



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0078361
(43) 공개일자 2017년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6895 (2013.01)

C12Q 1/6837 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0188806

(22) 출원일자 2015년12월29일

심사청구일자 2015년12월29일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

임용표

대전광역시 유성구 상대남로 26 트리폴시티아파트
903동 1602호

최수련

대전광역시 중구 태평로 80 삼부아파트1단지 408
동 141호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

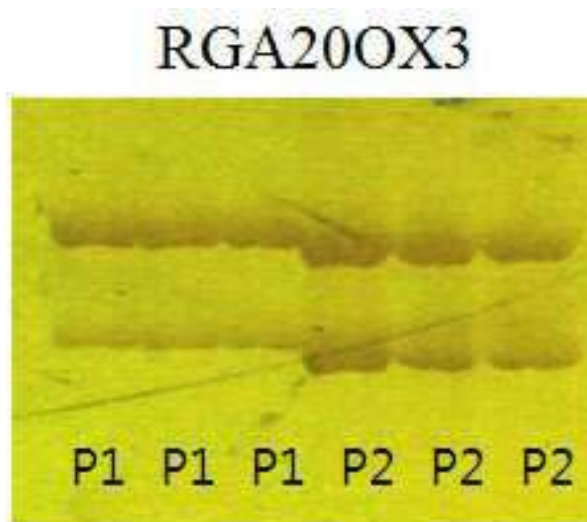
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명에서는 최종선발된 프라이머 세트를 이용하여 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 판별할 수 있는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명을 통해 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종에 대해 특이적 판별이 쉽고 초기에 빠르게 수행될 수 있으므로, 우성의 개량무 품종 육성 시 효율적으로 품종이나 계통들의 평가가 가능함으로써 우성의 개량무 품종 육성에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

C12Q 2563/101 (2013.01)
C12Q 2563/103 (2013.01)
C12Q 2563/107 (2013.01)
C12Q 2565/125 (2013.01)
C12Q 2600/13 (2013.01)

(72) 발명자

우효나

대전광역시 유성구 대학로 99 충남대학교 KT&G 농업생명공학과 303호 (궁동)

이수희

충청북도 충주시 목행산단4로 13, 106동 1502호(목행동, 한라비발디아파트)

선해정

경기도 용인시 기흥구 죽전로 20, 104동 601호(보정동, 죽전누리에뜰아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 213002-04-3-SB110

부처명 농림부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원(IPET)

연구사업명 기획과제(연구사업단) GSP채소종자사업단

연구과제명 채소작물의 종자개발을 위한 육종 특화 통합 DB 구축 및 운영

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교

연구기간 2013.07.25 ~ 2022.05.02

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 7 및 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 포함하는 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트.

청구항 2

제1항에 따른 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는, 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 키트.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 증폭 반응을 수행하기 위한 시약은 DNA 폴리머라제, dNTPs 및 버퍼를 포함하는 것인 키트.

청구항 4

분석 대상 시료에서 DNA를 분리하는 단계;

상기 분리한 DNA를 주형으로 하고, 제1항에 따른 프라이머 세트를 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및

상기 증폭 산물을 검출하는 단계를 포함하는, 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 증폭된 표적 서열은 형광, 인광 또는 방사성 측정을 발하는 물질로 표지되어 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 증폭 산물의 검출은 DNA 칩, 겔 전기영동, 방사성 측정, 형광 측정 또는 인광 측정을 통해 수행되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 무(*Raphanus sativus* 2n = 18)는 그의 식용가능한 뿌리 및 잎을 위해 기르는 경제적으로 중요한 작물이다. 상기 종들은 배추, 양배추 및 유지용 종자들과 같은 여러 타 중요 작물들을 포함하는 십자화과(Brassicaceae)에 속한다. 십자화과 작물들 중에서도, 무는 형태학적 수확 형질들을 지배하는 유전학 측면에서 가장 덜 규명된 것 같다. 뿌리 및 잎의 형태학적 형질들은 무에 있어 중요한 특징들이다. 특히, 저장 뿌리들의 개시 및 생장은 뿌리 수확량 및 품질을 결정한다. 저장 뿌리 및 잎의 발생은 환경적, 유전자적 및 생리학적 인자들 사이의 복잡한 상호작용과 결부되어 있다. 다육성 생물량(succulent biomass)을 형성하는 무 뿌리의 축은 2개의 부분들로부터 유도된다: 상단 부분은 배축으로부터 기원하는 반면, 하단 부분은 실제 뿌리로부터 유도된다. 뿌리 형상 및 크기는 영양 생장의 과정에서 변화하며, 그러한 측면들이 시장에서의 수요에 따라 육종자에 의해 선별된다. 따라서, 형태학적 형질들은 저장 뿌리 수확량 및 품질에 대한 중요한 기여자이다.

- [0003] 최근 10년간, 다양한 생식질의 이용이 무에 대한 여러 분자 마커 및 유전자 연관 맵의 개발을 가능케 했다(Shirasawa et al., 2011 *DNA Res* 18, 221-15 232). 카드름 축적, 질병 내성, 글루코시놀레이트, 및 뿌리 형태에 대한 정량적 형질 좌(QTL)가 개발되었다. 십자화과 식물들 중, 애기장대(*Arabidopsis thaliana*) 및 배추(*Brassica rapa*)의 전체 유전체 서열이 결정되었고, 다수 유전자들의 기능이 규명되었다. 광범위한 뿌리 및 잎 형태학적 변이들이 배추 품종들에서 보고되었다(Li et al., 2013 *DNA Res* 20, 1-16). 상기 종들 사이의 신터니 맵(syntenic map)은 QTL 분석 후 후보자 유전자들의 동정을 위한 강력한 도구를 제공할 것이다.
- [0004] 차세대 서열분석(NGS) 기법의 신속한 개발로, 수많은 작물에 대한 유전체 전체의 서열 분석이 짧은 시간 내에 실행될 수 있다. 열무(Japanese cultivar radish) 유전체의 드래프트 서열이 공개되었다. 이들은 총 402Mb 스캐폴드 서열을 포함하며, 이들 중 116Mb는 불완전한 유전체 어셈블리를 나타내는 염색체로 지정되었다. 분석대상의 형질들에 대한 기능성 좌를 검출하는 QTL 맵핑과 전체 유전체 서열 정보를 병용하면 고품질 작물 및 채소 육종에 유익하다. 몇가지 QTL들이 뿌리 형태에 대해 맵핑되었지만, 형질 변이의 근원이 되는 대부분의 유전자들은 밝혀지지 않았다. 유전체 범위에서의 스캐닝 후보자 유전자는 일반적으로 DNA 마커를 이용하면, 대다수 후보 유전자들을 포함하는 QTL의 염색체 영역의 위치를 유전자 거리 수준에서 제공한다.
- [0005] 본 발명에서 시들음병(fusarium wilt) 형질들의 유전자적 조절을 조사하기 위해 선행기술에서 사용되었던 맵핑 개체군(Yu et al., 2013 *Theor Appl Genet* 126, 2553-2562)을 이용해 무의 잎, 뿌리 및 식물 전체 특징을 지배하는 QTL을 동정했다. QTL 부위에 대하여 애기장대에서 일치하는 신터니 영역을 찾고 이로부터 추론된 형질에 연관한 후보 유전자들에 대해 분석했다. 애기장대 유전체와의 비교 정렬 및 부모 계통의 차세대 유전체 분석(NGS)에 의한 전장-유전체 데이터의 병용은 잠재적 후보 유전자들 내에서의 잠재적 후보 유전자들 및 In/Del 또는 SNP 변이들을 동정해 낼 수 있게 해 준다. 추가적으로, 배추 QTL 영역에서의 비교 분석은 4 개의 보존되는 염색체 블록을 동정해냈으며, 무 유전체 및 배추속 식물 종들 사이의 구조 및 기능적 보존을 확인하였다.
- [0006] 한국등록특허 제1411890호에서는 '초위성체 마커를 이용한 무 품종 식별 방법'이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1091157호에서는 '무 세포질 판별용 염색체 DNA 마커'가 개시되어 있으나, 본 발명에서와 같이 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도에 대해서는 밝혀진 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자는 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하기 위한 방법을 개발하고자, 타원형 뿌리, 긴 잎 및 우산형인 지상 식물 부분들을 나타내는 개량무 품종인 '835'(P1)와 가름한 뿌리, 짧은 잎 및 깔매기형인 지상 식물 부분들을 나타내는 야생무인 'B2'(P2)를 교배하여 유도된 210개의 F₂ 개체군을 대상으로 하여 분석된 형태학적 형질들에 대해 무, 애기장대와 QTL 맵의 비교 정렬을 수행하여 QTL 맵 사이의 비교 QTL 맵으로 인해 상이한 특징을 지닌 QTL의 상동적 영역 및, 이것을 참조한 후보 유전자들 사이의 밀접한 유연관계를 밝혔고, 동정된 상동적 군으로부터 식물의 초장에 관여하는 *RsGA200X3* 유전자를 확인하였다. 따라서, 상기 유전자로부터 *RsGA200X3* 특이적 프라이머 세트를 개발하여 실제로 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 7 및 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 포함하는 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하기 위한 프라이머 세트를 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 상기 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는, 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하기 위한 키트를 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 상기 프라이머 세트를 이용하여 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하기 위한 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0011] 본 발명에서는 최종선발된 프라이머 세트를 이용하여 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 판별할 수 있는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명을 통해 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무

