



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0028121
(43) 공개일자 2009년03월18일

(51) Int. Cl.

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

(21) 출원번호 10-2007-0093446

(22) 출원일자 2007년09월14일

심사청구일자 2007년09월14일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

신정섭

서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학
(녹지)

최미화

서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학
(녹지)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김선애

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 식물 노화에 특이적으로 발현되는 AtSIL 유전자 및 그 유전자의 프로모터

(57) 요약

본 발명은 서열번호 1의 염기서열을 갖는 식물 노화에 특이적으로 발현되는 애기장대에서 분리된 AtSIL 유전자 및 그 유전자의 발현을 유도할 수 있는 서열번호 2의 염기서열을 갖는 프로모터에 관한 것이다. 상기한 본 발명에 의한 노화 관련 유전자 및 그 유전자의 프로모터는, 분자적 기작에 의해 식물의 노화를 환경친화적으로 조절하는 데 매우 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3

```

GTTATGTCTCCCTTCCCTTGTGGGCTTTAGCCTATGTTGATATACTCTATGTATGAAGACTCATGACATTGGTTAGC
TAGGCAAGTAAAGTGAAGGAAAAATTAGTCTATTACAACTTGCCTGCGCCATTAGAGGAAGAAAAATATCTTGTCTGC
TAAAGAGAGCCGAGAAAACTGCAGAAATAACAAATGGTAAGAAATGGGATCATGAAGAATATTTGAGAAACAGGGGAAATA
TTTGACTTACTTGAAGAACTACTGTATAGAAAGAGCTCTTGAAATACAGGAACTTAACTTAAACACATAAACATTT
TCATCCTTATAGGTTTCTTGTCTTATAGAAACAGAGAAAAATATATGAGTACCTGTAATCTTCCAGGTTGTGAAGG
GTTTGAGTCCAAAGTTGATCAACCAAGGAAAAATATGTTTCCATTGCGGATACCAAAACCTTGTGACAGATCAGATGAT
TAGTTGGTTAAGTAACTAAAGGTAATTAATGGGTTACCTTGGAACCAACATCAACAGGACCATGACATCGTCA
AGAACTGTGACATCAATGGAGTTGGAGATGAGAATATCAAAAGTGAAGTAACTTGGTTACAAAGATGATGAGCGGAC
CAAAAGCAGCCAGCTAGAACCACGACAACTCTTCTTCAATTTTTTTTTTTGTTTAAAGCAACCTTCTTCTTCTT
ATCTGAGGTGGCTCTCCATCGCTTGGGCTATGATACATAGTCTCTCCGGCGCACGGGACCTTGTACTATTATCAGAT
TCAGGCTCCACACCAACATCTTTTACTGCTCACAATCTTCTTCTTGTGTTTCTGTTTAACTTGTGAGTAAAGT
GATGTGTGGGTGGCATGGCCACAAAGACATCAAAACCAATTTGTCTGTATTTTTTTGTTTACAAAGATGATGAGCGG
CACCAGAGCAGCCAGCTAGACCCAGACAAACCACTTCTTCTTATTTGAGGTGGCTCTCCATCTCCATCCGCTGCTG
TTGGGACCTAGTACTATTATCGGATTCAGGCTCCACACCAACATCTTACTACCTTCAATCTTCTTCTTCTGTTT
TGTTTCTTGTGTTAACTTGTGAGTAAAGTATGATGTGGGTAATGCCATAGCCACAAAGACATCAAAACCAATTTGT
CTGTATTTTTTTTACCTAAATATATTAGCATTCTTCTACAATATGCAAGTGTGTTCTAATACAGTATGCTTATTTT
CAGTATTACTCATAGATTAATTAACATTTACCTCACAACCAATATAGAAATAGAAAGACATGGAAAAAATAAG
AAAGACATGGACACAAATAAATATATGTGCAAAACCAAAATTCATTTGACATATCTCAAAATATCAATTTATTAT
CAAAAGATTCAAAAGTAAATGATGTAAGTACAAAAAATTGCCGAATCTTTTGTCTTCCACGCTTCGAATTGTATTGGA
CCCAAAATTTATGTGTGACACAGATAATCGTTAGTATAGTCTATCTACCGTCCGCCGTTTCAATCTGACGGCTATCG
TACAAGCCGTACAATATAGACTCAATCTAACGGTGAATAGAAAGATCATAAATCCCTCAAATCTCACAGTTACCTCAA
GTTTTTTTTTTTTTTTGTGGTGAGACGAACCAACCAACCAACCAAGAGACAGAA
    
```

(72) 발명자

김윤영

서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학(
녹지)

정광욱

서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학(
녹지)

유경신

서울 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학(
녹지)

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1의 염기서열을 갖는 식물 노화에 특이적으로 발현되는 분리된 유전자(*AtSIL*).

청구항 2

서열번호 2의 염기서열을 갖는 식물 노화 특이적 유전자의 발현을 유도할 수 있는 분리된 프로모터.

청구항 3

제2항에 따른 프로모터 염기서열을 포함하는 재조합 벡터.

청구항 4

제3항에 따른 재조합벡터에 의해 형질전환된 아그로박테리움.

