



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0051186
(43) 공개일자 2010년05월17일

(51) Int. Cl.

C12N 15/29 (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0110218

(22) 출원일자 2008년11월07일

심사청구일자 2008년11월07일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 공동 220번지 충남대학교

(72) 발명자

이정여

대전광역시 동구 신흥동 127-2 성정빌라 303호

허윤강

경기도 성남시 분당구 서현동 292 임광아파트
315-601

(74) 대리인

윤항식, 이세진, 연무식, 진희동

전체 청구항 수 : 총 7 항

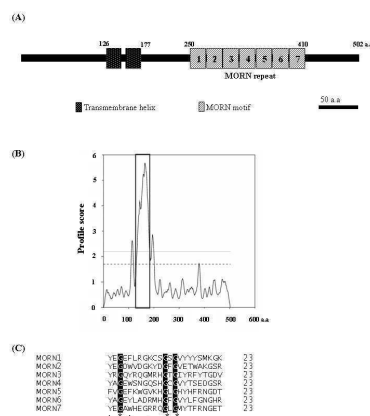
(54) 브라시카 라파의 BrMORN 유전자

(57) 요약

본 발명은 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질, 이를 코딩하는 *BrMORN* 유전자 및 식물의 영양기관의 생장 촉진과 종자 생산의 증진을 유도할 수 있는 그의 용도에 관한 것이다.

브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 *BrMORN* 유전자를 식물에서 과발현시킬 경우, 영양기관의 생장 촉진과 종자 생산의 증진을 유도할 수 있으므로, 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 *BrMORN* 유전자는 채소와 유류 작물(oil crop)의 수확량 증진을 위해 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20070301-034-037-008

부처명 농림수산부(농촌진흥청)

연구사업명 바이오그린21

연구과제명 배추 기능유전체 및 실용화 연구

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2007년 1월 1일 ~ 2010년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질.

청구항 2

서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 BrMORN 유전자는 서열번호 2의 핵산 서열을 갖는 것인 유전자.

청구항 4

서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 5

서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 형질감염된 식물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 식물은 채소 또는 유료 작물인 식물.

청구항 7

식물에서 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 과발현시키는 것을 포함하는 식물의 영양 생식 또는 종자 생산을 증진시키는 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질, 이를 코딩하는 *BrMORN* 유전자 및 식물의 영양기관의 생장 촉진과 종자 생산의 증진을 유도를 위한 그의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] MORN (Membrane Occupation and Recognition Nexus) 반복 도메인은 잘 보존된 14개의 아미노산 서열 (Y-Q/E-G-E/Q-T-X-N-G-K-X-H-GY-G)로 구성되어 있으며 (Takeshima et al., 2000) 다양한 기능을 할 것으로 예상되고 있다. 이러한 MORN 도메인은 동물의 junctophilin 단백질 (Takeshima et al., 2000), 기생충 *Toxoplasma gondii*

의 MORN1 (Gubbels *et al.*, 2006), 사람의 ALS2 (Hadano *et al.*, 2007), 쥐의 Meichroacidin (MCA)(Tsuchida *et al.*, 1998; Tokuhiko *et al.*, 2008), *Cyprinus carpio*의 MSAP (Ju *et al.*, 2004), 초파리의 Retinophili (Mecklendorf *et al.*, 2007), 사람의 JPH2 (Landstrom *et al.*, 2007) 단백질 등에서 발견되며, 세포분열, 신경의 발달과 퇴화, 편모의 분화 및 엔도솜 다이내믹스에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이들 단백질에는 MORN 도메인이 4개 (Retinophilin), 7개 (MSAP), 8개 (Juntophilin, ALS2, JPH2)와 14개 (*T. gondii* MORN1)개가 존재하며, ALS2는 C-말단 그리고 Juntophilin, JPH2 및 MSAP에는 N-말단에 그 도메인이 분포하고 *T. gondii* MORN1에서 전체 단백질에 산재해 있다. 오직 Juntophilin 단백질만이 C-말단 부분에 막관통 도메인을 가지고 있다 (Takeshima *et al.*, 2000).

[0003] 식물에서는 지놈프로젝트가 끝나 염기서열이 밝혀진 벼와 애기장대에 MORN 도메인 단백질의 존재를 분석할 수 있었다. *OsPIP1K*는 N-말단에 8개의 MORN 도메인을 그리고 C-말단에 지질 키나아제 도메인을 가지고 있으며 세포질에 존재할 것으로 추측하고 있고, 역시 벼의 ICE-like protease p20은 N-말단에 7개의 MORN 도메인을 그리고 C-말단에 카스파아제 도메인, 가장 N-말단 부분에 2개의 막관통 도메인을 가지고 있어 원형질막에 존재할 것으로 보고 있다 (Ma *et al.*, 2004).

[0004] 애기장대에는 MORN 도메인을 갖는 단백질을 넷으로 구분할 수 있다. PIPK 패밀리 (1-9)는 7-9개의 MORN 도메인을 N-말단에 갖고 C-말단에는 키나아제 도메인을 가지고 있으며 세포질 또는 막에 존재할 것으로 추측하고 있다 (Ma *et al.*, 2006; Im *et al.*, 2007; Lou *et al.*, 2007). PIPK-연관된 ARC3는 C-말단에 4개의 MORN 도메인과 N-말단에 키나아제 도메인을 가지고 있고 엽록체 표면에서 작용할 것으로 예측하고 있다 (Shimada *et al.*, 2004). 애기장대의 PIP5K 패밀리에 속하는 단백질은 여러 조직에서 환경자극에 대한 세포질 반응에 관여할 것으로 추측하고 있으며 (Lin *et al.*, 2004), 각 단백질은 plasma membrane, golgi, vesicles, 및 핵의 매트릭스에 존재할 것으로 보고 있다 (Payastre *et al.*, 1992). 또한 애기장대에는 네 개의 PIPK-related 단백질이 있으며 이들은 공통적으로 C-말단에 7개의 MORN 도메인을 가지고 있고 그 앞쪽에 두 개 또는 3개의 막관통 도메인을 가지고 있어 막에 붙어 있을 것으로 추측하고 있다. 이들 단백질의 기능에 대한 연구는 보고된 바 없다. 또 하나 단백질인 Embryo defective 1211은 N-말단에 3개의 MORN 도메인을 가지고 있으며 핵으로 들어갈 것으로 추측된다. 이와 같이, 식물에서 MORN 도메인을 갖는 단백질의 기능에 대해서는 아직까지 명확히 밝혀진 바 없다.

[0005] 본 발명자들은 배추 유전자에 대한 연구 중 배추를 비롯한 브라시카 라파(*Brassica rapa*)에서 MORN 도메인을 갖는 유전자를 발현하고 이의 기능에 대해 밝혀 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 제공한다.

[0007] 본 발명은 또한 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 제공한다.

[0008] 또한 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.

[0009] 본 발명은 또한 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 형질감염된 식물을 제공한다.

[0010] 또한 본 발명은 식물에서 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 과발현시키는 것을 포함하는 식물의 영양 생식 또는 종자 생산을 증진시키는 방법을 제공한다.

과제 해결수단

[0011] 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질 및 이를 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 제공한다.

[0012] 본 발명자들은 배추의 유전자 중 저온에 의해 발현이 감소되는 유전자들에 대해 연구하는 과정에서, 기능이 미확인된 유전자들을 발견하고 이들에 대한 심화 연구를 진행하였다.

