(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년08월11일
(11) 등록번호 10-1647255
(24) 등록일자 2016년08월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C12Q 1/68* (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C12Q 1/6883* (2013.01)
*G01N 33/53* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0077224
(22) 출원일자 2015년06월01일
심사청구일자 2015년06월01일
(56) 선행기술조사문헌
Lee KR., et al., Int. J. Mol. Sci., Vol.12, pp.4456-4464 (2011)*
Kamauchi, S., et al., FEBS Journal, Vol.272, pp.3461-3476 (2005)
KR101472789 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
**충남대학교산학협력단**
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
**이긍주**
세종특별자치시 조치원읍 섭골길 56 세종 e편한세상 112-1103
**하혜정**
대전광역시 유성구 대학로 45 1415동 (봉명동,스카이로드뷰)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**신진만**

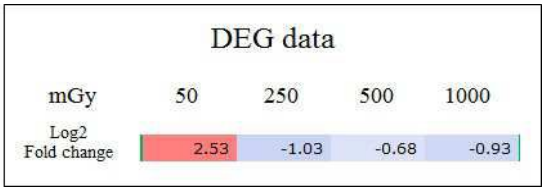
전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 신원혜

(54) 발명의 명칭 **자주달개비를 이용한 저선량 방사선 감지용 조성물, 이를 포함하는 저선량 방사선 감지용 키트, 및 이를 이용한 저선량 방사선 감지방법**

## (57) 요 약

본 발명은 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 자주달개비를 이용한 저선량 방사선 감지용 조성물, 이를 포함하는 저선량 방사선 감지용 키트, 및 이를 이용한 저선량 방사선 감지방법을 제공한다.

*대 표 도* - 도1



(72) 발명자

**박누리**

인천광역시 연수구 용담로 14  107동 1306호 (청학동,하나아파트)

**최서희**

경기도 평택시 포승읍 서동대로 793 (만호리)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2013M2A2A6043621

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 방사선기술개발사업

연구과제명 지표식물 이용 방사선 피해의 분자세포학적 모니터링 및 복원 씨스템 구축

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교

연구기간 2013.07.01 ~ 2016.06.30

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

자주달개비의 화기조직으로부터 추출된 시료에서 서열번호1로 표시되는 칼넥신1 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 방사선 감지용 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 서열번호 1로 표시되는 칼넥신1 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 쌍인 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 서열번호1로 표시되는 칼넥신1 유전자에 특이적으로 결합하는 프로브인 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 4

삭제

### 청구항 5

삭제

### 청구항 6

삭제

### 청구항 7

삭제

### 청구항 8

삭제

### 청구항 9

삭제

### 청구항 10

방사선 감지에 필요한 정보를 제공하기 위하여, 자주달개비의 화기조직로부터 추출된 시료 중에서 측정된 서열번호1로 표시되는 칼넥신1 유전자의 mRNA의 발현수준을 정상 대조군의 서열번호1로 표시되는 칼넥신1 유전자의 mRNA의 발현수준과 비교하는 것을 특징으로 하는 방사선 감지방법.

### 청구항 11

제 10 항에 있어서, 상기 mRNA 발현수준의 측정은 서열번호1로 표시되는 칼넥신1 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 이용하는 것을 특징으로 하는 방사선 감지방법.

### 청구항 12

제 10 항에 있어서, 상기 mRNA 발현수준의 측정은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA: RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩 중 하나 이상의 방법을 이용하는 것을 특징으로 하는 방사선 감지방법.

**청구항 13**

삭제

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 저선량 방사선 감지용 조성물, 이를 포함하는 저선량 방사선 감지용 키트, 및 이를 이용한 저선량 방사선 감지방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 자주달개비를 이용하여 방사선 노출로부터 생물체 영향에 대한 모니터링 즉, 유전자 발현 양상 및 세포의 형태학적 변화를 실시간으로 관측하여 방사선 피해를 사전에 진단하고, 사후 피해복원을 관측할 수 있는 저선량 방사선 감지용 조성물, 이를 포함하는 저선량 방사선 감지용 키트, 및 이를 이용한 저선량 방사선 감지방법에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 최근 원자력 관련 시설로부터 방사성 물질의 유출로 사람을 포함하는 자연 생태계는 방사능 오염과 방사선 피해로부터 안전하지 않게 되었고, 일본 후쿠시마 원전사고에서와 같이 복구를 위한 막대한 자원의 손실이 불가피하다.

