



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0071989
(43) 공개일자 2017년06월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/415 (2006.01) C12N 15/82 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/415 (2013.01)
C12N 15/8273 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0180285
(22) 출원일자 2015년12월16일
심사청구일자 2015년12월16일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
신정섭
서울특별시 성북구 길음로9길 50, 910동 2501호(길음동, 길음뉴타운)
김윤영
서울특별시 강북구 솔샘로 159, 115동 201호(미아동, 벽산라이브파크아파트)
정광욱
서울특별시 강북구 솔샘로 159, 115동 201호(미아동, 벽산라이브파크아파트)
(74) 대리인
김순웅

전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 건조 스트레스 저항성 관련 유전자 및 이를 이용한 건조 스트레스 저항성 식물체

(57) 요약

본 발명은 건조 스트레스 저항성 관련 유전자 및 이를 이용하여 제조한 건조 스트레스 저항성 식물체에 관한 것이다. 본 발명의 건조 스트레스 저항성 유전자는 기공 개폐 과정에 관여함으로써 식물체의 건조 스트레스에 대한 내성에 관여하므로, 이를 이용한 과다발현 형질전환 식물체를 제조함으로써 건조 스트레스 내성이 증가된 식물체를 얻을 수 있다.

대표도 - 도3

AFBA1 염기서열 (915bp)

```
ATGGTCTCCAGAAGTCGTGAGGATTATTTAAACCGGATTAAAAACATCTAACTACACTGGTGTTGGGTTTCATCATCATCGG
TCACCATCCCTACACCTTGGGAGAAGGACAAGGAGAAGGAGAAGGAGAAGGAGAAGGAGGACGAAGAATTCTTCTTA
GTTTCTTTTGATAGCTGTGACGGTCTCGTTTGTCTCTACAATACTGGAAATCTGGTTATGTGGTCAATCCCACTAGAT
GGTATCGCCCTCTTCTCTCTCAATTACAACAACCTCTTATCAGCTTAGGTGCGAGTGTCTTCGAGCTTGGATACACAGT
CTGTGATATTGGATTGCGTAAAGACAAAATCACGGGCACATACAAACCGTTTGGTTATACAATCTTTAGAAATTGGCCTT
GAAAACGCTACTACATGCGAGTTTTGCACTTTAACACCAACGCTTGGAGATATGTTTCTCCGACCGCTCCCTATCGGGAG
GAAACCAAAATCTATCTTTGATCTTCACACTGAAACCTTTCGAGTGGTCTCTAAAGCTCTTTTACCAATGTAAAAGCTT
TTGATATCGTCATGTGCAATCTCGGCAACCGCTTGTGCGTTTCCGAGAAGAACTGGCCCAACCAAGTGATATGGTCATTCA
ATTCAGGCAACAAGACATGGCACAAAATGTTTCCATTAATCTTGATGTAACCTTCTATTGGTTTGGTAATCACATAGCCGC
GGTCATGCCACTAGCACTTTTTATGAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGATTGTTGTTTATTGTCGTGTGCGAAGTCGAACAT
TGATGGTATATGATCCCGAAACCGAATCATATGATGTTGCTTCAATGATTACTCCATCGGTTATCCTCTTTGTTATTTCCAGA
GTTTAATCTCTATTTTCATAA
```

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6886 (2013.01)

C12Q 2600/13 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ011065

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 차세대바이오그린21사업

연구과제명 생명정보 기반 벼와 애기장대의 비생물적 스트레스 관련 유전자 대량 기능분석

기 여 율 50/100

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2015.01.15 ~ 2017.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014R1A2A2A01005974

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 (이공)중견연구자지원_핵심연구

연구과제명 티오레독신의 마스터 조절자 메커니즘과 스트레스 반응 네트워크 분석을 통한 식물 세포

항상성 유지에 대한 시스템적 이해

기 여 율 50/100

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2014.05.01 ~ 2017.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 염기서열로 구성되는 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*.

청구항 2

서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되는 단백질.

청구항 3

제1항의 유전자를 포함하는 벡터.

청구항 4

제3항의 벡터로 형질전환되어 *AFBA1*의 발현이 증가된, 건조 스트레스 저항성 식물 형질전환세포.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 식물은 벼, 밀, 보리, 옥수수, 콩, 감자, 팥, 귀리, 수수를 포함하는 식량 작물류; 애기장대, 배추, 무, 고추, 딸기, 토마토, 수박, 오이, 양배추, 참외, 호박, 파, 양파, 당근을 포함하는 채소작물류; 인삼, 담배, 목화, 참깨, 사탕수수, 사탕무, 들깨, 땅콩, 유채를 포함하는 특용 작물류; 사과나 무, 배나무, 대추나무, 복숭아, 양다래, 포도, 감귤, 감, 자두, 살구, 바나나를 포함하는 과수류; 장미, 글라디올러스, 거베라, 카네이션, 국화, 백합, 튜립을 포함하는 화훼류; 및 라이그라스, 레드클로버, 오차드그라스, 알팔파, 톨페스큐, 페레니얼라이그라스를 포함하는 사료 작물류로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 건조 스트레스 저항성 식물 형질전환세포.

청구항 6

- 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계;
- 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제조하는 단계; 및
- 3) 상기 2) 단계에서 제조된 식물 형질전환세포로 식물체를 제조하는 단계; 를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법.

청구항 7

- 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; 및
- 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터를 식물체에 도입하여 *AFBA1*의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 방법은 식물체의 다른 기능에 영향을 주지 않고 건조 스트레스 저항성을 증가시킬 수 있는 것을 특징으로 하는, 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법.

청구항 9

제3항의 벡터를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성 증가용 조성물.

청구항 10

AFBA1 유전자의 발현을 측정하는 제제를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체 동정용 조성물.

청구항 11

AFBA1 유전자의 발현을 측정하는 제제를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체 동정용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 건조 스트레스 저항성 관련 유전자 및 이를 이용하여 제조한 건조 스트레스 저항성 식물체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 고등식물은 이동이 불가하기 때문에 그들의 일생동안 다양한 환경 요인들 예컨대 가뭄, 고염(high salt), 중금속, 냉해, 열충격 및 오존 등의 환경적 스트레스에 직면하게 된다. 이러한 비생물학적 스트레스는 작물의 생장과 발달의 제한 요인이 되며, 비생물적 환경 스트레스에 의한 작물의 생산량 손실이 지대하여 가능한 생산량의 반 이상이 비생물학적 스트레스에 의해 손실됨이 확인되고 있다. 더욱이 최근에는 국지적이거나 급격한 환경 변화가 기록되고 있어 이에 따른 작물의 피해 정도가 더욱 우려되고 있다.

