



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0149402
(43) 공개일자 2024년10월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01H 1/00 (2006.01) A01H 1/02 (2006.01)
A01H 1/04 (2006.01) A01H 5/08 (2018.01)
A01H 5/10 (2018.01) A01H 6/82 (2018.01)
- (52) CPC특허분류
A01H 1/126 (2021.01)
A01H 1/021 (2024.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7027016
(22) 출원일자(국제) 2023년02월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년08월12일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/053979
(87) 국제공개번호 WO 2023/156569
국제공개일자 2023년08월24일
(30) 우선권주장
22157283.7 2022년02월17일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (71) 출원인
신젠타 크롭 프로텍션 아게
스위스 바젤 로젠탈슈트라세 67 (우: 4058)
- (72) 발명자
라부레이, 셀린느
프랑스 84260 싸히앙 루트 데 파스키에 도멘 두
물랑 346
알베르트, 엘리스
프랑스 31790 생쑤비흐 슈망 드 이호빗 1228
샤세뉴, 아르노
프랑스 31790 생쑤비흐 슈망 드 이호빗 1228
- (74) 대리인
특허법인(유)남아이피그룹

전체 청구항 수 : 총 24 항

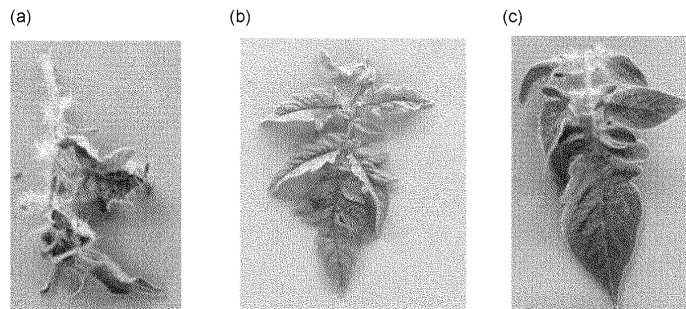
(54) 발명의 명칭 TOBRFV 저항성을 갖는 신규한 토마토 식물

(57) 요약

본 발명은 ToBRFV 감염에 대해 증가된 저항성을 나타내는 신규한 토마토 식물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 식물의 종자 및 부분, 예를 들어, 열매에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 이러한 종자 및 식물을 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 증가된 저항성과 관련된 신규한 유전자 서열 및 상기 신규한 유전자 서열과 관련된 분자 마커에 관한 것이다.

대표도

대표적인 ToBRFV 증상



(52) CPC특허분류

A01H 1/045 (2024.01)

A01H 5/08 (2022.05)

A01H 5/10 (2022.05)

A01H 6/825 (2022.05)

명세서

청구범위

청구항 1

ToBRFV 감염에 대해 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 솔라눔 리코페르시쿰(*Solanum lycopersicum*) 식물로서, ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 솔라눔 갈라파겐스(*Solanum galapagense*)로부터 유전자이입된 서열을 그의 게놈에 포함하고, 상기 유전자이입된 서열은 1번 염색체 상에 위치하고 하기 SNP 마커들 중 적어도 하나를 포함하는, 재배 토마토 식물:

- a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형.

청구항 2

제1항에 있어서,

- a) SNP 마커 2에 대한 A 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 7의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 10의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 8의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있고/있거나;
- b) SNP 마커 3에 대한 G 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 12의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 15의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 13의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있고/있거나;
- c) SNP 마커 4에 대한 G 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 17의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 20의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 18의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있는, 식물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 유전자이입된 서열은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11, 및/또는 SEQ ID NO: 16 중 적어도 하나, 또는 상기 서열 중 하나 이상과 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는, 식물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자이입된 서열은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조에 포함되는, 식물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조, 또는 솔라눔 갈라파겐스 수탁 LA0483을 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열을 함유하지 않는 토마토 식물과 교배함으로써 획득되는, 식물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식물은 근교계, 2배성반수체, 2배체, 또는 잡종 식물인, 식물.

청구항 7

대표적인 종자가 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁된 토마토 식물 19TEP080670의 식물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 식물의 식물 부분.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 식물 또는 식물 부분을 생산하는 종자.

청구항 10

ToBRFV 감염에 대해 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 생산하기 위한 방법으로서,

a) 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 식물을 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열이 결여된 재배 토마토 식물과 교배하는 단계;

b) ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 1번 염색체 상에 위치한 상기 유전자이입된 서열을 포함하는 자손 식물을 선택하는 단계로서, 상기 선택하는 단계가 하기 SNP 마커들:

i) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;

ii) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는

iii) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나를 검출하는 것을 포함하는 단계를 포함하고,

이에 의해 ToBRFV에 대해 향상된 저항성을 갖는 식물을 생산하는, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 방법은

c) 선택된 자손을 자가생식하거나 선택된 자손을 또 다른 토마토 식물과 교배하여 추가의 자손을 생산하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 추가의 자손은 선택되어 2 세대 내지 10 세대 초과에 걸쳐 자가생식/교배되는, 방법.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)의 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조, 또는 *솔라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483인, 방법.

청구항 14

ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 F1 토마토 식물을 생산하기 위한 방법으로서, 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 식물인 근교계 토마토 식물을 상이한 근교계 토마토 식물과 교배하여 F1 잡종 자손을 생산하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 15

ToBRFV 감염에 대해 저항성이고 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열의 적어도 1개의 카피를 갖는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 확인하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 하기 SNP 마커들:

a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;

b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는

c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나를 검출하는 단계를 포함하고,

이에 의해 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 토마토 식물을 확인하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 방법은 상기 하나 이상의 SNP 마커를 포함하는 토마토 식물을 선택하는 단계, 및 선택된 토마토 식물을 제2 토마토 식물과 교배하여 상기 SNP 마커들 중 적어도 하나를 포함하고 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 자손 토마토 식물을 생산하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

토마토 종자를 생산하는 방법으로서, 방법은 제9항의 종자로부터 토마토 식물을 성장시키는 단계, 및 식물이 추가의 토마토 종자를 생산하게 하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 18

ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물의 유전자형을 평가하는 방법으로서, 상기 방법은

- a) 상기 식물로부터 샘플을 제공하는 단계, 및
 - b) 상기 샘플에서 1번 염색체 상에 위치하고 상기 ToBRFV 저항성과 관련된 QTL 유전자좌를 검출하는 단계로서, 상기 QTL 유전자좌가 SNP 마커 1 및 5, 및 하기 SNP 마커들:
 - i) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
 - ii) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형;
 - iii) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는,
 - iv) SNP 마커 1 및 5에 의해 측정된 상기 QTL 유전자좌와 관련된 임의의 다른 DNA 마커 중 적어도 하나에 의해 측정되는, 단계
- 를 포함하는, 방법.

청구항 19

재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물에서 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 유전자이입된 서열을 확인하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 식물에서 상기 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 QTL 유전자좌와 유전적으로 연관된 적어도 하나의 DNA 마커의 대립유전자를 검출하는 단계를 포함하고, 상기 대립유전자는 SNP 마커 1 및 5에 의해 측정된 게놈 영역의 1번 염색체 상에 위치하는 상기 QTL 유전자좌의 10cM 내에서, 바람직하게는 5cM 내에서 매핑되는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 QTL 유전자좌는 하기 SNP 마커들 중 적어도 하나에 의해 확인될 수 있는, 방법:

- a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 유전자이입된 서열을 포함하는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 선택하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 22

상기 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 QTL을 확인함으로써 ToBRFV에 대한 증가된 저항성을 나타내는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 확인하는 방법으로서, 방법은

- a) 토마토 식물로부터 적어도 하나의 DNA 마커를 검출하는 단계로서, DNA 마커는 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 염색체 간격과 연관되고, 상기 염색체 간격은 SEQ ID NO: 1 및 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 SNP 마커에 의해 각각의 측이 측정되는, 단계; 및

b) 상기 적어도 하나의 DNA 마커를 포함하는 상기 토마토 식물을 확인하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 23

1번 염색체 상의 ToBRFV 저항성 형질의 야생형 토마토 공급원을 확인하는 방법으로서,

a) 야생형 토마토 획득물(accession) 또는 복수의 야생형 토마토 획득물을 제공하는 단계,

b) 표 4에 나열된 SNP 마커들 중 적어도 하나를 검출하는 키트를 사용하여 상기 야생형 토마토 획득물 또는 복수의 야생형 토마토 획득물을 스크리닝하는 단계, 및

c) 표 4의 목록에서 선택된 상기 적어도 하나의 SNP 마커를 포함하는 야생형 토마토 획득물을 확인하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

1번 염색체 상에 위치하고 증가된 ToBRFV 저항성과 관련된 QTL 유전자좌의 존재에 대해 토마토 식물의 집단을 스크리닝하기 위한 SEQ ID NO: 6, 11 또는 16 중 임의의 서열의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 ToBRFV 감염에 대해 증가된 저항성을 나타내는 신규한 토마토 식물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 식물의 종자 및 부분, 예를 들어, 열매에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 이러한 종자 및 식물을 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 증가된 저항성과 관련된 신규한 유전자 서열 및 상기 신규한 유전자 서열과 관련된 분자 마커에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 토마모바이러스(Tobamovirus) 속에 속하는 바이러스들과 같은 바이러스는 토마토 유형 및 재배 방법에 관계없이 토마토 재배자에게 상당한 피해를 준다. 토마모바이러스(예를 들어, 담배 모자이크 바이러스(Tobacco Mosaic Virus; TMV), 토마토 모자이크 바이러스(Tomato Mosaic Virus; ToMV)) 또는 토마토 마일드 모틀 바이러스(Tomato Mild Mottle Virus; ToMMV)에 의한 감염은 전형적으로 현장 작업자, 도구 및 식물 및 열매의 수동 취급을 통한 기계적 전파를 통해, 또는 동등하게 방제에 난관이 되는 곤충과 같은 천연 벡터를 통해 현장에 걸쳐 급속히 확산된다.

