



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년07월19일
<i>C12N 15/29</i> (2006.01)	(11) 등록번호	10-0741255
<i>C12N 15/63</i> (2006.01)	(24) 등록일자	2007년07월12일

(21) 출원번호	10-2006-0066605	(65) 공개번호
(22) 출원일자	2006년07월14일	(43) 공개일자
심사청구일자	2006년07월14일	

(73) 특허권자 고려대학교 산학협력단
 서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자 신정섭
 서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학

 정광욱
 서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학

 유경신
 서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학

 최미화
 서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학

 김윤영
 서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학

 옥승한
 서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학

(74) 대리인 김선애

(56) 선행기술조사문헌	
JP2000300273 A	KR1020050041087 A
KR1020060006150 A	US6476297 B1
US6740748 B1	

심사관 : 정의준

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련애기장대 A t L E J 1 유전자 및 이를 이용한 응성불임식물체 제조방법

(57) 요약

본 발명은 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자 및 이를 이용한 옹성불임 식물체 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 의하면 안정성 있는 불임계를 확보할 수 있으며, 옹성불임계를 유지하기 위한 다른 유지계통이 필요 없고 식물호르몬에 의해 임성 회복이 가능한 옹성불임 식물을 생산할 수 있다.

대표도

도 2

특허청구의 범위

청구항 1.

서열번호 1의 염기서열을 갖는 애기장대에서 분리된 옹성불임 유발 유전자 (*AtLEJ1*).

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 유전자는 식물 호르몬 자스몬산 또는 에틸렌의 생합성을 저해하여 옹성불임을 유발하는 것을 특징으로 옹성불임 유발 유전자(*AtLEJ1*).

청구항 3.

제1항 기재의 유전자를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 4.

제3항 기재의 재조합 벡터 또는 제1항 기재의 유전자를 포함하는 형질전환 식물체.

청구항 5.

제4항에 있어서, 상기 형질전환 식물체는 자스몬산 또는 ACC(1-aminocyclopropane -1-carboxylate)를 처리하여 임성이 회복되는 형질전환 식물체.

청구항 6.

제1항 기재의 유전자가 과다발현된 식물체에 자스몬산 또는 ACC(1-aminocyclopropane -1-carboxylate)를 처리하여 임성을 회복시키는 방법.

청구항 7.

제1항 또는 제2항에 있어서, 서열번호 2 및 서열번호 3으로 표시되는 PCR용 프라이머에 의해 증폭되는 옹성불임 유발 유전자(*AtLEJ1*).

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자 및 이를 이용한 옹성불임 식물체 제조방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 안정성 있는 불임계를 확보할 수 있으며, 옹성불임계를 유지하기 위한 다른 유지계통이 필요 없고 식물호르몬에 의해 임성 회복이 가능한 신규한 옹성불임 유발 유전자인 *AtLEJ1* 유전자 및 이를 이용한 옹성불임 식물체 제조방법에 관한 것이다.

신품종 개발 산업은 생산성 향상에 의한 부족한 식량자원의 확보차원에서, 또한 장미 및 난 등과 같은 고부가가치 산업에서의 선점확보 측면에서 세계적으로 신품종 개발 주체가 되기 위한 경쟁이 치열한 추세이다. 현재 신기능 신품종 종자를 개발하고자 하는 육종가들은 교잡실험과 유전자 조작을 통해 신품종 개발 및 육성에 노력하고 있다.

신품종 종자는 대부분 모계순계와 부계순계를 교잡하여 잡종 강세 현상이 두드러지게 나타내는 일대 잡종 (F1 hybrid)을 이용하는데, 이는 양친보다 생육이 왕성하고, 수량이 많고, 균일하며, 개화와 성숙기가 촉진되면서 불량 환경에 대한 저항성이 강해지기 때문이다.

