



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0086766
(43) 공개일자 2024년06월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/82 (2006.01) *C12N 9/02* (2006.01)

C12N 9/10 (2006.01) *C12P 23/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 15/8267 (2013.01)

C12N 9/0077 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2022-0165920

(22) 출원일자 2022년12월01일

심사청구일자 2022년12월01일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

하선화

경기도 수원시 장안구 대평로 27, 104동 3202호(정자동, 화서역 파크푸르지오)

정예솔

경기도 수원시 영통구 에듀타운로 101, 102동 1419호(이의동)

이여진

경기도 성남시 수정구 희망로 472, 1동 1304호(단대동, 미도아파트)

(74) 대리인

특허법인태백

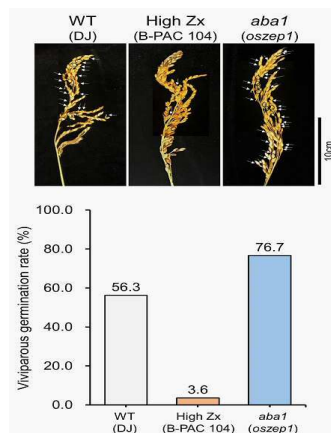
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 지아잔틴 생산을 통해 수발아 저항성이 증진된 형질전환 식물체

(57) 요약

본 발명은 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산을 통해 수발아 저항성이 증진된 형질전환 식물체에 관한 것으로, 베타카로틴 수산화효소(β -carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 연결하여 제조한 재조합 벡터(B-PAC)를 도입하여 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체에서 수발아 발아율이 유의미하게 감소하고, 종자 발아율은 일정히 유지되는 것을 확인함으로써, 수발아 저항성 증진용 조성물로서 활용되어 식량 작물의 생산성 및 품질 향상에 기여할 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

C12N 9/1085 (2013.01)

C12P 23/00 (2013.01)

C12Y 114/15 (2013.01)

C12Y 205/01032 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1395072053

과제번호 PJ015671012022

부처명 농촌진흥청

과제관리(전문)기관명 농촌진흥청

연구사업명 바이오그린연계농생명혁신기술개발

연구과제명 시스템 대사공학 기반 구축을 통한 다중모듈 적용 기능성 터펜 생산 식물 소재 개발(1주관)

기 여 율 1/1

과제수행기관명 경희대학교

연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

지아잔틴(Zeaxanthin)을 유효성분으로 포함하는 수발아 저항성 증진용 조성물.

청구항 2

베타카로틴 수산화효소(β -carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 연결하여 재조합 벡터(B-PAC)를 제조하는 단계(제1단계); 및 상기 벡터를 식물체에 도입하는 단계(제2단계)를 포함하는, 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질 전환 식물체 제조방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 제1단계는 재조합 벡터에 Bar 유전자 카세트를 연결하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 상기 식물체는 벼, 밀, 보리, 옥수수, 수수, 귀리 및 콩으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 5

청구항 2의 제조방법으로 제조한 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 형질전환 식물체는 수발아 저항성이 증가한 것을 특징으로 하는 형질전환 식물체.

청구항 7

청구항 5의 형질전환 식물체로부터 수득한 종자.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 종자는 수발아 저항성이 증가한 것을 특징으로 하는 종자.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산을 통해 수발아 저항성이 증진된 형질전환 식물체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 수발아(이삭 발아; viviparous germination)는 수확하기 전의 곡식의 이삭에서 낱알이 싹이 트는 현상으로, 수발아는 곡물의 생산량 감소 및 품질 저하로 이어져 심각한 경제적 손실을 유발하고 있다. 기본적으로 식물은 종자 휴면(seed dormancy)이라는 생태적 적응기작을 가지고 있어 자연 상태에서 생존에 불리한 환경조건에서는 발아하지 않고, 휴면 상태를 타파할 수 있는 적절한 온도와 수분이 제공되는 환경(즉, 발아 조건)을 탐지하면 발아(종자 발아; seed germination)되도록 설계되어 있어 생존에 매우 중요한 수단으로 작용하고 있다. 그러나 이삭 단계의 종자에 수확된 성숙 종자의 휴면을 타파하는 환경 조건이 주어지는 경우, 수발아가 촉진됨으로써 정상적인 종자 성숙을 방해하는 요소로 작용하게 된다. 따라서, 이삭 단계에서는 비정상적인 다습 조건 발생 시 수발아가 되지 않도록 종자 휴면을 유지하면서도, 수확한 성숙 종자가 수분 공급 시 휴면이 타파되어 발아율이 저하되지 않고 정상적으로 발아하는 종자의 개발은 식물 생리학적으로 매우 달성하기 힘든 난제로 여겨지고 있

다.