[0003] 2014년 및 2015년에, 이스라엘 및 요르단의 토마토에서 각각 새로운 토마모바이러스가 최초로 보고되었다(Luria *et al.*, 2017, Salem *et al.*, 2016). 이는 작물에 초래된 주요 증상 중 하나, 즉, 황색 및/또는 갈색 부위가 있는 열매의 변형을 따서 토마토 브라운 루고스 열매 바이러스(Tomato Brown Rugose Fruit Virus; ToBRFV)로 명명되었다. 이러한 ToBRFV 발생은 바이러스가 토마모바이러스 저항성 유전자 Tm-2²를 극복할 수 있는 것으로 나타났기 때문에 토마토 산업에서 특히 우려된다. 따라서, 재배자 및 종자 산업을 위한 ToBRFV 저항성 토마토 작물을 재배하기 위한 해결책이 필요하다.

[0004] ToBRFV 저항성에 대해 가능한 공급원은 특허 및 비특허 문헌에 기재되어 있다.

[0005] 예를 들어, 제WO 2018/219941호에는 6번 염색체, 9번 염색체 및 11번 염색체 상에 위치하는 QTL이 보고되어 있는 한편, 제WO 2019/110821호, 제WO 2020/018783호, 제WO 2021/110855호 및 제WO 2021/170868호에는 11번 염색체 상에 위치하는 QTL 또는 유전자가 또한 개시되어 있다.

[0006] 제WO 2020/148021호 및 제WO 2022/013452호에는 8번 염색체 상에 위치하는 QTL 또는 유전자가 보고되어 있다.

[0007] 마지막으로, 제WO 2021/213892호에는 2번 염색체 상에 위치하는 공지된 저항성 유전자인 *tm-1*의 대안적인 대립 유전자가 개시되어 있다.

[0008] 기술된 유전자좌의 수에도 불구하고, ToBRFV 감염의 기초가 되는 기전이 아직 결정되지 않았기 때문에 어떤 QTL 또는 유전자(이들의 조합)가 현장에서 ToBRFV에 대한 저항성을 효과적으로 제공할 것인지는 아직 명확하지 않다. 예를 들어, Zinger 등은 2번 염색체 상에 위치한 유전자좌가 11번 염색체 상에 위치한 유전자좌와 상호작용하여 ToBRFV 저항성을 조절한다고 제안한다(Zinger *et al.*, 2021).

[0009] 결과적으로, 식물, 특히 토마토 식물에서 ToBRFV 방제를 추가로 개선하기 위한 대안적인 해결책이 필요하다.

발명의 내용

[0010] 본 발명은 증가된 ToBRFV 저항성 형질을 포함하는 신규한 토마토 식물을 제공함으로써 ToBRFV에 대한 개선된 저항성에 대한 필요를 해결한다. 육종 집단에서 증가된 ToBRFV 저항성과 관련된 하나의 신규한 QTL을 확인하고 그의 상응하는 서열을 엘리트 토마토 식물에 유전자이입함으로써, 토마토 식물의 ToBRFV 저항성 능력이 증가하였고, 이는 전체 식물 성능에 긍정적인 영향을 미친다. 1번 염색체(QTL1) 상에 위치한 ToBRFV 저항성 QTL 및 그의 상응하는 유전자이입된 서열은 열성 성질을 갖고, 따라서 서열 중 2개의 카피는 개선된 ToBRFV 저항성 표현형을 제공하는 데 필요하다.

[0011] 종합하면, 본 발명 내에 개시된 개선된 ToBRFV 저항성 토마토 식물의 특징은 ToBRFV 압력을 받는 밭에 토마토 품종을 배치할 때 경제적 및 상업적 효율을 향상시키기 위한 신규한 해결책을 토마토 재배자에게 제공한다.

[0012] 첫 번째 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV 감염에 대해 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰*(*Solanum lycopersicum*) 식물로서, ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 *솔라눔 갈라파겐스*(*Solanum galapagense*) 식물로부터 유전자이입된 서열을 그의 게놈에 포함하고, 상기 유전자이입된 서열은 1번 염색체 상에 위치하고 하기 SNP 마커들:

[0013] a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;

[0014] b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는

[0015] c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나를 포함하는, 재배 토마토 식물을 제공한다.

[0016] 추가로, 선행 구현예의 식물에서는 하기와 같다:

[0017] a) SNP 마커 2에 대한 A 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 7의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 10의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 8의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있고/있거나;

[0018] b) SNP 마커 3에 대한 G 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 12의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 15의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 13의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있고/있거나;

[0019] c) SNP 마커 4에 대한 G 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 17의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 20의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 18의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있다.

[0020] 본 발명의 추가의 구현예에서, 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11, 및/또는 SEQ ID NO: 16 중 적어도 하나, 또는 상기 서열 중 하나 이상과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0021] 본 발명의 추가의 구현예에서, 상기 유전자이입된 서열은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조에 포함된다.

[0022] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 식물을 제공하며, 상기 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조를 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열을 함유하지 않는 토마토 식물과 교배함으로써 취득된다.

[0023] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 식물을 제공하며, 상기 식물은 근교계, 2배성반수체, 2배체, 또는 잡종 식물이다.

[0024] 추가의 구현예는, 특히 열매를 생산하는 식물로 성장했을 때, 본 발명에 따른 ToBRFV 저항성 형질을 여전히 나타내는 식물의 잎, 줄기, 뿌리, 꽃 또는 꽃의 부분, 열매, 새싹, 배우체, 포자체, 화분, 꽃밥, 소포자, 난세포, 집합자, 배, 분열부(meristematic region), 캘러스 조직, 종자, 자른 가지, 세포 또는 조직 배양물 또는 임의의 다른 부분 또는 생성물을 포함하지만 이로 한정되지 않는 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물로부터 얻을 수 있는 식물 부분, 기관 또는 조직을 제공한다.

- [0025] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 식물을 생산하는 종자를 제공한다.
- [0026] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV 감염에 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 생산하기 위한 방법으로서:
- [0027] a) 선행 구현예들 중 어느 하나에 따른 식물을 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열이 결여된 재배 토마토 식물과 교배하는 단계;
- [0028] b) ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 1번 염색체 상에 위치한 상기 유전자이입된 서열을 포함하는 자손 식물을 선택하는 단계로서, 상기 선택하는 단계가 하기 SNP 마커들:
- [0029] i) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- [0030] ii) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- [0031] iii) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나를 검출하는 것을 포함하는 단계를 포함하고,
- [0032] 이에 의해 ToBRFV에 대해 향상된 저항성을 갖는 식물을 생산하는 방법을 제공한다.
- [0033] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것의 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 하기를 추가로 포함한다:
- [0034] c) 선택된 자손을 자가생식하거나 선택된 자손을 또 다른 토마토 식물과 교배하여 추가의 자손을 생산하는 단계.
- [0035] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 추가의 자손은 선택되어 2 세대 내지 10 세대 초과에 걸쳐 자가생식/교배된다.
- [0036] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것의 방법에 관한 것이고, 단계 a)의 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조이다.
- [0037] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 F1 토마토 식물을 생산하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 선행 구현예들 중 어느 하나에 따른 식물인 근교계 토마토 식물을 상이한 근교계 토마토 식물과 교배하여 F1 잡종 자손을 생산하는 단계를 포함한다.
- [0038] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내고 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열의 적어도 1개의 카피를 갖는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 확인하기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기 SNP 마커들:
- [0039] a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- [0040] b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- [0041] c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나를 검출하는 단계를 포함하고,
- [0042] 이에 의해 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 토마토 식물을 확인한다.
- [0043] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 적어도 하나 이상의 SNP 마커를 포함하는 토마토 식물을 선택하는 단계, 및 선택된 토마토 식물을 제2 토마토 식물과 교배하여 상기 SNP 마커들 중 적어도 하나를 포함하고 ToBRFV에 대해 증가된 저항성을 나타내는 자손 토마토 식물을 생산하는 단계를 추가로 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0044] 도 1은 실시예 2C에 기재되고 사용된 질병 척도를 나타내는 ToBRFV 병리학 검정 사진을 도시한다. (a) 감수성 등급(S 또는 1); (b) 중간 저항성 등급(IR 또는 5); (c) 높은 저항성 등급(HR 또는 9).
- 도 2는 감수성 체크 (a) 및 공여체 LA0483 식물 (b)로 수행된 ToBRFV 병리학 검정의 결과를 도시한다.
- 도 3은 ToMV 병원형 0(a), ToMV 병원형 2(b) 및 바이러스 부재(모의 시험) (c)가 접종된 공여체 LA0483 식물로 수행된 토마토바이러스 병리학 검정의 결과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0045] **정의**
- [0046] 본 출원의 범위 내에서 사용된 기술 용어 및 표현은 본원에서 하기에 달리 지시되지 않는 한 식물 육종 및 재배의 관련 분야에서 통상적으로 그에 적용되는 의미가 일반적으로 주어질 것이다.
- [0047] 본원 및 첨부된 청구범위에 사용되는 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 명확하게 달리 지시하지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "식물"에 대한 언급은 하나 이상의 식물을 포함하고, "세포"에 대한 언급은 세포들, 조직들 등의 혼합물들을 포함한다.
- [0048] "재배 토마토" 또는 "엘리트 토마토" 식물은 더 이상 천연 상태가 아니며 인간에 의한 관리에 의해 그리고 농업 용도 및/또는 인간의 소비를 위해 개발되고 재배 가능해진 식물을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해되고, 야생 토마토 획득물(accession), 예컨대, *솔라눔 갈라파겐스* 획득물을 제외한다. 예로서, 구현예에서, 본 발명에 따른 재배 또는 엘리트 토마토 식물은 식용 열매를 성장시킬 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 재배 토마토 식물은 잡종 식물이다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 재배 토마토 식물은 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물이다.
- [0049] "대립유전자"는, 상동 염색체의 동일한 유전자좌에 위치하기 때문에 유전에서 대안적인, QTL과 같은 임의의 종류의 식별 가능한 유전 결정자 또는 유전자의 상이한 형태와 동일하거나 관련된 다양한 유전 단위의 대안 또는 변이 형태를 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다. 그러한 대안 또는 변이 형태는 단일 뉴클레오타이드 다형성, 삽입, 역위, 전좌 또는 결실의 결과이거나, 예를 들어 화학적 또는 구조적 변형, 전사 조절 또는 번역후 변형/조절에 의해 일어나는 유전자 조절의 결과일 수 있다. 2배체 세포 또는 유기체에서, 주어진 유전자 또는 유전 요소의 2개의 대립유전자는 전형적으로 한 쌍의 상동 염색체 상의 상응하는 유전자좌를 점유한다.
- [0050] 상대적인 의미에서, 용어 "개선된 ToBRFV 저항성" 또는 "증가된 ToBRFV 저항성"은 본원에서 본 발명에 따른 식물, 예를 들어, ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 *솔라눔 갈라파겐스* 식물로부터 유전자이입된 서열을 포함하고 (여기서, 상기 유전자이입된 서열은 1번 염색체 상에 위치하고 SNP 마커 2 내지 4 중 적어도 하나를 포함함) 상기 유전자이입된 서열이 결여된 식물과 비교할 때 ToBRFV에 대해 더 저항성임을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0051] "개선된 ToBRFV 저항성"은 표준 오차를 사용하여 및/또는 스튜던트 시험을 사용하여 0.05 미만의 P 또는 0.01 미만의 P 및/또는 3 초과와 로드 점수에서 본 발명의 유전자이입된 서열이 결여된 대조 토마토 식물과 비교하여 ToBRFV에 대해 통계적으로 유의하게 개선된 저항성을 갖는 토마토 식물을 의미하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다(예를 들어, 실시예 섹션에 기재된 바와 같음).
- [0052] "표현형"은 유전적으로 제어되는 형질의 구별 가능한 특징(들)을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0053] "대조 토마토 식물"은 본 발명의 재배 토마토 식물과 실질적으로 동일한 유전적 배경을 갖는 토마토 식물을 의미하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해되며, 대조 식물은 개선된 ToBRFV 저항성과 연관된 본 발명의 유전자이입된 서열을 갖지 않는다. 대조 토마토 식물은 동일한 식물 품종에 속하는 토마토 식물일 수 있으며, 본 발명의 유전자이입된 서열을 포함하지 않는다. 대조 토마토 식물은 본 발명의 재배 토마토 식물과 동일한 시간 및 동일한 조건 하에 성장된다. 식물 품종은 본원에서 UPOV의 정의에 따라 이해된다. 따라서, 이상적인 대조 토마토 식물은, 대조 식물이 개선된 ToBRFV 저항성과 연관된 본 발명의 유전자이입된 서열을 갖지 않는다는 점을 제외하고 본 발명의 토마토 식물과 동일한 유전적 백그라운드를 갖는다면 근동질유전자계열, 근교계 또는 잡종일 수 있다.
- [0054] 용어 "형질"은 특징 또는 표현형을 지칭한다. 본 발명의 맥락에서, ToBRFV 저항성 형질은 개선된 ToBRFV 저항성 형질이다. 형질은 우성 또는 열성 방식으로, 또는 부분적 우성, 반-우성 또는 불완전-우성 방식으로 유전될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 1번 염색체 상에 위치한 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열은 열성이다. 따라서, 본 발명의 토마토 식물은 형질에 대해 동형접합성이다. 또한, 형질은 단일유전자성 또는 다유전자성일 수 있거나, 하나 이상의 유전자와 환경의 상호작용으로부터 생길 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 1번 염색체 상에 위치한 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열은 개선된 ToBRFV 저항성 형질(이에 따라 일유전성임)을 단독으로 부여하기에 충분하다.
- [0055] 용어 "잡종", "잡종 식물", 및 "잡종 자손"은 유전적으로 다른 모본으로부터 생산된 개체(예를 들어, 유전적으