하지만 일대잡종의 채종에서 꽃이 비교적 크고 하나의 과실에 종자가 비교적 많이 들어 있는 박과채소(Cucurbitae) 등은 인공수분이 쉽기 때문에 비교적 간단히 잡종 종자를 얻을 수 있지만, 양파, 당근 등은 꽃이 작아 인공교배가 어려울 뿐만 아니라, 1회의 교배로 얻어지는 종자의 수가 매우 적어 인공교배로 잡종을 생산하는 것은 현실성이 없다. 더욱이 대부분을 차지하고 있는 양전화(hermaphrodite, 한 개의 꽃에 암술과 수술이 다 있는) 식물의 경우는 인공교배에 앞서 꽃망울 상태에서 모계의 수술을 제거해 주는 시간과 인력이 많이 소요되는 제웅(除雄, emasculation) 작업이 필수적이다.

만약 옹성불임계가 있다면 이를 모계로 사용하고 정상의 가임계를 부계로 사용하여 제웅 작업을 생략하고 방임수분에 의해 일대잡종의 채종이 가능하기 때문에, 옹성불임 식물의 개발은 신품종 종자 개발에 유용하게 사용될 수 있는 기구이다. 이러한 옹성불임은 수술의 결함으로 수정능력이 있는 화분을 생산하지 못하는 현상으로, 옹화나 약(pollen)의 기형화 또는 열개불능(꽃밥이 터지지 않아 꽃가루가 나오지 못하는 현상)으로 인해 나타난다.

옹성불임성은 유전양식에 따라 핵유전형(genic male sterility)과 세포질유전형(cytoplasmic male sterility)으로 나눌 수 있다. 핵유전형 옹성불임은 생존에 불리하게 작용하기 때문에 발견되는 것으로, 주로 열성유전을 하며 열성동형(homozygously recessive)인 경우에 불임성을 띠게 되기 때문에 불임계의 유지 및 증식에 많은 노력이 소요되고, 또 작물에 따라서는 꽃이 작아 임성(稔性, fertility)의 판별이 힘들고, 꽃이 필 때까지 시간이 많이 소요되는 작물에서는 적용이 힘든 단점이 있다.

한편 세포질 옹성불임성은 어느 가임계를 교배해도 100% 불임주가 나오기 때문에, 불임주에 여러 가지 가임주를 교배하여 50% 혹은 100% 불임주를 낼 수 있는 개체 및 계통, 즉 유지계통(maintainer)을 찾아내서 심어주어야 하기 때문에 현실성이 없다. 하지만 일대잡종 육종을 위해 옹성불임계 획득을 위한 방사선 및 화학 약품을 통한 인위적 옹성불임 유기도 시도된 바가 있으나, 안정성이 떨어져 실용화가 쉽지 않은 문제점이 있다.

일대 잡종종자를 생산하기 위한 옹성불임 식물의 개발 및 연구에 많은 투자를 하고 있지만 현재까지 옹성불임 식물이 가지고 있는 문제점으로 인해 이에 관한 연구 성과는 매우 미비한 실정이다. 만약 이러한 옹성불임계 식물이 가지고 있는 단점들을 극복, 즉 안정성 있는 옹성불임계의 확보 및 다른 유지계통이 필요 없이 불임계를 유지할 수만 있다면, 이를 이용한 손쉬운 신품종 개발 및 고부가가치의 산업생산에 유용하게 이용할 수 있을 것이다.

따라서 안정성 있는 옹성불임계를 확보할 수 있고 다른 유지계통이 필요 없이 불임계를 유지할 있는 신규한 유전자에 대한 요구가 끊임없이 존재하여 왔다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 종래 기술의 문제점 및 상기 요구를 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 안정성 있는 응성불임계를 확보할 수 있고 다른 유지계통이 필요 없이 불임계를 유지할 수 있는 신규한 응성불임 유발 유전자를 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 상기 응성불임 유발 유전자를 포함한 재조합 벡터 및 이에 의해 형질전환된 식물체를 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 상기 유전자의 응성불임 유발 기작을 규명하여 임성을 정상적으로 회복할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성

상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명자들은 애기장대 *AtLEJI* 유전자의 DNA를 클로닝하여서, 식물체 형질 전환용 발현 벡터를 제작하였으며, 동일 벡터를 이용하여 애기장대 형질전환체를 제작하여 그 응성불임 및 그 응성불임 식물체의 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 함량의 감소 및 상기 식물호르몬 처리에 의한 임성 회복을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서 본 발명은 서열번호 1의 염기서열을 갖는 애기장대에서 분리된 응성불임 유발 유전자 *AtLEJI*를 제공한다.