품종에 대해 특이적 판별이 쉽고 초기에 빠르게 수행될 수 있으므로, 우성의 개량무 품종 육성 시 효율적으로 품종이나 계통들의 평가가 가능함으로써 우성의 개량무 품종 육성에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 본 발명에서 사용된 타원형 뿌리, 긴 잎 및 우산형인 지상 식물 부분들을 나타내는 개량무 품종인 '835'와 가름한 뿌리, 짧은 잎 및 깔때기형인 지상 식물 부분들을 나타내는 야생무 품종인 'B2'를 나타낸다.
- 도 2a 및 도 2b는 무 유전체에서의 형태학적 및 수확량 형질들에 대한 QTL의 분포를 나타낸다. QTL 명칭은 표 1에 제시된 형질 명칭들의 동일한 약어를 이용해 표기하였다. 애기장대의 5개 염색체(애기장대 1번 염색체(At C1)에서 애기장대 5번 염색체(At C5)와 상동인 무의 각 LG에서의 십자화과 식물 빌딩 블록은 상이한 색상으로 표시되었다.
- 도 3은 애기장대, 무 및 배추 사이의 비교 QTL 맵핑 결과로 형태학적 형질들을 지배하는 십자화과 식물 빌딩 블록의 보존성을 나타낸다.
- 도 4는 본 발명에서 개발한 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하고 다형성을 확인한 결과이다. P1은 '835', P2는 'B2'를 나타낸다.
- 도 5는 무의 RsGA200X3 유전자의 모식도를 나타내며 청색 선들은 각각 엑손 및 인트론을 표시한다. 박스 위의 숫자들은 엑손 출발 및 정지 부위들을 나타내며 화살표와 박스 안의 염기서열은 프라이머로 사용한 염기서열 및 위치를 나타낸다.
- 도 6은 도 5에서의 프라이머로 PCR 반응 후 증폭되는 증폭 산물의 염기서열을 나타낸다. 밑줄친 부분은 프라이머 염기서열이며 '835'와 'B5' 사이에서 InDel 및 SNP의 뉴클레오타이드 다형성을 확인할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 7 및 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 포함하는 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하기 위한 프라이머 세트를 제공한다.
- [0014] 본 발명에 따른 상기 서열번호 7 및 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행한 결과 PCR 산물의 크기 차이에 의해 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분할 수 있는 것이다. 초장이 짧은 야생무의 초장은 34.8 ~ 40.5cm이고, 초장이 긴 개량무의 초장은 48.7 ~ 54.2cm이다.
- [0015] 상기 프라이머는 프라이머의 서열 길이에 따라, 서열번호 7의 서열 내의 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 20개 이상, 21개 이상, 22개 이상, 23개 이상의 연속 뉴클레오타이드의 절편으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있으며, 서열번호 8의 프라이머는 서열번호 2의 서열 내의 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 20개 이상, 21개 이상, 22개 이상, 23개 이상의 연속 뉴클레오타이드의 절편으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 또한, 상기 프라이머는 서열번호 7 및 8의 염기서열의 부가, 결실 또는 치환된 서열도 포함할 수 있다.
- [0016] 본 발명에 있어서, "프라이머"는 카피하려는 핵산 가닥에 상보적인 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드 서열을 말하며, 프라이머 연장 산물의 합성을 위한 개시점으로서 작용할 수 있다. 상기 프라이머의 길이 및 서열은 연장 산물의 합성을 시작하도록 허용해야 한다. 프라이머의 구체적인 길이 및 서열은 요구되는 DNA 또는 RNA 표적의 복잡도(complexity)뿐만 아니라 온도 및 이온 강도와 같은 프라이머 이용 조건에 의존할 것이다.
- [0017] 본 명세서에 있어서, 프라이머로서 이용된 올리고뉴클레오타이드는 또한 뉴클레오타이드 유사체(analogue), 예를 들면, 포스포로티오에이트(phosphorothioate), 알킬포스포로티오에이트 또는 펩티드 핵산(peptide nucleic acid)을 포함할 수 있거나 또는 삽입 물질(intercalating agent)을 포함할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 본 발명에 따른 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는, 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하기 위한 키트를 제공한다.
- [0019] 본 발명의 키트에서, 상기 증폭 반응을 수행하기 위한 시약은 DNA 폴리머라제, dNTPs, 버퍼 등을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 키트는 최적의 반응 수행 조건을 기재한 사용자 안내서를 추가로 포함할 수 있다. 안내서는 키트 사용법, 예를 들면, PCR 완충액 제조 방법, 제시되는 반응 조건 등을 설명하는 인쇄물이다. 안내서는 팜플렛 또는 전단지 형태의 안내 책자, 키트에 부착된 라벨, 및 키트를 포함하는 패키지의 표면에 설명을 포

함한다. 또한, 안내서는 인터넷과 같이 전기 매체를 통해 공개되거나 제공되는 정보를 포함한다.