[0003] 종자의 휴면성은 식물 호르몬인 ABA(abscisic acid)의 생합성과 반응성, ABA와 GA(gibberellin acid)의 길항작용 및 수분이나 설탕과 같은 화학적 물질에 따른 신호전달 대사를 비롯한 여러 상호작용과 다양한 유전자에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다. 즉, 종자 내 ABA 함량 수준은 종자 휴면 조절에 중요 요소로, ABA 함량이 정상 수준보다 낮으면 종자 휴면성이 낮아지면서 미성숙 종자 발아율이 높아지고, 성숙된 종자라도 수확 직전인 시점에 고온 및 다습한 환경이 발생하면 수발아하는 경향이 발생하며, ABA 함량이 증가하면 수발아 저항성은 높일 수 있으나 깊은 휴면성으로 인해 수확된 종자의 발아가 억제되는 큰 단점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 공개특허 제10-2022-0053096호(2022.04.29. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 지아잔틴(Zeaxanthin)을 유효성분으로 포함하는 수발아 저항성 증진용 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 베타카로틴 수산화효소(β -carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 연결하여 제조합 벡터(B-PAC)를 제조하는 단계(제1단계); 및 상기 벡터를 식물체에 도입하는 단계(제2단계)를 포함하는, 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체 제조방법을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조방법으로 제조한 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체를 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 형질전환 식물체로부터 수득한 종자를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 지아잔틴(Zeaxanthin)을 유효성분으로 포함하는 수발아 저항성 증진용 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 베타카로틴 수산화효소(β -carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 연결하여 제조합 벡터(B-PAC)를 제조하는 단계(제1단계); 및 상기 벡터를 식물체에 도입하는 단계(제2단계)를 포함하는, 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체 제조방법을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조한 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 형질전환 식물체로부터 수득한 종자를 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따르면, 베타카로틴 수산화효소(β -carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 연결하여 제조한 제조합 벡터(B-PAC)를 도입하여 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체의 종자에서 수발아 발아율이 유의미하게 감소하고, 종자 발아율은 일정히 유지되는 것을 확인함으로써, 수발아 저항성 증진용 조성물로서 활용되어 식량 작물의 생산성 및 품질 향상에 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 지아잔틴 증진이 수발아 및 종자 발아에 미치는 영향을 나타내는 모식도이다.

도 2는 지아잔틴 축적을 유도하도록 설계된 재조합 벡터(B-PAC)(*B-PAC_OX*)의 모식도; 및 *OsZEP1* 유전자가 결손되어 ABA(abscisic acid)가 생성되지 않는 돌연변이체 벼(*aba1/oszep1_KO*)에서 T-DNA 삽입 위치가 *OsZEP1* 유전자 구조상 첫 번째 인트론임을 나타내는 모식도이다.

도 3은 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체(High Zx; *B-PAC_OX*) 및 대조군 2(*aba1/oszep1_KO*)에서 각각 T-DNA 벡터 도입 여부를 분석한 결과이다. 구체적으로, 도 3A는 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체에서 서던 블랏(southern blot)을 통해 T-DNA 도입 copy 수를 분석한 결과이고, 도 3B는 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체를 flanking PCR을 통해 인접부위를 증폭시켜 유전자 삽입 위치를 분석한 결과이며, 도 3C는 대조군 2를 genotyping PCR을 통해 동형접합체(homozygote) 여부를 분석한 결과이다.

도 4는 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체(High Zx; *B-PAC_OX*), 대조군 1(WT; IM) 및 대조군 2(*aba1/oszep1_KO*)의 배유색을 육안으로 관찰한 결과이다.

