5

atggttttct catccgtctc aagcttttta gatccaccaa ttaattggcc acagtctgcg	60
aatccaaata accatcctca tcatcatcag ctacaagaaa atggaagttt agttagtggc	120
caccaccaag tactctctca ccaattccca caaaacccta accctaacca ccaccatgtt	180
gagacagcag ccgccaccac cgttgatccg agcagtctca atggccaggc ggctgagaga	240
gcgaggctag ctaagaactc tcagccgcca gagggagccc taaagtgtcc tcgatgtgac	300
tcagccaata ccaagttctg ttacttcaac aactacaacc tcacgcagcc acgccacttc	360
tgcaaagctt gccgtcgcta ctggacacgt ggcggtgcct tgaggaacgt acctgtcggt	420

ggtaggtgcc ggaggaataa gaagggtaaa tccggaaatt caaagtcttc ctcttcctct 480
cagaacaagc agtcaacgtc tatggtcaac gctacaagcc ctactaatac tagtaatgtc 540
cagctccaaa caaatagcca attcccatTT ttgccactc tacaaaacct cactcaactt 600
ggtaggtattg gtttaaactt agccgccatt aatggaaata atggtggaaa tggtaacact 660
agctcaagtt tcttgaatga cttagggttt tttcatggtg gtaacacttc aggtccggtc 720
atgggtaaca acaacgagaa taacctaatg acttctcttg gatcatccag ccactttgct 780

ttgttcgac gaaccatggg attatataat ttccctaacg aggtaaatat gggattatct 840
tctattggtg ctactagggt tttcctaaact gctcaggtga aaatggagga caaccatttg 900
ggtaataataa gccgcccggt ttccgggttg acatctccag ggaatcaatc caatcaatat 960
tggaccggtc aaggtctccc cggttcttca tctaacgac atcatcacca gcatttatg 1020
tga 1023

<210> 6
<211> 150
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> AtDof2.2 ZFM

<400> 6
tctcagccgc cagagggagc cctaaagtgt cctcgatgtg actcagccaa taccaagttc 60

tgttacttca acaactacaa cctcagcag ccagccact tctgcaaagc ttgccgtcgc 120
tactggacac gtggcgggtgc cttgaggaac 150

<210> 7
<211> 150
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> AtDof5.6 ZFM

<400> 7
cgtccacctc acgaccatcc tcaaaagtgt cctcgttgcg agtcaacaca tactaagttc 60
tgttactaca ataactacag cctctctcag cctcgttact tctgcaagac ttgtcgccgt 120
tactggacaa aaggcgggac tctaaggaat 150

<210>

> 8

<211> 150
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AtDof4.5 ZFM

<400> 8

aagcccccac caccaccacc tcgagtgtgt gcaagggtgtg attctgataa tactaaattt 60

tgttattaca acaactactg tgagtttcag ccacgatact tctgcaagaa ctgtcgtaga 120

tactggactc atggtggggc ttttaagaaac 150

<210> 9

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AtDof3.7 ZFM

<400> 9

aaggcgaggc cacaagagaa agtaaattgt ccaagatgca actcaacaaa cacaaagttc 60

tgttattaca acaactacag tctcaagcaa ccaagatact tctgcaaagg ttgtcgaagg 120

tattggaccg aaggtggctc tcttcgtaac 150

<210> 10

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AtDof5.4 ZFM

<400> 10

atacttaacc atcatcaatc tctcaagtgt cctcgttgta attctcttaa cacaaagttc 60

tgttactaca acaattacaa tctttctcag cctcgtcact tttgcaagaa ctgtcgtcgt 120

tactggacta aaggtgggtg tctccgtaac 150

<210> 11

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CrDof ZFM

<400> 11

cttcacgcc cgcacaagaa ggaggcatgc cctcgctgca acagcatgga caccaaattc 60

tgctactaca acaattacaa catcaagcag ccccgctttt actgcaagac gtgtcagcgg 120

tactggactg cggcgccgac gttgaggaac 150

<210> 12
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpDof15 ZFM
 <400> 12
 ggcaactacca agcccaagga ccttccttgc ccgcgctgcc agtccatgaa caccaaattc 60
 tgctactaca acaactatag tgtcaaccag ccccgccact tctgccgcaa ttgccaacgc 120
 tactggaccg tgggtggtag tctccgcaac 150
 <210> 13
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpDof09 ZFM
 <400> 13
 cgcgagaagc cagacaaggt gctgccgtgt cctcgctgcg agtccatgaa caccaagttc 60
 tgctactaca acaattacag tgtaacacag ccccgccact tctgcaggca gtgtcagcgc 120
 tactggaccg cgggaggagc gcttcgcaat 150
 <
 210> 14
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpDof19 ZFM
 <400> 14
 ctgaagcctc cagatcaagt tattgcgtgc cctcgctgcc aatcccttaa caccaagttt 60
 tgttactaca acaactacag ccttacgcag ccccgacatt ttgtaaaag ttgtcgccgc 120
 tactggactg caggtgggac tttaagaaat 150
 <210> 15
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GmDof ZFM
 <400> 15

aaaacaaggc cacaagagca actgaattgt ccaaggtgca attcaaccaa cacaaagttc 60

tgttattaca acaactacag cctcacacag ccaagatact tctgcaagac ttgtagaagg 120

tattggacag aaggagggtc tctgagaaac 150

<210> 16

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> OsDof ZFM

<400> 16

cggccgcaga aggagaaggc gctcaactgc ccgcggtgca actcgacgaa caccaagttc 60

tgctactaca acaactacag cctccagcag ccgcgctact tctgcaagac gtgccggcgc 120

tactggacgg agggcggctc gctccgcaac 150

<210

> 17

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NtDof ZFM

<400> 17

aggccacaaa aagaacaagc aataaattgt ccaagatgca attcaacaaa cacaaaattc 60

tgttattata acaattatag cctttctcag ccaaggtatt tttgcaaaac ttgtagaagg 120

tattggactg atggtggttc tttaagaaat 150

<210> 18

<211> 13394

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pZY375 vector sequence

<400> 18

cctgtggttg gcatgcacat acaaatggac gaacggataa accttttcac gcccttttaa 60

atatccgatt attctaataa acgctctttt ctcttaggtt tacccgcaa tatatcctgt 120

caaacactga tagtttaaac tgaaggcggg aaacgacaat ctggatccaa gcttcgtatt 180

ggctagagca gcttgccaac atggtggagc acgacactct cgtctactcc aagaatatca 240

aagatacagt ctcagaagac caaagggtta ttgagacttt tcaacaaagg gtaatatcgg 300

gaaacctcct cggattccat tgcccagctt tctgtcactt catcaaaagg acagtagaaa	360
aggaaggtgg cacctacaaa tgccatcatt gcgataaagg aaaggctatc gttcaagatg	420
cctctgccga cagtgggtccc aaagatggac ccccaccac gagagcatc gtggaaaaag	480
aagacgttcc aaccacgtct tcaaagcaag tggattgatg tgataacatg gtggagcacg	540
acactctcgt ctactccaag aatatcaaag atacagcttc agaagaccaa agggctattg	600
agacttttca acaaagggtg atatcgggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	660
gtcacttcat caaaaggaca gtagaaaagg aaggtggcac ctacaaatgc catcattgcg	720
ataaaggaaa ggctatcgtt caagatgcct ctgccgacag tgggtccaaa gatggacccc	780
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cagctcttca aagcaagtgg	840
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	900
accttctct atataaggaa gttcatttca tttggagagg acacgctgaa atcaccagtc	960
tctctctaca aatctatctc tctcgagctt tcgcagatcc gggggggcaa tgagatatga	1020
aaaagcctga actcaccgcg acgtctgtcg agaagtttct gatcgaaaag ttcgacagcg	1080
tctccgacct gatgcagctc tcggaggcg aagaatctcg tgctttcagc ttcgatgtag	1140
gagggcgtgg atatgtcctg cgggtaaata gctgcgccga tggtttctac aaagatcgtt	1200
atgtttatcg gcactttgca tcggccgcgc tcccattcc ggaagtgtt gacattgggg	1260
agtttagcga gagcctgacc tattgcatct cccgccgtgc acagggtgtc acgttgcaag	1320
acctgcctga aaccgaactg cccgtgttc tacaaccggt cgcggaggct atggatgcga	1380
tcgtcgggc cgatcttagc cagacgagcg ggttcggccc attcggaccg caaggaatcg	1440
gtcaatacac tacatggcgt gatttcataat gcgcgattgc tgatcccat gtgtatcact	1500
ggcaactgt gatggacgac accgtcagtg cgtccgtcgc gcaggtcttc gatgagctga	1560
tgctttgggc cgaggactgc cccgaagtcc ggcacctcgt gcacgcggat ttcggtcca	1620
acaatgtcct gacggacaat ggccgcataa cagcgtcat tgactggagc gaggcgatgt	1680
tcggggattc ccaatacag gtcgccaaca tcttctctg gaggccgtgg ttggcttgta	1740
tggagcagca gacgcgtac ttcgagcgga ggcattcgga gcttgagga tcgccacgac	1800
tccgggcgta tatgtccgc attggtcttg accaactcta tcagagcttg gttgacggca	1860
atttcgatga tgcagcttg gcgcagggtc gatgcgacg aatcgtccga tccggagccg	1920
ggactgtcgg gcgtacacaa atcgcccgca gaagcgcggc cgtctggacc gatggctgtg	1980
tagaagtact cgccgatagt ggaaaccgac gccccagcac tcgtccgagg gcaaagaaat	2040
agagtagatg ccgaccgat ctgtcgatcg acaagctga gtttctccat aataatgtgt	2100