- [0020] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [0021] 분석 대상 시료에서 DNA를 분리하는 단계;
- [0022] 상기 분리한 DNA를 주형으로 하고, 상기 프라이머 세트를 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및
- [0023] 상기 증폭 산물을 검출하는 단계를 포함하는, 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분하는 방법을 제공한다.
- [0024] 본 발명에 따른 상기 서열번호 7 및 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행한 후, PCR 산물의 크기 차이에 의해 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 구분할 수 있는 것이다.
- [0025] 본 발명의 방법은 분석 대상 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 단계를 포함한다. 상기 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 방법은 당업계에 공지된 방법을 이용할 수 있으며, 예를 들면, CTAB 방법을 이용할 수도 있고, wizard prep 키트(Promega 사)를 이용할 수도 있다. 상기 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 본 발명의 일 실시예에 따른 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 프라이머로 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭할 수 있다. 표적 핵산을 증폭하는 방법은 중합효소연쇄반응(PCR), 리가아제 연쇄반응(ligase chain reaction), 핵산 서열 기재 증폭(nucleic acid sequence-based amplification), 전사 기재 증폭 시스템(transcription-based amplification system), 가닥 치환 증폭(strand displacement amplification) 또는 Q β 복제효소(replicase)를 통한 증폭 또는 당업계에 알려진 핵산 분자를 증폭하기 위한 임의의 기타 적당한 방법이 있다. 이 중에서, PCR이란 중합효소를 이용하여 표적 핵산에 특이적으로 결합하는 프라이머 쌍으로부터 표적 핵산을 증폭하는 방법이다. 이러한 PCR 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 상업적으로 이용가능한 키트를 이용할 수도 있다.
- [0026] 본 발명의 방법에 있어서, 상기 증폭된 표적 서열은 검출가능한 표지 물질로 표지될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 표지 물질은 형광, 인광 또는 방사성을 발하는 물질일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는, 상기 표지 물질은 Cy-5 또는 Cy-3이다. 표적 서열의 증폭시 프라이머의 5'-말단에 Cy-5 또는 Cy-3를 표지하여 PCR을 수행하면 표적 서열이 검출가능한 형광 표지 물질로 표지될 수 있다. 또한, 방사성 물질을 이용한 표지는 PCR 수행시 ^{32}P 또는 ^{35}S 등과 같은 방사성 동위원소를 PCR 반응액에 첨가하면 증폭 산물이 합성되면서 방사성이 증폭 산물에 혼입되어 증폭 산물이 방사성으로 표지될 수 있다. 표적 서열을 증폭하기 위해 이용된 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트는 상기에 기재된 바와 같다.
- [0027] 본 발명의 방법은 상기 증폭 산물을 검출하는 단계를 포함한다. 상기 증폭 산물의 검출은 DNA 칩, 겔 전기영동, HRM (High resolution melting) 분석, 방사성 측정, 형광 측정 또는 인광 측정을 통해 수행될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 증폭 산물을 검출하는 방법 중의 하나로서, 겔 전기영동을 수행할 수 있다. 겔 전기영동은 증폭 산물의 크기에 따라 아가로스 겔 전기영동 또는 아크릴아미드 겔 전기영동을 이용할 수 있다. 또한, 형광 측정 방법은 프라이머의 5'-말단에 Cy-5 또는 Cy-3를 표지하여 PCR을 수행하면 표적 서열이 검출가능한 형광 표지 물질로 표지되며, 이렇게 표지된 형광은 형광 측정기를 이용하여 측정할 수 있다. 또한, 방사성 측정 방법은 PCR 수행시 ^{32}P 또는 ^{35}S 등과 같은 방사성 동위원소를 PCR 반응액에 첨가하여 증폭 산물을 표지한 후, 방사성 측정기구, 예를 들면, 가이거 계수기(Geiger counter) 또는 액체섬광계수기(liquid scintillation counter)를 이용하여 방사성을 측정할 수 있다.
- [0029] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] **재료 및 방법**
- [0031] **식물 재료 및 생장 조건**
- [0032] 시들음병(fusarium wilt disease) 저항성 형질에 대한 연관 지도 개발 및 QTL 평가를 위해 선행기술에서 사용되었던 자식계통 무 '835'(P1) 및 'B2'(P2)를 교배하여 유도된 210 개의 F $_2$ 개체군을 본 실험에 이용했다(Yu et al., 2013 *Theor Appl Genet* 126, 2553-2562). 총합하여, 새로 개발된 EST-SSR 기준 마커(Shirasawa et al., 2011 *DNA Res* 18, 221-15 232) 및 옥신, 사이토키닌 및 성장 인자 형태-관련 기능성 마커를 포함한 258개의 마

커가 사용되었다. 2개의 자식계통이 구별되는 형태적 특징은 다음과 같다: '835'는 타원형 뿌리, 긴 잎 및 우산형인 지상 식물 부분들을 나타낸 반면, 'B2'는 가름한 뿌리, 짧은 잎 및 갈매기형인 지상 식물 부분들을 나타낸다(도 1). 표현형 조사를 위해, 2012, 2013 및 2014년의 9월 내지 11월에 복제시마다 8분의 $F_{2:3}$ 식물을 심었다. 종자들은 대한민국 대전 국립 충남대학교의 밭에 심었다. $F_{2:3}$ 맵핑 개체군 및 부모 계통에서 11가지의 형태학적 및 수확량 구성요소 형질들을 기록했다(표 1).

표 1

Trait	ABS	Year	Mean of parental line		F _{2:3} population		
			B2	835	Mean	Range	h ²
Plant weight (g)	PW	2012	650.00±111.80	1725.00±781.00	1421.56±493.89	460.00-3800.00	0.48
		2013	552.10±174.59	1483.33±301.39	1372.96±558.11	190.00-3120.00	
		2014	610.84±98.10	2042.40±419.93	1774.99±675.64	520.00-3710.00	
Plant height (cm)	PL	2012	34.80±2.95	49.50±5.80	58.24±9.79	34.00-81.25.00	0.35
		2013	40.50±6.08	48.67±1.53	51.37±10.48	18.00-79.33	
		2014	38.00±3.98	54.20±10.03	44.70±6.89	30.00-86.00	
Angular divergence	AD	2012	47.40±4.22	75.00±3.56	74.87±10.68	51.25-100.75	0.64
		2013	53.00±7.02	76.33±6.35	68.97±11.31	46.33-99.60	
		2014	50.80±2.81	94.80±13.14	73.01±12.30	42.667-120.00	
Exsertion length (cm)	EL	2012	8.70±0.67	10.50±4.20	10.85±3.58	3.10-20.63	0.23
		2013	12.50±2.08	10.33±0.58	11.08±3.97	2.00-27.50	
		2014	10.30±1.96	11.20±3.03	12.26±4.19	5.00-23.00	
Leaf number	LN	2012	15.00±1.87	18.25±4.11	18.41±4.88	8.75-44.67	0.33
		2013	19.50±3.21	13.67±1.53	23.54±6.22	9.00-44.75	
		2014	17.40±2.10	17.80±1.48	22.82±5.92	14.00-59.00	
Leaf length (cm)	LL	2012	28.00±1.22	42.75±3.40	44.44±6.32	21.50-70.25	0.56
		2013	25.75±8.25	48.00±1.73	42.16±6.14	27.75-58.40	
		2014	27.30±3.14	52.00±6.745	44.70±6.90	30.00-86.00	
Leaf width (cm)	LW	2012	13.80±0.84	20.00±3.37	17.97±2.45	9.00-25.00	0.42
		2013	13.80±3.01	22.00±3.46	17.84±2.93	9.50-24.60	
		2014	13.72±0.654	22.50±1.66	19.12±2.93	12.00-30.00	
Root weight (g)	RW	2012	374.00±62.29	1115.00±670.00	988.58±395.86	240.00-3000.00	0.37
		2013	345.35±118.29	1066.67±230.94	931.18±440.08	60.00-2260.00	
		2014	372.14±48.38	1554.00±438.78	1198.46±561.98	110.00-2680.00	
Root length (cm)	RL	2012	19.60±1.52	22.75±4.03	25.15±5.43	13.67-44.17	0.43
		2013	23.00±3.06	21.33±2.31	20.18±5.59	7.50-36.15	
		2014	21.20±2.34	28.40±6.07	24.01±5.58	10.00-41.00	
Root diameter (cm)	RD	2012	7.00±0.50	9.75±2.78	9.32±2.22	5.00-31.50	0.34
		2013	7.10±0.81	10.17±0.76	9.41±2.15	4.00-22.00	
		2014	7.14±0.38	11.04±1.08	9.68±1.91	5.00-15.00	
Root shap	RS	2012	5.00±0	7.00±2.16	5.01±1.83	1.75-10.00	0.36
		2013	5.00±1.15	7.00±0	5.87±1.59	1.00-9.00	
		2014	4.60±0.52	6.40±2.51	6.64±1.28	3.00-10.00	

