

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2009-0095438 (43) 공개일자 2009년09월09일
(51) Int. Cl. <i>C12N 15/10</i> (2006.01) <i>C12N 15/52</i> (2006.01) <i>C12Q 1/68</i> (2006.01)	(21) 출원번호 10-2008-0076702 (22) 출원일자 2008년08월05일 심사청구일자 2008년08월05일 (30) 우선권주장 1020080020182 2008년03월04일 대한민국(KR)	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내 (72) 발명자 박영두 경기 용인시 수지구 성북동 성동마을 수지자이1차 아파트 108동702호 박지현 경기 안양시 만안구 석수2동 현대아파트 107동 2506호 (74) 대리인 이덕록

전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 배추 유래 에피티오스페시피어 단백질을 코딩하는유전자

(57) 요약

본 발명은 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)로부터 분리된 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate)의 생성에 관여하는 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자에 관한 것으로, 이를 이용하여 식물 형질전환시, 식물체내 저항력 향상에 관련되며 병충해에 강한 식물재배가 가능하여 농업적으로 식물재배시 농약사용을 줄일 수 있어, 이는 환경적, 경제적으로 매우 유용하며, 또한 향암 물질을 다량 함유하게 함으로써 기능성을 가지는 배추를 제공할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도2b

```

MAPTLQGEWI KVQKGGEGP GARSSHGIIV VGDKLYSFGG ERTPNISIDK HLYVFDENH
TWSIAPANGQ APNVQALGTR MVAVGTMPLYL FGGRDEKKQF DDFYSYDTVK QEWKFITKLD
EEGGPEARTY HSMASDENHV YVFGGVSKGG TNKTPFRFRT IEAYNIADGK WAQLPDPGEQ
FPRFERRGGA GFIVVEGKIW VVYGFATSPD PNGKNDYESD LVHYFDPATQ KWTEVETKGE
KPSPRSVFAH AAVGKYIIF GGEVWDPNG HLGPGTLTNE GYALNTETLV WEKFGGGAEP
GELGWPAYTT ATVYGKQGLL MHGGKRPTNK RTDEMYFYAV HSA*

```

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20070301034037

부처명 농촌진흥청

연구사업명 바이오그린 21사업

연구과제명 배추 삼입돌연변이 집단 분석 및 유용 유전자를 이용한 신품종 육성

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2007년 4월 1일 ~ 2010년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1부터 7에 기재된 프라이머 세트를 이용하여 RT-PCR 과정을 거쳐 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)로부터 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein) 효소유전자의 앞부분을 제외한 유전자 단편을 분리하는 단계를 포함하는, 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)의 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein) 효소 유전자를 코딩하는 유전자를 분리하는 방법.