- [0013] 이 과정에서 선택된 한 유전자를 선택하여 단백질을 분석한 결과, 애기장대의 PIPK-연관 단백질과 상동성을 보여 이를 BrMORN (*Brassica rapa* MORN repeat protein)이라 명명하였다. 본 발명에 의해 새로이 동정된 BrMORN 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는다. 한 구체예에서, *BrMORN* 유전자는 서열번호 2의 핵산 서열을 갖는다.
- [0014] 당업자는 본 발명의 BrMORN 단백질 또는 *BrMORN* 유전자의 핵산 분자가 천연의 단백질 또는 핵산 분자뿐만 아니라 이의 상동체를 포함하는 것을 인지할 것이다. 즉, 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 BrMORN 단백질 또는 서열번호 2의 핵산 서열을 갖는 *BrMORN* 유전자의 상동체 또한 본 발명의 범주에 포함된다. 용어 "상동체"는 천연적으로 존재하는 단백질 또는 핵산 분자에 대한 미미한 변형 또는 돌연변이에 의해 상이하지만, 천연적으로 존재하는 단백질 또는 핵산 분자와 비교할 때 전반적인 기본 구조를 유지하는 단백질 또는 핵산 분자를 언급하는데 이용된다.
- [0015] 본 발명자들에 의해 동정된 BrMORN 단백질은 C-말단에 7개의 MORN 도메인을 가지고 있고 N-말단 쪽에 두 개의 막관통 도메인을 가지고 있다. 이러한 구조를 갖는 단백질의 기능은 아직 연구된 바가 없다.
- [0016] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 배추에서 *BrMORN* 유전자는 생장이 활발한 부분에서 주로 많이 발현이 되었다. *BrMORN* 유전자의 기능을 알아보기 위해서 애기장대에 과발현시킨 결과, 뿌리, 하배축 및 잎의 생장을 촉진시켰으며, 생식단계에 이르는 영양기관의 크기도 크게 (30% 이상) 증가 시켰다. 이러한 영양기관의 생장 촉진은 세포크기를 증가시키기 때문인 것으로 추측되며, 영양기관의 생장촉진은 종실 수의 증가 (40%)와 종자크기의 증가 (무게가 23% 증가)를 가져왔다. 따라서 *BrMORN* 유전자의 과발현은 영양조직의 생장촉진과 더불어 종자생산을 크게 증가시켜, 이 유전자를 이용하여 배추와 같은 엽채류를 비롯한 채소의 생산 증진과 유채와 같은 유료 작물의 수확량 증진을 위해서 응용될 수 있음을 강력히 시사한다.
- [0017] 따라서 본 발명은 또한 *BrMORN* 유전자의 과발현을 위해 사용될 수 있는, 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 BrMORN 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.
- [0018] 재조합 벡터는 선택된 핵산 서열을 조작하거나 그러한 핵산 서열을 숙주세포 내로 도입하기 위한 수단으로서 이용되는 조작된(즉, 인공적으로 생산된) 핵산 분자를 말한다. 그러므로 재조합 벡터는 선택된 핵산 서열을 발현시키거나 숙주세포 내로 운반시키는 것과 같이, 선택된 핵산 서열을 클로닝, 시퀀싱 및/또는 다른 방식으로 조작하여 재조합 세포를 형성하는데 사용하기에 적합하다. 그러한 벡터는 클로닝 또는 운반될 핵산 서열에 인접한 자연적으로는 발견되지 않는 이중성인 핵산 서열을 일반적으로 함유할 수 있으며, 그럼에도 불구하고 벡터는 또한 본 발명의 핵산 분자에 인접한 자연적으로 발견되거나 또는 본 발명의 핵산 분자의 발현에 유용한 조절 핵산 서열(예컨대, 프로모터, 비번역 영역)을 함유할 수 있다. 벡터는 RNA 또는 DNA, 원핵 세포성 또는 진핵 세포성일 수 있으며, 일반적으로는 플라스미드이다. 벡터는 크로모솜의 요소로서 유지되거나(예컨대, 플라스미드) 재조합 생물(예컨대, 미생물 또는 식물)의 크로모솜 내로 통합될 수 있다. 전체 벡터는 숙주 세포 내의 공간에 존재하거나, 또는 특정 조건 하에서 플라스미드 DNA는 본 발명의 핵산 분자를 남겨두고 삭제될 수 있다. 통합되는 핵산 분자는 크로모솜 프로모터, 천연 또는 플라스미드 프로모터, 또는 수개의 프로모토의 조합의 조절 하에 있을 수 있다. 핵산 분자의 단일 또는 복수의 카피가 크로모솜 내로 통합될 수 있다. 본 발명의 재조합 벡터는 하나 이상의 선택적인 마커를 함유할 수 있다.
- [0019] 한 구체예에서, 본 발명의 핵산 분자에서 사용되는 재조합 벡터는 발현 벡터이다. 여기에서 사용되는, 용어 "발현 벡터"는 코딩된 산물(예컨대, 관심있는 단백질)의 생산을 위해 적합한 벡터를 언급하기 위해 사용된다. 이러한 구체예에서, 생산할 산물을 코딩하는 핵산 서열은 재조합 핵산 분자를 생산하기 위한 재조합 벡터내로 삽입된다. 생산될 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 재조합 숙주 세포 내에서 핵산서열의 전사 및 번역을 가능하게 하는 벡터 내의 조절 서열에 핵산을 작동가능하게 연결시키는 방식으로 벡터 내로 삽입된다.
- [0020] 일반적으로, 재조합 핵산 분자는 하나 이상의 발현 조절 서열에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 핵산 서열을 포함한다. 문구 "작동가능하게 연결된"은 숙주 세포 내로 형질감염될 때(즉, 형질전환, 형질유도, 형질감염, 컨쥬게이트 또는 유도(conduce)될 때) 분자가 발현될 수 있도록 하는 방식으로 발현 조절 서열(예컨대, 전사 조절 서열 및/또는 번역 조절 서열)에 핵산 분자를 연결하는 것을 말한다.
- [0021] 전사 조절 서열은 전사의 개시, 연장 또는 종결을 조절하는 서열이다. 특히 중요한 전사 조절 서열은 프로모터, 인핸서, 오퍼레이터 및 리프레서 서열과 같은 전사 개시를 조절하는 것들이다. 적합한 전사 조절 서열은 숙주세포 또는 생명체 내로 도입된 재조합 핵산 분자가 기능할 수 있는 임의의 전사 조절 서열을 포함한다.
- [0022] 본 발명의 재조합 핵산 분자는 또한 번역 조절 서열, 복제 기원, 및 재조합 세포와 양립할 수 있는 다른 조절

서열과 같은 추가적인 조절 서열을 함유할 수 있다. 한 구체예에서, 숙주 세포 크로모솜 내로 도입되는 것들을 포함하는 본 발명의 재조합 분자는 또한 발현된 단백질이 단백질을 생산한 세포로부터 분비될 수 있도록 하는 분비 신호(즉, 신호 절편 핵산 서열)를 함유한다. 적합한 신호 절편은 발현된 단백질과 천연적으로 관련된 신호 절편 또는 본 발명에 따른 단백질의 분비를 관리할 수 있는 임의의 이중적인 신호 절편을 포함한다. 또다른 구체예에서, 본 발명의 재조합 분자는 숙주 세포의 핵 내로 발현된 단백질을 운반하고 삽입시킬 수 있는 리더 서열을 포함한다. 적합한 리더 서열은 단백질과 천연적으로 관련된 리더 서열 또는 세포의 막으로의 단백질의 운반 및 삽입을 관리할 수 있는 임의의 이중적인 리더 서열을 포함한다.

[0023] 본 발명은 또한 서열번호 1의 염기 서열을 갖는 *BrMORN* 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 형질감염된 식물을 제공한다. 한 구체예에서, 상기 식물은 채소 또는 유류 작물(oil crop)일 수 있다. 예를 들어, 배추, 양배추, 상추, 케일 및 각종 쌈채소, 그리고 유채, 참깨, 들깨, 해바라기, 땅콩, 아주까리 등이 포함될 수 있다.

[0024] 식물체의 형질감염은 아그로박테리움이나 바이러스 벡터 등을 이용한 통상의 방법에 의해 달성할 수 있다. 예컨대, 본 발명에 따른 유전자를 함유하는 재조합벡터로 아그로박테리움 속 미생물을 형질전환시킨 다음, 상기 형질전환된 아그로박테리움 속 미생물을 대상 식물의 조직 등에 감염시켜 형질전환 식물을 획득할 수 있다. 예를 들어, (a) 대상 식물의 외식체(explant)를 전 배양(pre-culture)한 다음, 이를 형질전환된 아그로박테리움과 공동배양하여 형질감염시키는 단계; (b) 형질감염된 외식체를 캘러스 유도배지에서 배양하여, 캘러스를 획득하는 단계; 및 (c) 획득된 캘러스를 절단하고, 이를 신허 유도배지에서 배양하여 신허를 형성시키는 단계를 거쳐 형질감염된 식물을 제조할 수 있다.

[0025] 본 발명에서 용어 "형질감염"은 외인성 핵산 분자 (즉, 재조합 핵산 분자)를 세포내로 삽입할 수 있는 임의의 방법을 의미한다. 용어 "형질전환"은 이 용어가 핵산 분자를 조류, 박테리아 및 효모와 같은 미생물 또는 식물 세포로 도입하는데 이용할 경우 용어 "형질감염"과 상호교환적으로 이용될 수 있다. 미생물 및 식물 시스템에서 용어 "형질전환"은 미생물 또는 식물에 의한 외인성 유전자의 습득으로 인한 유전되는 변화를 설명하는데 이용되며 "형질감염"과 본질적으로 같은 의미이다. 그러나, 동물 세포에서, 형질전환은 예를 들어, 암화된 후 배양 중 세포의 성장 특성에서 변화를 의미할 수 있는 제2의 의미를 갖는다. 그러므로, 혼동을 피하기 위해, 용어 "형질전환"은 동물 세포 내로의 외인성 핵산의 도입과 관련하여 바람직하게 사용되며, 용어 "형질감염"은 여기에서 동물 세포의 형질전환 및 미생물 세포 또는 식물 세포의 형질감염을 일반적으로 포함하여, 상기 용어가 외인성 핵산의 세포내로의 도입을 포함하도록 확장시켜 사용될 것이다. 따라서, 형질감염 기술은 이에 제한되는 것은 아니지만, 형질전환, 입자 사격(particle bombardment), 확산(diffusion), 능동 수송, 배스 초음파 분해(bath sonication), 전기천공(electroporation), 미세주입, 리포펙션(lipofection), 흡수, 감염 및 원형질체 융합을 포함한다.