로 이형접합성이거나 거의 이형접합성인 개체)를 지칭한다.

- [0056] 용어 "근교계"는 유전적으로 동형접합성이거나 거의 동형접합성인 집단을 지칭한다. 근교계는, 예를 들어, 여러 주기의 형제/자매 육종 또는 자가생식을 통해 또는 2배성반수체 생산으로 도출될 수 있다.
- [0057] 용어 "2배성반수체 계열"은 꽃밥 배양으로부터 발생하는 안정한 근교계를 지칭한다. 특정 배지 및 조건에서 재배된 일부 화분립(반수체)은 n 개의 염색체를 함유하는 묘목을 발달시킬 수 있다. 이어서, 이러한 묘목은 "배가"되고 $2n$ 의 염색체를 함유한다. 이러한 묘목의 자손은 "2배성반수체"로 명명되고, 본질적으로 더 이상 분리되지 않는다(안정하다).
- [0058] 용어 "유전적으로 고정된"은 상기 유전자 서열을 정상적으로 함유하지 않는 식물의 계통으로 안정하게 혼입된 유전자 서열을 지칭한다. 유전적으로 고정될 때, 유전자 서열은 유성 교배에 의해 다른 식물에게 쉽고 예측 가능한 방식으로 전달될 수 있다.
- [0059] 용어 "대목"은 접가지 식물에 대한 리셉터클로서 사용되는 식물을 지칭한다. 전형적으로, 대목 식물 및 접가지 식물은 상이한 유전자형을 갖는다. 구현예에서, 본 발명에 따른 식물은 대목 식물로서 사용된다.
- [0060] 용어 "식물" 또는 "식물 부분"은 이하에서, 특히 열매를 생산하는 식물로 성장했을 때, 본 발명에 따른 개선된 ToBRFV 저항성 형질을 여전히 나타내는 식물의 잎, 줄기, 뿌리, 꽃 또는 꽃의 일부, 열매, 새싹, 배우체, 포자체, 화분, 꽃밥, 소포자, 난세포, 접합자, 배, 분열부, 캘러스 조직, 종자, 자른 가지, 세포 또는 조직 배양물 또는 임의의 다른 부분 또는 생성물을 포함하지만 이로 한정되지 않는 본 발명에 따른 토마토 식물로부터 얻을 수 있는 식물 부분, 기관 또는 조직을 지칭한다.
- [0061] "식물"은 임의의 발달 단계에 있는 임의의 식물이다.
- [0062] 토마토 식물 종자는 임의의 구현예에 따른 토마토 식물로 성장하는 종자이다.
- [0063] "식물 세포"는 원형질체와 세포벽을 포함하는 식물의 구조적 및 생리적 단위이다. 식물 세포는 분리된 단일 세포 또는 배양된 세포의 형태일 수 있거나, 예를 들어 식물 조직, 식물 기관, 또는 전체 식물과 같은 상위 조직 단위의 일부로서 존재할 수 있다.
- [0064] "식물 세포 배양물"은, 예를 들어, 다양한 발달 단계에 있는 원형질체, 세포 배양물 세포, 식물 조직의 세포, 화분, 화분관, 밀씨, 배낭, 접합자 및 배와 같은 식물 단위의 배양물을 의미한다.
- [0065] "식물 기관"은 뿌리, 줄기, 잎, 꽃눈, 또는 배와 같은 식물의 구별되며 시각적으로 구조화되고 차별화된 부분이다.
- [0066] 본원에 사용되는 바와 같은 "식물 조직"은 구조적 및 기능적 단위로 조직화된 식물 세포 군을 의미한다. 인플란타(*in planta*) 또는 배양 중인 식물의 임의의 조직이 포함된다. 이 용어는 전체 식물, 식물 기관, 식물 종자, 조직 배양물 및 구조적 및/또는 기능적 단위로 조직화된 임의의 식물 세포 군을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0067] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "육종" 및 그의 문법적 변형체는 자손 개체를 생성하는 임의의 과정을 지칭한다. 육종은 유성 또는 무성, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 육종의 예시적인 비제한적 유형은 교배, 자가생식, 배가된 반수체 유도체 생성, 및 이들의 조합을 포함한다.
- [0068] 본원에 사용되는 바와 같이, 문구 "확립된 육종 집단"은 육종 프로그램, 예를 들어, 상업적 육종 프로그램에서 모본들에 의해 생산되고/생산되거나 모본들로서 사용되는 잠재적 육종 파트너들의 집합을 지칭한다. 확립된 육종 집단의 구성원은 전형적으로 유전적으로 및/또는 표현형적으로 잘 특성규명되어 있다. 예를 들어, 여러 관심 대상 표현형 형질이, 예를 들어, 다양한 환경 조건 하에서, 다수의 장소에서, 그리고/또는 다양한 시간에서 평가되었을 수 있다. 대안적으로 또는 부가적으로, 표현형 형질의 발현과 관련된 하나 이상의 유전적 유전자좌가 확인되었을 수 있고, 육종 집단의 구성원들 중 하나 이상이 하나 이상의 유전적 유전자좌와 관련하여뿐만 아니라 하나 이상의 유전적 유전자좌와 관련된 하나 이상의 유전적 마커와 관련하여 유전자형이 결정되었을 수 있다.
- [0069] 본원에 사용되는 같이, 문구 "2배체 개체"는 두 세트의 염색체, 전형적으로 두 모본 각각으로부터의 하나를 갖는 개체를 지칭한다. 그러나, 일부 구현예들에서, 2배체 개체는, 식물이 후속 세대의 식물을 생산하기 위해 자가생식될 때와 같이, 동일한 단일 유기체로부터 그의 "모계" 및 "부계" 세트의 염색체를 받을 수 있는 것으로 이해된다.

