(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년11월21일
(11) 등록번호 10-1793381
(24) 등록일자 2017년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6895 (2013.01)
C12Q 2600/142 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0081216
(22) 출원일자 2016년06월28일
심사청구일자 2016년06월28일
(56) 선행기술조사문헌
Med. Sci. Monit. 2011, 제17권 제10호 BR290-297면
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이긍주
세종특별자치시 조치원읍 섭골길 56 세종 e편한세상 112-1103
하혜정
대전광역시 유성구 대학로 45 1415동 (봉명동,스카이로드뷰)
박누리
인천광역시 연수구 용담로 14 107동 1306호 (청학동,하나아파트)
(74) 대리인
신진만

전체 청구항 수 : 총 10 항 심사관 : 이예리

(54) 발명의 명칭 **방사선량 감지용 키트**

(57) 요 약

본 발명은 타겟이 방사선에 노출되었을 경우 상기 방사선 선량에 따라 상기 타겟에서 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인할 수 있는 물질을 함유하는 방사선량 감지용 키트를 제공한다.

대 표 도 - 도1

#	mGy	gene name	DEG				Length	PCR product size
			50 mGy	250 mGy	500 mGy	1000 mGy		
1	50	Calnexin-1	2.53	-1.03	-0.68	-0.93	Full-length	1636 bp
2		HSC70-1	2.00	-0.23	-0.72	-0.97	Full-length	1755 bp
3		HSP81.4	2.40	-0.96	-2.08	-2.35	Full-length	1845 bp
4		HSP101	2.33	-1.31	-2.56	-2.66	Full-length	2727 bp
5	250	BFN1	1.26	2.28	1.58	1.21	Full-length	894 bp
6		EXP11	0.44	4.55	3.71	2.34	Full-length	378 bp
7		XTH24	-0.31	5.11	4.68	4.72	Partial	379 bp
8		NRT21	-0.54	3.41	2.49	1.91	Partial	736 bp
9	500	FLA12	1.92	1.92	3.37	2.41	Full-length	741 bp
10		BTBD3	1.61	4.11	3.92	3.74	Full-length	1338 bp
11	1000	CAM5	0.65	0.14	0.37	3.78	Full-length	450 bp
12		GDU3	-0.87	2.27	2.68	3.20	Full-length	465 bp
13	down regulated	CAPE	-1.46	-1.38	-1.48	-1.32	Full-length	513 bp
14		SIGE	-1.00	-3.44	-4.02	-4.42	Full-length	1455 bp
15		ABCG22	-1.56	-1.97	-2.63	-3.16	Full-length	1419 bp
16		HAT	-1.55	-4.48	-4.55	-5.47	Full-length	1359 bp

(52) CPC특허분류
C12Q 2600/158 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
Int. J. Mol. Med. 2007, 제19권 제607-615면.
Int. J. Mol. Sci. 2011, 제12권 제4456-4464면.
KR101472789 B1
KR1020130037785 A
KR100458364 B1
KR101451833 B1

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ01119203
부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 농촌진흥청
연구사업명 차세대바이오그린21 사업
연구과제명 가지과 원예작물 토마토 유전자가위 적용 형질교정
기 여 율 1/2
주관기관 충남대학교
연구기간 2015.01.15 ~ 2017.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013M2A2A6043621
부처명 미래장조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 방사선기술개발사업
연구과제명 지표식물 이용 방사선 피해의 분자세포학적 모니터링 및 복원 씨스템 구축
기 여 율 1/2
주관기관 충남대학교
연구기간 2013.07.01 ~ 2016.06.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

타겟이 방사선에 노출되었을 경우 상기 방사선 선량에 따라 상기 타겟에서 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인할 수 있는 물질을 함유하는 방사선량 감지용 키트에 있어서,

상기 하향조절되는 유전자는 CAPE, SIGE, ABCG22, 및 HAT에서 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 2

제 1항에 있어서,

타겟을 방사선에 노출시킬 때 상향조절되는 유전자의 증폭을 위한 프라이머세트; 상기 타겟을 방사선에 노출시킬 때 하향조절되는 유전자의 증폭을 위한 프라이머세트를 포함하여, 상기 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인하여 방사선량의 정도를 판단하는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 3

제1항에 있어서, 타겟세포는 자주달개비 꽃잎에서 유래된 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 4

제1항에 있어서, 상향조절되는 유전자는 Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, HSP101, BFN1, EXP11, XTH24, NRT21, FLA12, BTBD3, CAM5, 및 GDU3에서 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서, 상향조절되는 유전자는 Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, 및 HSP101에서 선택된 적어도 1종; BFN1, EXP11, XTH24, 및 NRT21에서 선택된 적어도 1종; FLA12 및 BTBD3에서 선택된 적어도 1종; 및 CAM5 및 GDU3에서 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 7

제1항에 있어서, Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, 및 HSP101에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 50mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 8

제1항에 있어서, BFN1, EXP11, XTH24, 및 NRT21에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 250mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 9

제1항에 있어서, FLA12 및 BTBD3에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 500mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 10

제1항에 있어서, CAM5 및 GDU3에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 1000mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

청구항 11

제2항에 있어서, 프라이머세트는 상향조절되는 유전자를 증폭하기 위한 것으로, Calnexin-1의 유전자 증폭을 위한 서열번호1 및 서열번호2로 표시되는 프라이머쌍; HSC70-1의 유전자 증폭을 위한 서열번호3 및 서열번호4로 표시되는 프라이머쌍; HSP81.4 유전자 증폭을 위한 서열번호5 및 서열번호6으로 표시되는 프라이머쌍; HSP101 유전자 증폭을 위한 서열번호7 및 서열번호8로 표시되는 프라이머쌍; BFN1 유전자 증폭을 위한 서열번호9 및 서열번호10으로 표시되는 프라이머쌍; EXP11 유전자 증폭을 위한 서열번호11 및 서열번호12로 표시되는 프라이머쌍; XTH24 유전자 증폭을 위한 서열번호13 및 서열번호14로 표시되는 프라이머쌍; NRT21 유전자 증폭을 위한 서열번호15 및 서열번호16으로 표시되는 프라이머쌍; FLA12 유전자 증폭을 위한 서열번호17 및 서열번호18로 표시되는 프라이머쌍; BTBD3 유전자 증폭을 위한 서열번호19 및 서열번호20으로 표시되는 프라이머쌍; CAM5 유전자 증폭을 위한 서열번호21 및 서열번호22로 표시되는 프라이머쌍; 및 GDU3 유전자 증폭을 위한 서열번호23 및 서열번호24로 표시되는 프라이머쌍에서 선택된 적어도 1종; 및

하향조절되는 유전자를 증폭하기 위한 것으로 CAPE의 유전자 증폭을 위한 서열번호25 및 서열번호26으로 표시되는 프라이머쌍; SIGE의 유전자 증폭을 위한 서열번호27 및 서열번호28로 표시되는 프라이머쌍; ABCG22 유전자 증폭을 위한 서열번호29 및 서열번호30으로 표시되는 프라이머쌍; HAT 유전자 증폭을 위한 서열번호31 및 서열번호32로 표시되는 프라이머쌍에서 선택된 적어도 1종을 포함하는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 방사선량 감지용 키트에 관한 것으로, 보다 상세하게는 방사선에 노출된 타겟으로부터 방사선의 선량에 따라 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자를 증폭시켜, 타겟이 존재하는 공간에서 시료의 채취시점에서의 방사선량을 정밀하게 측정함으로써, 방사선량의 정도 및 변화를 정확하게 판단할 수 있게 함으로써, 방사선 노출에 의한 피해를 조기에 방지할 수 있는 효과를 제공하는 방사선량 감지용 키트에 관한 것이다.

배 경 기 술

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

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

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

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 방사선에 노출된 타겟으로부터 방사선의 선량에 따라 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자를 증폭시켜, 타겟이 존재하는 공간에서 시료의 채취시점에서의 방사선량을 정밀하게 측정함으로써, 방사선량의 정도 및 변화를 정확하게 판단할 수 있게 함으로써, 방사선 노출에 의한 피해를 조기에 방지할 수 있는 효과를 제공하는 방사선량 감지용 키트를 제공하는 것에 있다.

