



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0120135
(43) 공개일자 2015년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/82 (2006.01) A01H 5/00 (2006.01)
C12N 15/29 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0045974
(22) 출원일자 2014년04월17일
심사청구일자 2014년04월17일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경
희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
안진홍
경기도 용인시 기흥구 탑실로 152, 210동 1703호
(공세동, 탑실마을대주피오레2단지아파트)
윤진미
경기도 수원시 영통구 덕영대로1471번길 41-1 (망
포동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 14 항

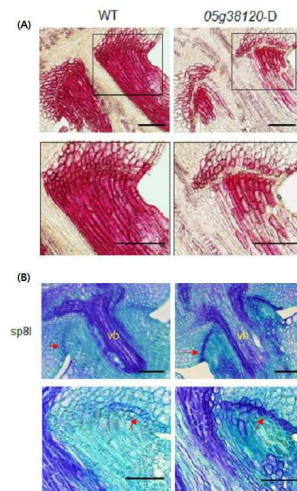
(54) 발명의 명칭 **탈립성이 조절된 형질전환 식물체 및 이의 제조 방법**

(57) 요약

본 발명은 탈립성을 조절하는 유전자, 이 유전자의 발현을 조절하는 재조합 벡터, 단자엽 식물체의 탈립성 조절
용 조성물, 이 조성물로 형질 전환된 형질전환체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 LOC_0s05g38120 유전자는 단자엽 식물체의 탈립성을 조절하여 벼를 포함하는 주요 곡물의 수확량을 증
대시키고 재배의 편리성을 도모할 수 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

조래현

경기도 수원시 영통구 덕영대로1471번길 41-1 (매포동)

김송림

경기도 수원시 영통구 영통로90번길 4-27 108동 1104호 (매포동, 늘푸른벽산아파트)

최희백

경기도 수원시 영통구 매영로 346, 667동 203호(영통동, 건영아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	PJ008128012014
부처명	농림축산식품부
연구관리전문기관	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21사업_식물분자육종사업단
연구과제명	벼 수량성 유전자개발 및 기능 검정
기 여 율	1/2
주관기관	경희대학교
연구기간	2013.01.01 ~ 2014.04.10이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	NRF-2007-0093862
부처명	미래창조과학부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	중견연구지원사업
연구과제명	모델 벼 시스템 개발 및 활용
기 여 율	1/2
주관기관	경희대학교
연구기간	2013.01.01 ~ 2014.04.10

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1로 표시되는 유전자 및 이와 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 재조합 벡터를 포함하는 단자엽 식물체의 탈립성 증진용 조성물.

청구항 2

서열번호 1로 표시되는 유전자 및 이와 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환 세포를 포함하는 단자엽 식물체의 탈립성 증진용 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 프로모터는 서열번호 3으로 표시되는 프로모터인 탈립성 증진용 조성물.

청구항 4

제1항의 또는 제2항의 탈립성 증진용 조성물로 단자엽 식물체를 형질 전환시키는 단계를 포함하는 탈립성이 증진된 단자엽 식물체의 제조 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 하기 단계를 포함하는 탈립성이 증진된 단자엽 식물체의 제조방법:

서열번호 1로 표시되는 유전자와 이와 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 재조합 벡터를 제조하는 단계;

단자엽 식물체에 상기 재조합 벡터를 도입하는 단계; 및

상기 재조합 벡터의 도입에 따라 서열번호 1로 표시되는 유전자가 과발현되는 형질전환 식물체를 선별하는 단계.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 단자엽 식물체는 벼(*Oryza sativa*)인 탈립성이 증진된 단자엽 식물체의 제조방법.

청구항 7

제1항 또는 제2항의 탈립성 증진용 조성물에 의해 형질전환된 형질전환 단자엽식물체.

청구항 8

서열번호 1로 표시되는 유전자의 발현을 억제하는 RNA i 또는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터를 포함하는 단자엽 식물체의 탈립성 억제용 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 재조합 벡터는 서열번호 1로 표시되는 유전자 발현을 억제하는 RNA i를 포함하는 재조합 벡터를 포함하는 것인 단자엽 식물체의 탈립성 억제용 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 RNA i는 서열번호 5 또는 6으로 표시되는 서열인 단자엽 식물체의 탈립성 억제용 조성물.

청구항 11

제8항 내지 제10항의 어느 한 항에 따른 탈립성 억제용 조성물로 단자엽 식물체를 형질 전환시키는 단계를 포함

하는 탈립성이 억제된 단자엽 식물체의 제조 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 하기 단계를 포함하는 탈립성이 억제된 단자엽 식물체의 제조방법:

서열번호 1로 표시되는 유전자의 발현을 억제하는 서열번호 5 또는 서열번호 6으로 표시되는 RNA i를 포함하는 재조합 벡터를 제조하는 단계;

단자엽 식물체에 상기 재조합 벡터를 도입하는 단계; 및

상기 재조합 벡터의 도입에 따라 서열번호 1로 표시되는 유전자 발현이 억제되는 형질전환 식물체를 선별하는 단계.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 단자엽 식물체는 벼(*Oriza sativa*)인 탈립성이 증진된 단자엽 식물체의 제조방법.

청구항 14

제8항 또는 제10항의 어느 한 항에 따른 탈립성 억제용 조성물에 의해 형질전환된 형질전환 단자엽식물체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 탈립성이 조절된 형질전환 식물체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우리나라의 주요한 식량자원인 벼는 전 세계적으로 옥수수, 보리, 밀과 함께 주요한 작물로 연구가 계속해서 진행되어 왔지만, 생산 지역에 따른 기후 변화와 같은 환경 변화에 따라 적합한 품종을 개량하고 더 높은 생산성을 갖도록 하기 위한 지속적인 연구와 개발 등이 필요한 실정이다. 이를 위해 기존에 사용하던 육종 방법에 더하여 유용한 유전자의 기능을 분석하고 이를 도입한 새로운 품종 개발을 통해 생산성의 증대와 재배 환경에 더 적합한 벼를 만들기 위한 노력이 지속적으로 이루어지고 있다.

[0003] 벼는 주요한 작물로 고대 인간들이 이용한 야생형에 가까운 벼에서 실제 우리가 사용하는 재배벼가 되기까지 선택적으로 교화 과정을 가지게 되었다. 선택적 교화 과정에 있어서 가장 대표적으로 변화되는 형질은 벼의 탈립성이다. 야생형 벼는 자연적으로 더 멀리 종자를 번식시키기 위해 탈립성이 높은 형질을 가지는데 반하여 재배 벼는 탈립성이 클 경우 종자의 수확량이 크게 감소하여 이를 줄이는 방향으로 교화가 이루어졌다. 이에 따라 재배벼는 대부분 탈립성의 형질이 감소하게 되었지만, 탈립성을 크게 줄어드는 경우 탈곡과정에서 종자가 잘 털리지 않는 문제가 발생하기 때문에 벼의 탈립성을 적절하게 조절할 필요가 있다. 기존에 탈립성에 관련된 유전자 연구를 위해서 탈립성이 높은 야생형과 유사한 벼를 재배벼와 교배하여 QTL (양적 유전자좌) 분석으로 관련 유전자를 찾아낸 연구들이 일부 있었으나, 여전히 부족한 상태이다.

[0004] 이에 따라, 탈립성을 조절할 수 있는 유전자 발굴을 통해 벼의 생산성 등을 증대 시킬 수 있는 연구가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2013-0132963