[0026] 본 발명은 또한 식물에서 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 *BrMORN* 단백질을 코딩하는 *BrMORN* 유전자를 과발현시키는 것을 포함하는 식물의 영양 생식 또는 종자 생산을 증진시키는 방법을 제공한다. 임의의 유전자의 과발현 기술은 당업자에게 잘 알려져 있다. *BrMORN* 유전자를 과발현을 과발현시키는 방법으로는 이에 제한되는 것은 아니나, 상기한 *BrMORN* 유전자를 포함하는 발현 벡터로의 식물의 형질감염 뿐만 아니라, *BrMORN* 유전자의 과발현을 유도할 수 있는 유전자를 포함하는 발현 벡터로의 식물의 형질감염 또한 이용될 수 있다.

[0027] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, *BrMORN* 유전자가 과발현된 형질전환 식물은 영양 생식 및/또는 종자 생산이 증진됨을 확인할 수 있다. 따라서 상기 방법을 이용하면 채소와 같은 작물의 크기를 증진시킬 수 있을 뿐만 아니라 씨를 수확하여 이용하는 작물의 생산성 또한 높일 수 있다.

[0028] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

효 과

[0029] 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 *BrMORN* 유전자를 식물에서 과발현시킬 경우, 영양기관의 생장 촉진과 종자 생산의 증진을 유도할 수 있으므로, 브라시카 라파(*Brassica rapa*)의 *BrMORN* 유전자는 채소와 유료 작물의 수확량 증진을 위해 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0030] [실시예]

[0031] 실시예 1: *BrMORN*의 동정

[0032] *BrMORN* 유전자는 배추 잎의 cDNA library로부터 EST를 수행하여 염기서열을 얻었다. *BrMORN* 유전자는 배추에 단기간의 저온처리 (4°C, 6시간)를 하였을 때 처리 전보다 감소하였고, *BrMORN*과 염기서열의 높은 상동성을 갖는 *AtMORN* 역시 애기장대에 저온처리시 감소하였다. 또한 *BrMORN* 유전자는 애기장대에 단기간의 저온처리 (4°C, 6시간)를 하여 *BrChip*을 이용한 DNA microarray를 수행하였을 때 처리 전보다 약 32배 크게 감소하였다. 저온처리 시 발현이 크게 감소하는 유전자는 많이 있었지만 대부분 기능이 많이 연구된 유전자였으나, *BrMORN*은 기능이 미확인된 유전자로 연구할 가치가 있다고 판단하여 발현 양상을 파악한 후 과발현 형질전환체를 통한 분자생물학적 기능 연구를 하였다. RT-PCR 및 과발현 형질전환용 컨스트럭트 제작에 이용한 프라이머는 EST로부터 얻은 염기서열을 바탕으로 제작하였다.

[0033] *BrMORN*의 단백질 서열과 MORN 도메인을 갖는 유전자를 BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)와 ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>)를 이용하여 분석하였다. *BrMORN* 단백질 구조 분석은 SOSUI 프로그램 (<http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/sosui-submit.html>)과 Search Pfam 프로그램 (<http://pfam.sanger.ac.uk/search>)을 이용하였다. *BrMORN*의 막단백질 구조 분석은 ARAMEMNON membrane protein 프로그램 (<http://aramemnon.botanik.uni-koeln.de/>)을 이용하여 분석하였다 (Schwacke et al., 2003).

[0034] *BrMORN* 유전자의 coding sequence는 1,510 bp로 502 아미노산을 암호화하며 (도 1), 이 단백질의 크기는 약 55.77 kD이며 pI값은 9.72가 된다.

[0035] 도 2는 *BrMORN* 유전자의 아미노산 서열과 구조분석 결과를 보여준다. *BrMORN* 단백질은 N-말단에 2개의 막단백질 도메인 (transmembrane domain)과 C-말단에 반복하는 7개의 MORN (membrane occupation and recognition nexus) 도메인을 가지고 있다 (도 2A). 이 두 개의 막단백질 도메인을 구조 분석한 결과 0.73과 0.79로 높은 소수성(hydrophobic value)을 나타냈다 (도 2B). *BrMORN*에 반복되어 존재하는 7개의 MORN 도메인의 아미노산 서열을 비교한 결과 글리신 (G) 아미노산이 잘 보존되어 있으며 (도 2C), 이는 모든 MORN 도메인 단백질과 동일한 서열보존 양상이다.

[0036] *BrMORN*과 같이 C-말단에 7개의 MORN 도메인을 반복하여 갖는 단백질 그룹을 식물에서 찾아 비교하였다. *Arabidopsis thaliana*의 AAM78092 (AT4g17080) 유전자와 NP_565799 (AT2g35170) 유전자, CA070486 (*Vitis vinifera* GSVIVT00019031001) 유전자, XP_001768288 (*Physcomitrella patens* PHYPADRAFT_133151) 유전자와 ACF86399 (*Zea mays* BT041394) 유전자를 이용하였다. 그 결과 MORN 반복 도메인 부분에서 상동성이 매우 높게 나타났다 (도 3A). 도 3A에서 각 유전자는 GenBank의 accession number로 표기하였다. 7개의 MORN 도메인은 밑줄로 표시하였다. 특히, *BrMORN*은 애기장대 단백질 AAM78092 (AT4g17080)와 가장 높은 상동성(82%)을 보였다. 또한, 각 유전자의 단백질 서열을 CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment 프로그램을 이용하여 계통수를 그려본 결과에서도 AAM78092와 가장 가까운 근연관계를 보였다 (도 3B).

[0037] 실시예 2: 배추에서의 *BrMORN*의 발현 양상 분석

[0038] 역전사 중합효소연쇄반응 (RT-PCR)을 통하여 배추에서 *BrMORN*의 발현 양상을 분석하였다.

[0039] 배추의 뿌리, 하배축, 어린 잎, 성숙 잎, 꽃봉오리, 암술, 꽃실, 꽃밥 및 꽃잎으로부터 전체 RNA 5μg을 추출한 후 역전사 중합효소연쇄반응을 하였다. 상보 DNA를 합성하기 위해서 SuperScript first-strand cDNA synthesis system을 이용하였다. 합성된 상보 DNA를 1/10로 희석한 후 그 중 1 μl를 중합효소연쇄반응에 사용하였다. 94°C에서 5분 동안 변성시킨 후 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 그리고 72°C에서 90초를 25회 반복하였다. 합성이 끝난 PCR 합성 산물은 1% 아가로스 겔에 전기영동하여 확인하였다.

[0040] 그 결과, 뿌리, 하배측과 어린 잎에서 발현량이 높았고, 암술과 꽃잎에서는 발현량을 탐지하지 못했다 (도 4A). 또한 어린 잎에서의 발현량이 성숙한 잎에서 보다 높았으며, 꽃봉오리 발달이 진행될수록 그 발현량이 증가하였다 (도 4A). 배추의 발아단계에서 *BrMORN*의 발현 양상을 살펴보면, 발아초기에 발현량이 상대적으로 높고 발아가 진행되면서 감소하는 경향을 보였다 (도 4B).

[0041] *BrMORN* 유전자가 마이크로어레이 실험에서 저온처리시 발현이 감소하는 유전자로 알려졌기 때문에, 온도에 따른 발현 양상을 분석하였다. 도 4C에서 보는 바와 같이, 저온 (4℃)을 처리했을 때 8시간 이후 감소하기 시작하여 12시간을 처리했을 때 그 발현량이 크게 줄어들었다. 반면에 열충격 (42℃)에 의해서는 그 감소폭이 비교적 작았다. 오히려 4시간까지는 발현이 증가하는 양상을 보였다.

[0042] [표 1] *BrMORN* 재조합 플라스미드 제작 및 cDNA 합성에 이용된 프라이머 서열

DNA fragments	Forward primer (5'→ 3')	Reverse primer (5'→3')
Subcloning into pCambia3300-35S vector		
<i>35S::BrMORN</i>	AGACCCCGGGTGTAATGCA	GCCGGAGCTCTAACTACTACAAG
Gene expression analysis using RT-PCR		
<i>AtMORN</i>	CAGAGTCGTCATCATCTGACGG	TCATCCCTTGCTGTATTGACC
<i>BrMORN</i>	ACGTACCGAAGCGCCATTGGA	TCATCCCTTGCTGTATTGACC
<i>AtActin</i>	GTCTTGACCTTGCTGGACGTGA	CCTTTCAGGTGGTGCAACGAC
<i>BrActin</i>	GAACCGGGTGCTCCTCAGGA	ATGGTACCGGAATGGTCAAGGC

[0044] 실시예 3: 배추를 이용한 *BrMORN*의 *in situ* hybridization

[0045] 배추 종자의 발아 초기와 성숙한 배추의 내엽에서의 *BrMORN* 유전자 발현 양상을 조직 수준에서 알아보기 위하여 *in situ* hybridization을 수행하였다. 종자 샘플로는 배추 종자를 발아시키며 2일 동안 단계별로 준비한 샘플을 이용하였으며(도 5A), 성숙한 배추의 내엽 샘플로는, 약 45일 정도 자란 배추의 어린 잎을 이용하였다(도 5B). 전사량을 탐지하기 위해서 DIG으로 표지된 역전사 RNA를 탐침으로 이용하였다. 그 결과, 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이, *BrMORN* 전사체는 발아 초기 뿌리의 생장조직에서 탐지되었고 뿌리 분열조직은 발현하지 않는 것으로 보여졌다(도 5A). 또한 하배측과 약 45일 정도 자란 배추의 속 잎에서는 약한 신호가 탐지되었다(도 5B).