과제의 해결 수단

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

[0007] (1) 타겟이 방사선에 노출되었을 경우 상기 방사선 선량에 따라 상기 타겟에서 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인할 수 있는 물질을 함유하는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0008] (2) 상기 (1)에 있어서, 타겟이 방사선에 노출될 때 상향조절되는 유전자의 증폭을 위한 프라이머세트; 상기 타겟이 방사선에 노출될 때 하향조절되는 유전자의 증폭을 위한 프라이머세트를 포함하여, 상기 상향조절유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인하여 방사선량의 정도를 판단하는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0009] (3) 상기 (1)에 있어서, 타겟은 자주달개비 꽃잎에서 유래된 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0010] (4) 상기 (1)에 있어서, 상향조절되는 유전자는 Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, HSP101, BFN1, EXP11, XTH24, NRT21, FLA12, BTBD3, CAM5, 및 GDU3에서 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0011] (5) 상기 (1)에 있어서, 하향조절되는 유전자는 CAPE, SIGE, ABCG22, HAT에서 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0012] (6) 상기 (1)에 있어서, 상향조절되는 유전자는 Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, 및 HSP101에서 선택된 적어도 1종; BFN1, EXP11, XTH24, 및 NRT21에서 선택된 적어도 1종; FLA12 및 BTBD3에서 선택된 적어도 1종; 및 CAM5 및 GDU3에서 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0013] (7) 상기 (1)에 있어서, Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, 및 HSP101에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 50mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0014] (8) 상기 (1)에 있어서, BFN1, EXP11, XTH24, 및 NRT21에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 250mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0015] (9) 상기 (1)에 있어서, LA12 및 BTBD3에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 500mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0016] (10) 상기 (1)에 있어서, CAM5 및 GDU3에서 선택된 적어도 1종이 상향조절되면 1000mGy의 방사선량에 노출된 것으로 판단할 수 있는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

[0017] (11) 상기 (4)에 있어서, 프라이머세트는 상향조절되는 유전자를 증폭하기 위한 것으로, Calnexin-1의 유전자 증폭을 위한 서열번호1 및 서열번호2로 표시되는 프라이머쌍; HSC70-1의 유전자 증폭을 위한 서열번호3 및 서열번호4로 표시되는 프라이머쌍; HSP81.4 유전자 증폭을 위한 서열번호5 및 서열번호6으로 표시되는 프라이머쌍; HSP101 유전자 증폭을 위한 서열번호7 및 서열번호8로 표시되는 프라이머쌍; BFN1 유전자 증폭을 위한 서열번호9 및 서열번호10으로 표시되는 프라이머쌍; EXP11 유전자 증폭을 위한 서열번호11 및 서열번호12로 표시되는 프라이머쌍; XTH24 유전자 증폭을 위한 서열번호13 및 서열번호14로 표시되는 프라이머쌍; NRT21 유전자 증폭을 위한 서열번호15 및 서열번호16으로 표시되는 프라이머쌍; FLA12 유전자 증폭을 위한 서열번호17 및 서열번호18로 표시되는 프라이머쌍; BTBD3 유전자 증폭을 위한 서열번호19 및 서열번호20으로 표시되는 프라이머쌍; CAM5 유전자 증폭을 위한 서열번호21 및 서열번호22로 표시되는 프라이머쌍; 및 GDU3 유전자 증폭을 위한 서열번호23 및 서열번호24로 표시되는 프라이머쌍에서 선택된 적어도 1종; 및

[0018] 하향조절되는 유전자를 증폭하기 위한 것으로 CAPE의 유전자 증폭을 위한 서열번호25 및 서열번호26으로 표시되는 프라이머쌍; SIGE의 유전자 증폭을 위한 서열번호27 및 서열번호28로 표시되는 프라이머쌍; ABCG22 유전자 증폭을 위한 서열번호29 및 서열번호30으로 표시되는 프라이머쌍; HAT 유전자 증폭을 위한 서열번호31 및 서열번호32로 표시되는 프라이머쌍에서 선택된 적어도 1종을 포함하는 것을 특징으로 하는 방사선량 감지용 키트.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 의하면, 방사선에 노출된 타겟으로부터 방사선의 선량에 따라 상향조절 및 하향조절되는 유전자를 증폭시켜, 타겟이 존재하는 공간에서 시료의 채취시점에서의 방사선량을 정밀하게 측정함으로써, 방사선량의 정도 및 변화를 정확하게 판단할 수 있게 함으로써, 방사선 노출에 의한 피해를 조기에 방지할 수 있는 효과를 제공한다.

[0020]

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 본 발명에 따른 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 DEG 분석 결과.

도 2는 본 발명에 따른 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자에 대한 방사선 선량별 RT-PCR 실험결과.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

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

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

[0024] 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트는 타겟이 방사선에 노출되었을 경우 상기 방사선 선량에 따라 상기 타겟에서 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인할 수 있는 물질을 함유한다.

[0025] 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 방사선량 감지용 키트는 상기한 바와 같이 타겟이 방사선에 노출될 때 상향조절되는 유전자의 증폭을 위한 프라이머세트와, 상기 타겟이 방사선에 노출될 때 하향조절되는 유전자의 증폭을 위한 프라이머세트를 포함하여, 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 발현양상을 확인하여 방사선량의 정도를 판단하게 된다.

[0026] 본 발명의 방사선량 감지용 키트는 방사선에 노출시 상향조절되는 유전자 및 하향조절되는 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 측정할 수 있는 물질을 함유함여 방사선의 선량을 감지할 수 있으며, 이를 위해 상기 발현수준을 측정할 수 있는 물질로 상기 유전자들의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 혹은 프로브, 또는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 혹은 단백질에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분 펩티드 뿐만 아니라, 당해 키트가 이용하는 상기 유전자들의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 측정하는 분석방법에 적합한 하나 이상의 다른 구성성분, 용액 또는 장치를 포함할 수 있다.

[0027] 상기 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트의 예로는, mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 측정할 수 있는 것으로 알려진 RT-PCR 키트, DNA칩 키트, 또는 당해 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 항체의 면역학적 검출을 위해 기질, 적합한 완충용액, 발색효소(퍼옥시다아제, 알칼라인 포스파타아제 등) 또는 형광물질(FITC, RITC 등)로 표지된 2차 항체, 및 발색기질(ABTS, OPD, TMB 등) 등을 포함하는 단백질칩 키트 등이 여기에 해당될 수 있다.

[0028] 바람직하게는 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트는 RT-PCR 또는 qRT-PCR 키트로써, 키트의 구성물로는, PCR에 사용되어지는 통상적인 성분들로 완충용액, Taq 폴리머라제, dNTP, 프라이머(포워드,리버스), 염색시약(SyBr green1) 등을 포함한다.

[0029] 이를 위해 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트는 방사선에 노출시 상향조절되는 유전자로는 Calnexin-1(서열번호 33), HSC70-1(서열번호 34), HSP81.4(서열번호 35), HSP101(서열번호 36), BFN1(서열번호 37), EXP11(서열번호 38), XTH24(서열번호 39), NRT21(서열번호 40), FLA12(서열번호 41), BTBD3(서열번호 42), CAM5(서열번호 43), 및 GDU3(서열번호 44)에서 선택된 적어도 1종을 선택할 수 있고, 하향조절되는 유전자로는 CAPE(서열번

호 45), SIGE(서열번호 46), ABCG22(서열번호 47), HAT(서열번호 48)에서 선택된 적어도 1종을 선택할 수 있다.