[0003] 이들 비생물학적 스트레스 중에서 수분 부족은 작물생산 감소의 주요 원인으로 여겨지는 가장 심각한 환경 요인이다. 세계적으로 물의 소비는 계속적으로 증가되고 있으며, 깨끗한 물의 이용가능성은 인간에게 뿐만 아니라 고등식물에게 또한 중요한 문제가 될 수 있다. 식물은 단기적 또는 장기적인 물 부족에 대해 내성을 증가시키기 위해 신호 네트워크 경로를 조절하거나 스트레스-반응성 유전자들을 유도하는 등의 다양한 방어 전략을 작동시킨다. 이러한 수분 스트레스에 대한 세포적 또는 유전적 방어 메카니즘은 널리 알려져 있다(Shinozaki and Yamaguchi-shinozaki, 2007). 그러나 아직까지 고등식물에 있어서 스트레스에 대한 내성이나 민감성에 관여하는 스트레스-관련 유전자들의 생물학적 기능들에 대한 지식은 여전히 부족한 상태다.

[0004] 한편, GMO(Genetic Modified Organism)는 생물에서 분리한 DNA를 도입하여 생산되는 유전자변형생물로, 생명공학기술의 발달에 따라 각종 질병, 환경 스트레스에 저항성을 갖게 할 뿐만 아니라 수확 후 저장성을 증대시키고, 향, 영양학적 가치, 색소 등이 증대된 작물을 개발하는 데 응용되고 있다. 또한 인체의 질병 예방 및 치료에 이용가능한 산업용 및 약리성 물질을 태양 에너지를 이용하여 손쉽게 대량 생산이 가능한 수단으로 이용될 수도 있을 전망이다. 그러므로 작물의 생산성을 증가시키기 위해 스트레스 반응 유전자들에 대한 기능 연구가 중요하다. The International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA/www.isaaa.org) 기구는 1996년부터 매년 전 세계의 GMO 작물 재배면적을 공식 집계하여 데이터베이스로 제공해왔다. 이에 따르면 1996년 이후 GMO 작물의 재배가 전세계적으로 꾸준히 증가하고 있으며 상업화 또한 활발하게 이루어지고 있다.

[0005] 따라서 건조 스트레스에 대한 내성이나 민감성에 관여하는 스트레스-관련 유전자를 발굴하고, 이를 이용하여 GMO를 생산함으로써 건조 스트레스 조건 하에서도 생장 가능한 작물의 개발 필요성이 증가하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 이에 본 발명자들은 식물체의 건조 스트레스에 대한 내성을 향상시킬 수 있는 유전자를 발굴하고자 연구한 결과, 애기장대의 *AFBA1* 유전자가 식물의 건조 스트레스 저항성에 관여함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 본 발명의 목적은 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 건조 스트레스 저항성 유전자를 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 또다른 목적은 상기 유전자를 포함하는 벡터, 상기 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또다른 목적은 상기 유전자를 포함하는 벡터를 제조하여 식물체에 도입하는 단계를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법 및 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또다른 목적은 상기 벡터를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성 증가용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*을 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되는 단백질을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 상기 유전자를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 상기 벡터로 형질전환되어 *AFBA1*의 발현이 증가된 건조 스트레스 저항성 식물 형질전환세포를 제공한다.
- [0015] 또한, 본 발명은 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제조하는 단계; 및 3) 상기 2) 단계에서 제조된 식물 형질전환세포로 식물체를 제조하는 단계;를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법을 제공한다.
- [0016] 또한, 본 발명은 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; 및 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터를 식물체에 도입하여 *AFBA1*의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0017] 또한, 본 발명은 상기 벡터를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성 증가용 조성물을 제공한다.
- [0018] 또한, 본 발명은 *AFBA1* 유전자의 발현을 측정하는 제제를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체 동정용 조성물을 제공한다.
- [0019] 또한, 본 발명은 *AFBA1* 유전자의 발현을 측정하는 제제를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체 동정용 키트를 제공한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명의 건조 스트레스 저항성 유전자는 기공 개폐 과정에 관여함으로써 식물체의 건조 스트레스에 대한 내성에 관여하므로, 이를 이용해 과다발현 형질전환 식물체를 제조함으로써 건조 스트레스 내성이 증가된 식물체를 얻을 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1은 비생물학적 스트레스(ABA 호르몬, 염, 건조 스트레스) 처리시 *AFBA1* 유전자의 발현 양상을 real-time PCR로 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 2는 *AFBA1* 유전자 과다발현체를 제작하기 위한 모식도이다.
- 도 3은 애기장대 유래 *AFBA1*(At1g12490) 유전자의 염기서열을 나타낸 도이다.

도 4는 *AFBA1* 유전자 과다발현체에서 *AFBA1* 유전자의 발현량을 RT-PCR로 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 5는 *AFBA1* 유전자 발현억제 돌연변이체를 제작하기 위한 모식도이다.

도 6은 *AFBA1* 유전자 발현억제 돌연변이체에서 *AFBA1* 유전자의 발현량을 RT-PCR로 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 7은 건조 스트레스에 대한 *AFBA1* 유전자 과다발현체와 *AFBA1* 유전자 발현억제 돌연변이체의 표현형을 확인한 도이다.