상기 유전자는 식물 호르몬 자스몬산 또는 에틸렌의 생합성을 저해하여 응성불임을 유발하는 것을 특징으로 한다.

본 발명은 상기 응성불임 유발 유전자를 포함한 재조합 벡터 및 이에 의해 형질전환된 식물체를 제공한다.

상기 재조합 벡터는 형질전환용 바이너리 벡터로서, 다양한 종류의 식물 형질전환용 벡터가 이용될 수 있다.

본 발명은 상기 유전자가 과다발현된 식물체에 자스몬산 또는 ACC를 처리하여 임성을 정상적으로 회복하는 방법을 제공한다.

이하, 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명의 구성을 상세하게 설명하면 다음과 같다.

애기장대의 전체 염기서열은 이미 모두 밝혀져 있다. 이들 염기서열을 바탕으로 각 유전자들의 위치와 중요한 도메인(domain), 엑손(exon), 인트론(intron) 등에 관한 정보도 이미 추정하여 공개되어 있지만, 아직도 특정 도메인이 없고 기능을 추정할 수 없는 유전자가 대다수이다.

본 발명자들은 아직까지 그 기능이 보고되지 않은 애기장대의 미지 유전자 중 응성불임에 관련될 것으로 추정되는 유전자 *AtLEJI*(At4g34120)를 선발하여 식물 형질전환용 바이너리 벡터를 이용하여 클로닝하고 염기서열(서열번호 1)을 확인하였다(도 1 및 도 2 참조).

상기 바이너리 벡터를 이용하여 본 발명에 의한 *AtLEJI* 유전자를 애기장대 내에서 과다발현시켰을 때 수술의 열개(anther dehiscence) 불능으로 인한 응성불임이 야기된다(도 3 및 도 4 참조).

본 발명에 의한 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제조하고 이 재조합 벡터를 식물세포 내로 도입시키기 위하여, 본 발명이 속하는 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 다양한 기술을 사용할 수 있다(참고 문헌: Clough SJ and Bent AF, 1998. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. Plant J 16:735-43). 예를 들어 아그로박테리움-매개 형질전환을 이용할 수 있다.

또한, 본 발명은 서열번호 1의 염기서열을 갖는 DNA 단편을 증폭하기 위한 서열번호 2 및 서열번호 3으로 표시되는 PCR용 프라이머(표 1 참조)를 제공한다.

한편 이 식물체들은 정상적인 약(pollen)을 가지고 있고, 또한 이러한 응성불임의 원인은 식물 호르몬인 자스몬산(jasmonic acid)과 에틸렌(ethylene)의 생합성이 적게 일어나서 발생한다(도 5 및 도 6 참조).

나아가, 다른 화약 약품이 아닌 위 두 가지 식물호르몬을 인위적 처리하여 임성이 정상적으로 회복된다(도 7 및 도 8 참조).

따라서 본 발명에 의한 유전자로 형질전환시켜서 얻어진 융성불임 식물체는 안정성이 있으며, 융성불임계를 유지하기 위한 다른 유지계통이 필요 없다. 따라서 본 발명은 신품종 개발을 위한 유용한 방법으로 사용되어 질 수 있다.

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[실시예 1. 본 발명에 의한 신규 유전자인 *AtLEJ1*의 클로닝]

양 말단에 *Xba*I (5' 말단)와 *Bgl*II site (3'말단)를 포함하는 프라이머 (표 1)를 이용하여 *AtLEJ1* (At4g34120) 유전자의 ORF (open reading frame)를 애기장대 (*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia)의 총RNA(total RNA)로부터 제작된 cDNA 풀(pool)에서 PCR 기법으로 증폭하였다.

상기 PCR 산물의 말단을 각 제한 효소로 절단한 후, 레프트보더(Left boarder)와 라이트보더(right boarder) 사이에 CaMV (Cauline flower mosaic virus) 35S 프로모터를 가지고 있는 식물 형질전환용 바이너리벡터(binary vector)인 pCambia2300에 클로닝하였다 (도 1). 이 클론을 해독(sequencing)한 결과 정확한 염기서열이 클로닝(cloning)되었음을 확인할 수 있었다 (도 2).