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 10-0795372

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 탈립성을 조절하는 유전자를 제공한다.
- [0007] 또한 본 발명은 탈립성을 조절하는 유전자의 발현을 조절하는 재조합 벡터를 제공한다.
- [0008] 또한 본 발명은 탈립성을 조절하는 유전자의 발현을 조절하는 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환세포를 제공한다.
- [0009] 또한 본 발명은 단자엽 식물체의 탈립성 증진용 또는 억제용 조성물을 제공한다.
- [0010] 또한 본 발명은 탈립성이 조절된 형질전환 단자엽 식물체를 제공한다.
- [0011] 또한 본 발명은 탈립성이 조절된 형질전환 단자엽 식물체를 제조하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기의 목적을 달성하기 위하여 본 발명자들은 식물체의 탈립성을 조절하는 유전자를 발굴하기 위해 예의 노력한 결과, 벼의 LOC_0s05g38120 유전자가 탈립성을 조절하는 것을 확인하고 이 유전자를 과발현하거나 억제하는 형질전환 식물체를 제조함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0013] 본 발명은 단자엽 식물체에 있어서 탈립성을 조절하는 유전자(이하 '본 발명의 유전자'라 함)를 제공한다. 본 발명에 있어서 탈립성을 조절하는 유전자는 벼의 LOC_0s05g38120 (Os05g0455200) 유전자이다. 본 유전자를 이용하여 이삭의 탈립성을 조절함으로써 단자엽 식물체, 특히 벼의 수확량 증대와 재배의 편리성을 유도할 수 있다.
- [0014] LOC_0s05g38120의 genome DNA 크기는 4572 bp이며 coding sequence의 크기는 1743 bp로 4개의 엑손과 3개의 인트론으로 구성되며 581개의 아미노산으로 번역되어 단백질이 만들어진다.
- [0015] 본 발명에 있어서, LOC_0s05g38120의 CDS는 서열번호 1로 기재하였으며 단백질 서열은 서열번호 2로 기재하였으며 LOC_0s05g38120의 genome DNA는 서열번호 4로 기재하였다.
- [0016] 또한 본 발명은 탈립성을 조절하는 유전자의 발현을 조절하는 재조합 벡터를 제공한다. 본 발명의 재조합 벡터는 그 구조에 따라 탈립성을 증진하거나 억제시킬 수 있다.
- [0017] 상기 통상의 재조합 벡터는 본 발명의 유전자를 도입하거나 본 발명의 유전자에 대한 RNA i, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 등을 도입할 수 있는 것이면 어떠한 것이든 무방하나, 바람직하게는 pCambia계열, pGA계열, pGWB계열, 예컨대, pGA3383, pCambia3301, pCambia3300, pGA3426, pGA3780, pGWB12, pGWB14와 같은 Ti-plasmid 및 이에 파생된 벡터로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다. 이 중 pGA계열의 pGA3426 vector의 경우 옥수수 유비퀴틴(ubiquitin) 유전자 프로모터를 가지고 있으며, 이 vector에 원하는 유전자를 cloning 한 후 식물체 내로 형질전환 시켜 목적하는 유전자를 과발현시킬 수 있는 binary vector 이다.
- [0018] 바람직하게 본 발명의 탈립성 증진을 위한 재조합 벡터는 서열번호 1로 표시되는 LOC_0s05g38120 유전자와 및 이와 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 재조합 벡터이다. 본 발명의 탈립성 증진을 위한 재조합 벡터는 3' 방향에 목적 단백질에 대한 유전자가 발현되도록 한다.
- [0019] 상기 외래 프로모터는 식물체의 전신 또는 특별한 조직에만 국한시켜 발현되는 것이면 무엇이든 무방하며, 바람직하게는 전신발현을 유도하는 프로모터로서 예컨대 쌍자엽식물용 프로모터로 사용되는 꽃양배추 모자이크 바이러스(CaMV: cauliflower mosaic virus)의 35S RNA 유전자의 프로모터, 단자엽식물용 전신발현 유도 프로모터로는 벼 액틴(actin), 옥수수 유비퀴틴(ubiquitin) 유전자 프로모터 및 벼 시토크롬 C유전자(Os0c1)의 프로모터, 잎 등의 기타 조직 특이 프로모터로서 예컨대 벼와 옥수수 유래의 알비씨에스(rbcS: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase small subunit) 프로모터, 아그로박테리움 유래의 식물 뿌리 발현을 유도하는 RoID 프로모터, 감자 유래 괴경 특이 발현 유도 파타틴(patatin) 프로모터, 토마토 유래의 과일 성숙 특이 발현 유도 피디에스(PDS: phytoene synthase) 프로모터 등이다. 바람직하게 본 발명의 프로모터는 옥수수 유비퀴틴(ubiquitin) promoter이며, 보다 바람직하게 서열번호 3으로 표시되는 프로모터를 사용할 수 있다.
- [0020] 바람직하게 본 발명의 탈립성 억제를 위한 재조합 벡터는 LOC_0s05g38120 유전자의 발현을 억제할 수 있는 RNA i를 포함하는 재조합 벡터 또는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터를 포함하며, 바람직하게는 RNA i를 포함하는 재조합 벡터이다.
- [0021] 본 명세서에서 용어 "RNA i"는 특정 mRNA의 절단(cleavage)을 통하여 RNAi(RNA interference) 현상을 유도할

수 있는 짧은 이중사슬 RNA를 의미한다. 타겟 유전자의 mRNA와 상동인 서열을 가지는 센스 RNA 가닥과 이와 상보적인 서열을 가지는 안티센스 RNA 가닥으로 구성된다. RNA i는 타겟 유전자의 발현을 억제할 수 있기 때문에 효율적인 유전자 녹다운 방법으로서 또는, 유전자치료(gene therapy)의 방법으로 제공된다. RNA i는 RNA끼리 짝을 이루는 이중사슬 RNA 부분이 완전히 쌍을 이루는 것에 한정되지 않고 미스매치(대응하는 염기가 상보적이지 않음), 벌지(일방의 사슬에 대응하는 염기가 없음)등에 의하여 쌍을 이루지 않는 부분이 포함될 수 있다. 본 발명의 탈립성 억제를 위한 재조합 벡터는 LOC_0s05g38120 유전자의 발현을 억제하여 탈립성을 억제시킬 수 있다. 본 발명의 RNA i서열은 서열번호 5 또는 서열번호 6으로 표시되는 뉴클레오티드 서열이다.

[0022] "본 발명의 LOC_0s05g38120 유전자" 와 "기능적으로 동등한 절편"은 본 발명의 유전자와 실질적으로 동등한 효과를 나타내는, 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 핵산의 조각 또는 일부분을 의미한다. 이러한 핵산 절편은 서열번호 1에 기재된 염기서열과 비교하여 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 상동성을 가지며, 이러한 핵산 절편은 당업계에 널리 알려진 분자생물학적 방법에 의하여 용이하게 제작될 수 있다.

[0023] 상기 재조합벡터는 통상의 벡터에 본 발명의 유전자를 도입하거나 본 발명의 유전자를 억제할 수 있는 서열 및 구조를 포함한 것일 수 있으며, 이처럼 본 발명의 유전자 등을 도입하여 재조합벡터를 제조하는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자라면 공지의 방법에 따라 용이하게 실시 가능하다.

[0024] 또한 본 발명은 상기 재조합 벡터에 의해 형질 전환된 형질 전환 세포를 제공한다.

[0025] 상기한 재조합 벡터는 감염, 형질도입, 트랜스펙션, 전기천공 및 형질전환과 같은 주지된 기술을 이용하여 배양된 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 숙주의 대표적인 예는 박테리아 세포, 예를 들면, 대장균, 스트렙토마이세스 및 살모넬라 티피무리움 세포 및 식물 세포를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0026] 식물의 형질전환에 이용되는 "식물 세포"는 임의의 식물 세포가 이용가능하다. 식물 세포는 배양 세포, 배양 조직, 배양기관 또는 전체 식물, 바람직하게는 배양 세포, 배양 조직 또는 배양 기관 및 더욱 바람직하게는 배양 세포의 어떤 형태도 가능하다. "식물 조직"은 분화된 또는 미분화된 식물의 조직, 예를 들면 이에 한정되진 않으나, 줄기, 잎, 암 조직 및 배양에 이용되는 다양한 형태의 세포들, 즉 단일 세포, 원형질체(protoplast), 짝 및 캘러스 조직을 포함한다.

[0027] 본 발명은 단자엽 식물체의 탈립성 조절용 조성물을 제공한다. 본 발명의 단자엽 식물체의 탈립성 조절용 조성물은 재조합 벡터의 종류 또는 형질전환 세포의 종류에 따라 탈립성 증진용 조성물이거나 탈립성 억제용 조성물일 수 있다.

[0028] 바람직하게 단자엽 식물체의 탈립성 증진용 조성물은 상기 서열번호 1로 표시되는 유전자를 포함하는 탈립성 증진을 위한 재조합 벡터를 포함하거나 상기 서열번호 1로 표시되는 유전자를 포함하는 탈립성 증진을 위한 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환 세포를 포함할 수 있다.

[0029] 바람직하게 단자엽 식물체의 탈립성 억제용 조성물은 LOC_0s05g38120 유전자의 발현을 억제할 수 있는 RNA i를 포함하는 탈립성 억제를 위한 재조합 벡터 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 탈립성 억제를 위한 재조합 벡터를 포함하거나, 이들 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환 세포를 포함할 수 있다. 보다 바람직하게 서열번호 5 또는 서열번호 6의 RNA i 서열을 포함하는 탈립성 억제를 위한 재조합 벡터를 포함하거나 이들 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환 세포를 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명의 단자엽 식물체의 탈립성을 조절하는 조성물은 탈립성을 증진 또는 억제하여 단자엽 식물체에서 수확량 증대와 재배의 편리성을 도모할 수 있다.

[0031] 또한 본 발명은 상기 벡터, 상기 형질전환 세포 또는 상기 탈립성 조절용 조성물로 형질 전환된 형질전환 단자엽 식물체를 제공한다. 단자엽 식물체로 도입된 상기 유전자에 의해 탈립성이 증진될 수 있으며, 상기 유전자에 대한 RNA i 또는 안티센스올리고뉴클레오티드 등에 의해 탈립성이 억제될 수 있다. 이러한 단자엽 식물체는 바람직하게 벼(*Oryza sativa* L.)이다.

[0032] 본 발명의 탈립성이 증진된 형질전환 단자엽 식물체는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 핵산의 변이체와 비교하여 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 상동성을 가지는 염기서열을 이용하여 제조된 형질 전환 단자엽 식물체로써, 탈립성 증대 효과가 실질적으로 동등한 수준의 형질전환 식물체를 포함할 수 있다.

[0033] 본 발명의 탈립성이 억제된 형질전환 단자엽 식물체는 서열번호 1로 표시되는 염기서열로 이루어진 유전자의 발

현이 야생형과 대비하여 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 그 이상 억제된 형질전환 식물체로써, 탈립성 억제 효과가 실질적으로 동등한 수준의 형질전환 식물체를 포함할 수 있다.