도 8은 *AFBA1* 유전자 과다발현체와 *AFBA1* 유전자 발현억제 돌연변이체의 잎에서 수분 손실을 시간에 따라 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 9는 ABA 호르몬을 처리 또는 비처리 한 경우 *AFBA1* 유전자 과다발현체와 *AFBA1* 유전자 발현억제 돌연변이체의 기공 개폐를 현미경으로 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 10은 ABA 호르몬을 처리한 경우 *AFBA1* 유전자 과다발현체와 *AFBA1* 유전자 발현억제 돌연변이체의 기공 크기를 분석한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- [0023] 본 발명은 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 *AFBA1* 유전자(ABA insensitive FBA motif-containing protein 1)는 애기장대 유래의 At1g12490 유전자이며, *AFBA1* 유전자의 DNA 서열은 915bp이다. 바람직하게는, 상기 유전자 서열은 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 것을 특징으로 한다.
- [0025] 또한, 상기 염기서열의 변이체가 본 발명의 범위 내에 포함된다. 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 1의 염기서열과 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 염기 서열을 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드에 대한 "서열 상동성의 %"는 두 개의 최적적으로 배열된 서열과 비교 영역을 비교함으로써 확인되며, 비교 영역에서의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 두 서열의 최적 배열에 대한 참고 서열(추가 또는 삭제 포함하지 않음)에 비해 추가 또는 삭제(즉, 갭)를 포함할 수 있다.
- [0026] 상기 유전자는 식물체, 바람직하게는 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)로부터 분리될 수 있다.
- [0027] *AFBA1* 유전자의 발현량은 비생물학적 스트레스, 예컨대 ABA 호르몬, 염, 건조 스트레스 하에서 증가한다.
- [0028] 본 발명에서 용어 "건조 스트레스"는 식물체의 수분이용이 제한되는 조건을 의미한다.
- [0029] 본 발명에서 용어 "건조 스트레스 저항성"은 건조 스트레스 조건에서 잎으로부터 수분 손실이 적고, 건조 스트레스 이후 수분이 공급되는 조건에서 정상적인 성장을 재개하는 표현형을 나타냄을 의미한다.
- [0030] 또한, 본 발명은 서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되는 단백질을 제공한다. 상기 단백질은 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*에 의해 코딩될 수 있다. 본 발명은 서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되는 단백질 및 상기 단백질의 기능적 동등물을 포함한다. 상기 "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. 또한, 본 발명의 단백질에는 이의 천연 아미노산 서열을 갖는 단백질뿐만 아니라 이의 변이체가 또한 본 발명의 범위에 포함된다. 상기 "변이체"란 *AFBA1*의 아미노산 서열과 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실, 삽입, 비보전적 또는 보전적 치환 또는 이들의 조합에 의하여 상이한 서열을 가지는 단백질을 의미한다.
- [0031] 또한, 본 발명은 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*을 포함하는 벡터를 제공한다. 본 발명에서 용어 "벡터"는 세포 내로 전달하는 DNA 단편(들), 핵산 분자를 지칭할 때 사용된다. 벡터는 DNA를 복제시키고, 숙주세포에서

독립적으로 재생산될 수 있다. 벡터는 목적인 코딩 서열과 특정 숙주 생물에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열을 발현하는 데 필수적인 적정 핵산 서열을 포함하는 재조합 DNA 분자를 의미하며, 본 발명의 프로모터 및 상기 프로모터와 작동가능하게 연결되어 있는 목적 단백질을 코딩하는 유전자 서열이 삽입 또는 도입될 수 있는 당 분야에 공지된 플라스미드, 바이러스 또는 기타 매개체를 포함할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 식물 형질전환용 바이너리 벡터인 pCAMBIA1300을 사용하였다.

- [0032] 본 발명에 있어, "작동 가능하게 연결(operably linked)"된다는 것은 적절한 분자가 발현 조절 서열에 결합할 때 유전자 발현을 가능하게 하는 방식으로 연결되는 것을 의미한다.
- [0033] 본 발명에서 용어 "바이너리 벡터"는 Ti(tumor inducible) 플라스미드에서 이동에 필요한 부분인 LB(left order)와 RB(right border)를 가지는 플라스미드와 타겟 뉴클레오타이드를 옮기는데 필요한 유전자를 가진 플라스미드를 두 개로 나누어 놓은 벡터를 말한다.
- [0034] 상기 벡터의 프로모터와 유전자의 염기서열은 발현 조절 서열에 작동 가능하게 연결될 수 있으며, 상기 작동 가능하게 연결된 유전자 서열과 발현 조절 서열은 선택 마커 및 복제 개시점 (replication origin)을 같이 포함하고 있는 하나의 발현 벡터 내에 포함될 수 있다. "발현 조절 서열(expression control sequence)"이란, 특정한 숙주 세포에서 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오타이드 서열의 발현을 조절하는 DNA 서열을 의미한다. 그러한 조절 서열은 전사를 실시하기 위한 프로모터, 전사를 조절하기 위한 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 코딩하는 서열 및 전사 및 해독의 종결을 조절하는 서열을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 바람직한 구현 예에 있어서, 상기 프로모터로는 식물 발현용 프로모터로서 CMV(Cauliflower Mosaic Virus) 35S 프로모터, CMV 19S 프로모터, 아그로박테리움 튜메팩시엔스 Ti 플라스미드(Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid)의 nos(nopaline synthase) 프로모터, ocs(octopine synthase) 프로모터 및 mas(mannopine synthase) 프로모터 및 공지된 프로모터가 모두 사용될 수 있다.
- [0036] 상기 벡터는 바람직하게는 하나 이상의 선택성 마커를 포함할 수 있다. 상기 마커는 통상적으로 화학적인 방법으로 선택될 수 있는 특성을 갖는 핵산 서열로, 형질전환된 세포를 비형질전환 세포로부터 구별할 수 있는 모든 유전자가 이에 해당된다. 그 예로는 글리포세이트(glyphosate) 또는 포스포노트리신(포스포노트리신)과 같은 제초제 저항성 유전자, 카나마이신(Kanamycin), G418, 블레오마이신(Bleomycin), 하이그로마이신(hygromycin), 클로람페니콜(chloramphenicol)과 같은 항생제 내성 유전자가 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 또한, 본 발명은 상기 벡터로 형질전환되어 AFBA1의 발현이 증가된 건조 스트레스 저항성 식물 형질전환세포를 제공한다.
- [0039] 식물의 형질전환은 DNA를 식물에 전이시키는 임의의 방법을 의미한다. 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. 원칙적으로, 임의의 형질전환 방법은 본 발명에 따른 잡종 DNA를 적당한 선조 세포로 도입시키는데 이용될 수 있다. 예컨대, 염화칼슘 (CaCl₂) 및 열 쇼크 (heat shock) 방법, 입자 총 충격법 (particle bombardment), 실리콘 탄화물 위스커 (Silicon carbide whiskers), 초음파 처리 (sonication), 전기천공 (electroporation) 및 PEG (Polyethyleneglycol)에 의한 침전법 등과 같은 방법들이 있다. 본 발명에 따른 바람직한 방법은 아그로박테리움 매개된 DNA 전달을 포함하며, 본 발명의 형질전환용 아그로박테리움은 뉴클레오타이드 서열의 발현에 적합한 것이면 어느 것이라도 좋고, 본 발명의 일 실시예에서는 식물 형질전환용 아그로박테리움 균주로 아그로박테리움 튜메팩시엔스(Agrobacterium tumefaciens) GV3101을 사용하였다.
- [0040] 식물의 형질전환에 이용되는 "식물 세포"는 어떤 식물 세포도 가능하다. 식물 세포는 배양 세포, 배양 조직, 배양 기관 또는 전체 식물, 바람직하게는 배양 세포, 배양 조직 또는 배양 기관 및 더욱 바람직하게는 배양 세포의 어떤 형태도 될 수 있다.
- [0041] 상기 "식물 조직"은 분화된 또는 미분화된 식물의 조직, 예를 들면 이에 한정되진 않으나, 뿌리, 줄기, 잎, 꽃가루, 종자, 암 조직 및 배양에 이용되는 다양한 형태의 세포들, 즉 단일 세포, 원형질체(protoplast), 싹 및 캘러스조직을 포함한다. 식물 조직은 인 플란타(in planta)이거나 기관 배양, 조직 배양 또는 세포 배양 상태일 수 있다.
- [0042] 본 발명에서 상기 "식물"은 벼, 밀, 보리, 옥수수, 콩, 감자, 팥, 귀리, 수수를 포함하는 식량 작물류; 애기장