gagtagttcc cagataaggg aattaggggt cctatagggt ttcgtcatg tgttgagcat	2160
ataagaaacc cttagtatgt atttgatatt gtaaaatact tctatcaata aaatttctaa	2220
ttcctaaaac caaaatccag tactaaaatc cagatccccc gaattaattc ggcgttaatt	2280
cagtacattg ctctgggtgt ggttctgtgt gcggctctga ggggtgtgtg tctgagggtg	2340
gcggttctga ggggtggcgc tctgagggtg gcggttccgg tgggtgtgtt ggttccggtg	2400
atattgatta tgaagagatg gcaaacgcta ataagggggc tatgaccgaa aatgccgatg	2460
aaaacgcgt acagtctgac gctaaaggca aacttgattc tgtcgtact gattacggtg	2520
ctgctatcga tggtttcatt ggtgacgttt ccggccttgc taatggtaat ggtgctactg	2580
gtgattttgc tggctcfaat tcccaaatgg ctcaagtcgg tgacggtgat aattcacctt	2640
taatgaataa ttccgtcaa tatttacctt cctccctca atcggttgaa tgtcgccctt	2700
ttgtctttgg ccaatacgc aaaccgcctc tccccgcggt ttggccgatt cattaatgca	2760
gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga	2820
gttagctcac tcattagcga cccaggtt tacactttat gcttccggtc cgtatgttgt	2880
gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgacct gattacgcca	2940
agcttgcatg cctgcaggtc ggagtactgt cctccgagcg gagtactgtc ctccgagcgg	3000
agtactgtcc tccgagcggg gtactgtcct ccgagcggag tactgtcctc cgagcggaga	3060
ctctagaagc tactccacgt ccataaggga cacatcaca tcccactatc cttcgcaaga	3120
cccttctct atataaggaa gtctatttca ttggagagg acgacctgca ggtcgacgga	3180
tccaaggaga tataacaatg aagactaatc tttttctct tctcatctt tcacttctcc	3240
tatcattatc ctgcggcgaa ttcagtaaag gagaagaact tttactgga gttgtcccaa	3300
ttcttgttga attagatggt gatgttaat ggcacaaatt ttctgtcagt ggagagggtg	3360
aaggtgatgc aacaggaaaa cttaccctta aatttatttg cactactgga aaactacctg	3420
ttccatggcc aacacttgc actactttct cttatggtgt tcaatgcttt tcaagatacc	3480
cagatcatat gaagcggcac gacttttca agagcgccat gcctgaggga tacgtgcagg	3540
agaggacctt cttcttcaag gacgacggga actacaagac acgtgctgaa gtcaagtttg	3600
aggagacac cctcgtcaac aggatcgagc ttaagggaat cgatttcaag gaggacggaa	3660
acatctctgg ccacaagtgt gaatacaact acaactccca caactgtatc atcatggcgg	3720
acaagcaaaa gaacggcatc aaagccaact tcaagaccg ccacaacatc gaagcggcg	3780
gcgtgcaact cgtgatcat tatcaacaaa atactccaat tggcgatggc cctgtccttt	3840

taccagacaa ccattacctg tccacacaat ctgccctttc gaaagatccc aacgaaaaga	3900
gagaccacat ggtccttctt gagtttgtaa cagctgtctgg gattacacat ggcatggatg	3960
aactatacaa acatgatgag ctttaagagc tcgaatttcc ccgatcgttc aaacattggc	4020
aataaagttt cttaaagatt gaatcctggt gccggtctgc gatgattatc atataatttt	4080
ctgttgaaatt acgttaagca tgtaataatt aacatgtaat gcatgacgtt atttatgaga	4140
tgggttttta tgattagagt cccgcaatta tacatttaat acgcgataga aaacaaaata	4200
tagcgcgcaa actaggataa attatcgcg cgggtgtcat ntatgttact agatcgggaa	4260
ttaattcact ggccgtcgtt ttacaacgtc gtgactggga aaacctggc gttaccaaac	4320
ttaatcgctt tgcagcacat ccccttttcg ccagctggcg taatagcgaa gaggcccgca	4380
ccgatcgccc ttccaacag ttgcgcagcc tgaatggcgc ccgtctcttt cgctttcttc	4440
ccttcctttc tcgccagtt cgccggtttt ccccgtaag ctctaaatcg ggggctccct	4500
ttaggttcc gatttagtgc ttacggcac ctgcaccca aaaaacttga ttgggtgat	4560
ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gcccttgac gttggagtcc	4620
acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaacce tatctcgggc	4680
tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggaac caccatcaaa caggattttc	4740
gcctgtctggg gcaaaccagc gtggaccgtt tcttgcaact ctctcagggc caggcgtga	4800
agggcaatca gctgttgccc gtctcactgg tgaagagaaa aaccaccca gtacattaaa	4860
aacgtccgca atgtgttatt aagtgtcta agcgtcaatt tgtttacacc acaatatatc	4920
ctgccaccag ccagccaaca gtcctccgac cggcagctcg gcacaaaatc accactcgat	4980
acaggcagcc catcagtcgg ggacggcgtc agcgggagag ccgttgtaag gcggcagact	5040
ttgctcatgt taccgatgt attcggaaga acggcaacta agctgccggg ttgaaacac	5100
ggatgatctc gccgagggtg gcatgttgat tgtaacgatg acagagcgtt gctgcctgtg	5160
atcaaatatc atctccctcg cagagatccg aattatcagc cttcttattc atttctcgt	5220
taaccgtgac aggtgtcga tcttgagaac tatgccgaca taataggaaa tcgctggata	5280
aagccgtga ggaagctgag tggcgtatt tctttagaag tgaacgttga cgatatcaac	5340
tcccctatcc attgctcacc gaatgttaca ggtcggggac ccgaagtcc gactgtcggc	5400
ctgatgcatc cccggtgat cgaccccaga tctgggctg agaaagcca gtaaggaaac	5460
aactgtaggt tcgagtcgag agatcccccg gaaccaaagg aagtaggtta aaccgctcc	5520
gatcaggccg agccacgcca ggccgagaac attggttctt gtaggcatcg ggattggcgg	5580
atcaaacact aaagctactg gaacgagcag aagtctctcg gccgccagt gccaggcgg	5640
aaagtgagc agaggcacgg gaggttgcca cttgcgggtc agcacggttc cgaacgcat	5700

