

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 11월 6일 (06.11.2014)



(10) 국제공개번호
WO 2014/178516 A1

- (51) 국제특허분류:
C12N 15/63 (2006.01) C12N 15/29 (2006.01)
A01H 5/00 (2006.01) C12N 15/82 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/011859
- (22) 국제출원일: 2013년 12월 19일 (19.12.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2013-0049300 2013년 5월 2일 (02.05.2013) KR
- (71) 출원인: 경상대학교산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY) [KR/KR]; 660-701 경상남도 진주시 진주대로 501, Gyeongsangnam-do (KR).
- (72) 발명자: 한창덕 (HAN, Chang Deok); 660-300 경상남도 진주시 가좌안골길 21번길 5 제일풍경채아파트 101동 1405호, Gyeongsangnam-do (KR). 김태호 (KIM, Tae Ho); 440-710 경기도 수원시 장안구 화산로 85 천천푸르지오아파트 111동 2104호, Gyeonggi-do (KR). 황진 (HUANG, Jin); 660-701 경상남도 진주시 가좌동 경상대학교 공동실업실습관 6동 326호, Gyeongsangnam-do (KR).

(74) 대리인: 최규환 (CHOL, Kyu Whan); 302-868 대전시 서구 한밭대로 745 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).

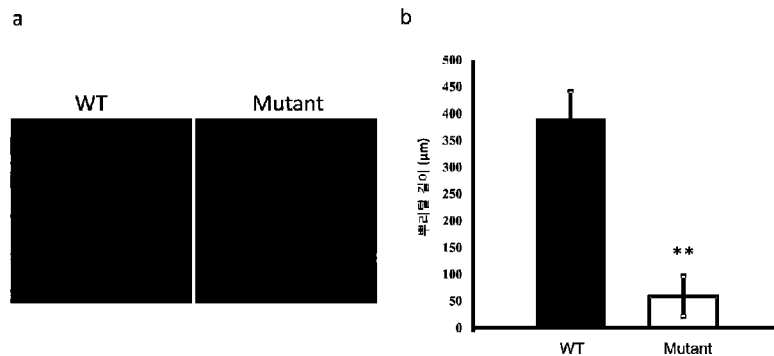
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

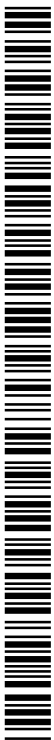
(54) Title: METHOD FOR CONTROLLING EXTENSION OF ROOT HAIR OF PLANT BY USING OSFH1 GENE, AND PLANT OBTAINED THEREBY

(54) 발명의 명칭 : O s F H 1 유전자를 이용한 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법 및 그에 따른 식물체



(57) Abstract: The present invention relates to: a method for controlling the extension of root hair of a plant, comprising a step of controlling the expression of a gene encoding *Oryza sativa* Formin homology 1 (OsFH1) protein by transforming plant cells with a recombinant vector containing the gene encoding OsFH1 protein; a method for preparing a transgenic plant in which the extension of root hair is controlled, comprising a step of transforming plant cells with a recombinant vector containing the gene encoding OsFH1 protein; a transgenic plant in which the extension of root hair is controlled, which is prepared by the method, and a seed thereof; and a composition for controlling the extension of root hair of a plant, containing a recombinant vector containing the gene encoding OsFH1 protein as an active ingredient.

(57) 요약서: 본 발명은 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법, 상기 OsFH1 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계를 포함하는 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법, 상기 방법에 의해 제조된 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체 및 이의 종자 및 상기 OsFH1 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 유효성분으로 함유하는 식물체의 뿌리털 신장 조절용 조성물에 관한 것이다.



WO 2014/178516 A1

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: O s F H 1 유전자를 이용한 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법 및 그에 따른 식물체

기술분야

- [1] 본 발명은 OsFH1 유전자를 이용한 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법 및 그에 따른 식물체에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법, 상기 OsFH1 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계를 포함하는 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법, 상기 방법에 의해 제조된 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체 및 이의 종자 및 상기 OsFH1 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 유효성분으로 함유하는 식물체의 뿌리털 신장 조절용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 벼(*Oryza sativa*)는 세계 인구의 절반 이상이 식량 자원으로 이용하는 가장 중요한 작물 중 하나이다. 논에서 자라는 벼의 재배 조건은 밀 또는 옥수수과 같은 주요 밭작물들의 재배 조건과 다르며 이는 벼의 뿌리털이 밭에서 재배되는 식물체들의 뿌리털과 다른 물리화학적 조건들에 노출됨을 의미한다.
- [3] 뿌리털은 뿌리의 표피세포가 외부로 자란 것이다. 뿌리털의 발달은 뿌리의 종축을 따라 연속적으로 근단으로부터 기부(상부) 구간에 이르기까지 세포의 특수화, 뿌리털의 개시 및 근단의 신장에 의한 뿌리털 신장으로 진행된다. 뿌리털 형성을 결정하는 유전적 조절 기작은 애기장대 식물체에서 광범위하게 연구되었다. 애기장대의 뿌리에 있어 뿌리털 및 비뿌리털 세포의 운명은 리셉터 유사 키나아제(receptor-like kinase), WD40 단백질/bHLH(basic-helix-loop-helix) 전사인자/MYB 전사인자 복합체 및 MYB 유사 단백질의 위치 의존적 활성화에 의해 결정되며, 상기 인자들은 주로 뿌리의 분열조직 및 신장대의 표피조직에서 활성을 보인다. 뿌리털의 형태형성은 다른 일반적인 세포의 형태형성 관련 유전자와 협력해야 하나, 근본적으로는 모원세포(trichoblast) 특이적 유전자의 활동으로 인한 것이다.
- [4] 뿌리털 형성을 결정하는 유전적 조절 기작과 함께 각종 호르몬, 영양분 및 물리적 처리와 같은 외부적인 요인들에 의해 뿌리털의 생장 및 신장은 영향을 받는다. 뿌리털의 개시는 에틸렌 또는 에틸렌 합성 저해제 처리에 의해 영향을 받으며, 옥신 호르몬의 적용은 뿌리털 발달을 조절할 수 있다. 외인성의 영양분과 뿌리털 발달 사이의 관계를 설명하기 위해서 강력한 유전적 돌연변이 분석을 수행하여, 철과 무기인 성분이 뿌리털의 밀도와 길이에 영향을 미치는

것을 알았다. 야생형 타입의 식물체 뿌리를 배지로부터 물리적으로 분리시켰을 때 뿌리털 형성에 영향을 미쳤다. 또한, 애기장대 *rhl*(root hairless)와 *rhd6*(root-hair defective 6) 유전자의 돌연변이체는 뿌리가 공기 중에 노출되었을 때 정상적인 뿌리털을 형성하였다.