- [0070] "동형접합성"은 상동 염색체 상의 하나 이상의 상응하는 유전자좌에서 유사한 대립유전자를 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다. 본 발명의 맥락에서, 특정 유전자좌에서 특정 유전자이입된 서열의 2개의 동일한 카피를 포함하는 토마토 식물, 예를 들어, 1번 염색체 상에 위치한 유전자이입된 서열은 상응하는 유전자좌에서 동형접합성이다.
- [0071] "이형접합성"은 상동 염색체 상의 하나 이상의 상응하는 유전자좌에서 유사하지 않은 대립유전자를 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0072] "우성" 대립유전자는 이형접합 또는 동형접합 상태로 존재할 때 표현형을 결정하는 대립유전자를 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0073] "반-우성" 대립유전자는 이형접합 또는 동형접합 상태로 존재할 때 표현형을 결정하는 대립유전자를 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다. 그러나, 표현형의 강도는 대립유전자가 동형접합 상태로 존재할 때 일반적으로 더 높다.
- [0074] "열성" 대립유전자는 동형접합 상태로 존재할 때만 표현형을 결정하는 대립유전자를 지칭한다.
- [0075] "역교배"는 잡종 자손이 모본들 중 하나와 반복적으로 다시 교배되는 과정을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다. 다양한 반복권이 후속 역교배에서 사용될 수 있다.
- [0076] "유전자좌"는 형질에 기여하는 유전자, QTL 또는 그의 상응하는 유전자 서열을 포함하는 염색체 상의 영역을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0077] "유전적 연관"은, 유전자좌들 사이의 재조합 퍼센트(센티-모건(centi-Morgan), cM)에 의해 측정되는, 동일한 염색체 상의 근접해 있는 유전자들의 위치에 기인한 유전에서의 특징들의 관련성을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0078] 본원에 사용되는 바와 같이, 본원에 개시된 발명 대상과 관련하여 문구 "유성 교배" 및 "유성 생식"은 (예를 들어, 식물에서 수분에 의해 종자를 생산하는 것과 같이 수정에 의해) 자손을 생성하기 위한 배우자의 융합을 지칭한다. "유성 교배" 또는 "타가 수정"은 일부 구현예들에서는 또 다른 개체에 의한 한 개체의 수정(예를 들어, 식물에서의 타가 수정)을 지칭한다. 용어 "자가생식"은 일부 구현예들에서는 자가 수정 또는 자가 수분, 즉, 화분과 밑씨가 동일한 식물로부터 나온 것에 의한 종자의 생산을 지칭한다.
- [0079] 본원에 사용되는 바와 같이, 문구 "유전적 마커" 또는 "DNA 마커"는 하나 이상의 관심 대상 유전자좌와 관련된 개체의 게놈의 특징(예를 들어, 개체의 게놈에 존재하는 뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열)을 지칭한다. 일부 구현예에서, 문맥에 따라, 유전적 마커는 관심 대상 집단에서 다형성이거나, 다형성에 의해 점유된 유전자좌이다. 유전적 마커는, 많은 다른 예들 중에서, 예를 들어, 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 인델(즉, 삽입/결실), 단순 서열 반복체(SSR), 제한 단편 길이 다형성(RFLP), 무작위 증폭 다형성 DNA(RAPD), 절단 증폭 다형성 서열(CAPS) 마커, DarT(Diversity Arrays Technology) 마커, 및 증폭 단편 길이 다형성(AFLP)을 포함한다. 유전적 마커는, 예를 들어, 표현형 형질의 가변성에 기여하는 염색체 상의 대립유전자를 함유하는 유전적 유전자좌를 찾아내는 데 사용될 수 있다. 문구 "유전적 마커"는 프로브로서 사용되는 핵산의 서열과 같은 게놈 서열에 상보적인 폴리뉴클레오타이드 서열을 또한 지칭할 수 있다.
- [0080] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "유전자형"은 세포 또는 유기체의 유전적 구성을 지칭한다. 개체의 "일련의 유전적 마커에 대한 유전자형"은 개체의 반수체에 존재하는 하나 이상의 유전적 마커 유전자좌에 대한 특정 대립유전자를 포함한다.
- [0081] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "자손"은 특정 교배의 후손(들)을 지칭한다. 전형적으로, 자손은 두 개체의 육종으로 생겨나지만, 일부 종(특히, 일부 식물 및 자웅동체 동물)은 자가생식할 수 있다(즉, 동일한 식물이 우성 배우자와 자성 배우자 둘 모두의 공여자로서 작용함). 후손(들)은, 예를 들어, F₁, F₂, 또는 임의의 후속 세대의 후손일 수 있다.
- [0082] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "양적 형질 유전자좌"(QTL)는 관심 대상 형질의 표현형에 영향을 주는 유전적 마커와 염색체 영역 및/또는 유전자 및/또는 유전자이입된 서열 사이의 관련성을 지칭한다. 전형적으로, 이는 통계적으로, 예를 들어, 문헌에 공개된 하나 이상의 방법에 기초하여 결정된다. QTL은 표현형 형질에 차별적으로 영향을 주는 적어도 2개의 대립유전자를 갖는 염색체 영역 및/또는 유전적 유전자좌일 수 있다.
- [0083] 용어 "수여체 토마토 식물"은 개선된 ToBRFV 저항성 형질을 포함하는 공여체 토마토 식물로부터 얻은 DNA를 공

급받을 토마토 식물을 나타내기 위해 본원에서 사용된다.

- [0084] 용어 "천연 유전적 배경"은 유전자 서열의 원래 유전적 배경을 나타내기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, 본 발명의 유전자 서열은 *솔라눔 갈라파겐스* 식물의 1번 염색체 상의 특정 위치에서 발견되었다. 반대로, 육종을 통한 DNA의 전달을 수반하는 방법으로서, *솔라눔 갈라파겐스* 식물의 1번 염색체로부터의 이러한 유전자 서열을 또 다른 토마토 종, 바람직하게는 재배 토마토 식물, 훨씬 더 바람직하게는 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물의 1번 염색체 상의 동일한 위치로 전달하는 방법은 이러한 유전자 서열이 그의 천연 유전적 배경에 있지 않게 할 것이다. 본 발명의 유전자 서열이 *솔라눔 갈라파겐스* 배경으로부터 또 다른 토마토 종, 바람직하게는 재배 토마토 식물, 훨씬 더 바람직하게는 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물로 전달될 때, 이들은 "유전자이입된 서열" 또는 "유전자이입된 유전자 서열"로 지칭된다.
- [0085] "공여체 토마토 식물"은 개선된 ToBRFV 저항성 형질을 제공하는 토마토 식물을 의미하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0086] "마커-기반 선택"은, 예를 들어, 핵산이 바람직한(또는 바람직하지 않은) 형질에 대한 대립유전자를 지니는 식물을 확인하기 위한 원하는 형질과 관련된 경우, 식물로부터 하나 이상의 핵산을 검출함으로써 그러한 식물이 선택적 육종 프로그램에서 사용될 수 있도록(또는 사용되지 않도록) 하기 위한 유전적 마커의 사용을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0087] DNA의 단일 부위에서의 변이인 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)은 게놈에서 가장 빈번한 변이 유형이다. 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)은 게놈(또는 다른 공유 서열) 내의 단일 뉴클레오타이드인 A, T, C, 또는 G가 개체의 생물 종 또는 쌍을 이루는 염색체의 구성원들 사이에 차이가 있을 때 발생하는 DNA 서열 변이이다. 예를 들어, 상이한 개체로부터의 2개의 시퀀싱된 DNA 단편인 AAGCCTA 대 AAGCTTA는 단일 뉴클레오타이드의 차이를 함유한다. 이 경우 2개의 대립유전자가 존재한다: C 및 T. SNP 어레이의 기본 원리는 DNA 마이크로어레이와 동일하다. 이러한 원리는 DNA 하이브리드화, 형광 현미경, 및 DNA 포획의 수렴이다. SNP 어레이의 3가지 구성 요소는 핵산 서열(즉, 증폭된 서열 또는 표적), 하나 이상의 표지된 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드 프로브 및 하이브리드화 신호를 기록하고 해석하는 검출 시스템을 함유하는 어레이이다. 원하는 SNP 마커 대립유전자의 존재 또는 부재는 이중 가닥 DNA 염료를 사용하는 실시간 PCR 또는 형광 리포터 프로브 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0088] "PCR(증폭효소 연쇄 반응)"은 비교적 대량의 게놈의 DNA 또는 서브세트(들)의 특정 영역을 생산함으로써 그러한 영역에 기초한 다양한 분석을 가능하게 하는 방법을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다. "PCR 프라이머"는 DNA의 특정 영역의 PCR 증폭에 사용되는 단일 가닥 DNA의 비교적 짧은 단편을 지칭하는 것으로 본 발명의 범위 내에서 이해된다.
- [0089] 본원에 사용되는 바와 같은 "프로브"는 특정 표적 분자 또는 세포 구조를 인식하고 그에 결합함으로써 표적 분자 또는 구조의 검출을 가능하게 하는 원자 또는 분자 군을 지칭한다. 특히, "프로브"는 분자 하이브리드화에 의해 상보적인 서열의 존재를 검출하고 그 상보적인 서열을 정량하는 데 사용될 수 있는 표지된 DNA 또는 RNA 서열을 지칭한다.
- [0090] "서열 동일성". 2개 이상의 핵산 또는 단백질 서열과 관련하여 용어 "동일한" 또는 "동일성"은 하기의 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하여 또는 가시적 조사에 의해 측정된 바와 같이 최대 상응을 위해 비교되고 정렬될 때, 동일하거나 특정 백분율의 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드를 갖는 2개 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 서로에 대해 비교되는 2개의 서열의 길이가 상이한 경우, 서열 동일성은 바람직하게는 더 긴 서열의 뉴클레오타이드 잔기와 동일한 더 짧은 서열의 뉴클레오타이드 잔기의 백분율과 관련된다. 본원에 사용되는 바와 같이, 두 서열 사이의 동일성/상동성 퍼센트는, 두 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려한, 서열들에 의해 공유되는 동일한 위치의 수(즉, 동일성 % = 동일한 위치의 수/위치의 총수 X 100)의 함수이다. 서열들의 비교 및 두 서열 사이의 동일성 퍼센트의 결정은 본원에 아래 기술된 바와 같이 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 서열 동일성은 통상적으로 Bestfit 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive Madison, WI 53711)과 같은 컴퓨터 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다. Bestfit는 2개의 서열 사이의 최대 서열 동일성을 갖는 절편을 찾기 위해 문헌[Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2 (1981), 482-489]의 국소 상동성 알고리즘을 이용한다. 특정 서열이 예를 들어, 본 발명의 참조 서열과 95% 동일성을 갖는지 여부를 결정하기 위해 Bestfit 또는 또 다른 서열 정렬 프로그램을 사용할 때, 파라미터는 동일성의 백분율이 참조 서열의 전장에 걸쳐 계산되고 참조 서열 중의 뉴클레오타이드 총수의 5% 이하의 상동성 갭이 허용되도록 조정되는 것이 바람직하다. Bestfit를 사용할 때, 소위 선택적 파라미터는 바람직하게

는 그의 미리-설정된("디폴트") 값으로 남겨진다. 주어진 서열과 본 발명의 상기 기재된 서열 사이의 비교에서 나타나는 편차는 예를 들어, 부가, 결실, 치환, 삽입 또는 재조합에 의해 유발될 수 있다. 그러한 서열 비교는 또한 바람직하게는 프로그램 "fasta20u66"(William R. Pearson 및 버지니아 대학교(the University of Virginia)에 의한 1998년 9월 버전 2.0u66; 또한 문헌[W. R. Pearson (1990), Methods in Enzymology 183, 63-98], 첨부된 실시예 및 <http://workbench.sdsc.edu/>을 참조함)을 사용하여 수행될 수 있다. 이를 위해 "디폴트" 파라미터 설정이 사용될 수 있다.