[표 1]

5'-CGA-TCT-AGA-ATA-TGG-GTT-CAA-TCT-CTT-TAT-CC (서열번호 2)	32-mer
5'-TAG-AGA-TCT-CTA-TGT-AGA-GTT-CTC-GGT-TTC-CCG-T (서열번호 3)	34-mer

[실시예 2. 본 발명에 의한 유전자인 *AtLEJ1*의 과다발현 식물체의 융성 불임 확인]

실시예 1에서 제작된 벡터를 아그로박테리움 (*Agrobacterium* GV3101)에 냉-해동 (Freeze-thaw) 방법 (An, G. 1987, Methods in Enzymology)으로 도입하였다. 형질전환된 아그로박테리아는 꽃침지방법(flower dipping, Clough 와 Bent, 1998, The Plant Journal)으로 애기장대를 형질전환시켰다. 형질전환시킨 애기장대를 세 세대를 걸쳐 선발(screening)하여 T₃ line을 확보하였다.

먼저 형질전환 식물체와 정상적인 야생형(wild-type) 식물체로부터 총RNA(total RNA)를 추출하여 cDNA로 전환 (conversion)후 RT-PCR 분석 (27 cycles of 95°C for 20 s, 53°C for 20 s, and 72°C for 40 s, followed by 3 min of a final extension at 72°C)으로 형질전환 식물체가 야생형(wild-type) 식물체보다 명확하게 *AtLEJ1*의 유전자가 과다 발현되고 있음을 확인하였다. 이때 내적대조군(Internal control)으로는 *eIF4a1*를 사용하였다 (도 3).

본 발명에 의한 *AtLEJ1* 과다 발현 식물체의 표현형을 관찰해 본 결과 정상적으로 임성을 가지고 있는 야생형(wild-type) 식물체와 비교하여 확실하게 불임이 야기되고 있음을 확인하였다 (도 4a). 그리고 꽃을 해부하여 현미경으로 관찰한 결과, 수술이 열개 (anther dehiscence)되어야 하는 시점에서도 *AtLEJ1* 과다 발현 식물체는 열개가 되지 않고 있음을 확인하였다 (도 4b).

더 자세한 수술의 표현형을 관찰하기 위해 야생형(wild-type) 식물체와 *AtLEJ1* 과다 발현 식물체의 꽃들을 고정액(fixing solution; 4% para-formaldehyde and 2.5% glutaraldehyde in a 0.05 M potassium phosphate buffer)에 채취한 후에, 에탄올 시리즈 (30%, 50%, 70%, 90%, 95%, 100%)를 통해 탈수 (dehydration)과정을 거친 후, 액체 CO₂ 가스를 이용한 크리티컬 포인트 드라이(critical point dry)를 시켰다. 이러한 꽃 샘플들을 이용하여 전자현미경 (Scanning Electron Microscope)을 이용하여 수술 부분을 관찰하였다. 도 5에서의 결과와 같이, 수술이 열개되지 않은 단계 (stage 11)에서도

AtLEJ1 과다발현 식물체의 수술은 야생형 (wild-type)의 수술에 비해 매우 건조 (desiccation)된 형태를 관찰하였고, 또한 수술이 열개되는 단계 (stage 13)에서도 이러한 형태를 유지하면서 열개가 이뤄지지 않고 있음을 재확인하였다. 하지만 AtLEJ1 과다발현 식물체의 약 (pollen grain)은 야생형 (wild-type)과 같은 정상적인 표현형을 보이고 있었다.

또한 수술 (anther) 발달과정을 세포수준에서 알아보기 위해서, 야생형(wild-type) 식물체와 AtLEJ1 과다 발현 식물체의 꽃들을 고정액(fixing solution)에 채취한 후에, 에타놀 시리즈를 통해 탈수 (dehydration)과정을 거친 후, 파라핀 (Paraplast)에 고정하였다. 이러한 고정된 시료들을 마이크로톰(microtome)을 이용하여 8 μ m으로 절단(cross-section)하였고, 수술의 열개를 위해 중요하다고 알려져 있는 수술 내벽 세포 (endothecium cell)내의 목질화 (lignification) 부분을 염색시키는 2% 프롤로글루시놀(Phloroglucinol)를 이용하여 염색한 후에 9N 염산 (HCl)으로 세척(washing) 후, 현미경을 통해 관찰하였다. 도 6에서의 결과와 같이, 야생형 (wild-type) 수술 내벽 세포 부분 내에서는 확실하게 정상적인 목질화 (lignification)와 함께 프롤로글루시놀(Phloroglucinol)로 염색 (빨간색 부분)되는 것을 확인하였지만, AtLEJ1 과다 발현 식물체의 수술부분에서는 염색이 되지 않아 이러한 수술 내벽 세포내의 목질화가 이뤄지지 않고 있음을 확인하였다.