[0034]

본 발명의 식물체의 형질전환은 DNA를 식물에 전이시키기 위한 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 그러한 형질전환 방법은 반드시 재생 및 (또는) 조직 배양 기간을 가질 필요는 없다. 식물 종의 형질전환은 이제는 쌍자엽 식물뿐만 아니라 단자엽 식물 양자를 포함한 식물 종에 대해 일반적이다. 예를 들어, 원형질체에 대한 칼슘/폴리에틸렌 글리콜 방법(Krens, F.A. et al., 1982, Nature 296, 72-74; Negrutiu I. et al., June 1987, Plant Mol. Biol. 8, 363-373), 원형질체의 전기천공법(Shillito R.D. et al., 1985 Bio/Technol. 3, 1099-1102), 식물 요소로의 현미주사법(Crossway A. et al., 1986, Mol. Gen.Genet. 202, 179-185), 각종 식물 요소의(DNA 또는 RNA-코팅된) 입자 충격법(Klein T.M. et al., 1987, Nature 327, 70), 식물의 침윤 또는 성숙 화분 또는 소포자의 형질전환에 의한 아그로박테리움 투메파시엔스(Agrobacterium tumefaciens) 매개된 유전자 전이에서(비완전성) 바이러스에 의한 감염(EP 0 301 316 호) 등으로부터 적당하게 선택될 수 있다. 이러한 변이체는 당업계에 널리 알려진 분자생물학적 방법에 의하여 용이하게 제작될 수 있다.

[0035]

또한 본 발명은 상기 LOC_0s05g38120 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 단자엽 식물체를 형질 전환시켜 탈립성을 조절하는 LOC_0s05g38120 유전자를 식물체에서 발현시키는 단계를 포함하는 탈립성이 증진된 단자엽 식물체의 제조 방법을 제공한다.

[0036]

바람직하게, 서열번호 1로 표시되는 염기서열을 포함하는 재조합 벡터를 제조하는 단계; 단자엽 식물체에 상기 재조합 벡터를 도입하는 단계; 및 상기 재조합 벡터가 도입되어 단자엽 식물체의 탈립성이 증진된 단자엽 형질전환 식물체를 선별하는 단계를 포함하는 탈립성이 증진된 단자엽 식물체의 제조 방법을 제공한다.

[0037]

또한 본 발명은 상기 LOC_0s05g38120 유전자의 발현을 억제할 수 있는 RNA i를 포함하는 재조합 벡터 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터를 식물체에서 발현시키는 단계를 포함하는 탈립성이 억제된 단자엽 식물체의 제조 방법을 제공한다.

[0038]

바람직하게, LOC_0s05g38120 유전자의 발현을 억제할 수 있는 서열번호 5 또서열번호 6으로 표시되는 RNA i를 포함하는 재조합 벡터를 제조하는 단계; 단자엽 식물체에 상기 재조합 벡터를 도입하는 단계; 및 상기 재조합 벡터가 도입되어 단자엽 식물체의 탈립성이 억제된 단자엽 형질전환 식물체를 선별하는 단계를 포함하는 탈립성이 억제된 단자엽 식물체의 제조 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0039]

본 발명의 유전자를 이용하여 단자엽 식물체의 탈립성을 조절함으로써, 수확량을 증가시키고 탈곡의 편리함을 재배 품종과 재배 지역에 맞게 조절하여 효율적인 곡물 생산을 도모할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0040]

도 1은 히트맵(heatmap)으로 LOC_0s05g38120 유전자와 3A-07285 계통의 T-DNA 삽입 위치 및 유전형 분석(genotyping) 결과를 표시한 도이다.

도 2는 3A-07285 계통에 있어서 T-DNA tagging에 따른 LOC_0s05g38120 유전자의 전사 증가량과 탈립성이 변화를 나타낸 도이다.

도 3은 3A-07285 계통의 탈립성 표현형을 나타낸 것으로 야생형과 대비하여 헤테로(hetero) 식물체 및 호모(homo) 식물체의 높은 탈립성을 보여주는 도이다.

도 4는 야생형과 3A-07285 계통에 있어서 탈리대(abscission zone)의 발달과 리그닌(lignin) 축적 변화를 확인한 도이다.

도 5는 LOC_0s05g38120 유전자의 과발현에 따른 탈립성 증가를 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 6은 LOC_0s05g38120 유전자의 3'UTR 부분과 5'UTR 부분을 이용하여 LOC_0s05g38120 유전자에 대한 RNA i 벡터를 제작한 모식도를 보여주는 도이다.

도 7은 탈립성이 큰 인디카 계열의 품종인 Kasalath에서 LOC_0s05g38120 유전자를 RNA i 벡터를 이용해 발현을 억제시킨 형질 전환 식물체에서 탈립성 감소 및 탈립대 발달 저해를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0041] 이하에서는, 실시 예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 아래의 실시 예는 발명의 이해를 돕기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[0042] <실시예 1> 탈립성이 증가하는 계통 선발

[0043] 탈립성을 조절하는 유전자를 찾기 위해 10만 계통의 T-DNA 돌연변이 집단 중 활성화 변이체 집단을 이용하여 표현형을 관찰하였다. 야생형 동진 벼에서는 탈립성의 표현형을 관찰할 수 없지만, 3A-07285 활성화 변이체 집단에서 탈립성이 증가한 계통을 선별할 수 있었다. 탈립성은 digital force gauge를 이용하여 측정하였으며 벼의 이삭이 panicle에서 떨어질 때 힘을 측정함으로써 탈립성을 확인하였다. 헤테로 및 호모 돌연변이체에서 유전자 발현 증가에 따라 탈립성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 호모 돌연변이는 탈립성을 측정하는 digital force gauge로 탈립성을 측정하기 전 수확단계에서 이미 종자가 떨어지고 남아 있지 않았으며, 야생형과 헤테로의 탈립성 변화를 측정한 결과는 표 1과 같았다.

[0044] 표 1. 3A-07285 계통의 탈립성 변화

	WT	hetero
3A-07285	169.67±51.1 (gf)	11.2±8.75 (gf)

[0045]

[0046] 선발된 3A-07285 계통은 표 1에서 확인되는 바와 같이 동진 벼 background의 야생형과 대비하여 hetero 돌연변이에서 탈립성이 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0047] <실시예 2> 3A-07285 계통의 T-DNA co-segregation 검증 및 유전자 활성화 확인

[0048] T-DNA 삽입에 의해 제조된 3A-07285 계통은 pGA2715 벡터에 의해 유전자가 trap되었다. 이 계통에 대하여 삽입된 위치에 대해 유전형 분석(genotyping)을 실시하였다.

[0049] 상기 선발된 계통의 벼 종자를 MSO 배지에 28 ℃에서 10일간 배양하였다. 이렇게 배양한 개체들의 잎 100mg을 채취하여 액체질소를 이용하여 급냉각한 후 분쇄하였다. 분쇄된 잎에서 CTAB 완충용액 (2% CTAB, 1.42M NaCl, 20mM EDTA (pH8.0), 100mM Tris-Cl (pH8.0))을 이용하여 genomic DNA를 추출하였다.

[0050] 3A-07285 계통은 LOC_0s05g38120 유전자의 정지코돈에서 4Kb 떨어진 곳에 삽입되어 있으며, 유전자를 활성화시킬 수 있는 엔핸서 부위를 가지는 LB 방향으로 T-DNA가 삽입되어있다. 이를 확인하기 위한 genomic DNA 서열상의 프라이머와 T-DNA 분석을 확인하기 위한 프라이머 서열은 도 1 및 표 2에 나타내었다.

[0051] T-DNA에 의해 LOC_0s05g38120의 발현이 증가하였는지를 관찰하기 위해 제조된 프라이머를 (서열번호 7 및 서열번호 8) 이용하여 LOC_0s05g38120의 발현을 관찰하였다.

[0052] 표 2. 3A-07285 유전형 분석용 프라이머

프라이머 정보	서열(5'-3')
3A-07285 LS(서열번호 7)	CGTATTCGAGAAGGAAGCTA
3A-07285 R(서열번호 8)	ACGAAGATAGCCCATTGTTA
L1S(서열번호 9)	CTAGAGTCGAGAATTCAGTACA

[0053]

[0054] PCR 반응은 95℃에서 5분 후; 95℃에서 30초, 55℃에서 30, 72℃에서 1분을 35회 반복하고, 마지막으로 72℃에서 7분을 진행하였다. PCR 산물은 아가로스 겔을 이용하여 전기영동으로 확인하였다. 이를 통해 유전형을 확인 및 선별하였다.

[0055] 또한, 실제로 LOC_0s05g38120 유전자의 발현이 활성화되었는지 확인하기 위하여 표 3의 프라이머를 이용하여 발현을 확인하였다. 대조군으로 벼의 유비퀴틴 5 프라이머를 사용하였다. 프라이머 정보는 표 3에 나타내었다.

표 3. LOC_Os05g38120 transcript 확인용 프라이머

프라이머 정보	서열(5'-3')
LOC_Os05g38120 F(서열번호 10)	AGGCTCATCTCGCTTATGGA
LOC_Os05g38120 R(서열번호 11)	TCTTCCTTGCCGAGACCATC
ubi F(서열번호 12)	AACCAGCTGAGGCCCAAGA
ubi R(서열번호 13)	ACGATTGATTTAACCAGTCCATGA

다음으로, 두 계통의 종자를 MSO 배지에서 10일 키운 후, 개체들의 잎 100mg을 채취하여 액체질소를 이용해 급속냉동시켰다. 냉동된 잎 조직을 분쇄하여 RNA iso 완충용액(takara, <http://www.takara-bio.com>)을 이용하여 total RNA를 분리하였다. 2 ug의 total RNA를 Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA는 PCR을 통해 관찰하고, 합성된 cDNA를 이용하여 quantitative real time PCR을 수행하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

도 2에 나타난 바와 같이, 3A-07286 계통에 있어서 real time PCR 결과가 탈립성이 증가하는 표현형과 일치함을 확인할 수 있었다.