[0091] 구현예

[0092] 식물, 종자, 열매.

[0093] 첫 번째 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV 감염에 대해 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물로서, ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 *솔라눔 갈라파겐스*로부터 유전자이입된 서열을 그의 게놈에 포함하고, 상기 유전자이입된 서열은 1번 염색체 상에 위치하고 하기 SNP 마커들:

[0094] a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;

[0095] b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는

[0096] c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나를 포함하는, 재배 토마토 식물을 제공한다.

[0097] 추가로, 선행 구현예의 식물에서는 하기와 같다:

[0098] a) SNP 마커 2에 대한 A 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 7의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 10의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 8의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있고/있거나;

[0099] b) SNP 마커 3에 대한 G 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 12의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 15의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 13의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있고/있거나;

[0100] c) SNP 마커 4에 대한 G 유전자형은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드 프라이머인 SEQ ID NO: 17의 정방향 프라이머 및 SEQ ID NO: 20의 역방향 프라이머, 및 SEQ ID NO: 18의 프로브를 사용하여 핵산 단편의 증폭에 의해 PCR에서 확인될 수 있다.

[0101] 본 발명의 추가의 구현예에서, 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11, 및/또는 SEQ ID NO: 16 중 적어도 하나, 또는 상기 서열 중 하나 이상과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0102] 본 발명의 추가의 구현예에서, 상기 식물은 SEQ ID NO: 11을 포함한다.

[0103] 본 발명의 추가의 구현예에서, 상기 유전자이입된 서열은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조에 포함된다.

[0104] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 식물을 제공하며, 상기 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조를 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열을 함유하지 않는 토마토 식물과 교배함으로써 획득된다.

[0105] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 식물을 제공하며, 상기 식물은 근교계, 2배성반수체, 2배체, 또는 잡종 식물이다.

[0106] 또 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 식물은 웅성 불임이다. 또 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 식물은 세포질 웅성 불임이다.

[0107] 추가의 구현예에서, 본 발명의 토마토 식물은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물이며, 1번 염색체 상에 위치한 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열은 하기 표 4에 개시된 SNP 마커 2 내지 4 중 임의의 것을 사용하여 확인될 수 있다.

[0108] 추가의 구현예에서, 본 발명은 1번 염색체 상에 위치한 ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 *솔라눔 갈라파겐스*로부터 유전자이입된 서열을 그의 게놈에 포함하는, ToBRFV 감염에 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재

배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 제공하고, 상기 식물 계놈은 하기를 포함한다:

- [0109] a) SEQ ID NO: 1의 47번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 1에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형, 및
- [0110] b) SEQ ID NO: 21의 94번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 5에 대한 이형접합 또는 동형접합 상태의 C 유전자형; 및
- [0111] c) 표 4에 개시된 SNP 마커 2 내지 4 중 어느 하나에서의 저항성 유전자형 중 적어도 하나.
- [0112] 추가의 구현예에서, 선행 구현예의 재배 토마토 식물은 표 4에 개시된 SNP 마커 2 내지 4 중 임의의 것에서 적어도 제2 저항성 유전자형을 추가로 포함한다.
- [0113] 추가의 구현예에서, 본 발명은 1번 염색체 상에 위치한 ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 *솔라눔 갈라파겐스*로부터 유전자이입된 서열을 그의 계놈에 포함하는, ToBRFV 감염에 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 제공하고, 상기 식물 계놈은 하기를 포함한다:
 - [0114] a) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형.
- [0115] 추가의 구현예에서, 본 발명의 토마토 식물은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물이고, 여기서 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조, 또는 *솔라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483은 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열의 공급원이다.
- [0116] 추가의 구현예는, 특히 열매를 생산하는 식물로 성장했을 때, 본 발명에 따른 ToBRFV 저항성 형질을 여전히 나타내는 식물의 잎, 줄기, 뿌리, 꽃 또는 꽃의 부분, 열매, 새싹, 배우체, 포자체, 화분, 꽃밥, 소포자, 난세포, 접합자, 배, 분열부, 칼러스 조직, 종자, 자른 가지, 세포 또는 조직 배양물 또는 임의의 다른 부분 또는 생성물을 포함하지만 이로 한정되지 않는 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물로부터 얻을 수 있는 식물 부분, 기관 또는 조직을 제공한다.
- [0117] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 식물을 생산하는 종자를 제공한다.
- [0118] 추가의 구현예에서, 본 발명은 대목, 바람직하게는 토마토 대목으로서 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 용도에 관한 것이다. 추가의 구현예에서, 본 발명은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조의 토마토 대목으로서의 용도에 관한 것이다.
- [0119] 또 다른 구현예에서, 토마토 열매를 생산 및 수확하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자의 용도가 고려된다.
- [0120] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 임의의 구현예에 따른 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자의 용도에 관한 것이고, 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자는 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조이다.
- [0121] 추가의 구현예에서, 본 발명은 밭, 온실, 또는 플라스틱 하우스에 파종하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자의 용도에 관한 것이다.
- [0122] 일 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물에 의해 생산된 토마토 열매를 제공한다.
- [0123] 본 발명은 추가로 상기 ToBRFV 저항성 형질이 결여된 토마토 식물에 ToBRFV 저항성 형질을 유전자이입하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 용도에 관한 것이다.
- [0124] 추가의 구현예에서, 임의의 선행 구현예의 토마토 식물은 토마토바이러스에 대해 저항성이다. 추가의 구현예에서, 상기 토마토 식물은 또한 TMV 및 ToMV 바이러스에 대해 저항성이다. 추가의 구현예에서, 상기 토마토 식물은 또한 ToMV 병원형 0 및 2에 대해 저항성이다.
- [0125] **유전자 서열, 마커.**
- [0126] 본 발명은 추가로 토마토 식물에서 ToBRFV 저항성 형질과 연관된 유전자이입된 유전자 서열에 관한 것이다. 추가의 구현예에서, 본 발명의 유전자 서열은 1번 염색체 상에 위치한다. 본 발명의 추가의 구현예에서, 유전자 서열은 상기 유전자 서열을 포함하는 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조, 또는 *솔라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483으로부터의 공여체 식물에 포함되고, 이로부터 수득되거나, 이로부터 수득 가능하다.

- [0127] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 유전자이입된 유전자 서열은 1번 염색체 상에 위치하고, 하기를 포함하는 목록에서 선택된 SNP 마커들 중 하나에서 하기 저항성 유전자형 중 적어도 하나를 특징으로 한다:
- [0128] a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- [0129] b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- [0130] c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형.
- [0131] 본 발명은 또한 토마토 식물, 특히 재배 토마토 식물에서 ToBRFV 저항성 형질 유전자좌의 진단적 선택 및/또는 유전자형분석을 위한 본 발명에 따른 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 SNP 마커의 용도를 개시한다.
- [0132] 본 발명은 추가로 토마토 식물, 특히 재배 토마토 식물, 더욱 특히 본 발명에 따른 토마토 식물에서 ToBRFV 저항성 형질의 존재를 확인하고/하거나 토마토 식물, 특히 재배 토마토 식물, 특히 본 발명에 따른 및 본원에 기재된 바와 같은 토마토 식물에서 ToBRFV 저항성 형질의 유전자이입을 모니터링하기 위한 본 발명에 따른 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 SNP 마커의 용도를 개시한다.
- [0133] 본 발명의 유전자이입된 서열은 토마토바이러스에 대해, 바람직하게는 TMV 및 ToMV 바이러스에 대해, 더욱 바람직하게는 ToMV 병원형 0 및 2에 대해 광범위한 저항성을 제공하는 것이 추가로 개시된다.
- [0134] 따라서, 본 발명은 추가로 일 구현예에서 당업계에 공지된 방법에 의해 본 발명에 따른 그리고 상기 본원에 기재된 바와 같은 증폭 생성물로부터 개발된 도출된 마커, 특히 도출된 프라이머 또는 프로브에 관한 것으로, 이 도출된 마커는 ToBRFV 저항성 형질 유전자좌와 유전적으로 연관된다.
- [0135] **육종 방법.**
- [0136] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV 감염에 저항성인 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 생산하기 위한 방법으로서:
- [0137] a) 선행 구현예들 중 어느 하나에 따른 식물을 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열이 결여된 재배 토마토 식물과 교배하는 단계;
- [0138] b) ToBRFV에 대한 저항성을 부여하는 1번 염색체 상에 위치한 상기 유전자이입된 서열을 포함하는 자손 식물을 선택하는 단계로서, 상기 선택하는 단계가 하기 SNP 마커들:
- [0139] i) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- [0140] ii) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- [0141] iii) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나에 대한 저항성 유전자형을 검출하는 것을 포함하는 단계를 포함하고,
- [0142] 이에 의해 ToBRFV에 대해 향상된 저항성을 갖는 식물을 생산하는 방법을 제공한다.
- [0143] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것의 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 하기를 추가로 포함한다:
- [0144] c) 선택된 자손을 자가생식하거나 선택된 자손을 또 다른 토마토 식물과 교배하여 추가의 자손을 생산하는 단계.
- [0145] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 추가의 자손은 선택되어 2 세대 내지 10 세대 초과에 걸쳐 자가생식/교배된다.
- [0146] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것의 방법에 관한 것이고, 단계 a)의 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조, 또는 *솔라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483이다.
- [0147] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV 저항성 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자를 제공하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 하기 단계들을 포함한다:
- [0148] a) 본 발명의 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열이 결여된 제1 식물을 임의의 구현예에 따른 제2 토마토 식물과 교배하는 단계,