[실시예 3. 본 발명에 의한 유전자 AtLEJ1 과다발현 식물체의 화기 구조를 이용한 자스몬산 및 에틸렌 함량 측정]

기존 몇몇 논문에서 애기장대 식물에서 자스몬산의 생합성이 저해되면, 수술의 열개가 늦어짐으로써 불임이 야기된다고 보고된 적이 있다. 에틸렌 또한 애기장대에서 수술 열개 과정 중에서의 명확한 기능은 보고된 바가 없지만, 담배에서 수술 열개 과정에서 작용한다고 보고된 적이 있기 때문에, 이런 기존 연구들을 바탕으로 본 실험에서도 AtLEJ1 과다발현 식물체의 꽃들을 채취하여 총 자스몬산과 에틸렌 함량을 가스크로마토그래피(gas chromatography)를 이용하여 측정하였다. 도 7에 나타난 결과와 같이, 총 자스몬산의 경우 AtLEJ1 과다발현 식물체에서 야생형(wild-type) 식물체에 비해 30% 감소함을 확인하였다. 또한, 에틸렌의 경우 AtLEJ1 과다발현시 정상시보다 약 70%가 감소함을 확인하였다 (도 8). 따라서 본 발명에 의한 유전자 AtLEJ1은 자스몬산 및 에틸렌 생합성을 저해함으로써 열개불능 웅성불임을 유도함을 알 수 있었다.

[실시예 4. 본 발명에 의한 유전자 AtLEJ1 과다발현 식물체의 인위적 자스몬산 및 ACC (에틸렌 전구체) 처리를 통한 임성 회복 확인]

본 발명에 의한 유전자 AtLEJ1 과다발현 식물체는 웅성불임을 보이면서 화기(花器) 내의 자스몬산과 에틸렌 합성량이 적게 일어나기 때문에 외부에서 인위적으로 자스몬산 또는 ACC(1-aminocyclopropane -1-carboxylate, 에틸렌의 전구체)처리하였을 때 임성이 회복되는지를 확인하는 실험을 수행하였다.

먼저 AtLEJ1 과다발현 식물의 꽃봉오리(flower bud cluster)에 500 μ M 자스몬산을 처리하고 대조구(control)로써 아무 것도 처리하지 않거나 물 (water)만 처리하여 임성 회복 여부를 확인하였다.

도 9a의 결과에서 확인할 수 있듯이, 대조구(control) 처리구에서는 여전히 웅성불임을 보이고 있는 반면에, 자스몬산 처리 후 일주일 이 지난 식물체는 부분적으로 임성이 회복되는 현상을 확인할 수 있었고 (흰색 화살표), 또한 처리 후 이틀째 꽃을 현미경으로 관찰해 보았을 때 열개 불능의 수술의 열개되어져 있음을 확인하였다. 이러한 자스몬산 처리 후 이틀째 되는 꽃들을 이용하여, 파라핀 (palapast) 고정 후 프롤로글루시놀(Phloroglucinol) 염색을 통해 현미경으로 관찰한 결과, 도 9b에서 보여주듯이 수술 내벽세포(endothecium)의 목질화 (lignification)가 회복 (검은색 화살표 부분) 되어 수술 열개 (anther dehiscence)로 인한 약 (pollen grain)이 정상적으로 나오고 있음을 확인하였다.