[0030] 상기 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트를 구성하는 프라이머로는 상향조절되는 유전자를 증폭하기 위한 것으로, Calnexin-1의 유전자 증폭을 위한 서열번호1 및 서열번호2로 표시되는 프라이머쌍; HSC70-1의 유전자 증폭을 위한 서열번호3 및 서열번호4로 표시되는 프라이머쌍; HSP81.4 유전자 증폭을 위한 서열번호5 및 서열번호6으로 표시되는 프라이머쌍; HSP101 유전자 증폭을 위한 서열번호7 및 서열번호8로 표시되는 프라이머쌍; BFN1 유전자 증폭을 위한 서열번호9 및 서열번호10으로 표시되는 프라이머쌍; EXP11 유전자 증폭을 위한 서열번호11 및 서열번호12로 표시되는 프라이머쌍; XTH24 유전자 증폭을 위한 서열번호13 및 서열번호14로 표시되는 프라이머쌍; NRT21 유전자 증폭을 위한 서열번호15 및 서열번호16으로 표시되는 프라이머쌍; FLA12 유전자 증폭을 위한 서열번호17 및 서열번호18로 표시되는 프라이머쌍; BTBD3 유전자 증폭을 위한 서열번호19 및 서열번호20으로 표시되는 프라이머쌍; CAM5 유전자 증폭을 위한 서열번호21 및 서열번호22로 표시되는 프라이머쌍; 및 GDU3 유전자 증폭을 위한 서열번호23 및 서열번호24로 표시되는 프라이머쌍에서 선택된 적어도 1종; 및

[0031] 하향조절되는 유전자를 증폭하기 위한 것으로 CAPE의 유전자 증폭을 위한 서열번호25 및 서열번호26으로 표시되는 프라이머쌍; SIGE의 유전자 증폭을 위한 서열번호27 및 서열번호28로 표시되는 프라이머쌍; ABCG22 유전자 증폭을 위한 서열번호29 및 서열번호30으로 표시되는 프라이머쌍; HAT 유전자 증폭을 위한 서열번호31 및 서열번호32로 표시되는 프라이머쌍에서 선택된 적어도 1종을 포함한다.

[0032] 또, 상기 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트가 단백질의 발현수준을 측정하기 위한 것인 경우, 예를 들어 항체, 또는 단백질에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분 펩티드가 사용될 수 있다. 단백질에 특이적인 결합 도메인을 갖는 부분 펩티드는 온전한 항체의 구조를 갖는 것은 아니나, 항원성 부위에 대해 특이적인 항원결합부위(결합 도메인)을 갖는 폴리펩티드로써, 예를 들어 항원 결합 기능을 보유한 Fab, F(ab'), $F(ab')_2$, 및 Fv 등이 여기에 해당되어질 수 있다.

[0033] 단백질의 발현수준을 측정하기 위한 방법으로는 예를 들어, 웨스턴블롯, ELISA, 방사선면역분석, 방사면역확산법, 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로케트(Rocket) 면역전기영동, 조직면역염색, 면역침전분석법, 보체고정분석법 등이 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0034] 상기 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트를 이용하여, 방사선량의 감지에 필요한 정보를 제공하기 위하여, 타겟으로 자주달개비 혹은 이의 조직, 바람직하게는 화기조직일 수 있으며, 이들로부터 추출된 시료가 측정에 이용될 수 있다. 따라서, 상기 각 유전자의 mRNA 또는 그 단백질은 자주달개비의 화기 조직이 방사선에 피폭되어질 경우 상향조절 및 하향조절에 의해 발현량이 변화하므로, 특정 장소에 비치되어 재배되는 자주달개비의 화기 조직을 채취하여 측정하여도 좋고, 이들 조직을 분리하여 인공적인 조직배양을 통해 이들 배양물(또는 배양액)을 방사선 누출이 의심되는 특정 장소에 비치하는 방법으로 측정에 사용할 수 있는 등 다양한 방법이 고려되어질 수 있음은 물론이다.

[0035] 상기 시료를 이용하여 측정된 각 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준을 정상 대조군의 각 유전자의 mRNA 또는 그 단백질의 발현수준과 비교하는 것에 의해 정확한 방사선량의 감지가 가능하고, 또한, 방사선에 피해를 입은 지역에 대한 복구작업이 있은 후, 추후의 환경복원 정도를 지속적으로 모니터링할 수 있게 한다.

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

[0037] [실험예 1] 자주달개비 꽃에 대한 방사선 조사

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

표 1

[0039]

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

[0040] [실험예 1] cDNA 라이브러리 제작

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

[0042] [실험예 3] DEG 분석(상향 및 하향조절 유전자의 선발)

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

[0044] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 방사선을 조사하지 않은 대조군에 비해, 가장 낮은 선량인 50mGy의 방사선에 노출된 처리구에서 Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, 및 HSP101이, 250mGy의 방사선에 노출된 처리구에서는 BFN1, EXP11, XTH24, 및 NRT21, 500mGy의 방사선에 노출된 처리구에서는 LA12 및 BTBD3, 1,000mGy의 방사선에 노출된 처리구에서는 CAM5 및 GDU3가 각각 up-regulation되는 유전자임을 확인할 수 있다.

[0045] 또한, CAPE, SIGE, ABCG22, HAT 유전자는 방사선 조사에 의해 하향조절되는 것을 확인할 수 있다.

[0046] [실험예 4] PCR 분석

[0047] DEG 분석 결과를 재검증하기 위해, 방사선이 조사된 자주달개비의 화기조직으로부터 추출된 total RNA로 TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0을 사용하여, RT-PCR을 수행하였다. 각 유전자의 증폭을 위한 프라이머는 하기 표 2에 제시한 바와 같은 서열번호 1~32의 염기서열로 제조된 것을 사용하였다. 각 유전자 부위를 증폭할 PCR 온도 조건으로는 95℃에서 5분 동안 열처리로 taq polymerase의 활성 유도한 후, 25cycle의 95℃에서 30초간 denaturation, 50℃에서 30초 간 annealing, 72℃에서 1분 50초간 extension을 거친 후, 5분간 PCR 산물의 안정화를 실시하여 각각의 PCR 산물을 취득하였다. 상기의 PCR을 완료한 후, 각각 1% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 PCR 산물의 증폭여부를 확인하였다.

[0048] Reference gene으로 자주달개비의 actin7 유전자를 이용하였고, actin7 유전자를 증폭하기 위한 프라이머는 서열번호 49(Forward)와 서열번호 50(Reverse)을 이용하였다. actin7 유전자 부위를 증폭하기 위한 PCR 온도 조건은 95℃에서 5분 동안 열처리로 taq polymerase의 활성을 유도한 후, 25cycle의 95℃에서 30초간 denaturation, 55℃에서 30초 간 annealing, 72℃에서 50초간 extension 을 거친 후, 72℃에서 7분간 PCR 산물의 안정화를 실시하여 PCR 산물을 취득하였다.

표 2

[0049]

Primer	Sequence (5'→3')
RT-Calnexin-1F(SEQ#1)	ATGACGATCGCGCCAAAGATC
RT-Calnexin-1R(SEQ#2)	TCAAAATCTACGCCCTCCTC
RT-HSC70-1F(SEQ#3)	ATGAATCCTACCAATACTG
RT-HSC70-1R(SEQ#4)	TTAATCAACCTCCTCAATC
RT-HSP81.4-F(SEQ#5)	ATGACAAAGGCTGATCTCGTG
RT-HSP81.4-R(SEQ#6)	TTAATCAACCTCCTCCATCTTG
RT-HSP101-F(SEQ#7)	ATGAATCCCGACAAATTCA
RT-HSP101-R(SEQ#8)	TCAATCATCATCCATCTC
RT-BFN1-F(SEQ#9)	ATGGCCACTGGTGGTGGGCAC
RT-BFN1-R(SEQ#10)	TCAGGTTGGTGACGGTATTTCG
RT-EXP11-F(SEQ#11)	ATGGCACAACCTGCATGGGA
RT-EXP11-R(SEQ#12)	CTATGAGAATTGTAATTTGC
RT-XTH24-F(SEQ#13)	GCATGTCAATCTTTCCAAAT
RT-XTH24-R(SEQ#14)	CGGGGACAAGCTTGATCTGC
RT-NRT21-F(SEQ#15)	ATTGGCTTTGTGCAGCCTTC
RT-NRT21-R(SEQ#16)	AGCCACAAGTTCTAAAAGTA
RT-FLA12-F(SEQ#17)	ATGGAACATCTTACCTTGTA
RT-FLA12-R(SEQ#18)	TCAAAAACTCCACCAAGCGG
RT-BTBD3-F(SEQ#19)	ATGGAACAACATTGTTCGAC
RT-BTBD3-R(SEQ#20)	TTACAAACGTCTCGCCAATT
RT-CAM5-F(SEQ#21)	ATGGCCGACCAGCTGACAGA
RT-CAM5-R(SEQ#22)	TCACTTTGACGTCATCATGG
RT-GDU3-F(SEQ#23)	ATGAGACCAGGAGCTAGTTT
RT-GDU3-R(SEQ#24)	CTACTGTTGTCCTTCACTTT
RT-CAPE-F(SEQ#25)	ATGAGCTTCTCAAAGCAT
RT-CAPE-R(SEQ#26)	TTATGCATCATCCAATGTTT
RT-SIGE-F(SEQ#27)	ATGGGCGTTGTCTCGGTCCC
RT-SIGE-R(SEQ#28)	TCAAACATATTTGCGGAGAT
RT-ABCG22-F(SEQ#29)	ATGGGCGTTGTCTCGGTCCC
RT-ABCG22-R(SEQ#30)	TCAAACATATTTGCGGAGAT
RT-HAT-F(SEQ#31)	ATGGCAACTGCTACCACGAG
RT-HAT-R(SEQ#32)	TTAGTTCTTCCTCACCAATT
RT-Actin-F(SEQ#49)	ATGATGGCTGGAACAGAACC
RT-Actin-R(SEQ#50)	GACCGATTCCCTGATGAAGA