청구항 2

서열번호 8에 기재된 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)의 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)로부터 분리된 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate)의 생성에 관여하는 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate)는 배추(Chinese cabbage), 순무(turnip)등에 존재하는 암의 발달을 억제하는 물질이다. 이 물질은 조직손상에 의해 유도된 마이로시네이즈(myrosinase) 효소에 의해 생성된 아글리콘(aglycon) 물질이 일반적으로 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein)(ESP)이라고 알려져 있는 효소의 분해산물이다.
- <3> 식물대사과정에 관여하는 글루코시놀레이트는 마이로시네이즈 효소에 의해 이소시오시아네이트(isothiocyanate), 니트릴(nitriles), 및 시오시아네이트(thiocyanate) 형태의 산물로 가수분해된다. 이들 중에서 이소시오시아네이트(isothiocyanate)는 항암적 효과(anticarcinogenic property)가 있는 것으로 알려져 있으며, 특히, 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate)는 항암적 효과가 가장 좋은 산물이라고 여겨지고 있다. 1996년에 A. Adesida, L.G. Edwards 그리고 P.J. Thoranalley등이 사람의 백혈병 60 (human leukaemia 60; HL60) 세포의 성장이 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate)에 의해 억제되었다고 보고한 바 있다.
- <4> 에피티오스페시피어 프로테인(ESP)은 *Crambe abyssinica* 씨로부터 최초로 분리된 소형 단백질(30-40 kD)로서(Tookey 1973), 이는 마이로시네이즈 활성을 비경쟁적으로 억제한다고 보고된 바 있다(Rossiter 1983, MacLeod and Rossiter 1985). 따라서 에피티오스페시피어 프로테인(ESP) 효소를 조절할 경우, 식물 내 항암 물질인 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate)의 생성 조절에 중요한 대상이 될 수 있다.
- <5> 지난 10 여년 동안 얻은 방대한 양의 유행병학(epidemiological) 그리고 실험적 데이터는 과일과 채소의 높은 섭취가 낮은 암 발생률과 연관되어있음을 보여주고 있으며 특히, 배추과 채소의 소비가 권장되고 있다. 또한 배추는 김치의 주재료로서 국이나 찜 등에도 이용되는 한국의 4대 채소 가운데 하나이다.
- <6> 그러나 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)에서 에피티오스페시피어 프로테인(ESP)의 대사 조절을 통해 마이로시네이즈 효소의 활성을 조절함으로써 페닐에틸 이소시오시아네이트의 생성을 증가시키려는 시도는 행해진 바 없으며, 또한 이를 위한 배추 유래의 에피티오스페시피어 프로테인(ESP)의 아미노산 서열이나 이를 코딩(coding)하는 유전자에 관해서는 보고된 바 없다.
- <7> 본 발명자들은 상기와 같은 종래의 문제점을 해결하고자 예의 연구를 거듭한 결과, 배추 유래의 에피티오스페시피어 프로테인(ESP) 효소를 코딩하는 유전자를 규명하고, 관련된 대사과정을 조절하여 배추를 형질전환시켜 병충해에 대한 저항력을 강화시킴으로써 재배 시 농약사용을 줄일 수 있어 환경적, 경제적으로 유용하며, 항암 물질을 다량 함유하게 함으로써 기능성을 가지는 배추를 제공함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <8> 본 발명의 목적은, 한국의 4대 채소 가운데 하나인 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)로부터 페닐에틸 이소시오시아네이트(phenylethyl isothiocyanate) 생성과 관련된 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자를 제공하는 것이다.
- <9> 본 발명의 다른 목적은, 배추의 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자를 클로닝 할 수 있는 프라이머 및 이를 이용하여 배추로부터 에피티오스페시피어 단백질 효소를 분리하는 방법을 제공하는 것이다.