이는 또한 도 3의 표현형을 통해 확인할 수 있으며 야생형에 비해 헤테로 및 호모 개체에서 LOC_Os05g38120 발현이 증가에 따라 탈립성이 증가하는 표현형을 보이는 것을 확인할 수 있으며, homo 식물체에서 탈립성이 가장 높음을 확인할 수 있었다. 즉, 상기 결과를 통해 3A-07285 계통은 LOC_Os05g38120 유전자에 co-segregation된 것이 확인하였다.

<실시예 3> LOC_Os05g38120 유전자 과발현 변이체의 탈립대 변화 확인

상기 실시예 2의 LOC_Os05g38120 활성화 변이체인 3A-07285 계통에 있어서 본 계통의 형질 변화를 세포학적으로 관찰하였다.

이삭의 세포 종단면을 관찰하여 탈립대(abscission zone)에서의 변화를 확인하고자 sp8 후기 이삭(Plant Cell Physiol. 2005 Jan;46(1):23-47 참고)을 샘플링하여 FAA 고정 용액 (포름알린 (35%): 아세트산: 에탄올 (70%) = 1:1:18)에 담그어 세포를 고정시켰다. 고정한 샘플은 파라핀 치환 후 블록을 만들고 LEICA RM2265 section 기기를 이용하여 10um 이내로 종단으로 자르고, 슬라이드 글라스 위에 놓아 붙였다. 재수화를 거친 샘플은 0.05% toluidine blue 용액과 리그닌을 염색할 수 있는 플로로글루시놀-HCl로 염색하여 광학현미경에서 10-20배율로 관찰하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.

도 4에 나타난 바와 같이, toluidine blue 염색으로 세포 염색을 수행했을 때 LOC_Os05g38120의 활성화 변이체인 3A-07285 계통에서 탈립대(abscission zone)가 더 발달된 것을 확인하였다. 또한 리그닌 염색에서도 3A-07285 호모 돌연변이체의 탈립대와 소수경(pedicle) 주위에 리그닌(lignin) 축적이 현저히 감소한 것을 확인하였다.

<실시예 4> LOC_Os05g38120 유전자 과발현을 위한 유전자 클로닝

LOC_Os05g38120 유전자를 클로닝하기 위하여 KOME cDNA를 주형으로 표 4에 나타난 서열번호 14 및 서열번호 15를 이용하여 PCR을 수행하였다. 20 ng의 cDNA 주형과 각 프라이머 5 pmol을 사용하였다. PCR 반응은 95℃에서 5분 후; 95℃에서 30초, 55℃에서 30초, 72℃에서 3분을 35회 반복하고, 마지막으로 72℃에서 7분을 진행하였다. PCR 산물은 아가로스 젤을 사용하여 전기영동하고 정적크기의 사이즈 확인하고 분리동정하여, T-easy 벡터(sub-cloning용 벡터)에 클로닝하여 염기서열 해독을 하였다. 클로닝한 DNA를 HindIII와 Spe I으로 절단한 후, 동일한 제한효소로 절단된 pGA3426 벡터(over-expression용 벡터)와 라이게이션을 14℃에서 12시간 수행하였다. 라이게이션 산물을 Top10 E.coli 컴피턴트 셀 50μl과 혼합하여 1.5 ml 튜브에 옮긴 다음 얼음에 15분 방치하였다. 이어서, 37℃ 오븐에 1분을 다시 방치한 후 1 ml의 LB 액체 배지를 추가로 튜브에 넣은 다음 1시간 동안 37℃ 셰이킹 인큐베이터에서 방치하였다. 이어서, 앰피실린 저항성 LB 고체 배지에 도말하고 12시간을 기다려 생성되는 콜로니를 1mL의 LB 액체 배지에서 세포 배양 후 미니 프랩하였다. 미니 프랩으로 얻은 DNA를 제한 효소 Hind III와 Spe I을 사용하여 절단 후 전기영동에서 아가로스 젤 분리 하고서 밴드를 확인하였다. 이렇게 해서 얻어진 클로닝 DNA를 다시 염기 서열 분석을 하여 에러가 발생하지 않은 DNA를 선택하였다. 프라이머는 표 4에 나타내었다.

표 4. 염기 서열 분석을 위한 프라이머

프라이머 정보	서열(5'-3')
LOC_Os05g38120 FL F(서열번호 14)	AAGCTTATGTCGTCCGCCGCGGG
LOC_Os05g38120 FL R(서열번호 15)	ACTAGTTCAACCAACAAGTCATGGAGC
Tnos R(서열번호 16)	CCATCTCATAAATAACGTCATGC
pUbi F3(서열번호 17)	CAGCTATATGTGGATTTTTTAGC

<실시예 5> LOC_Os05g38120 유전자 과발현 형질전환 세포의 제작

상기 실시예 4에서 제작한 벡터를 추출하였다. 아그로박테리움 컴피턴트 셀(Agrobacterium tumefaciens LB4404) 50 μ l와 10 μ g의 식물발현용 벡터를 혼합하여 얼음에 15분 방치하였다. 이어서, 액체질소에 1분 넣은 후, 37 $^{\circ}$ C 오븐에 5분을 다시 방치하는 과정을 3회 반복한 후 1 ml의 YEP 액체 배지를 넣은 다음 5시간 동안 28 $^{\circ}$ C 셰이킹 인큐베이터에서 방치하였다. 이어서, 테트라사이클린 저항성 LB 고체 배지에 도말하고 36시간을 기다려 생성되는 콜로니를 1mL의 테트라사이클린 항생제가 든 YEP 액체 배지에서 세포 배양 후 미니 프랩한 후, HindIII와 Spe I 을 사용하여 효소 절단 후 사이즈를 확인하였다. 상기 생성된 형질전환된 아그로박테리움을 이용하여 벼의 형질 전환 실험에서 사용하였다.

<실시예 6> LOC_Os05g38120 유전자 과발현 형질전환 식물체의 제작

N6D 고체 배지에서 동진버를 10일 정도 28 $^{\circ}$ C 생장실에서 명조건으로 키워서 벼의 캘러스를 생성하였다. 생성된 캘러스를 상기 실시예 4에서 얻은 식물발현용벡터로 형질 전환된 아그로박테리움을 72시간 키운 세포와 혼합하여 N6D-Acetosyringone 을 포함한 배지에서 22 $^{\circ}$ C 암처리 생장실에 방치하였다.

아그로박테리움에 오염된 캘러스를 세파탁신이 첨가된 3차 증류수로 깨끗이 5번 정도 행구어 낸 다음 N6D 고체 배지에서 hygromycin 선발을 1차(hygromycin 30 mg/L), 2차 (hygromycin 40 mg/L)에 걸쳐서 계대 배양을 통해 진행하였다. 선발은 28 $^{\circ}$ C 생장실에서 각각 2주 씩 합해서 4 주 동안 이루어졌다. 분열된 캘러스를 재분화 배지인 MSR (hygromycin 40 mg/L) 고체배지에 옮겨 4주 28 $^{\circ}$ C 광조건 생장실에서 재분화를 유도한 후, 식물체를 MS 고체 배지로 옮기고 7일 28 $^{\circ}$ C 광조건 생장실에서 키우고 온실로 옮겨서 재분화 식물체를 키웠다.

<실시예 7> LOC_Os05g38120 유전자 과발현 형질전환 식물체에서의 탈립성 증대 확인

상기 실시예 6에서 제조된 LOC_Os05g38120 유전자 과발현 형질전환 식물체의 탈립성 변화를 확인하여 그 결과로도 5에 나타내었다. RT-PCR과 digital force gauge로의 탈립성 측정은 상기 실시예 1 및 2와 동일한 방법으로 수행하였다.

도 5에 나타난 바와 같이, 서로 다른 LOC_Os05g38120 유전자 과발현 식물체인 OX1 내지 OX5에서 LOC_Os05g38120 발현을 관찰한 결과 대조군 식물체에 비해 transcript의 양이 증가한 것을 확인하였다. 이와 함께 LOC_Os05g38120 유전자 발현이 증가된 식물체에서 탈립성이 함께 증가함을 확인함으로써, LOC_Os05g38120 유전자의 과발현에 의해 탈립성을 증진시킬 수 있음을 확인하였다.

<실시예 8> LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제를 위한 RNAi 포함 벡터 클로닝

LOC_Os05g38120 유전자의 발현을 감소시키기 위해 도 2에서 발현이 증가한 것을 관찰한 cDNA를 주형으로 사용하여 5'UTR의 208bp와 3'UTR 286bp에 대해 PCR를 수행하였다. PCR을 수행할 때 사용한 프라이머 중 reverse primer에 GGGGTACC (KpnI site)를 추가하였다. PFU를 이용한 PCR 산물을 EtOH ppt를 수행한 다음 KpnI 제한효소를 이용하여 효소 절단을 수행하였다. pGA3720 (Amp 저항성gene/pGA3591(RV)) 벡터를 SmaI으로 잘라서 Amp 링커를 gel elution하고, binary vector backbone으로 사용할 pGA3426 벡터를 KpnI으로 잘라 3가지 산물에 대해 triple ligation을 수행하였다. ligation을 수행한 DNA를 E.coli Top10에 형질전환하고, 테트라사이클린과 암피실린에 모두 저항성을 가지는 콜로니를 선별하였다. 선별된 콜로니는 액체배지에서 배양하여 미니프랩을 수행하고 KpnI으로 효소 절단해서 최종확인을 한 후 sequencing을 통해 DNA 서열상 에러가 없는 DNA를 선별하였다. LOC_Os05g38120 유전자의 발현을 감소시키기 위한 RNA i construction에 사용된 primer는 표 5에 나타내었으며, 제조된 RNA I는 서열번호 5 또는 서열번호 6의 뉴클레오타이드 서열을 가진다.