[0050] 상기 실험결과는 도 2에 나타낸 바와 같으며, 자주달개비 BNL 4430의 방사선 처리구 중, 50mGy의 방사선에 노출된 처리구에서 Calnexin-1, HSC70-1, HSP81.4, 및 HSP101이, 250mGy의 방사선에 노출된 처리구에서는 BFN1, EXP11, XTH24, 및 NRT21, 500mGy의 방사선에 노출된 처리구에서는 LA12 및 BTBD3, 1,000mGy의 방사선에 노출된 처리구에서는 CAM5 및 GDU3가 각각 상향조절되었고, CAPE, SIGE, ABCG22, HAT 유전자는 방사선 조사에 의해 하향조절되는 것을 확인할 수 있다.

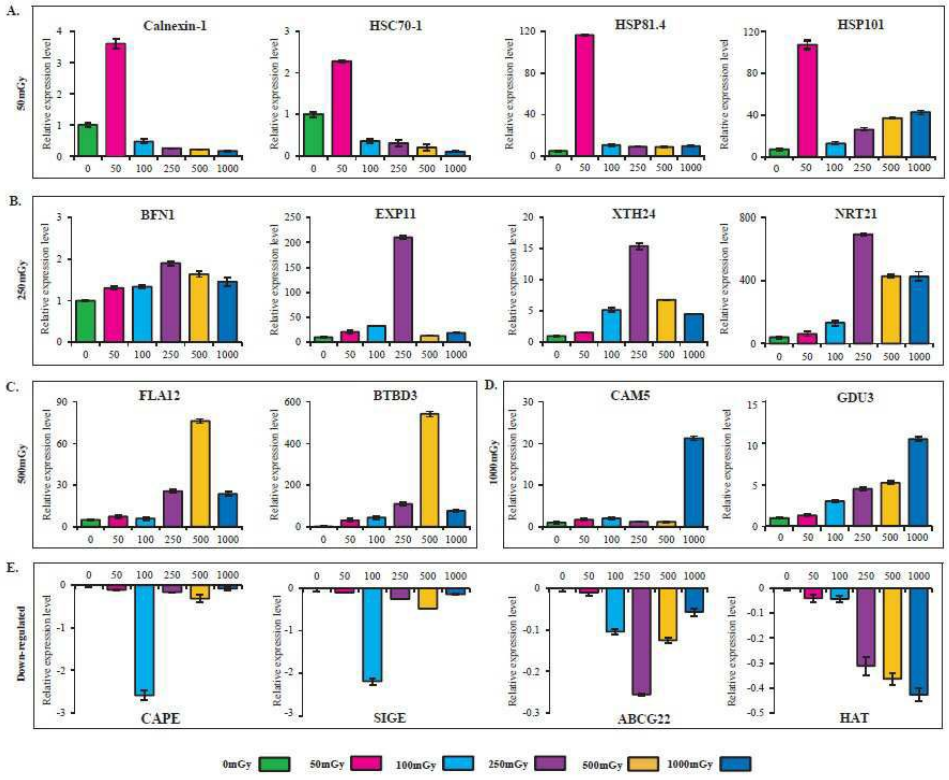
[0051] 따라서, 본 발명에 따른 방사선량 감지용 키트를 이용하면, 상향조절되는 유전자와 하향조절되는 유전자를 동시에 확인함으로써, 자칫 방사선이 원인이 아닌 다른 요인에 의해 일시적으로 특정 유전자가 상향조절되더라도 하향조절되는 유전자의 발현양상을 함께 확인하므로, 방사선량에 대한 판단오류를 제거할 수 있어 정밀한 감지가 가능하게 된다.

도면

도면1

#	mGy	gene name	DEG				Length	PCR product size
			50 mGy	250 mGy	500 mGy	1000 mGy		
1	50	Calnexin-1	2.53	-1.03	-0.68	-0.93	Full-length	1636 bp
2		HSC70-1	2.00	-0.23	-0.72	-0.97	Full-length	1755 bp
3		HSP81.4	2.40	-0.96	-2.08	-2.35	Full-length	1845 bp
4		HSP101	2.33	-1.31	-2.56	-2.66	Full-length	2727 bp
5	250	BFN1	1.26	2.28	1.58	1.21	Full-length	894 bp
6		EXP11	0.44	4.55	3.71	2.34	Full-length	378 bp
7		XTH24	-0.31	5.11	4.68	4.72	Partial	379 bp
8		NRT21	-0.54	3.41	2.49	1.91	Partial	736 bp
9	500	FLA12	1.92	1.92	3.37	2.41	Full-length	741 bp
10		BTBD3	1.61	4.11	3.92	3.74	Full-length	1338 bp
11	1000	CAM5	0.65	0.14	0.37	3.78	Full-length	450 bp
12		GDU3	-0.87	2.27	2.68	3.20	Full-length	465 bp
13	down regulated	CAPE	-1.46	-1.38	-1.48	-1.32	Full-length	513 bp
14		SIGE	-1.00	-3.44	-4.02	-4.42	Full-length	1455 bp
15		ABCG22	-1.56	-1.97	-2.63	-3.16	Full-length	1419 bp
16		HAT	-1.55	-4.48	-4.55	-5.47	Full-length	1359 bp