<10>

과제 해결수단

- <11> 본 발명은 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)로부터 에피티오스페시피어 단백질 효소(ESP)를 코딩하는 유전자를 제공한다.
- <12> 본 발명은 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)의 에피티오스페시피어 단백질(ESP) 효소를 코딩하는 유전자의 개시코돈을 포함한 앞부분의 일부를 제외한 종결코돈 포함부위의 시퀀스를 제공하며, 또한 상기 유전자를 클로닝 할 수 있는 프라이머 및 이를 이용하여 배추로부터 에피티오스페시피어 단백질 효소를 분리하는 방법을 제공한다.
- <13> 본 발명에서는 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)로부터 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자를 분리하기 위해, 우선 프라이머를 작성한다. 이어서, 상기 프라이머를 이용하여 RT-PCR 과정을 거쳐 배추로부터 일부를 제외한 전체 유전자 단편들을 분리한다.
- <14> 본 발명은, 기존에 발표되어 있는 채소작물의 에피티오스페시피어 단백질 효소 염기서열들의 상동성을 기초로, 배추의 에피티오스페시피어 단백질 효소 유전자를 클로닝할 수 있는 프라이머를 작성하는 단계; 상기 프라이머를 이용한 RT-PCR 방법으로 배추로부터 에피티오스페시피어 단백질 효소의 유전자 단편을 얻는 단계로 이루어진다.
- <15> 본 발명에 사용된 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)는 기내의 무균상태에서 키운 것에서 샘플을 채취하여 RNA 분리에 사용할 수 있다. 본 발명의 에피티오스페시피어 단백질 효소 유전자를 분리하는 과정은 다음과 같다.
- <16> 첫째, 에피티오스페시피어 단백질 유전자 조사는 하기와 같이 수행하였다.
- <17> (1) NCBI GenBank를 통해 에피티오스페시피어 단백질 유전자의 시퀀스를 수집한다.
- <18> (2) 수집된 유전자 시퀀스 중 채소작물에 속하는 작물들을 우선 대상으로 하여 코딩 지역만을 분리한 뒤 유전자 코딩 지역만을 정렬(alignment)한다.
- <19> (3) 정렬(alignment)한 결과 중 상동성 빈도가 높은 곳을 택하여 프라이머를 작성한다. 상기와 같이 작성된 프라이머 세트의 염기서열은 서열번호 1부터 4까지 해당한다.
- <20> 둘째, 배추로부터 RNA의 분리는 GibcoBRL회사에서 제공된 트리졸(Trizol) 시약을 사용하여 하기와 같이 수행한다.
- <21> (1) 배추(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)의 잎을 액체질소를 이용하여 파쇄 한다.
- <22> (2) 1ml 트리졸(Trizol) 용액을 첨가하고 잘 섞은 후 5분 동안 상온에 둔다.
- <23> (3) 그것에 200 μ l의 클로로포름(chloroform)을 넣고 섞은 다음 다시 4℃에서 13,000rpm으로 10분 동안 원심분리 한 뒤 그 혼합액의 상등액을 새 튜브로 옮긴다.
- <24> (4) 이소프로페놀 (isopropanol)을 500 μ l를 넣고 13,000rpm으로 15분간 원심 분리하여 침전시킨다.
- <25> (5) 그 후, 이소프로페놀을 제거하고 침전물을 75% 에탄올로 세척한 다음, 에탄올이 없도록 잘 건조시킨 후 DEPC 처리된 멸균 증류수에 녹여 사용한다.

효 과

<26> 본 발명은 배추로부터 분리해 낸 페닐에틸 이소시오시아네이트 생성에 관련된 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자에 관한 것으로, 이를 이용하여 식물 형질전환시, 식물체내 저항력 향상에 관련되며 병충해에 강한 식물재배가 가능하여 농업적으로 식물재배시 농약사용을 줄일 수 있어, 이는 환경적, 경제적으로 매우 유용하며, 또한 향암 물질을 다량 함유하게 함으로써 기능성을 가지는 배추를 제공할 수 있는 효과가 있어, 농작물 재배 산업에 있어 매우 유용한 발명인 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<27> 이하에서, 본 발명을 하기의 실시예 및 실험예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 다만, 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명의 예시일 뿐이며, 본 발명의 권리범위가 이에 의하여 한정되지는 않는다.

<28> **실시예 1: 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소를 분리하기 위한 프라이머의 작성**

<29> 에피티오스페시피어 단백질 유전자의 공통된 부분을 찾기 위하여 기존에 발표되어 있는 작물별 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 유전자를 NCBI Genbank에서 검색하였다. 유전자의 전체 염기서열을 수집하기 위해 엔트레즈 프로그램(Entrez program)을 사용하였다. 검색방법으로는 유전자명을 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein)을 검색어로 선정하였다.

<30> 수집된 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소 유전자 가운데, 같은 배추과 식물인 양배추(*Brassica oleracea*)와 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)등의 염기서열을 선발, 염기서열의 상동성을 많이 보이는 부분을 BLAST program 으로 찾은 뒤 그 부분을 중심으로 프라이머를 제작하였다. 작성된 프라이머는 하기 표 1과 같다.

