



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0150017
(43) 공개일자 2022년11월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6895 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6895 (2018.05)

C12Q 2600/13 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0057184

(22) 출원일자 2021년05월03일

심사청구일자 2021년05월03일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

오만호

대전광역시 유성구 지족동로 124, 103동 301호(지족동, 노은리슈빌3)

허윤강

충청북도 영동군 용화면 여의로 342

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

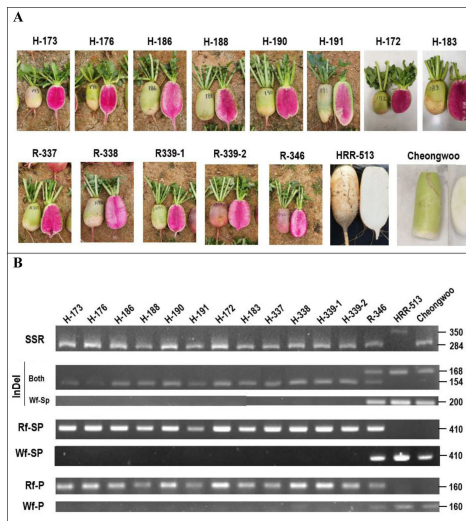
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 무의 뿌리 과육색 판별용 분자마커 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 서열번호 13 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 14 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 16 및 서열번호 17의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 18 및 서열번호 19의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 20 및 서열번호 21의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 서열번호 22 및 서열번호 23의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트;로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 프라이머 세트를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 프라이머 세트 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도7



(72) 발명자

김소윤

대전광역시 유성구 문화원로6번길 27, 304호(장대동)

윤근호

대전광역시 서구 대덕대로 319, 606호(월평동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1395070029

과제번호 PJ01481605

부처명 농촌진흥청

과제관리(전문)기관명 농촌진흥청

연구사업명 신농업기후변화대응체계구축(R&D)

연구과제명 해성 기작 연구(5공동) 주요 채소(고추, 배추, 무, 양파, 마늘) 내재해성 판별 표준 검정방법 개발 및 내재

기 여 율 1/1

과제수행기관명 충남대학교

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 13 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 14 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 16 및 서열번호 17의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 18 및 서열번호 19의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 20 및 서열번호 21의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 서열번호 22 및 서열번호 23의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트;로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 프라이머 세트를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 프라이머 세트 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열번호 13 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 14 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 16 및 서열번호 17의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 18 및 서열번호 19의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 20 및 서열번호 21의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 서열번호 22 및 서열번호 23의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트;를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 프라이머 세트 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 키트.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 증폭 반응을 수행하기 위한 시약은 DNA 폴리머라제, dNTPs 및 버퍼를 포함하는 것인 키트.

청구항 5

무 자원의 시료에서 총 DNA를 분리하는 단계;

상기 분리된 총 DNA를 주형으로 하고, 제1항 또는 제2항에 따른 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및

상기 증폭 단계의 산물을 검출하는 단계를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 증폭 산물의 검출은 DNA 칩, 젤 전기영동, 방사성 측정, 형광 측정 또는 인광 측정을 통해 수행되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 무(*Raphanus sativus* L.)의 뿌리 과육색 판별용 분자마커 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 무(*Raphanus sativus* L.)는 브라시카과에서 경제적으로 중요한 뿌리 채소로, 식용의 뿌리(taproot), 새싹 및 종자유 생산을 위해 재배되며, 전 세계적으로 소비되고 있다. 무 뿌리는식이섬유, 탄수화물 및 필수 미네랄과 인간에 유익한 유기 영양분을 포함하고 있다. 또한, 적색 무에는 상당한 양의 안토시아닌, 페놀 화합물 및 플라보노이드가 축적되어 있어, 항산화 활성이 상당한 것으로 보고되었다. 무의 뿌리는 일반적으로 네 가지 유형의 컬러 패턴을 보인다: 적색 껍질/적색 과육(RsRf), 녹색 껍질/적색 과육(GsRf), 적색 껍질/백색 과육(RsWf), 백색

겉질/백색 과육(WsWf).

- [0003] 지난 30년간 육종 표적의 하나는 기능성을 향상시킨 적색 무 품종이었다. 적색 무 품종은 높은 안정성 및 인공 색소(Food Red No. 40)와의 높은 유사성을 가지는 안토시아닌의 존재 때문에 천연의 식용색소의 잠재적 소스였다. 6가지 안토시아닌 중에서, 펠라르고니딘(pelargonidin) 기반 안토시아닌이 적색 무에서 주로 발견되었고, 이러한 사실은 적색 무의 안토시아닌 조성이 시아니딘(cyanidin) 또는 델피니딘(delphinidin) 기반 유도체를 포함하는 다른 식물체의 구성과 구별되도록 하였다.
- [0004] 유전학적인 관점에서, 안토시아닌 생합성은 플라보노이드 경로에 관여하는 EBGs (early biosynthesis genes) 및 LBGs (late biosynthetic genes)의 2개 그룹의 유전자에 의해 조절된다. EBG 그룹은 *CHS* (chalcone synthase), *CHI* (chalcone isomerase), *F3H* (flavanone 3-hydroxylase), *F3'H* (flavanone 3'-hydroxylase) 및 *FLS* (flavonol synthase)의 유전자로 구성된 반면, LBG 그룹은 *DFR* (dihydroflavonol 4-reductase), *LDOX/ANS* (leucoanthocyanidin oxygenase/anthocyanidin synthase), *ANR* (anthocyanidin reductase) 및 MYB-bHLH-WD40 (MBW) 복합체에 의해 활성화되는 *UD3GT* (UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase)를 포함한다. MBW 복합체는 R2R3-type MYB123 (TRANSPARENT TESTA 2; TT2), bHLH042 (TRANSPARENT TESTA 8; TT8) 및 WD repeat (TRANSPARENT TESTA GLABRA 1; TTG1)으로 구성되어 있다.
- [0005] bHLH 단백질은 26개의 하위 그룹을 가지는 큰 종류의 전사인자이다. 플라보노이드 관련 bHLH는 하위 그룹 IIIf로 클러스터링되며, N-말단에 MYB-상호작용 영역(MIR), 뒤이어 산성 도메인을 통한 WDR 상호작용 영역(WD/AD), 그리고 다른 bHLH 단백질과 동형이합체 또는 이형이합체의 형성을 매개하는 bHLH 도메인 및 C-말단 영역을 포함하고 있다. 그래서, bHLH 전사인자는 R2R3 MYB과 함께 식물에서 안토시아닌 생합성에 중요한 역할을 한다.
- [0006] 식물체에서 다수의 플라보노이드 연관 *bHLH* 유전자가 확인되었다: *GL3* (GLABRA3), *EGL3* (ENHANCER OF GLABRA3), *MYC1*, *TT8*. 각각의 *bHLH* 유전자는 부분적으로 중복되는 방식으로 둘 이상의 형질을 조절하는데 관여한다. 안토시아닌 축적에 있어서 *TT8* 유전자의 중요한 역할이 게노믹 및 전사체 연구를 통해 확인되었다. *B. rapa*, *B. juncea* 및 *B. oleracea*에서 전이성 원소나 돌연변이에 의한 *TT8*의 결여된 발현은 안토시아닌 축적의 차이를 야기하였다. 또한, *RsTT8*의 상향 조절은 무의 붉은 겉질 또는 붉은 과육과 관련이 있는 것으로 보고되었다. 그러나, 무의 착색과 연관된 *RsTT8*의 다형성에 관한 것은 보고된 바가 없다.
- [0007] 한편, 한국등록특허 제2108750호에는 '사과 과육색 판별용 마커'가 개시되어 있으나, 본 발명의 '무의 뿌리 과육색 판별용 분자마커 및 이의 용도'에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 백색 과육의 무와 적색 과육의 무 자원의 *RsTT8* 유전자를 비교하여 염기 다형성(InDel, SNP, SSR)을 확인하였으며, 상기 다형성 정보에 기반한 분자마커를 개발하여 과육색이 다른 무 자원들을 대상으로 PCR 검증을 수행한 결과, InDel 및 SNP 기반의 분자마커가 무 자원의 뿌리 과육색을 정확하게 판별할 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 서열번호 13 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트; 서열번호 14 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트; 서열번호 16 및 서열번호 17의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트; 서열번호 18 및 서열번호 19의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트; 서열번호 20 및 서열번호 21의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트; 및 서열번호 22 및 서열번호 23의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트;로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 프라이머 세트를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 프라이머 세트 구성물을 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 상기 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 키트를 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 무 자원의 시료에서 총 DNA를 분리하는 단계; 상기 분리된 총 DNA를 주형으로 하고, 상기 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및 상기 증폭 단계의 산물을 검출하는 단계를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명의 분자마커는 조기에 무 자원의 뿌리 과육색을 판별할 수 있으므로, 무 신품종 육성, 품종 보호 및 종자 순도 유지에 효율적인 바이오 마커로 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 발아 후 35일령의 무 뿌리 시료에서 껍질과 과육의 안토시아닌 함량을 측정한 결과(A)와 수확기의 무 시료의 사진(B)이다.

도 2는 안토시아닌 생합성과 관련있는 유전자의 발현 수준을 semi-quantitative RT-PCR을 통해 분석한 결과이다. L: leaves, H: hypocotyls, R: roots (발아 후 7일령의 뿌리, 이 시기에는 껍질과 과육이 구분되지 않음), s: skin, 및 f: flesh. 별표는 발현수준이 안토시아닌 축적과 밀접한 관련이 있는 것을 가리킨다.

도 3A는 *RsTT8* 유전자의 게놈 DNA 모식이며, 도 3B는 클로닝된 *RsTT8* 유전자의 게놈 구성을 보여준다. 박스 및 E는 엑손을, 실선 및 I는 인트론을 의미하며, 화살표는 프라이머의 위치 및 방향을 나타내고, MRE는 MYB-recognition motif를, BRE는 bHLH-recognition motif를 의미한다.

도 4는 *RsTT8* 대립유전자의 계통발생학적 관계를 분석한 결과이다. 괄호 안 숫자는 각 대립유전자의 염기 갯수를 의미한다.

도 5는 GUS 염색과 RT-PCR을 통한 프로모터 활성 분석 결과이다.

도 6은 과육색이 다른 근교계(Inbred line), 육종 소재(Breeding) 및 F₁ 품종의 무 자원을 대상으로 본 발명에서 개발한 분자마커를 이용한 PCR 결과이다. InDel 마커에서 Both는 Radish-F 및 Radish-R 프라이머 세트를, Wf-Sp는 Wf-F 및 Radish-R 프라이머 세트를 의미한다. GsRf: 녹색 껍질/적색 과육, RsRf: 적색 껍질/적색 과육, RsWf: 적색 껍질/백색 과육, WsWf: 백색 껍질/백색 과육, GsGf: 녹색 껍질/녹색 과육, PsPf: 분홍색 껍질/분홍색 과육. 괄호 안은 품종 또는 계통명칭이다.

도 7은 한국에서 시판되는 F₁ 품종을 대상으로 본 발명에서 개발한 분자마커를 검증한 결과이다. A는 사용된 무 자원의 과육색을 보여주는 사진으로 H는 inbred, R은 recombinant 계통을 의미하며, B는 PCR 결과이다.