프라이머 정보	서열(5'-3')
LOC_Os05g38120 5'UTR RNAi F(서열번호 18)	CAACAGCTAGCCCAACACAC
LOC_Os05g38120 5'UTR RNAi R(서열번호 19)	GGGGTACCCAGAGGCAGACGTAA GCGAG
LOC_Os05g38120 3'UTR RNAi F(서열번호 20)	CCAAGGAGATCGGTGGTGATT
LOC_Os05g38120 3'UTR RNAi R(서열번호 21)	GGGGTACCCCTTTATTTGCCAGAGT GGGAGC

[0079] [0080] [0081] <실시예 9> LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제 형질전환 세포의 제작

상기 실시예 5에서 제작한 벡터를 추출하였다. 아그로박테리움 컴피턴트 셀(Agrobacterium tumefaciens LB4404) 50 μ l와 10 μ g의 식물발현용 벡터를 혼합하여 얼음에 15분 방치하였다. 이어서, 액체질소에 1분 넣은 후, 37 °C 오븐에 5분을 다시 방치하는 과정을 3회 반복한 후 1 ml의 YEP 액체 배지를 넣은 다음 5시간 동안 28°C 셰이킹 인큐베이터에서 방치하였다. 이어서, 테트라사이클린 저항성 LB 고체 배지에 도말하고 36시간을 기다려 생성되는 콜로니를 1mL의 테트라사이클린 항생제가 든 YEP 액체 배지에서 세포 배양 후 미니 프랩한 후, KpnI을 사용하여 효소 절단 후 사이클을 확인하였다. 상기 생성된 형질전환된 아그로박테리움을 이용하여 벼의 형질 전환 실험에서 사용하였다.

[0082] [0083] <실시예 10> LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제 형질전환 식물체의 제작

N6D 고체 배지에서 indica 품종의 Kasalath 종자를 10일 정도 28°C 생장실에서 명조건으로 키워서 벼의 캘러스를 생성하였다. 생성된 캘러스를 상기 실시예 8에서 얻은 식물발현용벡터로 형질 전환된 아그로박테리움을 72시간 키운 세포와 혼합하여 N6D-Acetosyringone 을 포함한 배지에서 22°C 암처리 생장실에 방치하였다.

아그로박테리움에 오염된 캘러스를 세파택산이 첨가된 3차 증류수로 깨끗이 5번 정도 행구어 낸 다음 N6D 고체 배지에서 hygromycin 선발을 1차(hygromycin 30 mg/L), 2차 (hygromycin 40 mg/L)에 걸쳐서 계대 배양을 통해 진행하였다. 선발은 28°C 생장실에서 각각 2주 씩 합해서 4 주 동안 이루어졌다. 분열된 캘러스를 재분화 배지인 MSR (hygromycin 40 mg/L) 고체배지에 옮겨 4주 28°C 광조건 생장실에서 재분화를 유도한 후, 식물체를 MS 고체 배지로 옮기고 7일 28°C 광조건 생장실에서 키우고 온실로 옮겨서 재분화 식물체를 키웠다.

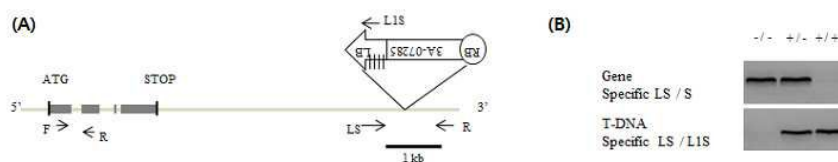
[0084] [0085] [0086] <실시예 11> LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제 형질전환 식물체에서의 탈립성 억제 확인

상기 실시예 10에서 제조된 LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제 형질전환 식물체의 탈립성 변화를 확인하여 그 결과를 도 7에 나타내었다. RT-PCR과 digital force gauge로의 탈립성 측정은 상기 실시예 1 및 2와 동일한 방법으로 수행하였으며, 세포학적 관찰은 실시예 3과 동일하게 수행하였다.

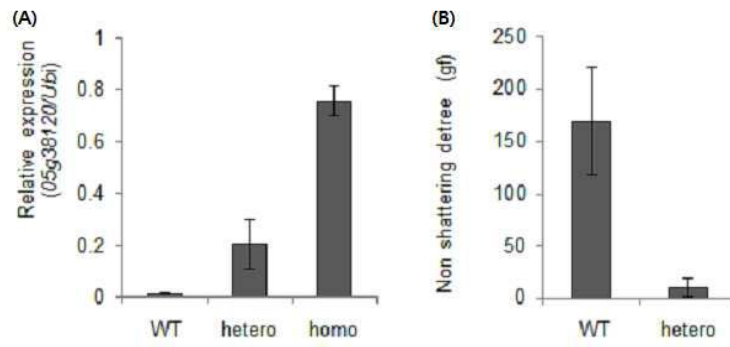
도 7에 나타낸 바와 같이, 서로 다른 LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제 식물체인 1 내지 10에서 LOC_Os05g38120 발현을 관찰한 결과 대조군 식물체에 비해 transcript의 양이 감소한 것을 확인하였다. 이와 함께 LOC_Os05g38120 유전자 발현이 감소된 식물체에서 탈립성 역시 함께 감소함을 확인하였다. 또한, 형질 전환 식물체 9 및 10을 확인한 결과, 탈립대(abscission zone) 발달이 야생형과 대비하여 떨어지는 것을 확인하였다. 이로부터 LOC_Os05g38120 유전자 발현 억제는 탈립성을 억제할 수 있음을 확인하였다.

도면

도면1



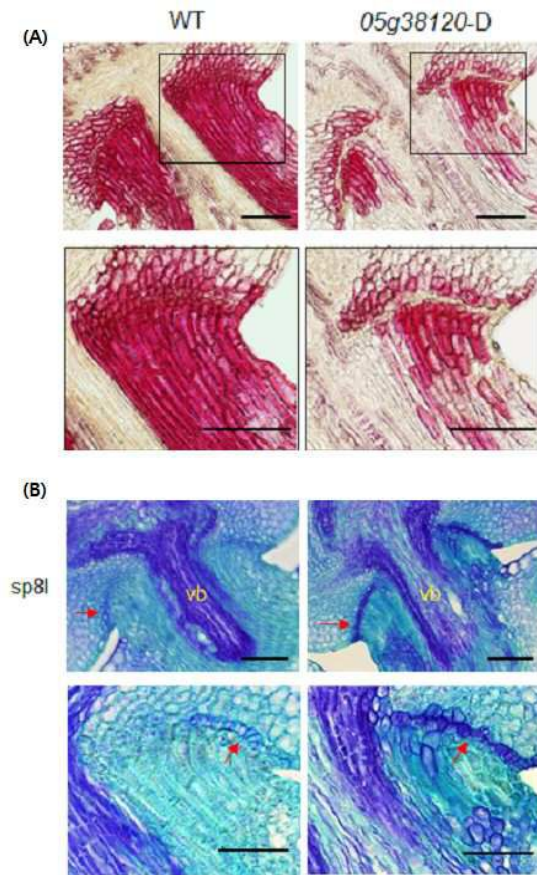
도면2



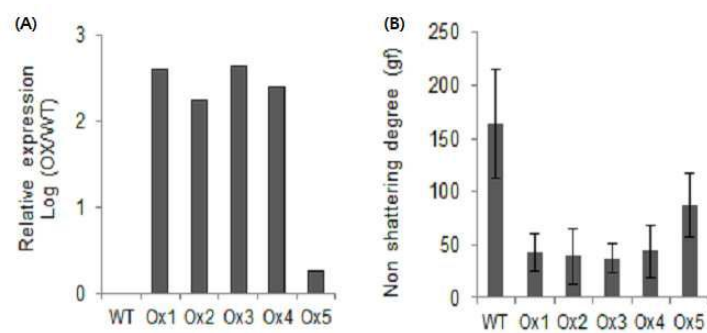
도면3



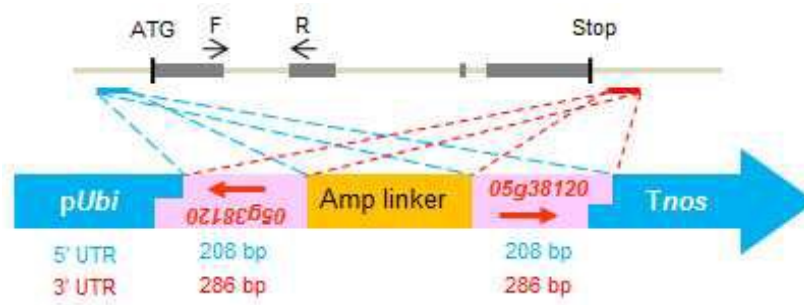
도면4



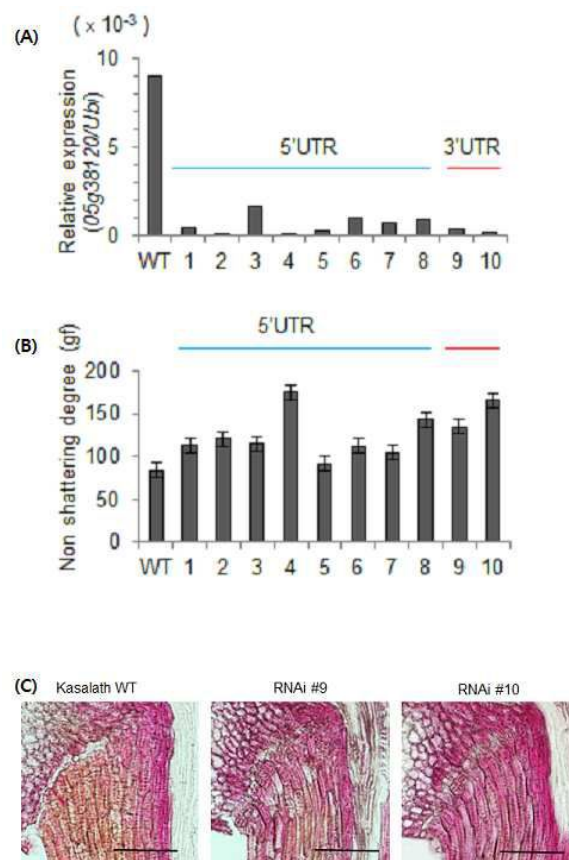
도면5



도면6



도면7



서열 목록

- <110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
- <120> Shattering-controlled transgenic plant and method for producing thereof
- <130> P14-009-KHU
- <160> 21
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1

