



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0044229
(43) 공개일자 2019년04월30일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/82 (2006.01) C07K 14/415 (2006.01)
C12N 15/67 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C12N 15/8261 (2013.01)
C07K 14/415 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-0136390
(22) 출원일자 2017년10월20일
심사청구일자 2018년09월10일</p> | <p>(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)</p> <p>(72) 발명자
안진홍
경기도 용인시 기흥구 탑실로 152, 210동 1703호 (공세동, 탑실마을대주피오레2단지아파트)</p> <p>조래현
경기도 수원시 영통구 청명남로4번길 21-4 혜성빌 102호 (영통동)</p> <p>(74) 대리인
손민</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 13 항

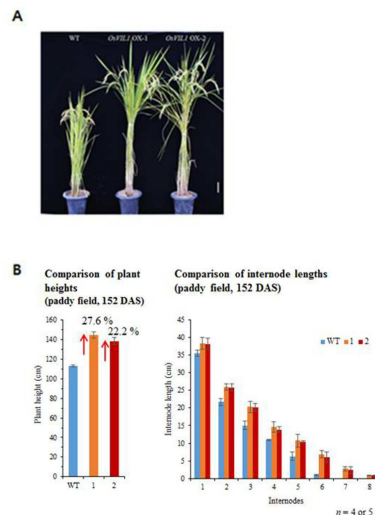
(54) 발명의 명칭 LOC_0s12g34850 유전자를 이용하여 식물체의 생산성을 증가시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 LOC_0s12g34850 유전자를 이용하여 식물체의 생산성을 증가시키는 방법에 관한 것으로, 구체적으로 상기 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는 식물체의 생산성 증가용 조성물, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법, 상기 제조방법에 의해 제조된 생산성이 증가된 형질전환 식물체, 및 식물체의 생산성을 증가시키거나 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진하는 방법에 관한 것이다.

LOC_0s12g34850 유전자의 발현 증가를 이용한 본 발명에 따른 식물체의 생산성 증가용 조성물, 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진용 조성물, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법 등은 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진하여 생산성을 증가시킬 수 있으므로, 식물체의 생산성, 수확량 증대 및 재배에 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

C12N 15/67 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ01108001

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 벼의 생산량 및 개화 시기 조절 유전자 발굴 및 육종소재 개발

연구과제명 벼의 생산량 및 개화 시기 조절 유전자 발굴 및 육종소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2017.01.01 ~ 2017.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_0s12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는, 식물체의 생산성 증가용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 mRNA는 서열번호 2로 표시되는 염기서열로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 단백질은 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제제는 상기 LOC_0s12g34850 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터인 것인, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 cDNA는 서열번호 4로 표시되는 염기서열로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 식물체는 벼(*Oryza Sativa*)인 것인, 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 생산성 증가는 식물체의 신장, 줄기 및 이삭 가지 발달에 의한 것인, 조성물.

청구항 8

서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_0s12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 단계는 제1항의 조성물을 식물체에 도입하여 수행하는 것인, 제조방법.

청구항 10

제8항의 제조방법에 의해 제조된 생산성이 증가된, 형질전환 식물체.

청구항 11

서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_0s12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 식물체의 생산성을 증가시키는 방법.

청구항 12

서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_0s12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진용 조성물.

청구항 13

서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_0s12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진시키는 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 LOC_Os12g34850 유전자를 이용하여 식물체의 생산성을 증가시키는 방법에 관한 것으로, 구체적으로 상기 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는 식물체의 생산성 증가용 조성물, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법, 상기 제조방법에 의해 제조된 생산성이 증가된 형질전환 식물체, 및 식물체의 생산성을 증가시키거나 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 벼는 옥수수, 보리, 밀과 함께 전 세계적으로도 주요한 식량 자원임에 따라, 이의 생산성을 증대시키기 위한 관련 연구가 계속해서 진행되어 왔다. 그러나, 생산 지역에 따라 기후가 전혀 다르고, 지구 온난화 등의 등의 환경 변화가 급격히 이루어지고 있어, 더 높은 생산성을 갖도록 하기 위하여 품종 개량에 대한 지속적인 연구와 개발 등은 여전히 필요하다. 이에, 기존에 사용하던 육종 방법과 더불어, 유용한 유전자의 기능을 분석하고 이를 도입 또는 결실시킴으로써 재배 환경에 더 적합한 벼 품종을 개발하는 연구가 꾸준히 수행되고 있다.
- [0004] 한편, 벼의 수량 증대를 위해서는 종자(날알)의 수의 증대와 더불어 종자를 많이 맺기 위한 알맞은 식물 형태를 가져야한다. 이를 위해서 벼의 전체적인 바이오매스 증가 및 신장 길이, 줄기 두께, 가지의 수 등이 중요한 지표 형질이 된다. 그러나, 돌연변이체를 이용한 연구들에서는 상기의 다양한 형질 중 일부만 증가되는 경우가 많았고, 상기의 형질이 모두 발달되는 경우는 극히 드물어 식물 형태를 전반적으로 발달시키는 유전자의 발굴 및 응용 연구는 여전히 부족한 실정이다.
- [0005] 따라서, 유용 유전자를 이용하여 벼의 생산성, 수량성 등을 증가시키는 방법은 식물의 병 저항성, 스트레스 내성 등을 증가시키는 방향으로 진행되어 왔으며, 그 예로 식물 병 저항성을 증가시키는 BrCP3 유전자를 이용하여 벼의 생산성을 증가시키는 방법(한국 등록특허공보 제10-1754804호), 염 스트레스 내성을 가지는 벼 유래 유전자를 이용하여 벼의 생산성을 증가시키는 방법(한국 등록특허공보 제10-1642795호) 등이 개발된바 있다.
- [0006] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 벼 등의 식물체의 형태를 종합적으로 발달시켜 생산성을 증가시킬 수 있는 방법을 개발하고자 예의 노력 연구한 결과, LOC_Os12g34850 유전자가 벼의 신장, 줄기 및 이삭 가지 발달을 조절하는 기능을 나타내며, 상기 유전자의 발현이 증가된 형질전환 벼의 경우 신장 길이가 증가하고 줄기의 두께가 증가하며 이삭 가지의 수가 증가하여 결국 종자의 수가 증가함으로써 결국 생산성이 증가될 수 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 하나의 목적은 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는, 식물체의 생산성 증가용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 다른 하나의 목적은 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 제조방법에 의해 제조된 생산성이 증가된, 형질전환 식물체를 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 식물체의 생산성을 증가시키는 방법을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA

또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진시키는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 하나의 양태는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는, 식물체의 생산성 증가용 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명에서는, LOC_Os12g34850 유전자는 벼의 신장 길이, 줄기 두께, 이삭 가지의 수 발달을 조절하는 기능을 나타냄을 확인하였고, 식물체에서 상기 유전자를 과발현시키는 경우 신장 길이가 증가하고 줄기 두께가 증가하며 이삭 가지의 수가 증가하고 종자의 수가 증가하므로 결국 생산성이 증가됨을 확인하였다.
- [0017] 본 발명의 용어, "LOC_Os12g34850 유전자"는 피브로넥틴 유형 도메인 포함 단백질(Fibronectin type domain containing protein)을 암호화하고 있는 유전자를 의미한다. 상기 유전자의 게놈 DNA 크기는 4,365 bp이고, 암호화 서열(coding sequence, CDS)의 크기는 2,124 bp로 707개 아미노산으로 번역되어 상기 단백질이 만들어진다. 상기 유전자는 OsVIL1로도 불리며 벼의 개화 시기를 조절하는 기능을 나타낸다는 것이 공지된바 있다. 그러나, 상기 유전자의 식물체의 신장, 줄기, 이삭 가지 발달 조절 기능, 또는 생산성 조절 기능에 대해서는 전혀 알려진바 없다.
- [0018] 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0019] 본 발명의 용어, "LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제"는 상기 유전자의 mRNA 또는 단백질의 발현을 증가시킬 수 있는 제제로서, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 향상시켜 생산성을 높이는 제제라면 어느 것이든 제한 없이 이용될 수 있으며, 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있고, 구체적으로 저분자 화합물, 유기합성물질, 천연물질 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 보다 구체적으로 상기 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터일 수 있다. 이때, 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 것은 유전자의 발현 또는 발현 수준을 증가시키는 것을 의미할 수 있고, 또한 유전자를 활성화시키는 것을 의미할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 용어, "cDNA"(complementary DNA)는 mRNA를 주형으로 역전사효소와 DNA 중합효소에 의하여 합성된 DNA를 의미한다. cDNA는 번역에 필요한 엑손으로만 구성되어 있으므로, 한 세포의 유전자를 다른 세포로 옮겨 새로운 유전 물질을 단백질로 발현시키고자 할 때 주로 사용된다. 구체적으로, 본 발명의 cDNA는 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA를 주형으로 합성된 DNA일 수 있고, LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 및 이에 따른 단백질 발현을 증가시키는데 사용될 수 있다. 더욱 구체적으로, 상기 cDNA는 서열번호 4로 표시되는 염기서열로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명의 용어, "재조합 벡터"는 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA가 식물체에 삽입 또는 도입될 수 있는, 당분야에 공지된 플라스미드(plasmid), 바이러스 또는 기타 매개체를 의미한다.
- [0022] 상기 cDNA는 재조합 벡터의 발현 조절 서열에 작동 가능하게 연결될 수 있으며, 상기 작동 가능하게 연결된 유전자 서열과 발현 조절 서열은 선발마커 및 복제 개시점(replication origin)을 같이 포함하고 있는 하나의 재조합 발현벡터 내에 포함될 수 있다. 상기 용어, "작동 가능하게 연결(operably linked)"된다는 것은 적절한 분자가 발현 조절 서열에 결합될 때 유전자 발현을 가능하게 하는 방식으로 연결되는 것을 의미한다. 또한, 상기 용어, "발현 조절 서열(expression control sequence)"은 특정한 숙주 세포에서 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오타이드 서열의 발현을 조절하는 DNA 서열을 의미한다. 상기 조절 서열은 전사를 실시하기 위한 프로모터, 전사를 조절하기 위한 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 코딩하는 서열 및 전사 및 해독의 종결을 조절하는 서열을 포함할 수 있다.
- [0023] 상기 재조합 벡터는 상기 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터라면 이에 제한되지 않지만, 구체적으로 pCAMBIA계열, pGA계열, pGWB계열, 더욱 구체적인 예로 pGA3383, pCAMBIA3301, pCAMBIA3300, pGA3426, pGA3780, pGWB12, pGWB14 등의 Ti-플라스미드 및 이에 파생된 벡터로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.
- [0024] 본 발명에서, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA는 서열번호 2로 표시되는 염기서열로 이루어진 것일 수 있는

며, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 단백질은 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있다.

- [0025] 본 발명에서 이용되는 서열은, 생물학적으로 균등 활성을 갖는 변이를 고려한다면, 서열목록에 기재된 서열과 실질적인 동일성(substantial identity)을 나타내는 서열도 포함하는 것으로 해석된다. 상기 용어, "실질적인 동일성"은 본 발명의 서열과 임의의 다른 서열을 최대한 대응되도록 얼라인(align)하고, 당업계에서 통상적으로 이용되는 알고리즘을 이용하여 얼라인된 서열을 분석한 경우에, 최소 60%의 상동성, 더욱 구체적으로 70%의 상동성, 더더욱 구체적으로 80%의 상동성, 가장 구체적으로 90%의 상동성을 나타내는 서열을 의미한다.
- [0026] 따라서, 본 발명에 따른 서열번호 1 내지 4로 표시되는 서열과 높은 상동성을 갖는 서열, 예를 들면 그 상동성이 70% 이상, 구체적으로 80% 이상, 더욱 구체적으로 90% 이상의 높은 상동성을 갖는 서열도 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.
- [0027] 본 발명에서, 생산성 증가는 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지의 발달에 의하여 달성되는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 용어, "생산성"은 수확성 또는 수량성을 의미하며, 생산 가능한 수량, 작물의 생산 능력 등을 의미한다.
- [0029] 본 발명의 용어, "신장", "줄기" 및 "이삭 가지"는 벼의 성장 정도를 나타내는 파라미터(parameter)로서, 상기 성장 파라미터인 신장, 줄기 또는 이삭 가지가 발달함에 따라 식물체의 생장이 증가하고, 이에 따라 종자(날알, 이삭)의 수가 증가하므로, 결국 식물체의 수확량 및 생산성이 증가한다.
- [0030] 구체적으로, 본 발명의 LOC_Os12g34850 유전자는 신장, 줄기 또는 이삭 가지의 발달을 조절하는 기능을 가지며, 상기 유전자의 발현 수준이 증가하는 경우 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달이 증가할 수 있다. 상기 신장, 줄기 또는 이삭 가지가 골고루 모두 발달하여 신장 길이가 증가하고 줄기 두께가 두꺼워지고 이삭 가지의 수가 증가하는 경우에 종자를 많이 맺을 수 있다. 이때, 상기 종자는 날알 또는 이삭으로도 불리는데, 벼, 보리 따위의 곡식의 열매로서 곡식의 생산성을 나타내는 주요한 지표이므로, 종자의 수가 증가하는 경우에는 식물체의 생산성이 증가하는 것으로 간주한다.
- [0031] 본 발명에서, 상기 식물체는 벼(*Oryza Sativa*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0032] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA가 삽입된 형질전환 벼는 야생형 벼에 비하여, 신장의 길이, 줄기의 두께, 이삭 가지의 수가 증가하며, 나아가 종자의 수가 증가함을 확인하였다(도 3 내지 5).
- [0033] 이는, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 발현이 증가되는 경우 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지가 발달하여 결국 종자의 수가 증가하므로, 상기 유전자의 발현을 증가시키는 제제를 포함하는 본 발명의 조성물은 식물체의 생산성 증가 용도로 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0034] 다른 하나의 양태는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법을 제공한다.
- [0035] 이때, 상기 "LOC_Os12g34850 유전자" 및 "생산성"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.
- [0036] 상기 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 방법은 당업계의 공지된 임의의 방법으로 수행될 수 있고, 이러한 방법의 비제한적인 예로는 상기 유전자의 세포 내 카피수 증가, 유전자 도입, 유전자 발현 조절 서열에 변이를 도입하거나, 활성이 강력한 서열로 교체하는 방법 등이 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 본 발명에서, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계는 본 발명의 식물체의 생산성 증가용 조성물을 식물체에 도입하여 수행되는 것일 수 있으며, 구체적으로 LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터가 식물체에 도입되는 것일 수 있다.
- [0038] 상기 도입은 형질전환과 동일한 의미로 사용될 수 있는데, 상기 도입 또는 형질전환은 당업계에 알려진 임의의 방법을 통해 수행될 수 있다. 구체적인 예로, 원형질체에 대한 칼슘/폴리에틸렌 글리콜 방법, 원형질체의 전기천공법, 식물 요소로의 현미주사법, 각종 식물 요소의(DNA 또는 RNA-코팅된) 입자 충격법, 식물의 침윤 또는 성숙 화분 또는 소포자의 형질전환에 의한 아그로박테리움 투메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*) 매개된 유전자 전이에서(비완전성) 바이러스에 의한 감염 등이 수행될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 일 실시예에서는, LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA를 pGA3426 벡터에 연결하여 재조합 벡터를 제작하였고, 상기 재조합 벡터를 아그로박테리움 균주에 형질전환시킨 후, 상기 균주를 식물체를 형질전환시킴으로써 상

기 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터를 식물체에 도입하였다(제조예 1 및 도 1). 또한, 상기 형질전환 식물체는 LOC_Os12g34850 유전자의 발현이 증가되어, 뿌리, 줄기 또는 이삭 가지 발달이 증가됨으로써 종자의 수가 증가함을 확인하였다(도 2 내지 5).