도 8은 과육색이 다른 무 자원간 *RsTT8* 유전자 염기서열의 다중정렬 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 13 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 14 및 서열번호 15의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 16 및 서열번호 17의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 18 및 서열번호 19의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 서열번호 20 및 서열번호 21의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 서열번호 22 및 서열번호 23의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트;로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 프라이머 세트를 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 프라이머 세트 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 프라이머 세트 조성물은 상기 6개의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트에 이루어진 군으로부터 선택되는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상의 프라이머 세트를 포함하며, 6개의 프라이머 세트를 모두 포함할 수 있다. 상기 6개의 프라이머 세트를 동시에 이용하면 무 자원의 뿌리 과육색 판별을 더욱 효율적으로 수행할 수 있다.

[0016] 본 발명의 프라이머 세트 조성물에 있어서, 판별 가능한 무 자원의 뿌리 과육색은 적색 및 백색이다.

[0017] 본 발명에 따른 프라이머 세트 조성물에 있어서, 상기 서열번호 13 및 서열번호 15; 및 서열번호 14 및 서열번호 15;의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트는 *RsTT8* 유전자의 ATG 시작 코돈 상류의 InDel (Insertion/deletion) 다형성에 기반한 것이고, 서열번호 16 및 서열번호 17; 서열번호 18 및 서열번호 19; 서열번호 20 및 서열번호 21; 및 서열번호 22 및 서열번호 23;의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트는 SNP (single nucleotide polymorphism) 변이에 기반한 것으로, 서열번호 16 및 서열번호 17; 및 서열번호 18 및 서열번호 19;의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트는 *RsTT8* 유전자의 코딩 서열 내 SNP 다형성을, 서열번호 20 및 서열번호 21; 및 서열번호 22 및 서열번호 23;의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트는 *RsTT8* 유전자의 프로모터

서열 내 SNP 다형성을 기반으로 제작된 것이다.

- [0018] 본 발명의 상기 올리고뉴클레오타이드 프라이머는 각 프라이머 서열 길이에 따라 서열번호 13 내지 23의 서열 내의 22개 이상, 23개 이상, 24개 이상, 25개 이상, 26개 이상의 연속 뉴클레오타이드의 절편으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 예를 들면, 서열번호 13의 프라이머(23개 올리고뉴클레오타이드)는 서열번호 1의 서열 내의 18개 이상, 19개 이상, 20개 이상, 21개 이상, 22개 이상의 연속 뉴클레오타이드의 절편으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 또한, 상기 프라이머는 서열번호 13 내지 23의 염기서열 부가, 결실 또는 치환된 서열도 포함할 수 있다.
- [0019] 본 명세서에 있어서, "프라이머"는 카피하려는 핵산 가닥에 상보적인 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드 서열을 말하며, 프라이머 연장 산물의 합성을 위한 개시점으로서 작용할 수 있다. 상기 프라이머의 길이 및 서열은 연장 산물의 합성을 시작하도록 허용해야 한다. 프라이머의 구체적인 길이 및 서열은 요구되는 DNA 또는 RNA 표적의 복잡도(complexity)뿐만 아니라 온도 및 이온 강도와 같은 프라이머 이용 조건에 의존할 것이다.
- [0020] 본 명세서에 있어서, 프라이머로서 이용된 올리고뉴클레오타이드는 또한 뉴클레오타이드 유사체(analogue), 예를 들면, 포스포로티오에이트(phosphorothioate), 알킬포스포로티오에이트 또는 펩티드 핵산(peptide nucleic acid)을 포함할 수 있거나 또는 삽입 물질(intercalating agent)을 포함할 수 있다.
- [0021] 본 발명은 또한, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는, 무 자원의 뿌리 과육색 판별용 키트를 제공한다.
- [0022] 본 발명의 키트에서, 상기 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트는 전술한 것과 같다.
- [0023] 본 발명의 키트에서, 상기 증폭 반응을 수행하기 위한 시약은 DNA 폴리머라제, dNTPs, 버퍼 등을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 키트는 최적의 반응 수행 조건을 기재한 사용자 안내서를 추가로 포함할 수 있다. 안내서는 키트 사용법, 예를 들면, PCR 완충액 제조 방법, 제시되는 반응 조건 등을 설명하는 인쇄물이다. 안내서는 팜플렛 또는 전단지 형태의 안내 책자, 키트에 부착된 라벨 및 키트를 포함하는 패키지의 표면에 설명을 포함한다. 또한, 안내서는 인터넷과 같이 전기 매체를 통해 공개되거나 제공되는 정보를 포함한다.
- [0024] 본 발명은 또한, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 이용한 무 자원의 뿌리 과육색 판별 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 구체적으로는,
- [0025] 무 자원의 시료에서 총 DNA를 분리하는 단계;
- [0026] 상기 분리된 총 DNA를 주형으로 하고, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및
- [0027] 상기 증폭 단계의 산물을 검출하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 방법은 무 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 단계를 포함한다. 상기 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 방법은 당업계에 공지된 방법을 이용할 수 있으며, 예를 들면, CTAB 방법을 이용할 수도 있고, Wizard prep 키트(Promega 사)를 이용할 수도 있다. 상기 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 본 발명의 일 실시예에 따른 프라이머 세트를 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 일 구현 예에 있어서, 상기 증폭된 표적 서열은 검출가능한 표지 물질로 표지될 수 있다. 상기 표지 물질은 형광, 인광 또는 방사성을 발하는 물질일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는, 상기 표지 물질은 Cy-5 또는 Cy-3이다. 표적 서열의 증폭시 프라이머의 5'-말단에 Cy-5 또는 Cy-3를 표지하여 PCR을 수행하면 표적 서열이 검출가능한 형광 표지 물질로 표지될 수 있다. 또한, 방사성 물질을 이용한 표지는 PCR 수행 시 ^{32}P 또는 ^{35}S 등과 같은 방사성 동위원소를 PCR 반응액에 첨가하면 증폭 산물이 합성되면서 방사성이 증폭 산물에 혼입되어 증폭 산물이 방사성으로 표지될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따른 증폭된 표적서열은 루나 프로브와 PCR 반응 시약 혼합물 내에 포함된 형광 물질을 통해 표지될 수 있다.
- [0030] 본 발명의 일 구현 예에 있어서, 상기 증폭 산물의 검출은 DNA 칩, 젤 전기영동, 방사성 측정, 형광 측정 또는 인광 측정을 통해 수행될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 증폭 단계의 산물을 검출하는 방법 중의 하나로서, 젤 전기영동을 수행할 수 있으며, 젤 전기영동은 증폭 산물의 크기에 따라 아가로스 젤 전기영동 또는 아크릴아미드 젤 전기영동을 이용할 수 있다. 또한, 모세관 전기영동을 수행할 수 있다. 모세관 전기영동은 예를 들면, ABI Sequencer를 이용할 수 있다. 또한, 형광 측정 방법은 프라이머의 5'-말단에 Cy-5 또는 Cy-3를 표지하여 PCR을 수행하면 표적 서열이 검출가능한 형광 표지 물질로 표지되며, 이렇게 표지된 형광은 형광 측정기를 이용

하여 측정할 수 있다. 또한, 방사성 측정 방법은 PCR 수행 시 ^{32}P 또는 ^{35}S 등과 같은 방사성 동위원소를 PCR 반응액에 첨가하여 증폭 산물을 표지한 후, 방사성 측정기구, 예를 들면, 가이거 계수기(Geiger counter) 또는 액체섬광 계수기(liquid scintillation counter)를 이용하여 방사성을 측정할 수 있다.

[0032] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0034] **재료 및 방법**

[0035] **1. 식물재료**

[0036] 무 뿌리(taproot)의 색 분석을 위해서 사용된 근교계 종자 HKR-397 (GsRf), HKR-275 (RsRf), HKR-519 (WsWf) 및 HKR-513 (RsWf)는 한국종묘(주)로부터 제공받았다. 그 외 본 발명에서 사용된 종자 또는 조직은 한국종묘로부터 제공받거나, 지역 시장에서 구매하였다. SSR (simple sequence repeat)의 수를 확인하기 위해 사용한 점플라즘(germplasm)은 국립농업과학원 농업유전자원센터(National Agrobiodiversity Center)로부터 얻었다.

[0037] 종자는 다중-홀 포트에서 발아시킨 후, 적당한 포트로 옮겨 심은 후 environmental growth chamber 또는 유리온실에서 성장시켰다. 각 식물체는 각 샘플링 단계 (유묘, hypocotyl skin 탈착 전, hypocotyl skin 탈착 후 및 수확 단계)에서 사진을 찍은 후 샘플링하였고, 사용전까지 얼려서 보관하였다.

[0039] **2. 게노믹 DNA 추출, 클로닝 및 서열 분석**

[0040] 4종의 무 근교계로부터 *RsTT8* 유전자를 클로닝하기 위해서, NCBI 및 두 개의 무 게놈 데이터베이스 (<http://radish-genome.org/>, <http://www.nodai-genome-d.org/>)로부터 얻은 서열 정보에 기초하여 프라이머를 제작하였다(표 1). 게노믹 DNA는 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany)를 사용하여 잎 시료로부터 추출하였다. 프라이머 세트를 사용하여 다음의 조건에 따라 PCR을 수행하였다: 94℃에서 5분간 초기변성 후 94℃에서 30초 변성(denaturation), 58℃에서 30초 결합(annealing), 및 72℃에서 2~5분 신장(extension)으로 이루어진 증폭 과정을 30회 반복한 후, 72℃에서 7분간 최종 신장. PCR 산물은 LaboPass Gel Extraction Kit (CosmoGenetech, Korea)를 사용하여 정제하고, T&A Cloning Kit (RBC Bioscience Co., Taiwan)를 사용하여 TA 벡터로 클로닝하였다. 클로닝된 플라스미드를 대장균 (DH5α) 균주로 형질전환한 후, 플라스미드 DNA를 DNA-Spin (Intron Biotech. Inc., Korea)을 사용하여 정제한 후 서열분석하였다. 각 점라인(germline)에서 가능한 모든 서열을 얻기 위해서, 각 라인별 최소 10개 클론을 서열분석하였다. PCR 및/또는 시퀀싱 에러는 독립적인 서열 정렬을 통해 제거하였다.

[0041] 무 시료에서 유전자의 유무를 확인하기 위한 게노믹 PCR은 5 ng의 게노믹 DNA를 이용하여 다음과 같은 조건으로 수행되었다: 94℃에서 5분간 초기변성 후, 94℃에서 30초 변성, 60℃에서 30초 결합, 및 72℃에서 30초 신장으로 이루어진 증폭 과정을 29회 반복한 후, 72℃에서 5분간 최종 신장. PCR 산물은 1.5% 아가로스 겔을 사용하여 분리하였다.