- [0149] b) 자손 토마토 식물을 얻는 단계, 및
- [0150] c) 선택적으로, 상기 식물이 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 것을 특징으로 하는 상기 자손의 식물을 선택하는 단계.
- [0151] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 제2 토마토 식물은 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조 또는 *솔라눔 갈라판센스* 수탁 LA0483이다.
- [0152] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 하기 단계들을 포함하는 ToBRFV 저항성 토마토 식물을 생산하는 방법에 관한 것이다:
- [0153] a) 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 종자를 제공하는 단계,
- [0154] b) 상기 종자를 발아시키고 그로부터 성숙하고 생식력이 있는 식물을 성장시키는 단계,
- [0155] c) a) 하에서 상기 식물의 자가 수분을 유도하고, 열매를 성장시키고, 그로부터 생식력이 있는 종자를 수확하는 단계, 및
- [0156] d) c) 하에서 수확한 종자에서 식물을 성장시키고, ToBRFV 저항성 토마토 식물을 선택하는 단계.
- [0157] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 토마토 식물의 ToBRFV에 대한 저항성을 증가시키기 위한 방법으로서, 하기 단계들을 포함하는, 방법에 관한 것이다:
- [0158] a) 1번 염색체 상에 위치한 하나의 유전자이입된 서열과 관련된 ToBRFV 저항성 형질을 포함하는 토마토를 선택하는 단계로서, 상기 형질은 표 4에 나열된 SNP 마커들 중 적어도 하나에서 저항성 유전자형의 존재에 의해 확인될 수 있는, 단계;
- [0159] b) ToBRFV 저항성 형질을 포함하는 단계 a)의 상기 식물들, 단계 a)의 식물과 비교하여 ToBRFV 저항성 형질을 포함하지 않고 ToBRFV에 대한 감수성을 나타내는 토마토 식물, 특히 재배 토마토 식물과 교배하는 단계, 및
- [0160] c) 단계 b)의 식물과 비교하여 증가된 ToBRFV 저항성을 나타내는 상기 교배로부터의 자손을 선택하는 단계.
- [0161] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 F1 토마토 식물을 생산하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 선행 구현예들 중 어느 하나에 따른 식물인 근교계 토마토 식물을 상이한 근교계 토마토 식물과 교배하여 F1 잡종 자손을 생산하는 단계를 포함한다.
- [0162] **선택 방법.**
- [0163] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내고 상기 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열의 적어도 1개의 카피를 갖는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 확인하기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기 SNP 마커들:
- [0164] a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;
- [0165] b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는
- [0166] c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도 하나에 대한 적어도 하나의 저항성 유전자형을 검출하는 단계를 포함하고,
- [0167] 이에 의해 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 토마토 식물을 확인한다.
- [0168] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상응하는 SNP 마커에서 상기 하나 이상의 저항성 유전자형을 포함하는 토마토 식물을 선택하는 단계, 및 선택된 토마토 식물을 제2 토마토 식물과 교배하여 상기 SNP 마커 중 적어도 하나에 대한 적어도 하나의 저항성 유전자형을 포함하고 ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 자손 토마토 식물을 생산하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0169] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열을 포함하는 토마토 식물을 확인하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 하기 단계들을 포함한다:
- [0170] a) ToBRFV 저항성 형질에 대해 분리되는 집단을 제공하는 단계,
- [0171] b) ToBRFV에 대해 저항성을 나타내는 구성원에 대해 분리 집단을 스크리닝하는 단계로서, 상기 형질은 본 발명

의 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열의 존재에 의해 확인될 수 있는, 단계,

[0172] c) 분리 집단의 하나의 구성원을 선택하는 단계로서, 상기 구성원은 ToBRFV 저항성 형질을 포함하는, 단계.

[0173] 추가의 구현예에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 1번 염색체 상에 유전자이입된 서열을 포함하는 재배 토마토 식물을 확인하기 위한 방법을 제공하고, 상기 유전자이입된 서열은 ToBRFV에 대한 저항성을 부여한다:

[0174] a) ToBRFV 저항성에 대해 분리되는 집단을 제공하는 단계,

[0175] b) 표 4에 나열된 SNP 마커들 중 적어도 하나에 대한 적어도 하나의 저항성 유전자형을 검출하는 키트를 사용하여 상기 집단을 스크리닝하는 단계, 및

[0176] c) 표 4의 목록에서 선택된 적어도 하나의 SNP 마커에 대한 적어도 하나의 저항성 유전자형을 포함하는 식물을 확인하는 단계.

[0177] 추가의 구현예에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 1번 염색체 상에 ToBRFV 저항성 형질의 토마토 공급원을 확인하기 위한 방법을 제공한다:

[0178] a) 토마토 획득물 또는 복수의 토마토 획득물을 제공하는 단계,

[0179] b) 표 4에 나열된 SNP 마커들 중 적어도 하나에 대한 적어도 하나의 저항성 유전자형을 검출하는 키트를 사용하여 상기 토마토 획득물 또는 복수의 토마토 획득물을 스크리닝하는 단계, 및

[0180] c) 표 4의 목록에서 선택된 적어도 하나의 SNP 마커에 대한 상기 하나의 저항성 유전자형을 포함하는 야생형 토마토 획득물을 확인하는 단계.

[0181] 추가의 또 다른 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV 저항성 형질을 포함하고 이를 나타내는 토마토 식물을 확인하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 계놈으로부터, 바람직하게는 토마토 식물 19TEP080670 (이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조, 또는 *솔라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483의 계놈으로부터 증폭된 적어도 하나의 SNP 마커의 용도에 관한 것이고, 상기 SNP 마커는 표 4에 나열된 SNP 마커들 중 하나를 사용하여 확인되고, 상기 SNP 마커는 토마토 식물에서 ToBRFV 저항성 형질의 존재를 나타낸다.

[0182] 추가의 구현예에서, 본 발명은 ToBRFV에 대한 저항성을 나타내는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물의 유전자형을 평가하기 위한 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 하기 단계들을 포함한다:

[0183] a) 상기 식물로부터 샘플을 제공하는 단계, 및

[0184] b) 상기 샘플에서 1번 염색체 상에 위치하고 상기 ToBRFV 저항성과 관련된 QTL 유전자좌를 검출하는 단계로서, 상기 QTL 유전자좌가 SNP 마커 1 및 5, 및 하기 SNP 마커들:

[0185] i) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;

[0186] ii) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형;

[0187] iii) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는

[0188] iv) SNP 마커 1 및 5에 의해 측정된 상기 QTL 유전자좌와 관련된 임의의 다른 DNA 마커 중 적어도 하나에 의해 측정되는, 단계.

[0189] 추가의 구현예에서, 본 발명은 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물에서 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 유전자이입된 서열을 확인하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 식물에서 상기 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 QTL 유전자좌와 유전적으로 연관된 적어도 하나의 DNA 마커의 대립 유전자를 검출하는 단계를 포함하고, 상기 대립유전자는 SNP 마커 1 및 5에 의해 측정된 계놈 영역의 1번 염색체 상에 위치하는 상기 QTL 유전자좌의 10cM 내에서, 바람직하게는 5cM 내에서 매핑된다.

[0190] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 상기 QTL 유전자좌는 하기 SNP 마커들:

[0191] a) SEQ ID NO: 6의 79번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 2에 대한 동형접합 상태의 A 유전자형;

[0192] b) SEQ ID NO: 11의 51번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 3에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형; 및/또는

[0193] c) SEQ ID NO: 16의 147번 위치에 상응하는 위치의, SNP 마커 4에 대한 동형접합 상태의 G 유전자형 중 적어도

하나에 의해 확인될 수 있다.

- [0194] 추가의 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예의 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 유전자이입된 서열을 포함하는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 선택하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0195] 추가의 구현예에서, 본 발명은 상기 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 QTL을 확인함으로써 ToBRFV에 대한 증가된 저항성을 나타내는 재배 토마토 식물, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물을 확인하는 방법에 관한 것이고, 방법은 하기 단계들을 포함한다:
- [0196] a) 토마토 식물로부터 적어도 하나의 DNA 마커를 검출하는 단계로서, DNA 마커는 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 염색체 간격과 연관되고, 상기 염색체 간격은 SEQ ID NO: 1 및 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 SNP 마커에 의해 각각의 측이 측정되는, 단계; 및
- [0197] b) 상기 적어도 하나의 DNA 마커를 포함하는 상기 토마토 식물을 확인하는 단계.
- [0198] **용도.**
- [0199] 본 발명은 또한 ToBRFV 저항성 토마토 식물을 생산하기 위해 토마토 식물을 성장시키기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물로부터 수득 가능한 ToBRFV 저항성-번식재(propagating material)의 용도에 관한 것이고, 상기 ToBRFV 저항성은 표준 검정, 특히 하기 실시예 2에 기재된 바와 같은 검정으로 평가될 수 있다.
- [0200] 본 발명은 또한 토마토 열매를 생산하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물로부터 수득 가능한 ToBRFV 저항성 번식재의 용도에 관한 것이다.
- [0201] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 식물을 성장시키고 작물 및/또는 열매를 생산하고 수확하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 재배 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자, 더욱 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물, 식물 부분 또는 종자의 용도에 관한 것이다.
- [0202] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 청과시장을 위한 또는 식품 가공을 위한 열매를 생산하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 재배 토마토 식물, 더욱 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물의 용도에 관한 것이다.
- [0203] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 재배 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물, 식물 부분 또는 종자의 용도에 관한 것이고, 상기 재배 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자, 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물, 식물 부분 또는 종자는 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨), 또는 그의 자손 또는 선조를 갖는다.
- [0204] 추가의 구현예에서, 본 발명은 밭, 온실, 또는 플라스틱 하우스에 파종하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 재배 토마토 식물, 식물 부분 또는 종자, 더욱 바람직하게는 재배 *솔라눔 리코페르시쿰* 식물, 식물 부분 또는 종자의 용도에 관한 것이다.
- [0205] 추가의 구현예에서, 본 발명은 상기 형질이 결여된 토마토 식물에 증가된 ToBRFV 저항성 형질을 부여하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 상기 형질이 결여된 토마토 식물에 증가된 ToBRFV 저항성 형질을 유전자이입하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 상기 형질이 결여된 토마토 식물에 증가된 토마토바이러스 저항성 형질을 유전자이입하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 상기 형질이 결여된 토마토 식물에 증가된 ToMV 병원형 0 및 2 저항성 형질을 유전자이입하기 위한 선행 구현예들 중 임의의 것에 따른 토마토 식물의 용도에 관한 것이다.
- [0206] 추가의 구현예에서, 본 발명은 1번 염색체 상에 위치하고 증가된 ToBRFV 저항성과 관련된 QTL 유전자좌의 존재에 대해 토마토 식물의 집단을 스크리닝하기 위한 SEQ ID NO: 1 내지 SEQ ID NO: 25 중 임의의 것의 용도에 관한 것이다.
- [0207] 추가의 구현예에서, 본 발명은 1번 염색체 상에 위치하고 증가된 ToBRFV 저항성과 관련된 QTL 유전자좌의 존재에 대해 토마토 식물의 집단을 스크리닝하기 위한 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11 및/또는 SEQ ID NO: 16의 용도에 관한 것이다.
- [0208] 본 발명의 설명에 기초하여, 본원에 기재된 바와 같은, 상기 유전자이입된 유전자 서열을 포함하는 토마토 식물 19TEP080670(이의 대표적인 종자는 NCIMB 수탁 번호 43938로 기탁됨) 또는 그의 자손을 소유한 당업자는 본원에