[0003] 방사선에 의한 피폭은 특히 심장질환이나 암 발생의 위험을 증가시키며, 비록 적은량의 방사선일지라도 이를 사전에 감지할 수 없다면, 지속적인 노출에 직면할 수 있어 결국에는 허용치를 넘는 방사선에 의한 피폭이 이루어지게 되는 문제가 있다.

[0004] 이에 따라, 방사선 피해를 사전에 진단이 가능하며, 사후 피해복구를 위한 생물학적 방사선 관측시스템의 개발이 절실하게 요구되고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 자주달개비를 이용하여 방사선 노출로부터 생물체 영향에 대한 모니터링 즉, 유전자 발현 양상 및 세포의 형태학적 변화를 실시간으로 관측하여 방사선 피해를 사전에 진단하고, 사후 피해복원을 관측하기 위한 유전자 계측 시스템을 개발하는 것에 있다.

### 과제의 해결 수단

[0006] 상기한 바와 같은 본 발명의 기술적 과제는 다음과 같은 수단에 의해 달성되어진다.

[0007] (1) 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 저선량 방사선 감지용 조성물.

[0008] (2) 상기 (1)에 있어서, 상기 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 칼넥신1 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 쌍인 것을 특징으로 하는 조성물.

[0009] (3) 상기 (1)에 있어서, 상기 유전자 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 칼넥신1 유전자에 특이적으로 결합하는 프로브인 것을 특징으로 하는 조성물.

[0010] (4) 상기 (1)에 있어서, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 칼넥신1에 특이적으로 결합하는 항체인 것을 특징으로 하는 조성물.

[0011] (5) 상기 (4)에 있어서, 상기 항체는 폴리클로날 항체 또는 모노클로날 항체인 것을 특징으로 하는 조성물.

[0012] (6) 상기 (1)에 있어서, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제가 칼넥신1에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분펩티드인 것을 특징으로 하는 조성물.

[0013] (7) 상기 (1)에 있어서, 자주달개비의 화기조직으로부터 추출된 시료에서 상기 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현 수준을 측정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

[0014] (8) 상기 (1) 내지 (7) 중 어느 하나의 조성물을 포함하는 저선량 방사선 감지용 키트.

[0015] (9) 상기 (8)에 있어서, 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현 수준을 측정할 수 있는 저선량 방사선 감지용 마이크로어레이, RT-PCR 키트, DNA칩 키트, 또는 단백질칩 키트인 것을 특징으로 하는 저선량 방사선 감지용 키트인 것을 특징으로 하는 저선량 방사선 감지용 키트.

[0016] (10) 저선량 방사선 감지에 필요한 정보를 제공하기 위하여, 자주달개비의 화기조직으로부터 추출된 시료 중에서 측정된 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 정상 대조군의 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준과 비교하는 것을 특징으로 하는 감지방법.

[0017] (11) 상기 (10)에 있어서, 상기 mRNA 발현수준의 측정은 칼넥신1 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 이용하는 것을 특징으로 하는 감지방법.

[0018] (12) 상기 (10)에 있어서, 상기 mRNA 발현수준의 측정은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA: RNase protection assay), 노던 블롯팅(Northern blotting), DNA 칩 중 하나 이상의 방법을 이용하는 것을 특징으로 하는 감지방법.

[0019] (13) 상기 (10)에 있어서, 상기 단백질의 발현수준의 측정은 웨스턴블롯, ELISA, 방사선면역분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS 또는 단백질 칩 중 하나 이상의 방법을 이용하는 것을 특징으로 하는 감지방법.

## *발명의 효과*

[0020] 본 발명에 의하면, 자주달개비를 이용하여 방사선 노출로부터 생물체 영향에 대한 모니터링 즉, 유전자 발현 양상 및 세포의 형태학적 변화를 실시간으로 관측하여 방사선 피해를 사전에 진단하고, 사후 피해복원을 관측할 수 있게 하는 효과를 제공한다.

## *도면의 간단한 설명*

[0021] 도 1은 본 발명에 따른 칼넥신1(CNX) 유전자의 DEG 분석 결과.

도 2는 칼넥신1(CNX) 유전자와 액틴7(actin7) 유전자에 대한 방사선 선량별 RT-PCR 실험결과.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0022] 이하, 본 발명의 내용을 보다 상세하게 설명하면 다음과 같다.