도면2



서 열 목 록

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

<120> KIT FOR DETECTION OF RADIATION DOSE

<130> SP0629

<160> 50

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 1

atgacgatcg cgccaaagat c 21

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 2

tcaaaatcta cgccctcctc 20

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 3

atgaatccta ccaatactg 19

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 4

ttaatcaacc tcctcaatc 19

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 5

atgacaaagg ctgatctcgt g 21

<210> 6

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 6

ttaatcaacc tcctccatct tg 22

<210> 7

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 7

atgaatcccg acaaattca 19

<210> 8

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 8

tcaatcatca tccatctc 18

<210> 9

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 9

atggccactg gtggtgggca c 21

<210> 10

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 10

tcaggttggt gacggtattt cg 22

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 11

atggcacaac ctgcatggga 20

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 12

ctatgagaat tgtaatttgc 20

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 13

gcatgtcaat ctttccaaat 20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 14

cggggacaag cttgatctgc 20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 15

attggctttg tgcagccttc 20

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 16

agccacaagt tctaaaagta 20

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 17

atggaacatc ttaccttgta 20

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 18

tcaaaaactc caccaagcgg 20

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 19

atggaacaac attgttcgac 20

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 20

ttacaaacgt ctcgccaatt 20

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 21

atggccgacc agctgacaga 20

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 22

tcactttgac gtcatcatgg 20

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 23

atgagaccag gagctagttt 20

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 24

ctactgttgt ccttcacttt 20

<210> 25

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 25

atgagcttct caaagcat 18

<210> 26

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 26

ttatgcatca tccaatgttt 20

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 27

atgggcgttg tctcggtccc 20

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 28

tcaaacatat ttgcggagat 20

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 29

atgggcgttg tctcggtccc 20

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 30

tcaaacatat ttgcggagat 20

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 31

atggcaactg ctaccacgag 20

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 32

ttagttcttc ctcaccaatt 20

<210> 33

<211> 1636

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 33

atgacgatcg cgccaaagat ccttctctta tgcctacttt cctctctgtg gctccagatc 60

tgggcatccg agccgatttt ctacgagtct ttcgatgagg atttcgaggg gcgatggatt 120

aagtcggaaa aggagggtta ttcaggtgtg tggaagcatg ccaaaagtga tggacatgat 180

gactatggcc ttcttgtgag cgagaaggcg aggaaatatg ctattgttaa gaaactagat 240

gaacccatca gtcttaagga tgaaactatt gttcttcagt ttgaagttcg acttcaggaa 300

ggtcttgaat gtggaggcgc ttatcttaaa tatctacgtc ctcaggatgc tggttggact 360

cctaagggct ttgacaatga gtccccatat tctatcatgt ttggacctga caaatgtggt 420

tccaccaata aggttcattt tatccttaat cacaagaatc caaaatcagg gaagtatgtt 480

gagcatcatc tcaagtatcc tccatctgtc ccatctgaca agctttcaca tgtctatact 540

gctattttga aacctgataa cgagttgaga attttgattg atggggaaga aaagaaaaaa 600

gcaaacttct tatcttccga cgattttgag ccagcactca tcccattaaa gacaattcca 660

gatcctgatg acaagaagcc tgctgactgg gatgagagac ctaagattgc tgatagttct 720

gctgtgaagc ctgatgattg ggatgaggat gcaccgatgg agattgaaga tgaggaggct 780

gttaagcctg aaggatggct ggatgatgaa cctgaggata ttgatgatcc tgaggccaca 840

gtacctgaag attgggatgt cgaggaggat ggagagtggg aatctcctaa gattgacaac 900

ccgaagtgtg aagtagcacc aggttgtgga gagtggaaga ggccaatgaa gaaaaatcca 960

gcctacaagg ggaaatggca tgctcctatg attgacaatc cagattacaa gggtatttgg 1020

aagcctcagg aaattgataa ccctgagtat ttcgagttag acaaacctga ctttgaacca 1080

attgctgcta ttgggattga gatttggacg atgcaggatg gtattctgtt tgacaatatt 1140

ttgattgctg ctgatgagaa ggttgcagag tcttataggg aaaaaacatg gaaacctaag 1200

tacgatgttg agaaagagaa gcagaaggct gaagaggctg aagcagcttc ttctgtttca 1260

gatggtctag caggttttca gaagaaggtt ttcgatggtc tctacaaggt agctgatgtt 1320

cctttcttgg cagcatacaa gtccaagatt attgatataa ttgagaaggc agagaagcag 1380

ccaaacctta caattggaat ccttgtctcg gttgctgtgg ttttactgac cattctcttc 1440

cgactattct ttggtggaag aaaggcaact gttgttcctg ctgcacctgc tactaatacc 1500

ccaactgaag ctgacaagga agctgacaag gattctggaa gcactgaaga gaaggaaggg 1560

aacgagcagg aagagaacga gaaagaagaa gaaactgcag ctcaacgacc aaggaggagg 1620

agggcgtaga ttttga 1636

<210> 34

<211> 1755

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 34

atgaatccta ccaatactgt atttgatgct aagcgactga ttggcagacg atacagtgac 60

ccatctgttc agagtgacat taagctatgg ccattcaggg ttattgctgg gccaggtgac 120

aagccaatga ttgttgtaca gtacaagggc gaggagaagc aattttcagc tgaagagata 180

tcttccatgg ttcttgttaa gatgaaggag atcgcagaag cttatcttgg tactactatc 240

aagaacgctg ttgttactgt gccagcttac ttcaatgatt ctcagcggca ggctacaaag 300

gatgctggtg ttatttctgg gctcaatgtt ttgagaatta tcaatgagcc aactgctgct 360

gccattgctt acggtctcga caagaaggct agcagctctg gcgagaagaa tgtgctgatc 420

tttgaccttg gtggtggtac tttcgatgtc tccctttga caatagaaga aggtatattt 480

gaggtgaagt ccacagctgg tgacactcat cttggtggag aggattttga caataggatg 540

gtgaaccatt ttgttcagga gttcaagagg aagcataaga aggatattag tggaaacccc 600

agggctttga gaaggctgag gacagcttgt gaaagggcaa agaggactct gtcatccact 660

gcccagacaa caattgagat tgactccctt tacgagggta tcgacttcta cagtacaatt 720

actcgagctc gattcgagga gctgaacatg gatctattta gaaagtgtat ggagcctgtt 780

gagaagtgtc tgagggatgc gaagatggac aagagcagtg ttcatgatgt tgttcttgtt 840

ggtggttcca caaggattcc caaagtccag cagctcctac aggacttttt caatgggaag 900

gagctctgca agagcattaa tcctgatgaa gctgttgctt atggtgcagc tgtccaggct 960

gctatcctca gtggtgaggg caatgagaag gttcaggatc ttctattgct tgatgtcact 1020

cctctttctc tgggtttgga gactgctggt ggtgtcatga ctgtgttgat accaagaaat 1080

actactatcc caacaaagaa ggagcaggtt ttctctacct attcggacaa ccaaccaggc 1140

gtgttgattc aagtgtatga aggagagaga accagaacta gggataacaa tcttcttggc 1200

aaatttgaac tatctggcat tcctccagct cctaggggtg tgcctcaaat cactgtttgt 1260