통계적 분석 및 QTL 맵핑

상관 계수 분석을 위해 SPSS 통계 소프트웨어(SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)를 이용했다. 유전력은 수학식 $H^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{g1}^2/n + \sigma_e^2/nr)$ 에 따라 산출했는데, 여기서 σ_g^2 및 σ_{g1}^2 은 유전자형의 변량 및 조건 사이의 상호작용의 변량이고, σ_e^2 는 오차 변량이고, r은 각 조건의 복제 횟수이고, n은 조건의 갯수이다(Ding et al., 2012 *Ann Bot* 109, 747-759). 선행기술에 기재된 유전자 맵을 QTL 맵핑에 이용했다. Win QTL Cart 2.5 소프트웨어(<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>; Wang 등, 2006 Windows QTL Cartographer V2.5. User manual 31 Bioinformatics Research Centre, North Carolina State University, Raleigh)를 이용해 QTL

분석을 실행했다. 복합 간격 맵핑 함수를 전방 및 후방 단계적 회귀분석을 위한 4개의 파라미터, 10cM 윈도우 크기, 5개의 컨트롤 마커 및 1cM 단계 크기로 Model 6를 이용하여 가동했다.

[0036] **무, 애기장대 및 배추 사이의 비교 QTL 맵 정렬**

[0037] 형태학적 형질들에 대해 무, 애기장대 및 배추에서 기능적으로 보존되는 좌를 밝혀내기 위해, QTL 맵의 비교 정렬을 수행했다. Li 등의 문헌(*DNA Res* 20, 1-16)에 기재된 배추 QTL 맵을 비교에 이용했다. 신터니 분석 및 동종 염색체의 분절 및 십자화과 식물 빌딩 블록의 식별(Schranz et al., Schranz *Trends Plant Sci* 10 11, 535-542)을 Ramchiary이 기재한 방법(Ramchiary et al., 2011 *DNA Res* 18, 305-320)에 따라 실행했다. 애기장대에 대해서는, 애기장대 유전체에서 정의된 좌인 QTL에 대응하는 신터니 영역을 TAIR 데이터베이스 (<http://www.arabidopsis.org/>)에서 검색하여 연관된 후보 유전자들을 밝혀냈다.

[0038] **후보 유전자에서의 SNP 및 InDel의 대량 신속처리(high-throughput) 서열분석 및 동정**

[0039] 2개 부모('835' 및 'B2')의 대량 신속처리 페어드-엔드(paired-end) 전체-유전체 서열분석을 검독값들 사이에 500bp 삽입을 두어 Illumina Hiseq 2000 sequencer를 이용해 실행했다. 검색된 원 검독값들을 'fastqc', 'jellyfish' 및 'quake' 소프트웨어를 이용해 품질체크하고, 트리밍하였으며, 폴리싱했다(polished). 전체-유전체 콘티그들 및 스캐폴드를 SOAPdenovo(Luo 등, 2012 *Gigascience* 1, 18)에 의해 어셈블했다. 무 유전체에서의 추가적인 스캐폴드 서열들은 무 유전체(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 및 애기장대 유전체 (TAIR, <http://www.arabidopsis.org>) 유래의 EST 서열을 이용한 BLASTN 및 BLAT에 의해 추론될 수 있다.

[0040] 애기장대 유래의 이미 규명된 후보 유전자들을 선별하고, 중요한 형질 QTL을 보유하고 있는 무 유전체 중의 오솔로그 유전자를 탐색했다. Mega BLAST (Camacho et al., 2009 *BMC Bioinformatics* 10, 421)를 이용하여 부모 계통의 서열과 SNP 및 InDel에 의해 유발된 비-동의성(non-synonymous) 아미노산 분석에 의해 선별된 후보 유전자들과의 사이에서 SNP 및 InDel을 분석했다. 각각의 동정된 QTL 십자화과 식물 빌딩 블록에 대한 유전자-기반 프라이머를 SNP 및 InDel 평가를 위해 고안했다. 증폭된 PCR 산물을 제조사의 지시에 따라 pGEM-T Easy Vector (Promega, USA)에 클로닝하고, 하나 이상의 클론을 2회 서열분석했다(대한민국 서울 소재의 Macrogen). 이어서, 부모 계통들 사이의 뉴클레오티드 서열을 비교하여, 서열 변이를 확인했다.

[0041] **후보 유전자들의 발현 분석**

[0042] 추정되는 유전자들의 발현 수준을 표 2에 기재된 프라이머 세트로 RT-PCR을 이용하여 계통 '835' 및 'B2'에서 분석했다. 전체 RNA를 Li 등의 문헌(2013 *DNA Res* 20, 1-16)에 기재된 방법을 이용해 20일령 잎 시료에서 추출했다. 각 시료 유래의 전체 RNA 중 2 μ g을 20 ml 반응 혼합물에서 역전사효소 키트(Promega, USA)를 이용해 역전사시켰다. 무 액틴 유전자를 대조군으로 이용했고, 프라이머 서열은 이하와 같다(Yang 등, 2008 *Ann Bot* 102, 483-489): 정방향 5'-ATCTTCATGCTGCTGGTGC(서열번호 11), 역방향 5'-GCTGATGATATCAACC(서열번호 12). PCR 프로그램은 이하와 같았다: 95 $^{\circ}$ C에서 5분간의 변성 단계; 94 $^{\circ}$ C에서 40초, 55 $^{\circ}$ C에서 45초 및 72 $^{\circ}$ C에서 45초를 35회 반복; 및 72 $^{\circ}$ C에서 7분의 최종 신장.

[0043] **실시예 1. 수정(revised) 맵**

[0044] 본 발명자들은 Yu 등의 문헌(2013 *Theor Appl Genet* 126, 2553-2562) 유래의 원시 유전자형 데이터를 검토하고, 많은 데이터를 잃은 유전자형의 10개의 개체 및 13개의 마커를 밝혔으며 상기 개체 및 마커는 본 분석에서 삭제했다. 기준 EST-SSR 마커(Shirasawa 등, 2011 *DNA Res* 18, 221-232) 및 후보 유전자-기반 마커 유래의 51개의 신규 유전자형 데이터를 추가하여 무 유전체 염기에 대한 수정된 유전자 맵을 구축했다. 상기 수정된 맵은 총 258개의 마커를 포함하며, 총 210개의 개체를 기반으로 수행했다. 마커 배열에서 사전에 미검출된 오류로 인해 마커 순서가 LG2의 상단부에서 변경되었다. 최근 수정된 맵에서, LG5 및 LG7를 합쳐 LG5로 명명했고, 추가로 LG8는 LG7로 바꾸었으며, 나아가 LG8로 결정된 12개의 기준 마커를 포함한 신규한 연관 군을 만들었다(도 2a 및 도 2b).