- [5] 소포 트래픽킹(vesicle trafficking), 세포골격 재편성 그리고 세포벽 이완 및 합성은 뿌리털 신장의 주요 원동력이다. 포민(formin) 단백질은 다중 도메인 단백질군으로 효모, 식물 및 동물에 존재하고 선형의 액틴 중합체 조립에 관여한다. 포민 단백질은 매우 보존된 FH2(formin homology 2) 도메인으로 정의되어 지며, 대부분의 식물 포민 단백질은 보다 가변적인 FH1(formin homology1) 도메인을 가지고 있다. 애기장대에는 최소 21개의 포민 유전자들이 있고, 벼 게놈에는 16개의 포민 유전자들이 있으며, 현재까지 식물 포민 단백질은 정단 성장, 세포 분할 및 세포 팽창을 조절하는 것으로 보고되었다.
- [6] 한국등록특허 제0788439호에는 '뿌리 및 뿌리털의 신장을 유도하는 유전자 및 이 유전자에 의한 형질전환 식물체'가 개시되어 있고, 한국등록특허 제1202615호에서는 '옥신수송체 발현을 통한 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법 및 그에 따른 식물체'가 개시되어 있으나, 본 발명에서와 같이 OsFH1에 의한 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법 및 그에 따른 식물체에 관해서는 밝혀진 바가 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자는 벼의 뿌리털 발달이 저해된 돌연변이체를 선별하고, 이로부터 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자의 돌연변이체를 침수 조건에서 생장시켜 야생형에 비해 뿌리털 신장이 현저히 저해되는 것을 확인하였다. 이를 통하여 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 조절은 벼 식물체의 뿌리털 신장 조절을 가능하게 하는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [8] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법을 제공한다.
- [9] 또한, 본 발명은 상기 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체를 제공한다.
- [11] 또한, 본 발명은 상기 식물체의 종자를 제공한다.

- [12] 또한, 본 발명은 상기 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 유효성분으로 함유하는 식물체의 뿌리털 신장 조절용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [13] 본 발명에서 분리된 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자 및 상기 유전자로부터 발현되는 단백질은 식물체의 뿌리털 신장과 관련된 형질의 개선 및 타 식물체에서 뿌리털의 신장을 조절하는 유전자의 탐색 등에 유용하게 이용될 수 있다. 또한, 본 발명의 유전자를 이용하여 식물체의 뿌리털 신장이 조절된 식물체를 창출할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [14] 도 1은 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 돌연변이 식물체의 뿌리털 신장이 저해된 표현형을 확인한 사진(a)과 이를 도표화 한 것(b)이다. WT; 야생형, Mutant; 돌연변이 식물체, bar; 500 μ m, **P<0.01.
- [15] 도 2는 야생형과 돌연변이형 *OsFH1* 유전자의 게놈 DNA와 cDNA 서열을 비교한 그림(a)과 OsFH1 단백질의 기능적인 도메인을 표시한 그림(b)이다. WT; 야생형, Mutant; 돌연변이 식물체, 영문 대문자; 엑손 내의 염기, 영문 소문자; 인트론 내의 염기, SP; 신호 펩티드, RRR; 프롤린 리치 영역, TMD; 막전위 도메인, FH1; formin homology 1, FH2; formin homology 2, 아라비아 숫자; 각 도메인의 처음과 마지막 아미노산의 번호.
- [16] 도 3은 두 종의 T-DNA 삽입 OsFH1 돌연변이 식물체의 뿌리털 신장이 저해된 표현형을 확인한 사진(a)과 이를 도표화 한 것(b)이다. WT; 야생형, Mutant; 돌연변이 식물체, bar; 500 μ m, **P<0.01.
- [17] 도 4는 뿌리 성장 과정 중 성장 배지의 종류 및 배지의 형상에 따른 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털 표현형을 확인해 본 결과이다. a는 야생형과 돌연변이 식물체를 1/2 MS(Murashige & skoog) 배지에서 수용액 상태와 한천을 첨가하여 고체화한 상태에서 성장시켜 뿌리털 신장을 관찰한 사진이고, b는 a의 결과를 도표화 한 것이다. c는 야생형과 돌연변이 식물체를 증류수에서 수용액 상태와 아가로스 첨가하여 고체화한 상태에서 성장시켜 뿌리털 신장을 관찰한 사진이고, d는 c의 결과를 도표화 한 것이다. OsFH1-1; 야생형, *Osfh1-1*; 돌연변이 식물체, bar; 500 μ m, **P<0.01.
- [18] 도 5는 뿌리 성장 과정 중 호기적 조건에 따른 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털 표현형을 확인해 본 결과이다. a는 1/2 MS 배지로 적신 종이 타올 위에서 3일간, b는 1/2 MS 배지에 잠근 채로 3일간 그리고 c와 d는 1/2 MS 배지에 잠근 채로 1.5일간 두었다가(c) 1/2 MS 배지로 적신 종이 타올 위로 옮겨 다시 1.5일간 둔(d) 야생형과 돌연변이 식물체의 뿌리털 신장을 확인한 결과이다. W; 야생형, M; 돌연변이 식물체, **P<0.01.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [19] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털의 신장을 조절하는 방법을 제공한다.
- [20] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에서, 벼 유래 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 저해하여 식물체의 뿌리털 신장을 저해할 수 있으며, 상기 뿌리털 신장의 저해는 *OsFH1* 유전자의 발현이 저해된 형질전환된 식물체를 침수 조건에서 생장시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [21] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에서, 상기 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현의 저해는 예를 들면, OsFH1 단백질 코딩 유전자의 돌연변이에 의해 수행될 수 있으며, 바람직하게는 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 미성숙 종결(pre-mature termination)에 의해 수행될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기에서 "유전자 돌연변이"란 하나의 유전자좌의 범위 내에서 유전자의 염기배열에 어떤 이상(치환, 부가, 결실, 역위, 전좌등)이 발생한 것을 말하며, 이러한 돌연변이에는 DNA 상의 하나의 염기의 변화에 의한 점 돌연변이와 염기의 삽입 또는 결실에 의해서 아미노산의 서열 전체가 변화되는 해독틀 돌연변이가 있으며, 발생 원인에 따라 자연적으로 발생하는 자연 돌연변이와 인위적인 환경의 작용 또는 화학물질에 의해 유도되는 유도성 돌연변이가 있다.
- [22] 본 발명에 따른 OsFH1 단백질의 범위는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 상기 단백질의 기능적 동등물을 포함한다. "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 2로 표시되는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. "실질적으로 동질의 생리활성"이란 식물체의 뿌리털의 신장을 조절하는 활성을 의미한다.
- [23] 또한, 본 발명은 상기 OsFH1 단백질을 암호화하는 유전자를 제공한다. 본 발명의 유전자는 OsFH1 단백질을 암호화하는 게놈 DNA(서열번호 45)와 cDNA(서열번호 1)를 모두 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 유전자는 서열번호 1로 표시되는 염기서열을 포함할 수 있다. 또한, 상기 염기 서열의 상동체가 본 발명의 범위 내에 포함된다. 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 1의 염기 서열과 각각 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 염기 서열을 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드에 대한 "서열 상동성의 %"는 두 개의 최적으로 배열된 서열과 비교 영역을 비교함으로써 확인되며, 비교 영역에서의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 두 서열의 최적 배열에 대한 참고 서열(추가 또는 삭제를 포함하지 않음)에 비해 추가 또는 삭제(즉, 갭)를 포함할 수 있다.