[0046] 실시예 4: *BrMORN* 과발현 애기장대 형질전환체의 제작

[0047] *BrMORN*의 기능을 연구하기 위하여 *BrMORN* 유전자를 애기장대에 도입하였다. 먼저, *BrMORN*의 암호화된 염기서열을 PCR로 증폭하여 pBluscriptII KS (+) (Stratagene, USA) 벡터에 클로닝하였다. Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) 35S 프로모터 (35S-P)로 *BrMORN*을 과발현 시켜 애기장대에 형질전환하기 위하여, 약 1.5-kb 정도 길이의 단편을 *SacI*과 *SmaI*을 이용하여 벡터와 재조합하였다. pCambia3300 벡터 (<http://www.cambia.org>)를 이용하였고, 35S 프로모터와 nopaline synthase terminator (*nos-ter*) 사이에 *BrMORN*을 클로닝 하였으며 제초제 항성을 갖는 *bar* 유전자를 선택표지로 이용하였다.

[0048] 도 6은 *BrMORN*의 과발현 재조합 플라스미드를 제작하기 위해 사용한 벡터 맵을 보여준다. 도 6의 벡터는 제초제 저항성 유전자 (*bar*), CaMV 35S 프로모터, nopaline synthase gene 프로모터 (*nos-pro*)와 3'-터미네이터 (*nos-ter*)를 포함하고 있다(LB, left border; RB, right border, 35S-P, cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S 프로모터; *BrMORN*, 배추 *MORN* 유전자; *nos-ter*; nopaline synthase 터미네이터; *Bar*, 제초제 저항성 유전자 (Pnos-phosphinotricin acetyltransferase gene)).

[0049] 재조합 플라스미드 (*35S::BrMORN*)는 GV3101 아그로박테리움에 형질전환 후, floral dipping method (Clough and Bent, 1998)를 이용하여 애기장대에 형질전환하였다.

[0050] 16개의 T₁ 형질전환체를 선별하였고, PCR 방법을 이용하여 각 형질전환체에 제초제 저항성 유전자와 *BrMORN* 유전자가 삽입되어 있음을 증명하였다. 형질전환체에 한 개의 유전자만이 삽입되었음을 증명하기 위하여 T₁ 형질전

환체를 자가수분하여 재초제 저항성을 갖는 식물체의 비가 3:1인 10개의 T₂ 형질전환체를 얻었다 (Katiyar-Agarwal et al., 2003). 최종적으로 3개의 동형접합성 *BrMORN* 과발현 식물체를 선발하여 실험에 사용하였다. *BrMORN*이 과발현된 동형 접합성 형질전환체를 유지하기 위하여 22℃ 장일 조건에서 키웠다.

[0051] 실시예 5: *BrMORN* 과발현 애기장대 형질전환체의 분석

[0052] *BrMORN* 과발현 애기장대 형질전환체의 표현형 분석은 Boyes et al. (2001)과 이를 변형한 방법을 이용하여 수행하였다.

[0053] 야생형 애기장대 (Col-0)와 형질전환체 종자는 4℃에서 3일 동안 휴면타파를 통하여 발아시켰고, 발아한 후 식물체는 22℃, 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 장일조건의 배양기에서 길렀다. 종자는 50% 락스가 포함된 표백용액에 0.1% Triton X-100으로 소독하였고, 0.5X Murashige and Skoog salts, 0.05% MES, 1% 수크로스와 0.8% 아가가 포함된 배지에 심은 후 발아시켰다. 하배축 길이를 측정하기 위해서 종자를 동일한 방법으로 소독한 후 휴면타파 후 4일 동안 22℃의 암소에서 길렀다. 하배축 길이는 ImageJ 1.40 프로그램 (NIH-Image, <http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>)을 이용하여 측정하였다.

[0054] 도 7은 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 뿌리길이 및 하배축 길이를 측정한 결과를 보여준다. Wild type과 비교한 결과 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 뿌리와 슈트부분 길이가 더 길어졌다(도 7A. Bar = 1 cm). 뿌리 및 하배축 길이는 발아 후 4일 지나서 약 50개체 정도를 이용하여 길이 측정하였고, 3번 반복한 결과를 그래프로 기록하였다(도 7B, C). 그 결과, *BrMORN* 과발현 애기장대는 하배축과 뿌리의 생장이 야생형 애기장대에 비해 하배축은 약 30%, 뿌리는 약 39% 증가하였음을 알 수 있었으며, 이는 *BrMORN* 과발현 형질전환체에서 *BrMORN*의 전사량이 증가한 것에 기인하였음을 RT-PCR 결과를 통하여 확인할 수 있었다. RT-PCR에서 전사량의 정량은 *Arabidopsis Actin* 유전자를 이용하여 수행하였다(도 7D. S, 슈트; R, 뿌리)

[0055] 도 8은 암소에서 자란 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 하배축 길이 측정한 결과를 보여준다. 도 8(A)는 종자 소독 후 0.5X MS 배지에 심어 휴면타파시킨 후 22℃ 암상태에서 약 4일 동안 키운 후 관찰한 결과를 보여준다(Bars = 1 cm). 하배축 길이측정은 NIH-Image 프로그램을 이용하여 약 50개체씩 측정하였고 3번 반복한 결과를 도 8(B)의 그래프로 나타냈다. 또한, RT-PCR을 통하여 *BrMORN* 과발현 형질전환체에서 *BrMORN*의 전사량이 증가함을 확인할 수 있었다. 도 8에서 볼 수 있는 바와 같이, *BrMORN* 유전자의 과발현 애기장대는 야생형에 비해 약 31% 증가를 보였다(도 8). 하배축 길이를 측정한 결과 빛이 있는 조건에서 키운 식물체는 약 29.1 % (도 7). 이 경우도 하배축 신장의 증가는 *BrMORN* 유전자의 발현량과 강한 상관관계를 보였다.

[0056] *BrMORN* 유전자를 과발현하는 애기장대 형질전환체를 화분에 심고 관찰하였다. 애기장대를 장일조건에서 키우며 발아 후 10, 20 그리고 30일이 지난 개체를 관찰하였다. 각 식물체는 같은 시기의 것으로 과발현 형질전환체를 야생형 (Col-0)와 비교하였다(도 9. Bars = 1 cm). 그 결과, *BrMORN* 유전자를 과발현하는 애기장대 형질전환체는 성장속도도 빨랐으며 개체의 크기도 야생형 애기장대에 비해 월등히 증가함을 알 수 있었다.

[0057] 식물 성장과 관련하여 잎의 모양과 크기를 자세하게 분석하기 위하여 야생형과 과발현체를 두 장의 자엽, 13장의 로제트 잎과 2장의 경성 잎이 생기도록 장일조건(16L/8D)의 같은 배양 조건에서 약 30일정도 키웠다. 애기장대 야생형의 5번째 로제트 잎이 잎의 표현형을 가장 잘 나타낸다고 하기 때문에 (Tsuge et al., 1996), 5번째 로제트 잎의 길이, 폭 등을 측정하여 표 2에 요약하였다. 표피세포의 측정을 위해, 5번째 로제트 잎의 끝에서 중앙으로 벗겨내었고, 2~3장의 앞에서 약 5개 정도의 표피세포 조각을 얻었다. 현미경 관찰을 위하여 깔유리에 놓고 덮개유리로 덮은 후 NIH Inage 1.61 프로그램(National Institutes of Health, Bethesda, MD)을 이용하여 잎의 넓이와 표피세포 넓이를 측정하였다. 모든 실험은 3번의 반복실험을 통하여 평균값을 얻은 것이다.

[표 2]

측정값	야생형	35S:: <i>BrMORN</i>		
		#1	#2	#3
잎의 길이 (cm) ^a	1.7 ±0.3	2.1 ±0.4	2.4 ±0.3	2.5 ±0.4
잎의 폭 (cm) ^a	1.1 ±0.2	1.3 ±0.3	1.3 ±0.3	1.3 ±0.3

길이/폭 비율	1.5 ±0.3	1.6 ±0.4	1.8 ±0.5	1.9 ±0.4
엽병의 길이 (cm) ^a	1.4 ±0.3	1.5 ±0.3	1.7 ±0.4	1.6 ±0.4
잎의 무게 (mg) ^a	91.7 ±4.5	107.4 ±4.8	121.9 ±6.0	120.3 ±6.0
평균 잎 면적 (mm ²) ^b	141 ±7	156 ±7	181 ± 9	189 ±9
평균 표피 세포 면적(X10 ⁻³ mm ²) ^c	1.8 ±0.1	2.1 ±0.1	2.3 ±0.1	2.3 ±0.1

^a 5번째 로젯트 잎으로부터 얻은 측정값. 결과는 평균±SD. *n* = 20.

^b 모든 확장된 로젯트 잎으로부터 얻은 측정값. 결과는 평균±SD. *n* = 20.

^c 5개의 식물로부터 5번째 로젯트 잎의 30개의 표피세포로부터 얻은 측정값.