개시된 SNP 마커의 지지로 당업계에 널리 공지된 육종 기법을 이용하여 다양한 유형의 다른 토마토 식물에 본 발명의 상기 유전자이입된 유전자 서열을 전달하는 데 어려움이 없다.

[0209] **종자 기탁 세부 사항**

[0210] 출원인은 2022년 2월 11일에 NCIMB(국립 산업, 식품 및 해양 박테리아 보관소(National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria), NCIMB Limited, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen AB21 9YA, Scotland)에 NCIMB 수탁 번호 43938 하에 토마토 식물 19TEP080670의 625개의 종자를 기탁했다.

[0211] 출원인은 특허 획득에 대한 진술이 발표될 때까지, 또는 출원이 거절되거나, 취하되거나, 취하된 것으로 간주되는 경우 출원일의 20년째부터, 규정 32(1) EPC 또는 기타 국가 또는 조약의 해당 법률 및 규정(전문가 증인 조항)에 따라 전문가 솔루션을 선택하고 기탁된 물질이 전문가에게만 공개되도록 요청한다.

[0212] 토마토 잡종 식물 19TEP080670은 1번 염색체 상의 ToBRFV 저항성 QTL에 대해 이형접합성이며, 즉, 토마토 식물 19TEP080670은 증가된 ToBRFV 저항성과 관련된 1번 염색체 상에 유전자이입된 서열의 1개의 카피를 포함한다.

[0213] **실시예**

[0214] 실시예 1: 생식질 및 집단 발달

[0215] *슬라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483은 ToBRFV 스크린에서 증가된 ToBRFV 저항성을 나타내는 것으로 확인되었기 때문에 이를 발견 집단의 생성을 위한 공급원으로 사용하였다.

[0216] LA0483과 감수성 엘리트 계통 16TEP070330 사이의 교배로부터 생성된 F1 집단을 자가 수분시켜 20개의 F2 계통을 얻었다.

[0217] 이러한 F2 계통들 중 하나인 20TEP070778을 사용하여 개별 F2 식물의 유전자형 및 표현형 데이터에 기반한 QTL 맵핑을 수행하였다. 총 443개의 F2 식물을 샘플링하고, 유전자형 분석하여 집단의 유전자 지도를 확립하였다. 병행하여, 349개 식물의 서브세트에서 묘목에 ToBRFV 균주를 기계 접종하고, 하기 실시예 2A 내지 2C에 기재된 정성적 표현형 점수에 따라 평가하였다. 1번 염색체 상에 위치한 증가된 ToBRFV 저항성과 관련된 QTL이 이러한 F2 집단에서 확인되었다(실시예 3 내지 5 참조).

[0218] 초기 토마토 교배의 한 자손인 19TEP080670이 존속되었고, NCIMB 수탁 번호 43938로 2022년 2월 11일에 NCIMB에 기탁되었다. 토마토 식물 19TEP080670은 ToBRFV 저항성 형질에 대해 이형접합성이며, 즉, 이는 LA0483으로부터의 ToBRFV 저항성-부여 유전자이입된 서열의 하나의 카피를 포함한다.

[0219] 실시예 2: 프로토콜.

[0220] *실시예 2A. ToBRFV 단리물.*

[0221] ToBRFV 균주는 2015년에 이스라엘에서 수집된 후 건조된 토마토 잎에 저장되었다. 1그램의 이러한 토마토 잎들로부터, 잎을 분쇄하고 5 ml의 완충제, 0.1그램의 목탄 및 0.1 gr의 카보런덤(연마 분진)을 첨가함으로써 접종물 생산을 수행하였다. 수득된 용액을 사용하여 감수성 물질의 떡잎에 기계 접종하였다. 접종물을 증가시키기 위해 묘목이 들어 있는 트레이를 10일 내지 14일 동안 밤 동안 18℃/낮 동안 24℃에서 성장 챔버에서 유지시켰다. 낮 길이를 전광(대략 10,000 lux) 하에 15시간 동안으로 고정하였다. 이후, 증상이 있는 잎을 묘목으로부터 수확하고, -80℃ 냉동고에 저장하였다. 이러한 저장은 접종물의 공급원으로 간주된다. 이러한 생산 후, 감수성 대조군의 100%를 누락 없이 감염시키는 것을 가능하게 하는 더 낮은 농도의 접종물을 확립하기 위해 보정의 첫 번째 단계를 수행하였다. 이러한 요건을 갖는 가장 적합한 희석을 1/2(10 ml의 완충제 중 1 g 바이러스 잎)로 고정하고, 표현형 실험에 사용하였다.

[0222] *실시예 2B. 식물의 제조 및 접종.*

[0223] 인공 방법을 이용하여 식물에 ToBRFV 균주를 접종하였다. F2 계통의 종자를 특정 트레이에 파종하고, 프랑스 사리안스의 성장실에 두었다. 또한, 모 계통 16TEP070330 및 LA0483의 24개 종자, 생성된 F1 식물 19TEP080670 및 감수성 대조군 16TEP071665를 파종하여 체크(check)로서 사용하였다. 접종 4일 전에, 발아율에 따라, 349개의 F2 식물 및 16개의 체크 식물을 접종을 위해 선택하였다. 시험된 각각의 물질에 대해, 1개의 식물을 또 다른 지지체에 이식하였다. 트레이의 식물을 상기 기재된 바와 같이 제조된 ToBRFV 접종물을 사용하여 파종 14일 후에(2개의 본엽에) 접종하였다. 잎을 2회 부드럽게 문지르면서 접종을 수행하였다. 접종 효과를 평가하기 위해

이식 식물을 바이러스 없이(모의) 접종하였다.

[0224] 실시예 2C. ToBRFV 저항성의 스코어링.

[0225] 잎의 변형 및 모자이크와 같은 첫 번째 증상은 접종 후(dpi) 16 일 내지 19 일에 나타났다. 식물을 모니터링하고, 감수성 체크가 완전한 증상을 보일 때, 이러한 경우 20 dpi 및 27 dpi에서 증상을 평가하였다. 식물을 하기 기재된 바와 같이 정성적 척도로 스코어링하였고, 이는 도 1에 예시되어 있다.

등급	증상
HR (9)	증상이 없는 건강한 식물.
IR (5)	감수성과 비교하여 낮은 증상 발현
S (1)	강한 잎 변형이 있는 감수성 식물.

[0226] 실시예 2D. ToBRFV 증가된 저항성 형질에 기초하여 QTL 및 상응하는 유전자입된 서열을 확인하는 방법.

[0228] QTL 발견을 위해, "LA0483 x 16TEP070330" 집단의 349개의 식물을 계놈을 포괄하는 191개의 유전자 마커로 유전자형 분석하였다. 이러한 식물을 성장시키고 상기 실시예 2A 내지 실시예 2C에 기재된 바와 같이 ToBRFV에 대하여 평가하였다.

[0229] R 통계적 프레임워크에서 R/qt1 패키지를 사용하여 QTL 검출을 수행하였다. 먼저, 함수 'calc.genoprob'를 사용하여 유전자형 확률을 계산하였다(단차 1cM). Haley-Knott 회귀를 수행하여 표준 간격 매핑의 결과에 대한 근사치를 제공하였다. 이후, 완전 자동화 모델 선택 정방향/역방향 알고리즘을 제공하는 함수 'stepwiseqt1'을 호출하였다. 주된 효과에 대한 LOD 역치를 10,000개의 순열에 의해 결정하였다. 함수 'fitqt1'을 사용하여 최종 QTL 모델을 피팅하고 함수 'qt1Stats'를 사용하여 QTL 효과의 추정치를 얻었다.

[0230] 실시예 3: 증가된 TOBRFV 저항성과 관련된 하나의 QTL의 확인

[0231] F2 집단으로부터의 ToBRFV 저항성 표현형에 기초하여 하나의 QTL이 확인되었다. 표 1은 염색체 위치, LOD 점수로서 측정된 QTL의 효과, 및 ToBRFV 저항성에 대한 1번 염색체 상의 QTL에 의해 설명된 변동의 백분율을 보여준다. QTL은 F2 집단에서 열성 효과를 나타냈다.

[0232] 표 1: ToBRFV 저항성과 관련된 유의한 QTL.

염색체	LOD	var%	P 값(F)
1	9.98	9.64%	4.24E-08 ***

[0233]

[0234] "LOD" = 로그 우도 점수, "var%" = QTL에 의해 설명된 표현형 변동 퍼센트, "P값(F)" = F 시험에 의한 임의의 가능성으로 인해 검출된 QTL의 확률.

[0235] 실시예 4: 토마토 식물의 패널에서 TOBRFV 저항성의 평가

[0236] 솔라눔 갈라파겐스 수탁 LA0483은 냄새가 나는 잎사귀, 더 무성한 습성 및 주황색의 털이 많은 작은 열매를 갖는 야생 토마토 식물이다. 감수성 물질 16TEP070330은 수동 온실 수확을 위한 불확정 클러스터 토마토 유형으로부터의 엘리트 계통이다.