ggaaaccgcc cccgccaggc ccgctgcgac gccgacagga tctagcgctg cgtttggtgt	5760
caacaccaac agcgccacgc ccgcagttcc gcaaatagcc cccaggaccg ccatcaatcg	5820
tatcgggcta cctagcagag cggcagagat gaacacgacc atcagcggtc gcacagcgcc	5880
taccgtcgcc gcgaccccgcc ccggcaggcg gtagaccgaa ataacaaca agctccagaa	5940
tagcgaata ttaagtgcgc cgaggatgaa gatgcgcac caccagattc ccgttggaat	6000
ctgtcggacg atcatcacga gcaataaacc cgccggcaac gcccgagca gcataccggc	6060
gaccctcgg cctcgtgtt cgggctccac gaaaacgcc gacagatgcg ctttgtgagc	6120
gtccttgggg ccgtcctcct gtttgaagac cgacagccca atgatctgc cgtcgatgta	6180
ggcgccgaat gccacggcat ctgcgaaccg ttcagcgaac gcctccatgg gctttttctc	6240
ctcgtgctcg taaacggacc cgaacatctc tggagcttcc ttcagggccg acaatcggat	6300
ctcgcggaat tctgcacgt cggccgctcc aagccgtcga atctgagcct taatcacaat	6360
tgtcaatfff aatcctctgt ttatcggcag ttcgtagagc gcgccgtgcg tcccagcgca	6420
tactgagcga agcaagtgcg tcgagcagtg cccgcttgtt cctgaaatgc cagtaaagcg	6480
ctggctgctg aacccccagc cggaactgac ccacaaggc cctagcgttt gcaatgcacc	6540
aggatcatcat tgaccaggcg gtgttccacc aggccgctgc ctgcgaactc ttcgcaggct	6600
tcgccgacct gctcgcgcca cttcttcacg cgggtggaat ccgatccga catgaggcgg	6660
aaggtttcca gcttgagcgg gtacggctcc cgggtgcgagc tgaaatagtc gaacatccgt	6720
cgggcgctcg gcgacagctt gcggtacttc tcccatatga atttcgtgta gtggtcgcca	6780
gcaaacagca cgacgatttc ctgctgac aggacctggc aacgggacgt tttcttgcca	6840
cgggtccagga cgcggaagcg gtgcagcagc gacaccgatt ccagggtgcc aacgcggtcg	6900
gacgtgaagc ccatcgccgt gcctgtagg cgcgacaggc attcctcggc cttcgtgtaa	6960
taccggccat tgatcgacca gccaggtcc tggcaaaagt cgtagaacgt gaagtgatc	7020
ggctcgccga taggggtgcg cttcgcgtac tccaacacct gctgccacac cagttcgtca	7080
tcgtcggccc gcagctcgac gccggtgtag gtgatcttca cgtccttgtt gacgtggaaa	7140
atgaccttgt tttgcagcgc ctgcgcggg attttcttgt tgcgcgtggt gaacagggca	7200
gagcgggccc tgtcgtttgg catcgtcgc atcgtgtccg gccacggcgc aatatcgaa	7260
aaggaaagct gcatttcctt gatctgctgc ttcgtgtgtt tcagcaacgc ggctgtttg	7320
gcctcgtga cctgttttgc caggctcctc ccggcggttt ttcgcttctt ggtcgtcata	7380
gttctcgcg tgtcgatggt catcgacttc gccaaacctg ccgcctctg ttcgagacga	7440
cgcgaacgt ccacggcgcc cgatggcgcg ggacggcgag ggggagccag ttgcacgctg	7500
tcgcgctcga tcttggccgt agcttgctgg accatcgagc cgacggactg gaaggtttcg	7560

cggggcgcac gcatgacggt gcggcttgcg atggtttcgg catcctcggc ggaaaacccc	7620
gcgtcgatca gttcttgccct gtatgccttc cgtcaaacg tccgattcat tcacctcct	7680
tcggggattg ccccgactca cgccggggca atgtgccctt attcctgatt tgaccgcct	7740
ggtgccttgg tgiccagata atccacctta tcggcaatga agtcgggtccc gtagaccgtc	7800
tggccgtcct tctcgtactt ggtattccga atcttgccct gcacgaatac cagcgacccc	7860
ttgccaaat acttgccgtg ggcctcggcc tgagagccaa aacacttgat gcggaagaag	7920
tcggtgcgct cctgcttgtc gccggcatcg ttgcgccaca tctaggtact aaaacaattc	7980
atccagtaaa atataatatt ttattttctc ccaatcaggc ttgatcccca gtaagtcaaa	8040
aaatagctcg acatactgtt ctccccgat atcctccctg atcgaccgga cgcagaaggc	8100
aatgtcatac cacttgtccg cctgcccgt tctccaaga tcaataaagc cacttacttt	8160
gccatctttc acaaagatgt tgctgtctcc caggtcgccg tgggaaaaga caagttcctc	8220
ttcgggcttt tccgtcttta aaaaatcata cagctcgcgc ggatctttaa atggagtgtc	8280
ttcttcccag ttttcgcaat ccacatcggc cagatcgtta ttcagtaagt aatccaattc	8340
ggctaagcgg ctgtctaagc tattcgtata gggacaatcc gatatgtcga tggagtgaag	8400
gagcctgatg cactccgat acagctcgat aatcttttca gggctttgtt catcttcata	8460
ctcttccgag caaaggacgc catcggcctc actcatgagc agattgtcc agccatcatg	8520
ccgttcaaag tgcaggacct ttggaacagg cagctttcct tccagccata gcatcatgtc	8580
cttttcccg tccacatcat aggtgggtccc ttataccgg ctgtccgtca tttttaata	8640
taggttttca ttttctccca ccagcttata taccttagca ggagacattc ctccgtatc	8700
ttttacgcag cggtatTTTT cgatcagttt ttcaattcc ggtgatattc tcattttagc	8760
catttattat ttcttctc ttttctacag tatttaaga taccctaaga agctaattat	8820
aacaagacga actccaattc actgttctt gcatctaaa accttaata ccagaaaaca	8880
gctttttcaa agttgttttc aaagtggcg tataacatag tatcgacgga gccgattttg	8940
aaaccacaat tatgggtgat gctgccaact tactgattta gtgtatgatg gtgttttga	9000
ggtgctccag tggcttctgt gtctatcagc tgccccctt gttcagctac tgacggggtg	9060
gtgcgtaacg gcaaaagcac cgccggacat cagcgtatc tctgctctca ctgccgtaaa	9120
acatggcaac tgcagttcac ttacaccgt tctcaaccg gtacgcacca gaaaatcatt	9180
gatatggcca tgaatggcgt tggatgccgg gcaacagccc gcattatggg cgttggcctc	9240
aacacgattt tacgtcactt aaaaaactca ggccgcagtc ggtaacctcg cgcatacagc	9300

cgggcagtga cgicacgctc tgcgcggaaa tggacgaaca gtggggctat gtcggggcta	9360
aatcgcgcca gcgctggctg ttttacgctg atgacagtct ccggaagacg gttgttgcgc	9420
acgtattcgg tgaacgcaat atggcgacgc tggggcgctc tatgagcctg ctgtcacctt	9480
ttgacgtggt gatattggtg acggatggct ggccgctgta tgaatcccg ctagaggaa	9540
agctgcacgt aatcagcaag cgatatagc agcgaattga gcggcataac ctgaatctga	9600
ggcagcacct ggacggctg ggacggaagt cgtgtcgtt ctcaaatcg gtggagctgc	9660
atgacaaagt catcgggcat tatctgaaca taaaacacta tcaataagtt ggagtcatta	9720
cccaattatg atagaattta caagctataa ggttattgtc ctgggtttca agcattagtc	9780
catgcaagtt tttatgctt gccattctta tagatatatt gataagcgcg ctgcctatgc	9840
cttgcacctt gaaatcctta catacggcga tatcttctat ataaaagata tattatctta	9900
tcagtattgt caatatatt aaggcaatct gcctctcat cctcttcac ctcttcgtct	9960
tggtagcttt ttaaataatg cgcttcacag agtaattctg taaaggcca attctcgttt	10020
tcatacctcg gtataatctt acctatcacc tcaaatggtt cgctgggttt atcgaccccc	10080
cgaacacgag cacggcaccc gcgaccacta tgccaagaat gcccaaggta aaaattgccg	10140
gccccccat gaagtccgtg aatgccccga cggccgaagt gaagggcagg ccgccacca	10200
ggccgcgccc ctactgccc ggacactggt cgctgaatgt cgatgccagc acctgcggca	10260
cgtaaatgct tccggcgctc gcgctcgggc tgatgccca tcccgttact gccccgacc	10320
cggcaatggc aaggactgcc agcgctgcca tttttggggt gagggcggtt cggccgagg	10380
ggcgagccc ctggggggat gggaggcccc cgctagcggg ccgggagggt tcgagaagg	10440
ggggcacccc cttcggcgt gcgcggtcac gcgcacaggg cgcagccctg gttaaaaaca	10500
aggtttataa atattggttt aaaagcaggt taaaagacag gttagcgggt gccgaaaaac	10560
gggcggaaac cttgcaaat gctggatttt ctgcctgtgg acagccctc aatgtcaat	10620
aggtgcgccc ctcatctgtc agcactctgc cctcaagtg tcaaggatcg cccccctcat	10680
ctgtcagtag tcgcgccct caagtgtcaa taccgcaggg cacttatccc caggcttgtc	10740
cacatcatct gtgggaaact cgcgtaaaat caggcgtttt cgccgatttg cgaggtggc	10800
cagctccacg tcgccggccg aaatcgagcc tgccccctcat ctgtcaacgc gcgcggggt	10860
gagtcggccc ctcaagtgtc aacgtccgc cctcatctgt cagtagggc caagttttcc	10920
gcgaggtatc cacaacgccg gcggccgcgg tgctctgcac acggcttcga cggcgtttct	10980
ggcgcgtttg caggccata gacggccgc agcccagcgg cgagggcaac cagcccgggtg	11040
agcgtcgcaa aggcgtcgg tcttgccctg ctgctcgggt atgtacttca ccagctccgc	11100
gaagtcgctc ttcttgatgg agcgcatggg gacgtgcttg gcaatcacgc gcacccccg	11160