II 1

본 발명에 사용된 프라이머 정보					
Purpose	Primer name	Sequence (5'→3')	시열번호	Annealing temperature(°C)	No of cycles
Cloning	RstT8-F1	CACAGCTAGCCGCATCAATA	1		
	RstT8-F2	TGtGGCTACTtGGCTAGCAA	2		
	RstT8-F3	ACTTAAGGGCGtGGTGCAATCT	3		
	RstT8-F4	TtGCATtCCCGtGCTtGATtGG	4	58	30
	RstT8-R1	AGATtGCACCCAGCCtTAAAGT	5		
qRT-PCR	RstT8-R2	CCATCAAGCACGGGAATtGCAA	6		
	RstT8-R3	AGCAATgGtTGGtTtCTtCCtCTtC	7		
	RstT8-R4	CTAGAGtTATtTtTGAGATATgATtTtGATtGGC	8		
	RstT8-mF	AGCGACGCAGAGAGAGAG	9	58	40
	RstT8-mR	CTtTtGtTtTtGGCTCGtGAT	10		
SSR validation	SSR-F	GACGACACTGAGtGGtTtATtGTtGC	11	60	30
	SSR-R	ACTtCTCAgTtTtGtTtTAATtGTtCCA	12		
Indel validation	Radish-F	ACCCtTtCAgAGtTtGCAA GATCT	13		
	Wf-F	CTCtTtCAGAGtTtG GAGAGAGGC	14	60	30
CDS specific	Radish-R	AGATtGCACCCAGCCtTt AAGTA	15		
	Rf-Sp-F	GtACAGAACTATCACTAACCTtTGCAG	16	68	30
	Rf-Sp-R	AAATgTGCAcGGGATACCTAACTACT	17		
	Wf-Sp-F	GtACAGAAcATCAACCACTtGGCAgTcAT	18	69.1	30
	Wf-Sp-R	AAAGGtTACGGcATtACCTAAcTAATtTGG	19		
Promoter specific	Rf-PF	TtGGtGCACAAAAAAGGCCAAGA	20	65.5	26
	Rf-PR	CCCAGtTtAGATATAGtTtGACCCGA	21		
	Wf-PF	GGtTGACAAAAcGCCCAAGAA	22	59.5	30
Promoter::GUS	Wf-PR	CCAgtTtAGACATAGCTGACCCCA	23		
	BamHI	GCTtGGGAGtTtCTACTtGGCTAG	24	58	30
	NcoI	CATACCACTGGAGATtTtGCACCAcGC	25		

[0042]

3. RNA 추출 및 유전자 발현 분석

총 RNA는 RNeasy Mini Kit (Qiagen)를 사용하여 추출하였으며, 게노믹 DNA의 오염을 제거하기 위해 RNase-free DNase (Promega, USA)를 처리하였다. 그 후, Avian Myeloblastosis Virus One-step RT-PCR Kit (Takara, Japan) 및 유전자 특이적 프라이머(표 2)를 사용하여 RT-PCR (reverse transcription PCR)을 수행하였다. Semi-quantitative RT-PCR은 다음과 같은 조건으로 수행되었다: 94℃에서 5분간 초기변성 후, 94℃에서 30초 변성, 60℃에서 30초 결합, 및 72℃에서 30초 신장으로 이루어진 증폭 과정을 27회 반복한 후, 72℃에서 7분간 최종 신장. 증폭된 DNA 단편은 1.5% 아가로스 겔에 로딩하여 분리하고 EtBr (ethidium bromide) 염색하였다. qRT-PCR (quantitative real-time PCR)은 SYBR Green Realtime Master Mix (TOYOBO, Japan)와 MiniOpticon system (Bio-Rad, USA)을 사용하여 수행하였으며, 증폭 조건은 다음과 같다: 94℃에서 10분간 초기변성 후, 94℃에서 30초 변성, 58℃에서 30초 결합, 및 72℃에서 30초 신장으로 이루어진 증폭 과정을 40회 반복. 형광값은 각 회차의 마지막 단계에서 측정하였다. 모든 분석은 세 번의 생물학적 반복실험으로 수행되었다. 표적 유전자의 전사체 수준은 *RsActin1* 유전자와 비교하여 정규화되었으며, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법을 사용하여 분석하였다.

표 2

게놈의 DNA PCR 및 qRT-PCR에 사용될 프라이머							
Classification	Gene name		Forward primer		Reverse primer		
	Name	Sequence (5'→3') (서열번호)	Name	Sequence (5'→3') (서열번호)	Product (bp)		
EBG	CHS	tt4	CHS-F	GACTGGAACCTCCTCTTCTTGATAGC (26)	CHS-R	ACTCCACCCCTCTCTGTGT (27)	230
	F3H	tt6	F3H-F	CCAAATGCCCTCAGCTGATCT (28)	F3H-R	CGGATTCGGAAGTGGCTATTGAT (29)	270
	F3H	tt7	F3H-F	GGAAGTGCACAGCTCAGCAAGTACG (30)	F3H-R	TACGGGGCTATGGGCCATATGT (31)	300
	DRR	tt3	DRR-F	CTCTCTCTACTGCTGTAACGAGGC (32)	DRR-R	TCCATATCAATAGCTCTTGGAAGT (33)	270
LBG	LDOX	tt18 (ANS)	LDOX-F	GCTTAGAGCCTGACCGCTTAGAGA (34)	LDOX-R	GCTTACATCSGTGTGAGCTCCAC (35)	250
	MYB11	MYB11	MYB11/12-F	TGGGAACAGGTGCTCATTATTCG (36)	MYB11/12-R	GYGGAATCGTGGTTCCTCT (37)	210
	MYB12	MYB12	MYB111-F	GCTTAAGTTACCCCAMTTTGGCTCTC (38)	MYB111-R	GACCATGGTATCTACTGTGTGGAAC (39)	150
	MYB111	MYB48					
TFs for LBG	PAP1	MYB75	MYB1-F	GGAACAGGTGCTTCTTAATTGCTGG (40)	MYB1-R	TCGAGGTGGAAGTTGAAAAAGTC (41)	180
	PAP2	MYB90					
	TT2	MYB123	TT2-F	ACCAAGCTGGTCTCAAGAGGTG (42)	TT2-R	TGGAAGCTCTCCAGCTATCAAC (43)	150
	TT8	bHLH042	TT8-F	TGTGTCATTGTGGACCAAGATGGA (44)	TT8-R	TCTGGTACTGGATCTATCTATAA (45)	220
	GL3	bHLH001	GL3-F	GCGAAGAACATCATGCTAATTG (46)	GL3-R	GCTTGCAACTGACGGTTAAGCAGAG (47)	260
	EG13	bHLH002	EG1-F	TGAACCCCAAGAGAGAGAGATGATG (48)	EG1-R	GTCGAGACTGTGACGATGAGGAA (49)	220
	TTG1	WD-40	TTG1-F	CACCTCCACCATCATCATGAGAGAGC (50)	TTG1-R	GCAGTCGAATRTTGAGATACCAACT (51)	130
	MYB113	MYB113	MYB113-F	AGCGRATGCTATTGATGAATGAGGAAGG (52)	MYB113-R	CCAGCAATTAAAGCACCACTGTTTCTTA (53)	210
Repressor of MYB12	MYB12	MYB12	MYB12-F	GAGCATTCATCTCAAGCTTCATGC (54)	MYB12-R	CGATGATTGGTTGGATGCATCCCA (55)	140
	LBG	TCP3	TCP3-F	CCAGCTTATTCTCAGAGGGGTCC (56)	TCP3-R	TGACCTGAAACCGTGTGGTA (57)	220
	SP19	SP19	SP19-F	TGTGGTCGATGATGATGACATGG (58)	SP19-R	TCAGAGAGACCAAGTTATGTTGGA (59)	290
	CPC	a R3MYB	CPC-F	CTGTGAAGATGTGGGAGGAAGAAGA (60)	CPC-R	RVNCGGTTCATTAAGCCCAATATCT (61)	140
Upstream	HVS	HVS	HVS-F	GAATTAAGAAAGCGATGAAGAGATAGC (62)	HVS-R	TGCTTAACCATCTGGTCTGCTTGTC (63)	330
Control	ACT1	ACT1	ACT1-F	CCAGCCGCTGATGATTTGGATGGAG (64)	ACT1-R	CCACATCTGCTGGAAGTACTGAG (65)	280
	AtActin 7	AtACT7	AtACT7-F	TGGCCGATGGTGAAGATAT (66)	AtACT7-R	AACGGCTGAATGGTCAACA (67)	510

4. 프로모터 활성 분석

적색 과육과 백색 과육을 가진 무 뿌리 시료로부터 *RsTT8*의 프로모터 활성을 분석하기 위해서, 시작 코돈 상류 870 bp를 프라이머를 이용하여 증폭하였다. 증폭된 산물은 T&A 클로닝 벡터 (Real Biotech Co.)로 삽입시킨 후, 서열분석을 통해 프로모터 존재 여부를 확인하였다. 상기 단편을 *Bam*HI 및 *Nco*I를 사용하여 절단시키고, 동일한 제한효소로 처리된 pCambina3301-GUS 바이너리 벡터로 서브클로닝하였다. 상기 컨스트럭트를 아그로박테리움 투머파시엔스 (*Agrobacterium tumefaciens*) 매개 꽃대침지법을 통해 애기장대 식물체에 형질전환시켰다. 형질전환 식물체는 0.1% BASTA 제초제를 사용하여 선별하였으며, 게놈의 DNA의 PCR 분석을 통해 삽입 여부를 확인하였다. 단일 좌(locus)에 하나의 T-DNA 컨스트럭트를 포함하고 있는 T₃ 동형접합성 계통을 선발하여 프로모터 활성 분석에 사용하였다.

야생형 애기장대(Col-0) 및 형질전환체는 16시간 명/8시간 암의 광주기, 22℃의 온도 및 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 빛 세기 조건의 생장챔버에서 성장시켰다. 플레이트 배양을 위해서 종자를 0.1% Triton X-100을 포함하는 30%

표백제로 4℃에서 3일간 표면멸균한 후, 90 mM의 수크로스를 포함하거나 또는 포함하지 않는 균현 1/2 MS 배지에 치상하였다. GUS 발현의 RT-PCR 분석을 위해 세 개의 식물체를 샘플링하였고, 또 다른 세 개의 식물체는 GUS 염색 분석에 사용하였다. GUS 발현 연구를 위해, 식물체를 GUS 염색 용액 (1 mM X-GlucA in 100 mM sodium phosphate (pH 7.0), 5 mM Na₂EDTA, 0.5 mM potassium ferrocyanide, 0.5 mM potassium ferricyanide, 0.1% Triton X-100)에 담귀 37℃에서 16시간 동안 배양시켰다. 염색 후, 식물체는 야생형 애기장대 식물체가 깨끗해질 때까지 상온에서 95% 에탄올을 이용하여 세척하였다.

5. 마커 개발 및 검정

다양한 유전형의 시료로부터 DNA를 추출하고, 5~20 ng의 게노믹 DNA를 주형으로 하여 InDel, SNP 및 SSR을 구별할 수 있는 프라이머(표 1)를 사용하여 PCR을 수행하였다. 과육(flesh) 색을 확인하기 위해서, 10 pmol의 각 정방향 및 역방향 프라이머 및 4 μ l의 5X PCR Master Mix (Elpisbiotech, Korea)를 포함하는 20 μ l의 반응액을 제조한 후 PCR을 수행하였다: 94℃에서 5분간 초기변성 후, 94℃에서 30초 변성, 62℃에서 30초 결합, 및 72℃에서 30초 신장으로 이루어진 증폭 과정을 30회 반복한 후, 72℃에서 5분간 최종 신장. PCR 산물은 1% 아가로스 겔을 사용하여 확인하였으며, InDel 및 SSR 주변 DNA 서열을 클로닝하여 서열을 분석하였다.