<211> 1743

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<400> 1

atgtcgtccg ccgcgggggg aggaggaggg tacgggggcg gagcgggcga gcatcagcat	60
cagcagcagc agcaccacct gctgcttggg caggcggcgg ggacagctga ccacgtgccg	120
cagcacagcc ggcgggagaa gctgcggttc ccgcccacc acccggcgga gtcgcccg	180
ccgccgccgc ccgggtcgtg gccgctgccc ccggcgttct actcctacgc gtcgtcctcg	240
tcatcgtact cgccgcacag cccgacgctg gcgcacgcgc agttgggtggc gcatgggatg	300
ccgccggggg ccgcgacgag cggagggggc cagatcccga gccagaactt cgcgctgtcg	360
ctgtcgtcgg cgtcctcgaa cctccgccc acgccgagga ggacagtttg cggcggcggc	420
ggcgcgccgc gggcgcccg gccgtacgg cccttcacgg gctacgccgc cgtgctcggg	480
cggtcagggt tcttggggcc cgcgacgaag ctgctcagg agatctcgga cgtcggcggc	540
cgccccgcgc agcttgacag gggctccgac gagggtttgc tcgacgtaga cgccatggac	600
gcccggggaa gcgtcgacca cgagatggac ggacgcgac gcgccgtcgc ggacgcggtc	660
acggctctccg gcgccgagca gcagtggagg aagactaggc tcactctcgt tatggaagac	720
gtttgcaagc gatacagca atactaccag caactccaag ctgtagtatc gtcctttgag	780
actgttgagg gtctgagcaa tgctgctcct ttgtcttcca tggctcttag gacaatgtcg	840
aagcatttca agtatgtgaa gggcattata ctgaaccagc tgcgcaatac gggcaagggt	900
gctacaaaag atggtctcgg caaggaagac acaacaaact ttgggcttat gggcggcggc	960
gctggcctac taaggggaaa caatgtgaat tcgttttagc aacctcaca catatggcgc	1020
ccgcaaagag ggctaccaga gcgtgctgtt tcggttcttc gtgcatggct attcgaacac	1080
ttcctgcacc cgtatccaac tgacagcgt aagcagatgc ttgctaaaca gacaggatta	1140
actaggaacc aggtatcgaa ctggtttatc aatgcaaggg ttaggtcttg gaagccaatg	1200
gttgaagaaa ttacaaacct cgagatgagg cagctgcaga agaatccgtc tcttgacaag	1260
aatcagctct ccatgcagca cacccaacat tcgtcggaca gcagcgggaa gccctgtgat	1320
ccatcaaact cgctgcaagg gcaaagtagc agcatgacca ggaatcacag catctccgcc	1380
tcccggcaca tcgaggacgg cctctccag atgccccatg acatctccgg tcaggtgagc	1440
ttcgcataca acgggctcgc cgcgcatcac agcatcgca tggcgacca ccaccaacct	1500
gacctcattg gcaccgttgg tgccgcgaat gctggcggtg tctcactcac ccttggcctt	1560
caccagaaca ataaccgagc ttacattgct gagcccttc cggcgcgct tccgtcaat	1620

cttgcccatc gtttcggact ggaggacgtt agtgatgcct acgtgatgag ctcatttggt 1680
 ggtcaggacc ggcatttcac caaggagatc ggtggccatt tgctccatga ctttgttggt 1740
 tga 1743

<210> 2
 <211> 580
 <212> PRT

<213> Oryza sativa
 <400> 2

Met Ser Ser Ala Ala Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Glu His Gln His Gln Gln Gln His His Leu Leu Leu Gly Gln Ala
 20 25 30
 Ala Gly Gln Leu Tyr His Val Pro Gln His Ser Arg Arg Glu Lys Leu
 35 40 45
 Arg Phe Pro Pro Asp His Pro Ala Glu Ser Pro Pro Pro Pro Pro Pro
 50 55 60
 Gly Ser Trp Pro Leu Pro Pro Ala Phe Tyr Ser Tyr Ala Ser Ser Ser
 65 70 75 80
 Ser Ser Tyr Ser Pro His Ser Pro Thr Leu Ala His Ala Gln Leu Val
 85 90 95
 Ala His Gly Met Pro Pro Gly Ala Ala Thr Ser Gly Gly Ala Gln Ile
 100 105 110
 Pro Ser Gln Asn Phe Ala Leu Ser Leu Ser Ser Ala Ser Ser Asn Pro
 115 120 125
 Pro Pro Thr Pro Arg Arg Gln Phe Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ala Ala Gly Pro Tyr Gly Pro Phe Thr Gly Tyr Ala Ala Val Leu Gly
 145 150 155 160
 Arg Ser Arg Phe Leu Gly Pro Ala Gln Lys Leu Leu Glu Glu Ile Cys
 165 170 175
 Asp Val Gly Gly Arg Pro Ala Gln Leu Asp Arg Gly Ser Asp Glu Gly
 180 185 190

Leu Leu Asp Val Asp Ala Met Asp Ala Ala Gly Ser Val Asp His Glu
195 200 205

Met Asp Gly Ser Asp Arg Ala Val Ala Asp Ala Val Thr Val Ser Gly
210 215 220

Ala Glu Gln Gln Trp Arg Lys Thr Arg Leu Ile Ser Leu Met Glu Asp
225 230 235 240

Val Cys Lys Arg Tyr Arg Gln Tyr Tyr Gln Gln Leu Gln Ala Val Val
245 250 255

Ser Ser Phe Glu Thr Val Ala Gly Leu Ser Asn Ala Ala Pro Phe Ala
260 265 270

Ser Met Ala Leu Arg Thr Met Ser Lys His Phe Lys Tyr Leu Lys Gly

275 280 285

Ile Ile Leu Asn Gln Leu Arg Asn Thr Gly Lys Gly Ala Thr Lys Asp
290 295 300

Gly Leu Gly Lys Glu Asp Thr Thr Asn Phe Gly Leu Met Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ala Gly Leu Leu Arg Gly Asn Asn Val Asn Ser Phe Ser Gln Pro His
325 330 335

Asn Ile Trp Arg Pro Gln Arg Gly Leu Pro Glu Arg Ala Val Ser Val
340 345 350

Leu Arg Ala Trp Leu Phe Glu His Phe Leu His Pro Tyr Pro Thr Asp
355 360 365

Ser Asp Lys Gln Met Leu Ala Lys Gln Thr Gly Leu Thr Arg Asn Gln
370 375 380

Val Ser Asn Trp Phe Ile Asn Ala Arg Val Arg Leu Trp Lys Pro Met
385 390 395 400

Val Glu Glu Ile His Asn Leu Glu Met Arg Gln Leu Gln Lys Asn Pro
405 410 415

Ser Leu Asp Lys Asn Gln Leu Ser Met Gln His Thr Gln His Ser Ser

420 425 430

Asp Ser Ser Gly Lys Pro Cys Asp Pro Ser Asn Ser Leu Gln Gly Gln

435 440 445
 Ser Ser Ser Met Thr Arg Asn His Ser Ile Ser Ala Ser Arg His Ile
 450 455 460
 Glu Asp Gly Leu Ser Gln Met Pro His Asp Ile Ser Gly Gln Val Ser
 465 470 475 480
 Phe Ala Tyr Asn Gly Leu Ala Ala His His Ser Ile Ala Met Ala His
 485 490 495

His His Gln Pro Asp Leu Ile Gly Thr Gly Gly Ala Ala Asn Ala Gly
 500 505 510
 Gly Val Ser Leu Thr Leu Gly Leu His Gln Asn Asn Asn Arg Ala Tyr
 515 520 525
 Ile Ala Glu Pro Leu Pro Ala Ala Leu Pro Leu Asn Leu Ala His Arg
 530 535 540
 Phe Gly Leu Glu Asp Val Ser Asp Ala Tyr Val Met Ser Ser Phe Gly
 545 550 555 560
 Gly Gln Asp Arg His Phe Thr Lys Glu Ile Gly Gly His Leu Leu His