gccgttttag cggctaaaaa agtcatggct ctgccctcgg gcggaccacg cccatcatga 11220
 ccttgccaag ctctctctgc ttctcttga tcttcgccag cagggcgagg atcgtggcat 11280
 caccgaaccg cggcgtgcgc gggctcgtcgg tgagccagag tttcagcagg ccgcccaggc 11340
 ggcccaggtc gccattgatg cgggccagct cgcggacgtg ctcatagtcc acgacgcccg 11400

 tgattttgta gccctggccg acggccagca ggtaggccga caggctcatg ccggccgccg 11460
 ccgccttttc ctcaatcgct ctctcttctg ctggaaggca gtacaccttg ataggtgggc 11520
 tgcccttctt ggttggcttg gtttcatcag ccatccgctt gccctcatct gttacgccgg 11580
 cggtagccgg ccagcctcgc agagcaggat tccgcttgag caccgccagg tgcgaataag 11640
 ggacagtga gaaggaacac ccgctcgcgg gtgggcctac ttcacctatc ctgcccggct 11700
 gacgccgttg gatacaccaa ggaaagtcta cacgaacct ttggcaaat cctgtatatc 11760
 gtgcgaaaaa ggatggatat accgaaaaaa tcgtataat gacccgaag cagggttatg 11820

 cagcgaaaaa gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc 11880
 agggctcgaa caggagagcg cagcaggag ctccagggg gaaacgcctg gtatctttat 11940
 agtctgtcgc ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctctcaggg 12000
 gggcgaggcc tatgaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttcct ggccctttgc 12060
 tggccttttg ctacatggt ctttctcgcg ttatccctg attctgtgga taaccgtatt 12120
 accgcctttg agtgagctga taccgtcgc cgagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca 12180
 gtgagcgagg aagcgaaga gcgccagaag gccgccagag aggccgagcg cggccgtgag 12240

 gcttgacgc tagggcaggg catgaaaaa cccgtagcgg gctgctacgg gcgtctgacg 12300
 cgggtgaaa ggggagggga tgttgtctac atggctctgc tgtagttagt gggttgcgt 12360
 ccggcagcgg tctgatcaa tcgtcacct tctcggctcc ttaacgttc ctgacaacga 12420
 gcctctttt cgccaatca tcgacaatca ccgcgagtc ctgctgaac gctgcgtccg 12480
 gaccggcttc gtcgaaggcg tctatcgcgg ccgcaacag cggcgagagc ggagcctgtt 12540
 caacgggtgc gccgcgtcg ccggcatcgc tctcggcggc ctgctctca agcacggccc 12600
 caacagtga gtagctgatt gtatcagcg cattgacggc gtccccggcc gaaaaaccg 12660

 cctcgagag gaagcgaagc tgcgcgtcgg ccgtttccat ctgcggtgcg cccggtcgcg 12720
 tgccgcatg gatgcgcgcg ccatcgcggt agcgagcag cgctgcctg aagctcgagg 12780
 cattccgat cagaaatgag cgccagtcgt cgtcggctct cggcacgaa tgcgtatgat 12840
 tctccgccag catggcttcg gccagtgcgt cgagcagcgc ccgcttgctc ctgaagtgc 12900
 agtaaagcg cggtctga accccaacc gttccgccag ttgcgtgtc gtcagaccgt 12960
 ctacgccgac ctgttcaac aggtccaggg cggcacgat cactgtattc ggctgcaact 13020