- [24] 본 발명은 본 발명에 따른 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계; 및 상기 형질전환된 식물세포로부터 식물체를 재분화하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법을 제공한다.
- [25] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에서, 벼 유래 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 저해하여 식물체의 뿌리털 신장을 저해할 수 있으며, 상기 뿌리털 신장의 저해는 *OsFH1* 유전자의 발현이 저해된 형질전환된 식물체를 침수 조건에서 생장시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [26] 용어 "재조합"은 세포가 이종의 핵산을 복제하거나, 상기 핵산을 발현하거나 또는 펩티드, 이종의 펩티드 또는 이종의 핵산에 의해 암호된 단백질을 발현하는 세포를 지칭하는 것이다. 재조합 세포는 상기 세포의 천연 형태에서는 발견되지 않는 유전자 또는 유전자 절편을, 센스 또는 안티센스 형태 중 하나로 발현할 수 있다. 또한 재조합 세포는 천연 상태의 세포에서 발견되는 유전자를 발현할 수 있으며, 그러나 상기 유전자는 변형된 것으로서 인위적인 수단에 의해 세포 내 재도입된 것이다.
- [27] 용어 "벡터"는 세포 내로 전달하는 DNA 단편(들), 핵산 분자를 지칭할 때 사용된다. 벡터는 DNA를 복제시키고, 숙주세포에서 독립적으로 재생산될 수 있다. 용어 "전달체"는 흔히 "벡터"와 호환하여 사용된다. 용어 "발현 벡터"는 목적인 코딩 서열과, 특정 숙주 생물에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열을 발현하는데 필수적인 적정 핵산 서열을 포함하는 재조합 DNA 분자를 의미한다. 진핵세포에서 이용 가능한 프로모터, 인핸서, 종결신호 및 폴리아데닐레이션 신호는 공지되어 있다.
- [28] 식물 발현 벡터의 바람직한 예는 아그로박테리움 투머파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)와 같은 적당한 숙주에 존재할 때 그 자체의 일부, 소위 T-영역을 식물 세포로 전이시킬 수 있는 Ti-플라스미드 벡터이다. 다른 유형의 Ti-플라스미드 벡터(EP 0 116 718 B1호 참조)는 현재 식물 세포, 또는 잡종 DNA를 식물의 게놈 내에 적당하게 삽입시키는 새로운 식물이 생산될 수 있는 원형질체로 잡종 DNA 서열을 전이시키는데 이용되고 있다. Ti-플라스미드 벡터의 특히 바람직한 형태는 EP 0 120 516 B1호 및 미국 특허 제4,940,838호에 청구된 바와 같은 소위 바이너리(binary) 벡터이다. 본 발명에 따른 DNA를 식물 숙주에 도입시키는데 이용될 수 있는 다른 적합한 벡터는 이중 가닥 식물바이러스(예를 들면, CaMV) 및 단일 가닥 바이러스, 게미니 바이러스 등으로부터 유래될 수 있는 것과 같은 바이러스 벡터, 예를 들면 비완전성 식물 바이러스 벡터로부터 선택될 수 있다. 그러한 벡터의 사용은 특히 식물 숙주를 적당하게 형질전환하는 것이 어려울 때 유리할 수 있다.
- [29] 발현 벡터는 바람직하게는 하나 이상의 선택성 마커를 포함할 것이다. 상기 마커는 통상적으로 화학적인 방법으로 선택될 수 있는 특성을 갖는 핵산 서열로, 형질전환된 세포를 비형질전환 세포로부터 구별할 수 있는 모든 유전자가 이에