[0237] LA0483 공급원은 ToBRFV에 대해 강한 저항성을 나타내는 반면, 16TEP070330 감수성 모체 및 'LA0483 x 16TEP070330' 교배로부터 생성된 F1은 심하게 감수성인 표현형을 나타낸다. 동형접합 상태의 솔라눔 갈라파겐스 수탁 LA0483의 1번 염색체 상에 존재하는 ToBRFV에 대한 증가된 저항성과 관련된 유전자 서열을 보유하는 F2 식물은 강한 저항성 표현형을 나타냈다. 다른 한편으로, 이러한 동일한 계놈 영역에서 이형접합성이거나 감수성 16TEP070330 대립유전자의 2개 카피를 보유하는 F2 식물은 감수성 표현형을 나타낸다.

[0238] QTL1에서 대표적인 마커의 존재 또는 부재에 대한 시험 결과와 함께 표현형 결과는 하기 표 2에 요약되어 있다.

[0239] 표 2: QLT1 및 상응하는 ToBRFV 표현형에 대한 측접하고 특징화하는 SNP 마커의 존재 또는 부재.

재료 번호, ID 및 유형	ToBRFV 점수	QLT1 영역				
		ST2752	ST4450	ST1840	ST4079	ST0435A
1. LA0483: 원래의 공여체	HR	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A
2. 16TEP070330: 감수성 모체	S	A/A	G/G	A/A	A/A	C/C
3. F1, 'LA0483 x 16TEP070330', 19TEP080670, 종자 기탁물	S	G/A	A/G	G/A	G/A	A/C
4. F2 계통, DR225602385	S	A/A	G/G	A/A	A/A	C/C
5. F2 계통, DR225602252	S	A/A	G/G	A/A	A/A	C/C
6. F2 계통, DR225602575	S	G/A	A/G	G/A	G/A	A/C
7. F2 계통, DR225602168	S	G/A	A/G	G/A	G/A	A/C
8. F2 계통, DR225602183	HR	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A
9. F2 계통, DR225602191	HR	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A

[0240]

[0241]

기존의 감수성 체크 식물(번호 2)뿐만 아니라 F1 식물(번호 3) 및 QTL1에서 유전자이입된 서열의 0개(번호 4 및 5) 또는 1개(번호 6 및 7) 카피를 포함하는 F2 계통은 감수성 표현형을 나타냈다. 다른 한편으로, 원래의 공여체 식물(번호 1) 및 상기 유전자이입된 서열을 포괄하는 SNP 마커에서 저항성 유전자형을 보유하는 QTL1에서 유전자이입된 서열의 2개 카피를 포함하는 F2 계통(번호 8 및 9)은 증가된 ToBRFV 저항성을 나타내어 높은 저항성 점수를 달성하였다.

[0242]

QLT1 영역 내에서, QTL 간격 내의 3개의 SNP 마커 ST4450, ST1840 및 ST4079(각각 SNP 마커 2, 3 및 4)는 저항성 공여체로부터의 공여체 저항성 대립유전자의 선택에 특이성을 나타냈고, 이들 중 SNP 마커 ST1840(SNP 마커 3)이 저항성과 가장 밀접하게 연관성이 있었다.

[0243]

표 3은 1번 염색체 상의 QTL의 유전적 위치와 물리적 위치 둘 모두뿐만 아니라 QTL과 밀접하게 연관된 3개의 SNP 마커의 위치를 보여준다. 물리적 위치는 Heinz 1706 SL4.0의 공개 게놈 어셈블리를 참조하여 제공된다(2019년 9월 공개됨, <https://solgenomics.net/>).

[0244]

표 3. 1번 염색체 상의 QTL의 유전자 지도

SNP ID	SNP 유전자좌	위치 (cM)	물리적 위치 (bp; Heinz 1706 SL4.0)	관찰
1	ST2752	86.18	82,311,506	좌측 측접 마커
2	ST4450	93.4	84,759,575	R 대립유전자에 특이적인 SNP
3	ST1840	97.17	86,137,823	R 대립유전자에 특이적인 SNP
4	ST4079	103.74	87,456,377	R 대립유전자에 특이적인 SNP
5	ST0435A	110.57	88,906,129	우측 측접 마커

[0245]

[0246]

실시예 5: QTL1에 대한 서열 및 SNP 마커 정보

[0247]

SNP 마커 1 내지 5(ST2752, ST4450, ST1840, ST4079 및 ST0435A)의 서열 정보는 하기 표 4에 요약되어 있다.

표 4.

마커	1/ ST2752	2/ ST4450	3/ ST1840	4/ ST4079
저항성 대립유전자(<i>S. 갈라파겐스</i>)	G	A	G	G
감수성 대립유전자(<i>S. 리코페르시쿰</i>)	A	G	A	A
표적 서열: SEQ ID NO.	1	6	11	16
표적 SEQ 에서의 SNP 위치: nt	47	79	51	147
정방향 프라이머: SEQ ID NO.	2	7	12	17
역방향 프라이머: SEQ ID NO.	5	10	15	20
프로브(저항성): SEQ ID NO.	3	8	13	18
프로브(감수성): SEQ ID NO.	4	9	14	19
마커	5 / ST0435A			
저항성 대립유전자(<i>S. 갈라파겐스</i>)	A			
감수성 대립유전자(<i>S. 리코페르시쿰</i>)	C			
표적 서열: SEQ ID NO.	21			
표적 SEQ 에서의 SNP 위치: nt	94			
정방향 프라이머: SEQ ID NO.	22			
역방향 프라이머: SEQ ID NO.	25			
프로브(저항성): SEQ ID NO.	23			
프로브(감수성): SEQ ID NO.	24			

예를 들어, 1번 염색체 상의 위치 82,311,506 bp에서 SNP 마커 1(ST2752)(Heinz 1706 SL4.0 어셈블리에 기초함)은 SEQ ID NO: 1의 표적 서열의 47번 위치에서 특정 서열 다형성(저항성 공여체 대립유전자 대 감수성 대립유전자)에 의해 특징화된다.

실시예 6: 다른 토마모바이러스에 대한 저항성 평가

ToBRFV 저항성에 대해 스크리닝하는 것에 추가로, *솔라눔 갈라파겐스* 수탁 LA0483을 또한 TMV 및 ToMV 병원형 0 및 2와 같은 다른 토마모바이러스로 시험감염(challenge)시켰다. 이러한 수탁물은, 예를 들어, ToMV 병원형 0 (오쿠바) 및 2에 대해 강한 저항성을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 본 발명의 QTL1은 ToBRFV 저항성뿐만 아니라 토마모바이러스에 대한 광범위한 저항성에 기인하는 것으로 추측된다. 표현형 결과는 하기 표 5뿐만 아니라 도 3에 요약되어 있다.

표 5: 원래의 공여체 및 감수성 체크의 ToBRFV 및 ToMV 표현형.

재료 번호, ID 및 유형	ToBRFV 점수	ToMV 병원형 0 (오쿠바) 점수	ToMV 병원형 2 점수
1. LA0483: 원래의 공여체	HR	HR	HR
2. 16TEP070330: 감수성 모체	S	S	S

참고문헌 목록

- Luria *et al.*, 2017, A new Israeli Tobamovirus isolate infects tomato plants harboring Tm-22 resistance genes, PLoS ONE 12(1): e0170429.
doi:10.1371/journal.pone.0170429
- Salem *et al.*, 2016, A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan, Arch. Virol. 161:503–506.
- Zinger *et al.*, 2021, Identification and mapping of tomato genome loci controlling tolerance and resistance to Tomato Brown Rugose Fruit Virus, Plants 10(1):179.
doi: 10.3390/plants10010179.

수탁번호

[0256]

기탁기관명 : NCIMB

수탁번호 : NCIMB43938

수탁일자 : 20220211

도면

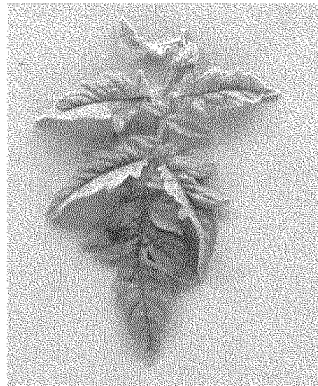
도면1

대표적인 ToBRFV 증상

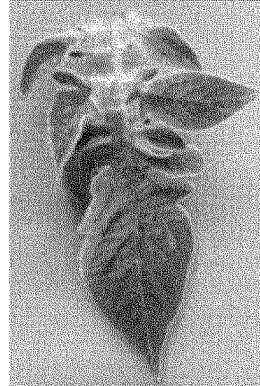
(a)



(b)



(c)



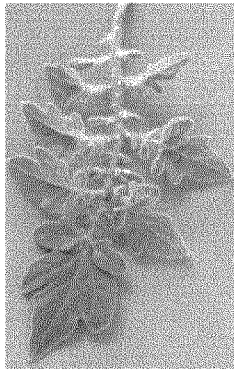
도면2

ToBRFV 표현형

(a)



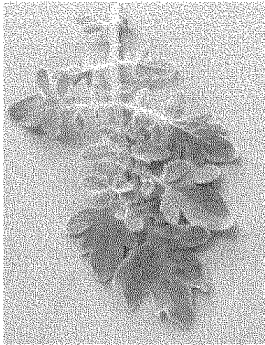
(b)



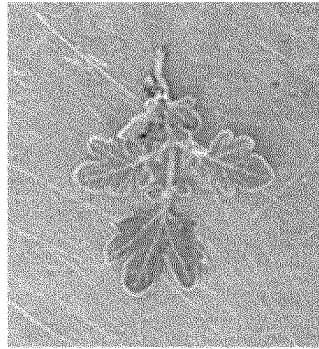
도면3

ToMV 표현형

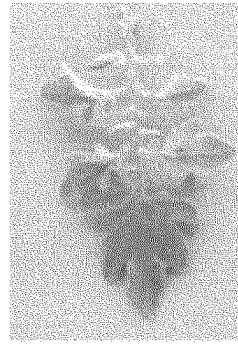
(a)



(b)



(c)



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.