- [0040] 이는, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 발현을 증가시키면 생산성이 증가된 형질전환 식물체를 제조할 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0041] 또 다른 하나의 양태는 상기 제조방법에 의해 제조된 생산성이 증가된, 형질전환 식물체를 제공한다.
- [0042] 이때, 상기 "생산성"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.
- [0043] 본 발명에서, 상기 형질전환 식물체는 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 발현이 증가되어 생산성이 증가된 식물체일 수 있다.
- [0044] 구체적으로, 상기 식물체는 벼(*Oryza Sativa*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0045] 본 발명의 일 실시예에서는, LOC_Os12g34850의 cDNA가 삽입되어 LOC_Os12g34850 유전자의 발현이 증가된 형질전환 벼를 제작하였고, 상기 벼는 야생형 벼보다 신장의 길이, 줄기의 두께, 이삭 가지의 수가 증가함으로써 종자의 수가 증가하여 결국 생산성이 증가됨을 확인하였다(도 1 내지 5).
- [0046] 이는, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 본 발명의 방법을 이용하면 생산성이 증가된 형질전환 식물체를 제조할 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0047] 또 다른 하나의 양태는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 식물체의 생산성을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0048] 이때, 상기 "LOC_Os12g34850 유전자" 및 "생산성"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.
- [0049] 본 발명에서, 상기 식물체의 생산성 증가는 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지가 발달하여 달성되는 것일 수 있고, 상기 신장, 줄기 또는 이삭 가지의 발달은 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 발현이 증가되어 달성되는 것일 수 있다.
- [0050] 구체적으로, 상기 식물체는 벼(*Oryza Sativa*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0051] 본 발명에서, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계는 본 발명의 식물체의 생산성 증가용 조성물을 식물체에 도입하여 수행되는 것일 수 있으며, 구체적으로 LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터가 식물체에 도입되는 것일 수 있다. 이때, 상기 도입은 형질전환과 동일한 의미로 사용될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 일 실시예에서는, LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA가 삽입되어 LOC_Os12g34850 유전자의 발현이 증가된 형질전환 벼를 제작하였고, 상기 벼는 야생형 벼보다 신장의 길이, 줄기의 두께, 이삭 가지의 수가 증가하며, 종자의 수가 증가하여 결국 생산성이 증가됨을 확인하였다(도 1 내지 5).
- [0053] 이는, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 본 발명의 방법을 이용하면 식물체의 생산성을 증가시킬 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0054] 또 다른 하나의 양태는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제를 포함하는, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진용 조성물을 제공한다.
- [0055] 이때, 상기 "LOC_Os12g34850 유전자" 및 "LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 제제"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.
- [0056] 본 발명의 용어, "신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달"은 식물체의 신장의 길이, 줄기의 두께, 이삭 가지의 수 등이 증가하는 것을 의미한다. 식물체의 신장이 증가하고, 줄기의 두께가 증가하고, 이삭 가지의 수가 증가하는 것은 종자를 많이 맺는 식물이 갖추고 있는 형태이므로, 상기 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달은 식물체의 생산성 증가를 의미하는 것일 수 있다.
- [0057] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, LOC_Os12g34850 유전자가 과발현된 형질전환 벼는 야생형 벼에 비하여, 신장의 길이, 줄기의 두께, 이삭 가지의 수가 증가함을 확인하였다(도 3 내지 5).
- [0058] 이는, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 발현을 증가시키는 제제를 포함하는 본 발명의 조성물은 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진 용도로 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.

- [0059] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계를 포함하는, 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진시키는 방법을 제공하는 것이다.
- [0060] 이때, 상기 "LOC_Os12g34850 유전자" 및 "신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.
- [0061] 본 발명에서, 상기 식물체의 뿌리 발달은 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 발현이 증가되어 달성되는 것일 수 있다.
- [0062] 구체적으로, 상기 식물체는 벼(*Oryza Sativa*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0063] 본 발명에서, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 mRNA 또는 단백질 수준을 증가시키는 단계는 본 발명의 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진용 조성물을 식물체에 도입하여 수행되는 것일 수 있으며, 구체적으로 LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA를 포함하는 재조합 벡터가 식물체에 도입되는 것일 수 있다. 이때, 상기 도입은 형질전환과 동일한 의미로 사용될 수 있다.
- [0064] 본 발명의 일 실시예에서는, LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA가 삽입되어 LOC_Os12g34850 유전자의 발현이 증가된 형질전환 벼를 제작하였고, 상기 벼는 야생형 벼보다 신장의 길이, 줄기의 두께, 및 이삭 가지의 수가 증가함을 확인하였다(도 1 내지 4).
- [0065] 이는, 상기 LOC_Os12g34850 유전자의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 본 발명의 방법을 이용하면 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진시킬 수 있음을 시사하는 것이다.

발명의 효과

- [0067] LOC_Os12g34850 유전자의 발현 증가를 이용한 본 발명에 따른 식물체의 생산성 증가용 조성물, 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달 촉진용 조성물, 생산성이 증가된 형질전환 식물체의 제조방법 등은 식물체의 신장, 줄기 또는 이삭 가지 발달을 촉진하여 생산성을 증가시킬 수 있으므로, 식물체의 생산성, 수확량 증대 및 재배에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0069] 도 1은 LOC_Os12g34850 유전자가 과발현된 형질전환 벼의 제조에 사용한 식물발현용 재조합 벡터에 관한 것으로, A는 상기 유전자의 cDNA 주형을 보여주는 모식도, 및 B는 상기 유전자를 포함하는 재조합 벡터의 다이어그램이다.
- 도 2는 상기 형질전환 벼(OX-1 또는 OX-2)에서 상기 유전자의 발현양을 보여주는 그래프이다.
- 도 3은 상기 형질전환 벼(OX-1 또는 OX-2)의 신장 길이 증가 효과에 관한 것으로, A는 야생형 벼(WT) 및 상기 형질전환 벼의 신장 길이를 비교한 이미지, 및 B는 신장 길이 및 절간 길이를 비교한 그래프이다.
- 도 4는 상기 형질전환 벼(OX-1 또는 OX-2)의 줄기 두께 증가 효과에 관한 것으로, A는 야생형 벼(WT) 및 상기 형질전환 벼의 줄기 두께를 비교한 이미지, 및 B는 절간 별 줄기 두께를 비교한 그래프이다.
- 도 5는 상기 형질전환 벼(OX-1 또는 OX-2)의 이삭 가지(branch) 및 종자(spikelet) 수 증가 효과에 관한 것으로, A는 종자 등숙 단계에서 야생형 벼(WT) 및 상기 형질전환 벼의 원추꽃차례(panicle) 수형을 비교한 이미지, B는 원추꽃차례 길이를 비교한 그래프, C는 이삭 가지 수를 비교한 그래프, 및 D는 종자 수를 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0070] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