표 1

프라이머	염기서열
ESP f1(서열번호 1)	5'-GCG AGT GGA TCA AGG TAA-3'
ESP f2(서열번호 2)	5'-GCA GAA AGG AGG AGA GGG A -3'
ESP f3(서열번호 3)	5'-ATG GCT CCC ACA TTG CAA GG-3'
ESP f4(서열번호 4)	5'-TAG ACT AAC AGT GAA AGA AG-3'
ESP r1(서열번호 5)	5'-AAA CCC GTA AAC CAC CCA-3'
ESP r2(서열번호 6)	5'-GAG ACA CAA CAC AAA TAG TA-3'
ESP r3(서열번호 7)	5'-TGA GAC ACA ACA CAA ATA GT-3'

<32> **실시예 2: 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소 유전자의 분리**

<33> 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 효소 유전자의 분리는 확보된 RNA를 주형으로 oligo dT 프라이머와 역전사효소를 이용하여 cDNA를 합성한 뒤, 작성한 프라이머로 PCR하여 분리하였다.

<34> cDNA합성 프로그램 조건은 1μg의 RNA를 oligo dT 프라이머와 70℃에서 두어 RNA 이차구조를 제거한 뒤 42℃에서 30분간 역전사시키고, 사용된 역전사효소를 불활성화 시키기 위해 75℃에서 10분간 두었다. 그 후 합성된 cDNA 1 마이크로그램을 사용, 작성한 프라이머와 태크 중합효소(tag polymerase)로 PCR하였는데 그 프로그램은 96℃에서 2분간 초기 변성 시간을 둔 뒤 96℃에서 30초, 58℃에서 30초, 72℃에서 1분으로 40 순환(cycle) 실행하고 마지막으로 72℃에서 10분간 최종 연장시킨 후 4℃를 유지하여 전체 반응을 종료하였다.

<35> 각각의 프라이머들로 증폭된 단편들은 그 각각의 염기서열을 분석하기 위해 PCR 산물용 벡터 pGEM-T 이지 벡터(easy vector)에 클로닝하고 삽입된 자리에 근접한 T7, SP6 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

<36> **실시예 3: 배추의 에피티오스페시피어 단백질(Epithiospecifier Protein) 유전자의 단편의 확인**

<37> 염기서열 분석용 pGEM-T 이시 벡터 내부에 클로닝 된 PCR 단편의 염기서열 분석은 GenBank BLAST 프로그램을 사용하여 이루어졌다. 그 결과 ESPf1(서열번호 1)와 ESPr1(서열번호 3) 프라이머로 증폭된 약 500bp 산물, ESPf2(서열번호 2)와 ESP r1(서열번호 3) 프라이머로 증폭된 약 500bp 산물, ESP f3 (서열번호 3)와 GeneRacerTM 3'Primer 로 증폭된 약 1.2KB 산물, ESP f4(서열번호 4)와 ESP r2 (서열번호 6)프라이머로 증폭된 약 1.4KB 의 산물, ESP f4와 ESP r3(서열번호 7)프라이머로 증폭된 1.4 KB 의 산물, 각각의 염기서열과 아미노산 서열을 분

석한 결과, 브로컬리의 에피티오스페시피어 프로테인과 86%의 상동성을, 양배추와 아라비도시스에서 에피티오스페시피어 프로테인과 80%의 상동성을 보였다. 즉, RNA를 대상으로 ESP f1/r2, ESP f2/r1, ESP f3/3' GeneRacer™ 3'Primer, ESP f4/r2, ESP f4/r3을 이용해 RT-PCR을 수행한 결과 배추의 에피티오스페시피어 프로테인 효소 유전자의 대부분이 증폭된다는 것을 확인할 수 있었다.

<38> **실시예 4: 배추의 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein) 효소 유전자 분리**

<39> 상기 실시예 2 및 3을 통해 분리한 배추의 에피티오스페시피어 프로테인 효소 유전자의 단편을 기본으로 유전자 전체를 확보하기 위해 3 프라임 레이스 테크닉(3RACE technique)을 이용하였다.