대, 배추, 무, 고추, 딸기, 토마토, 수박, 오이, 양배추, 참외, 호박, 파, 양파, 당근을 포함하는 채소 작물류; 인삼, 담배, 목화, 참깨, 사탕수수, 사탕무우, 들깨, 땅콩, 유채를 포함하는 특용 작물류; 사과나무, 배나무, 대추나무, 복숭아, 양다래, 포도, 감귤, 감, 자두, 살구, 바나나를 포함하는 과수류; 장미, 글라디올러스, 거베라, 카네이션, 국화, 백합, 튜립을 포함하는 화훼류; 및 라이그라스, 레드클로버, 오차드그라스, 알팔파, 톨페스큐, 페레니얼라이그라스 등을 포함하는 사료 작물류로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0043] 또한, 본 발명은 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제조하는 단계; 및 3) 상기 2) 단계에서 제조된 식물 형질전환세포로 식물체를 제조하는 단계; 를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법을 제공한다.

[0044] 본 발명에서 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*을 삽입하기 위하여 사용되는 벡터로는 일반적인 식물 형질전환용 발현 벡터이면 어느 것이든 무방하나, 본 발명의 일 실시예에서는 식물 형질전환용 바이너리 벡터인 pCambia1300을 사용하여 *AFBA1*이 과발현된 식물체를 제조하였다.

[0046] 또한, 본 발명은 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; 및 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터를 식물체에 도입하여 *AFBA1*의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0047] 본 발명의 식물 형질전환세포 및 형질전환 식물체를 제조하기 위하여 당업계에 일반적으로 공지된 방법(Methods of Enzymology, Vol. 153, (1987))에 따라 실시될 수 있다. 외래성 폴리뉴클레오티드를 플라스미드나 바이러스 등과 같은 벡터 등의 운반체에 삽입하여 식물을 형질전환시킬 수 있고, 아그로박테리움 박테리아를 매개체로 사용할 수 있으며(Chilton et al. Cell 11:263:271(1977)), 직접 외래성 폴리뉴클레오티드를 식물 세포내로 도입시켜 식물을 형질전환시킬 수 있다(Lorz et al. Mol. Genet. 199:178-182;(1985)). 예를 들어, T-DNA 부위를 포함하지 않는 벡터를 이용하는 경우에는 전기천공법(electroporation), 입자충격법(microparticle bombardment), 폴리에틸렌 글리콜 침전법(polyethylene glycol-mediated uptake)을 이용할 수 있다.

[0048] 일반적으로 식물을 형질전환시킴에 있어 많이 사용되는 것이 외래성 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 아그로박테리움 투메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)로 식물 세포나 종자 등을 감염시키는 방법이다. 당업자는 공지된 적절한 조건하에서 형질전환된 식물 세포나 종자를 배양 또는 재배하여 식물로 발육시킬 수 있다.

[0049] 본 명세서에서, 용어 "식물(체)"는 성숙한 식물뿐만 아니라 성숙한 식물로 발육할 있는 식물 세포, 식물 조직 및 식물의 종자 등을 모두 포함하는 의미로서 이해된다.

[0050] 식물 형질전환세포의 선별은 형질전환 배양물을 선택제(예: 대사 억제제, 항생제 및 제초제)에 노출시켜 실시될 수 있다. 형질전환되고 선택제 내성을 부여하는 표지 유전자를 안정되게 포함하고 있는 식물세포는 상기한 배양물에서 성장하고 분할한다. 예시적인 표지는, 하이그로마이신 포스포트랜스퍼라아제 유전자, 글리코포스페이트 내성 유전자 및 네오마이신 포스포트랜스퍼라아제 (*nptII*) 시스템을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 식물 원형질 또는 다양한 익스플랜드로부터 식물체의 발달 또는 재분화시키는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 아그로박테리움에 의해 도입된 외래 유전자를 포함하는 식물체의 발달 또는 재분화는 당업계에 공지된 방법에 따라 달성될 수 있다.

[0051] 또한, 본 발명은 1) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; 및 2) 상기 1) 단계에서 제조된 벡터를 식물체에 도입하여 *AFBA1*의 발현을 증가시키는 단계를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0052] 본 발명의 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법에 따르면, *AFBA1* 유전자의 과다발현에 의해 기공개폐의 민감도가 증가되어 건조 스트레스 조건 하에서도 생장이 가능하며 건조 스트레스 조건이 회복된 후에도 계속 성장할 수 있는 효과가 있다.

[0053] 또한, 본 발명의 식물체의 건조 스트레스 저항성을 증가시키는 방법에 따르면 식물체의 다른 기능에 영향을 주지 않고 건조 스트레스 저항성을 증가시킬 수 있다는 장점이 있다.