- [0072] **제조예 1. LOC_Os12g34850 유전자가 과발현된 형질전환 벼의 제조방법**

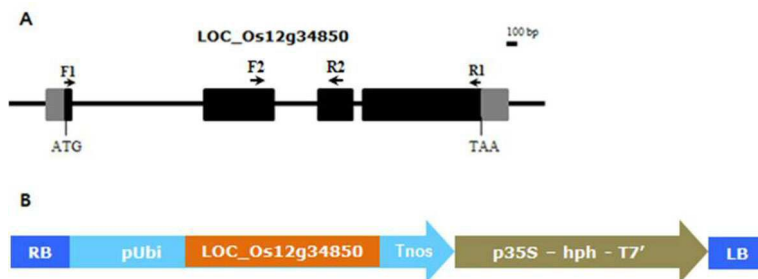
- [0073] 먼저, LOC_Os12g34850 유전자가 과발현된 형질전환 벼를 제조하기 위하여, 상기 유전자를 포함하는 식물발현용 재조합 벡터를 제조하였다.
- [0074] LOC_Os12g34850 유전자를 클로닝하기 위하여, 도 1의 A에 나타난 것과 같은 cDNA(20 ng)를 주형으로 아래와 같은 서열번호 5 및 6의 프라이머(10 pmol)를 이용하여 PCR을 수행하였다.
- [0075] LOC_Os12g34850_OX_BsiWI_F: 5'-CGTACGCTTCTGCTGCTGCTGGGATG-3' (서열번호 5)
- [0076] LOC_Os12g34850_OX_SpeI_R: 5'-ACTAGTTTAGTGCCATAACTTACTGC-3' (서열번호 6)
- [0077] PCR은 95℃에서 5분 후, 95℃에서 30초, 57℃에서 20초 및 72℃에서 5분을 40회 반복하고, 마지막으로 72℃에서 10분을 진행하였다. PCR 산물은 아가로스 겔을 사용하여 전기영동하고 정적크기의 사이즈 확인한 후 분리 동정하여, pGEM-T 벡터(sub-cloning용 벡터)에 클로닝하여 염기서열을 해독하였다.
- [0078] 이후, 클로닝한 상기 DNA, 즉 LOC_Os12g34850 유전자의 cDNA를 제한효소 BsiWI과 Spe I으로 절단한 후, 동일한 제한효소로 절단된 pGA3426 벡터(과발현용 벡터)와 라이게이션(ligation, 14℃, 12시간)하였다. 상기 라이게이션 산물을 Top10 대장균 컴피턴트 세포(E.coli competent cell) 100 μ l과 혼합하여 1.5 ml 튜브에 옮긴 다음 얼음에 15분 방치하였고, 37℃ 오븐에 1분 동안 다시 방치한 후 1 ml의 LB 액체 배지를 추가로 튜브에 넣은 다음 1시간 동안 37℃ 진탕 배양기에 방치하였다. 이어서, 앰피실린(ampicillin) 저항성 LB 고체 배지에 도말하고 12 시간을 기다려 생성되는 콜로니를 1mL의 LB 액체 배지에서 세포 배양 후 미니프랩(mini-prep)하였으며, 미니프랩으로 얻은 상기 DNA를 제한 효소 BsiWI과 Spe I을 사용하여 절단한 후 전기영동에서 아가로스 겔 전기영동으로 분리하여 밴드를 확인하였다. 얻어진 클로닝 DNA를 다시 염기서열 분석하여 에러가 발생하지 않은 DNA를 선택하였다. 상술한 방법으로 만들어진 식물발현용 재조합 벡터의 다이어그램은 도 1의 B에 나타내었고, 이를 LOC_Os12g34850 과발현 식물체 제조를 위해 사용하였다.
- [0079] 이후, 벼의 캘러스를 유도하기 위하여, N6D 고체 배지에서 동진벼 종자를 10일 정도 28℃ 배양기에서 빛 조건으로 키웠다. 생성된 캘러스를 상기 식물발현용 재조합 벡터로 형질전환된 아그로박테리움(Agrobacterium)과 혼합하였고, N6D-아세트시리곤(N6D-Acetosyringone)을 포함한 배지에서 22℃ 암처리 생장실에 72시간 동안 방치하였다. 아그로박테리움과 공동배양된 상기 캘러스를 세포탁심(cefotaxime)이 첨가된 3차 증류수로 깨끗이 10번 정도 행구어 낸 다음 N6D 고체 배지에서 하이그로마이신(hygromycin) 선발을 1차(hygromycin 30 mg/L) 및 2차(hygromycin 50 mg/L)에 걸쳐서 계대 배양을 통해 진행하였다. 선발은 28℃ 생장실에서 각각 2주 씩 합해서 4주 동안 수행하였다. 분열된 캘러스를 재분화 배지인 MSR(hygromycin 40 mg/L) 고체배지에 옮겨 4주 28℃ 광조건 생장실에서 재분화를 유도한 후, MS 고체 배지로 옮기고 7일 28℃ 광조건 생장실에서 키우고 온실로 옮겨서 형질전환 벼 식물체를 키웠다.
- [0080] 마지막으로, 상기 제조한 형질전환 벼 식물체에서 LOC_Os12g34850 유전자의 발현이 과발현되는지 확인하기 위하여, 상기 식물체에서 토탈 RNA를 분리하고 cDNA를 합성하여 정량적 실시간(quantitative real-time) RT-PCR을 수행하였다. 이때, 상기 RT-PCR에는 하기와 같은 프라이머를 사용하였다.
- [0081] LOC_Os12g34850_qRT_F : 5'-GGTGACAGGGATTGCTGTGA-3' (서열번호 7)
- [0082] LOC_Os12g34850_qRT_R : 5'-AAACGCGTTGTGCCATCCAA-3' (서열번호 8)
- [0083] 그 결과, 도 2에서 볼 수 있듯이, 야행성 대조군에 비하여 상기 형질전환 식물체(OX1 또는 OX2)는 LOC_Os12g34850 유전자의 전사체 양이 약 5 내지 6배 증가한 것을 확인하였다.
- [0084] 상기 결과를 통해, 상기의 방법으로 제조한 형질전환 벼는 LOC_Os12g34850 유전자가 과발현됨을 알 수 있었다.
- [0086] **실시예 1. LOC_Os12g34850 유전자가 과발현된 형질전환 벼의 수량성 증대 효과 확인**
- [0087] 상기 실시예 1을 통해 제작한 LOC_Os12g34850 유전자가 과발현된 형질전환 벼의 수량성 증대 특성을 확인하기 위하여, 이의 형질(신장 길이, 줄기 두께, 가지 수 및 종자 수)을 자세히 조사하였다.
- [0088] 먼저, 상기 형질전환 벼(OX1 또는 OX2)의 신장 길이는 식물체의 줄기 끝부터 이삭 끝까지를 측정함으로써 확인하였다.
- [0089] 그 결과, 도 3의 A 및 B에서 볼 수 있듯이, 상기 형질전환 벼는 대조군에 비하여 신장 길이가 각각 27.2% 및 22.2% 증가된 것을 확인하였다. 또한, 신장 길이의 증가는 절간(internode) 각각의 길이 증가에 기인한 것임을

확인하였다.