<40> GeneRacer™ Oligo dT 프라이머를 이용해 에피티오스페시피어 프로테인의 RNA 3'쪽을 포함한 폴리 A 시그널에 부착한 뒤 이미 확보된 부분의 상부 프라이머(ESPf1, ESPf2, ESPf3, ESPf4)와 하부프라이머(ESP r1, ESP r2, ESP r3)로 RT-PCR하여 확보하였다. 사용된 GeneRacer™ Oligo dT PRIMER와 GeneRacer™ 3'Primer, Invitrogen 회사에 의해 제공되었으며 그 염기서열은 다음과 같다.

<41> GeneRacer™ oligo dT primer;

<42> 5' gct gtc aac gat acg cta cgt aac ggc atg aca gtg(t)₁₈ 3'

<43> GeneRacer™ 3'Primer ;

<44> 5' gct gtc aac gat acg cta cgt aac g 3'

<45>

<46> 이렇게 확보한 단편도 마찬가지로 염기서열 분석용 pGEM-T 이지 벡터 내부에 클로닝한 뒤 그 염기서열을 확인한 결과 양배추(*Brassica oleracea*) 에피티오스페시피어 프로테인(ESP) 장형(long form) mRNA와 가장 높은 상동성을 보였으며, 전체 유전자가 확보되었음을 확인하였다. 그것이 배추로부터 분리된 앞부분을 제외한 전체 에피티오스페시피어 프로테인(Epithiospecifier Protein) 효소를 코딩하는 유전자로 결정, 서열번호 4에 그 염기서열을 제시한다.

도면의 간단한 설명

<47> 도 1a는 esp f1/r1, esp f2/r1 프라이머를 사용한 RT-PCR에 의해 배추로부터 증폭된 에피티오스페시피어 프로테인 효소를 코딩하는 유전자의 단편을 전기영동한 사진이다.

<48> 도 1b는 GeneRacer 3' nested 프라이머를 사용한 3RACE에 의해 배추로부터 증폭된 에피티오스페시피어 프로테인 효소를 코딩하는 유전자의 단편을 전기영동한 사진이다.

<49> 도 1c는 5' UTR 부분에서 작성한 프라이머와 종결코돈 뒤쪽에서 작성한 프라이머를 사용하여 RT-PCR에 의해 배추로부터 증폭된 에피티오스페시피어 프로테인 효소를 코딩하는 유전자를 전기영동한 사진이다.

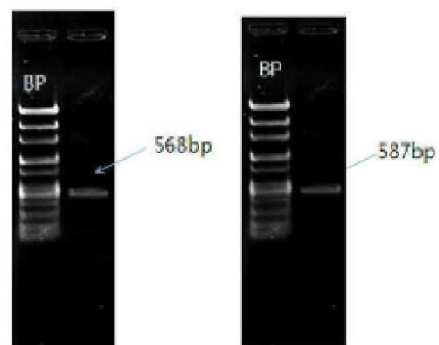
<50> 도 2a는 RT-PCR에 의해 분리된 배추의 에피티오스페시피어 프로테인 효소 유전자의 시퀀스와 양배추(*Brassica oleracea*), 아라비도시스(*Arabidopsis thaliana*) 각각의 시퀀스간에 상동성 비교 결과이다.

<51> 도 2b는 RT-PCR에 의해 분리된 배추의 에피티오스페시피어 프로테인 효소 유전자의 아미노산 시퀀스 결과이다.

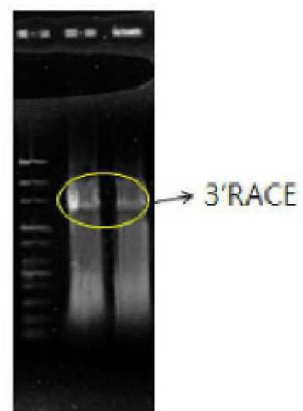
<52> 도 2c는 RT-PCR에 의해 분리된 배추의 에피티오스페시피어 프로테인 유전자의 아미노산 시퀀스와 양배추(*Brassica oleracea*)의 에피티오스페시피어 프로테인 유전자의 아미노산 시퀀스간에 상동성 비교 결과이다.