- [0054] 또한, 본 발명은 건조 스트레스 저항성 유전자 *AFBA1*을 포함하는 벡터를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성 증가용 조성물을 제공한다.
- [0055] 상기 식물체의 건조 스트레스 저항성 증가용 조성물에 포함된 벡터는 상기 설명한 바와 같다.
- [0056] 또한, 본 발명은 *AFBA1* 유전자의 발현을 측정하는 제제를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체 동정용 조성물을 제공한다.
- [0057] 본 발명에서 용어 "*AFBA1* 유전자의 발현을 측정하는 제제"란, 시료에 포함된 *AFBA1*의 발현여부를 확인하는 방법에 사용되는 제제를 의미하는데, 바람직하게는 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(real-time RT-PCR), 웨스턴 블롯팅(Western blotting) 등의 방법에 사용되는 표적 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 프로브 또는 프라이머를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0058] 상기 "프라이머"란, 짧은 자유 3말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성이 개시할 수 있다.
- [0059] 상기 "프로브"란, 유전자 또는 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하는데, 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있고, 보다 용이하게 검출하기 위하여 라벨링될 수 있다.
- [0060] 본 발명의 구체적인 실시예에서 *AFBA1*가 건조 스트레스에 의해서 발현이 증가되었으며, *AFBA1*을 과발현시킨 과발현체에서 건조 스트레스에 대한 저항성이 증가하는 것을 확인하였으므로, 본 발명의 *AFBA1* 수준을 측정하는 제제를 이용하면 건조 스트레스 저항성 식물체를 효과적으로 동정할 수 있음을 알 수 있다.
- [0061] 또한, 본 발명은 *AFBA1* 유전자의 발현을 측정하는 제제를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체 동정용 키트를 제공한다.
- [0062] 상기 키트는 핵산 또는 항체 이외에 유전자 발현량이나 유전자 발현량이나 발현 패턴의 분석 방법 또는 단백질 존재량이나 존재 패턴의 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분, 용액 또는 장치를 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 키트가 유전자의 발현량이나 발현 패턴을 검출하기 위한 키트인 경우에는, RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 성분을 포함하는 키트일 수 있으며, 이러한 RT-PCR 키트는 바이오마커 유전자의 mRNA에 대한 특이적인 각각의 프라이머 외에도 구체적인 실시 양상에 따라 예를 들어 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액, 데옥시뉴클레오티드(dNTPs), Taq-폴리머라제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제 DEPC-수(DEPCwater), 멸균수, 정량 대조군으로 사용되는 유전자에 특이적인 프라이머 쌍 등을 포함할 수 있다. 한편, 상기 키트가 단백질의 존재량이나 존재 패턴을 검출하기 위한 키트인 경우에는, 이 키트는 예를 들어 ELISA를 수행하기 위해 필요한 필수 성분을 포함하는 키트일 수 있으며, 이러한 ELISA 키트는 결합된 항체를 검출할 수 있는 성분들, 예를 들어 표지된 2차 항체, 발색단(chromophores), 효소(예를 들어, 항체와 결합된 효소) 및 그의 기질, 및 정량 대조군 단백질에 특이적인 항체 등을 포함할 수 있다. 구체적인 실시 양상에 따라서는, 상기 키트는 DNA 마이크로어레이 또는 단백질 마이크로어레이를 포함할 수 있다.
- [0063] 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.
- [0064] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0065] **실시예 1: 비생물학적 스트레스 처리시 *AFBA1* 유전자의 발현 양상 확인**

- [0066] ABA 호르몬, 염, 건조 환경의 다양한 비생물학적 스트레스 처리를 위해서, 2 주 정도 된 애기장대를 MS 배지 (Mursahige and Shoog medium)에서 성장 시켰다. ABA 스트레스 처리를 위해서 상기와 같이 성장된 식물체에 100 μ M ABA 호르몬을 처리하고, 염 스트레스 처리를 위해서 상기와 같이 성장된 식물체에 스프레이 분사 방식으로 300 mM의 염을 처리하고, 건조 스트레스 처리를 위해서 MS 배지에서 자란 식물체를 뽑아서 필터 페이퍼에 올려 건조시키며 시간대별로 식물체를 확보하였다. 확보된 식물체에서 RNA를 추출하여 시료를 얻었고 상기 시료에서 *AFBA1* 유전자의 발현 패턴을 real-time PCR을 통해서 확인하여 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0067] 도 1에 나타난 바와 같이, ABA 호르몬과 염 처리시는 처리되지 않은 모든 군에 비해서 스트레스 처리 군에서 *AFBA1* 유전자의 발현이 3시간 까지 증가하다가 점차적으로 감소하는 양상을 확인하였다. 건조 스트레스의 경우, 건조 스트레스가 처리 되지 않았을 때보다 3시간까지 강하게 증가되는 양상을 확인하였다.
- [0068] 따라서, *AFBA1* 유전자가 다양한 비생물학적 스트레스에 의해서 발현이 유도됨을 확인하였으며, 특히 건조 스트레스의 경우 스트레스 적용 시간에 비례하여 *AFBA1* 유전자의 발현이 증가됨을 확인하였다.
- [0069] **실시예 2: *AFBA1* 유전자의 분리 및 클로닝**
- [0070] 애기장대 (*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia)의 총 gDNA (genomic DNA)를 주형(template)으로 하여 5' 말단에 XbaI 서열과 3' 말단에 BamHI 서열을 포함하는 프라이머 세트(정방향 프라이머: TGAGGATCCGATTAACCTCTGGAAATAACAAGA; 역방향 프라이머: CATTCTAGAATGGTCTCCAGAAGTCGTGAGGAA. 서열번호 3, 4)를 이용하여 At1g12490 (*AFBA1*) 유전자를 PCR 기법으로 증폭하여 915 bp의 증폭 산물을 확보하였다.
- [0071] 상기 PCR 산물 말단을 XbaI, BamHI 제한 효소로 절단한 후, 레프트 보더 (left boarder)와 라이트 보더 (right boarder) 사이에 CaMV (Cauline flower mosaic virus) 35S 프로모터를 가지는 식물 형질전환용 바이너리 벡터 (binary vector)인 pCambia1300 벡터에 클로닝 하였고, 이러한 클로닝 제작의 모식도를 도 2에 나타내었다.
- [0072] 상기 제조한 클론을 시퀀싱(sequencing)한 결과, 정확한 염기서열이 클로닝 되었음을 확인하였다. *AFBA1* 유전자의 서열을 도 3에 나타내었다.
- [0073] **실시예 3: *AFBA1* 유전자 과다발현체 및 발현억제 돌연변이체의 구축**
- [0074] 상기 실시예 2에서 제작된 벡터를 아그로박테리움 (Agrobacterium GV3101)에 냉-해동 (Freeze-thaw) 방법 (An, G. 1987, Methods in Enzymology)으로 도입하였다. 형질전환된 아그로박테리움을 이용해 꽃침지방법(flower dipping, Clough and Bent, 1998, The Plant Journal)으로 애기장대를 형질전환시켰다. 형질전환시킨 애기장대를 세 세대를 거쳐 선발(screening)하여 T3 line을 확보하였다.
- [0075] 선발된 *AFBA1* 과다발현 형질전환체에서 *AFBA1*의 발현량을 확인하기 위해서 *AFBA1* 프라이머(정방향 프라이머: ATCTGATTATTFCCAATGTATTATGGTGAAT; 역방향 프라이머: GCCTTGGTAAAAAGACTCTGGATATATCATAAT, 서열 번호 5, 6)를 이용해 RT-PCR을 수행하였고 그 결과를 도 4에 나타내었다. e1F4a는 내적 대조군으로 사용하였다.
- [0076] 도 4에 나타난 바와 같이, *AFBA1* 과다발현체(*AFBA1*-Ox line)의 경우 야생형 (WT)에 비해서 *AFBA1*의 발현이 증가함을 확인하였고 이후 실시예에 사용하였다.
- [0077] 한편, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체(*afba1*)는 *AFBA1* 유전자에 T-DNA가 삽입된 돌연변이 애기장대의 종자 (종자번호: Salk_133974C)를 SIGNAL Salk Institute Genomuc Analysis Laboratory (<http://signal.salk.edu/>)에서 구입하여 수득했다. *AFBA1* 발현억제 돌연변이체의 제작 모식도를 도 5에 나타내었다.
- [0078] 수득한 *AFBA1* 발현억제 돌연변이체에서 실제로 *AFBA1*의 발현이 억제되어있는지를 확인하기 위해서, *AFBA1* 프라이머 (상기 서열번호 3과 동일)를 이용하여 RT-PCR을 실시하여 발현을 비교하였고 그 결과를 도 6에 나타내었다.
- [0079] 도 6에 나타난 바와 같이, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체에서 발현이 억제되고 있음을 확인하였다.
- [0080] **실시예 4: *AFBA1* 유전자 과다발현체 및 발현억제 돌연변이체의 건조 스트레스에 대한 민감도 측정**
- [0081] 상기 실시예 3에서 구축한 *AFBA1* 유전자 과다발현체 및 발현억제 돌연변이체의 건조 스트레스에 대한 민감도를