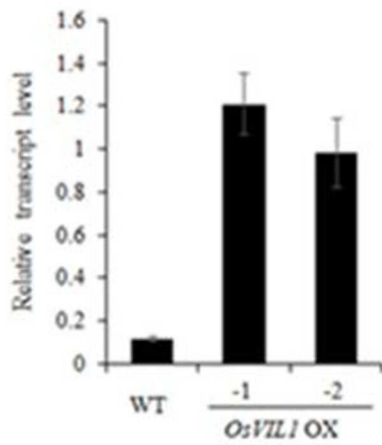
- [0090] 나아가, 상기 형질전환 벼(OX1 또는 OX2)의 줄기 두께는 각 절간의 마디 위 4cm 위치에서 버니어캘리퍼를 이용하여 측정하였다.
- [0091] 그 결과, 도 4의 A 및 B에서 볼 수 있듯이, 상기 형질전환 벼는 대조군에 비하여 절간의 두께가 두꺼워지며, 이는 모든 절간에서 나타나는 효과임을 확인하였다.
- [0092] 마지막으로, 상기 형질전환 벼(OX1 및 OX2)의 가지 수 및 종자(이삭) 수를 확인하였다.
- [0093] 그 결과, 도 5의 A 및 B에서 볼 수 있듯이, 상기 형질전환 벼는 대조군과 비교 시 원추꽃차례(panicle)의 수형이 동일하나, 이의 길이는 각각 12.2% 및 8.5% 증가함을 확인하였다.
- [0094] 또한, 도 5의 C에서 볼 수 있듯이, 상기 형질전환 벼는 1차 및 2차 이삭 가지의 수가 증가하며, 특히 2차 이삭 가지의 수가 더욱 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.
- [0095] 나아가, 도 5의 D에서 볼 수 있듯이, 상기 형질전환 벼는 이삭 가지의 수가 증가함에 따라 이삭의 전체 종자 수도 증가하는 것을 확인하였다.
- [0096] 상기 결과를 통해, LOC_Os12g34850 유전자는 벼의 수량을 증가시키는 요소 중의 하나인 신장 길이, 줄기 두께, 이삭 가지의 수를 조절하는 역할을 수행할 뿐만 아니라 직접적으로 종자의 수를 증가시켜 전체적인 벼의 수량을 증대시킬 수 있음을 알 수 있었고, 상기 유전자가 과발현된 형질전환 벼는 신장 길이가 증가하고 줄기 두께가 두꺼워지며 이삭 가지의 수가 증가하여 종자의 수가 증가하는, 생산성이 증대되는 효과를 나타냄을 알 수 있었다.
- [0098] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1

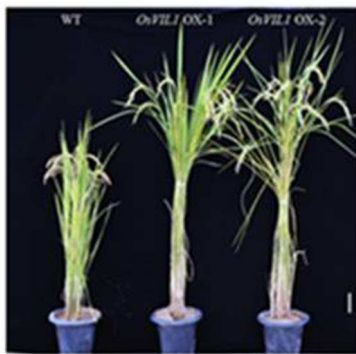


도면2

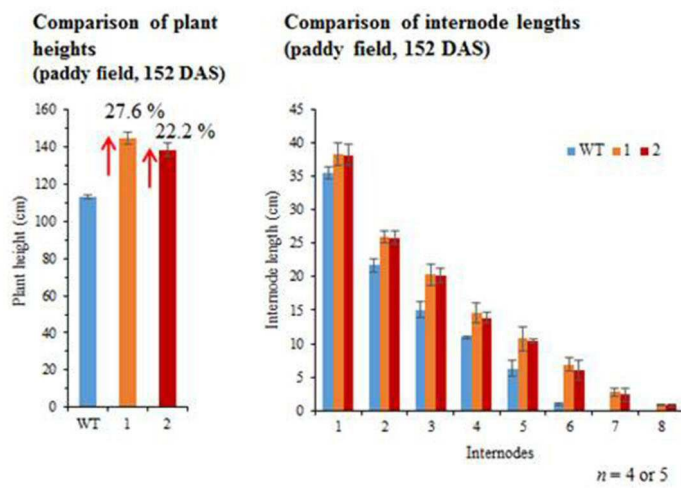


도면3

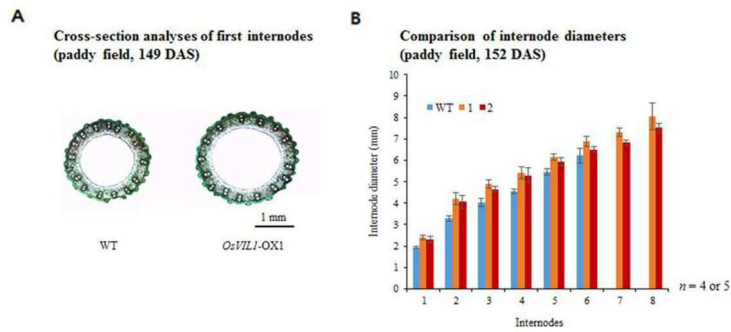
A



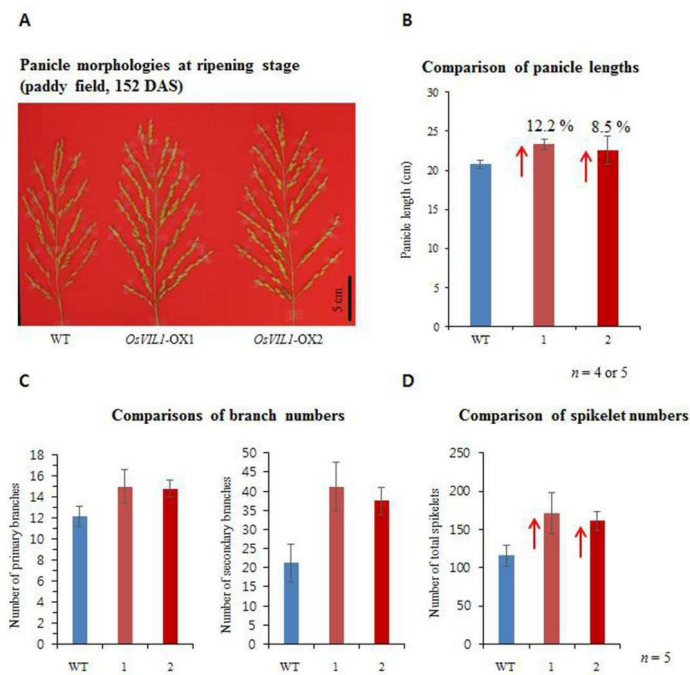
B



도면4



도면5



서열목록

- <110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
- <120> A method for increasing plant productivity using LOC_Os12g34850 gene
- <130> KPA170953-KR
- <160> 8
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 4365
- <212> DNA
- <213> Oryza sativa