ttgtcatgct tgacacttta tcactgataa acataatatg tccaccaact tatcagtgat 13080

aaagaatccg cgcgttcaat cggaccagcg gaggtggc cggaggccag acgtgaaacc 13140

caacataccc ctgategtaa ttctgagcac tgcgcgctc gacgtgtcg gcatcgccct 13200

gattatgccg gtgctgccgg gcctcctgcg cgatctggtt cactcgaacg acgtcaccgc 13260

ccactatggc attctgctgg cgctgtatgc gttggtgcaa ttgacctgcg cacctgtgct 13320

gggcgcgctg tcggatcggt tcgggcggcg gccaatcttg ctgctctcgc tggccggcgc 13380

cagatctggg gaac 13394

<210> 19

<211> 13201

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pK1401 vector sequence

<400> 19

aattcgagct cactagcttc aaaaaacaga gttgccacgg gagacagaat gtttaaatgg 60

aatcaacaag tgaacacaaa ctgcatgttc tgcacgaac ctatggaaac aagacaccat 120

cttttttttg ggtgctctta ctgcagaag gtatgggaga agctgataag gggaatacta 180

cttgataagt actgcagata ttggaggga gcttttaaaa ccatttgtga caaaaactat 240

gacaaaacaa aaatcttcat tctacggtat gtcttccaaa acacgggtca ttcgatttgg 300

ggagaaagaa atgcttgaaa gcatggtgaa caaccatcac caatggagaa acttgtcaag 360

ttaattgaca aaaatgtttg gaaccggctg agcacaatac ggagtggggg gagctttgaa 420

gtatgaagga ggtcttcaag ttggttttgg tacaagacaa gcttaagacc aaatcctctg 480

tttttagattt gtttttcaaa aaagtatgca ttaagttgta aacacgttta tttctctttt 540

taaaatctaa tctaaaaatt ttctttttta aaatgacata gaaaaatcca actgtatatt 600

ttaaattccat aaacatgaat tctaaagccg caagtccaaa aatttagaga tgacatcata 660

gcaagcaagg acacgcaaga attaatgaaa ttataatgg agataacaaa gcatgaatat 720

ttataatttg gaaactgttt tacattaaat tagatagttt acgatacatt caaagctaaa 780

acacttattt acaatgaaaa gtaatcaatg ttctttgaat gggtttggct acttcttctc 840

atatggttgg accggggcat atatgagctt ttacgtggta ttcgtggacc catgaccata 900

tgagcttctt catgtggcct tagagtgtgg attcttcctt cggatccaca ccatccattg 960

aagtgtgtta taaaatttcc ccatgatccg tcatggcttt tgtgtttaag ttgtcatggt 1020

gggaattatc ttgaggtgcc acattcgtgc ttaagtgggc cgtaagtgca attgcgttgt 1080

gctccaaaag gaacggtgcc gtgggttcct cttgttcac agaaatatat taattagccg	1140
taaaacctga aaattcacaa gcatttggat tgttttctaa tttaatatcc attatgtgac	1200
taaaagtctt agtgatcgta catactacat agaaaataat aacacaaaat actagtttac	1260
atttcccaat taaaaacat tttgaatgaa cctgtgtctga ttttaattata cttttaaaat	1320
gtgggatgaa ttcaaagatt atacttatat tcttattatt taagattatc aagtggaaaa	1380
ataaaaaat gaatgtgtta atataaggta atagaaattt aatcattttt ttaatctata	1440
tgtaaaaagt atttaaccga tatctacaat ttgacgcctc ccaattgaaa ggagccaaaa	1500
gcaaccgac aagtggagac cagtagccat acacattcac tctaccctt acatgagaaa	1560
gataagatta tggagttttc tgccacgtga tcttatccta gtggtccaaa tcgataaggg	1620
tgtcaacacc tttccttaat cctgtggcaa ttaacgacgt tatcatgaat tatggcccct	1680
ttgatcatta gggtagtgtg cctctagcgg tcccactat ataaagatga caaaaccaac	1740
agacaacaa gtaagtaaga gaaaaacaa aagaagaaga gaaacaacaa ccaaatacac	1800
tcttttcaa gcaaatftaa ttctctgaaa attctcatta cttccaaaca atagcagctt	1860
cgaaggatcc agaattgaaa taaggagaag agatgaaaaa gagaatcaag aatacaagaa	1920
aggtttatgg acagttgaag aagacaacat ccttatggac tatgttctta atcatggcac	1980
tggccaatgg aaccgcacg tcagaaaaac tgggctaag agatgtggga aaagttgtag	2040
actgagatgg atgaattatt tgagccctaa tgtgaacaaa ggcaatttca ctgaacaaga	2100
agaagacctc attattcgtc tccacaagct cctcggcaat agatggctct tgatagctaa	2160
aagagtaccg ggaagaacag ataaccaagt caagaactac tggaacactc atctcagcaa	2220
aaaactcgtc ggagattact cctccgccgt caaaaccacc ggagaagacg acgactctcc	2280
accgtcattg ttcatcactg ccgccacacc ttcttcttgt catcatcaac aagaaaatat	2340
ctacgagaat atagccaaga gctttaacgg cgtcgtatca gcttcgtacg aggataaacc	2400
aaaacaagaa ctggctcaaa aagatgtcct aatggcaact actaatgac caagtcacta	2460
ttatggcaat aacgctttat gggttcatga cgacgatttt gagcttagtt cactcgtaat	2520
gatgaatttt gcttctgggtg atgttigagta ctgccttgct gctgctgctg ctgctgctgc	2580
tgctgcagat cttgtcgaca tggaggagat caccacacac tttggagtgt gcgcaagcag	2640
ccacggccat ggccacggcc agcaccacca tcatcaccac caccaccacc cgtgggcac	2700
ctccctcagc gccgtcgtag cgccgtgcc gccgcaaccg ccaagcgag gcctgccgct	2760
gacctgaac acggtggcgg ccactgggaa cagcggcggt agcggcaacc cgggtctgca	2820

gcttgccaac ggtagcgccc tcctcgacgc atgcgtcaag gcgaaggagc cctcgtcgtc	2880
gtctccctac gcaggcgacg tcgaggccat caaggccaag atcatctcgc acccacacta	2940
ctactcgtc ctcactgcct acctcgagtg caacaagggtg ggggcaccac cggaggtgtc	3000
ggcgaggctg acggagatag cgcaggaggt ggaggcgcgg cagcgcacgg cgctcggcgg	3060
cctggccgct gcgacggagc cggagctgga ccagttcatg gaggcgtacc acgagatgct	3120
ggtgaagtgc agggaggagc tgacagggcc gctgcaggag gcgatggagt tcatgcgaag	3180
ggtggagtgc cagctgaact cgctttccat ctccggaagg tcgctgcgca acatcctttc	3240
atctggctct tctgaggagg atcaagaagg tagcggagga gagaccgagc tccctgaagt	3300
tgatgcacat gggtggacc aagagctgaa gcaccatctc ctgaagaaat acagtggcta	3360
tctaagctcg ctcaagcaag aactgtcaaa gaagaagaag aaagggaagc tcccaagga	3420
ggctcgccag cagctcctta gctggtggga tcagcactac aaatggcctt acccctcaga	3480
gactcagaag gtggcactgg ctgagtctac cgggcttgac ctgaagcaga tcaacaactg	3540
gttcatcaac cagcgggaag ggcaactggaa gccatccgag gagatgcacc acctgatgat	3600
ggatgggtac cacaccacca atgccttcta catggacggc cacttcatca acgacggcgg	3660
gctgtaccgg ctcggttagc caccggtatc tcgcttccat ttcacacccc acggcctagc	3720
tataaagact aatggttcca ggtgtctgaa gtactgaaga caggggggct agctatctaa	3780
tgtttgtgcc gcacgcatga gctgtaagga ggccatgctt aattattctg ttgccgttgc	3840
tactctatct atatgcgctt atgcctccgt gcatgaacta tgcttttaggt ggttgctgct	3900
ccacactgtg gtggtgtgct tttgcttttg tgtggtcgta ttgtatgcgt aacctgacag	3960
atggatccct gattgctaca tgtttgaata atttgcatga tctagctagt ttctgcctaa	4020
tcaaaaggaa ttctagatgc atcgcaaatc accagtctct ctctacaaat ctatctctct	4080
ctattttctc cagaataatg tgtgagtagt tcccagataa gggaattagg gttcttatag	4140
ggtttcgtc atgtgttgag catataagaa acccttagta tgtatttgta tttgtaaaat	4200
acttctatca ataaaatttc taattcctaa aacaaaaatc cagtgcactg cagcgttaa	4260
ttaaggatcc tctagatcg acctgcagca tgcaagcttg gcaactggcg tcgttttaca	4320
acgtcgtgac tgggaaaacc ctggcggttac ccaacttaat cgccttgacg cacatcccc	4380
tttcgccagc tggcgtaata gcgaagaggc ccgcaccgat cgccttccc aacagttgcg	4440
cagcctgaat ggcaatgct agagcagctt gagcttgat cagattgtcg tttccgcct	4500
tcagtttaaa ctatcagtg ttgacaggat atattggcgg gtaaacctaa gagaaaagag	4560

cgtttattag aataacggat atttaaaagg gcgtgaaaag gtttatccgt tcgtccattt	4620
glatgtgcat gccaacaca gggttcccct cgggatcaaa gtactttgat ccaaccctc	4680
cgctgctata gtgcagtcgg cttctgacgt tcagtgcagc cgtcttctga aaacgacatg	4740
tcgcacaagt cctaagttac gcgacaggct gccgccctgc ctttttctg gcgttttctt	4800
gtcgcgtgtt ttagtcgcat aaagtagaat acttgcgact agaaccggag acattacgcc	4860
atgaacaaga gcgccgccgc tggcctgctg ggctatgccc gcgtcagcac cgacgaccag	4920
gacttgacca accaacgggc cgaactgcac gcggccggct gcaccaagct gttttccgag	4980
aagatcaccg gcaccaggcg cgaccgcccg gagctggcca ggatgcttga ccacctacgc	5040
cctggcgacg ttgtgacagt gaccaggcta gaccgcctgg cccgcagcac ccgcgaccta	5100
ctggacattg ccgagcgcat ccaggaggcc ggcgcgggcc tgcgtagcct ggcagagccg	5160
tgggccgaca ccaccacgcc ggccggccgc atggtgttga ccgtgttcgc cggcattgcc	5220
gagttcgagc gticcctaata catcgaccgc acccggagcg ggcgcgaggc cgccaaggcc	5280
cgaggcgtga agtttggccc ccgccctacc ctacccccg cacagatcgc gcacgccgc	5340
gagctgatcg accaggaagg ccgcaccgtg aaagaggcgg ctgcactgct tggcgtgcat	5400
cgctcgacc tgiaccgcgc acttgagcgc agcgaggaag tgacgccac cgaggccagg	5460
cggcgcggtg ctttccgtga ggacgcattg accgaggccg acgccctggc ggccgccgag	5520
aatgaacgcc aagaggaaca agcatgaaac cgcaccagga cggccaggac gaaccgtttt	5580
tcattaccga agagatcgag gcggagatga tcgcggccgg gtacgtgttc gagccgccc	5640
cgcacgtctc aaccgtgccc ctgcatgaaa tcctggccgg tttgtctgat gccaagctgg	5700
cggcctggcc ggccagcttg gccgtgaag aaaccgagcg ccgccgtcta aaaagtgat	5760
gtgtatttga gtaaacacgc ttgcgtcatg cggtcgctgc gtatatgatg cgatgagtaa	5820
ataaacaat acgcaagggg aacgcatgaa ggttatcgct gtacttaacc agaaaggcgg	5880
gtcaggcaag acgaccatcg caaccatct agcccgccc ctgcaactcg ccggggccga	5940
tgttctgtta gtcgattccg atccccaggg cagtccccgc gattgggcgg ccgtgcggga	6000
agatcaaccg ctaaccgttg tcggcatcga ccgccgacg attgaccgag acgtgaaggc	6060
catcgccgg cgcgacttcg tagtgatcga cggagcggc caggcggcgg acttggtgt	6120
gtccgcgac aaggcagccg acttcgtgct gattccggtg cagccaagcc cttacgacat	6180
atgggccacc gccacctgg tggagctggt taagcagcgc attgaggtca cggatggaag	6240
gctacaagcg gcctttgtcg tgtcggggc gatcaaaggc acgcgcatcg gcggtgaggt	6300
tgccgaggcg ctggccgggt acgagctgcc cattcttgag tcccgtatca cgcagcgct	6360
gagctacca ggactgccg ccgccggcac aaccgttctt gaatcagaac ccgagggcga	6420