SD, 표준 편차

표 2로부터 알 수 있는 바와 같이, *BrMORN* 과발현 형질전환체의 로젯트 잎은 야생형의 것에 비하여 길이와 폭, 엽병의 길이 그리고 잎의 무게 모두가 증가하였음을 보여주고 있다. 또한 잎의 넓이도 약 24.3% 증가하였으며, 표피세포 하나의 크기를 측정한 결과 과발현 형질전환체가 약 24.0% 커졌다 (도 10). 이는 *BrMORN* 과발현 애기장대 잎 크기의 증가는 세포 크기의 증가에 기인할 것이라는 것을 시사하고 있다.

영양생장과 종자생산과의 관계를 분석하기 위하여 줄기의 수와 개화시기까지의 잎의 수 및 종실과 종자를 분석하여 표 3에 요약하였다.

[표 3]

측정값	야생형	<i>35S::BrMORN</i>		
		#1	#2	#3
제1 슈트의 길이 (cm) ^a	38.3 ±0.9	37.4 ±1.8	37.3 ±1.8	36.9 ±1.7
측면 슈트의 수 ^a	6.0 ±0.2	7.0 ±0.3	6.8 ±0.3	6.6 ±0.3
잎의 전체 수 ^a	12.5 ±1.2	16.2 ±1.2	15.8 ±1.4	15.3 ±1.3
종실의 최종 갯수 ^a	114 ±19	153 ±10	169 ±8	154 ±6
성숙한 종실의 길이 silique length (cm) ^b	1.5 ±0.1	1.5 ±0.1	1.5 ±0.1	1.5 ±0.1
종실 당 종자수 ^b	61 ±3	62 ±3	62 ±3	63 ±3
150개의 종자의 무게(mg)	13.3 ±0.6	15.6 ±0.7	17.1 ±0.8	16.4 ±0.8

^a 성숙기에서의 데이터. 보여지는 결과는 평균±SD. *n* = 20.

^b 보여지는 결과는 평균±SD. *n* = 20. 5개의 종실/식물로부터 얻은 측정값. *n* = 10.

SD, 표준 편차

표 3에서 볼 수 있는 바와 같이, *BrMORN* 과발현 애기장대는 생식단계에 이르는 잎의 수가 크게 증가하였고, 슈트의 수도 약간 증가하였다. 그 결과 종실(silique)의 수가 크게 증가 (40%)하였다. 그러나 종실당 종자의 수는 변함이 없었으나, 종자당 무게는 크게 증가(23%)하였다. 따라서, *BrMORN* 과발현 애기장대는 영양생장의 촉진으로 보다 많은 종자와 충실한 종자를 생산하고 있었다. 이러한 증가는 엽채 작물이나 종자 생산 작물의 생산성을

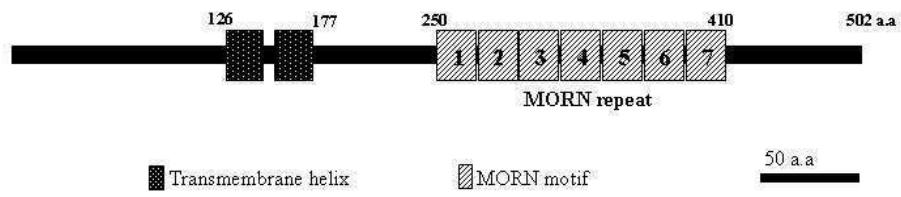
크게 증진시킬 수 있음을 시사하고 있다.

도면의 간단한 설명

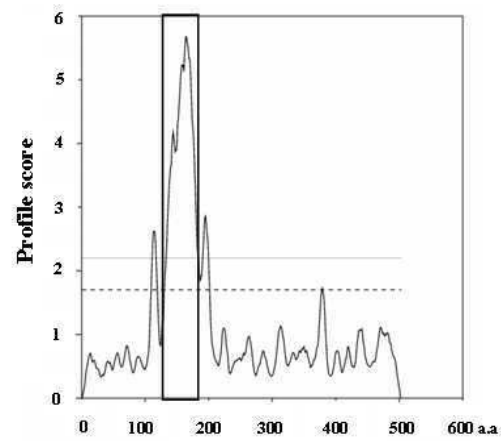
- [0072] 도 1은 *BrMORN* 유전자의 핵산서열과 단백질 서열을 보여준다.
- [0073] 도 2는 *BrMORN* 유전자의 아미노산 서열과 구조 분석 결과를 보여준다. 도 2 (A)는 *BrMORN* 유전자의 단백질에 두 개의 막단백질 도메인과 7개의 MORN 도메인이 존재함을 보여주고, 도 2(B)는 *BrMORN* 단백질의 소수성을 조사한 결과를 보여주며, 도 2(C)는 7번 반복되는 MORN 도메인의 서열 (amino acid 250 ~ 410)의 상동성을 비교한 결과로서, 글리신(G)이 보존되어 있음을 보여준다.
- [0074] 도 3은 MORN 도메인을 포함한 유전자의 단백질 서열 비교 및 계통수를 나타낸 도면이다. 도 3(A)는 식물체에서 C-말단 부분에 MORN 도메인을 포함한 유전자 단백질 서열들을 비교한 결과로서, 각 유전자는 GenBank의 accession number로 표기하였으며, 7개의 MORN 도메인은 밑줄로 표시하였다. 도 3(B)는 각 유전자의 단백질 서열을 CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment 프로그램을 이용하여 계통수를 나타낸 것이다.
- [0075] 도 4는 RT-PCR을 통한 배추의 각 기관 및 환경 스트레스에 의한 *BrMORN* 발현량 분석 결과를 보여준다. 도 4(A)는 뿌리, 잎, 꽃봉오리, 꽃기관 등에서의 *BrMORN* 발현량을 분석한 결과를 보여주고, 도 4(B) 배추의 하배축 신장을 5단계로 나누어 발현량 분석. I, 0.5 cm; II, 1 cm; III, 2 cm ; IV, 3 cm; V, 4 cm. Bars = 1 cm. (C) 저온 (4℃)과 고온 (42℃)처리 시의 *BrMORN*의 발현량을 분석한 결과를 보여준다.
- [0076] 도 5는 배추 종자(A)와 잎(B)을 이용한 *BrMORN*의 *in situ* hybridization 결과를 보여준다. 배추 조직과 탐침이 혼성화된 부위는 푸른색으로 신호가 탐지되었다. Bars = 1 cm.
- [0077] 도 6은 *BrMORN*의 과발현 재조합 플라스미드를 제작하기 위해 사용한 벡터 맵을 보여준다.
- [0078] 도 7은 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 뿌리길이 및 하배축 길이를 측정한 결과 및 *BrMORN*의 전사량 증가를 확인할 수 있는 RT-PCR 결과를 보여준다.
- [0079] 도 8은 암소에서 자란 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 하배축 길이 측정한 결과 및 *BrMORN*의 전사량 증가를 확인할 수 있는 RT-PCR 결과를 보여준다.
- [0080] 도 9는 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 표현형을 분석한 결과를 보여준다.
- [0081] 도 10은 애기장대 5번째 로제트잎의 표피세포를 관찰한 결과로서, 도 10 (A)는 야생형 식물체 (Col-0)의 표피세포, 도 10 (B)는 *BrMORN* 과발현 형질전환체의 표피세포를 보여준다.

도면2

(A)



(B)



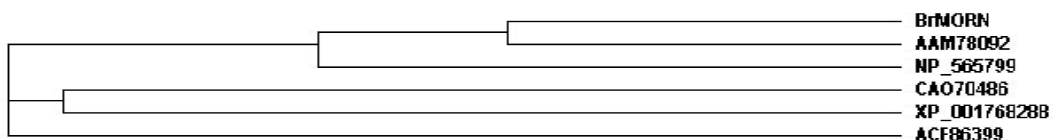
(C)

MORN1	YEGFLRGKCSGSVYYSMKGK	23
MORN2	YEGDWVDGKYDGFVETWAKGSR	23
MORN3	YRGGYRQGMRHGTCLYRFYTGDV	23
MORN4	YAGEWSNGQSHGCCVYTSEDGSR	23
MORN5	FVGEFKWGVKHGLGHYHFRNGDT	23
MORN6	YAGEYLADRMHGFVYLFNGHR	23
MORN7	YEGAWHEGRRQGLGMYTFRNGET	23
	: * : . * *	