<400> 1

gttcttttct tcttttcatt gcaaaaggag taaaagcggc agcagcagaa aaaccccttc	60
ttgccccgc cctccgccgc cgccgccgc gagagagcgg ccgtccgccg tctccctctc	120
gcccgtgggc gtcagacggc ggccggaggcg gccccccctc cttctgctgc tgctgggatg	180
gcctcgagcg ccggagggga cccgccgccg ccggggctct tcgtgctgg tgagacccta	240
agctactaaa gcttgctgct tcgattcttt cttattatc taattattat tattattctg	300
ctccatccat ccatccgaga tccatggatc gatccagttc ttcttctcc tctctctctt	360
attcccatg cgatgcgatg gcaacagcta gcctgtgtcc ttattatagg tagtagtact	420
agtatttctg ctttcttggg agctgttgcg ctgctgaaaa tgataaatca tttcagccaa	480
ggcgcttta cacttgattt gatctttttt ttttttttgg gggggggggg gggaagcgtg	540
taaacacatt gatgtacaat tcattctagg ttggtagggt aatggttggg ttggagtcaa	600
atttgtgaa tcctttttga ttccaacagt atgaactcat atccagttgg tcgatcgtgg	660
tacttacaag ggttgcgcag atagatatag gtgtgcaagg atatagcgt ttgtaggatg	720
atacaccggt ggcatattag tttctgattg tagtggaaat cggcgaatct tgcctcaaag	780
aagaaagcat cattggagtt agagtgcaaa agactattgg gggttgagca gctgagtcac	840
gcaatgtctt ggggtatcat attgtggaat atgtatgcat ctttgatga gactattggt	900
tcgttggagc atcatcaagc attcaagcta ctgcatttcc ctttcttgat ggggtcatgt	960
agagaactat tccctcatgg cctaaattct gtctgattaa cagtacttgt ttaacttggg	1020
gccactttgg attgatgcca aaatgtgcca tgccaatttt tttggtagtt tgaatagtaa	1080
atatgatggt ttggtttgaa gccaaatgga tggtaatgcc catccttaat ttggtataat	1140
tctagaactt cactataata taaaatctgg ctcccaattg gtatcaatcc aaacacatta	1200
tttaaaattc taccctacca aattattggt agtgccaaaa catgcctagg ttttggcact	1260
accaatattt tggatgcca ctaaaccaaa caagcctttg gttttgtgtg caaatgatag	1320
gctttcgaag tacttagtgc tttcttaaata gtgtgatggt ttcttgtgt ggctacaatc	1380
tgaacctgaa ctatgttctt gttgatgatt actatgttct tgttgatgat tcaggttgtt	1440
catgtccata ctaatgaacc tttttgtgtt tttgtctctt gccatgccag ctttacacgc	1500
ttgtagtggg gcaagcgcac ttgaagaaca tatacatgct gatgatagca acaccatttc	1560
agataatacc ctggaacagt tgggttttct agaccaagag tcaaatgatg caagcgttaa	1620
cacagaaaag atacaatcaa gcacacaaaa atgcaaatca gtggaagaca taccaatagc	1680
accagctgca aagagatgta agaacatgga ttccaagaaa cttgtcccaa acagcaataa	1740
caattcatgt ctactggta gccaggctcc cagaaagctt ccagaaaagg gggactaccc	1800

tggtcaacta cgicggaatg aaacatttca ggatacaaag cctcccagca ctgggatatg	1860
taaaaatgcg gccigcaaag ctgtgttgac cgctgacaat acattctgta agcgggtgctc	1920
atgctgtatt tgtcatcttt tcgatgacaa caaagatcct agcctttggc tggctctgctc	1980
atcggaact ggigacaggg attgctgtga gtcacgtgc cacattgaat gcgcactcca	2040
gcacagaag gtaggatgcg tcgatcttgg tcaatctatt cagctcgatg gtaattattg	2100
ctgtgctgca tgcggaagg ttattggaat acttgggtga gtggttctgc atctagctat	2160
ctacctaat atcctaattt tctttatgta aatattccta ggacacttg ctttaagcat	2220
tcatgctacg tgatgactta tgcctagaga attgttgatt ttatcagttg atgctagatt	2280
ttttaaaaca ttaatcctct cattagatag ctgatcctaa acccatgtgg ttaatttatt	2340
ttgcgtttca ttactttgtt tgggtattcc tcaatatgtg caaacctctt tgtactctaa	2400
atatccaagt tgaagcac atcagaaaga catgatagtt atttaaagca ccatgatgtg	2460
ttttaatggt taactaacag caacaataga gttatgttat gttgaatact catacatgtg	2520
tattttttcc atctgtattg gttaatttaa ggttcttttg aattatttga tgcaggttct	2580
ggaaaaggca gctgatggtt gctaaagatg ctggcggtgt tgatatectt tgttcccga	2640
tttacttgag ccatagacta ttggatggca caacgcgttt taaagaattt cataagattg	2700
tagaggatgc aaaagcaaag ctggaaactg aggttggccc ccttgatggt acatcttcaa	2760
agatggcccc tggcatgttt ggccggctgc ctgttgctgc tgatgtgcag aaactttgct	2820
ctttagcaat tgatatggca gatgcgtggc tgaagtcaaa ctgtaaagca gaaacaaaac	2880
aaattggtta tgatttcaaa cttttttaat gtaatttttt tacctatac tggatgaatgc	2940
aacatggaat taatagtgtt gttaatattt ttccatggtg cagatacact tcctgctgcc	3000
tgcagattta gatttgaaga tattacaact tcacatttag ttgtggtact gaaagaagct	3060
gcttcttcac agtatcatgc tatcaaaggc tataaactct ggtattggaa tagcagagaa	3120
cagccttcca ctagggtgcc tgcaattttc ccaaagacc aaagaaggat actggtttcc	3180
aatttgcagc cttgcacgga gtatgctttc cggatcattt catttactga gtatggtgat	3240
ctgggccact ctgaatgcaa gtgttttacc aagagcgtgg aaatcattca caagaacatg	3300
gaacatggtg cagaagggtg ctcatctact gccaaagcggg acagcaagag tcgaaatggc	3360
tggatcatcag gcttccaggt gcaccagctg ggtaaagtcc tgaggaaaagc ttgggctgag	3420
gagaatggtt gccccagtga ggcctgcaaa gatgagattg aagattcctg ctgtcaaagt	3480
gattcagctt tacacgataa ggatcaagct gcacatgttg tttccacga gcttgatctt	3540

aatgaatcct cagtcctga cctaaacgct gaggtggtga tgcctacaga gagcttcgga 3600
aacgagaata tatgtagtc aggaagaat ggattgagaa agtcgaatgg ttccagtcat 3660
tctgatattt gtgctgaggg gcttgttga gaggcaccgg ccatggaatc ccgatcacia 3720
agtcgtaaac agacatcaga tttagagcag gaaacttatt tagagcagga aactggtgct 3780
gatgatagca ctttgcctat cagccacccc aagcacttct cccgtaggtt aggtcagtta 3840
gatgataact acgaatactg cgtcaagggt atacgggtgt tggatgttc tggacacatc 3900
gaaaaggact ttaggatgaa atttctaact tggtttagct tgagatcgac ggagcaggaa 3960

cggagggttg tgatcacttt tatccgcacc cttgctgatg atcccagtag cttggcagga 4020
cagtcctgg attccttga agaaattgta tccagtaaga agccgagaac tggtttctgc 4080
agtaagttaa ggcactaatc cagccagggt aaagccgaaa tcgctatcgt atattcttgc 4140
aaggggaaaa gttgacgggg ccacaatttt ccgcttctgt gaaatactac ttttaactac 4200
tgataaatgt atatgtagtt tagttttgat gctgtgcttg gcgcccagcc agccattacc 4260
catgatgata tattggaact tgaatgtctg tatctggttt actgggaaat gaataccctt 4320
atcatagtta aaaatcatta ttttcttcc attataacaa gaaaa 4365