해당된다. 그 예로는 글리포세이트(glyphosate) 또는 포스포노트리신(phosphinothricin)과 같은 제초제 저항성 유전자, 카나마이신(Kanamycin), G418, 블레오마이신(Bleomycin), 하이그로마이신(hygromycin), 클로람페니콜(chloramphenicol)과 같은 항생제 내성 유전자가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [30] 본 발명의 식물 발현 벡터에서, 프로모터는 CaMV 35S, 액틴, 유비퀴틴, pEMU, MAS 또는 히스톤 프로모터일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. "프로모터"란 용어는 구조 유전자로부터의 DNA 업스트림의 영역을 의미하며 전사를 개시하기 위하여 RNA 폴리머라아제가 결합하는 DNA 분자를 말한다. "식물 프로모터"는 식물 세포에서 전사를 개시할 수 있는 프로모터이다. "구성적(constitutive) 프로모터"는 대부분의 환경 조건 및 발달 상태 또는 세포 분화하에서 활성이 있는 프로모터이다. 형질전환체의 선택이 각종 단계에서 각종 조직에 의해서 이루어질 수 있기 때문에 구성적 프로모터가 본 발명에서 바람직할 수 있다. 따라서, 구성적 프로모터는 선택 가능성을 제한하지 않는다.
- [31] 본 발명의 제조합 벡터에서, 통상의 터미네이터를 사용할 수 있으며, 그 예로는 노팔린 신타아제(NOS), 벼 α -아밀라아제 RAmy1 A 터미네이터, 파세올린(phaseoline) 터미네이터, 아그로박테리움 투메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)의 옥토파인(Octopine) 유전자의 터미네이터, 대장균의 rrnB1/B2 터미네이터 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 터미네이터의 필요성에 관하여, 그러한 영역이 식물 세포에서의 전사의 확실성 및 효율을 증가시키는 것으로 일반적으로 알려져 있다. 그러므로, 터미네이터의 사용은 본 발명의 내용에서 매우 바람직하다.
- [32] 본 발명의 벡터를 진핵 세포에 형질전환시키는 경우에는 숙주세포로서, 효모(*Saccharomyce cerevisiae*), 곤충세포, 사람세포(예컨대, CHO 세포주(Chinese hamster ovary), W138, BHK, COS-7, 293, HepG2, 3T3, RIN 및 MDCK 세포주) 및 식물세포 등이 이용될 수 있다. 숙주세포는 바람직하게는 식물세포이다.
- [33] 상기 "식물 세포"는 어떤 식물 세포도 된다. 식물 세포는 배양 세포, 배양 조직, 배양기관 또는 전체 식물이다.
- [34] 본 발명의 벡터를 숙주세포 내로 운반하는 방법은 미세주입법, 칼슘포스페이트 침전법, 전기천공법, 리포솜-매개 형질감염법, DEAE-텍스트란 처리법, 및 유전자 밤바드먼트 등에 의해 벡터를 숙주세포 내로 주입할 수 있다.
- [35] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 뿌리털 신장이 조절된 식물체 및 이의 종자를 제공한다.
- [36] 상기 본 발명에 따른 방법이 적용될 수 있는 식물체로는 단자엽 식물 또는 쌍자엽 식물이 포함된다. 상기 단자엽 식물의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 벼, 밀, 보리, 죽순, 옥수수, 토란, 아스파라거스, 양파, 마늘, 파, 부추, 달래, 마 및 생강이 있다. 쌍자엽 식물의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 애기장대, 가지, 담배, 고추, 토마토, 우엉, 쪽갓, 상추, 도라지, 시금치, 근대, 고구마, 셀러리, 당근,

미나리, 파슬리, 배추, 양배추, 갯무, 수박, 참외, 오이 호박, 박, 딸기, 대두, 녹두, 강낭콩 및 완두가 있다. 상기 식물체는 바람직하게는 벼(*Oryza sativa*)이다.

[37] 또한, 본 발명은 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 유효성분으로 함유하는, 식물체의 뿌리털 신장 조절용 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 유효성분으로 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 OsFH1 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 함유하며, 상기 유전자를 식물체에 형질전환시킴으로써 식물체의 뿌리털의 신장을 조절할 수 있는 것이다.

[38] 본 발명은 삽입변이 유도 체계인 Ac/Ds 태깅 시스템(tagging system)을 통하여 벼에서의 뿌리털에 생성 및 성장에 연관된 유전자를 선별하였고, 유전자에 대한 분자학적 연구를 통하여 유전자의 뿌리털 특이적 발현 특성을 구명함으로써 완성된 것이다.

[39] 전술한 바와 같이, 본 발명은 벼에서의 뿌리털에 생성 및 성장에 연관된 단백질 및 *OsFH1* 유전자에 관한 것이다. 즉, 본 발명자들이 개발한 벼에서의 삽입 변이 유도체계인 Ac/Ds 태깅 시스템(Kim et al., 2004 Plant J. 39: 252-263)을 통해 식물 변이체를 얻었으며 그로부터 기능 분석을 실시하였다. Ac/Ds 태깅 시스템은 옥수수의 전이인자인 Ac와 Ds를 유전자조작한 후 벼의 게놈상에 형질전환 방법으로 삽입시켜 확립했다. Ds는 Ac가 같은 게놈상에 존재할 때 전이된다는 사실에 착안하여 시스템을 구축하였다. 이 태깅 시스템은 유전자의 기능을 변이를 통해 동정하고 동시에 형질발현을 리포터 유전자를 통해 관찰할 수 있는 매우 강력한 연구 방법이다.

[40]

[41] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[42]

[43] 실시예 1: 뿌리털의 발달이 미숙한 변이체의 선별 및 변이된 유전자의 분석

[44] 자포니카 품종인 동진벼를 연구에 사용하였다. 벼에서 뿌리털 발달을 조절하는 유전자를 확인하기 위해서, 삽입 변이 유도체계인 Ac/Ds 태깅 시스템을 통해 짧은 뿌리털 또는 뿌리털이 없는 표현형을 가진 식물 변이체를 스크리닝하였다.

[45] 선별된 짧은 뿌리털 또는 뿌리털이 없는 표현형을 가진 변이체에서 돌연변이 유전자를 분리하기 위해 유전체지도 기반 클로닝을 수행하였다. 짧은 뿌리털 또는 뿌리털이 없는 표현형을 가진 선별된 변이체를 인디카 품종의 밀양23호 벼와 교배하였고, F2 세대를 얻어 짧은 뿌리털 표현형을 가지는 식물체로부터 게놈 DNA를 추출하여 다형성 마커를 확인하였다. 유전체지도 기반 클로닝에 사용된 프라이머의 정보는 다음 표와 같다.

[46] 표 1

[Table 1]

Primer sets for map-based cloning.