[0045] **실시예 2. 표현형 데이터 분석**

[0046] 2개 부모 계통('835' 및 'B2')의 평균값, 11개의 형질들에 대한 $F_{2:3}$ 개체군의 광범위한 유전력(h^2) 값을 표 1에 요약해 두었다. 각 특징에 대해 부모 계통은 상이했는데, '835'의 표현형 값은 2013년도의 돌출 길이, 잎 갯수 및 뿌리 길이를 제외한 모든 형질들에 대해 'B2' 보다도 더 높았고 유전력(heritability)은 돌출 길이에 대한 0.23 내지 각도 분산에 대한 0.64의 범위였다. $F_{2:3}$ 개체군에서는 광범위한 변량이 관찰되었는데, 일부 형질들,

예를 들어 2012년도의 식물 키, 2013 및 2014년도의 잎 갯수에서 유의한 초월 분리(transgressive segregation)를 나타냈다(표 1). 맵핑 개체군에서 모든 형질들에 대한 빈도 분포 분석은 3년 복제에서 지속적인 분포를 나타내어, 여러 유전자들이 각 형질에 대해 결부되어 있음을 시사했다. 피어슨 상관 계수 분석은 잎 형질들, 뿌리 형질들 및 전체 식물 형질들 사이에서의 중간 내지 강력한 양의 상관관계를 밝혀냈다(데이터 미제시).

[0047] **실시에 3. QTL 맵핑 및 십자화과 식물 빌딩 블록의 동정**

[0048] QTL 맵핑은 무 유전체의 각 LG 상에 분포된 형태학적 구성요소들을 참조하여 55개의 좌를 동정해 냈다. 그러한 QTL은 2.69 내지 12.60의 LOD 값, 0.82 내지 16.25%의 표현형 변량을 차지했으며, 부가 유효성은 -263.20 내지 192.1의 범위였다. F_{2:3} 개체군에서 밝혀진 각 형질에 대한 추정되는 QTL을 밝혔으며, QTL의 연관 지도 위치배정은 도 2a 및 도 2b에 도시되어 있다.

[0049] **3-1. 전체 식물 형질들:** 식물 중량과 관련된 5개의 QTL을 검출했다: 2개의 QTL이 LG8에 있고, 1개의 QTL이 각각 LG 2, LG 6 및 LG 9에 있었다. 그러한 5개의 QTL들에 대한 LOD 값들은 2.86 내지 8.20의 범위였고, R²은 3.16% 내지 8.25%의 범위였다. qPW4(R 블록)은 상대적으로 더 높은 LOD 값을 나타내고, 표현형 편차는 3년에 걸쳐 알아냈다. 본 발명자는 식물 키(PH)에 대해 5개의 QTL을 알아내어, LG1(R), LG2, LG6(W 블록), LG8(R) 및 LG9(B 블록)으로 분류했다. 상기 QTL 중 2가지(qPH2 및 qPH5)가 3년 중 2년 동안 관찰된 반면, qPH1은 오직 1년에서만 검출되었다. 4개의 QTL이 돌출 길이(EL)에 대해 검출되었는데, 이들 중 LG1의 R 블록 중의 qEL1 및 LG6의 W 블록 중의 qEL2, LG7의 U 블록 중의 qEL3, LG8의 R 블록 중의 qEL4가 2012, 2013 및 2014의 3년에서 지속적으로 발견되었다.

[0050] **3-2. 잎 형질들:** QTL 분석에 4가지 잎 형질들이 사용되었다: 잎 길이(LL), 잎 너비(LW), 잎 갯수(LN) 및 각도 분산(AD, angular divergence) (도 2). 6개의 QTL가 LN에 대해 밝혀졌다. LG1의 R 블록 중의 qLN1, LG3의 F 블록 중의 qLN2, 및 LG4의 N 블록 중의 qLN3, LG5 중(qLN4), LG6 중(qLN5) 및 LG8 중(qLN6)에 있는 QTL들이 각각 U, W 및 I 블록에서 검출되었다. 각 QTL에 의해 설명되는 표현형 편차는 2.15 내지 9.12%의 범위였다. 대조군 LL에 대해 6개의 QTL이 동정되었다. 3년 모두에서 qLL2, qLL4 및 qLL6가 유의한 것으로 나타났다. 그러나, qLL1(J 블록), qLL3(E 블록) 및 qLL5(U 블록)은 오직 2013년에만 검출되었다.

[0051] LW에 대하여 5개의 QTL이 검출되었는데, 이들 중에는 LG3의 F 블록 중의 qLW1, LG4의 N 블록 중의 qLW2, LG6 중의 qLW3(W 블록), LG8 중의 qLW4(R 블록), 및 LG9 중의 qLW5(B 블록)이 있다. 이들 중, 오직 qLW2 및 qLW4만이 2012, 2013 및 2014년도에 지속적으로 발견되었다. R 블록 중의 2개, W 및 U 블록 중의 각각 하나씩을 포함하여, LG1, 6, 7 및 8 상에 위치되어 있는 4개의 QTL이 잎 AD에 대해 검출되었다. LG8의 R 블록 중의 qAD6가 주요 QTL로 보였으며, 3년 모두에서 발견되었다. 상기 QTL의 부가 유효성은 +1.14, +1.40 및 +0.90이어서, QTL 대립형질이 부모 중 부(male parent)로부터 유도되었음을 시사했다.

[0052] **3-3. 뿌리 형질들:** 4개의 QTL이 RW에 대해 검출되었는데, 이들은 4개의 연관 군에 분포되어 있다: LG8 상에서 2개(qRW2 및 qRW3, 각각 J 및 R 블록에 속함), 및 LG2 (qRW1) 및 LG9 (qRW4)의 각각에서 1개. RL 및 RD에 대해 각각 4개 및 5개의 QTL이 밝혀졌다. 이들 중, qRL2 및 qRL3은 상이한 년도에서 LG6의 W 블록에 맵핑되었고, qRL1은 LG1의 R 블록에, qRL4는 LG8의 J 블록에 맵핑되었다. RD에 대해, F 블록 중의 qRD1 및 J 블록 중의 qRD5는 3년 중 2년에서 검출되었고, qRD2은 N 블록에서, qRD3 및 qRD4는 LG5의 E 블록 및 LG7의 U 블록에서 검출되었다. RS와 관련된 5개의 QTL이 상이한 연관 군들 qRS1(A/M 블록), qRS2(E 블록) 및 qRS5(B 블록)에서는 단일 년도에만 검출되었고, LG8(R 블록)상의 qRS4는 3년에서 검출되었다.

[0053] **실시에 4. 기능성 후보 유전자들의 서열 확인**

[0054] '835' 및 'B2' 계통의 전체-유전체 재서열 분석은 각각 트리밍(trimming) 및 폴리싱(polishing) 후 3.3 및 3.5 백만 품질 염기쌍(bp)을 제공했으며, SOAP 데노보(denovo) 유전체 서열 어셈블리는 264, 564, 155bp 및 276, 810, 577bp의 스캐폴드를 생성했다. 이어서, 애기장대 유래의 총 50개 유전자-염기 마커를 고안하고, 부모 계통에 대해 정렬시켜, SNP 및 In/Del을 실험상에서 평가했다. 5개의 마커가 그들 각각의 연관 군들 상에서 QTL 위치를 지닌 맵에서 명백한 다형성 및 공존(co-localizations)을 나타냈다(도 3). 마커 부여 유전자 RSPL9(AT2G42200.1)를 LG2로 맵핑했는데, 여기서 QTL은 PW, LL 및 RW을 포함한다. 옥신 유전자 연관 마커들인 RIAA33(AT5G57420.1), RAIR1(AT4G12550.1) 및 RARF19(AT1G19220.1)는 각각 LG6, LG7 및 LG9로 맵핑했다. 지베렐린 생합성 유전자 마커 RGA200X3(AT5G07200.1)는 AD, LN, LL, LW 및 RD, RS와 연합되어 LG8 상에 위치되어 있었다.