이와 마찬가지로, 이러한 AtLEJ1 과다발현 식물체에 에틸렌 전구체인 ACC를 50 mM과 500 mM로 처리하였을 경우에서도 자스몬산 처리 시와 같이 AtLEJ1 과다식물체의 웅성불임 표현형을 가임으로 회복시킴을 확인할 수 있었다 (도 10a). 이 또한 부분적으로 수술 내벽세포의 목질화가 회복됨을 확인하였다 (도 10b).

발명의 효과

상술한 바와 본 발명에 의한 유전자 AtLEJ1을 이용하면 종래의 웅성불임 식물 제조방법에 비해 안정성이 있으며, 웅성불임체를 유지하기 위한 다른 유지계통이 필요 없고 식물호르몬에 의해 임성 회복이 가능한 웅성불임 식물을 제조할 수 있다. 따라서 본 발명은 손쉬운 신품종 개발 및 고부가가치의 산업생산에 유용하게 이용할 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자의 클로닝에 사용되는 pCAMBIA2300 벡터의 레프트보더와 라이트보더 카세트를 나타내는 도면.

도 2는 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자 ORF의 전체 cDNA 염기서열을 나타내는 도면.

도 3은 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체에서 상기 *AtLEJ1* 유전자의 전사발현양상을 나타내는 도면.

도 4a 및 도 4b는 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체에서 웅성불임 표현형을 보여주는 식물체 사진.

도 5는 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체에서 웅성불임 표현형을 보여주는 전자현미경 사진.

도 6은 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체에서 꽃내의 수술을 절단(cross-section)한 후 수술 내벽 세포의 목질화 부분을 염색한 모습을 보여주는 사진.

도 7은 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체 꽃 내에서의 전체 자스몬산 함량을 나타내는 그래프.

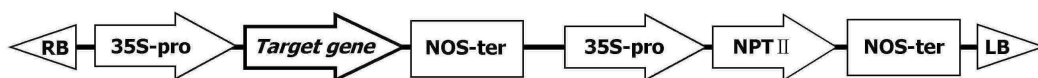
도 8은 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체 꽃 내에서의 전체 에틸렌 함량을 나타내는 그래프.

도 9a 및 도 9b는 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체에 자스몬산 처리를 통해 웅성불임 표현형이 회복되는 것을 보여주는 사진.

도 10a 및 도 10b는 본 발명에 의한 식물 호르몬 자스몬산 및 에틸렌 생합성 저해 관련 애기장대 *AtLEJ1* 유전자가 과다발현된 식물체에 ACC 처리를 통해 웅성불임 표현형이 회복되는 것을 보여주는 사진.

도면

도면1

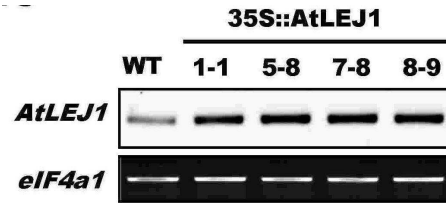


도면2

```

ATGGGTTCAATCTCTTTATCCAATTCTATGCCATAACTCGACTTCCACTACTT
ACATCACTCTATCATCAAAGCTTCCTTCCGATTTCTTCTCATCTTTCTCTCTT
CTTCCTCTCTCTAATCGTCGTCGCTCCTCCACTTTTTACCGTCAATCACCGTC
TCTGCCTTCTTCGCTGCTCCTGCCAGCGTTAATAATAAATACTCTGTTCCGGCA
AAAAATGGAGGTTACACAGTTGGGGATTTCATGACTCCGAGACAGAATTTGCA
CGTTGTTAAGCCCTTACGTCGTCGATGATGCGTTGGAACCTCTGGTTGAGAA
GAAAGTCACGGGATTGCCTGTAATTGACGATAATTGGACACTGGTTGGTGTG
TTTCTGATTACGATTTGCTTGCATTGGACTCCATCTCTGGTCGCAGTCAAAATG
ATACAACTTGTTCCCTGATGTCGACAGTACCTGGAAACGTTTAAACGAACTAC
AGAACTGATCAGTAAGACATATGGAAGGTTGTTGGAGACTTGATGACACCG
TCTCCTCTCGTTGTCCGTGATTCTACCAATTTAGAAGATGCAGCCAGGTTGCTT
CTGGAACAAAGTTCCGAAGATTACCCGTTGTTGATGCTGATGGAAGGATGAT
TGGGATCCTTACAAGGGGAAACGTTGTAAGGGCTGCGCTGCAGATCAAACGGGA
AACCGAGAACTCTACATAG
    
```