Marker	Forward (서열번호)	Reverse (서열번호)
S01054	GCGAAGCCTGCTTTTGTAT (3)	CGGAGATTTTTCCTAAAACAA (4)
R1M30	AAGGGGCCCTAATTATCTAG (5)	TGTTTACTTTGTCTTGGACTG (6)
R1M471	AATAGAATTACTGATGAAACCTTA (7)	GCCCGTTACCGCTTATGT (8)
RM6696	GACGAAGATGAAGGATGGC (9)	AGCGTCGATATTGACGTAG (10)
RM1988	AGATGGTACCACCATGTAC (11)	TATAGTACTCTGATACGTACG (12)
RM152-154-1	GTCGTCGAAACGCGCAAC (13)	GCCCCTTAAGCCCTTTG (14)
RM152-154-3	ATAGAAGGGATGGGTAGGG (15)	CGTTGTCTCTGATATTGACG (16)
RM154.6-1	TGGCCTACCACATGTTTAC (17)	GGAAGAAAATCAAGTCGGTG (18)
RM154.6-2	TAGAGTCTATATCCATAGCAC (19)	AGTCCCTTTGAACAATCTATC (20)
RM154.6-3	CGTCATGTGTACTACCCAC (21)	TAGGTGAGAATGATGGAGG (22)
RM154.8-1	GAAAAAATTGGTGAAAGGGTC (23)	CCAAGGAATATGAAAAGCC (24)
RM154.8-7	CGCAAAAGAAAACGCGTAG (25)	TCTAACGGTCTTTTCTCTCG (26)
RM154.8-8	TACTCCTAATCAATCGGGAC (27)	TTAAGCAGACCAAGGCAGC (28)
RM155-157-1	AACAACACCTGAACGGGTG (29)	GATCACTGAGCCGTTTACG (30)
RM155-157-2	GGATGATGCAGTCAACTGG (31)	CGACATCCACTCGAGCTG (32)
RM157.6-1	GTTGTATTTTGTACGTATGC (33)	GTATACATATACGTGTGTGTC (34)
RM157.6-2	GCATGTCAATTCAACTGCAC (35)	GTGCATGGTTTTTGTGAGAC (36)
RM158-1	ACAAGTCTGGGATGTCCAG (37)	GGAGTAACTCAACTCTGCG (38)
RM160-1	CCTCTCGCAAAGTGACTTC (39)	TCGCTTCCCAAATTAGATGG (40)
RM160-2	TGGTATATGAGTTACACTCTC (41)	ACCAAACCCGGTTCACATC (42)
RM160-3	ATCGACTGTAGCCATCCAG (43)	CATTTGCGACAACATGTTCC (44)

[47]

[48] 정교한 매핑(mapping) 후, 짧은 뿌리털 또는 뿌리털이 없는 표현형을 가진 변이체의 돌연변이된 유전자를 확인하였다. 포민-유사 단백질 1(OsFH1)을 암호화하는 유전자와 위에 하나의 염기가 구아닌에서 아데닌으로 치환된 것을 확인하였다(도 2). 이 치환은 유전자의 첫번째 인트론의 3' 말단의 스플라이싱 수용 자리에 발생한 것으로, 치환된 염기는 근접한 염기와 함께 새로운 스플라이싱 수용 자리를 만들었다. 스플라이싱 변경은 Os01g67240의 코딩 영역의 프레임 쉬프트(frame shift)를 생성하였다. 결과 돌연변이 유전자는 단백질 번역 과정 중에 미성숙 종결(premature termination)을 일으켜 절단된 단백질을 생산하게 된다.

[49]

[50] 실시예 2: 뿌리털 길이의 측정

[51] 선별된 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체를 받아 후 5일 동안 1/2 MS 용액에서 키운 후, 돌연변이체 식물의 뿌리털의 길이를 야생형과 비교하였다. 식물의 뿌리털은 올림푸스 SZX12 입체현미경을 사용하여 관찰하고 이미지를 촬영하였다. 촬영한 이미지는 ImgJ(<http://www.rsweb.nih.gov/ij/>) 프로그램을 사용하여 길이 측정 분석을 수행하였다. 그 결과 야생형에 비해 돌연변이체 식물의 뿌리털의 길이가 85% 짧은 것을 확인하였다(도 1).

[52] 두 종의 T-DNA 삽입 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체 역시 동일한 방법으로 뿌리털의 길이를 야생형과 비교 분석하였다. 그 결과 두 종의 T-DNA 삽입 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체 역시 야생형에 비해 뿌리털의

길이가 현저히 짧은 것을 확인하였다(도 3).

- [53] 이들 세 종의 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이체의 일관된 뿌리털 신장이 저해된 표현형 관찰을 통해, 상기 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자가 벼의 뿌리털 발달에 관여함을 확인하였다.

[54]

- [55] 실시예 3: OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털 신장에 있어 생장 조건들이 미치는 영향 분석

- [56] OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털 신장에 있어서 생장 조건들이 미치는 영향을 알아보기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.

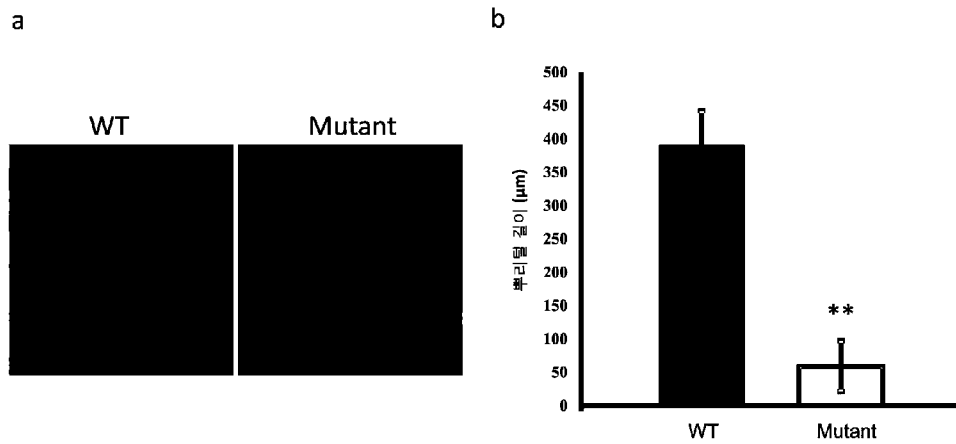
- [57] 먼저 (1)수용액 상태에서 뿌리를 성장시키기 위해서 발아된 종자를 수용액 배지와 접촉한 비닐 망 위에 올려놓고 그리고 (2)공기 중에서 뿌리를 성장시키기 위해서는 발아된 종자를 파이토-아가와 아가로스를 포함한 고체 지지대 위에 올려놓고 성장시킨 후 뿌리털의 신장을 분석하였다. 고체 지지대로 종이 타올을 사용할 경우에는 타올의 상태를 젖은 상태로 유지시켰다. 식물체의 뿌리가 고체 지지대 위에서 자라난 조건에서는 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털이 야생형 식물체의 뿌리털의 길이와 유사하였으나, 수용액 상태에서 자라난 뿌리에서는 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털이 야생형 식물체의 뿌리털의 길이보다 현저하게 짧았다. 그리고 발아된 종자와 접촉한 수용액의 종류는 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자 돌연변이 식물체의 뿌리털 신장에 큰 영향이 없었다(도 4).