도면

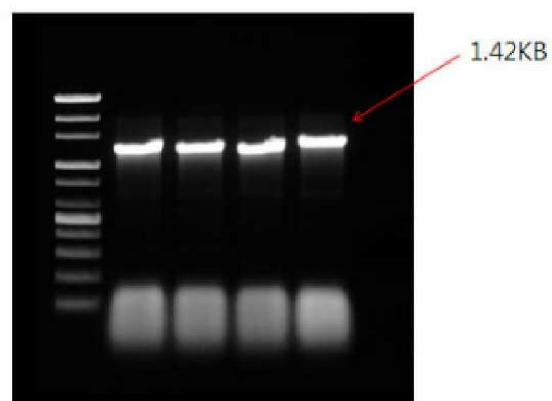
도면1a



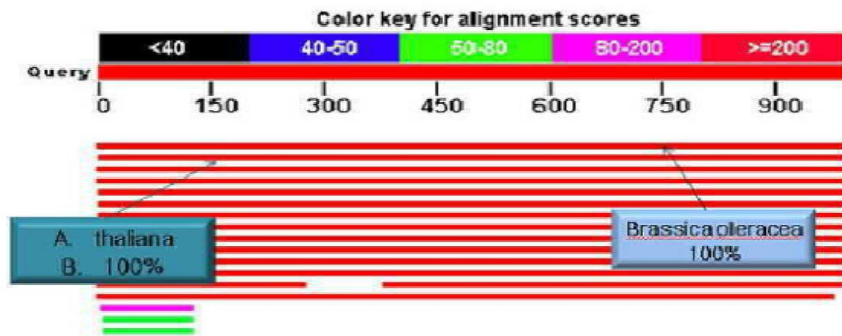
도면1b



도면1c



도면2a



도면2b

MAPTLQGEWI KVQQKGGEGP GARSSHGIAV VGDKLYSFGG ERTPNISIDK HLYVDFDNTH
TWSIAPANGQ APNVQALGTR MVAVGTMLYL FGGRDEKKQF DDFYSYD TVK QEWKFITKLD
EEGGPEARTY HSMASDENHV YVFGGVSKGG TNKTPFRFRT IEAYNIADGK WAQLPDPGEQ
FPRFERRGGA GFIVVEGKI W VVYGFATSPD PNGKNDYESD LVHYFDPATQ KWTEVETKGE
KPSPRSVFAH AAVGKYIIF GGEVWDPNG HLGPGTLTNE GYALNTETLV WEKFGGGAEP
GELGWPAYTT ATVYKGQGLL MHGGRPTNK RTDEMYFYAV HSA*