도면3



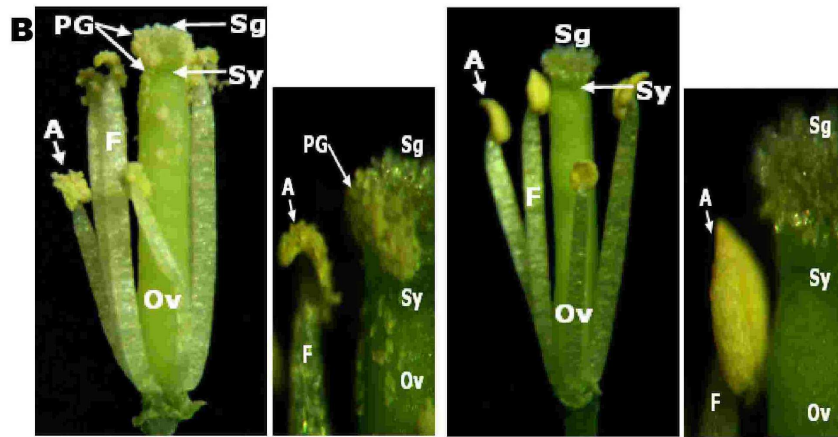
도면4a



정상적인
wild-type

AtLEJ1 과다
발현 식물체

도면4b



정상적인 **wild-type**

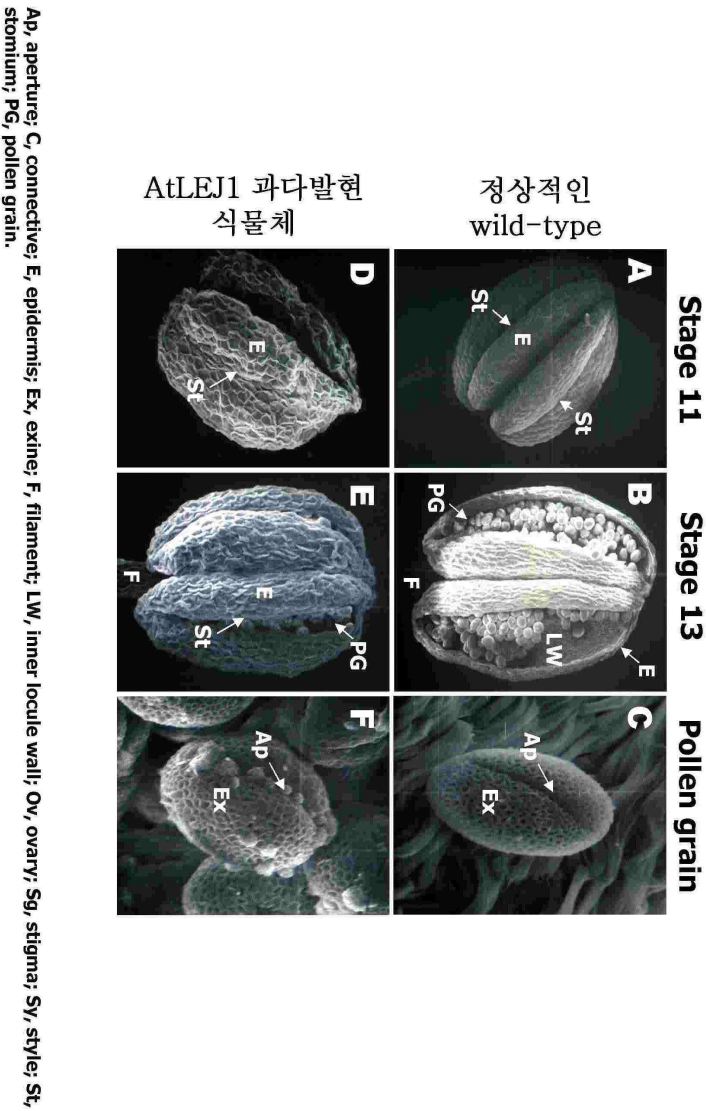
(개화시기에 수술의 열개와 함께
정상적인 수정과정 보임)