ttcgacattg atgccaacgg tatcctgaac gtatcagctg aggacaagac aaccgggcag 1320

aagaacaaga tcaccataac caatgacaaa ggaaggctga gcaaggagga gatagagaaa 1380

atggttcagg aagctgagaa gtacaaatca gaggatgaag agcataaaaa gaaggttgaa 1440

gctaagaatg cattggaaaa ctatgcttat aacatgagga acactattaa ggatgagaaa 1500

atcgcatcca agctgcctcc tgctgataag acgaagattg aagatgccat cgaacaggct 1560

atcagctggt tggatggtaa ccagttagct gaggctgaag agtttgaaga caaaatgaaa 1620

gaattggaag gtatctgcaa tccaattatc gcgaagatgt accaaggtgg tgctgattca 1680

gccatggatg aagatgatat cccagctact ggtggcagca gtggcaatgg gcctaagatt 1740

gaggaggttg attaa 1755

<210> 35

<211> 1845

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 35

atgacaaagg ctgatctcgt gaacaatttg ggcaccattg ccaggtccgg gaccaaggag 60

ttcatggagg ccattgcggc cggcgctgac gtttctatga ttgggcagtt tggtgtgggg 120

ttttactcgg cttatcttgt tgccgagaag gtcgtggtga cgactaagca taatgatgat 180

gagcagtatg tgtgggaatc gcaggctgga gggtcgttta cggttacgag ggatacttct 240

ggggagagtc tagggagggg gactaagatt acgctctatc tcaaggagga tcagttggaa 300

tatcttgagg aaaggcgtct caaggattta attaagaaac attctgaatt catcagctat 360

ccaatctcct tgtggactga gaagaccact gagaaggaga tttctgatga tgaagatgag 420

gaagaaaaga aggaaaccga ggagggaaag gtggaggaaa ttgatgaaga gaaggaagag 480

aaggacaaga agaagaagaa aattaaagag gtttcacacg agtgggaatt ggtaaacaaa 540

caaaagccaa tttggatgag aaagcctgaa gagattacta aggaagagta tgctgcattt 600

tacaagagct tgactaatga ctgggaggag catttggctg tgaagcactt ctctgttgaa 660

ggccagcttg agtttaaggc tattctgttt gtacccaaga gggccccttt tgatctcttt 720

gacacgagga agaagctcaa caatattaag ctgtatgtac gtcgagtatt catcatggac 780

aactgtgaag aattgattcc ggagtacttg agctttatta agggcattgt cgactcagaa 840

gatcttcctc tcaacatttc aagggaaatg ctccagcaga acaagatcct caaggttatt 900

cgcaagaacc ttgtcaaaaa gtgcattgaa ctctttttcg agattgcaga gaacaaggag 960

gattacaaca agttttatga agctttctca aagaacctaa agcttggaat tcacgaggac 1020

agccagaata gggctaagat tgctgaattg ctgaggtatc actctaccaa gagtggggat 1080

gaaatgacca gcttgaagga ctatgtgaca aggatgaaag aggggccgaa tgatatttac 1140

tacatcactg gagagagcaa gaaggcagtt gaaaactctc ctttcctgga gaaactcaag 1200

aagaagggct atgaagtact gtacatggtt gatgccattg atgagtatgc aattggtcaa 1260

ctgaaagaat tcgaggggaa gaagcttgtt tcggcaacca aagaggggtt gaagcttgat 1320

gagagcgagg atgagaagaa aaggcaggaa agcctgaagg agaagtttga ggggctttgc 1380

aaggttatca aagagatttt gggcgacaaa gtggaaaagg tggttgtatc caaccgcgtt 1440

gttgattctc cttgctgttt ggtcactgga gagtatggtt ggactgcaaa catggagagg 1500

atcatgaagg cgcaagccct taaggacacc agcatgtctg gctacatgtc tagcaagaag 1560

actatggaga ttaaccctga aaatcccatc atggaggagc tgaggaagag agcagatgct 1620

gataagaatg acaagtcagt caaggacttg accttgctgc tatttgagac tgcactcctg 1680

acttctggat ttagcctcga ggatcccaac acctttggca ataggattca tcgcatgttg 1740

aagttgggtc tgagcattga tgaggatgaa aaggcagaag acactgacat gcctgctttg 1800

gaagaagctg atgctgaaga aagcaagatg gaggaggttg attaa 1845

<210> 36

<211> 2727

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 36

atgaatcccg acaaattcac ccacaaaacc aacgaggccc tcgccgccgc gcaggagctc 60

gccatcaccg ccggccactc ccaaatcacg cccctccacc ttgcctccgt cctcctctcc 120

gaccccaatt ccctcctccg ccagtccctc tccacccccg aagccgctga atccttcgaa 180

agagtggtaa actcggcttt aaagaaactc ccatcccagt ctcctccccc cgacgaagcc 240

cctccctcca cgtcgttcat caaagtcatc cgccgcgcac agtcatccca gaagacacgg 300

ggcgactccc acctagcagt tgatcagctt atcctcggac tcctcgaaga ctctcaaata 360

accgattgcc tcaaagaatc tggaattaat ccttccaaag tccgctccga agtcgaaaaa 420

ttacgcggga aggtaaataa aaaagtcgag agcgcctccg gcgatacgaa cttccaggca 480

ttgaagactt acggaaggga ccttgttgag gtcgccggga aactcgatcc ggtaattgga 540

cgagacgagg agattcgtag agttgtcagg attttatcaa gacggaccaa gaacaacccg 600

gttttaattg gggaaccagg ggttgggaag acggccgttg tcgaaggatt ggcgcagagg 660

attatgaggg gcgacgtgcc gagcaattta ctggatgtga aattggtggc actcgatatg 720

ggggcgttga ttgcaggagc aaagtatcgc ggggagtttg aggagaggct gaaggctgtt 780

ttgaaagaag ttgaggatgc ggacgggaag gtgattctgt ttattgatga gattcatctg 840

gtgttagggg ctgggaggac ggaggggtcg atggatgctg cgaatttgtt caagccgatg 900

cttgcgaggg gacagctgag gtgcataggc gcgacaactt tggaggagta taggaagtat 960

gtagagaagg atgcggcatt tgagaggcgg tttcagcagg tttatgttgc ggagccgagt 1020

gtgccggata ctattagtat tttgaggggt ttgaaggaga ggtatgaggg gcatcatggt 1080

gtgaggattc aggatcgggc gctggtcgtt gctgcacagc tgtcttcccg atatattact 1140

ggccgacatt tgcccgataa agcaatagat ttggtcgatg aggcttgtgc caatgtgagg 1200

gtacaacttg atagtcaacc tgaggagatt gataaccttg agagaaagag aatccagctg 1260

gaggtagaac tacatgctct tgagaaggag aaggataaag caagcaaagc tcgccttgtt 1320

gaggtgaaaa aggaacttga tgacttgaga gacaagctgc aacctttgat gatgaagtac 1380

caaaaggaga aaaaaagagt tgatgagatt aggaggttga agaaacgcaa ggaggagcta 1440

ctgttctctg ttcaggaggc agagaggaga atggatcttg ccagggttgc agacatcaag 1500

tatggagctt tgcaagagat agatgctgcc attgccaaac ttgaaggaga gactagtgac 1560

aatttgatgc taactgagac tgttgggcct gaacagattg cagaggttgt tagccgatgg 1620

actggtattc ctgtgaatcg gttaggccaa aatgaaaaag agaggttgat gggcttggcc 1680

gagaggttgc acaagagagt agttggacag gatcaagctg tggatgctgt agcagaagct 1740

gtgcttaggt ccagggcagg tctgggtcga cctcagcagc caactggttc attcctattc 1800

ttgggtccaa ccggtgtggg taaaactgaa ttggccaagg ctcttgctga acaacttttt 1860

gatgatgaca agctgctcat tagaattgat atgtctgaat acatggaaca gcactcagtt 1920

gcacggctta ttggtgcacc accaggttat gttggacatg aagaaggtgg gcagctaact 1980

gaggctgttc ggaggaggcc ttacagtgtc attctttttg atgaagttga gaaagcacac 2040

actgctgtct tcaacacact tctccaagta ttagatgacg gtaggttgac tgacggacaa 2100

ggcaggactg tggattttac aaactcagtg atcataatga cttccaacct tggtgctgaa 2160

catttgctgg ctggtatggt tggggaatcg tcaatgcaga ttgcaagaga acgggttatg 2220

ctcgaggtca ggaagcattt cagacctgag ctactgaaca ggctggatga gattgtgatt 2280

tttgacccac tgtcacatga gcagctgagg aaggttgcta ggcttcagat gaaggatgtt 2340

gctgtccgtc ttgctgaaag gggtattgct ttggctgtgt cagatgctgc actggatgta 2400

gtactgtctg aatcttatga cccggtttat ggcgcaaggc caattagaag gtggctggag 2460

aaaaaggtgg ttaccaatct ttcaaagatg ctcattgaag ggaagataga tgagaacact 2520

acagtataca ttgatgttgc tccaggcaag aaagagctgt cttacagggt tgagcgaaat 2580

gggggtttag tcaatgctga aacagggaaa aagtccgata ttttgattga gatacctaat 2640

agtcaagtca ggagtgatgc tgcacaggct gtgaaaaaga tgaagatagt tgctgatgat 2700

gatgatatag agatggatga tgattga 2727

<210> 37

<211> 894

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 37

atggccactg gtggtgggca cttaaggttc ttggtatcaa tatttacaat agttagcatt 60

tggcatttag gacactcctg gagcaaagag ggtcacatat tgacttgcag aattgcacag 120

gatttattgg ggccagaggc aacacatgca gtaacaaacc ttctgccaag taacgtcgat 180