도면2c

Score = 635 bits (1639), Expect = 2e-180					
Identities = 292/343 (85%), Positives = 320/343 (93%), Gaps = 0/343 (0%)					
Query	1	MAPSVQGEWIKVEQKGGQTPGPRSSHGIAVVGDKLYSFGGELTPNISIDKLVVDFDNTH	60		
		MAP++QGEWIKV+QKGG+ PG RSSHGIAVVGDKLYSFGGE TPNISIDK LVVDFDNTH			
Subjct	1	MAPTLQGEWIKVQKGGEGPGARSSHGIAVVGDKLYSFGGERTPNISIDKLVVDFDNTH	60		
Query	61	TWSISPSKGAVDPVKALGTRMYSVGTCLVLFGGGRDENKKFDFYSYD TVTNKTLTLD	120		
		TWSI+P+ G AP+V+ALGTRMY+VGT LVLFGGGRDE K+FDYFYSYD TV EN +T LD			
Subjct	61	TWSIAPANGQAPNVQALGTRMYAVGTMLYLFGGRDEKKQFDFYSYD TVKQEWKFITKLD	120		
Query	121	EEGGPEARTVHSMASDENHVYVFGGVSKGGTNKTPFRFRTIEAVNIADGKNSQLPDPGEQ	180		
		+EEGGPEARTVHSMASDENHVYVFGGVSKGGTNKTPFRFRTIEAVNIADGKN+QLPDPGEQ			
Subjct	121	EEGGPEARTVHSMASDENHVYVFGGVSKGGTNKTPFRFRTIEAVNIADGKNQLPDPGEQ	180		
Query	181	FPRFERRGGAGFVYVVGKIVVYGFATSPDPNGKNYESDQVDFDPATQKWTEVETKGE	240		
		FPRFERRGGAGF+VY+GKI VVYGFATSPDPNGKNYESD V ++DPATQKWTEVETKGE			
Subjct	181	FPRFERRGGAGFIVVEGKI VVYGFATSPDPNGKNYESD LVHYFDPATQKWTEVETKGE	240		
Query	241	KPSARSYFGHVVVGKIVLIFGGETWDPKHLGPGTLSDGFALDTETLVNERFGGGAEP	300		
		KPS RSYF HA VGKVI+IFGGE WDPD HLGPGTL++EG+AL+TETLVNE+FGGGAEP			
Subjct	241	KPSPRSVFAHAAVGKYIIFGGEVWDPNGHLGPGTLTNEGVALTETLVNEKFGGGAEP	300		
Query	301	GELGWPGVTTATVYKGQGLLMHGGRPTNNRTDELVFVAVNSA	343		
		G+LGWP VTTATVYKG+GLLMHGGRPTN RTDE+VFVAV+SA			
Subjct	301	GELGWPAVTTATVYKGQGLLMHGGRPTNKRRTDEMYFYAVHSA	343		

서열 목록

- <110> Industry Academic Cooperation Foundation of KyungHee University
<120> glutathione S-trnasferase coding gene

<160> 1

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 1236

<212> DNA

<213> Brassica campestris ssp. pekinensis

<400> 1

```

agcagaaagg aggagaggga cctggagcaa gaagtcaca cgcatagcc gtggtcggag      60
acaagtctac tctttcggtg gcgagcgtac tccaaacatt tccatcgaca aacaccttta      120
cgtctttgac ttcaacactc acacatggtc aatcgccccg gccaacggac aagcccctaa      180
cgtccaggct ctgggcaccc gcatgggtgc cgtgggaact atgctctatc tattcggagg      240
ccgtgatgag aagaaacagt tcgacgactt ttactcgtac gatacgggtga aacaggagtg      300
gaagttcadc accaagctcg atgaagaggg aggacccgag gcttgtactt accactcgat      360
ggcttcggat gaaaaccacg tgtatgtttt cgttgggggtg agcaaaggcg ggaccaacaa      420
gacccccctc aggttcagga ccatcgaggc gtataacatt gctgatggga agtgggctca      480
gtacctgat cctggggagc agttccctag gttcgagaga agaggaggag ctggattcat      540
tgtgttgga gaaagattt ggggtggttta cgggtttgca acttcgcctg atcctaattg      600
aaaaaacgac tatgagtctg atcttgtgca ctactttgat cctgtactc aaaagtgagc      660
cgaagtggag actaaaggag agaaaccttc tccgaggagc gtgtttgcgc atgcggcagt      720
agggaatac ataataatat ttggaggtga ggtctggccg gacccaaacg gacatttggg      780
tcctggaaca ttgaccaatg agggttacgc gttgaacacc gagactctgg tgtgggagaa      840

```

gtttggagga ggagctgagc cgggtgaact cggttggcct gcctacacga ctgctaccgt	900
ctatggaaag caaggcctcc tcatgcatgg agggaagcgt ccaaccaaca aacgtaccga	960
tgaaatgtac ttctacgcag tccattccgc ctaagcgatg ctctctcact actctcaaag	1020
gttcgtttgt gtggtgagta ttattactat ttgtgttggtg tctcataata tgtaagataa	1080
aataaaggtc tggtaaact atgaaaatca gccaaactga cgtggcttat tatcaagtta	1140
aactatgtgt gtttctcggt tgcaaaactg tactgggttg aataatatgt actactacta	1200
cttgtgtgtt taataaatga tatgaagtta tctaca	1236