[0023] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에서는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다.

[0024] 본 발명에 따른 저선량 방사선 감지용 조성물은 상기한 바와 같이 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하여 50mGy 이하의 저선량 수준의 방사선도 감지할 수 있어 초기에 방사선에 의한 피해를 예방할 수 있도록 한다.

[0025] 본 발명에 의하면, 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질은 자주달개비의 화기 조직으로부터 유래되며, 이들의 발현수준을 측정하는 제제로써 예를 들면 칼넥신1 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 들 수 있다.

[0026] 칼넥신1 유전자의 mRNA 염기서열은 서열번호 1에 의해 특정이 가능하므로, 당업자는 상기 염기서열을 바탕으로 이들 유전자의 mRNA에 대해 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 디자인할 수 있는 것은 자명하다.

[0027] 본 발명에서 상기 mRNA의 발현수준을 측정하기 위한 방법으로는 예를 들어, RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR, 실시간 RT-PCR, RNase 보호분석법, 노던블롯팅, 또는 DNA 칩 등이 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 단백질의 발현수준을 측정하는 제제로는, 예를 들어 항체, 또는 단백질에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분 펩티드를 들 수 있다. 단백질에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분 펩티드는 온전한 항체의 구조를 갖는 것은 아니나, 항원성 부위에 대해 특이적인 항원결합부위(결합 도메인)을 갖는 폴리펩티드로써, 예를 들어 항원 결합 기능을 보유한 Fab, F(ab'), $F(ab')_2$, 및 Fv 등이 여기에 해당되어질 수 있다.

[0029] 단백질의 발현수준을 측정하기 위한 방법으로는 예를 들어, 웨스턴블롯, ELISA, 방사선면역분석, 방사면역확산법, 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로케트(Rocket) 면역전기영동, 조직면역염색, 면역침전분석법, 보체고정분석법, FACS 또는 단백질 칩 등이 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질은 자주달개비의 화기 조직이 50mGy의 저선량 수준의 방사선에 피폭되어질 경우에도 상향조절에 의해 발현량이 증가하므로, 특정 장소에 비치되어 재배되는 자주달개비의 화기 조직을 채취하여 측정하여도 좋고, 이들 조직을 분리하여 인공적인 조직배양을 통해 이들 배양물(또는 배양액)을 방사선 누출이 의심되는 특정 장소에 비치하는 방법으로 측정에 사용할 수 있는 등 다양한 방법이 고려되어질 수 있음은 물론이다.

[0031] 또한, 본 발명은 상기 본 발명에 따른 방사선 감지용 조성물을 포함하는 키트(Kit)를 제공한다.

[0032] 본 발명의 저선량 방사선 감지용 키트는 저선량 방사선 피폭 마커인 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 측정함으로써 감지할 수 있으며, 칼넥신1 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 혹은 프로브, 또는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 혹은 단백질에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분 펩티드 뿐만 아니라, 당해 키트가 이용하는 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 측정하는 분석방법에 적합한 하나 이상의 다른 구성성분, 용액 또는 장치를 포함할 수 있다.

[0033] 상기 본 발명에 따른 저선량 방사선 감지용 키트의 예로는, 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 cDNA가 기판에 부착되어진 마이크로어레이일 수 있으며, 그 밖에 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 측정할 수 있는 것으로 알려진 RT-PCR 키트, DNA칩 키트, 또는 당해 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 항체의 면역학적 검출을 위해 기질, 적합한 완충용액, 발색효소(퍼옥시다아제, 알칼라인 포스파타아제 등) 또는 형광물질(FITC, RITC 등)로 표지된 2차 항체, 및 발색기질(ABTS, OPD, TMB 등) 등을 포함하는 단백질칩 키트 등이 여기에 해당될 수 있음은 물론이다.

[0034] 본 발명에 따는 저선량 방사선 감지용 조성물 내지 이를 포함하는 키트는 바람직하게는 자주달개비의 꽃조직이 본 발명 실험에 의하면 방사선 선량이 증가할 경우 방사선에 의한 세포사멸이 촉진되어지는 것으로 나타나 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현 또는 작용에 대한 작용제(agonist)를 더 포함한다.