cgctgcccgc gaggtccagg cgctggccgc tgaattaaa tcaaaactca tttagagtaa	6480
tgaggtaaag agaaaatgag caaaagcaca aacacgctaa gtgccggccg tccgagcgca	6540
cgcagcagca aggctgcaac gttggccagc ctggcagaca cgccagccat gaagcgggtc	6600
aactttcagt tgccggcgga ggatcacacc aagctgaaga tgtacgcggt acgccaaggc	6660
aagaccatta ccgagctgct atctgaatac atcgcgcagc taccagagta aatgagcaaa	6720
tgaataaatg agtagatgaa ttttagcggc taaaggaggc ggcatggaaa atcaagaaca	6780
accaggcacc gacgccgtgg aatgccccat gtgtggagga acgggcggtt ggccaggcgt	6840
aagcggctgg gttgtctgcc ggccctgcaa tggcactgga accccaagc ccgaggaatc	6900
ggcgtgacgg tcgcaaacca tccggcccgg tacaatcgg cgcgcgctg ggtgatgacc	6960
tggtagagaa gttagaggcc gcgcaggccg ccagcggca acgcatcgag gcagaagcac	7020
gccccggtga atcgtggcaa gcggccgctg atcgaatccg caaagaatcc cggaaccgc	7080
cggcagccgg tcgcccgtcg attaggaagc cgccaaggg cgacgagcaa ccagattttt	7140
tcgttccgat gctctatgac gtgggcaccc gcgatatcg cagcatcatg gacgtggccg	7200
ttttccgtct gtcgaagcgt gaccgacgag ctggcgaggt gatccgtac gagcttccag	7260
acgggcacgt agaggtttcc gcagggccgg ccggcatggc cagtgtgtgg gattacgacc	7320
tggtagctat ggcggtttcc catctaaccg aatccatgaa ccgataccgg gaagggaagg	7380
gagacaagcc cgcccgctg ttccgtccac acgttgcgga cgtactcaag ttctgccggc	7440
gagccgatgg cggaagcag aaagacgacc tggtagaaac ctgcattcgg ttaaacacca	7500
cgcacgttgc catgcagcgt acgaagaagg ccaagaacgg ccgcctggtg acggtatccg	7560
agggtgaagc cttagtagc cgctacaaga tcgtaaagag cgaaaccggg cggccggagt	7620
acatcgagat cgagctagct gattggatgt accgcgagat cacagaagc aagaaccgg	7680
acgtgctgac ggttcacccc gattactttt tgatcgatcc cggcatcggc cgttttctct	7740
accgcctggc acgccgcgcc gcaggcaagg cagaagccag atggttggtc aagacgatct	7800
acgaacgcag tggcagcgcc ggagagttca agaagtcttg ttaccctg cgcaagctga	7860
tcgggtcaaa tgacctgccg gactacgatt tgaaggagga ggcggggcag gctggcccga	7920
tcctagtcac gcctaccgc aacctgatcg agggcgaagc atccgccgt tcctaagtga	7980
cggagcagat gctagggcaa attgccctag caggggaaaa aggtcgaaaa ggtctctttc	8040
ctgtggatag cagctacatt gggaacccaa agccgtacat tgggaaccgg aaccctaca	8100
ttgggaacce aaagccgtac attgggaacc ggtcacacat gtaagtgact gatataaaag	8160
agaaaaaagg cgatttttcc gcctaaaact ctttaaaact tattaaaact cttaaaacce	8220
gcctggcctg tgcataactg tctggccagc gcacagccga agagctgcaa aaagcgccta	8280

cccttcggtc gctgcgtcc ctacgccccg ccgcttcgcg tcggcctatc gcggccgctg	8340
gccgctcaaa aatggctggc ctacggccag gcaatctacc agggcgcgga caagccgcgc	8400
cgtcgccact cgaccgccgg cgcccacatc aaggcacctt gcctcgcgcg tticggtgat	8460
gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg	8520
gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc	8580
gcagccatga cccagtcacg tagcgatagc ggagtgtata ctggcttaac tatgcggcat	8640
cagagcagat tgiactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataccgcac agatgcgtaa	8700
ggagaaaata ccgcatcagg cgctcttcgg ctctctcgct cactgactcg ctgcgtcgg	8760
tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag	8820
aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc	8880
gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac gagcatcaca	8940
aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt	9000
ttccccctgg aagctccctc gtgcgtctc ctgttcgac cctgccgtt accggatacc	9060
tgtccgctt tctccctcg ggaagcgtgg cgttttctca tagctcacgc ttaggtatc	9120
tcagttcggg ttaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaacct cccgttcagc	9180
ccgaccgtg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc caaccggta agacacgact	9240
tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggat gtaggcggtg	9300
ctacagagtt ctgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaaggaca gtatttgta	9360
tctgcgtct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca	9420
aacaaaccac cgctggtagc ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa	9480
aaaaaggatc tcaagaagat cttttgatct ttctacggg gtctgacgt cagtgaacg	9540
aaaactcacg ttaagggtt ttggatcatg attctaggta ctaaaacaat tcatccagta	9600
aaataataa tttattttc tccaatcag gcttgatccc cagtaagtca aaaaatagct	9660
cgacatactg ttcttccccg atactctccc tgatcgaccg gacgcagaag gcaatgtcat	9720
accacttgtc cgccctgcgg ctctctccaa gatcaataaa gccacttact ttgccatctt	9780
tcacaaagat gttgctgtct ccaggtcgc cgtgggaaaa gacaagttcc tcttcgggct	9840
tttccgtctt taaaaaatca tacagctcgc gcggatcttt aatggagtg tcttcttccc	9900
agttttcgca atccacatcg gccagatcgt tattcagtaa gtaatccaat tcggctaagc	9960
ggctgtctaa gctattcgta tagggacaat ccgatatgtc gatggagtga aagagcctga	10020

tgcaactccgc atacagctcg ataactctttt cagggtcttg ttcactcttca tactcttccg	10080
agcaaaggac gccatcgcc tcactcatga gcagattgct ccagccatca tgccgttcaa	10140
agtgcaggac ctttgaaca ggcagctttc cttccagcca tagcatcatg tccttttccc	10200
gttccacatc atagggtggc cttttatacc ggctgtccgt cttttttaa tataggtttt	10260
cattttctcc caccagctta tataccttag caggagacat tccttccgta tcttttacgc	10320
agcgggtattt ttcgatcagt tttttcaatt ccggtgatat tctcatttta gccatttatt	10380
atttcttcc tcttttctac agtattttaa gataccctaa gaagctaatt ataacaagac	10440
gaactccaat tcactgttcc ttgcattcta aaaccttaaa taccagaaaa cagctttttc	10500
aaagtgtgtt tcaaagttgg cgtataacat agtatcgacg gagccgattt tgaaaccgcg	10560
gtgatcacag gcagcaacgc tctgtcatcg ttacaatcaa catgctaccc tccgcgagat	10620
catcgtgtt tcaaaccgg cagcttagtt gccgttcttc cgaatagcat cggtaacatg	10680
agcaaagtct gccgccttac aacggctctc ccgctgacgc cgtcccgac tgatgggctg	10740
cctgtatcga gtgggtattt tgtgccgagc tgccggtcgg ggagctgtt gctggctggt	10800
ggcaggatat attgtggtgt aaacaaattg acgcttagac aacttaataa cacattgcgg	10860
acgtttttaa tgiactgaat taacccgaa ttaattcggg ggatctggat tttagtactg	10920
gattttggtt ttaggaatta gaaattttat tgatagaagt attttacaaa taaaaatata	10980
tactaagggt ttcttatatg ctcaacacat gagcgaaacc ctataggaac cctaattccc	11040
ttatctggga actactcaca cattattatg gagaaactcg agcttgtcga tcgacagatc	11100
cggtcggcat ctactctatt tctttgccct cggacgagtg ctggggcgtc ggtttccact	11160
atcggcgagt acttctacac agccatcggg ccagacggcc gcgttctgc gggcgatttg	11220
tgtaccccc acagtcccg ctccggatcg gacgattgcg tcgcatcgac cctgcgcca	11280
agctgcatca tcgaaattgc cgtcaaccaa gctctgatag agttggtcaa gaccaatgcg	11340
gagcatatac gcccgagtc gtggcgatcc tgcaagctcc ggatgcctcc gctcgaagta	11400
gcgcgtctgc tgtccatac aagccaacca cggcctccag aagaagatgt tggcgacctc	11460
gtattgggaa tccccgaaca tcgcctcgt ccagtcaatg accgtgtta tcgggccatt	11520
gtccgtcagg acattgttgg agccgaaatc cgcgtgcacg aggtgccgga cttcggggca	11580
gtcctcgcc caaagcatca gctcatcgag agcctgcgcg acggacgcac tgacggtgtc	11640
gtccatcaca gtttgccagt gatacacatg gggatcagca atcgcgcata tgaaatcacg	11700
ccatgtagtg tattgaccga ttccttgcgg tccgaatggg ccgaaccgc tcgtctggct	11760
aagatcgcc gcagcgatcg catccatagc ctccgcgacc ggtttagtaa cagcgggcag	11820
ttcggtttca ggcaggtctt gcaacgtgac accctgtgca cggcgggaga tgcaataggt	11880