ggtgatcttt ctgctctttg cacttggcct gatcaaatcc gctattggta caagttcagg 240

tggacaagcc ctctgcactt catcgacaca ccagataaag attgcacttt cgactataca 300

agggattgcc cagatgataa gtgtgtagct ggtgccatcc agaactttac ttctcagctg 360

atgcactacc gagaaggaac ttctgatcgg cgatacaact tgactgaatc tctactgttc 420

ttgtctcact tcatgggtga catccatcag cccatgcata taggatacac cagtgataaa 480

ggtggcaaca caataaatgt ccgctggttc aggcacaagt ctaatctgca ccatgtttgg 540

gacagggaga taatcctcac tgctcttaaa gattactatg agaaggattt ggatgctttc 600

caggcagatc ttgagaacaa cgtaacatca ggaatatggg cagatgatat caagtcatgg 660

agcgactgtg atgatctttt ctcttgtcca acaaaatggg caacagaaag cataaacttg 720

gcatgtagat gggcatacaa aggagtcact gaaggagaga ccctatctga tgaatatttc 780

gattcaaggt tgcccattgt taccaaaagg attgcacaag gtggggtcag gttggccatg 840

attctaaaca cagtatttgg cgagcatgat cacgaaatac cgtcaccaac ctga 894

<210> 38

<211> 378

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 38

atggcacaac ctgcatggga aaagatagcc acttatgagg gtggtattgt tcctgtcatc 60

tatcagaggg tgccatgcac gaagacaagt ggtgtgaggt tcacaataaa tggtaatgac 120

tattttgagc tagtgctggt ttacaacgtt ggaggcagtg gagctataca atcaatgatg 180

atcaagggga ccaaaacaaa ctggctccca atgtcaagga actggggtgc aaattggcag 240

tcctcagcct atctcagtgg ccagaaactc tccttccaaa ttacacttga tgacggccag 300

tcgttgacct tttggaatgt tactcgaact aaatggcaat ttggccaaac attcgctagc 360

aaattacaat tctcatag 378

<210> 39

<211> 379

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 39

gcatgtcaat ctttccaaat aagtactcat tcttggactg aaatccagac ccagatactc 60

tatcaaggga caaagttaac agtccacttt aagtgtatat ccaactagct agctataact 120

ccaatagctt tggataaatg acaacgctat tgcatgtact aggtagtgta ttggtgagtt 180

gctttttggt ggctttggcc actggcagtg attttaacca ggactttcaa gtaacttggg 240

gtgatggtag gggcaaagtg gttaacaatg gccagttgct cactttgtcc cttgatagag 300

tatctgggtc tggatttcag tccaagaatg agtacttatt tggaaagatt gacatgcaga 360

tcaagcttgt ccccggcaa 379

<210> 40

<211> 736

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 40

attggctttg tgcagccttc acttggggag attctgttct ccagtcttac accaactctg 60

attgtcactg gaactcctac tgaaggccaa acactacacg ctggggttga caagttaaca 120

gtgacatggt ccctcaacca gagcttacct ttggacactg agtcagccta taagaagata 180

aaaatccttc tctgctatgc tccagtgagc cagaaagacc gcgggtggcg caaaacagta 240

gataacctca agaaggacaa gacgtgccag ttcacaatta ctgaacaaac ctacagttcc 300

aagggtactt tcgaatacac agttaaacgc actataccaa ctgcaaccta tttcatcagg 360

gcatatgcat ttgactcttc agacatagag gttgcctatg ggcagtccac caacccagcc 420

aaggctacca acttgttcaa tgttgaaggc atcactggac ttaccaaacc actagagatc 480

gccgccggtg tcttctcagc cttctctata attgcactga tctacttctt tgtggttgag 540

aagaggaaga agcactaaca atgatgatga tggtgacgat ttgtttgcta atttacaaac 600

taaggtgtta attgtgttgc atatatactt gaatgtatat gtgcattggc tttttactac 660

tgtattgaga gaaggaagaa gttgcatttt ggatttttat tgtgaagtat acgttgtact 720

tttagaactt gtggct 736

<210> 41

<211> 741

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 41

atggaacatc ttaccttgta tgcgatggct atgttgtttt ttgtccattt tacaatcaaa 60

atttcagctc agactgcaac tgctccagcc ccagcaggac caaccaatat aactgcaata 120

cttgaaaagg cagggcagta tactactttc atgcgattgc tcaagagcac gcaagtagga 180

aaccaaataa ataatcagct aaacaactca aattctggcc tcactgtatt tgcaccaact 240

gataatgcat tcactaatct ccccccctggc acactgaact ccctttctga tcaacagaaa 300

gttgcactga tccaattcca tatccttcca aactttatct caatgtcaca gttccagaca 360

gtcagcaatc cactccgaac acaagccggg gatgcttcga atggccagtt cccgttgaat 420

gtgacatcca tgggaaacca ggtgaacatc actacaggca ttaccaacac acctgtttcc 480

aacacattat actcggataa tcaacttgca gtctaccaag ttgatcaagt gcttcgtcca 540

ttggagctct ttggagcaca agctccagca cctgctccat ccaaagataa aaagaagaag 600

gcttctacct ttgctgatgg accagcatca aacactccaa cagattcgac agacacttct 660

attgcaatgc ccttgaattt atacacattt ggaggcatta catttgcagc agttgcactt 720

tccgcttggt ggagtttttg a 741

<210> 42

<211> 1338

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 42

atggaacaac attgttcgac tgagacttgc agctttggtg accaattgac tagtgatgtt 60

atagtttgtt tgaacaaaga tcgcatgcct gagcggtttc atctccactc agccattttg 120

aggaaacaaa gcaactattt cgcgaaatgg ttttctgaga accttacttt tacttctgag 180

tccaattgtt gcattgatgt taactgccca gtatctgagt atgaacatta catcaagctc 240

ttaaagctat tgtatctctc tgaagagttt gtttcagact tgttggattc tgtcaagtct 300

gcaattggtg ttcttcaggc ttcagttgct cttgaatgtg gagaagttgc taggatttgt 360

attcagtact tggaatctgt atcttgggat gaaaatgaag aggagaaaat tatagaattg 420

gcacctagac tgggcccaga ggctgctcca ttattggcac ggatacatcc tgctgatacc 480

agtgctacaa aaaatgtatt cctctctgct atccgttttg ccactactgt cacgacttca 540

tgtcctccat ttgcggatga acttaaaatt tcagcacaag aacaagttga gtacatgctt 600

ttagaggacg atgactctgc actaataaca gtggatgatg atgtaatgtc tgaggtgaag 660

atatgccttg ccaaaatgtt tacctcacta gagatagcaa tgaaggaact gccctcgaga 720

ttcgatcaat caccagaaac cgctgaacag aaagtattga attgccttgc tgatcttgag 780

tggatcacta atgtacttcc aaaaatggaa atgatgcaag attttgtttc catttggaat 840

caaatctcca gtcatatctt gtccgttgct tgcgaagaga aatacagctc aagcttgtgg 900

gcgataaaac taaagttaat tgaactaaca ggaaaggctt tggatgcagt tggttatggc 960

actgtggttc ttccagcatc aactagagtc cagttcttaa atacttggct tccttatatt 1020

agaacaatga agcctatatt agactcgaaa agcttagatg atgaagcgtt tccatacaaa 1080

atggatagtg atttatgcca gaatattgaa ggtgcaatta catcattact atcagcatta 1140

ccatcaaacg accaagcaga catccttgca gaatggatta agatgacaga acagttaaag 1200

tatcctgatt taaccgaggc attcgaagtc tggtgttata ggaccaaggc agcaaagagg 1260

agaatattga tcttgaaaat tttcaaggcg acggtgttgc ttatcgacca atcttcaaaa 1320

ttggcgagac gtttgtaa 1338

<210> 43

<211> 450

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 43

atggccgacc agctgacaga agaacagatc gctgagttca aggaggcttt ctcactcttc 60

gacaaggatg gcgatggcac catcaccacc aaggaacttg gcacagtcat gagatcctta 120

gggcagaacc ccacagaagc tgaactgcaa gacatgatca atgaagtgga tgctgatgga 180

aacggcacta ttgacttccc tgagttcctg accatgatgg cgaggaagat gaaggacacc 240

gacagcgagg aggagatcag agaggcgttc cgagtgttcg acaaggacgg caatggcttc 300

atcagtgctg ctgagctgag gcatgtcatg accaacctgg gcgagaagct gacagacgag 360

gaggtcgacg agatgatccg tgaagcggac attgatggcg atggccaggt taactatgaa 420

gaattcgtca ccatgatgac gtcaaagtga 450

<210> 44

<211> 465

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 44

atgagaccag gagctagttt cagtgcatct acaacctccc aagctcaacc cccagctccc 60

cactacacag ttccacactc cccatggcac tctccagtcc cctacctctt cgggggcctc 120

gcggcgatgc tcggcctcat cgccctagct ctcctcatcc tcgcatgctc ctactggaag 180

ctctcggggt acctcgactc tgcgaccgat agtgaaggcc gaaacagctc tgaggacact 240