[0035] 상기 본 발명에 따른 저선량 방사선 감지용 조성물 내지 키트를 이용하여, 저선량 방사선의 감지에 필요한 정보

를 제공하기 위하여, 자주달개비의 화기조직으로부터 추출된 시료 중에서 측정된 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 정상 대조군의 칼넥신1 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준과 비교하는 것에 의해 저선량 수준에서도 보다 정확한 방사선 감지가 가능하고, 또한, 방사선에 피해를 입은 지역에 대한 복구작업이 있은 후, 추후의 환경복원 정도를 지속적으로 모니터링할 수 있게 한다.

[0036] 이하 본 발명의 내용을 실시예를 참조하여 보다 상세하게 설명하고자 한다. 다만 하기 예시된 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위해 제시되는 것일 뿐 이에 의해 본 발명의 권리범위가 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

[0037] [실험예 1] 자주달개비 꽃에 대한 방사선 조사

[0038] 자주달개비의 꽃을 대상으로 50mGy 이하의 방사선과 100, 250, 500, 1000mGy 에 해당하는 방사선량을 조사하였다. 감마선 조사는 정읍에 위치한 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 내에 위치한 감마파이토트론을 이용하여, 상온, 공기 중에서 각각의 선량으로 하기 표 1의 조건에 따라 방사선 조사를 수행하였다.

표 1

[0039]

| 조 사 내 용 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No | 시료명 | 상태 | 거리 (m) | 조사 선량(Gy) | 조사 기간(일) | 중량(g)/ 개수 | 관리 온도 (℃) |
| 1 | 자주달개비 | 식물체 | 7.44 | 0.05 | 1(1hr) | 500g/4 | 25 |
| 2 | 자주달개비 | 식물체 | 5.14 | 0.1 | 1(1hr) | 500g/4 | 25 |
| 3 | 자주달개비 | 식물체 | 3.16 | 0.25 | 1(1hr) | 500g/4 | 25 |
| 4 | 자주달개비 | 식물체 | 7.44 | 0.5 | 1(10hr) | 500g/4 | 25 |
| 5 | 자주달개비 | 식물체 | 5.14 | 1 | 1(10hr) | 500g/4 | 25 |

[0040] [실험예 1] cDNA 라이브러리 제작

[0041] 방사선을 조사한 후 자주달개비의 화기조직으로부터 total RNA를 추출하였다. total RNA의 추출 방법은 꽃조직을 잘라내어 액체질소로 급냉시켜 마쇄한 후, RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Seoul, Korea)를 이용하였다. 추출된 total RNA는 Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA)을 이용하여 정량한 후, 총 6의 RNA를 주형으로 Super Script II (Life Technologies, Carlsbad, CA)을 사용하여 역전사 반응을 시킨 후, Advantage 2 Polymerase Mix (Clontech, Seoul, Korea)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA는 QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Seoul, Korea)를 사용하여 정제된 후, 454 library preparation kit (Roche)를 사용하여 454 single-stranded cDNA library로 제작되었다.

[0042] [실험예 3] DEG 분석(상향 조절 유전자의 선발)

[0043] 상기와 같이 제작된 cDNA library로 차세대염기서열분석(NGS) 방법인 Illumina Hi-seq2000을 이용하여 RNA-seq을 수행하였고, 그 결과를 바탕으로 각각의 방사선 조사 조건에서 발현이 up-regulation 되거나 down-regulation되는 유전자들을 대량 탐색하기 위해, 선량별로 DEG(differential dene expression) 분석을 실행하였다.

[0044] 그 결과, 방사선을 조사하지 않은 대조군에 비해, 가장 낮은 선량인 50mGy의 방사선에 노출된 처리구에서 2배 이상 up-regulation되는 유전자들을 선발하였다. 이 중, 서열번호 1의 Calnexin1 (CNX)이라는 유전자의 DEG 분석 결과, 50mGy, 250mGy, 500mGy, 1000mGy 선량의 방사선 조사군에서 대조군에 대비, 각각 5.7배, 0.47배, 0.62배, 0.52배의 수치로 Calnexin1 유전자의 발현이 조절됨을 확인하였다(도 1).