- [0055] 본 발명자들은 In/Dels 영역을 다시 서열분석하여 부모 계통의 정렬된 서열 데이터가 정확한 것인지 여부를 평가했다. RsSPL9, RsIAA33, RsAIR1, RsGA200X3 및 RsARF19의 서열은 애기장대 유래의 상동적 서열과 80%를 초과하는 뉴클레오타이드 상동성을 나타냈다. RsSPL9는 'B2' 내에 2bp 삽입을 포함하고, 엑손 3에 인접한 3개의 뉴클레오타이드 중의 변이를 포함했다. RsIAA33에서 뉴클레오타이드가 엑손 1에서 변화했고, RsAIR1에서는 엑손 1에서 'B2' 내에 2bp 결실을 포함하여 이루어진다. RsGA200X3에는 'B2' 및 '835' 사이에서 함께 인접하여 위치되어 있는 5개의 SNP가 있고, RsARF19에는 '835'에 3bp 삽입이 있다.
- [0056] **실시예 5. 애기장대 및 배추 사이의 비교 QTL 맵 정렬**
- [0057] 본 발명에서의 무와 애기장대 유전체 사이의 비교 QTL 맵 및 Li 등의 문헌(Li et al., 2013 *DNA Res* 20, 1-16)의 배추 QTL 맵 사이의 비교 QTL 맵으로 인해 상이한 특징을 지닌 QTL의 상동적 영역 및 이것을 참조한 후보 유전자들 사이의 밀접한 유연관계를 식별할 수 있게 된다. 3개 종들 사이에서 QTL 맵의 비교 정렬을 통해 총 6개의 상동적 군이 동정되었다. 수반되는 구조 및 기능적으로 보존되는 좌가 J, W, U 및 R 블록에서 발견되었다(도 3). 첫번째 상동적 군은 무의 LG1의 R 블록이 애기장대 5번 염색체 및 배추의 A10로 이루어지며; 두번째 상동적 군은 무의 LG2의 J 블록이 애기장대 2번 염색체, 및 배추 A5로 이루어진다. 세번째 상동적 군은 무 LG6의 W 블록이 애기장대 5번 염색체 및 배추 A10의 W 블록 및 잎 형질들에 대한 공통 QTL으로 이루어진다. 네번째 상동적 군은 무 LG7의 U 블록이 애기장대 4번 염색체 및 배추 A8로 이루어지는데, 이들은 잎 길이의 형질들에 대한 공통 형질들을 포함했다. 다섯째 상동적 군은 배추 A3 및 애기장대 5번 염색체와 상동적이며, R 블록에서 식물 키에 대한 유사한 QTL 형질들을 포함하는 LG8 내에 위치한 R 블록이다.
- [0058] **실시예 6. LG8 내에 위치한, R 블록에 존재하는 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종에 관여하는 RsGA200X3 유전자의 확인 및 상기 RsGA200X3 유전자 특이적 프라이머의 선발**
- [0059] 무의 QTL이 검출된 영역을 애기장대와 배추 유전체와 비교해 보았을 때 상당히 유사한 QTL들이 동일한 영역에서 검출된 것을 확인할 수 있었다(도 3). 이러한 결과는 비록 유전체가 다를지라도 유사한 기능을 담당하는 유전자(유전체 영역)가 매우 잘 보존되어 있다는 것을 시사하고 있다. 따라서 유전자의 구조 및 기능에 대해 정보가 많이 축적되어 있는 모델식물인 애기장대 유전체 정보를 이용하고자 하였다. 1) QTL이 위치하고 있는 유전체 블록에서 유전자의 기능을 조사하여 유사한 기능의 유전자 목록을 만들고, 2) 이들 유전자들이 무에서 '835'와 'B5' 염기서열 차이(다형성, sequence variation)가 있는지 검토하고, 3) 다형성 영역을 목표로 하여 PCR 증폭하기 위한 프라이머를 디자인하여 4) PCR 반응 후 전기영동으로 다형성을 나타내는지(polymorphism validation) 확인하였다.
- [0060] 결과로 각 상동군에서 무 QTL에 관여하는 후보 유전자로 RsSPL9, RsIAA33, RsAIR1, RsGA200X3 및 RsARF19가 선발되었으며, 이들 후보 유전자에 대한 프라이머정보는 표 2에 정리되어 있다. 각 연관그룹 LG1, LG2, LG6, LG7, LG8의 블록 (R, J, W, U, J, R)에서 형질에 관여한다고 선발된 후보유전자를 애기장대와 배추에서 비교해 보았을 때, 애기장대 5번 염색체에 해당하는 R 블록에서 식물체의 초장에 관여하는 QTL에 대하여 'RGA200X3'이 애기장대, 무, 배추 서로 다른 유전체에서 동일하게 존재함이 확인되었다. 이 유전자는 '835'(P1)와 'B2'(P2) 품종 사이에서 염기서열 차이(sequence variation)가 있었으며 이러한 차이를 검출할 수 있는 프라이머로 PCR 증폭하고 전기영동에서도 다형성을 나타냈다(도 4). 또한, 도 5는 본 발명에서 분리한 무의 RsGA200X3 유전자 구조를 모식적으로 나타낸 것이며, 도 6은 본 발명의 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 구분하기 위한 프라이머 세트의 PCR 반응 후 증폭되는 증폭 산물의 염기서열을 나타낸 것이다. 이로써, 본 발명에서 개발한 프라이머 세트를 이용하여 초장이 짧은 야생무로부터 초장이 긴 개량무 품종을 특이적으로 판별할 수 있는 것을 확인하였다.

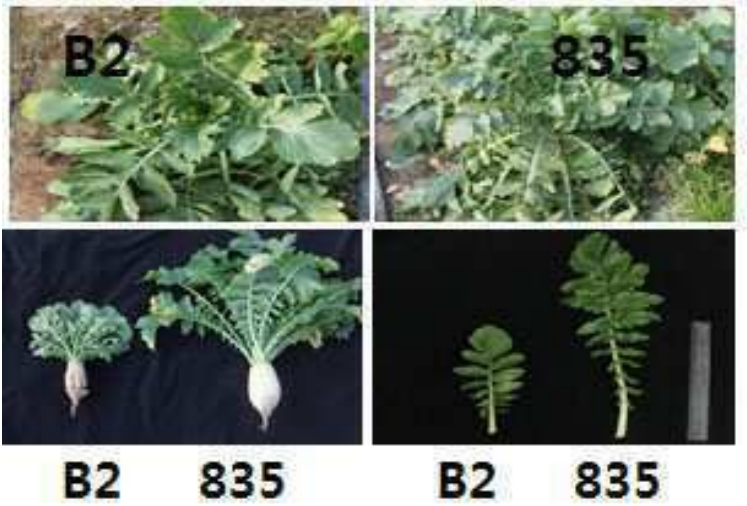
표 2

Gene information in Arabidopsis							
Marker name	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(3'-5')	Expected size (bp)	Locus	Gene name	TAIR Accession Number	Putative function
RSPL19	CTCTTCTGTCAAATCCACA TCAAC(서열번호 1)	ATAAGCCCTTGTGTTCTCA TCTTC(서열번호 2)	340	AT2G42200. 1	AtSPL9	Gene:205997 3	Leaf development, regulation of leaf formation, regulation of transcription.
RIAA33	TTGTGCTAGAGGGACGTTT TAI(서열번호 3)	TCCTCCTCACTCGTTTCTT TTA(서열번호 4)	669	AT5G57420. 1	IAA33	Gene:344197 4	INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 33,Belongs to auxin inducible gene family.
RAIR1	TCTCTCAACCTCCTCTTCT TCA(서열번호 5)	ACATTGAGGAGTACGCTG AGAT(서열번호 6)	262	AT4G12550. 1	AIR1	Gene:213559 9	AUXIN-INDUCED IN ROOT CULTURES 1
GA20OX3	ATGGCTCTAACGAATGGAA GATAC(서열번호 7)	GAACTCGTCAAGAGTGTT CATGTC(서열번호 8)	242	AT5G07200. 1	GA20OX3	Gene:218287 5	GIBBERELLIN 20-OXIDASE 3.
RARF19	CTTCTTGTTCACCTCACC TTC(서열번호 9)	ATGATGGTAGTGGGAAAG TTTG(서열번호 10)	332	AT1G19220. 1	ARF19	Gene:220220 4	Encodes an auxin response factor