측정하기 위해서, 야생형, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체, *AFBA1* 과다발현체의 종자를 흙에서 2주 정도 키운 뒤, 각각 10 일 동안 물을 주지 않다가 다시 물을 준 후 건조 스트레스에 내성을 갖는 정도를 표현형 관찰을 통해 확인하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0082] 도 7에 나타낸 바와 같이, 건조 스트레스 후(Drought)에는 야생형에 비해서 *AFBA1* 발현억제 돌연변이체는 거의 말라서 죽어버리는 표현형을 보이는 반면에 *AFBA1* 과다발현체들은 야생형에 비해서 건강하고 녹색이며 잎의 팽팽함이 유지되었다.

[0083] 다시 물을 주어 건조 스트레스를 완화시킨 조건(Re-watering)에서는 *AFBA1* 발현억제 돌연변이체는 거의 살아나지 못하는 표현형을 보였으며, 반면 *AFBA1* 과다발현체들은 지속적으로 성장하는 것을 확인하였다.

[0084] 따라서 *AFBA1* 유전자가 건조 스트레스에 저항성이 있어 가뭄 상태 및 가뭄 후 건조 스트레스가 완화된 상태에서 지속적으로 성장함을 알 수 있다.

[0085] 더 자세한 건조 스트레스에 대한 반응을 평가하기 위해, 식물의 잎에서 수분 손실률 (water loss %)을 측정하였다. 각각의 야생형, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체, *AFBA1* 과다발현체에서 크기, 생장 시기, 위치가 비슷한 수준인 잎들을 분리하고 공지된 방법(Sang et al., 2001)에 따라 잎 무게의 감소를 측정하였다. 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0086] 도 8에 나타낸 바와 같이, 대기 조건 하에서 *AFBA1* 과다발현체의 잎은 야생형의 잎에 비해 중량 감소가 더 늦게 일어나며 *AFBA1* 발현억제 돌연변이체의 잎은 야생형의 잎에 비해서 조금 더 빨리 중량 감소가 일어나는 것을 확인하였다.

[0087] 따라서, *AFBA1* 과다발현체에서 나타나는 저하된 중량 감소 효과는 *AFBA1* 과다발현체 잎의 수분 손실이 감소되기 때문이며 *AFBA1* 유전자는 식물체 잎의 수분 손실을 감소시킴으로써 건조 스트레스 저항성을 나타냄을 알 수 있다.

[0088]

[0089] **실시예 5: 기공 개폐 (stomatal aperture) 측정**

[0090] *AFBA1* 유전자가 기공 개폐에 미치는 영향을 확인하기 위해서, 4주 동안 흙에서 키운 야생형, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체, *AFBA1* 과다발현체에서 잎을 채취한 후 기공 개방 용액 (5 mM MES-KOH, 20 mM KCl, pH 6.15)에 2시간 동안 담근 후 기공이 모두 열리면 ABA 호르몬이 첨가되어 있는 용액에 옮겨 2시간 동안 담가 두었다. 그 후 각 식물체 잎의 상피층만 벗겨내어 현미경을 통해 기공의 개폐 정도를 관찰하고 수치화하여 그래프로 나타내어 이를 도 9에 나타내었다.

[0091] 도 9에 나타낸 바와 같이, ABA 호르몬을 처리하기 전에 야생형, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체, *AFBA1* 과다발현체의 기공은 잘 열려있었다. 반면, ABA 호르몬 처리 후 야생형에 비해서 *AFBA1* 발현억제 돌연변이체의 기공은 계속 열려 있었고 *AFBA1* 과다발현체의 잎의 기공은 야생형과 마찬가지로 닫혀있는 양상을 보였다.

[0092] 이러한 현상을 수치화 하여 그 결과를 도 10에 나타내었다.