[0045] [실험예 4] PCR 분석

[0046] DEG 분석 결과를 재검증하기 위해, 방사선이 조사된 자주달개비의 화기조직으로부터 추출된 total RNA로 TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0을 사용하여, RT-PCR을 수행하였다. Calnexin1 유전자 부위를 증폭하기 위한 프라이머는 5에서 3방향으로 ATGACGATCGCGCCAAAGATC 의 염기 서열로 제조된 TN_2886_F 프라이머(서열번호 2)와 5에

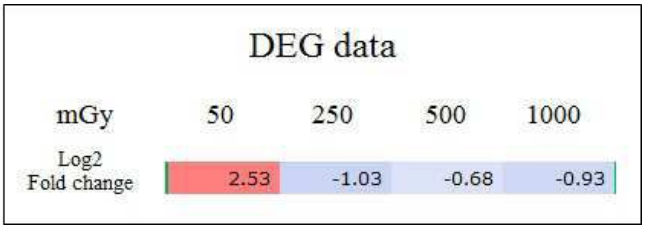
서 3방향으로 GAGGAGGGCGTAGATTTTGA의 염기 서열로 제조된 TN_2886_R 프라이머(서열번호 3)를 사용하였다. Calnexin1 유전자 부위를 증폭할 PCR 온도 조건으로는 95에서 5분 동안 열처리로 taq polymerase의 활성 유도한 후, 25cycle의 95에서 30초간 denaturation, 50에서 30초 간 annealing, 72에서 1분 50초간 extension을 거친 후, 5분간 PCR 산물의 안정화를 실시하여 PCR 산물을 취득하였다. 이 때, 사용된 reference gene으로 자주달개비의 actin7 유전자를 이용하였고, actin7 유전자를 증폭하기 위한 프라이머는 5에서 3방향으로 ATGGTTGGTATGGGRCAAAAG의 염기 서열로 제조된 Tr_actin7_F 프라이머(서열번호 4)와 5에서 3방향으로 GGGAGCAAGGGCWGTGATC의 염기 서열로 제조된 Tr_actin7(pa)_R 프라이머(서열번호 5)을 이용하였다. actin7 유전자 부위를 증폭하기 위한 PCR 온도 조건은 95에서 5분 동안 열처리로 taq polymerase의 활성을 유도한 후, 25cycle의 95에서 30초간 denaturation, 55에서 30초 간 annealing, 72에서 50초간 extension 을 거친 후, 72에서 7분간 PCR 산물의 안정화를 실시하여 PCR 산물을 취득하였다. 상기의 PCR 완료 후, 각각 1 agarose gel에서 전기영동을 실시하여 PCR 산물의 증폭여부를 확인하였다.

[0047] Calnexin1 유전자와 actin7 유전자에 대한 상기 RT-PCR 실험을 독립적으로 3번을 수행한 후, 전기 영동한 결과를 바탕으로 ImageJ 프로그램 (http://imagej.nih.gov/ij/)을 이용하여, 각각의 DNA 밴드의 정량 및 정성분석을 시행한 결과는 도 2에 나타낸 바와 같다.

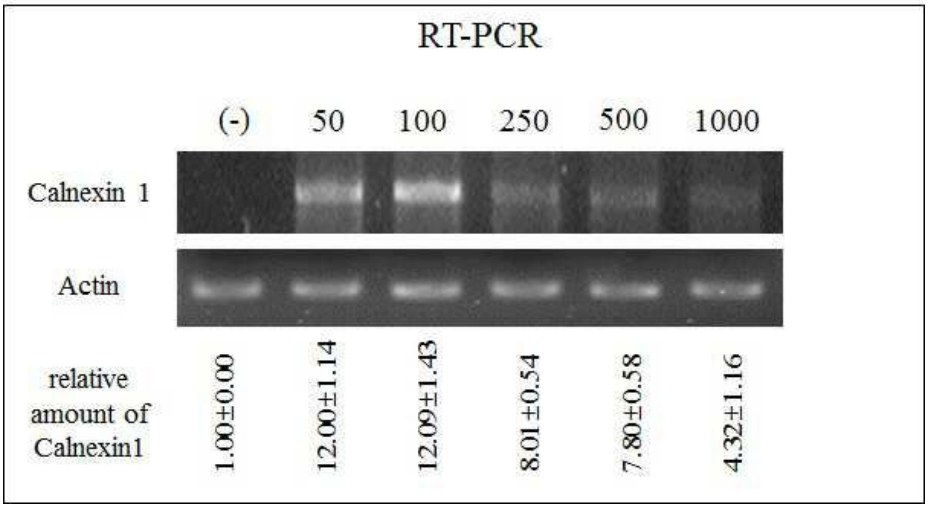
[0048] 상기 실험결과에서 확인할 수 있듯이, 자주달개비 BNL 4430의 방사선 처리구 중, 가장 약한 선량인 50mGy에서도 민감하게 발현양이 상향 조절되는 유전자로 Calnexin1 유전자를 발견하였고. RT-PCR을 통해 유전자발현양을 검증한 결과, 역시 이 유전자의 발현이 상향 조절됨을 검증하였다. 따라서 자주달개비의 Calnexin1 유전자는 자주달개비를 이용한 생물학적 방사선 관측시스템의 개발에 있어서 유용한 유전자임을 확인하였다.