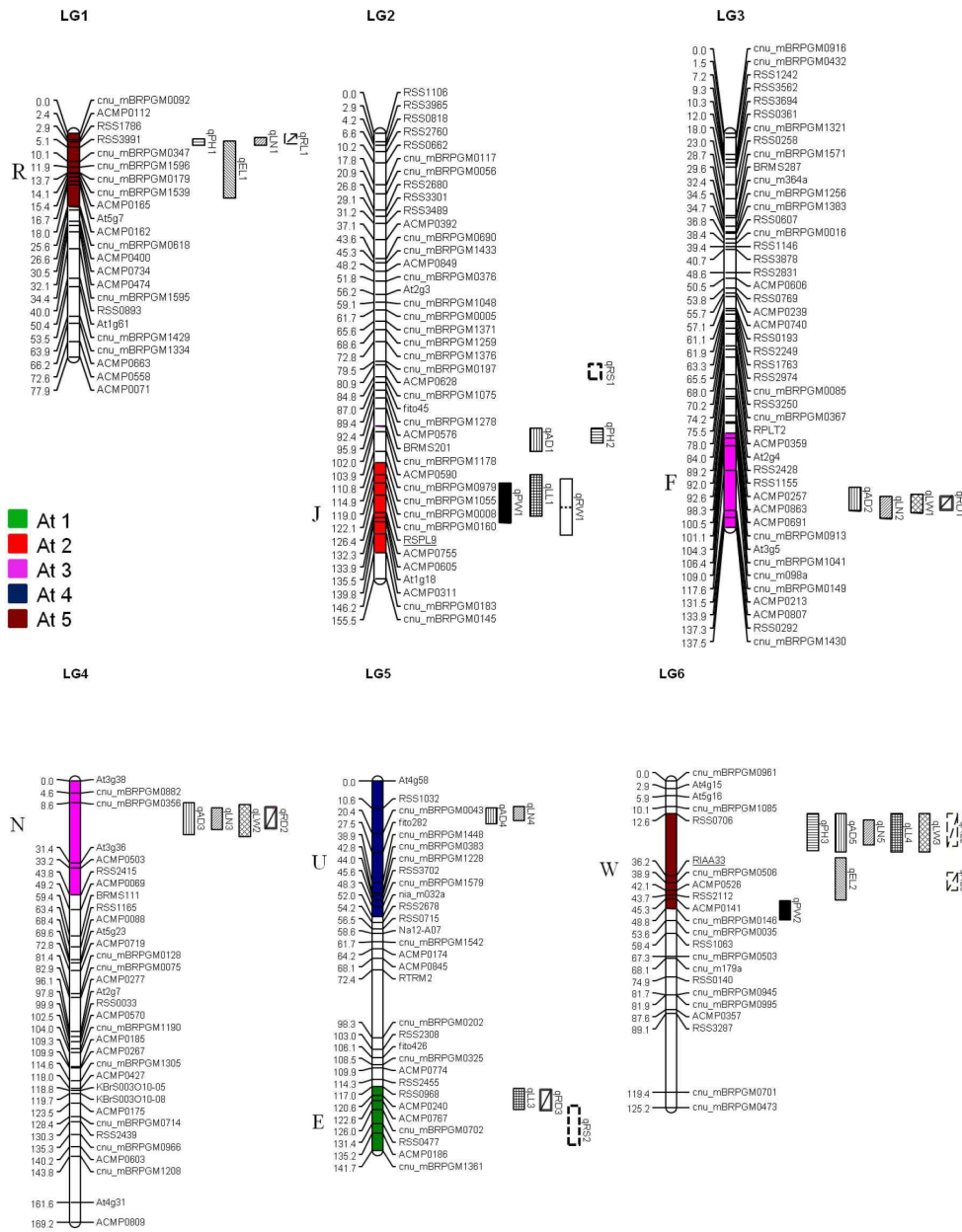
[0061]