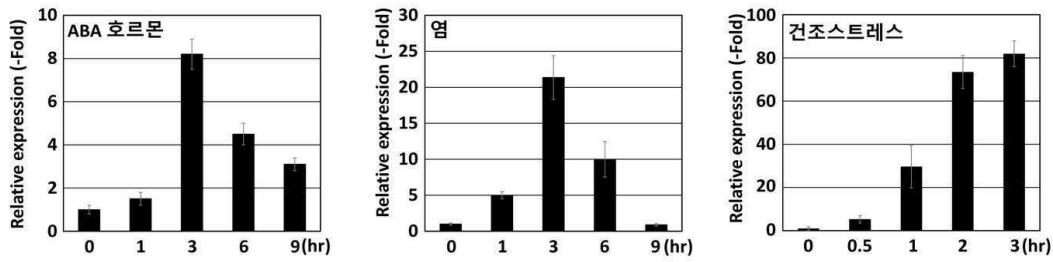
[0093] 도 10에 나타낸 바와 같이, 야생형에 비해서 *AFBA1* 발현억제 돌연변이체 기공의 크기가 약 22% 정도 큰 양상을 보였고 *AFBA1* 과다발현체 기공의 크기는 야생형에 비해서 약 5% 정도 더 작은 양상을 보이는 것을 확인하였다.

[0094] 따라서, *AFBA1* 발현억제 돌연변이체는 기공 개폐의 민감성이 감소되어 건조 스트레스를 받았을 때 식물이 빨리 죽어버리는 결과를 보이고 *AFBA1* 과다발현체는 공변세포의 기공 개폐 활동이 매우 민감하게 이루어지기 때문에 수분이 부족한 조건에서도 공변세포의 기공이 빨리 닫혀 식물이 성장이 유지되는 표현형을 보이는 것이다. 상기 데이터는 *AFBA1* 유전자가 건조 스트레스 조건에서 공변세포의 기공 개폐를 조절함으로써 식물의 수분을 조절하게 되고 이것이 건조 스트레스에 저항성을 갖도록 유도함을 알 수 있다.

[0096] 비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한 첨부된 청구 범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

도면1



도면2



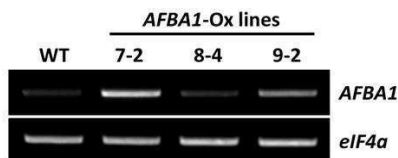
도면3

AFBA1 염기서열 (915bp)

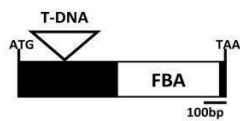
```

ATGGTCTCCAGAAGTCGTGAGGATTATTTAACCCGGATTAAACATCTAACTACACTGGTGTGGGTTTCATCATCATCGG
TCACCATCCCTACACCTTGGGAGAAGGACAAGGAGAAGGAGAAGGAGAAGGAGAAGGAGGACGAAGAATTCTTCTTA
GTTTCTTTTGATAGCTGTGACGGTCTCGTTTGTCTCTACAAACTCTGGAAATCTGGTTATGTGGTCAATCCCACCACTAGAT
GGTATCGCCCTCTTCTCTCTCAATTACAACAACCTTATCAGCTTAGGTGCGCAGTGTCTTCGAGCTTGGATACACAGT
CTGTGATATTGGATTCCGTAAGACAAAATCACGGGCACATACAAACCCGTTTGGTTATACAATTCTTTAGAAATTGGCCTT
GAAAACGCTACTACATGCGAGGTTTTGACTTTAACACCAACGCTTGGAGATATGTTTCTCGACCGCTCCCTATCGGGAG
GAAACCAAAATCTATCTTTCGATCTTCACACTGAAACCTTTCGAGTGGTCTCTAAAGCTCCTTTTACCAATGTAAAAGCTT
TTGATATCGTCATGTGCAATCTCGGCAACCGCTTGTGCGTTCCGAGAAGAACTGGCCCAACCAAGTGATATGGTCATTCA
ATTCAGGCAACAAGACATGGCACAATAATGTTTCCATTAATCTTGATGTAACCTCTCATTGGTTTGGTAATCACATAGCCGC
GGTCATGCCACTAGCACTTTTTATGAGAAGAAGAAGAAGAAGTGTGTTTATTGTCGTGTGCGAAGTCGAACAT
TGATGGTATATGATCCCGAAACCGAATCATATGATGTTGCTTCAATGATTACTCCATCGGTTATCCTCTTTGTTATTCCAGA
GTTTAATCTCTATTCATAA
    
```