실시예 1. 뿌리 색이 다른 4종의 무 선택

본 발명에서는 뿌리의 겉과 속의 색이 다른 양상을 보이는 4종의 무를 사용하였다: 적색 껍질에 적색 과육(RsRf), 녹색 껍질에 적색 과육(GsRf), 적색 껍질에 백색 과육(RsWf), 백색 껍질에 백색 과육(WsWf).

발아 후 35일령의 무 뿌리 시료에서 껍질과 과육을 대상으로 Lee and Wicker (J. Food Sci. (1991) 56:466-468)의 방법에 따라 안토시아닌 함량을 측정하였다(도 1A). 4종의 무 뿌리 시료의 껍질 및 과육색은 수확기에 보다 더 선명하게 차이 나는 것을 확인할 수 있었다(도 1B).

실시예 2. 안토시아닌 축적과 관련된 유전자의 발현 수준 분석

4종의 무 시료의 각기 다른 조직을 이용하여 안토시아닌 생합성과 관련있는 유전자의 발현 수준을 semi-quantitative RT-PCR을 통해 분석하였다. 그 결과, 도 2에 개시된 것과 같이 *DFR*, *LDOX* 및 *TT8* 유전자의 발현 수준이 안토시아닌 축적과 강하게 연관되어 있음을 알 수 있었고, 본 발명에서는 MBW (MYB-bHLH-WD) 복합체의 주요 전사인자인 *TT8* 유전자를 무의 안토시아닌 축적의 주요 조절자로 선택하였다.

실시예 3. *RsTT8* 유전자의 서열 분석

4종의 무 시료에서 *RsTT8* 유전자를 클로닝하여 서열분석한 후, 공지된 서열 정보와 비교하였다. 그 결과, 하기 표 3과 같이 SNP, InDel 및 SSR을 포함하는 다양한 다형성이 *RsTT8* 유전자의 프로모터, 엑손 및 인트론 지역에서 확인되었다. 적색 과육과 백색 과육 사이의 주목할 만한 다형성은 시작 코돈 상류 부위의 InDel과 2nd 인트론 시작 부위 (2nd 인트론의 시작 부위에 존재하는 [TC]_n)의 SSR이었다(도 3).

표 3

RsTT8 유전자에서 발견된 다형성

Region	Between Rf and Wf			WsWf-specific			RsWf-specific		
	SNP	InDel	SSR	SNP	InDel	SSR	SNP	InDel	SSR
Promoter	16	2	1	2	4	1	2	-	-
Exon	2	-	-	1	-	-	3	1	-
Intron	10	1	2	3	3	2	4	-	1
Total	28	3	3	6	7	3	9	1	1

염기서열의 계통학적 유연 관계 또한 적색 과육의 *RsTT8* 유전자와 백색 과육의 *RsTT8* 유전자에 차이가 있었다

(도 4). 이는 시료로 사용된 무가 2중 반수체(doubled haploid)가 아니라 근교계(inbred lines)일 것이라는 것을 암시하였고, Wf는 명확하게 Rf 대립유전자와 분리되었다. 그러나, *RsTT8* 유전자에 코딩된 폴리펩타이드는 보존되어 있었고, 이러한 사실은 4종의 무에 있어서 안토시아닌의 다른 축적은 *RsTT8* 유전자의 발현 수준에 의존함을 시사하였다.

[0067] 실시예 4. *RsTT8* 유전자의 프로모터 분석

[0068] 과육색에 상관없이 4종의 무는 모두 *RsTT8* 유전자를 가지고 있었으나, 백색 조직에서는 *RsTT8* 유전자의 발현이 확인되지 않았다(도 2). *RsTT8* 유전자에서 잘 알려진 *cis*-acting 요소가 보존되어 있었으나, 다양한 다형성이 프로모터 지역에서 확인되었다. 이러한 사실로 적색 및 백색 과육의 *RsTT8* 유전자의 프로모터 활성이 다를 것으로 예상되었으나, 실제 프로모터 활성에는 차이가 없었다(도 5).

[0070] 실시예 5. 무 뿌리의 과육색 구별을 위한 분자마커 개발

[0071] 무 뿌리의 과육색(백색 또는 적색) 구별을 위한 분자마커를 개발하기 위해, *RsTT8* 유전자의 염기 서열 다형성에 기반하여 프라이머 세트를 디자인하여 실험하였다. 개발된 프라이머 세트의 표적 다형성은 다음과 같다: (1) 시작 코돈 상류에 위치하는 InDel을 사용하여 고안된 프라이머 세트, (2) 2nd 인트론의 시작 부위에 위치하는 (TC)_n SSR을 확인할 수 있도록 고안된 프라이머 세트, (3) CDS 특이적 프라이머 세트(5th 인트론에 있는 InDel 부위를 사용하여 고안된 정방향 프라이머, 6th 엑손의 SNP를 사용하여 고안된 역방향 프라이머), 및 (4) 프로모터 특이적 프라이머 세트(시작 코돈 상류 -979 내지 -818 bp 지역 내의 SNP에 근거).

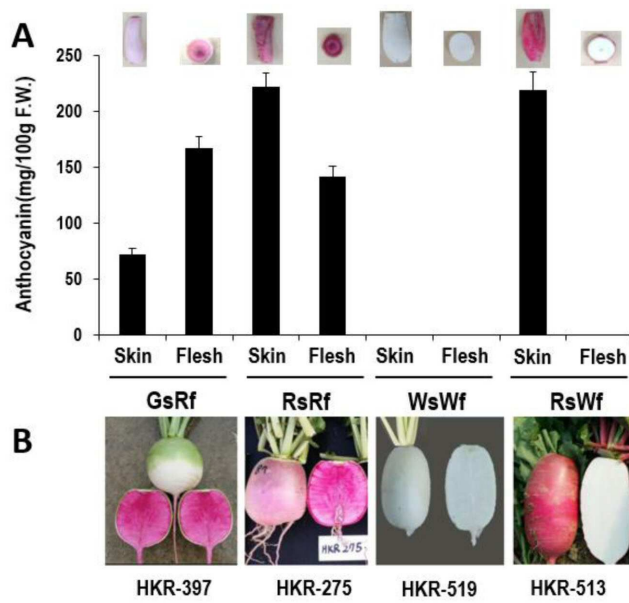
[0072] 우선, 4개의 근교계, 3개의 육종 소재 및 4개의 품종을 이용하여 프라이머 세트를 검증하였다. 그 결과, 도 6에 개시된 바와 같이 InDel 마커와 SNP 마커는 근교계 및 육종 소재에 대해서 과육색을 명확하게 구별할 수 있음을 알 수 있었다. 특히, 과육색이 녹색인 WE713 자원이 적색 과육색을 가진 무 자원과 유사한 패턴을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 또한, F₁ 품종 중에서 백색 과육을 가진 Rabanito는 근교계 및 육종 소재에서 백색 과육을 가진 자원들과 동일한 결과 패턴을 보여주었으며, 적색 또는 분홍색 과육을 가진 RedSun, Rupr 및 Anthopol은 백색과 적색의 다형성을 모두 가지고 있는 것으로 확인되어 이형접합성인 것을 알 수 있었다. 그러나, SSR 마커는 일부 불명확한 결과들이 확인되었다.

[0073] 본 발명자는 마커의 유용성을 확대하기 위해, 한국종묘(주)로부터 14개의 무 자원을 구입하였고, 지역 시장에서 1개의 무를 구입하여 실험하였다. 그 결과, 적색 과육에 포함되는 대부분의 근교계(H-숫자) 및 재조합 라인(R-숫자)은 본 발명의 분자마커로 검증되었으나, R-346 (RsRf)는 이형접합성인 것으로 확인되었다(도 7). 또한, 2개의 백색 과육 무는 *RsTT8* Wf 대립유전자를 포함하고 있는 것으로 확인되었고, 'Chengwoo'는 백색 과육에도 불구하고 적색 과육 유형의 SSR을 포함하고 있는 것으로 확인되었다(도 7). 이를 통해 본 발명의 SSR 마커는 과육색 판별의 정확도가 다소 떨어지는 것으로 판단되었다.

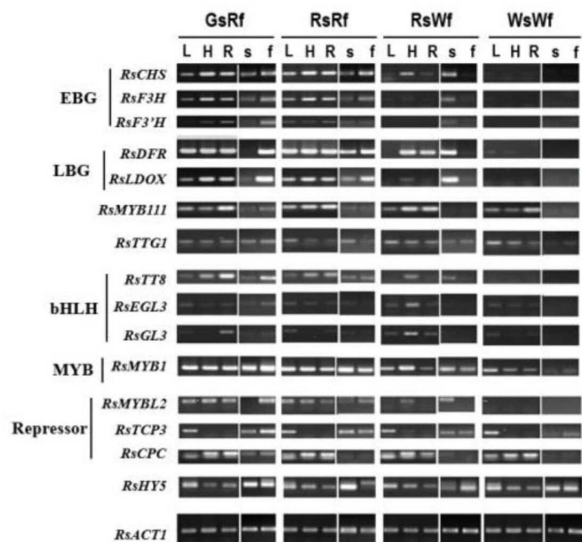
[0074] 본 성과물은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01481605)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