AtLEJ1 과다발현 식물체

(확대 관찰 결과 수술이 열개 불능이고,
이로 인한 불임임을 확인)

**A, anther (수술); F, filament (꽃실); Ov, ovary (씨방);
Sg, stigma (주두); Sy, style (화주); PG, pollen grain (화분립, 약).**

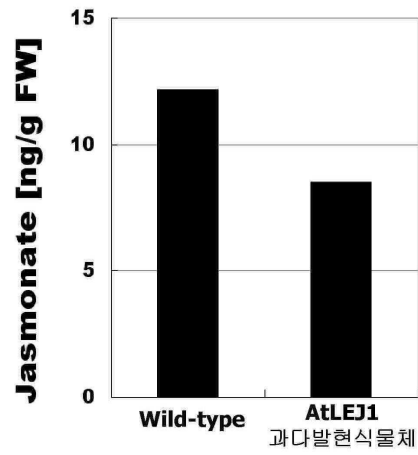
도면5



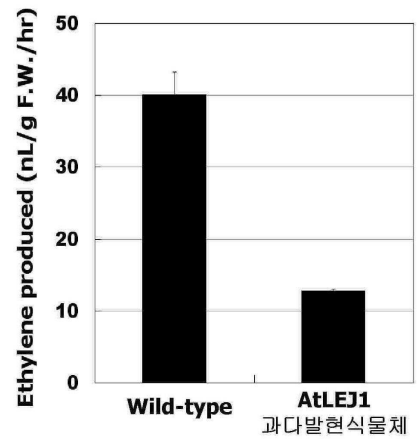
도면6



도면7

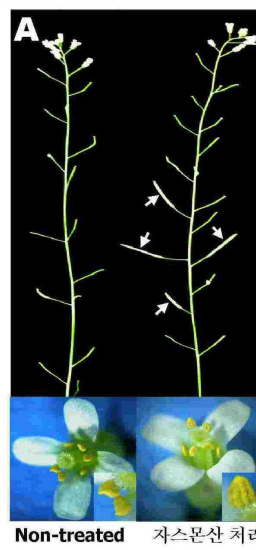


도면8

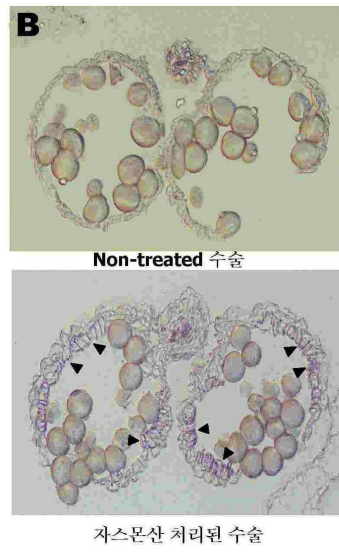


도면9a

AtLEJ1 과다발현 식물체

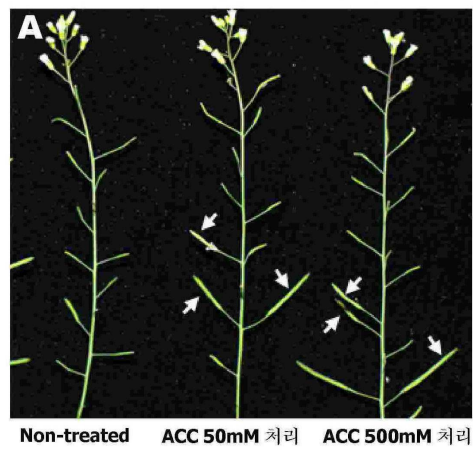


도면9b

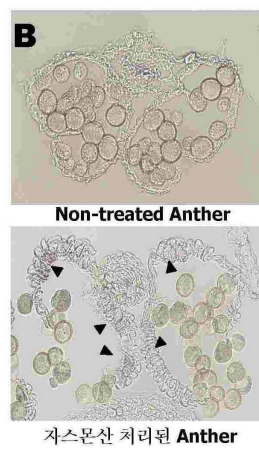


도면10a

AtLEJ1 과다발현 식물체



도면10b



서열목록

서열목록 전자파일 첨부