<210> 2
<211> 2528
<212> RNA
<213> Oryza sativa
<400> 2

gttcttttct tcttttcatt gcaaaaggag taaaagcggc agcagcagaa aaacccttc 60
ttgccccgc cctccgcgc cgccgcgcg gaggagccgg ccgtccgcg tctccctctc 120
gcccgtgggc gtcagacggc ggccgaggcg gcccccttc cttctgctgc tgcgtgggatg 180
gcctcgagcg ccggagggga cccgcgcgc ccggggctct tcgctgctgc cttacacgt 240
tgtagtggtg caagcgact tgaagaacat atacatgctg atgatagca caccatttca 300
gataataccc tggaacagtt gggttttcta gaccaagagt caaatgatgc aagcgtaac 360

acagaaaaga tacaatcaag cacacaaaa tgcaaatcag tggaagacat accaatagca 420
ccagtgcaa agagatgtaa gaacatggat tccaagaaac ttgtcccaa cagcaataac 480
aattcatgtc tcactggtag ccaggctccc agaaagcttc ccagaaagg ggactaccct 540
gttcaactac gtcggaatga aacatttcag gatacaaagc ctcccagcac ttggatatgt 600
aaaaatgcgg cctgcaaagc tgtgttgacc gctgacaata cattctgtaa gcggtgctca 660
tgctgtattt gtcacttttt cgatgacaac aaagatccta gcctttggct ggtctgctca 720

tcggaactg gtgacaggga ttgctgtgag tcatcgtgcc acattgaatg cgcactccag	780
catcagaagg taggatgcgt cgatcttggc caatctattc agctcgatgg taattattgc	840
tgtgctgcat gcggaagggt tattggaata cttgggttct ggaaaaggca gctgatggtt	900
gctaaagatg ctcgcggtgt tgatatacctt tgttcccgca tttacttgag ccatagacta	960
ttggatggca caacgcgttt taaagaattt cataagattg tagaggatgc aaaagcaaag	1020
ctggaactg aggttggccc ctttgatggt acatcttcaa agatggcccg tggcattgtt	1080
ggccggctgc ctgttgctgc tgatgtgcag aaactttgct ctttagcaat tgatatggca	1140
gatgcgtggc tgaagtcaaa ctgtaaagca gaaacaaaac aaattgatac acttcctgct	1200
gcctgcagat ttagatttga agatattaca acttcatcat tagttgtggt actgaaagaa	1260
gctgcttctt cacagtatca tgctatcaaa ggctataaac tctggtattg gaatagcaga	1320
gaacagcctt ccactagggg gcctgcaatt tccccaaag accaaagaag gatactggtt	1380
tccaatttgc agccttgcac ggagtatgct ttccggatca tttcatttac tgagtatggt	1440
gatctgggcc actctgaatg caagtgtttt accaagagcg tggaaatcat tcacaagaac	1500
atggaacatg gtgcagaagg ttgctcatct actgccaagc gggacagcaa gagtcgaaat	1560
ggctgggtcat caggcttcca ggtgcaccag ctgggtaaag tcctgaggaa agcttgggct	1620
gaggagaatg gttgccccag tgaggcctgc aaagatgaga ttgaagattc ctgctgtcaa	1680
agtgattcag ctttacagca taaggatcaa gctgcacatg ttgtttccca cgagcttgat	1740
cttaatgaat cctcagtcct tgacctaaac gctgaggtgg tgatgcctac agagagcttc	1800
cggaaagaga atatatgtag tccaggaaaag aatggattga gaaagtcgaa tgggtccagt	1860
gattctgata ttigtgctga ggggcttggt ggagaggcac cggccatgga atcccgatca	1920
caaagtcgta aacagacatc agatttagag caggaaactt atttagagca ggaaactggt	1980
gctgatgata gcactttgct catcagccca cccaagcact tctcccgtag gttaggtcag	2040
ttagatgata actacgaata ctgcgtcaag gttatacggg ggttggaatg ttctggacac	2100
atcgaaaagg acttttaggat gaaatttcta acttggttta gcttgagatc gacggagcag	2160
gaacggaggg ttgtgatcac ttttatccgc acccttgctg atgatcccag tagcttggca	2220
ggacagctcc tggattcctt cgaagaaatt gtatccagta agaagccgag aactggttcc	2280
tgcagtaagt tatggcacta atccagccag gtgaaagccg aaatcgctat cgtatattct	2340
tgcaagggga aaagttagcg gggccacaat tttccgcttt gctgaaatac tacttttaac	2400
tactgataaa tgtatatgta gtttagtttt gatgctgtgc ttggcgccca gccagccatt	2460

acccatgatg atatattgga acttgaatgt ctgtatctgg tttactggga aatgaataacc 2520
 cttatcat 2528
 <210> 3
 <211> 707
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa
 <400> 3
 Met Ala Ser Ser Ala Gly Gly Asp Pro Pro Pro Pro Gly Leu Phe Ala
 1 5 10 15
 Ala Ala Leu His Ala Cys Ser Gly Ala Ser Ala Leu Glu Glu His Ile
 20 25 30
 His Ala Asp Asp Ser Asn Thr Ile Ser Asp Asn Thr Leu Glu Gln Leu
 35 40 45
 Gly Phe Leu Asp Gln Glu Ser Asn Asp Ala Ser Val Asn Thr Glu Lys
 50 55 60
 Ile Gln Ser Ser Thr Pro Lys Cys Lys Ser Val Glu Asp Ile Pro Ile
 65 70 75 80
 Ala Pro Ala Ala Lys Arg Cys Lys Asn Met Asp Ser Lys Lys Leu Val
 85 90 95
 Pro Asn Ser Asn Asn Asn Ser Cys Leu Thr Gly Ser Gln Ala Pro Arg
 100 105 110
 Lys Leu Pro Arg Lys Gly Asp Tyr Pro Val Gln Leu Arg Arg Asn Glu
 115 120 125
 Thr Phe Gln Asp Thr Lys Pro Pro Ser Thr Trp Ile Cys Lys Asn Ala
 130 135 140
 Ala Cys Lys Ala Val Leu Thr Ala Asp Asn Thr Phe Cys Lys Arg Cys
 145 150 155 160
 Ser Cys Cys Ile Cys His Leu Phe Asp Asp Asn Lys Asp Pro Ser Leu
 165 170 175
 Trp Leu Val Cys Ser Ser Glu Thr Gly Asp Arg Asp Cys Cys Glu Ser
 180 185 190
 Ser Cys His Ile Glu Cys Ala Leu Gln His Gln Lys Val Gly Cys Val

195 200 205
 Asp Leu Gly Gln Ser Ile Gln Leu Asp Gly Asn Tyr Cys Cys Ala Ala
 210 215 220
 Cys Gly Lys Val Ile Gly Ile Leu Gly Phe Trp Lys Arg Gln Leu Met
 225 230 235 240
 Val Ala Lys Asp Ala Arg Arg Val Asp Ile Leu Cys Ser Arg Ile Tyr
 245 250 255

 Leu Ser His Arg Leu Leu Asp Gly Thr Thr Arg Phe Lys Glu Phe His
 260 265 270
 Lys Ile Val Glu Asp Ala Lys Ala Lys Leu Glu Thr Glu Val Gly Pro
 275 280 285
 Leu Asp Gly Thr Ser Ser Lys Met Ala Arg Gly Ile Val Gly Arg Leu
 290 295 300
 Pro Val Ala Ala Asp Val Gln Lys Leu Cys Ser Leu Ala Ile Asp Met
 305 310 315 320
 Ala Asp Ala Trp Leu Lys Ser Asn Cys Lys Ala Glu Thr Lys Gln Ile