도 5는 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체(High Zx; *B-PAC_OX*), 대조군 1(WT; IM) 및 대조군 2(*aba1/oszep1_KO*)로부터 수득한 종자의 수발아율을 비교 및 분석한 결과이다.

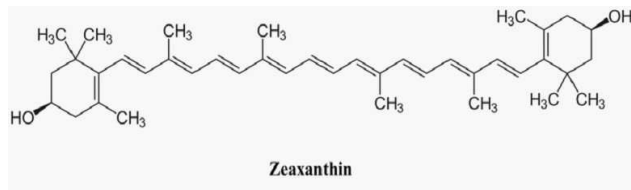
도 6은 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체(High Zx; *B-PAC_OX*), 대조군 1(WT; IM) 및 대조군 2(*aba1/oszep1_KO*)로부터 수득한 종자의 종자 발아율을 비교 및 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0017] 본 발명은 지아잔틴(Zeaxanthin)을 유효성분으로 포함하는 수발아 저항성 증진용 조성물을 제공한다.

[0018] 상기 지아잔틴은 하기와 같은 구조를 가진다.



[0020] 본 발명에서 “지아잔틴(Zeaxanthin)”은 약 700여개의 자연 카로티노이드(Carotenoid) 계열에 속하고, 산소 원자를 포함하는 잔토피일(Xanthophyll) 계열의 황색을 띠는 색소이다. 11개의 이중결합과 두 개의 링 구조를 갖는 40개의 탄소원자로 구성된 지질 친화성이 있는 물질로서 물에 잘 녹지 않는 성질이 있다. 지아잔틴은 프로비타민 A 활성은 갖고 있지 않으며 인체에서 합성되지 않으므로, 채소, 과일, 계란노른자 등의 섭취를 통해 흡수해야 한다.

[0021] 지아잔틴은 대표적인 카로티노이드 고부가가치 물질로 루테인(lutein)과 함께 눈 망막의 황반 중심 부근에 농축된 형태로 다량 분포하며, 노화 관련 황반변성(age-related macular degeneration; AMD), 백내장, 녹내장 등의 안구질환에 예방 효과와 청색광과 자외선을 흡수하여 눈을 보호하는 기능이 알려져 있으며, 전신 염증뿐만 아니라 다양한 조직의 산화 스트레스로부터 인체를 보호하는 것으로 밝혀져 있다. 이외에 지아잔틴은 항염, 항암 및 항산화 효과가 밝혀져 의약품 원료로써 사용되고 있고, 동물의 유지방, 피부, 난황 등을 착색시키거나 탈색을 방지하는 착색제로도 사용되고 있다.

[0022] 또한, 상기 지아잔틴은 종자 발아율에 영향에 주지 않으면서 수발아 저항성을 증진시킬 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명은 베타카로틴 수산화효소(β -carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 포함하는 재조합 벡터(B-PAC)를 제공한다.

[0026] 또한, 본 발명은 베타카로틴 수산화효소(β -Carotene hydroxylase; Bch) 유전자 카세트 및 베타카로틴 생합성

유전자 카세트를 연결하여 재조합 벡터(B-PAC)를 제조하는 단계(제1단계); 및 상기 벡터를 식물체에 도입하는 단계(제2단계)를 포함하는, 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체 제조방법을 제공한다.

[0027] 상기 제1단계는 재조합 벡터에 Bar 유전자 카세트를 연결하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0028] 상기 식물체는 벼, 밀, 보리, 옥수수, 수수, 귀리 및 콩으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조한 지아잔틴(Zeaxanthin) 생산이 증진된 형질전환 식물체 또는 이로부터 수득한 종자를 제공한다.

[0031] 상기 형질전환 식물체 또는 이로부터 수득한 종자는 수발아 저항성이 증가한 것일 수 있다.