## 도면

### 도면1




### 도면2




## 서 열 목 록

<110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)

<120> COMPOSITION FOR DETECTION OF LOW DOSE RADIATION USING REFLEXED SPIDERWORT, THE KIT FOR LOW DOSE RADIATION DETECTION, AND THE DETECTION METHOD USING THE SAME

<130> SP0557

<160> 5

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 1629

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 1

atgacgatcg cgccaaagat ccttctctta tgcctacttt cctctctgtg gctccagatc 60

tgggcatccg agccgatttt ctacgagtct ttcgatgagg atttcgaggg gcgatggatt 120

aagtcggaaa aggagggtta ttcaggtgtg tggaagcatg ccaaaagtga tggacatgat 180

gactatggcc ttcttgtgag cgagaaggcg aggaaatatg ctattgttaa gaaactagat 240

gaacccatca gtcttaagga tgaaactatt gttcttcagt ttgaagttcg acttcaggaa 300

ggtcttgaat gtggaggcgc ttatcttaaa tatctacgtc ctcaggatgc tggttggact 360

cctaagggct ttgacaatga gtccccatat tctatcatgt ttggacctga caaatgtggt 420

tccaccaata aggttcattt tatccttaat cacaagaatc caaaatcagg gaagtatgtt 480

gagcatcatc tcaagtatcc tccatctgtc ccatctgaca agctttcaca tgtctatact 540

gctattttga aacctgataa cgagttgaga attttgattg atggggaaga aaagaaaaaa 600

gcaaacttct tatcttccga cgattttgag ccagcactca tcccattaaa gacaattcca 660

gatcctgatg acaagaagcc tgctgactgg gatgagagac ctaagattgc tgatagttct 720

gctgtgaagc ctgatgattg ggatgaggat gcaccgatgg agattgaaga tgaggaggct 780

gttaagcctg aaggatggct ggatgatgaa cctgaggata ttgatgatcc tgaggccaca 840

gtacctgaag attgggatgt cgaggaggat ggagagtggg aatctcctaa gattgacaac 900

ccgaagtgtg aagtagcacc aggttgtgga gagtggaaga ggccaatgaa gaaaaatcca 960

gcctacaagg ggaaatggca tgctcctatg attgacaatc cagattacaa gggtatttgg 1020

aagcctcagg aaattgataa ccctgagtat ttcgagttag acaaacctga ctttgaacca 1080

attgctgcta ttgggattga gatttggacg atgcaggatg gtattctgtt tgacaatatt 1140

ttgattgctg ctgatgagaa ggttgcagag tcttataggg aaaaaacatg gaaacctaag 1200

tacgatgttg agaaagagaa gcagaaggct gaagaggctg aagcagcttc ttctgtttca 1260

gatggtctag caggttttca gaagaaggtt ttcgatggtc tctacaaggt agctgatgtt 1320

cctttcttgg cagcatacaa gtccaagatt attgatataa ttgagaaggc agagaagcag 1380

ccaaacctta caattggaat ccttgtctcg gttgctgtgg ttttactgac cattctcttc 1440

cgactattct ttggtggaag aaaggcaact gttgttcctg ctgcacctgc tactaatacc 1500

ccaactgaag ctgacaagga agctgacaag gattctggaa gcactgaaga gaaggaaggg 1560

aacgagcagg aagagaacga gaaagaagaa gaaactgcag ctcaacgacc aaggaggagg 1620

agggcgtag 1629

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TN_2886_F primer

<400> 2

atgacgatcg cgccaaagat c 21

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TN_2886_R primer

<400> 3

gaggagggcg tagattttga 20

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tr_actin7_F primer

<400> 4

atggttggta tgggrcaaaa g 21

<210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>  Tr_actin7(pa)_R primer

<400>  5

gggagcaagg gcwgtgatc  19