도면

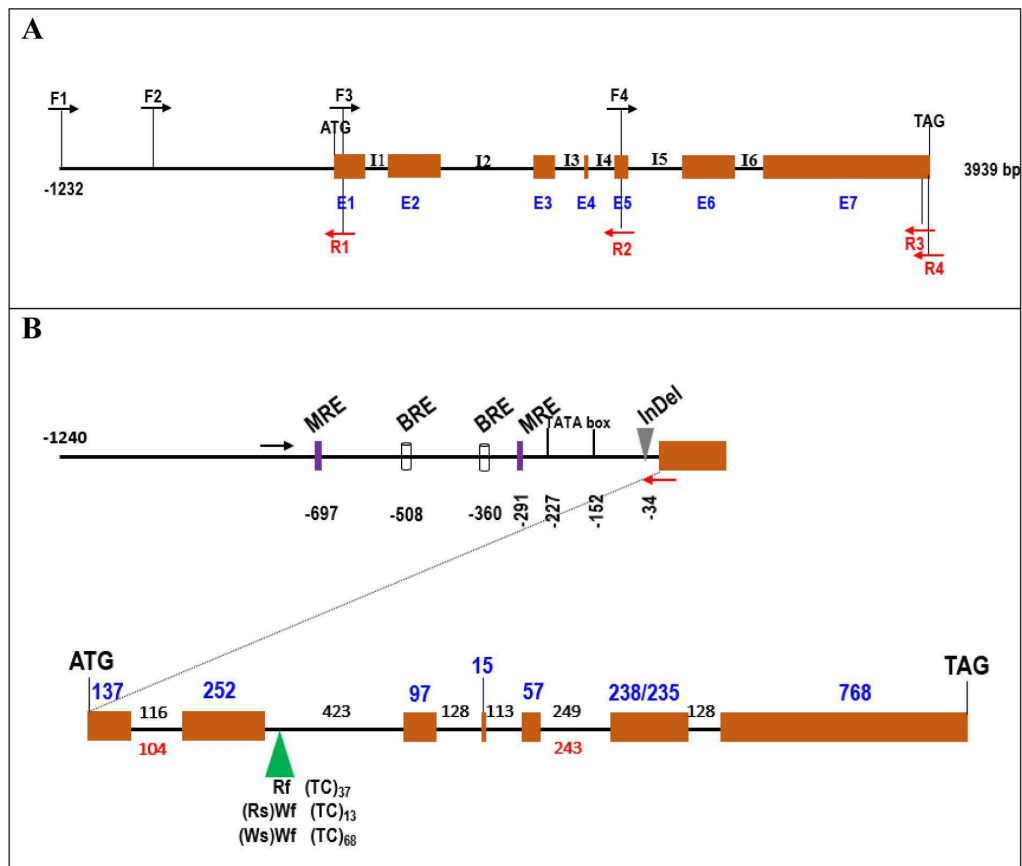
도면1



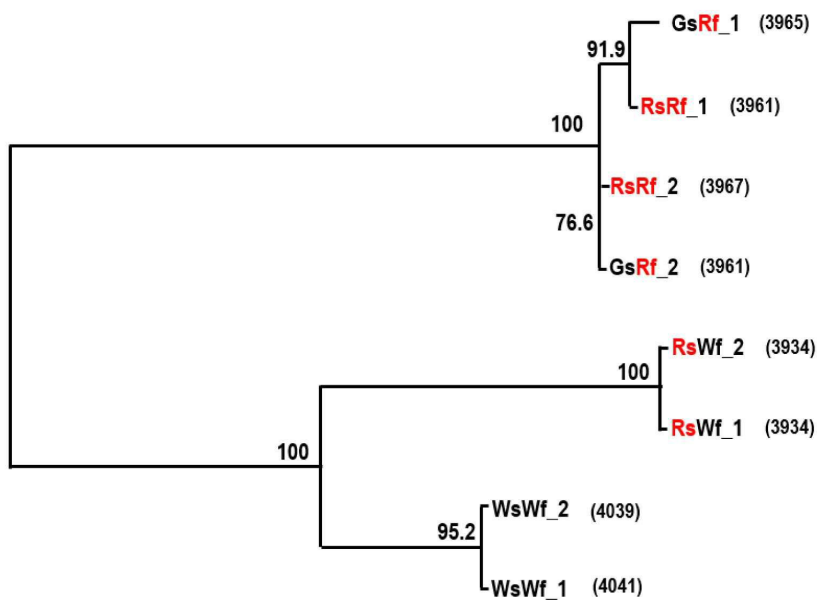
도면2



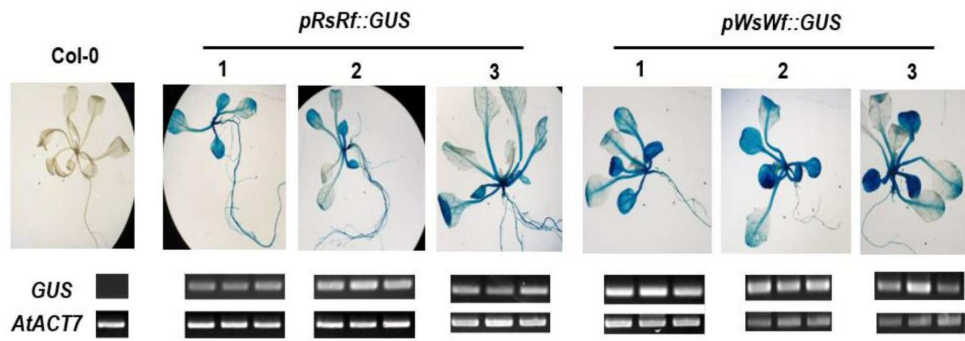
도면3



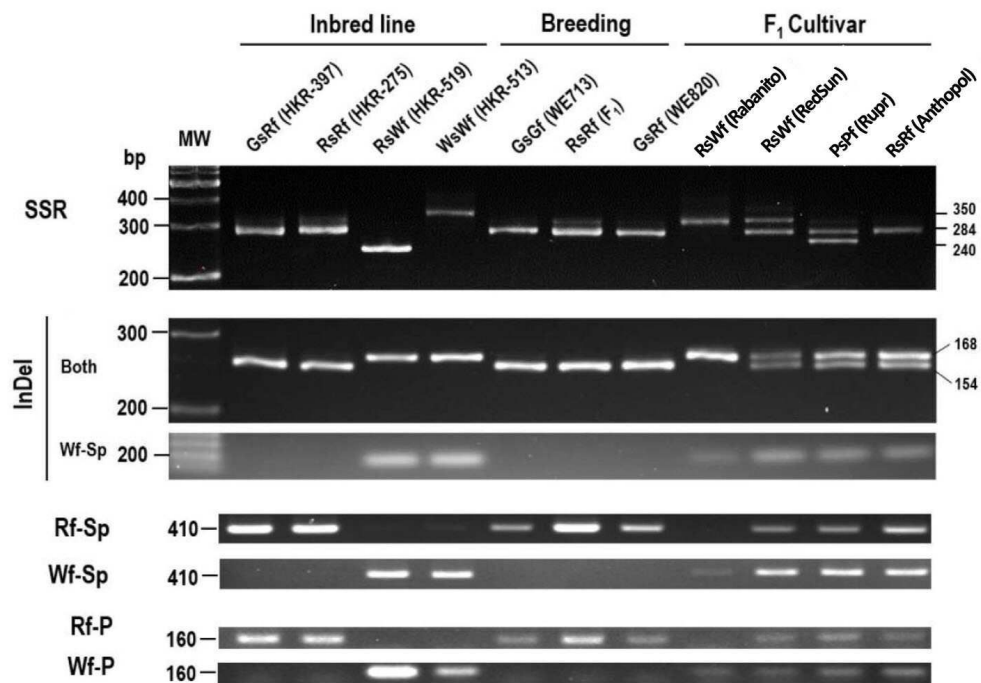
도면4



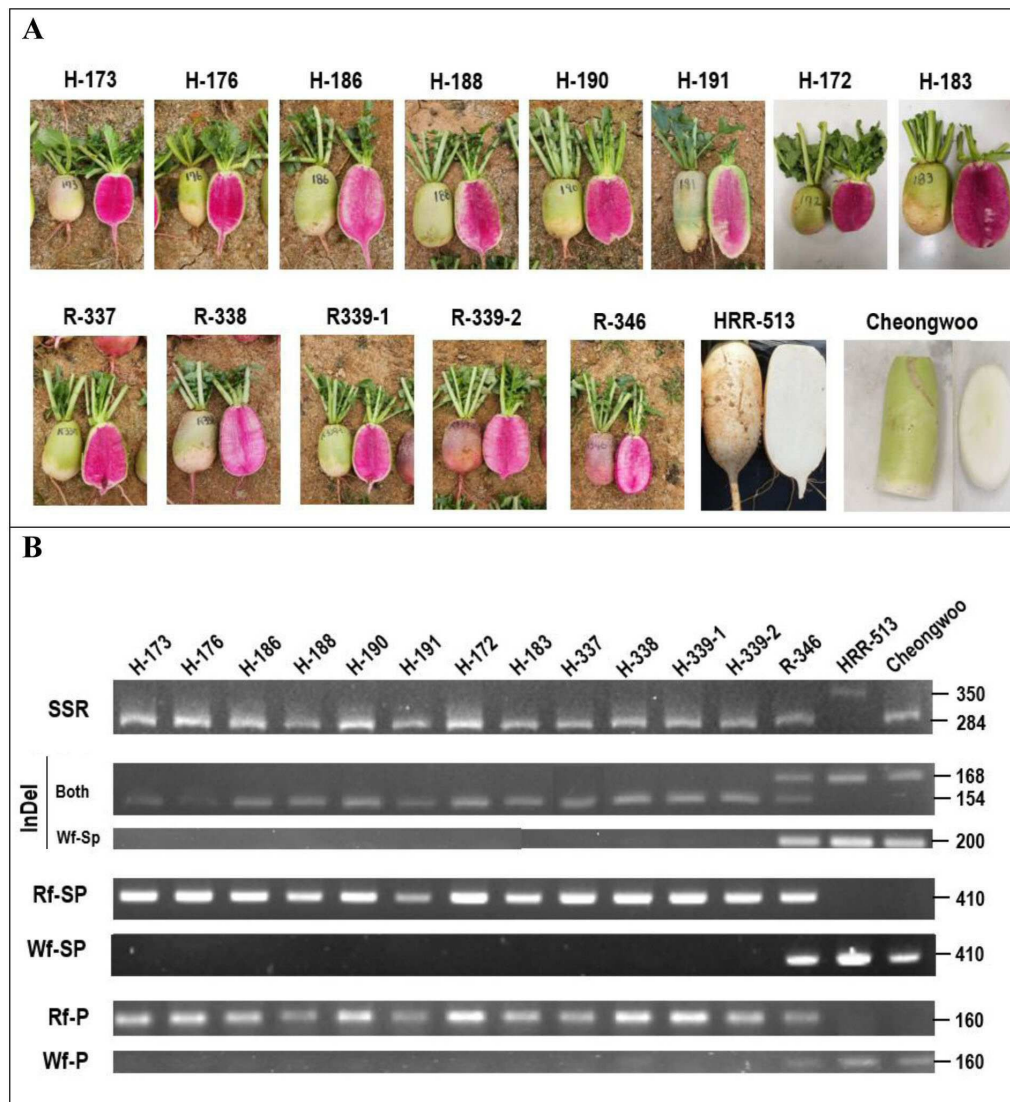
도면5



도면6



도면7



도면8a

Sequence comparison

CLUSTAL 2.1 Multiple Sequence Alignments

Sequence type explicitly set to DNA
Sequence format is Pearson
Sequence 1: RsWf_1 3934 bp
Sequence 2: RsWf_2 3934 bp
Sequence 3: GsRf_1 3965 bp
Sequence 4: GsRf_2 3961 bp
Sequence 5: RsRf_1 3961 bp
Sequence 6: RsRf_2 3967 bp
Sequence 7: WsWf_1 4041 bp
Sequence 8: WsWf_2 4039 bp
Start of Pairwise alignments

```

                                     -1233
                                     GsRf_1 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     RsRf_2 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     GsRf_1 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     GsRf_2 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     RsWf_1 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     RsWf_2 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     WsWf_1 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     WsWf_2 CACAGCTAGCCGCATCAATATGTTAGCAACTGA
                                     *****

GsRf_1 -1200
RsRf_2 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
RsRf_1 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
GsRf_1 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
RsWf_1 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
RsWf_2 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
WsWf_1 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
WsWf_2 AGAAACATTGATTAGCGGACAATCGGGAAGGAAAAATCAAGATCGAGCAACAAGCGTTTGCACTCAAGAATTTTATTTTATTTATTTGTTTCGCGCACCATTGCCCATAAGGATTAAATGAT
*****

                                     Rf--PF: 5' -TTGTCGACAAAAAGGCCAAGA
GsRf_1 -1080 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
RsRf_2 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
RsRf_1 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
GsRf_2 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
RsWf_1 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
RsWf_2 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
WsWf_1 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
WsWf_2 CATCGTCCACACATGAGCAGAATTTGAGCGCACCAGTCAATCCAGTGCCCGTTAGTATAAAACATAATCTGGAAGCACAAGCCAAATAACCTTTATTTATTTGTTTCGACAAAAAGGCC
*****
                                     Wf--PF: 5' -GGTCGACAAAAAGGCCAAGA

GsRf_1 -960 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTAT--GTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
RsRf_2 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTAT--GTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
RsRf_1 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTAT--GTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
GsRf_2 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTAT--GTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
RsWf_1 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTATATGTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
RsWf_2 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTATATGTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
WsWf_1 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTATATGTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
WsWf_2 AAGAAAGTAAATGTTGCTTTTGTCTAAACAGGATACATCTCACATACCACATACCCAAGTGTATAAACTATATGTGTACGTAACTGTATCTATGTTCTATCAAAATTTTATATGTTT
*****

Rf--PR: 5' -CCAGTTAGATATAGTGACCCGA
GsRf_1 -840 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
RsRf_2 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
RsRf_1 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
GsRf_2 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
RsWf_1 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
RsWf_2 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
WsWf_1 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
WsWf_2 CTCGGGTGAGCTATATCTAATTTTATGAGTTTCCAGACATTACAAGGAAACAGATGTTGCTACTTGGCTAGCAATTCACATCAATTA---TTAAAAACTTGAATTGTGAAACATC
*****
Wf--PR: 5' -CCAGTTAGATATAGTGACCCGA

                                     -720 Weak MRE
GsRf_1 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
RsRf_2 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
RsRf_1 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
GsRf_2 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
RsWf_1 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
RsWf_2 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
WsWf_1 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
WsWf_2 TCATTCTCTCTCTTTATACACAAACTACTTCTTTCTCTACTTACCGGTCAAGTCTACCACTTCCCTCTCTCTTTTACTCTTTTGGTTTAAATAAACTAAAGATGCT