- [58] 또한 뿌리털 신장에 있어 호기적 조건이 미치는 영향을 알아보기 위해 야생형 및 세 종의 OsFH1 단백질 코딩 유전자 돌연변이 식물체의 묘목들을 (1)공기 조건 - 1/2 MS 배지로 적신 종이 타올 위에서 3일간, (2)침수 조건 - 1/2 MS 배지에 담근 채로 3일간 그리고 (3)교차 조건 - 공기 조건에서 1.5일간 둔 후 침수 조건으로 다시 1.5일을 더 둔 묘목들에서 뿌리털의 신장을 분석하였다. 그 결과, 오직 침수 조건에서 키운 OsFH1 단백질을 코딩하는 유전자 돌연변이체의 묘목들만 뿌리털이 야생형 식물체의 뿌리털보다 길이가 짧았다(도 5). 이를 통해 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 돌연변이체는 성장 조건이 침수 환경일 경우 특이적으로 뿌리털의 신장이 저해되는 표현형을 보임을 확인하였다.

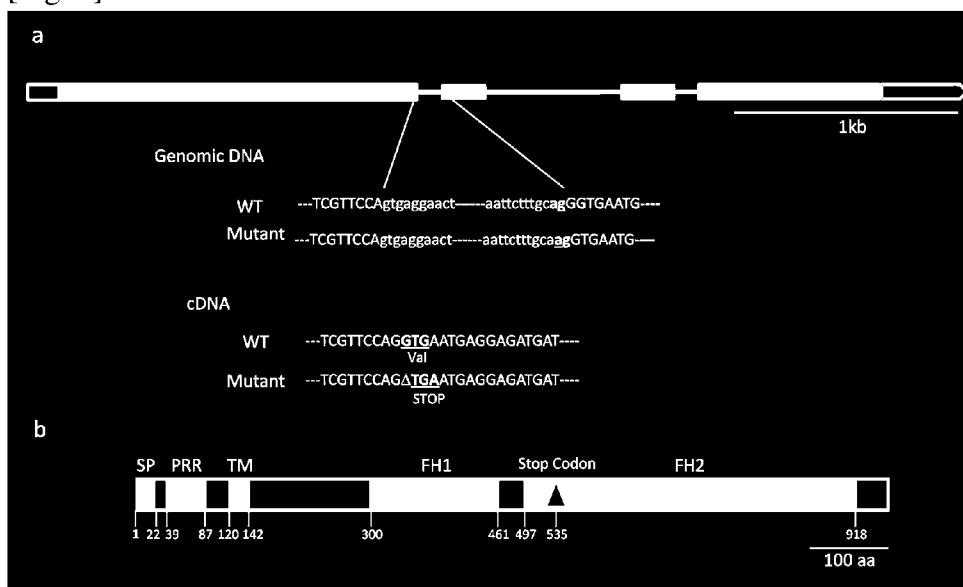
청구범위

- [청구항 1] 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 OsFH1 단백질 코딩 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 OsFH1 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 *OsFH1* 유전자의 발현을 저해하여 식물체의 뿌리털 신장을 저해시키는 것을 특징으로 하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 뿌리털 신장의 저해는 *OsFH1* 유전자의 발현이 저해된 형질전환된 식물체를 침수 조건에서 생장시키는 것을 특징으로 하는 식물체의 뿌리털 신장을 조절하는 방법.
- [청구항 5] 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계; 및
상기 형질전환된 식물세포로부터 식물체를 재분화하는 단계를 포함하는 식물체의 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 OsFH1 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 형질전환 식물체의 제조 방법.
- [청구항 7] 제5항에 있어서, 상기 *OsFH1* 유전자의 발현을 저해하여 식물체의 뿌리털 신장을 저해하는 것을 특징으로 하는 형질전환 식물체의 제조 방법.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 뿌리털 신장의 저해는 *OsFH1* 유전자의 발현이 저해된 형질전환된 식물체를 침수 조건에서 생장시키는 것을 특징으로 하는 형질전환 식물체의 제조 방법.
- [청구항 9] 제5항 내지 제8항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된 뿌리털의 신장이 조절된 형질전환 식물체.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 식물체는 단자엽 식물인 것을 특징으로 하는 식물체.
- [청구항 11] 제9항에 따른 식물체의 종자.
- [청구항 12] 벼 유래 OsFH1(*Oryza sativa* Formin homology 1) 단백질 코딩 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 유효성분으로 함유하는, 식물체의 뿌리털 신장 조절용 조성물.

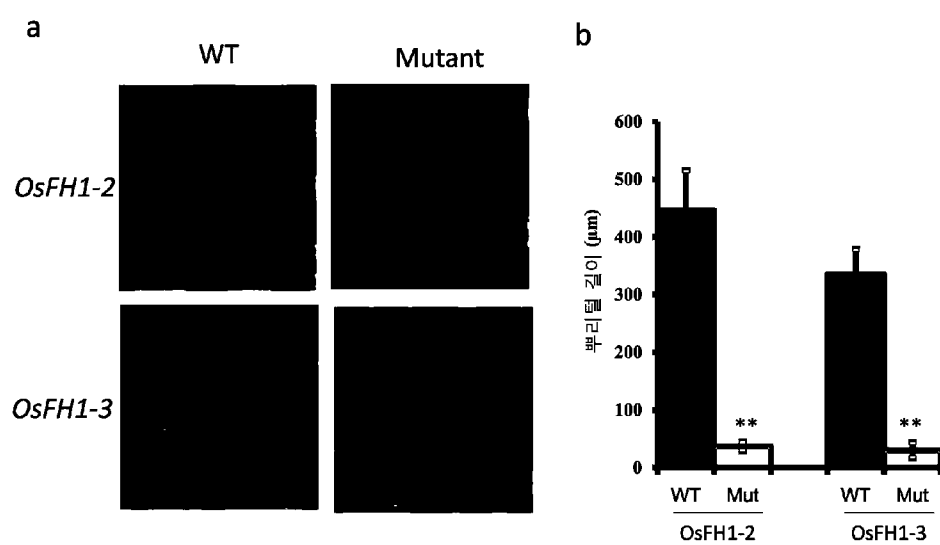
[Fig. 1]