caggctctcg ctaaactccc caatgtcaag cacttccgga atcgggagcg cggccgatgc 11940
aaagtccga taaacataac gatctttgta gaaaccatcg gcgcagctat ttacccgcag 12000
gacatatcca cgccctccta catcgaagct gaaagcacga gattcttcgc cctccgagag 12060
ctgcatcagg tcggagacgc tgtcgaactt ttcgatcaga aacttctcga cagacgtcgc 12120

ggtagattca ggctttttca tatctcattg cccccccgga tctgcgaaag ctcgagagag 12180
atagatttgt agagagagac tggtagattc agcgtgtcct ctccaaatga aatgaacttc 12240
cttatataga ggaaggtctt gcgaaggata gtgggattgt gcgtcatccc ttacgtcagt 12300
ggagatatca catcaatcca cttgctttga agacgtggtt ggaacgtctt ctttttccac 12360
gatgctcctc gtgggtgggg gtccatcttt gggaccactg tcggcagagg catcttgaac 12420
gatagccttt ctttatcgc aatgatggca ttgttaggtg ccaccttcct tttctactgt 12480
ccttttgatg aagtgcaga tagctgggca atggaatccg aggaggtttc ccgatattac 12540

cctttgttga aaagtctcaa tagccctttg gtcttctgag actgtatctt tgatatctt 12600
ggagtagacg agagtgtcgt gtcaccat gttatcacat caatccactt gctttgaaga 12660
cgtggttggg acgtctctt tttccacgat gtcctcgtg ggtgggggtc catctttggg 12720
accactgtcg gcagaggcat cttgaacgat agcctttcct ttatcgcaat gatggcattt 12780
gtaggtgcc cttctcttt ctactgtcct ttgatgaag tgacagatag ctgggcaatg 12840
gaatccgagg aggtttcccg atattacct ttgttgaaaa gtctcaatag ccctttggtc 12900
ttctgagact gtatctttga tattcttggg gtagacgaga gtgtcgtgct ccaccatgtt 12960

ggcaagctgc tctagccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcgttgcc gattcattaa 13020
tgcagctggc acgacaggtt tcccactgg aaagcgggca gtgagcgcaa cgcaattaat 13080
gtgagttagc tcaactatta ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc ggctcgtatg 13140
ttgtgtggaa ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagctatga ccatgattac 13200
g 13201
<210> 20
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> UAS_ApaI_F
<400> 20
gagcggggccc acacaggaaa cagctatgac 30

<210> 21

<211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NOS_ApaI_R
 <400> 21
 gagcggggccc agtgagacgg gcaacagctg 30
 <210> 22
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_F
 <400> 22
 caccatggac catcatcagt atcatcatc 29
 <210> 23
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_R
 <400> 23
 gttacatgt tggtcacca ctatca 26

 <210> 24
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_ZFM_F
 <400> 24
 caccatggct agcactaggc cgcaagaacc 30
 <210> 25
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_ZFM_R
 <400> 25
 gttacggaga gagccacatt c 21

<210> 26
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-deltaZFM_F
 <400> 26

ttgatgacga caatggtccc cgtaggcgga ggttc 35

<210> 27
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-deltaZFM_R
 <400> 27

cattgtcgtc atcaacttct tc 22

<210> 28
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4_F
 <400> 28

caccatggct atgcaagata ttcattgattt ctc 33

<210> 29
 <211> 21
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4_R
 <400> 29

aggaaggtag agaccactct g 21

<210> 30
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4-ZFM_F

<400>	30	
cacatggct atacttaacc atcatcaatc tc		32
<210>	31	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Dof5.4-ZFM_R	
<400>	31	
gttacggaga acaccacctt		20
<210>	32	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	CrDof-ZFM_F	
<400>	32	
cacatggct cttccacgcc ccgacaagaa		30
<210>	33	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	CrDof-ZFM_R	
<400>	33	
gttcctcaac gtgccgccgg ca		22
<210>	34	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	PpDof19-ZFM_F	
<400>	34	
cacatggct ctgaagcctc cagatcaagt		30
<210>	35	
<211>	20	
<212>	DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> PpDof19-ZFM_R

<400> 35

atttcttaaa gtcccacctg 20

<210> 36

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof4.1_GW_d1

<400> 36

aaaaagcagg ctttatggac catcatcagt 30

<210> 37

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof4.1_GW_d2

<400> 37

aaaaagcagg ctttagcact aggccgcaa 29

<210> 38

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof4.1_GW_d3

<400> 38

aaaaagcagg ctttcgtcaa gagtatgatc 30

<210> 39

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof4.1_GW_d4

<400> 39

aaaaagcagg ctttgtcccc gtaggcgga 29

<210> 40

<211> 30

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_d5
 <400> 40
 aaaaagcagg ctttcatcaa aacaataatg 30

<210> 41
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r1
 <400> 41
 agaaagctgg gtttcacatt gtcgtcatca 30

<210> 42
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r2
 <400> 42
 agaaagctgg gtttcaaac tgaatcattc 30

<210> 43
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r3
 <400> 43
 agaaagctgg gtttcacat gtttgtcca 29

<210> 44
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r4
 <400> 44
 agaaagctgg gtttcagtta cggagagagc c 31

<210> 45
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r5
 <400> 45
 agaaagctgg gtttcacgtc ttgctagggt t 31
 <210> 46
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r6
 <400> 46
 agaaagctgg gttccatggt ggtccacc 28

 <210> 47
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1_GW_r7
 <400> 47
 agaaagctgg gttccatggt ggtccacca 29
 <210> 48
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof2.2_GW_d1
 <400> 48
 aaaaagcagg ctttatgggt ttctcatcc 29
 <210> 49
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof2.2_GW_r1
 <400> 49

agaaagctgg gttcataaga tgctgggtg

28

<210> 50

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof2.2_GW_d2

<400> 50

aaaaagcagg cttttctcag cgcagagg

30

<210> 51

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof2.2_GW_r2

<400> 51

agaaagctgg gtttcagttc ctcaaggcac c

31

<210> 52

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof3.7_GW_d2

<400> 52

aaaaagcagg ctttaaggcg aggccacaag

30

<210> 53

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof3.7_GW_r2

<400> 53

agaaagctgg gtttcagtta cgaagagagc c

31

<210> 54

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dof4.5_GW_d1
 <400> 54
 aaaaagcagg cttaagccc ccaccaccac 30
 <210> 55
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.5_GW_r1
 <400> 55
 agaaagctgg gtttcagttt cttaaagccc c 31
 <210> 56
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.6_GW_d1
 <400> 56
 aaaaagcagg ctttcgtcca cctcagacc 30
 <210> 57
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.6_GW_r1
 <400> 57
 agaaagctgg gtttcaattc cttagagttc c 31
 <210> 58
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4_GW_d1
 <400> 58
 aaaaagcagg ctttatactt aaccatcatc 30
 <210> 59
 <211> 31

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4_GW_r1
 <400> 59
 agaaagctgg gtttcagtta cggagaacac c 31
 <210> 60
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Os04-GW-d1
 <400> 60
 aaaaagcagg ctttcggccg cagaaggaga ag 32
 <210> 61
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Os04-GW-r1
 <400> 61
 agaaagctgg gtttcagttg cggagcgcgc cgcc 34
 <210> 62
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Nt-GW-d1
 <400> 62
 aaaaagcagg ctttaggccca caaaaagaac aa 32
 <210> 63
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Nt-GW-r1
 <400> 63
 agaaagctgg gtttcaattt cttaaagaac cacc 34
 <210> 64