[0033] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0035] [실시예 1] 지아잔틴 함량 증진 벼 식물체 준비

[0036] 베타카로틴(β -Carotene)을 지아잔틴(Zeaxanthin) 성분으로 전환시키기 위해, 한국산 고추 녹광 품종(*Capsicum annum* cv. NocKwang)에서 분리한 베타카로틴 수산화효소(β -Carotene hydroxylase; Bch)(NCBI : Y09225) 유전자 카세트를 “B”로 표기하였고, 베타카로틴 생합성효소(Phytoene synthase-2A-carotene desaturase; PAC) 유전자 카세트를 “PAC”로 표기하였다. PAC 유전자 카세트의 DNA 서열은 하기 표 1에 나타난 바와 같고, PSY(Phytoene synthase)(NCBI : X68017) 및 CrtI(carotene desaturase)(NCBI : D90087) 유전자를 “2A” 서열로 연결하여 제조하였다. 2A 서열(60 bp)은 FMDV(Foot-and-mouth disease virus)의 오리지널 2A 펩타이드 서열(QLLNFDLLKLAGDVESNPGP)을 기반으로, 벼에 대해 코돈 최적화되도록 합성하여 제조하였다. 두 개의 유전자 카세트(B 및 PAC)를 연결하여 최종적으로 종자 배유 특이적 발현하도록 제작된 복합다중 유전자(B-PAC)를 설계하였다. 그 후, 도 2에 나타난 바와 같이, 형질전환체 선별을 위한 제초제 저항성 Bar 유전자(Bialaphos resistance gene)(NCBI : JQ293091) 카세트를 포함시켜 재조합 벡터(B-PAC)를 제작하였다. 상기 벡터를 벼 식물체에 도입하여 지아잔틴 함량이 증진된 벼 형질전환 식물체(High Zx/B-PAC_OX)(이하 실험군이라 함)를 다수 확보하였다.

표 1

[0037]

Phytoene synthase-2A-carotene desaturase(PAC)(2952 bp)
atgtctgttgcccttggttatgggtgtttctccttgtgacgtctcaacgggacaggattcttggtatccgttcgtgaggaaacggattttt gattcgtcggggcgtaggaatttggcgtgcaatgagagaatcaagagaggagggtggaaaacaagggtggagttttggttcttacttgggagga gcacaaactggaagtggacgggaatttctgtacgttctgctatcgtggctactccggctggagaaatgacgatgtcatcagaacggatggtat tatgatgtggtttttaggcaggcagccttggtagagacagctgagatcgaccgatgagttagatgtgaagaaggatatacctatccgggg actttgggcttgttgagtgaagcatatgataggtgtagtgaagtatgtgcagagtacgcaaagacgttttacttaggaacgatgctaatgact ccggagagaagaaaggctatctgggcaatatacgtatggtgcaggagaacagacgaacttgttgatggtccgaatgcatcacacattactccg gcggccttagataggtgggaagacaggctagaagatgttttcagtggacggccatttgacatgctcgatgctgctttgtccgacacagtttcc aaatttccagttgatattcagccattcagagatagattgaaggaatgcgtatggacttgaggaagtcaagatcacagaaactttgacgaacta tacctatatgttattacgttgcgtggtacggttgggttgatgagtgttcaattatgggcatcgacacgtgaatcaaaggcaacaacggagagc gtatataatgctgctttggccttggggatcgcaaatcagctgaccaacatacttagagatgttgagaagatgccagaagaggaagagtctat ttgcctcaagatgaattagcacaggcaggtctatccgacgaagacataatttgctggaagagtgaccgataaatggagaactctcatgaagaaa caaattcagagggcagaaagtctttgacgagggcagagaaggagtgaccgaattgagcgcagctagttagatggcctgtgttggtcatctctg ctgtgtaccgcaggatactggacgagatcgaagccaatgactacaacaacttcacaaagagagcttatgtgagcaaaccaaagaagtgtatt gcatctacatttgcatatgcaaaatctcttgtgccttctacaagaacactgcagctcctcaacttcgacctcctcaagctcgccggcgacgtc gagagcaacgacggccggcggcctcggtgatggcgtcgtcgccaccaccgtcgctcccttcaggggcctcaagtcacccggcggc atgcccgtcgcccgccgtccggcaactccagcttcggcaacgtcagcaatggcgaggatcaggtgcatgcaggccatggaaccaactacg gtaattggtgcaggcttcggtggcctggcactggcaattcgtctacaagctgcggggatccccgtcttactgcttgaacaacgtgataaaccc ggcggctcgggcttatgtctacgaggatcaggggtttacctttgatgcagggccgacgggttatcaccgatccagtgccattgaagaactgttt gcactggcaggaacacagttaaaagagtatgtcgaactgctgccggttacgccgtttaccgctgtgtgggagtcagggaaggctcttaaat tacgataacgatcaaacccggctcgaagcgcagattcagcagtttaatccccgcgatgtcgaagggttatcgtcagtttctggactattcacgc gcgggtgtttaagaaggctatctaagctcggtagtctcctttttatcgttcagagacatgcttcgcgcgcacacctcaactggcgaactg caggcatggagaagcgtttacagtaaggttgcagttacatcgaagatgaacatctgcgcaggcgttttcttccactcgctgttggtgggc ggcaatcccttcgccacctcatccattatcgttgatcacgcgctggagcgtgagtgggcgcttggtttccgcgtggcggcaccggcgca ttagttcaggggatgataaagctgtttcaggatctgggtggcgaagtctgtttaaacgccagagtgcagccataggaaacgacaggaacaag atgaagccgtgcattagaggacggtgcaggttctgacgaagccgtcgctcaaatgcagatgtggttcatacctatcgcgacctgtta agccagcacctcgccgggttaagcagtcacaaacactgcagactaagcgcagtagtaactctctgtttgtgctctattttggtttgaatcac catcatgatcagctcgcgcatcacacggtttgtttcgcccgcttaccgcgagctgattgacgaaattttaatcatgatggcctcgagag gacttctcactttatctgcacgcgccctgtgtcacggattcgtcactggcgctgaagggttcgggcagttactatgtgtggcgccggtgccg catttaggcaccgcgaacctcgactggacggttgagggggcgaacactacgcgaccgtattttgcgtaccttgagcagcatatcatgctggc ttacggagtacgtggtcacgcacggatgtttacgcccgttgattttcgcgaccagcttaatgcctatcatggctcagccttttctgtggag cccgttcttaccagagcgccgtgtttcgccgcataaacgcgataaaaccattactaatctctacctggtcgggcgaggcacgcatcccggc gcaggcatcttggcgtcatcggtcggcaaaagcgacagcaggtttgatgctggaggatctgatttga