 325 330 335
 Asp Thr Leu Pro Ala Ala Cys Arg Phe Arg Phe Glu Asp Ile Thr Thr
 340 345 350
 Ser Ser Leu Val Val Val Leu Lys Glu Ala Ala Ser Ser Gln Tyr His
 355 360 365
 Ala Ile Lys Gly Tyr Lys Leu Trp Tyr Trp Asn Ser Arg Glu Gln Pro
 370 375 380
 Ser Thr Arg Val Pro Ala Ile Phe Pro Lys Asp Gln Arg Arg Ile Leu
 385 390 395 400

 Val Ser Asn Leu Gln Pro Cys Thr Glu Tyr Ala Phe Arg Ile Ile Ser
 405 410 415
 Phe Thr Glu Tyr Gly Asp Leu Gly His Ser Glu Cys Lys Cys Phe Thr
 420 425 430
 Lys Ser Val Glu Ile Ile His Lys Asn Met Glu His Gly Ala Glu Gly
 435 440 445
 Cys Ser Ser Thr Ala Lys Arg Asp Ser Lys Ser Arg Asn Gly Trp Ser

450 455 460
 Ser Gly Phe Gln Val His Gln Leu Gly Lys Val Leu Arg Lys Ala Trp

 465 470 475 480
 Ala Glu Glu Asn Gly Cys Pro Ser Glu Ala Cys Lys Asp Glu Ile Glu

 485 490 495
 Asp Ser Cys Cys Gln Ser Asp Ser Ala Leu His Asp Lys Asp Gln Ala

 500 505 510
 Ala His Val Val Ser His Glu Leu Asp Leu Asn Glu Ser Ser Val Pro

 515 520 525
 Asp Leu Asn Ala Glu Val Val Met Pro Thr Glu Ser Phe Arg Asn Glu

 530 535 540

 Asn Ile Cys Ser Pro Gly Lys Asn Gly Leu Arg Lys Ser Asn Gly Ser
 545 550 555 560
 Ser Asp Ser Asp Ile Cys Ala Glu Gly Leu Val Gly Glu Ala Pro Ala

 565 570 575
 Met Glu Ser Arg Ser Gln Ser Arg Lys Gln Thr Ser Asp Leu Glu Gln

 580 585 590
 Glu Thr Tyr Leu Glu Gln Glu Thr Gly Ala Asp Asp Ser Thr Leu Leu

 595 600 605
 Ile Ser Pro Pro Lys His Phe Ser Arg Arg Leu Gly Gln Leu Asp Asp

 610 615 620
 Asn Tyr Glu Tyr Cys Val Lys Val Ile Arg Trp Leu Glu Cys Ser Gly
 625 630 635 640
 His Ile Glu Lys Asp Phe Arg Met Lys Phe Leu Thr Trp Phe Ser Leu

 645 650 655
 Arg Ser Thr Glu Gln Glu Arg Arg Val Val Ile Thr Phe Ile Arg Thr

 660 665 670
 Leu Ala Asp Asp Pro Ser Ser Leu Ala Gly Gln Leu Leu Asp Ser Phe

 675 680 685

 Glu Glu Ile Val Ser Ser Lys Lys Pro Arg Thr Gly Phe Cys Ser Lys
 690 695 700

Leu Trp His

705

<210> 4

<211> 2124

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<400> 4

atggcctcga gcgccggagg ggacccgccg ccgccggggc tcttcgctgc tgccttacac	60
gcttgtagtgt gtgcaagcgc acttgaagaa catatacatg ctgatgatag caacaccatt	120
tcagataata ccctggaaca gttgggtttt ctagaccaag agtcaaatga tgcaagcgtt	180
aacacagaaa agataacaatc aagcacacca aaatgcaaat cagtgggaaga cataccaata	240
gcaccagctg caaagagatg taagaacatg gattccaaga aacttgtccc aaacagcaat	300
aacaattcat gtctcactgg tagccaggct ccagaaagc ttcccagaaa gggggactac	360
cctgttcaac tacgtcgaa tgaaacattt caggatacaa agcctcccag cacttggata	420
tgtaaaaatg cggcctgcaa agctgtgttg accgtgaca atacattctg taagcgtgc	480
tcatgctgta tttgtcatct tttcgatgac aacaaagatc ctagcctttg gctggctgc	540
tcatcggaat ctggtgacag ggattgctgt gagtcacgt gccacattga atgcgcactc	600
cagcatcaga aggtaggatg cgtcgatctt ggtcaatcta ttcagctcga tggtaattat	660
tgctgtgctg catgcggaat ggattattga atacttgggt tctggaaaag gcagctgatg	720
gttgctaaag atgtcggcg tgttgataac ctttgttccc gcatttactt gagccataga	780
ctattggatg gcacaacgcg ttttaagaa ttccataaga ttgtagagga tgcaaaagca	840
aagctggaaa ctgaggttgg ccccttgat ggtacatctt caaagatggc ccgtggcatt	900
gttggccggc tgcctgttgc tgctgatgtg cagaaacttt gctctttagc aattgatatg	960
gcagatgcgt ggctgaagtc aaactgtaa gcagaaacaa aacaaattga tacacttcct	1020
gctgcctgca gatttagatt tgaagatatt acaacttcat cattagttgt ggtactgaaa	1080
gaagctgctt cttcacagta tcatgctatc aaaggctata aactctggta ttggaatagc	1140
agagaacagc cttccactag ggtgcctgca attttccca aagaccaaag aaggatactg	1200
gtttccaatt tgcagccttg cacggagtat gctttccgga tcatttcatt tactgagtat	1260
ggtgatctgg gccactctga atgcaagtgt ttaccaaga gcgtggaaat cattcacaag	1320
aacatggaac atggtgcaga aggttgctca tctactgcca agcgggacag caagagtcga	1380
aatggctggt catcaggctt ccagggtcac cagctgggta aagtcctgag gaaagcttgg	1440

gctgaggaga atggttgccc cagtgaggcc tgcaaagatg agattgaaga ttcctgctgt 1500

caaagtgatt cagctttaca cgataaggat caagctgcac atgttgtttc ccacgagctt 1560

gatcttaatg aatcctcagt ccctgacctt aacgctgagg tggatgatgcc tacagagagc 1620

ttccggaacg agaataatg tagtccagga aagaatggat tgagaaagtc gaatggttcc 1680

agtgattctg atattttgtc tgaggggctt gttggagagg caccggccat ggaatcccga 1740

tcacaaagtc gtaaacagac atcagattta gacgaggaaa cttatttaga gcaggaaact 1800

ggtgctgatg atagcacttt gctcatcagc ccaccaagc acttctcccg taggttaggt 1860

cagttgatg ataactacga atactgcgtc aaggttatac ggtggttgga atgttctgga 1920

cacatcgaaa aggactttag gatgaaattt ctaacttggg ttagcttgag atcgacggag 1980

caggaacgga gggttgtgat cacttttatc cgcacccttg ctgatgatcc cagtagcttg 2040

gcaggacagc tcttggttc cttcgaagaa attgtatcca gtaagaagcc gagaactggt 2100

ttctgcagta agttatggca ctaa 2124

<210> 5

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s12g34850_0X_BsiWI_F

<400> 5

cgtacgcttc tgctgctgct gggatg 26

<210> 6

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s12g34850_0X_SpeI_R

<400> 6

actagtttag tgccataact tactgc 26

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s12g34850_qRT_F

<400> 7

ggtgacaggg attgctgtga

20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s12g34850_qRT_R

<400> 8

aaacgcgttg tgccatccaa

20