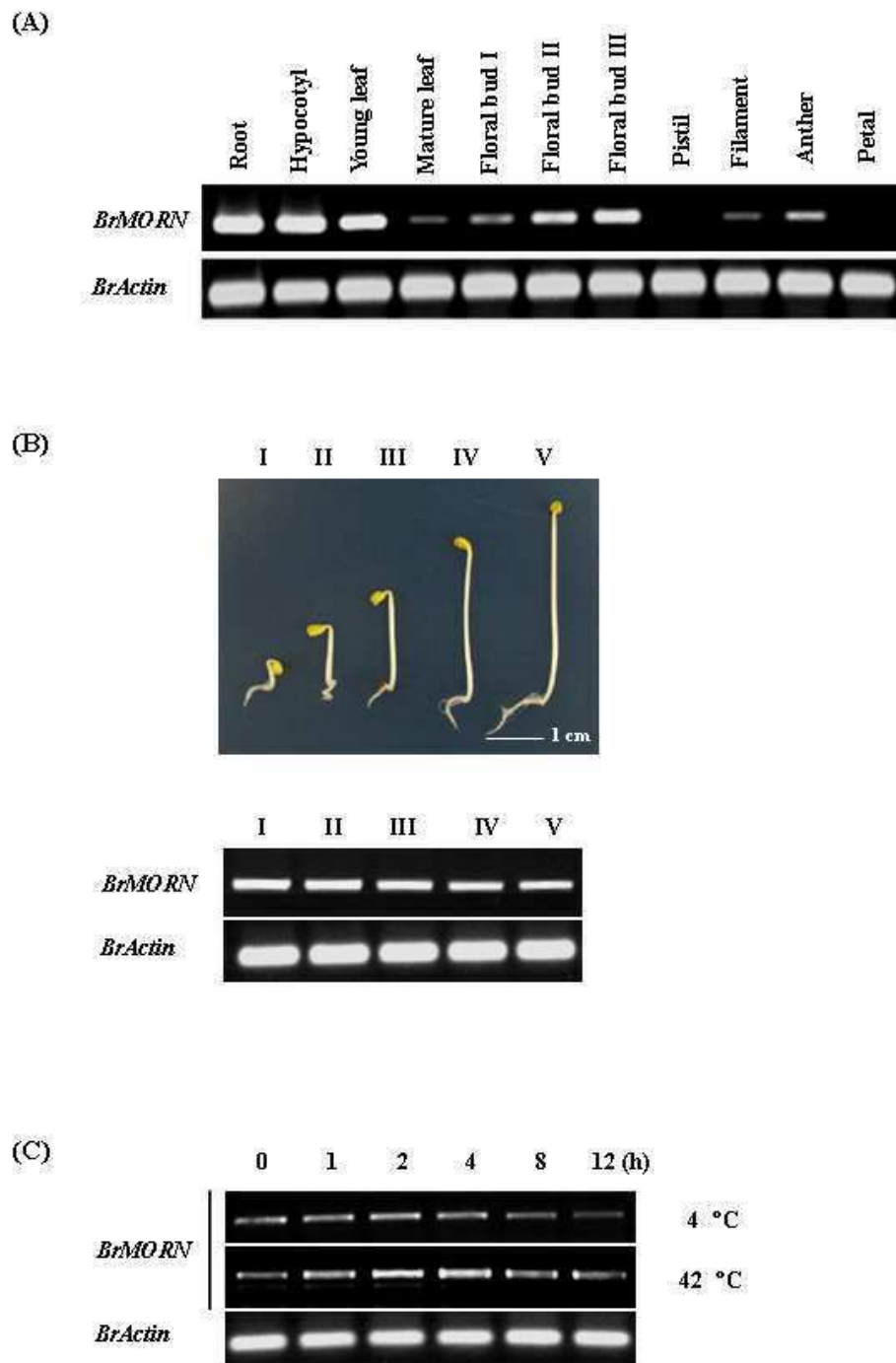
도면3a

BrMORN	MHLKNSTVAERRFIQKEAASVPPSS--LDQPKPKIKHHRPLQVPETLTPEKPTYRSAIGAN	59
AAM78092	MHLKNSTVAERRFIQKEAASVPPSS--LDQPKPKIKHHRPLQVPETLTPTDIGAGAGFSVY	60
NP_565799	MHLKNSVTPERRLIQKDDSS-----DFNQIPNPTIHHQQTQNKNRDAIONKSGGFTKY	53
CA070486	MHLKNSVTPDIGKESSGVSS-----DYNRTPTHTSSSESNAHFSSQDDPVTPTPTST	53
XP_001768288	-----	
ACF86399	MDVHGGGTGAGKLTPTPSS-----LRSPTVRNCSSFDVVVEDPSPDCK-----	46
BrMORN	PYNDSQADSHLTVEIPDSSPF--DKRPAAAAASHHPNDFRRG-----GGSDRGSLG	111
AAM78092	NOVADSRHHLTVEIPDSSSHNLTISKRPVVVSSNPFNVDFRRDQASLGPISVYCPSY	120
NP_565799	-HPDSDN-HHHTVDIPTGVQH--FRRSRRARS-----PSISGFFPSN	92
CA070486	HLSTPHKRPMTHTIPSLTKSPTFASALHNVQASTAPOFN-----SHFPATP	100
XP_001768288	-----	
ACF86399	--AAHPKPPPHHFFGGGSN-----	65
BrMORN	LLSFLSSSLP-----SNQKLLRQVIRVRLICPHLRFLLLSVPPPLYIFFLLISVRVLLF	166
AAM78092	LLSNRSSSLPSIPSATNQKLLRHILRVRLICPHLRFLLLSVPPPLYIFFLLISRRFFLLF	180
NP_565799	LLSSLSSTRVIAR-FLRLLR/TLRRLICPHLRFLLLSVPPPLYIFFLVLNLRFRL	151
CA070486	QFNSHFSSLFSISPSLKTIAVRLFHLRLRFRVHFSLLLTCLFFNLLVSHFTSYF	159
XP_001768288	-----	
ACF86399	-----PLLVVPLAFPLLLLRTHSR---	90
BrMORN	VFSIIAFSFLISILKFALPHLPSIRLFIARLLSLSPTRSSSSSSSSSSQERTKQVWSIG	226
AAM78092	VFSIIAFSFLISILKFALPHLPSIRLFIARLLSLKLPTRSSSS--SQEVTIPIVWSIG	238
NP_565799	VFSIIAFSFLISILKFALPHLPSIRLFIARLLTFIARSSSP-----SPRVVWSIG	206
CA070486	FSAFFFSALLPSLNLALPLPSIRLFIARSPFIKLVSGCAISR-----PALPVPWSIG	214
XP_001768288	-----	
ACF86399	-----SAPVQLPSSACPACSRLLDNFVGDDDDKPKQ-----KADKAAAPH	132
BrMORN	SKPUTEK--XTNSGSNVQKYSSGQVVEGEFLRGKCSGSGVYVYSMKGYEGQWVQGVQGF	285
AAM78092	SKPUTEK--XTNSGSNVQKYSSGQVVEGEFLRGKCSGSGVYVYSMKGYEGQWVQGVQGF	297
NP_565799	SKPVANNKXTNSGSNVQKYVTDNVEGEFLRGKCSGSGVYVYSMKGYEGEHLQGVQGF	266
CA070486	SRKPEK-KANSFCYEVVNNQVVEGELHKBKCSGQVYVYSRVEGQWVQGVQGF	273
XP_001768288	-----FENNQVVEGEFLRGKCSGSGVYVYKSRVEGQWVQGVQGF	42
ACF86399	GRVVRG-----DFTSNDDVEGEFLKDNFSGSVYVFFGKGYEGQWVQGVQGF	184
BrMORN	GVETNAKGSRYRQGYRQGRHGTGIYRFYTGQVYAGENSNGQSHGCGVVTSEDGSRFVGE	345
AAM78092	GVETNAKGSRYRQGYRQGRHGTGIYRFYTGQVYAGENSNGQSHGCGVVTSEDGSRFVGE	357
NP_565799	GVETNAKGSRYRQGYRQGRHGTGIYRFYTGQVYAGENSNGQSHGCGVVTSEDGSRFVGE	326
CA070486	GVETNAKGSRYRQGYRQGRHGTGIYRFYTGQVYAGENSNGQSHGCGTHCEDGSRFVGE	333
XP_001768288	GVETNAKGSRYRQGYRQGRHGTGIYRFYTGQVYAGENSNGQSHGCGHOCGDSYVGE	102
ACF86399	GVESNAKGSRYRQGYRQGRHGTGIYRFYTGQVYAGENSNGQSHGTHGQTCDSGSSVGE	244
BrMORN	FKNGVKHGLGHVHFRNGDTYAGEYFADRMHGFQVYFGNGHRYEGANHEGRRQGLQMYTF	405
AAM78092	FKNGVKHGLGHVHFRNGDTYAGEYFADRMHGFQVYFGNGHRYEGANHEGRRQGLQMYTF	417
NP_565799	FKNGVKHGLGHVHFRNGDTYAGEYFADRMHGFQVYFGNGHRYEGANHEGRRQGLQMYTF	386
CA070486	FKNGVKHGLGHVHFRNGDTYAGEYFADRMHGFQVYFGNGHRYEGANHEGRRQGLQMYTF	393
XP_001768288	FKNGVKHGLGHVHFRNGDTYAGEYFADRMHGFQVYFGNGHRYEGSHHGRQGLQMYTF	162
ACF86399	FKNGVKHGLGHVHFRNGDTYAGEYFADRMHGFQVYFGNGHRYEGSHHEGKKQGLQMYTF	304
BrMORN	RNGETQAGHMEGVLSCTPTEQTTTPDSSFSISHSKVLDTVQOARKAAEKAREVVKVEER	464
AAM78092	RNGETQAGHMEGVLSCTPTEQTTTPDSSFSISHSKVLDTVQOARKAAEKAREVVKVEER	476
NP_565799	RNGETQAGHMEGVLSCTPTEQTTTPDSSFSISHSKVLDTVQOARKAAEKAREVVKVEER	445
CA070486	RNGETQAGHMEGVLSCTPTEQTTTPDSSPIAVVHSHKVLNVQOARKAAEKADQTVVEER	453
XP_001768288	RNGETQAGHMLDLESRTQVSNSSAVATNFFVLNAVQVLLHCLY-FYSLCLLL	220
ACF86399	RNGKRSDDQSDPMT-----LPPADPSVRAVQAQRAABNARLPRD	353
BrMORN	VNRVAVVANRAANAARVAATKAVQTQTYSSGGGDOPL--	502
AAM78092	VNRVAVVANRAANAARVAATKAVQTQTHCSSD-DOPL--	513
NP_565799	IKRAVIAANRAANAARVAATKAVQDTHRNDQLETNC--	484
CA070486	VNRVAAANRAANAARVAATKAVQDTHQNNNNNIPMV	494
XP_001768288	LK-----LSFKLSTNLCHFLENKLL--	241
ACF86399	VNRVAAANRAANRAVAATKAVQNRMDGKFCETVY--	389