[0039]

[실시예 2] 대조군 벼 식물체 준비

[0040]

상기 실시예 1에서 준비한 지아잔틴 함량이 증진된 벼 식물체의 대조군으로 야생형 벼(이하 대조군 1이라 함)로는 농촌진흥청(수원 소재)에서 분양받은 일미(IM) 품종을 사용하였고, 도 2에 나타난 바와 같이, ABA(abscisic acid) 생합성 경로상의 지아잔틴 에폭시데이즈(zeaxanthin epoxidase) 유전자(OsZEP1)가 결손되어 ABA가 생성되지 않는 돌연변이체 벼(*aba1/oszep1_K0*)(이하 대조군 2라 함)로는 경희대학교(용인 소재)의 T-DNA 삽입 돌연변이체 은행에서 보유중인 PFG_1B-19817 라인을 사용하였다.

[0042]

[실시예 3] 벡터 도입 및 유전자 결손 여부 분석

[0043]

상기 실험군에 재조합 벡터(B-PAC)가 잘 도입되었는지 확인하기 위해, 상기 실험군의 잎 조직에서 gDNA를 추출하고, 서던 블랏(southern blot)을 이용하여 copy 수를 분석하였다. 그 결과, 도 3A에 나타난 바와 같이, 실험군 5계통에서 단일 copy(1개)가 나타나는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 실험군에 벡터가 잘 도입되었음을 확인하였다.

[0044]

또한, 벡터가 삽입된 위치를 확인하기 위해, Adaptor-PCR 기법을 통해 flanking PCR 및 서열(sequence) 분석하였다. 사용한 프라이머 세트는 하기 표 2에 나타난 바와 같다. 그 결과, 도 3B에 나타난 바와 같이, 실험군 5계통에서 유전자 삽입 위치가 서로 상이한 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 상기 실험군 5계통이 각각 독립된 계통임을 확인하였다.