*****

                                     -600 BRE
GsRf_1 ACTCTTTTATATGTTGATAAAGCACTGGAATATTGCAAAATTCCTAAATAGAGAAAGAAAGAGAGATATAAACCAGAAATCATAGTAACACAAAGTCAAAGCAACGCTGTGTTTCTCTT
RsRf_2 ACTCTTTTATATGTTGATAAAGCACTGGAATATTGCAAAATTCCTAAATAGAGAAAGAAAGAGAGATATAAACCAGAAATCATAGTAACACAAAGTCAAAGCAACGCTGTGTTTCTCTT

```


도면8b

Rsf_1	ACTCTTTTATTATGGTGTAAACACTGGAATATTGCAAAATTTCCAAATAAGAGAAAAGAGAGAGATTAACACCGAAATCATAGTAACACAAATCAAGCAACGCTCTGTTTCTCTT
Rsf_2	ACTCTTTTATTATGGTGTAAACACTGGAATATTGCAAAATTTCCAAATAAGAGAAAAGAGAGAGATTAACACCGAAATCATAGTAACACAAATCAAGCAACGCTCTGTTTCTCTT
Rsf_1	ACTCTTTTATTATGGTGTAAACACTGGAATATTGCAAAATTTCCAAATAAGAGAAAAGAGAGAGATTAACACCGAAATCATAGTAACACAAATCAAGCAACGCTCTGTTTCTCTT
Rsf_2	ACTCTTTTATTATGGTGTAAACACTGGAATATTGCAAAATTTCCAAATAAGAGAAAAGAGAGAGATTAACACCGAAATCATAGTAACACAAATCAAGCAACGCTCTGTTTCTCTT
WsF_1	ACTCTTTTATTATGGTGTAAACACTGGAATATTGCAAAATTTCCAAATAAGAGAAAAGAGAGAGATTAACACCGAAATCATAGTAACACAAATCAAGCAACGCTCTGTTTCTCTT
WsF_2	ACTCTTTTATTATGGTGTAAACACTGGAATATTGCAAAATTTCCAAATAAGAGAAAAGAGAGAGATTAACACCGAAATCATAGTAACACAAATCAAGCAACGCTCTGTTTCTCTT

	-480 MYB-core
Rsf_1	GGTTGTCAGTTCAGTATTTCTCTACTGAAATATGTTATGCTTTTTTCCCAATAATATATTATAACATATTAAAGAAATATGCATTGCGCATTTTGGTCTCCAATCGTGGGGGACACG
Rsf_2	GGTTGTCAGTTCAGTATTTCTCTACTGAAATATGTTATGCTTTTTTCCCAATAATATATTATAACATATTAAAGAAATATGCATTGCGCATTTTGGTCTCCAATCGTGGGGGACACG
Rsf_1	GGTTGTCAGTTCAGTATTTCTCTACTGAAATATGTTATGCTTTTTTCCCAATAATATATTATAACATATTAAAGAAATATGCATTGCGCATTTTGGTCTCCAATCGTGGGGGACACG
Rsf_2	GGTTGTCAGTTCAGTATTTCTCTACTGAAATATGTTATGCTTTTTTCCCAATAATATATTATAACATATTAAAGAAATATGCATTGCGCATTTTGGTCTCCAATCGTGGGGGACACG
WsF_1	GGTTGTCAGTTCAGTATTTCTCTACTGAAATATGTTATGCTTTTTTCCCAATAATATATTATAACATATTAAAGAAATATGCATTGCGCATTTTGGTCTCCAATCGTGGGGGACACG
WsF_2	GGTTGTCAGTTCAGTATTTCTCTACTGAAATATGTTATGCTTTTTTCCCAATAATATATTATAACATATTAAAGAAATATGCATTGCGCATTTTGGTCTCCAATCGTGGGGGACACG

	-360
Rsf_1	ATTACAGACATTACATCTTTTATTTCATCTGTATCTACTCTCTCATCCACGCTGCTTTACCAACAGTCAGAGACGATATAAGTCACTTTTACTAAATCTTGAGCTTTTGGT
Rsf_2	ATTACAGACATTACATCTTTTATTTCATCTGTATCTACTCTCTCATCCACGCTGCTTTACCAACAGTCAGAGACGATATAAGTCACTTTTACTAAATCTTGAGCTTTTGGT
Rsf_1	ATTACAGACATTACATCTTTTATTTCATCTGTATCTACTCTCTCATCCACGCTGCTTTACCAACAGTCAGAGACGATATAAGTCACTTTTACTAAATCTTGAGCTTTTGGT
Rsf_2	ATTACAGACATTACATCTTTTATTTCATCTGTATCTACTCTCTCATCCACGCTGCTTTACCAACAGTCAGAGACGATATAAGTCACTTTTACTAAATCTTGAGCTTTTGGT
WsF_1	ATTACAGACATTACATCTTTTATTTCATCTGTATCTACTCTCTCATCCACGCTGCTTTACCAACAGTCAGAGACGATATAAGTCACTTTTACTAAATCTTGAGCTTTTGGT
WsF_2	ATTACAGACATTACATCTTTTATTTCATCTGTATCTACTCTCTCATCCACGCTGCTTTACCAACAGTCAGAGACGATATAAGTCACTTTTACTAAATCTTGAGCTTTTGGT

	-240
Rsf_1	CATGCAATTATACACATACATAGAATAATCTAGATTACTTACTATGTCAGCATGTTACGAAACACTAAAAGTGTATATATATCATACATATTGAATTAAACCGTGGTCCCAACCA
Rsf_2	CATGCAATTATACACATACATAGAATAATCTAGATTACTTACTATGTCAGCATGTTACGAAACACTAAAAGTGTATATATATCATACATATTGAATTAAACCGTGGTCCCAACCA
Rsf_1	CATGCAATTATACACATACATAGAATAATCTAGATTACTTACTATGTCAGCATGTTACGAAACACTAAAAGTGTATATATATCATACATATTGAATTAAACCGTGGTCCCAACCA
Rsf_2	CATGCAATTATACACATACATAGAATAATCTAGATTACTTACTATGTCAGCATGTTACGAAACACTAAAAGTGTATATATATCATACATATTGAATTAAACCGTGGTCCCAACCA
WsF_1	CATGCAATTATACACATACATAGAATAATCTAGATTACTTACTATGTCAGCATGTTACGAAACACTAAAAGTGTATATATATCATACATATTGAATTAAACCGTGGTCCCAACCA
WsF_2	CATGCAATTATACACATACATAGAATAATCTAGATTACTTACTATGTCAGCATGTTACGAAACACTAAAAGTGTATATATATCATACATATTGAATTAAACCGTGGTCCCAACCA

	-120 MRE Radish-F -33
Rsf_1	ATTAAATCAGCATAAAGAAATATCTCTCTCTTCATATCAAAACCCCTTCAGAGTTGCAAGATCTTACTCTCAGAGAGCTAATCATGTTTTCATCTCGGGGAAAA
Rsf_2	ATTAAATCAGCATAAAGAAATATCTCTCTCTTCATATCAAAACCCCTTCAGAGTTGCAAGATCTTACTCTCAGAGAGCTAATCATGTTTTCATCTCGGGGAAAA
Rsf_1	ATTAAATCAGCATAAAGAAATATCTCTCTCTTCATATCAAAACCCCTTCAGAGTTGCAAGATCTTACTCTCAGAGAGCTAATCATGTTTTCATCTCGGGGAAAA
Rsf_2	ATTAAATCAGCATAAAGAAATATCTCTCTCTTCATATCAAAACCCCTTCAGAGTTGCAAGATCTTACTCTCAGAGAGCTAATCATGTTTTCATCTCGGGGAAAA
WsF_1	ATTAAATCAGCATAAAGAAATATCTCTCTCTTCATATCAAAACCCCTTCAGAGTTGCAAGATCTTACTCTCAGAGAGCTAATCATGTTTTCATCTCGGGGAAAA
WsF_2	ATTAAATCAGCATAAAGAAATATCTCTCTCTTCATATCAAAACCCCTTCAGAGTTGCAAGATCTTACTCTCAGAGAGCTAATCATGTTTTCATCTCGGGGAAAA

	MF-F
	0 Exon 1 Radish-R
Rsf_1	ATGATGAATCAAGTATTATACCGGTATGGAAGTGTACGAGCTGAGGAAAAGAGATTCAAGGCTACTTAAGGCGGTGGTGAATCTGTGGGGTGAATTATAGTCTCTCTGACAA 120
Rsf_2	ATGATGAATCAAGTATTATACCGGTATGGAAGTGTACGAGCTGAGGAAAAGAGATTCAAGGCTACTTAAGGCGGTGGTGAATCTGTGGGGTGAATTATAGTCTCTCTGACAA
Rsf_1	ATGATGAATCAAGTATTATACCGGTATGGAAGTGTACGAGCTGAGGAAAAGAGATTCAAGGCTACTTAAGGCGGTGGTGAATCTGTGGGGTGAATTATAGTCTCTCTGACAA
Rsf_2	ATGATGAATCAAGTATTATACCGGTATGGAAGTGTACGAGCTGAGGAAAAGAGATTCAAGGCTACTTAAGGCGGTGGTGAATCTGTGGGGTGAATTATAGTCTCTCTGACAA
WsF_1	ATGATGAATCAAGTATTATACCGGTATGGAAGTGTACGAGCTGAGGAAAAGAGATTCAAGGCTACTTAAGGCGGTGGTGAATCTGTGGGGTGAATTATAGTCTCTCTGACAA
WsF_2	ATGATGAATCAAGTATTATACCGGTATGGAAGTGTACGAGCTGAGGAAAAGAGATTCAAGGCTACTTAAGGCGGTGGTGAATCTGTGGGGTGAATTATAGTCTCTCTGACAA