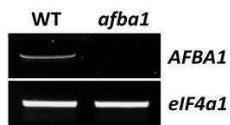
도면4



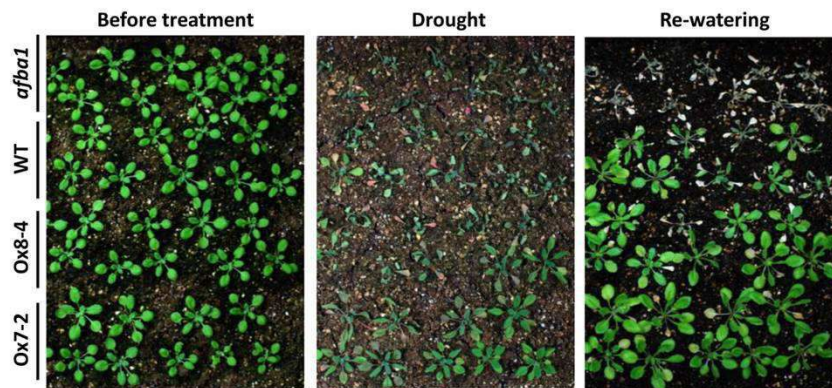
도면5



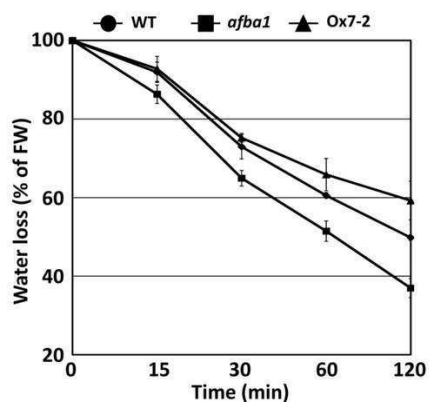
도면6



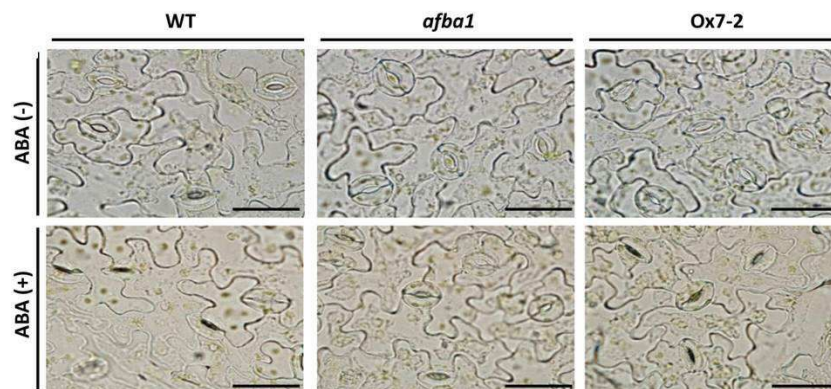
도면7



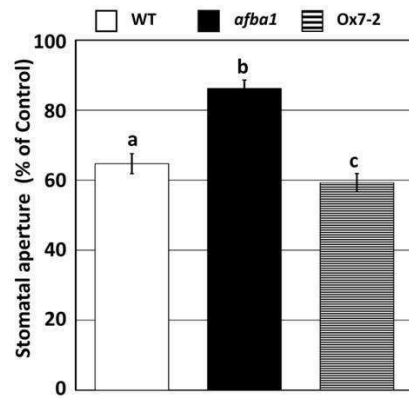
도면8



도면9



도면10



서열 목록

- <110> Korea University Research and Business Foundation
- <120> Gene implicated in drought stress tolerance and drought stress resistant plants using the same
- <130> 1_58P
- <160> 6
- <170> KopatentIn 2.0
- <210> 1
- <211> 915
- <212> DNA
- <213> arabidopsis thaliana
- <400> 1

```

atggtctcca gaagtcgtga ggattatfff aacccggatt taaaacatct aactacactg      60
gtgttgggtt catcatcatc ggtcaccatc cctacacctt gggagaagga caaggagaag      120
gagaaggaga aggagaagga ggacgaagaa ttcttcttag tttcttttga tagctgtgac      180

gggtctggtt gtctctacaa atactggaaa tctggttatg tggccaatcc caccactaga      240
tggatcgcgc ctcttctctt ctctcaattt caacaactcc ttatcagctt aggtcgcagt      300
gtcttcgagc ttggatacac agtctgtgat attggattcg gtaaagacaa aatcacgggc      360
acatacaaac ccgtttgggt atacaattct ttagaaattg gccttgaaaa cgctactaca      420
tgcgagggtt tgcactttta caccaacgct tggagatatg tttctccgac cgctccctat      480
cgggaggaaa ccaaaattct atctttcgat cttcacactg aaacctttcg agtggctctt      540
aaagctcctt ttaccaatgt aaaagctttt gatatcgtca tgtgcaatct cggcaaccgc      600

ttgtgcgttt ccgagaagaa ctggcccaac caagtgatat ggtcattcaa ttcaggcaac      660
aagacatggc acaaaatggt ttccattaat cttgatgtaa cttctcattg gtttggtaat      720

```

cacatagccg cggtcatgcc actagcactt ttttatgaga agaagaagaa gaagaagttg 780
 ttgttttatt gtcgtgtgcg aagtcgaaca ttgatggtat atgatcccga aaccgaatca 840
 tatgatgttg ctttcaatga ttactccatc ggttatcctc tttgttattt ccagagttaa 900
 atctctattt cataa 915

<210> 2
 <211> 304
 <212> PRT

<213> arabidopsis thaliana

<400> 2

Met Val Ser Arg Ser Arg Glu Asp Tyr Phe Asn Pro Asp Leu Lys His

1 5 10 15

Leu Thr Thr Leu Val Leu Gly Ser Ser Ser Ser Val Thr Ile Pro Thr

20 25 30

Pro Trp Glu Lys Asp Lys Glu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Asp

35 40 45

Glu Glu Phe Phe Leu Val Ser Phe Asp Ser Cys Asp Gly Leu Val Cys

50 55 60

Leu Tyr Lys Tyr Trp Lys Ser Gly Tyr Val Val Asn Pro Thr Thr Arg

65 70 75 80

Trp Tyr Arg Pro Leu Pro Leu Ser Gln Leu Gln Gln Leu Leu Ile Ser

85 90 95

Leu Gly Arg Ser Val Phe Glu Leu Gly Tyr Thr Val Cys Asp Ile Gly

100 105 110

Phe Gly Lys Asp Lys Ile Thr Gly Thr Tyr Lys Pro Val Trp Leu Tyr

115 120 125

Asn Ser Leu Glu Ile Gly Leu Glu Asn Ala Thr Thr Cys Glu Val Phe

130 135 140

Asp Phe Asn Thr Asn Ala Trp Arg Tyr Val Ser Pro Thr Ala Pro Tyr

145 150 155 160

Arg Glu Glu Thr Lys Ile Leu Ser Phe Asp Leu His Thr Glu Thr Phe

165 170 175

Arg Val Val Ser Lys Ala Pro Phe Thr Asn Val Lys Ala Phe Asp Ile

180 185 190
Val Met Cys Asn Leu Gly Asn Arg Leu Cys Val Ser Glu Lys Asn Trp
195 200 205
Pro Asn Gln Val Ile Trp Ser Phe Asn Ser Gly Asn Lys Thr Trp His
210 215 220
Lys Met Phe Ser Ile Asn Leu Asp Val Thr Ser His Trp Phe Gly Asn
225 230 235 240
His Ile Ala Ala Val Met Pro Leu Ala Leu Phe Tyr Glu Lys Lys Lys
245 250 255
Lys Lys Lys Leu Leu Phe Tyr Cys Arg Val Arg Ser Arg Thr Leu Met
260 265 270
Val Tyr Asp Pro Glu Thr Glu Ser Tyr Asp Val Ala Phe Asn Asp Tyr

275 280 285
Ser Ile Gly Tyr Pro Leu Cys Tyr Phe Gln Ser Leu Ile Ser Ile Ser
290 295 300

<210> 3

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AFBA1 PCR forward primer

<400> 3

tgaggatccg attaaactct ggaaataaca aaga

34

<210> 4

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AFBA1 PCR reverse primer

<400> 4

cattctagaa tggctccag aagtcgtgag gaa

33

<210> 5

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AFBA1 RT PCR forward primer

<400> 5

atctgattat tgccaatgta ttatgggtgta at 32

<210> 6

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AFBA1 RT PCR reverse primer

<400> 6

gccttggttaa aaaaagactc tggatatatc ataata 35