gaagggaagt ttggcgatgg cgaggccacc aagccggccc cattcttcga ggaacggttc 300

cttgtcatca tgccgggtga tttgaagccc acacagcttg ctactcccgt tgctagccgt 360

gttgcgtctt ttgatgagaa gtccgtcgag aattgtggga gtgaggttgg ggttaagtta 420

caggctggtg atgagaatcg aggggaaagt gaaggacaac agtag 465

<210> 45

<211> 513

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 45

atgagcttct caaagcatgc ttttcgcttc atggttgccc tagctgcact attaatccca 60

actccccaag ccacagctca agagtcccca gtagactatg taatctacca caattcagct 120

cgatttgccg tcggcaaccg tcaagtgggc tgggaccagg agttggcaga ctatgcccag 180

aactatgcca acgatcgcca agagaactgt gagttggtga actcaggcgg gccatatggt 240

gaaaacatct tcttgggcat gggcagagag tttactgcct tggatgccgt tttatcttgg 300

gtatctgaga gacaatacta tgactacagc tctaacagtt gtgctgccgg aaaagtttgt 360

gggcattacg ctcaagttgt gtgggcagag acgatgatga ttggttgtgg ccgtgtgaag 420

tgcagcagtg gagcttattt cattatctgc agctattatc ctccagccaa tcaaccttgg 480

gagagacctt atgaaacatt ggatgatgca taa 513

<210> 46

<211> 1455

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 46

atgggcgttg tctcggtccc cagctctgct tctcggtcgc cgataggcat tccggcaacg 60

aagtcccggc gatcaccggt tctccggaag agaattatgt ttgctgagaa tcgagtcgta 120

aagtgctcgg ccttggtgac gacctcgccg gagccggcgc cggaaacttt gaagaaggaa 180

tctaagaaac gtcgtgcgag aattggaaag aagtccaagg aaccgaattc tgtgcaagaa 240

ttggactata atgaggtggc tgcaacactg gagaatatat acaagcttag tttgactgag 300

gtcttggaag ttgagaagga gaagattggg aagaggcaga agaagcgagt tgtggtgaga 360

aacgggaaga ggagagggaa gaggttgagt cttgagaaga ggattaagtt gaaggaaagc 420

aaagttggag aaggtgaaga tgtggatgag agaaaggagg aagaggagag gaagttggag 480

agattggtga gggagtattc gtcgacgacg acaacggatt tgaatggtac tgattggaag 540

aagatgcgta ttcctccggt gcttggttca gtagagcata gatggctttt taggcttatg 600

caaccgatga aggcagtgct agaaatgaag gaaagcttaa acaaggattt gagtcgtgaa 660

ccagctgatt gtgaattggc tgctgcagta aatatgagtg tgatagaaat gcgtagacac 720

attgaagttg gtcaagcagc aaggaacaaa ctaatcaagc acaatctccg actagttttg 780

tttgtcatga acaagtatca ctccgagctt tctaacggac agaagtttca agatctctgt 840

caagctgggg taaagggtct tattacagca attgaccgtt ttgaaccaaa gcgtggtttt 900

cgtttatcaa catatggcct cttctggatc cgacattcta ttattcgatc aatgacactt 960

tcaagtttca caaaagttcc ctttggaata gaatcggtca gacaagagat tcagaaggcc 1020

aaactggagc tatcattcga gttagtaaga ttgccaactg tggatgagat aactcagaga 1080

gctggaatat catcagagag atataacgat gtcatgaagg cctccaatcc aatgtactct 1140

cttcattcaa ggcatattgt gacacaagaa gaatttatca acggaattgc agatattgat 1200

ggattcggag gtgataaacg tcgacaagct acacttcttc ggcttgctct tgatgatgtc 1260

cttgattcac tgaagcctaa ggagagcttg gtcattaggc agcgatacgg gcttgacggg 1320

aggggcaaca ggacattggg tgagatcgca ggaaatctta atatatcaag agaaatggtc 1380

cggaaacatg aactgaaggc acttctgaaa ctcaagcatc ctactcgcct tgactatctc 1440

cgcaaatatg tttga 1455

<210> 47

<211> 1419

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 47

atggatgtaa tctgtgagct aggcctcgag aggtgccagg acacaatgat tggagggtca 60

tttgtaagag gagtttcagg tggtgagaga aagcgggtat ctattggaaa tgagataata 120

attaacccat ctattttgtt tctggatgaa cccacatctg gcctagattc aacgacagct 180

ctaaaagtag ttcgagtatt gcaagacata gccgagtctg gcaaaacagt catcacaact 240

attcaccagc catctagcag actctttcat aaatttgata aattgatcct ccttggaaag 300

ggtagtctgc tatactatgg aaaggcatca gaatctctgg tttatttttc atccattgga 360

tgttcaccac tcattgcaat gaacccagca gaattcattt tggatcttgc taatggcaat 420

atggatgacg tttcaatacc ttcagaacta gaggacagag tgcagacaga aaacctcgga 480

agtaatataa gaagtgagaa gccatctcca aaagatgtgc atgagtacct tgttgaagcc 540

tatgaaactc gtgttgctca tgaagaaaag aaaagacttt tgacacctct ttctataagt 600

gaagatttga gggccatagt aacatcatca aagaggaggt ggggagcaag ttggtggcaa 660

caatattcta tactgtttta tcgaggactg aaggaaaggc gtcatgatta cttgagttgg 720

atgagaatta ttcaagtgat tacaactgca atcattcttg gcttactctg gtggcgctca 780

aaaagtaaaa ccacacaaga catgcaagat caggcaggat tgctattttt cattgctgtc 840

ttttggggat tcttccctgt tttcacggca attttcacat tcccgcaaga aagggctatg 900

ttaaataagg aaagagctgt tgatatgtat aggctaagtg catacttcat ggccaggaca 960

acaagtgact tgcctctgga cctcttccta cctgtagtat tcctgataat tgtctacttc 1020

atggcaggac taagacagaa tgtcgaatcc ttctttctta gcatgcttat tgtgtttctc 1080

agcattgttg ctgctcaggg catgggattg gcaattggag catctctgat ggacattaag 1140

aaagcaacta ctttagcttc ggtgacagta atgacattca tgcttgctgg tggattcttt 1200

gtgaagagag ttccggtgtt catatcatgg atcaagtacc tttctttcaa ttatcatact 1260

tacaggctcc tacttaaggt gcagtatgac cacattccac cctctcttgg aattgcacac 1320

atggacaatg gtctcaagga agtaggagct atgattgcaa tggtgtttgg ttacagaatg 1380

ttagcataca tttccttgag acgaacaaag gtcaaatag 1419

<210> 48

<211> 1359

<212> DNA

<213> Tradescantia reflexa

<400> 48

atggcaactg ctaccacgag aaccactgtc cctgaagttc gaatcctatc aaagcatgta 60

atcaagccaa cacctcgacc aaacgaagaa tcacccctta ttattcacct cactccttgg 120

gatcaaatac tcctaaccgt cgactatatc caaaaaggct tgcttttccg caaaccacag 180

aacaaccaag aagacatcat tgccaaactc aagtactcct ttggtctcgc actgaaccac 240

ttctttccct tagctggtcg ccttgttgtc accaaccata gcaacacaat aacctcgccg 300

tcaatatcga tttccatcga atgcaatgat cgtggcgccg agttcattca tgctgccgcc 360

ccagaggtta ctgtagccga tatcgtaaag cctctttaca taccatctgt cgtcctgtca 420

ttcttcacac tcaatgctgt ccctagcatc gatggctgta ctctcccccc tctcgctgtc 480

caggtcaccg agctgatgga tggcttcttc attggcatgt cgataaacca cccggcggcc 540

gacgggacgt gtttctggca tttctttaac aaatggtcgg agatatgccg gaccggcatt 600

gaaacaatta agaatccgcc cgttcttgat cgctggttcg ttgactcatg taagccacca 660

atcaagctac cattcagtac cgaactggag ttcgttagta ggtacccaag gcccaaaatt 720

acagaatgct acttcgaatt ctcagctgag tcagtggcat cacttaaggc caaggctaat 780

caggaaatgg gcactgagag gatttcctca ctgcagtcat tgctagcaca cttgtggcgt 840

tgcgttacga gggcacgacg gcttgagcct aacgatgagg ttgtgtactc gttcttgatt 900

ggatgccggt cacggcttac acccccaatg cctgcagagt accttggcaa tgctgttttt 960

attgggaaag cattagccaa ggctggagaa ttgctggaga atggcttggg ttgggcagcc 1020

tggactctta atcagatggt tgcctctttt actgaggacg cggtgaggaa aaatcttgag 1080

gaatgggaac aaaagccttt ttttgcatat atccaacgcg taaagccagg agaactggtt 1140

acagggagtt caccgaggtt tgacgtatat gggaatgatt ttggatgggg gaaaccagtg 1200

acggtgagga gtggttgtgg gaacaaaggt gatgggaagg caactatatt tcccgggccg 1260

gagaaaggga gcatggcatt ggaattgagt ttgttgcctg atgtattgag cttgctagtt 1320

gatgatcccg agtttatgga attggtgagg aagaactaa 1359

<210> 49

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 49

atgatggctg gaacagaacc 20

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 50

gaccgattcc ctgatgaaga 20

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 9

【변경전】

LA12

【변경후】

FLA12