	Exon 2
Rsf_1	TAAATCGATTAGGAATTTGGTGTGGAGTAGTGATTTCAACAGGTGCAATAAAGACTAGAAAGCACTCAGCGCGGAAATACGCTGAAGAGGCTGCGTTGGAGAGAGGCCAAC 360
Rsf_2	TAAATCGATTAGGAATTTGGTGTGGAGTAGTGATTTCAACAGGTGCAATAAAGACTAGAAAGCACTCAGCGCGGAAATACGCTGAAGAGGCTGCGTTGGAGAGAGGCCAAC
Rsf_1	TAAATCGATTAGGAATTTGGTGTGGAGTAGTGATTTCAACAGGTGCAATAAAGACTAGAAAGCACTCAGCGCGGAAATACGCTGAAGAGGCTGCGTTGGAGAGAGGCCAAC
Rsf_2	TAAATCGATTAGGAATTTGGTGTGGAGTAGTGATTTCAACAGGTGCAATAAAGACTAGAAAGCACTCAGCGCGGAAATACGCTGAAGAGGCTGCGTTGGAGAGAGGCCAAC
WsF_1	TAAATCGATTAGGAATTTGGTGTGGAGTAGTGATTTCAACAGGTGCAATAAAGACTAGAAAGCACTCAGCGCGGAAATACGCTGAAGAGGCTGCGTTGGAGAGAGGCCAAC
WsF_2	TAAATCGATTAGGAATTTGGTGTGGAGTAGTGATTTCAACAGGTGCAATAAAGACTAGAAAGCACTCAGCGCGGAAATACGCTGAAGAGGCTGCGTTGGAGAGAGGCCAAC

	SSR-F
Rsf_1	AGCTCATGGAGCTTTACCAGACGCTTTTGGCGAGAGATCATGATGGAAGCGAGGCTTGCACAGCACTGTCGCTGAGGATTTGACGACACTGAATGTTTATATGTCGTGTCTCA 480
Rsf_2	AGCTCATGGAGCTTTACCAGACGCTTTTGGCGAGAGATCATGATGGAAGCGAGGCTTGCACAGCACTGTCGCTGAGGATTTGACGACACTGAATGTTTATATGTCGTGTCTCA
Rsf_1	AGCTCATGGAGCTTTACCAGACGCTTTTGGCGAGAGATCATGATGGAAGCGAGGCTTGCACAGCACTGTCGCTGAGGATTTGACGACACTGAATGTTTATATGTCGTGTCTCA
Rsf_2	AGCTCATGGAGCTTTACCAGACGCTTTTGGCGAGAGATCATGATGGAAGCGAGGCTTGCACAGCACTGTCGCTGAGGATTTGACGACACTGAATGTTTATATGTCGTGTCTCA
WsF_1	AGCTCATGGAGCTTTACCAGACGCTTTTGGCGAGAGATCATGATGGAAGCGAGGCTTGCACAGCACTGTCGCTGAGGATTTGACGACACTGAATGTTTATATGTCGTGTCTCA
WsF_2	AGCTCATGGAGCTTTACCAGACGCTTTTGGCGAGAGATCATGATGGAAGCGAGGCTTGCACAGCACTGTCGCTGAGGATTTGACGACACTGAATGTTTATATGTCGTGTCTCA

도면 8c

[illegible]

도면8d

WsRf_1	GGTATCAGTTTACAGAGTTATTATTTTACATATTGAGAAATGTTTGTGATGAAAAACAAATAAAAACAGACAGTGGTTGCAATCCCGTGTGATGCGTTTGGAAATAGGCA
WsRf_2	GGTATCAGTTTACAGAGTTATTATTTTACATATTGAGAAATGTTTGTGATGAAAAACAAATAAAAACAGACAGTGGTTGCAATCCCGTGTGATGCGTTTGGAAATAGGCA
RsRf_1	ACGAAACAAGGTAATAAAGTCTATTATGTGCGGTACCAACAAGGTAAACGAATACATTAGTCGTCTTATGTACATAGATAAATAAAGAAAAAATATGTACAGAACATCATCAACCAT
RsRf_2	ACGAAACAAGGTAATAAAGTCTATTATGTGCGGTACCAACAAGGTAAACGAATACATTAGTCGTCTTATGTACATAGATAAATAAAGAAAAAATATGTACAGAACATCATCAACCAT
RsRf_1	ACGAAACAAGGTAATAAAGTCTATTATGTGCGGTACCAACAAGGTAAACGAATACATTAGTCGTCTTATGTACATAGATAAATAAAGAAAAAATATGTACAGAACATCATCAACCAT
RsRf_2	ACGAAACAAGGTAATAAAGTCTATTATGTGCGGTACCAACAAGGTAAACGAATACATTAGTCGTCTTATGTACATAGATAAATAAAGAAAAAATATGTACAGAACATCATCAACCAT
WsRf_1	ACGAAACAAGGTAATAAAGTCTATTATGTGCGGTACCAACAAGGTAAACGAATACATTAGTCGTCTTATGTACATAGATAAATAAAGAAAAAATATGTACAGAACATCATCAACCAT
WsRf_2	ACGAAACAAGGTAATAAAGTCTATTATGTGCGGTACCAACAAGGTAAACGAATACATTAGTCGTCTTATGTACATAGATAAATAAAGAAAAAATATGTACAGAACATCATCAACCAT
RsRf_1	TCGCAATCATATGATTAATAATATAGTTTTTCGATACATTATATACACAAACAAATGATGTAACAACTAATCAAAAATATGCATAAGAGGGAGAACCAAGCCGGAGATGGATGGTGATA
RsRf_2	TCGCAATCATATGATTAATAATATAGTTTTTCGATACATTATATACACAAACAAATGATGTAACAACTAATCAAAAATATGCATAAGAGGGAGAACCAAGCCGGAGATGGATGGTGATA
RsRf_1	TCGCAATCATATGATTAATAATATAGTTTTTCGATACATTATATACACAAACAAATGATGTAACAACTAATCAAAAATATGCATAAGAGGGAGAACCAAGCCGGAGATGGATGGTGATA
RsRf_2	TCGCAATCATATGATTAATAATATAGTTTTTCGATACATTATATACACAAACAAATGATGTAACAACTAATCAAAAATATGCATAAGAGGGAGAACCAAGCCGGAGATGGATGGTGATA
WsRf_1	TCGCAATCATATGATTAATAATATAGTTTTTCGATACATTATATACACAAACAAATGATGTAACAACTAATCAAAAATATGCATAAGAGGGAGAACCAAGCCGGAGATGGATGGTGATA
WsRf_2	TCGCAATCATATGATTAATAATATAGTTTTTCGATACATTATATACACAAACAAATGATGTAACAACTAATCAAAAATATGCATAAGAGGGAGAACCAAGCCGGAGATGGATGGTGATA
Exon 6	
RsRf_1	TGTTGTGTTTTATGTGAAGGTCAAAGAAATGAAGAGTTTGTGAACACATGAAGAGTTTCTTCCAAACACCACCGAAGTCAACACGAGAGCTGCTCTTTTGAACACTCCATCAACGA
RsRf_2	TGTTGTGTTTTATGTGAAGGTCAAAGAAATGAAGAGTTTGTGAACACATGAAGAGTTTCTTCCAAACACCACCGAAGTCAACACGAGAGCTGCTCTTTTGAACACTCCATCAACGA
RsRf_1	TGTTGTGTTTTATGTGAAGGTCAAAGAAATGAAGAGTTTGTGAACACATGAAGAGTTTCTTCCAAACACCACCGAAGTCAACACGAGAGCTGCTCTTTTGAACACTCCATCAACGA
RsRf_2	TGTTGTGTTTTATGTGAAGGTCAAAGAAATGAAGAGTTTGTGAACACATGAAGAGTTTCTTCCAAACACCACCGAAGTCAACACGAGAGCTGCTCTTTTGAACACTCCATCAACGA
WsRf_1	TGTTGTGTTTTATGTGAAGGTCAAAGAAATGAAGAGTTTGTGAACACATGAAGAGTTTCTTCCAAACACCACCGAAGTCAACACGAGAGCTGCTCTTTTGAACACTCCATCAACGA
WsRf_2	TGTTGTGTTTTATGTGAAGGTCAAAGAAATGAAGAGTTTGTGAACACATGAAGAGTTTCTTCCAAACACCACCGAAGTCAACACGAGAGCTGCTCTTTTGAACACTCCATCAACGA
RsRf_1	AGAGCATGAAGAGACGAAGA---AGTAGAAGAAATGACAATGTGAGAGGAGATAAGACTTGGTTCTCTGTGATGACGATGACGCTCCCAATCAAAATCTACTCTGATTTCATATAGA
RsRf_2	AGAGCATGAAGAGACGAAGA---AGTAGAAGAAATGACAATGTGAGAGGAGATAAGACTTGGTTCTCTGTGATGACGATGACGCTCCCAATCAAAATCTACTCTGATTTCATATAGA
RsRf_1	AGAGCATGAAGAGACGAAGA---AGTAGAAGAAATGACAATGTGAGAGGAGATAAGACTTGGTTCTCTGTGATGACGATGACGCTCCCAATCAAAATCTACTCTGATTTCATATAGA
RsRf_2	AGAGCATGAAGAGACGAAGA---AGTAGAAGAAATGACAATGTGAGAGGAGATAAGACTTGGTTCTCTGTGATGACGATGACGCTCCCAATCAAAATCTACTCTGATTTCATATAGA
WsRf_1	AGAGCATGAAGAGACGAAGA---AGTAGAAGAAATGACAATGTGAGAGGAGATAAGACTTGGTTCTCTGTGATGACGATGACGCTCCCAATCAAAATCTACTCTGATTTCATATAGA
WsRf_2	AGAGCATGAAGAGACGAAGA---AGTAGAAGAAATGACAATGTGAGAGGAGATAAGACTTGGTTCTCTGTGATGACGATGACGCTCCCAATCAAAATCTACTCTGATTTCATATAGA
Exon 7	
RsRf_1	TTAACATATATCATTTGATATATAGATACACAAATGGACATGATGAATCTAATGGAGGAGAGGCGGAAATATTCTCAGACAGTATCAACACTTCTCATGTCACAACTCCCCAATCTCTT
RsRf_2	TTAACATATATCATTTGATATATAGATACACAAATGGACATGATGAATCTAATGGAGGAGAGGCGGAAATATTCTCAGACAGTATCAACACTTCTCATGTCACAACTCCCCAATCTCTT
RsRf_1	TTAACATATATCATTTGATATATAGATACACAAATGGACATGATGAATCTAATGGAGGAGAGGCGGAAATATTCTCAGACAGTATCAACACTTCTCATGTCACAACTCCCCAATCTCTT
RsRf_2	TTAACATATATCATTTGATATATAGATACACAAATGGACATGATGAATCTAATGGAGGAGAGGCGGAAATATTCTCAGACAGTATCAACACTTCTCATGTCACAACTCCCCAATCTCTT
WsRf_1	TTAACATATATCATTTGATATATAGATACACAAATGGACATGATGAATCTAATGGAGGAGAGGCGGAAATATTCTCAGACAGTATCAACACTTCTCATGTCACAACTCCCCAATCTCTT
WsRf_2	TTAACATATATCATTTGATATATAGATACACAAATGGACATGATGAATCTAATGGAGGAGAGGCGGAAATATTCTCAGACAGTATCAACACTTCTCATGTCACAACTCCCCAATCTCTT
RsRf_1	TCAGATTCAAGTTTCCACATCTCTTACGTTCAATCATCGTTTGTCTCGTGGAGGGTTGAGAAATGTCAAGAGCATCAGCAATATCAACGAGAGGAGAAAGCGTGTGTCATCTCTGTG
RsRf_2	TCAGATTCAAGTTTCCACATCTCTTACGTTCAATCATCGTTTGTCTCGTGGAGGGTTGAGAAATGTCAAGAGCATCAGCAATATCAACGAGAGGAGAAAGCGTGTGTCATCTCTGTG
RsRf_1	TCAGATTCAAGTTTCCACATCTCTTACGTTCAATCATCGTTTGTCTCGTGGAGGGTTGAGAAATGTCAAGAGCATCAGCAATATCAACGAGAGGAGAAAGCGTGTGTCATCTCTGTG
RsRf_2	TCAGATTCAAGTTTCCACATCTCTTACGTTCAATCATCGTTTGTCTCGTGGAGGGTTGAGAAATGTCAAGAGCATCAGCAATATCAACGAGAGGAGAAAGCGTGTGTCATCTCTGTG
WsRf_1	TCAGATTCAAGTTTCCACATCTCTTACGTTCAATCATCGTTTGTCTCGTGGAGGGTTGAGAAATGTCAAGAGCATCAGCAATATCAACGAGAGGAGAAAGCGTGTGTCATCTCTGTG
WsRf_2	TCAGATTCAAGTTTCCACATCTCTTACGTTCAATCATCGTTTGTCTCGTGGAGGGTTGAGAAATGTCAAGAGCATCAGCAATATCAACGAGAGGAGAAAGCGTGTGTCATCTCTGTG
RsRf_1	CAATGGATGCTCAACACATGATCTTGAGAGTTCTTTACTCCATGAAGAACTAAAAACAAGAGGGTGCAGGGGAGAGCTCAACCATGTGGTGGCGAGCGACGAGAGAGAGAG
RsRf_2	CAATGGATGCTCAACACATGATCTTGAGAGTTCTTTACTCCATGAAGAACTAAAAACAAGAGGGTGCAGGGGAGAGCTCAACCATGTGGTGGCGAGCGACGAGAGAGAGAG
RsRf_1	CAATGGATGCTCAACACATGATCTTGAGAGTTCTTTACTCCATGAAGAACTAAAAACAAGAGGGTGCAGGGGAGAGCTCAACCATGTGGTGGCGAGCGACGAGAGAGAGAG
RsRf_2	CAATGGATGCTCAACACATGATCTTGAGAGTTCTTTACTCCATGAAGAACTAAAAACAAGAGGGTGCAGGGGAGAGCTCAACCATGTGGTGGCGAGCGACGAGAGAGAGAG
WsRf_1	CAATGGATGCTCAACACATGATCTTGAGAGTTCTTTACTCCATGAAGAACTAAAAACAAGAGGGTGCAGGGGAGAGCTCAACCATGTGGTGGCGAGCGACGAGAGAGAGAG
WsRf_2	CAATGGATGCTCAACACATGATCTTGAGAGTTCTTTACTCCATGAAGAACTAAAAACAAGAGGGTGCAGGGGAGAGCTCAACCATGTGGTGGCGAGCGACGAGAGAGAGAG