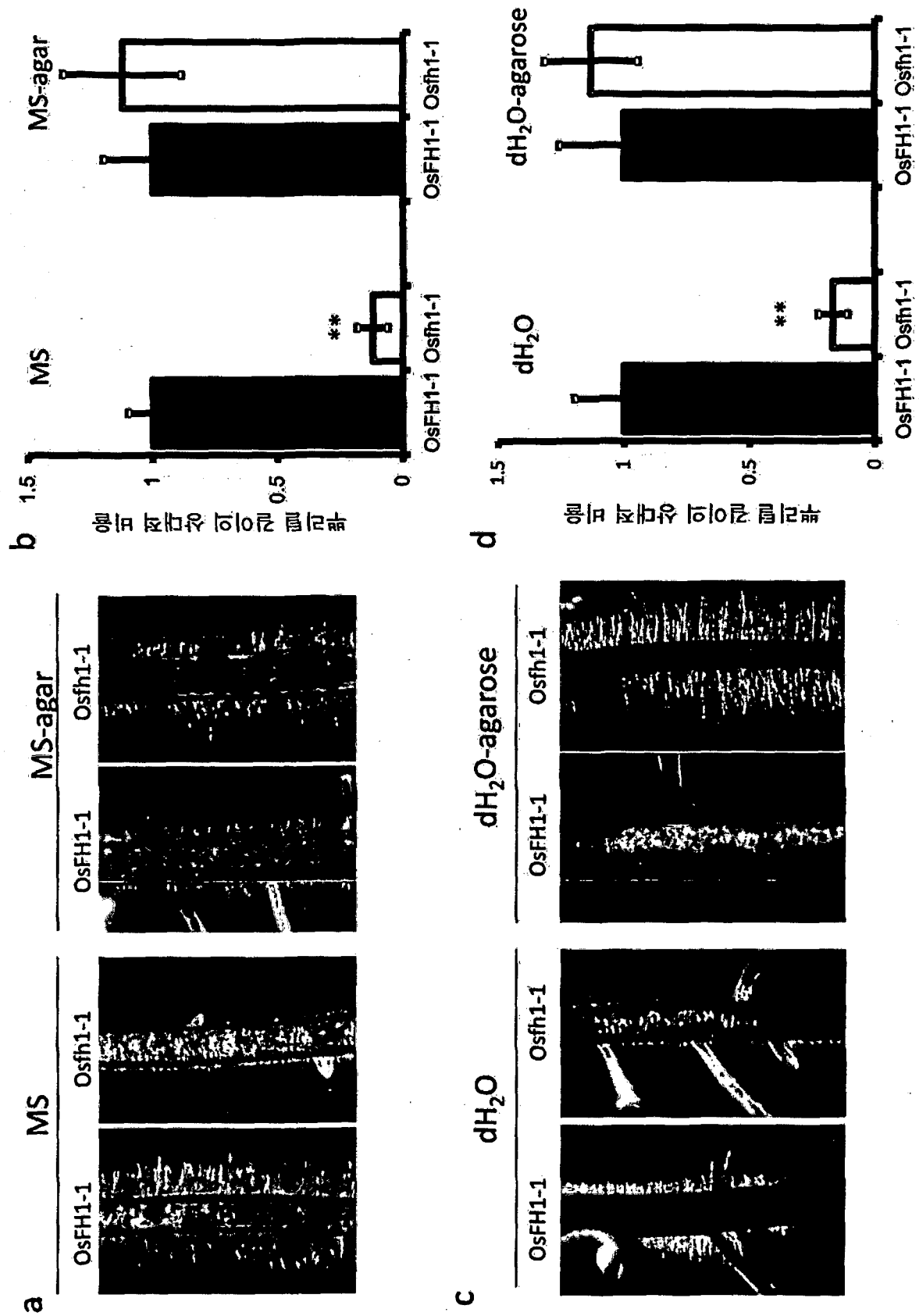
[Fig. 2]



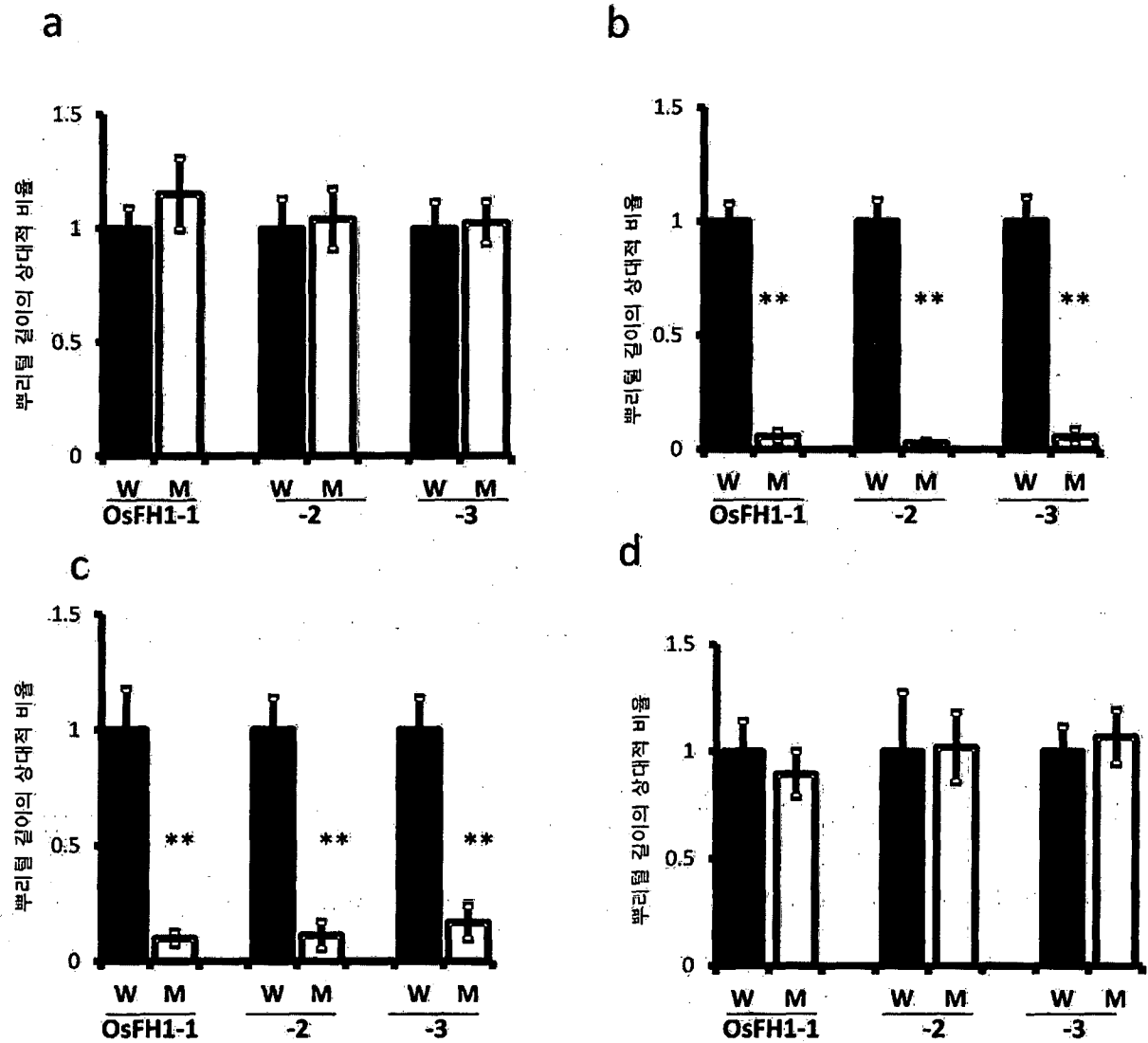
[Fig. 3]