565 570 575
 Asp Phe Val Gly
 580

<210> 3

<211> 3341

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<400> 3

tcctctcgca cgtgcttatac gatggcccta catacaccat agcctaacct cttcaaaatt	60
gacaacacca taacaatgta ttgagtgccta cttactttgt aacatactgt aagagacagc	120
ttgtgaattc cttcatggat tatacacatg agaacgtttg aaatagttgt ttggatgaaa	180
cacaaacata tagtaattaa aaaactaaaa aagggaaaaa aaaagctttg ttcggaaact	240
ccaatgaaat atctcaaaag gaaatttgaa gagtcattta tattccatat gactacctat	300
aattatctac gagattttaa ttcttatgga cacaaattct tcggataaat ttacttgaac	360
ttcggtgaaa gaaccctaaa cacatgtatg catccagaca atgaaaagca agcgtgccat	420
gagattttct atttgggccg tgtttagatt aaaatTTTTT tcttcaaact tccaactttt	480

tcgttacatc aaatgttagg acatatgcat ggagtttta atgtagacga aaaaaatcaa	540
ttgcatagtt tgcattgaaa tcgcgagacg aatcttttga tcctaattac gccatgattt	600
gataatgtga tgctacagta aacatttgct aatgacagat taattagact taataaatc	660
gtctcgtctt ttacatgcgg aatctgtaat ttgttttggt attagtctac gtttgatact	720
tcaaatatgt gttcatatat ttaaaaaaa tctagcacac gaactaaaca caaccttgga	780
tggcctccta agactgtctc caacaagtga ccataagag cacccaaacc caaatgggt	840
ctccgatagt actatttcag cctccaacag agtacctata cagaagacc attttgcgtg	900
ctataagagg cataacctaa atctgagtat cctctctcct gaagacctat ttgcagtaag	960
tgttctcttt taggtcttat tgttgagaa gacaaaaat atgtattgaa gtctttgact	1020
gtagcgctat gtaaacatga aatgtgtctt gtattttggg ttctattgtt ggagatagcc	1080
taagttgctt atccggtttt actgcctgcc atataagaac cccatcatcc atatccgaag	1140
aggacatatt ttatttgcaa aactttaaaa ttataataat aatgtaacta caatataaca	1200
taactagtag ataatagta gtacatgtaa cgtttgttca agcaattata ctactaccat	1260
agtagcattg cgtataaagt ttttcaattc aaaaatgttg ctgccgtttt ctataggtg	1320
aaaaacaac ttcacccatc tccgacgaac tacaaaacc tcagctcgat ctccgcacag	1380
tccggggcca cgccacacc accctgatcc gctcacccct tccaccacag ggtccaggag	1440
gacctcgccc cctcctcct cctcgtcgca cgaccagacc agcagcacca actcccttc	1500
tgcctttcgc ttctactgct cagtgtgct cctacacacc atttcccgt cgtccttcg	1560
ccccccgct ctcttttcg caccatctg ctgcagctgc gcaccttta tttgcagaaa	1620
gaaagaaaga aagaaggaa agcaaggccc cccgagcgc aacagctagc ccaacacacc	1680
tcctccatca ccaccagaa ggcaacgcat atcaaaagcg cgggcgcaa gcaaagataa	1740
catcagatca ggtcggcgcc ccccgctccc ggctgccgca aagccaccc gatcgatcga	1800
tcgacgcctc gttctcctc tcctccgagg ctactctctg cagggcgctc gcttacgtct	1860
gcctctgctg acgtgcaccg cccagcgcg gcgccatgtc gtccgccg cgggggaggag	1920
gagggtagcg gggcgaggc ggcgagcatc agcatcagca gcaccactg ctgcttgggc	1980
aggcggcggg gcagctgtac cacgtgccg agcacagccg gcgggagaag ctgcggttc	2040
cgcccgacca cccggcgag tcgccgcgc cgccgccgc cgggtcgtgg ccgtgcgcc	2100
cgcgcttcta ctctacgcg tcgtcctctg catcgtactc gccgcacagc ccgacgtgg	2160
cgcacgcgca gttggtggcg catgggatgc cgccgggggc cgcgacgagc ggagggggccc	2220
agatcccag ccagaactc gcgtgtcgc tgtcgtcggc gtctcgaac cctccgcca	2280
cgccgaggag gcagtttggc ggcggcgcg gcggcgcg ggccgccggg ccgtacgggc	2340

ccttcacggg ctacgccgcc gtgctcgggc ggtccaggtt cttgggcccc gcgcagaagc	2400
tgctcgagga gatctgcgac gtcggcggcc gccccgcga gcttgacagg ggctccgacg	2460
agggttttct cgacgtagac gccatggacg cgcggggaag cgtcgaccac gagatggacg	2520
gcagcgatcg cgccgtcgcg gacgcggta cggctctcgg cgccgagcag cagtggagga	2580
agactaggct catctcgctt atggaagacg tgagtaatcg caagctatat ttgttgtttc	2640
atatcgctgc ttctgttttt ccaagaaaa tactatacta gactttactt ttgctaccct	2700
gcattaatta acttcatgaa taagaatcta ataacgaaca cctcatggtc acatcatgga	2760
tgcacttact gttgttgac agattatttc ttgtgcttgt gatttgatga gggttgatct	2820
ggattagtga cacatctctt ctcttttga tataattttg ttctttaata tgtctcaaat	2880
caatcaacag ttcaaggctc ttttaagctc cttctaaaa ctacgaggag gtgatccgca	2940
gtttatctat aatcaaaagg tagcatacaa ttctgtgaaa atgcacgata gaagctaaat	3000
tcctcaggat gctcttaatt acatcataaa caaaaattca gtttgctagt acttgataag	3060
attccagcag tttgtcctct ttcacgagat aagattcgtt gagtttgta gcagaaagat	3120
tctgattata tagttactag tacatactga aaatatgttg agcaccagtt tttttatttg	3180
caatgggtgc aaatatgac ctcgttcctt aattaggaag cttgcgttgg tgtagtgtcc	3240
acatgatcgt aaagtaggtc tgcacacctt gatgtattat taaacaatta attgggttac	3300
atatcgtgat gtctctttaa cagttacaaa aaaccttgta g	3341
<210> 4	
<211> 5961	
<212> DNA	
<213> Oryza sativa	
<400> 4	
tcatctcgca cgtgcttata gatggcccta catacaccat agcctaacct cttcaaaatt	60
gacaacacca caacaatgta ttgagtgcata ctactttgt aacatactgt aagagacagc	120
ttgtgagttc cttcatggat tatacacatg agaacgtttg aaatagttgt ttggatgaaa	180
cacaaacata tagtaattaa aaaactaaaa aagggaaaaa aaagctttgt tcggaaactc	240
caatgaaata tctcaaaagg aaatttgaag agtcacttat attccatag actacctata	300
attatctacg agatttaaat tcttatggac acaaattctt cggataaatt tacttgaact	360
ttggtgaaag aaccttaaac acatgtatgc atccagacaa tggaaagcaa gcgtgccatg	420
agattttcta tttgggccgt gtttagatta aaattttttt cttcaactt ccaacttttt	480
cgttacatca aatgttagga catatgcatg gagtttttaa tgtggacgaa aaaaatcaat	540

tgcatagttt gcatgtaaat cgcgagacga atcctttgag cctaattacg ccatgatttg	600
acaatgtgat gctacagtaa acatttgcta atgacagatt aattagactt aataaattcg	660
tctcgtcttt tacatgcgga atctgtaatt tgttttgta ttagtctatg tttgatactt	720
caaatatgtg ttctgtatatt taaaaaaaaa ctagcacacg aactaaacac aaccttggat	780
ggcctttctaa gactgtctcc aacaagtac ccataagagc acccaaacc aaatgggtc	840
tccgatagta ctatttcagc ctccaacaga gtacctatac aaaagacca ttttgcgtgc	900
tataagaggc ataacctaaa tctgagtatc ctctctctg aagacctatt tgcagtaagt	960
gttctctttt aggtcttatt gttggagaag accaaaaata tgtattgaac tctttgactg	1020
tagcgctatg caaacgtgaa atggttcttg tattatgggt ttcattgttg gagatagcct	1080
aagttgctta tccggtttta ttgcctgcc tataagaacc ccatcatcca catccgaaga	1140
ggacatatatt ttgttgcaaa actttaaaat tataataata atgtaactac aatataacat	1200
aactagtaca tgtaacgttt gttcaagcaa ttatactact accatagtag gattgcgtat	1260
aaagtttttc aattcaaaaa tgttgctgcc gttttctaga tggtgaaaaa caaacttcac	1320
ccatctccga cgaactacaa aacctcagc tcatctccg cacagtcccg ggccacgccc	1380
acaccacct gatccgctca ccccttcac cacagggtcc aggaggacct cgccccctc	1440
ctctctctg tgcacgacc agaccagcag caccaactcc cttctgcct ttcgctttca	1500
ctgctcagtg ctgctctac acaccatttc cccgtccgtc cttcgcccc cgctctctt	1560
ttccgacccc atctgctgca gctgcgcacc tttatttgc agaagaaag aaagaaagaa	1620
agaaaggaaa gcaaggcccc cccgagcgca acagctagcc caacacacct cctccatcac	1680
caccgagaag gcaacgcata tcaaaagcgc gggcgcaaag caaagataac atcagatcag	1740
gtcggcgccc cccgtcccg gctgccgcaa agcccaccg atcgatgat cgacgcctcg	1800
ttctctctc cctccgagge tactctctgc agggcgctcg cttacgtctg cctctgcgta	1860
cgtgcaccgc ccagcgcggg cgccatgtcg tccgccgagg ggggaggagg agggtagggg	1920
ggcggaggcg gcgagcatca gcatcagcag cagcagcacc acctgctgct tgggcaggcg	1980
gcggggcagc tgtaccacgt gccgcagcac agccggcggg agaagctgcg gttccccccc	2040
gaccaccggg cggagtcgcc gccgccgcc cgcgccgggt cgtggccgct gccccggcg	2100
ttctactct acgcgtcgtc ctgctcatcg tactgcgcgc acagcccagc gctggcgcac	2160
gcgcagttgg tggcgcatgg gatgccgcc ggggccgcga cgagcggagg ggcccagatc	2220
ccgagccaga acttcgcgct gtcgctgtcg tcggcgctct cgaaccctcc gccacgccg	2280