도면8e

WsWf_2	CAATGGATGCTCAAAACATGATCTTGAGAGTTCCTTTACTCCATGAAAACTAAAAACAAGAGGGTGCCGCGGGAAGAGCTCAACCATGTGGTGCCGAGCGACGACGAGAGAGAGAG	
RsRf_1	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	2520
RsRf_2	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
RsRf_1	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
RsRf_2	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
RsWf_1	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
RsWf_2	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
WsWf_1	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
WsWf_2	CTTAACGAGAGATTCATAACGTTGAGATCATTGGTTCCATTGTGACCAAGATGGATAAAGTCTCGATCCTTGAGAGACACCATTGATTACGTAACCATCTTTGTAAAGAGATCCATGAG	
RsRf_1	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	2640
RsRf_2	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
RsRf_1	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
RsRf_2	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
RsWf_1	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
RsWf_2	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
WsWf_1	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
WsWf_2	CTGGAATCTACTCATCAGAGCCAAACCAAAAGCGGATGCGTATCGGTAAGGGAAGAACGTGGGAAGAGGTGGAGGTTTCCATTATAGAGAGCGATGTTTGTAGAGATGAGATGCGAG	
RsRf_1	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	2760
RsRf_2	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
RsRf_1	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
RsRf_2	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
RsWf_1	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
RsWf_2	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
WsWf_1	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
WsWf_2	TACCGAGATGTTTTATTGCTCAACATCTTCAGGTACTTAAGGAGCTGGGTATAGAGACCCTGCAGTTTCACACCCCGTGAACGACCATGATTTTGAGGCGAGAGATAAGGGCGAAAGTG	
RsRf_1	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3965
RsRf_2	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3967
RsRf_1	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3967
RsRf_2	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3961
RsWf_1	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3961
RsWf_2	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3934
WsWf_1	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	3934
WsWf_2	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	4041
WsWf_1	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	4039
WsWf_2	AGAGGGGAAGAAACCAACCATTTGCTGAGGTTAAATATGCCATCCATCAATCATATCTCAAAATAAATCTAG	

Yellow: cis-acting sequence
 Red: SNP or InDel between Rf and Wf
 Blue: WsWf specific SNP or InDel
 Green: RsWf specific SNP or InDel
 Brown: primer sequences
 Red letter: key nucleotide for domain
 Numbers: given from ATG start codon

MRE: MYB-recognition motif, BRE: bHLH-recognition motif

Cis-elements on promoter were not different from each othe. Therefore, we should examine expression of transcription factors that might form different MBW complex to regulate the TT8 expression, such as MYB5, GL3, EGL3, TTG1, TTG2, TT1 and TT16.

서열목록

- <110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)
- <120> Molecular marker for discriminating flesh color of radish taproot and uses thereof
- <130> PN20452
- <160> 67
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 20
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer

<400>	1	
cacagctagc cgcatcaata		20
<210>	2	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
><223>	primer	
<400>	2	
tggtggctac ttggctagca a		21
<210>	3	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	3	
acttaaggcg gtggtgcaat ct		22
<210>	4	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	4	
ttgcattccc gtgcttgatg g		21
<210>	5	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	5	
agattgcacc accgccttaa gt		22
<210>	6	
<211>	21	
<212>	DNA	

<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	6	
	ccatcaagca cggaatgca a	21
<210>	7	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	7	
	agcaatggtt ggtttcttcc ctctc	25
<210>	8	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	8	
	ctagagttta ttttgagata tgattgatg gatggc	36
<210>	9	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	9	
	agcgacgcag aagagagaag	20
<210>	10	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	10	
	cttttggttt ggctcgtgat	20
<210>	11	

<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	11	
	gacggacact gaatggtttt atgtgc	26
<210>	12	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	12	
	actcctcagt ttgtctttaa tgctcca	27
<210>	13	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	13	
	acccttcag agttgcaaga tct	23
<210>	14	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	14	
	ctcttcagag ttgcgagaga gagc	24
<210>	15	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	15	
	agattgcacc accgccttaa gta	23

<210> 16
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 16
 gtacagaaca tcataacca ttgcgag 27

<210> 17
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 17
 aaatgtgcac ggcataccta aactact 27

<210> 18
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 18
 gtacagaaca tcaaccattc gcagtcac 28

<210> 19
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 19
 aaaggtgtac ggcataccta aactattgg 29

<210> 20
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer

<400>	20	
ttggtcgaca aaaaaggcca aga		23
<210>	21	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	21	
cccagttaga tatagctgac ccga		24
<210>	22	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	22	
ggtcgacaaa accgccaaga a		21
<210>	23	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	23	
ccagttagac atagctgacc cca		23
<210>	24	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	24	
gctgcggatc ctacttggt ag		22
<210>	25	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	

<220><223>	primer	
<400>	25	
cataccatgg agattgcacc accgc		25
<210>	26	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	26	
gactggaact ccctcttctg gatagc		26
<210>	27	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	27	
actccaaccc ttctctgtc gt		22
<210>	28	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	28	
ccaaaatgcc ctcagcctga tct		23
<210>	29	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	29	
cggattctgg aacgtggcta ttgat		25
<210>	30	
<211>	24	

<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	30	
	ggaactgaca cgtcagcaag tacg	24
<210>	31	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	31	
	tcacgggcta tggcccatat gt	22
<210>	32	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	32	
	ctctctccta tcactcgtaa cgaggc	26
<210>	33	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	33	
	tcccatatca atcagcttct tggaactg	28
<210>	34	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	34	
	gcttagagcc tgaccgtcta gaga	24

<210>	35	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	35	
	gcttacatcs gtgtgagctt ccac	24
<210>	36	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	36	
	tgggaaacag gtggtcactr attgc	25
<210>	37	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	37	
	gyggayctgc tggttctccc t	21
<210>	38	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	38	
	gcttaagtta ccccamtttg gcttctc	27
<210>	39	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	39	

gaccatgggtg atctactgtg ttggaaac	28
<210> 40	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 40	
ggaaacaggt ggtctttaat tgctgg	26
<210> 41	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 41	
tcgaggtcga ggtttgaaaa cgtc	24
<210> 42	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 42	
accaagctgg tctcaagagg tg	22
<210> 43	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 43	
tggaagcctc ccagctatca ac	22
<210> 44	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> primer
 <400> 44
 tggttccatt tgtgaccaag atgga 25
 <210> 45
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 45
 tctcgggtact cgcattctcat ctctaa 26
 <210> 46
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 46
 gcgaaagaac atcagctaata tg 22
 <210> 47
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 47
 gcttgcaact gacgggtaag cagag 25
 <210> 48
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 48
 tgaacaccaa gaggaaggag agtgatg 27
 <210> 49
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 49

gtcgaggact gtaccgagtg agaa

24

<210> 50

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 50

cactccacca tcatctacga gagc

24

<210> 51

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 51

gcgatcgaat rtcgagaatc acaacct

27

<210> 52

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 52

aggcratgca ttgataagta tggagaagg

29

<210> 53

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 53

ccagcaatta ragaccacct gtttccta

28

<210> 54

<211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 54
 gacgatctca tctcaagct tcatgc 26
 <210> 55
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 55
 cgatgattgg ttggatcgat tccca 25

 <210> 56
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 56
 ccagctttat tctcagaggg gtcc 24
 <210> 57
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 57
 tgaccctgaa accgtgctgg ta 22
 <210> 58
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 58

ttggtccgat gacggttaca atgg	24
<210> 59	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 59	
tcagagagac cagtgttat ggtgtgaa	28
<210> 60	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 60	
ctgtgaagat gtcggaggaa gaagaaga	28
<210> 61	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 61	
rvnccgtgtt tcataagcca atatct	26
<210> 62	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 62	
gaattgaaag cgatgaagag atacg	25
<210> 63	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223>	primer	
<400>	63	
tgtctaagca tctggttctc gttctg		26
<210>	64	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	64	
ccagccgtct atgattggta tggag		25
<210>	65	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	65	
ccacatctgc tggaaggta tggag		24
<210>	66	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	66	
tggccgatgg tgaggatat		19
<210>	67	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	67	
aacggcctga atggcaaca		19