[0045]

또한, 대조군 2에 OsZEP1 유전자 결손이 잘 진행되었는지 확인하기 위해, 대조군 2의 잎 조직에서 gDNA를 추출하고, genotyping PCR 수행을 통해 OsZEP1 T-DNA 삽입에 의한 돌연변이체 및 돌연변이체의 동형접합체(homozygote) 여부를 분석하였다. 사용한 프라이머 세트는 하기 표 3에 나타난 바와 같다. 그 결과, 도 3C에 나

탄산 바와 같이, 대조군 2가 동형접합체인 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 대조군 2의 OsZEP1 유전자 결손에 문제없음을 확인하였다.

표 2

프라이머	프라이머 방향	서열 (5' →3')
Adapter1(A1)	정방향	5' -TAATACGACTCACTATAG-3'
Adapter2(A2)	역방향	5' -GACTCACTATAGCAATTAAC-3'
A1-RB1	정방향	5' -GCTTGCTGAGTGGCTCCTTC-3'
A2-RB2	역방향	5' -CAAACGTAAAACGGCTTGTCC-3'

표 3

프라이머	프라이머 방향	서열 (5' →3')
PFG_1B-19817.L_LP	정방향	5' -GTGTTCCGACGAATTGGTGTG-3'
PFG_1B-19817.L_RP	역방향	5' -TCTCTGGCTGCATCTACCATC-3'
RBP	역방향	5' -GCTTGCTGAGTGGCTCCTTC-3'
GUS_Fwd	정방향	5' -CAGGTACCATGTTACGTCCTGTAGAAAC-3'
GUS_Rev	역방향	5' -AGCAGTTTCATCAATCACCA-3'

[실시예 4] 배유색을 통한 지아잔틴 함량 증진 여부 분석

상기 실험군에서 벡터 도입을 통해 지아잔틴 함량이 증가하였는지 확인하기 위해, 실험군의 T12 세대 종자에서 배유색을 육안으로 관찰하였다. 대조군 1 및 2의 종자는 개화 후 60일 된 성숙 종자를 수확하여 탈곡하고, 탈각(TR-200 Electromotion, Kett, Tokyo, Japan) 및 도정(Pearles Polisher, Kett)(20초) 과정을 거친 후, 배유색을 육안으로 관찰하여 실험군과 비교하였다. 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 대조군 1 및 2의 종자는 흰색을 나타내는 반면, 실험군은 황색을 나타내는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 실험군의 지아잔틴 함량이 증가되었음을 확인하였다.

[실시예 5] 수발아율 분석

지아잔틴이 수발아율에 미치는 영향을 확인하기 위해, 실험군 및 대조군을 논 포장에서 육성하면서 개화 후 60일째에 벼 이삭을 채취하였다. 채취한 이삭을 50ml tube에 넣어 10일간 침윤시킨 후, 수발아율을 분석하였다. 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 동일 침윤 조건에서 대조군 1은 침윤 후 10일째에 56.3%, 대조군 2는 76.7%의 수발아율을 나타내는 반면, 실험군은 3.6%의 매우 낮은 수발아율을 나타내는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 지아잔틴이 수발아 저항성을 증진시키는 것을 확인하였다.

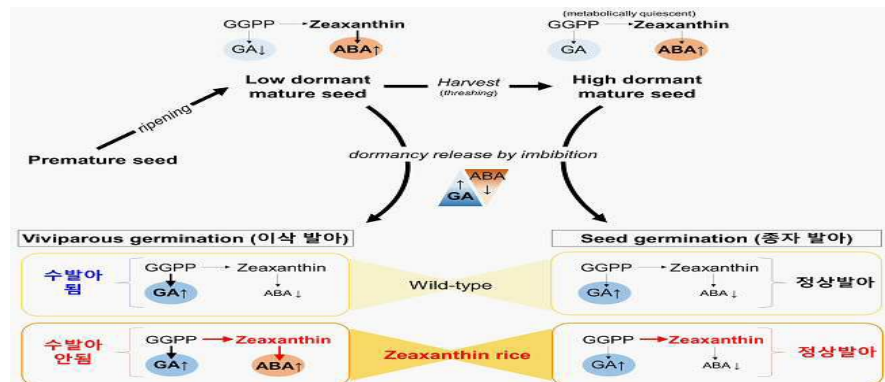
[실시예 6] 종자 발아율 분석

지아잔틴이 종자 발아율에 미치는 영향을 확인하기 위해, 실험군 및 대조군을 논 포장에서 육성하면서 개화 후 60일째에 탈곡을 통해 종자를 수확하고, MS 배지에서 3일간 배양한 후, 종자 발아율을 분석하였다. 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 대조군 1 및 2는 각각 100%의 종자 발아율을 나타냈고, 실험군은 95.2%의 종자 발아율을 나타내는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 지아잔틴이 종자 발아율에 영향을 주지 않는 것을 확인하였다.