도면

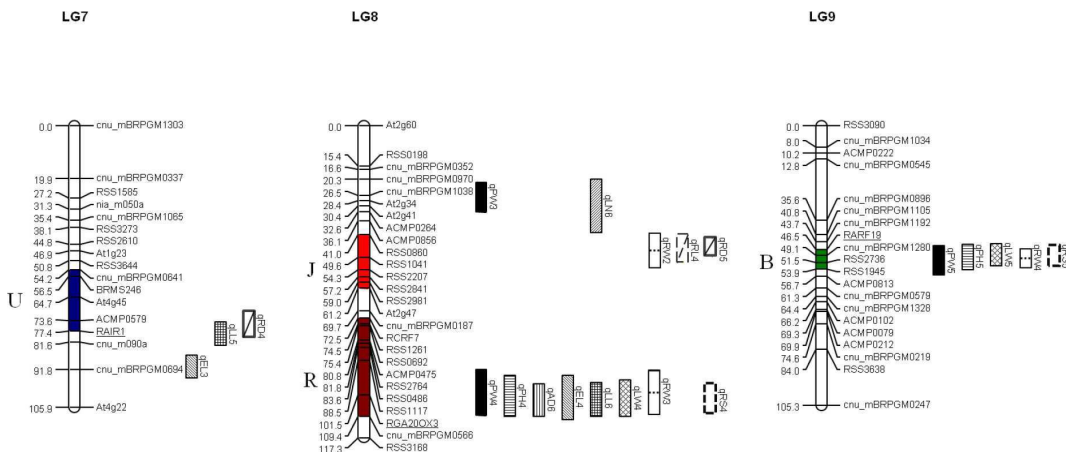
도면1



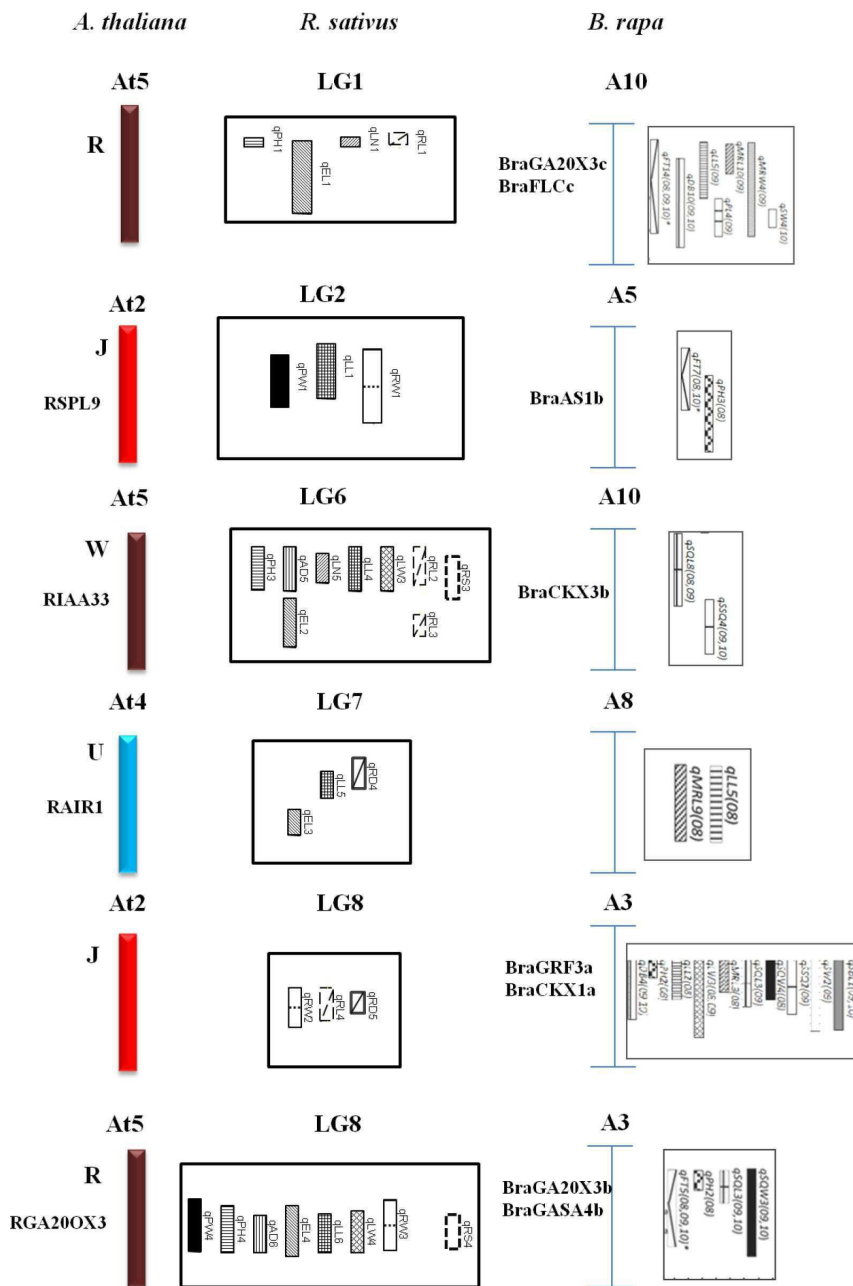
도면2a



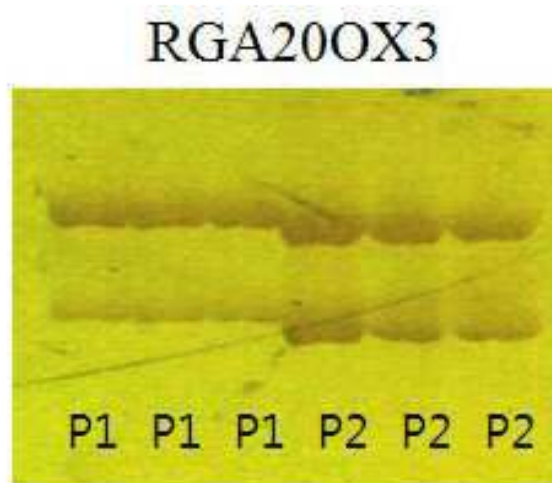
도면2b



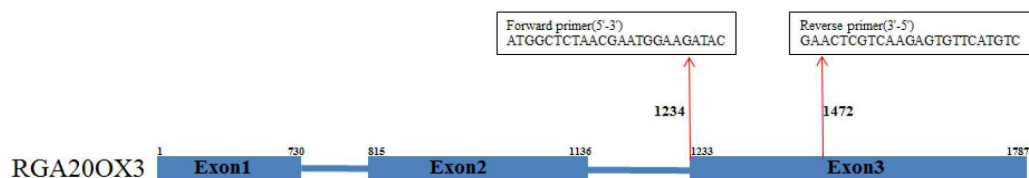
도면3



도면4



도면5



도면6

	1205	1215	1225	1235	1245	1255	1265	1275	1285	1295
GA20X3_gDNA	CGAACTTAT	ACCATTTTT	TTTCAATCAT	AGGCTCTAAC	GAATGGAAGA	TACAA-GAGT	TGTTTGCATC	GGGCGGTGGT	GAACAGCGAG	AGA-GAAAGG
GA20X3_cDNA	-----	-----	-----	---CTCTAAC	GAATGGAAGA	TACAA-GAGT	TGTTTGCATC	GGGCGGTGGT	GAACAGCGAG	AGA-GAAAGG
P1_B35	-----	-----	-----	-----	-----A	TCCAG-AGTC	TTGCTTCGNT	CGG-GAGGGT	GAATAGGGAG	AAGTGAAAGG
P2_B2	-----	-----	-----	-----	-----C	CGGCGTGGAC	TGGCTTCATG	CCG--GTGGT	GAACGCGGGT	GGG---GATG

	1305	1315	1325	1335	1345	1355	1365	1375	1385	1395
GA20X3_gDNA	AAGACGTTT-	GCATTCTTCC	TATGTCGAA	AGGGGAAAAA	GTGGTGAAGC	CACCAGAAGA	ACTAGTAAAC	GGAGTGAAGT	CT-GGTGAAA	GAAAGTATCC
GA20X3_cDNA	AAGACGTTT-	GCATTCTTCC	TATGTCGAA	AGGGGAAAAA	GTGGTGAAGC	CACCAGAAGA	ACTAGTAAAC	GGAGTGAAGT	CT-GGTGAAA	GAAAGTATCC
P1_B35	AAGACATTTT	GCATTCTTCC	TATGTCCTAA	AGGAGATAAA	GTAGTAAAGC	CACCAAAAGA	ACTAGTA---	GGAGTGAAGT	C---TGAAAG	GAGAATATCC
P2_B2	GAGACATTTT	GCAT-CTTCC	TATGTCCTAA	AGGTGACAAA	GTTGTAAGC	CCAC-AAAGA	ACTCGTA---	GGAGTGAAGT	TCCGTTGAAG	GATAATATCC

	1405	1415	1425	1435	1445	1455	1465	1475	1485	1495
GA20X3_gDNA	TGATTTTACG	TGGTCTATGT	TTCTTGAGTT	CACACAGAAG	CATTATAGGG	CAGACATGAA	CACTCTTGAC	GAGTTCTCAA	TTTGGCTTAA	GAACAGAAGA
GA20X3_cDNA	TGATTTTACG	TGGTCTATGT	TTCTTGAGTT	CACACAGAAG	CATTATAGGG	CAGACATGAA	CACTCTTGAC	GAGTTCTCAA	TTTGGCTTAA	GAACAGAAGA
P1_B35	TGATTTTACA	TGGTCTACTT	TTCTTGATT	CTCCACACAG	CATTATTAAG	CATACAAGAT	-----	-----	-----	-----
P2_B2	TGATTATACA	CGGTGTACTT	TTCTTGATT	CTCCACACAG	CTTCATTAAG	CATCCAAGAT	-----	-----	-----	-----

서열 목록

- <110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)
- <120> Specific primer set for discriminating between wild radish
cultivar of short plant height and improved radish cultivar of
long plant height and uses thereof
- <130> PN15308
- <160> 12
- <170> Kopatent In 2.0

<210> 1
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 1
 ctcttctgtc aaatccacat caac 24

<210> 2
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 2
 ataagccctt gtgttctcat cttc 24

<210> 3
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 3
 ttgtgctaga gggacgttct at 22

<210> 4
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 4
 tcctctcac tcgtttcttt ta 22

<210> 5
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer

<400>	5	
tctctcaacc tcctcttctt ca		22
<210>	6	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	6	
acattgagga gtacgtgag at		22
<210>	7	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	7	
atggctctaa cgaatggaag atac		24
<210>	8	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	8	
gaactcgtca agagtgttca tgtc		24
<210>	9	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	9	
cttcttggtc aacctcacct tc		22
<210>	10	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	

<220><223>	primer	
<400>	10	
atgatggtag tgggaaagtt tg		22
<210>	11	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	11	
atcttcatgc tgcttggtgc		20
<210>	12	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	12	
gctgatgata ttcaacc		17