<211> 32
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Gm-GW-d1
 <400> 64
 aaaaagcagg ctttaaaaca aggccacaag ag 32
 <210> 65
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Gm-GW-r1
 <400> 65
 agaaagctgg gtttcagttt ctcagagacc ctcc 34
 <210> 66
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Pp09-GW-d1
 <400> 66
 aaaaagcagg ctttcgcgag aagccagac 29
 <210> 67
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Pp09-GW-r1
 <400> 67
 agaaagctgg gtttcaattg cgaagcgtcc c 31
 <210> 68
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof-Pp15-GW-d1
 <400> 68

aaaaagcagg ctttggcact accaagccc	29
<210> 69	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof-Pp15-GW-r1	
<400> 69	
agaaagctgg gtttcagttg cggagagtac c	31
<210> 70	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof-Pp19-GW-d1	
<400> 70	
aaaaagcagg ctttctgaag cctccagat	29
<210> 71	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof-Pp19-GW-r1	
<400> 71	
agaaagctgg gtttcaattt cttaaagtcc c	31
<210> 72	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof-Cr-GW-d1	
<400> 72	
aaaaagcagg ctttcttcca cgccccgaca ag	32
<210> 73	
<211> 34	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Dof-Cr-GW-r1
 <400> 73
 agaaagctgg gtttcagttc ctcaacgtgc cgcc 34
 <210> 74
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> attB1-ad-F*
 <400> 74
 ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggct 29
 <210> 75
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> attB2-ad-R*
 <400> 75
 ggggaccact ttgtacaaga aagctgggt 29
 <210> 76
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> mCherry-S-d1
 <400> 76
 gggcgtcgac atggtgagca agggcgagga 30
 <210> 77
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> mCherry-AvrKSac-r3
 <400> 77
 gggcgagctc tccggtacct tacctaggct tgtacagctc gtccatg 47
 <210> 78
 <211> 30

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H2B-Avr-d1
 <400> 78
 gggccctagg atggcgaagg cagataagaa 30
 <210> 79
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H2B-HpaK-r1
 <400> 79
 gggcgggtacc tcagttaaca gaactcgtaa acttcgtaac c 41
 <210> 80
 <211> 36
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial Sequence
 <220><223> attR-BsgI-d1
 <400> 80
 ggcgttcgaa gatctcaca gtttgtacaa aaaagc 36
 <210> 81
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> attR-BKpn-r1
 <400> 81
 ggcgggtacc ttatccttcg aacaccactt tgtacaagaa ag 42
 <210> 82
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-del1_F1Bg
 <400> 82
 ggcgagatct tatggacat catcagtatc a 31

<210> 83
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-del1_R1k
 <400> 83
 ggcggtacc tcacattgtc gtcacaaact tct 33
 <210> 84
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-del2_F2Bg
 <400> 84
 ggcgagatct tagcactagg ccgcaagaac c 31
 <210> 85
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-del2_R2k
 <400> 85

 ggcggtacc tcagttacgg agagagccac ctt 33
 <210> 86
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-del3_F3Bg
 <400> 86
 ggcgagatct tgtccccgta ggcgaggtt c 31
 <210> 87
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof4.1-del3_R3k
 <400> 87

ggcgggtacc tcacgtcttg ctagggtttg atg	33
<210> 88	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof4.1-del4_F4Bg	
<400> 88	
ggcgagatct tcataaaaac aataatgacc t	31
<210> 89	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof4.1-del4_R4k	
<400> 89	
ggcgggtacc tcaaaactga atcattccca tag	33
<210> 90	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof4.1-del5_F5Bg	
<400> 90	
ggcgagatct tcgtcaagag tatgatcatg a	31
<210> 91	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dof4.1-del5_R5k	
<400> 91	
ggcgggtacc tcaccatgtt ggtccaccac	30
<210> 92	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Dof2.2-ZFM_F3Bg
 <400> 92
 ggcgagatct ttctcagccg ccagaggag c 31
 <210> 93
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof2.2-ZFM_R3k
 <400> 93
 ggcggtacc tcagttcctc aaggcaccgc cac 33
 <210> 94
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4-ZFM_F3Bg
 <400> 94
 ggcgagatct tatacttaac catcatcaat c 31
 <210> 95
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4-ZFM_R3k
 <400> 95
 ggcggtacc tcagttacgg agaaccac ctt 33
 <210> 96
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 2Myc_BamHI_F1
 <400> 96
 ggcggtacct aaagctacc ctagcactag tatg 34
 <210> 97
 <211> 35

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 2Myc_BglII_R1
 <400> 97
 ggcagatctg cacgggttgg gcctttcaaa tcctc 35
 <210> 98
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 2Myc_BglII_F2
 <400> 98
 ggcagatctt aaagctaccc ctagcactag tatgg 35
 <210> 99
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 2Myc_KpnI_R2
 <400> 99
 ggcggtaccg cacgggttgg gcctttcaaa tcctc 35
 <210> 100
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GL1_AscI_F
 <400> 100
 gcaggcgcgc ctccagaatg agaataagga gaag 34
 <210> 101
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof2.2-ZFM_BamHI_R
 <400> 101
 gcgggatacct ttcagttcct caaggcacc 29

<210> 102
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dof5.4-ZFM_BamHI_R
 <400> 102
 gcgggatacct ttcagttacg gagaacacca c 31
 <210> 103
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpMKN1-3_BglIII_F
 <400> 103
 ggaagatctt gttgatgtgc gagaggagat cctac 35
 <210> 104
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpMKN1-3_KpnI_R
 <400> 104
 ggcgggtacc aaatggattg ctgtgccagt tc 32
 <210> 105
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpMKN2_BglIII_F
 <400> 105
 ggcgagatct ttatggtcgc cacatcggag 30
 <210> 106
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PpMKN2_KpnI_R
 <400> 106

ggcggtacc ttatttacct tcgcagctcc agtg	34
<210> 107	
<211> 35	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> PpMKN4_BamHI_F	
<400> 107	
ggaagatctt ggcagcaaga agggccgtga aaacc	35
<210> 108	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> PpMKN4_KpnI_R	
<400> 108	
ggcggtacc ttaaccctcg cagctccagt gtcgcttg	38
<210> 109	
<211> 35	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> PpMKN6_BamHI_F	
<400> 109	
ggagatcct gaggacgttc gtgaggaaat ttg	35
<210> 110	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> PpMKN6_KpnI_R	
<400> 110	
ggcggtacc ttagttgcta tgccagtttc gctttcgc	38
<210> 111	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> PpHD6_BglIII_F
 <400> 111
 ggcgagatct tcttggaatg ctccaacagc 30
 <210> 112
 <211> 31
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> PpHD6_KpnI_R
 <400> 112
 ggcggtacc ttataccatt ggcttcaca g 31
 <210> 113
 <211> 31
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> CrGSM1_BglIII_F
 <400> 113
 ggcgagatct tgtgcaggtg gctgccagcc t 31
 <210> 114
 <211> 30
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> CrGSM1_KpnI_R
 <400> 114
 gggcgtacc aatgcttggt ccagtcctc 30
 <210> 115
 <211> 32
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> CrHDG1_BglIII_F
 <400> 115
 ggcgagatct tagcaagaag ggccgtgaaa ac 32
 <210> 116
 <211> 31

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrHDG1_KpnI_R
 <400> 116
 gggcgggtacc tgatgagcgg cttccagatg c 31
 <210> 117
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrGSP1_BglII_F
 <400> 117

 ggcaagatct tcagctgtac ggcggcgtgg gggat 35
 <210> 118
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrGSP1_KpnI_R
 <400> 118
 gccgggtacc ttacatgatg gcgggccgcc agtgcct 37
 <210> 119
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrCO_BglII_F
 <400> 119
 ggcgagatct taacctgact cgcgagcagc g 31
 <210> 120
 <211> 31
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrCO_KpnI_R
 <400> 120
 gggcgggtacc tctcctcctt cttggcgaag c 31

<210> 121
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrYABBY_BglII_F
 <400> 121
 ggcgagatct tattcgggtct ttctcgaaa g

31

<210> 122
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CrYABBY_KpnI_R
 <400> 122
 gggcggtacc aaatggaagc ccacttgctcg

30