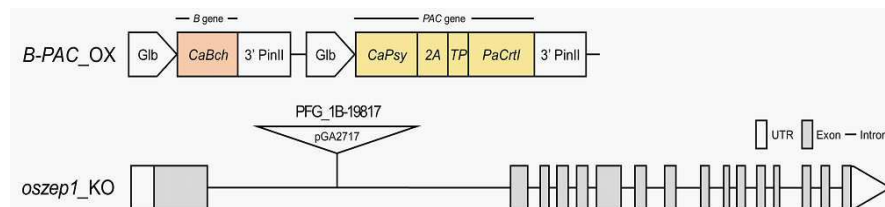
이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

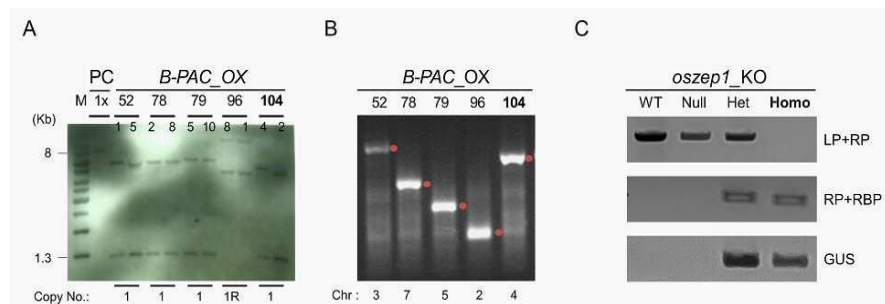
도면1



도면2



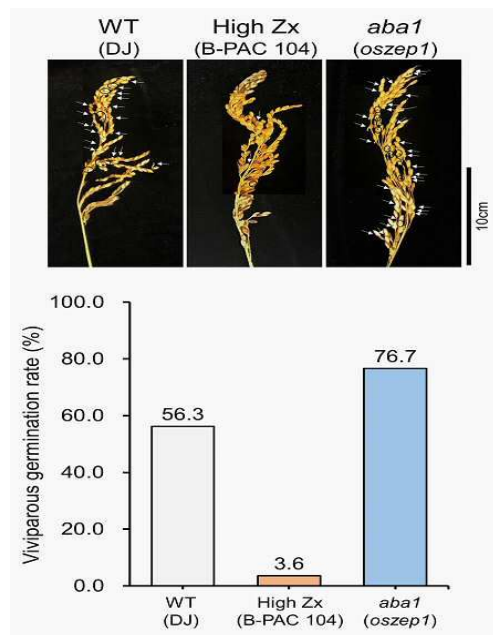
도면3



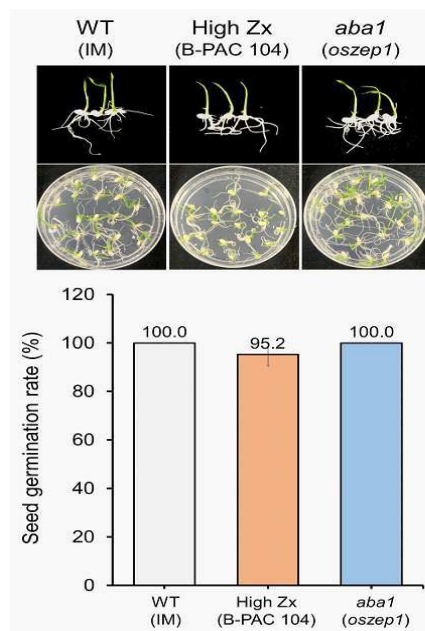
도면4



도면5



도면6



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.