[Fig. 4]



[Fig. 5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/011859

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 15/63(2006.01)i, A01H 5/00(2006.01)i, C12N 15/29(2006.01)i, C12N 15/82(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N 15/63; C12N 15/29; C12N 15/82; C12N 15/10; A01H 5/00; C07K 14/415

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: OsFH1(Oryza sativa Formin homology 1), plant cell, vector, conversion of formation, root hair

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HUANG, JIN et al., "Formin homology 1 (OsFH1) regulates root-hair elongation in rice (Oryza sativa)", Planta, 22 January 2013, vol. 237, no. 5 pp. 1227-1239. See pages 1228-1229 and 1232-1233.	1,3-5,7-12
Y		2,6
Y	GenBank accession no. BAB86073.1 (16 February 2008) See the entire document.	2,6
A	KR 10-2012-0004171 A (SNU R&DB FOUNDATION) 12 January 2012 See claims 1 and 10.	1-12
A	KR 10-2011-0006330 A (SNU R&DB FOUNDATION) 20 January 2011 See claims 1-2 and 4-8.	1-12
A	KR 10-2007-0025995 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY) 08 March 2007 See claims 1 and 8.	1-12
A	WANG, JIAOJIAO et al., "New insights into the role of plant formins: regulating the organization of the actin and microtubule cytoskeleton", Protoplasma, January 2012, vol. 249 (Suppl. 2), pp. S101-S107. See pages S101 and S105.	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 MARCH 2014 (19.03.2014)

Date of mailing of the international search report

21 MARCH 2014 (21.03.2014)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/011859

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2012-0004171 A	12/01/2012	KR 10-1230557 B1	07/02/2013
KR 10-2011-0006330 A	20/01/2011	CN 102036823 A	27/04/2011
		JP 2010-247508 A	04/11/2010
		KR 10-1249580 B1	01/04/2013
		US 2011-0279547 A1	17/11/2011
		US 8251496 B2	28/08/2012
		WO 2009-142331 A1	26/11/2009
KR 10-2007-0025995 A	08/03/2007	KR 10-0788439 B1	24/12/2007
		WO 2007-029923 A1	15/03/2007

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12N 15/63(2006.01)i, A01H 5/00(2006.01)i, C12N 15/29(2006.01)i, C12N 15/82(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12N 15/63; C12N 15/29; C12N 15/82; C12N 15/10; A01H 5/00; C07K 14/415

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: OsFH1(Oryza sativa Formin homology 1), 식물세포, 벡터, 형질전환, 뿌리털

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	HUANG, JIN 외 6명, "Formin homology 1 (OsFH1) regulates root-hair elongation in rice (Oryza sativa)", Planta, 2013.01.22, 237 권, 5 호 1227-1239 페이지, 1228-1229 및 1232-1233 페이지 참조.	1,3-5,7-12
Y		2,6
Y	GenBank accession no. BAB86073.1 (2008.02.16) 문헌 전체 참조.	2,6
A	KR 10-2012-0004171 A (서울대학교산학협력단) 2012.01.12 청구항 1 및 10 참조.	1-12
A	KR 10-2011-0006330 A (서울대학교산학협력단) 2011.01.20 청구항 1-2 및 4-8 참조.	1-12
A	KR 10-2007-0025995 A (경상대학교산학협력단) 2007.03.08 청구항 1 및 8 참조.	1-12
A	WANG, JIAOJIAO 외 2명, "New insights into the role of plant formins: regulating the organization of the actin and microtubule cytoskeleton", Protoplasma, 2012.01, 249 권 (Suppl. 2), S101-S107 페이지, S101 및 S105 페이지 참조.	1-12

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2014년 03월 19일 (19.03.2014)

국제조사보고서 발송일

2014년 03월 21일 (21.03.2014)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



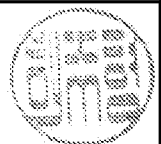
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2013/011859

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2012-0004171 A	2012/01/12	KR 10-1230557 B1	2013/02/07
KR 10-2011-0006330 A	2011/01/20	CN 102036823 A	2011/04/27
		JP 2010-247508 A	2010/11/04
		KR 10-1249580 B1	2013/04/01
		US 2011-0279547 A1	2011/11/17
		US 8251496 B2	2012/08/28
		WO 2009-142331 A1	2009/11/26
KR 10-2007-0025995 A	2007/03/08	KR 10-0788439 B1	2007/12/24
		WO 2007-029923 A1	2007/03/15