도면3b

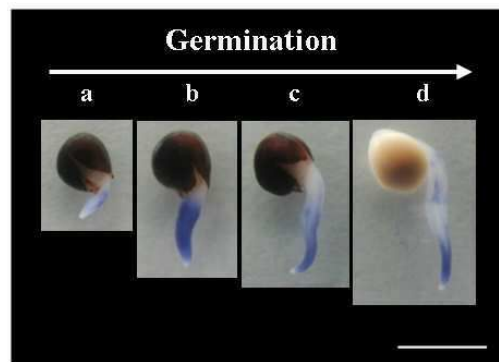


도면4

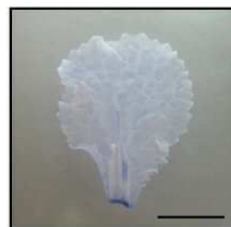


도면5

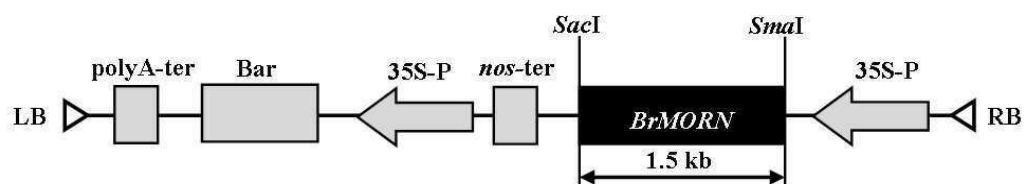
(A)



(B)

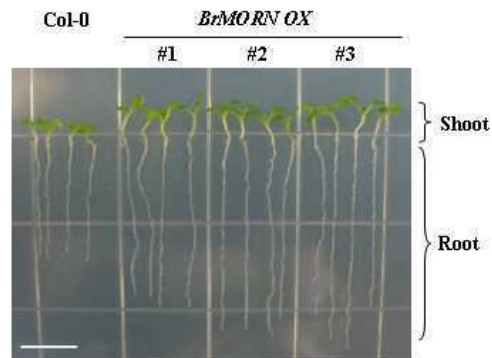


도면6

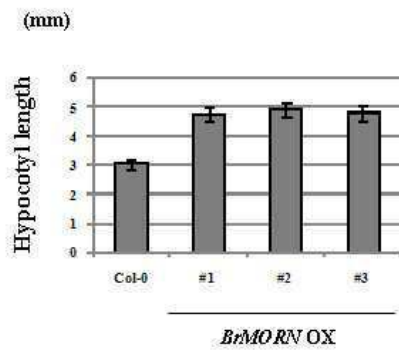


도면7

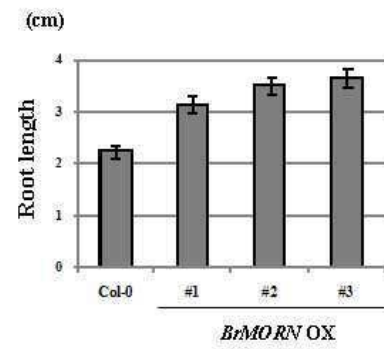
(A)



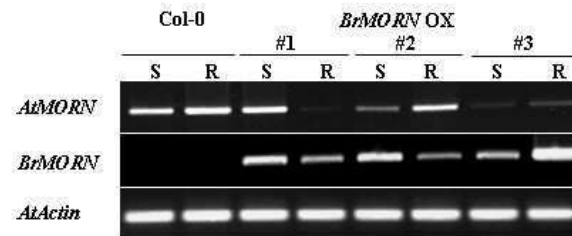
(B)



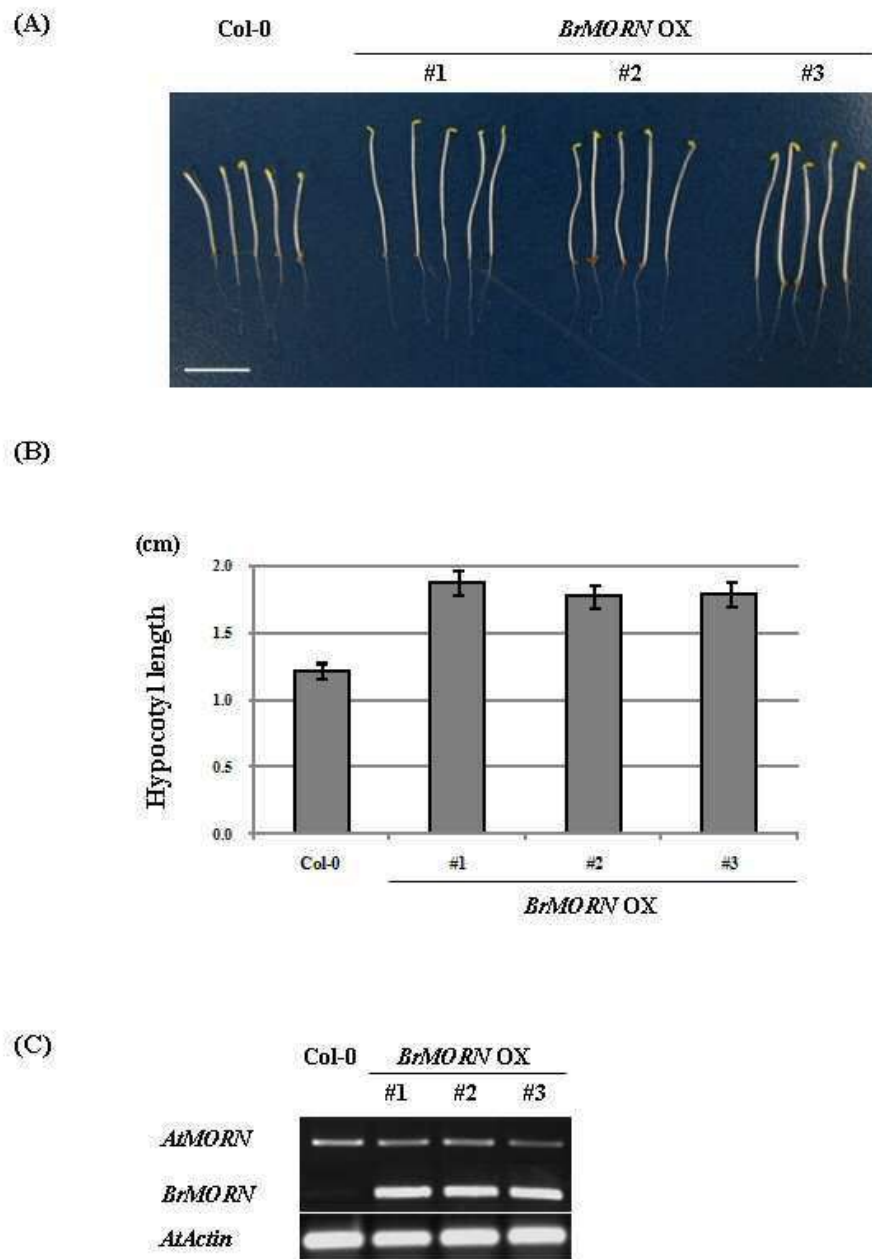
(C)



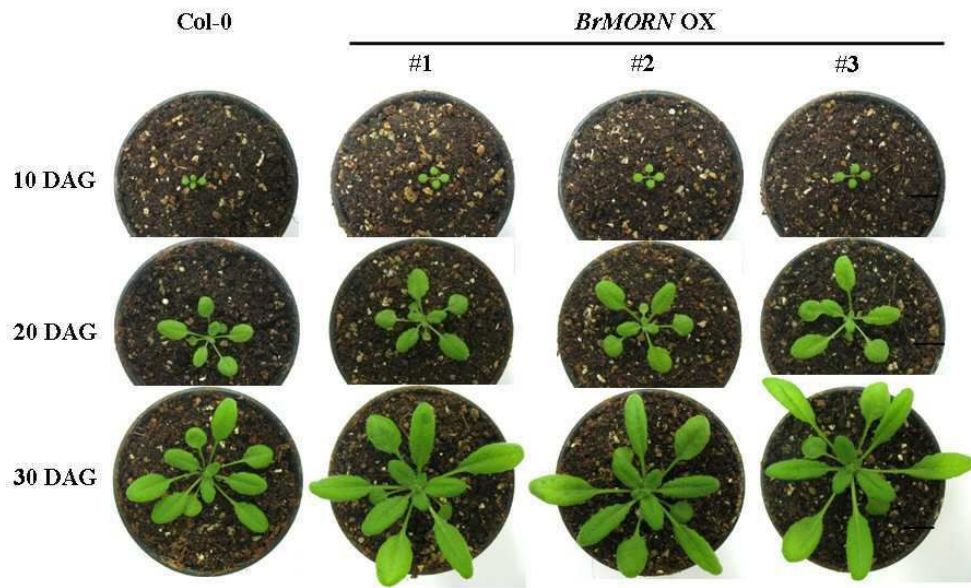
(D)