aggaggcagt ttggcggcgg cggcggcggc ggcggggcgg ccggggccgta cgggcccttc	2340
acgggctacg ccgccgtgct cgggcgggtcc aggttcttgg gccccgcgca gaagctgctc	2400
gaggagatct gcgacgtcgg cggccgcccc gcgcagcttg acaggggctc cgacgagggt	2460
ttgctcgacg tagacgccat ggacgcccg ggaagcgtcg accacgagat ggacggcagc	2520
gatcgcgccg tcgcgagcgc ggtcacggtc tccggcgccg agcagcagtg gaggaagact	2580
aggctcatct cgcttatgga agacgtgagt aatcgcaagc tatatttgtt gtttcatac	2640
gctgcttctg tttttccaaa gaaaatacta tactagactt tacttttct accctgcatt	2700
aattaacttc atgaataaga atctaataac gaacacctca tggtcacatc atggatgcac	2760
ttactgttgt tgcacagatt atttcttctg cttgtgattt gatgagggtt gatctggatt	2820
agtgcacatc ctcttctctt ttggatatac tttgttctt taatatgtct caaatcaatc	2880
aacagttcaa ggctctttta agctcccttc taaaactagc aggagggtgat ccgcagttta	2940
tctataatca aaaggtagca tacaattctg tgaaaatgca cgatagaagc taaattcctc	3000
aggatgctct taattacatc ataaagaaaa attcagtttg ctagtacttg ataagattcc	3060
agcagtttgt cctctttcac gagataagat tcgttgagtt tgtcagcaga aagattctga	3120
ttatatagtt actagtacat actgaaaata tgttgagcac cagttttttt tatttgcaat	3180
ggtgtcaaat atgacctcgc ttcttaatt aggaagcttg cgttgggtga gtgtccacat	3240
gatcgtaaag taggtctgca caccttgatg tattattaaa caattaattg ggttacatat	3300
cgtgatgtcc tcttaacagt tacaataaac cttgtagggt tgcaagcgat acaggcaata	3360
ctaccagcaa ctccaagctg tagtatcgtc ctttgagact gttgcgggtc tgagcaatgc	3420
tgtctctttt gcttccatgg ctcttaggac aatgtcgaag catttcaagt atttgaaggg	3480
cattatactg aaccagctgc gcaatacggg caagggtgct acaaaagatg gtctcggcaa	3540
ggaagacaca acaaactttg ggcttatggg cggcggcgct ggcctactaa ggggaaacaa	3600
tgtgaattcg tttagccaac ctcaacaat atggcgcccg caaagagggc taccagagcg	3660
tgtgttttcg gttcttcgtg catggctatt cgaacacttc ctgcaccgt aagtatatga	3720
tataaatcat cgcaacagaa tttttcttt taggtatgct aatctggaag cacataactg	3780
aatatgcgta ttgtgacta attggaaaaa taaaaggaaa aaggacttta tggatatat	3840
actgcatgtt gcatttttac accgacaagg gtgtacatgg attcctatta gtggagaatt	3900
atccatagac cctacaaatg ggtaatatga aggatattgc aaccaaaccg ttggtgaaaa	3960
ttgttatatt gctttattga aatcttggat ttttttctt cctttagatg cattaaaaatg	4020

attgtggttt tagtgcattg tttacacaag tcattgttgt gcacttacag gggagtcttg	4080
gtctccatca catataacct ttattgttgt ttcaatttta gatgtgattg ccgttgaaca	4140
atcattagtt gcatgttatg tttattggat acctgtatgg gteccaattg atatttggtt	4200
tgagatgata ctacaacaac ttgaaagtgc atttatattt ccaccaattt agggcaacca	4260
ttgtgttag tttctatcca cacataccat atcttcattc ttcttggcaa cttctatttt	4320
ggtacagttt ttctacagt aaattcctcc ttttgggcc ctgacgaacc attaattcat	4380
gtttgtacta catcagatag aaaatatata tagtagtaca cagtttcaat ttatacacgt	4440
ggtcttgaaa acttcaatgt ttactaatgc ctattggatg gatagtttac tcgaaaagtg	4500
agtaccatca catactaaca cttgataatt gtgtgtacct tcattttcat tgtggttatt	4560
gccttggcat aatggaggag aatttttccc ataggacatc caactgactt gctgacttgc	4620
acatggcaac aacctttttg ctgtaattta attaatgtt tccatgcaat aattgttgaa	4680
aatattgttt tttaatctag aattctttcc tatectacta cacgtaatgt gcaatgaggg	4740
ttggcttggt gtttatgttt agtttcattt gttcttccat atttgtatg tgggtcttca	4800
tccttgtgca attgtgtatg taccggcatt ctaatgttgg tgcttgattt caggtatcca	4860
actgacagcg ataagcagat gcttgctaaa cagacaggat taactaggaa ccaggtaaac	4920
aaccatttca agtttttctt ttcccaaatt tataatgatg taactagcta gtccgctaca	4980
gttgtccact agcaatatct ttgggtccat aatgttacta gcgttgtaaa acattttgat	5040
atctcaattc ttgagcaggt atcgaactgg tttatcaatg caagggttag gctctggaag	5100
ccaatggttg aagaaattca caacctcgag atgaggcagc tgcagaagaa tccgtctctt	5160
gacaagaatc agctctccat gcagcacacc caacattcgt cggacagcag cgggaagccc	5220
tgtgatccat caaactcgt gcaagggcaa agtagcagca tgaccaggaa tcacagcatc	5280
tccgcctccc ggcacatcga ggacggcctc tcccagatgc cccatgacat ctccggtcag	5340
gtgagcttcg catacaacgg gctcgccgcg catcacagca tcgcatggc gcaccaccac	5400
caacctgacc tcattggcac cggtggtgcc gcgaatgctg gcggtgtctc actcaccctt	5460
ggccttcacc agaacaataa ccgagcttac attgctgagc cccttccggc cgcgcttcg	5520
ctcaatcttg cccatcgttt cggactggag gacgttagtg atgcctacgt gatgagctca	5580
tttggtggtc aggaccggca tttcaccaag gagatcgggt gccatttgct ccatgacttt	5640
gttggttgaa gagcagatat gattgtttca ccaaggagat cggtggtgat tatttagga	5700
tgcagatgta tgatctacct atattgtagt tggaagtagg aggtgaagaa aagaggggca	5760
ttggcacgcc tgtcgtatag ccacgaatgc ttgtcgatat ttgacattgt ggggctatag	5820
agagcatatg actatacctt tgaagacctg tttgtagtgt tgttccctat ttgttctgat	5880

ccgcggttaa gccgtgttaa ccctgtacta ttcacttgac ttgcaaatgt ggttgctccc 5940
actctggcaa ataaagggtg c 5961
<210> 5
<211> 208
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Loc Os05g38120 5'UTR RNAi
<400>
> 5
caacagctag cccaacacac ctctccatc accaccgaga aggcaacgca tatcaaaagc 60
gcgggcgcaa agcaaagata acatcagatc aggtcggcgc ccccgctcc cggtgcccgc 120
aaagcccacc cgatcgatcg atcgacgctt cgttctctc ctctccgag gctactctct 180
gcagggcgct cgcttacgtc tgcctctg 208
<210> 6
<211> 286
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Loc Os05g38120 3'UTR RNAi
<400> 6
ccaaggagat cgggtggtgat tattgtagga tgcagatgta tgatctacct atattgtagt 60

tggaagtagg aggtgaagaa aagaggggca ttggcacgcc tgcgtagat ccacgaatgc 120
ttgtcgatat ttgacattgt ggggctatag agagcatatg actatacctt tgaagacctg 180
ttttagtgtg ttgtccctat ttgttctgat ccgcggttaa gccgtgttaa ccctgtacta 240
ttcatctgac ttgcaaatgt ggttgctccc actctggcaa ataaag 286
<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> 3A-07285 LS
<400> 7
cgtattcgag aaggaagcta 20
<210>
> 8
<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 3A-07285 R
 <400> 8
 acgaagatag cccattgtta 20
 <210> 9
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LIS
 <400> 9
 ctagagtcga gaattcagta ca 22
 <210> 10
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LOC_0s05g38120 F
 <400> 10
 aggctcatct cgcttatgga 20

 <210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LOC_0s05g38120 R
 <400> 11
 tcttccttgc cgagaccatc 20
 <210> 12
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ubi F
 <400> 12
 aaccagctga ggccaaga 19
 <210> 13

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ubi R
 <400> 13
 acgattgatt taaccagtcc atga 24

<210> 14
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LOC_0s05g38120 FL F
 <400> 14
 aagcttatgt cgtccgccgc ggg 23

<210> 15
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LOC_0s05g38120 FL R
 <400> 15
 actagttcaa ccaacaaagt catggagc 28

<210> 16
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Tnos R
 <400> 16

cacatctcata aataacgtca tgc 23

<210> 17
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> pUbi F3
 <400> 17

cagctatatg tggatttttt tagc 24

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s05g38120 5'UTR RNAi F

<400> 18

caacagctag cccaacacac 20

<210> 19

<211> 28

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s05g38120 5'UTR RNAi R

<400> 19

ggggtaccca gaggcagacg taagcgag 28

<210> 20

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s05g38120 3'UTR RNAi F

<400> 20

ccaaggagat cgggtggtgat t 21

<210> 21

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LOC_0s05g38120 3'UTR RNAi R

<400>

21

ggggtaccct ttatttgcca gaggggagc 30