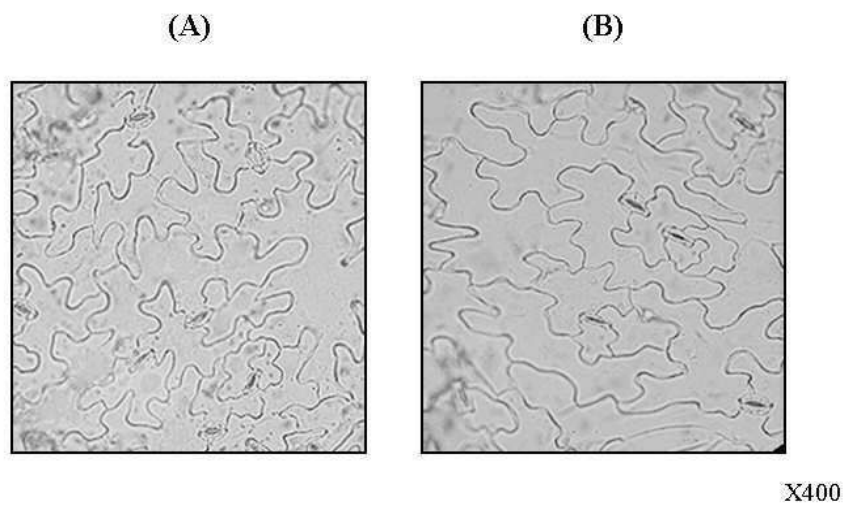
도면8



도면9



도면10



서열 목록

- <110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)
- <120> BrMORN gene of Brassica rapa
- <130> P08837

<160> 2

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 502

<212> PRT

<213> Brassica rapa

<400> 1

Met His Leu Lys Asn Ser Thr Val Ala Glu Arg Arg Phe Ile Gly Lys
1 5 10 15

Glu Ala Ala Ser Tyr Pro Pro Ser Ser Asp Leu Asp Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Ile Lys His His Arg Pro Leu Gln Val Pro Glu Thr Leu Thr Pro Glu
35 40 45

Lys Pro Thr Tyr Arg Ser Ala Ile Gly Ala Asn Pro Tyr Asn Gln Ser
50 55 60

Gln Ala Gln Ser His Leu Thr Val Glu Ile Pro Asp Ser Ser Pro Pro
65 70 75 80

Gln Lys Arg Pro Ala Ala Ala Ala Ala Gln Ser Ser His Pro Phe Asn
85 90 95

Asp Phe Arg Arg Gly Gly Gly Gly Ser Asp Arg Gly Ser Leu Gly Leu
100 105 110

Leu Ser Phe Leu Ser Ser Ser Leu Pro Ser Asn Gln Lys Leu Leu Arg
115 120 125

Gln Val Ile Arg Val Arg Leu Ile Cys Phe His Leu Arg Phe Leu Leu
130 135 140

Leu Leu Ser Val Pro Pro Leu Tyr Ile Phe Phe Leu Leu Ile Ser Val
145 150 155 160

Arg Val Val Leu Leu Phe Val Phe Ser Ile Ile Ala Phe Ser Phe Ile
165 170 175

Leu Ser Ile Ser Leu Lys Phe Ala Leu Pro His Leu Pro Ser Ile Arg

180	185	190
Leu Phe Ile Ala Arg Leu Leu Ser Leu Ser Pro Thr Arg Ser Ser Ser		
195	200	205
Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gln Glu Arg Thr Lys Gln Val Val Trp Ser		
210	215	220
Ile Gly Ser Lys Pro Val Thr Glu Lys Lys Thr Asn Ser Gly Ser Trp		
225	230	235
Val Gln Lys Tyr Ser Ser Gly Asp Val Tyr Glu Gly Glu Phe Leu Arg		
245	250	255
Gly Lys Cys Ser Gly Ser Gly Val Tyr Tyr Tyr Ser Met Lys Gly Lys		
260	265	270
Tyr Glu Gly Asp Trp Val Asp Gly Lys Tyr Asp Gly Phe Gly Val Glu		
275	280	285
Thr Trp Ala Lys Gly Ser Arg Tyr Arg Gly Gln Tyr Arg Gln Gly Met		
290	295	300
Arg His Gly Thr Gly Ile Tyr Arg Phe Tyr Thr Gly Asp Val Tyr Ala		
305	310	315
Gly Glu Trp Ser Asn Gly Gln Ser His Gly Cys Gly Val Tyr Thr Ser		
325	330	335
Glu Asp Gly Ser Arg Phe Val Gly Glu Phe Lys Trp Gly Val Lys His		
340	345	350
Gly Leu Gly His Tyr His Phe Arg Asn Gly Asp Thr Tyr Ala Gly Glu		
355	360	365
Tyr Leu Ala Asp Arg Met His Gly Phe Gly Val Tyr Leu Phe Gly Asn		
370	375	380
Gly His Arg Tyr Glu Gly Ala Trp His Glu Gly Arg Arg Gln Gly Leu		
385	390	395
Gly Met Tyr Thr Phe Arg Asn Gly Glu Thr Gln Ala Gly His Trp Glu		
405	410	415

Asn Gly Val Leu Ser Cys Pro Thr Glu Gln Thr Thr Arg Pro Asp Ser
420 425 430

Ser Phe Ser Ile Ser His Ser Lys Val Leu Asp Thr Val Gln Gln Ala
435 440 445

Arg Lys Ala Ala Glu Lys Ala Arg Glu Val Val Lys Val Glu Glu Arg
450 455 460

Val Asn Arg Ala Val Met Val Ala Asn Arg Ala Ala Asn Ala Ala Arg
465 470 475 480

Val Ala Ala Thr Lys Ala Val Gln Thr Gln Thr Tyr Tyr Ser Ser Gly
485 490 495

Gly Gly Asp Asp Pro Leu
500

<210> 2
<211> 1509
<212> DNA
<213> Brassica rapa

<400> 2
atgcatctaa agaattcaac tgtagcagaa cggcgggttca tcggaaaaga agccgccagt 60

tatccacctt cctccgattt ggatccgaaa ccaaagatta agcatcatcg cccccctcaa 120

gtaccgaaa cgtaacccc agagaaaccc acgtaccgaa gcgccattgg agcaaaccct 180

tataaccaat cgcaagccca gagccatctc accgtcgaaa tcccagattc atcgctccg 240

caaaagaggc ctgcagcggc ggcggctcaa tcctctcatc cgtttaacga tttccgccgc 300

ggaggaggag gaagcgaccg tggaagcttg ggtcttttgt cgtttctctc atcgtctctt 360

ccgtcgaatc agaagctgct ccgtcaagtc atccgagttc gtttgatatg tttccacctc 420

cgtttcctgc ttcttctctc cgttctctct ctctacatct tcttctgtt aatcagtgtc 480

cgagtcgtcc tctctttcgt cttctccatc atcgctttct cgttcatcct ctcgatctct 540

ctcaagttcg ctctccctca cttaccctcg attcgctctt tcctcgctcg cttgctctcc	600
ctcagcccca caagatcttc ctctcttcc tcttctctct ctcaagagag gacgaaacag	660
gttgtttggc caatcgggtc aaagcctgtt acggagaaga agactaactc cggctcttgg	720
gttcagaagt acagctctgg ggatgtgtac gagggagagt ttcctagggg gaagtgttca	780
gggagtggag tttattacta ttcgatgaag ggtaaagacg aaggagattg ggttgatggg	840
aagtatgatg gctttggagt tgagacgtgg gctaaaggaa gtaggtacag aggtcaatac	900
aggcaaggga tgagacatgg aactggaatc tataggtttt atacggggga tgtgtatgct	960
ggtgagtggc ctaatggaca gagccatgga tgtggtgtgt atacctctga ggatggtagc	1020
agatttgttg gagagttcaa atggggtgtt aaacatggtc ttggtcacta ccatttcaga	1080
aatggcgata cttatgctgg agagtacctt gcagaccgga tgcattgctt tggagtgtat	1140
ctatttggaa acggacatcg gtatgaagga gcgtggcatg aagggagaag gcaagggtt	1200
ggtatgtaca cattcaggaa cggtgagaca caggctgggc attgggaaaa cgggtgttctc	1260
agctgtccta ccgagcagac aaccgtccc gattcatcgt tttccatcag tcaactcaag	1320
gttctagaca ctgtccagca agcaaggaaa gcagcagaga aagcacgtga agttgtgaaa	1380
gtggaagaga gagtaaacag agcagtgatg gtcgcaaacc gagcagctaa tgctgctaga	1440
gttgctgcta caaaggctgt tcaaaccaca acatattaca gtagtggcgg cggcgatgat	1500
cccttgtga	1509