청구항 5

제2항 기재의 프로모터 또는 제3항 기재의 재조합 벡터를 포함하는 형질전환된 애기장대.

청구항 6

서열번호 2의 염기서열을 갖는 프로모터의 DNA단편을 증폭하기 위한 서열번호 5 및 서열번호 6으로 표시되는 PCR용 프라이머.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)에서 유래된 식물 노화에 특이적으로 발현되는 *AtSIL* 유전자 및 그 유전자의 프로모터에 관한 것으로, 분자적 기작에 의해 환경친화적으로 식물의 노화를 조절하는 데 유용하게 이용될 수 있는 애기장대에서 분리된 식물 노화에 특이적으로 발현되는 *AtSIL* 유전자(식물 노화 특이적 발현 유전자) 및 그 유전자의 발현을 유도하는 프로모터에 관한 것이다.

배 경 기 술

- <2> 생명체의 생노병사에 관한 연구는 생명공학 연구에서 매우 중요한 분야이다. 이 중에서 노화는 생명체의 발달, 생육과정의 일환이기 때문에 전 세계적으로 노화의 원인과 조절 메카니즘 규명을 통해 최종적으로 생명체의 노화 지연을 이루고자 하는 연구가 활발히 진행 중이나 관련된 연구 성과는 매우 미약한 편이다.
- <3> 동물에서뿐만 아니라 식물 노화 관련 유전자의 조절 기작에 대한 연구도 활발히 진행 중이다. 고등 식물에서의 노화는 일련의 세포사멸(PCD; Programmed Cell Death)의 과정에 포함되어져 있고, 이는 발생의 마지막 단계로 잎과 꽃 등을 포함한 식물 전 조직에서 관찰되기도 하지만 외부의 공격으로부터의 방어를 위해 국소적으로도 일어난다. 현재까지 식물에서의 노화는 식물 내의 호르몬들(ethylene, abscisic acid 및 cytokinins)의 작용과 영양분인 당(sugar)의 흐름에 의해 조절 받는다고 알려져 있다.
- <4> 만약 식물에서의 노화 촉진 또는 지연에 관여하는 유전자들의 분자 기작을 규명하고, 노화 관련 유전자를 식물체에 도입하면 고부가가치의 산업에 유용하게 이용될 수 있다. 즉, 장미와 카네이션 등의 화훼작물, 벼와 보리 등과 같은 주요 식량작물에 도입하여 환경 친화적인 방법으로 노화를 지연시킬 수 있다. 이런 목적으로 모델 식물인 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)를 이용한 노화관련 유전자들 및 그 유전자들의 발현을 조절하는 조절 유전자 부위인 프로모터에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.
- <5> 대한민국 특허공개공보(10-2004-0023252)에는 노화 지연 변이체 ore9-1에 액티베이션 태깅 방법을 적용하여 ore9-1 변이체에 비해 잎의 노화가 촉진되는 형질을 나타내는 돌연변이체를 선별하여 분리한 ORE9 유전자와 관

련된 발명이 개시되어 있다.

- <6> 한편, 노화 관련 유전자들의 특성이 식물체의 생육과 밀접하게 관계하여 작용하기 때문에 연구에 많은 어려움이 있다. 따라서 식물체 형질전환에 있어 가장 널리 사용하고 있는 CaMV 35S 프로모터(Cauliflower mosaic virus 35S promoter) 등은 노화 연구의 프로모터로서 실험에 이용하기 부적절하다. 최근까지는 많은 노화 관련 유전자들의 형질전환 연구에서는 화학 약품 또는 호르몬 등의 인위적 처리시에 일시적으로 발현한다고 알려져 있는 유전자들의 프로모터를 사용하여 연구에 임하고 있는 실정이다. 하지만, 외부에서 화학 약품 처리를 한다는 것 자체가 식물체에 좋지 않은 영향을 끼칠 수 있고, 노화 관련 유전자들의 기능만 가늠할 정도이며 연구적으로 식물체에 도입하여 실용화할 수 없다는 큰 단점을 가지고 있다.
- <7> 이와 같은 제약을 극복하고자 노화 특이적으로 반응하는 유전자 프로모터를 확보하여 사용하고자 하는 필요성이 대두되었다. 1995년 사이언스에 보고된 애기장대 SAG12(Senescence-associated gene 12) 유전자의 프로모터가 식물체 내의 분자적 기작에 의해 노화 특이적으로 반응하고 조절을 받는다고 알려져 있고, 현재까지 이런 성질의 프로모터는 애기장대 내에서 상기 SAG12와 SEN4 [(1) Gan S and Amasino RM, 1995. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. Science 270: 1986-1988, (2) Noh YS and Amasino RM, 1999, Identification of a promoter region responsible for the senescence-specific expression of SAG12. Plant Mol Biol 41: 181-194] 정도가 알려져 있고, 본 출원인에 의한 대한민국 특허 제10-0604195호에 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자 AtCDCP1 및 그 유전자의 프로모터가 공개되어 있는 정도로 관련 연구 성과가 매우 미흡한 상태이다.
- <8> 따라서 식물체의 발육과 성장에는 전혀 영향을 미치지 않으면서 단시간 내에 효율적으로 노화 관련 유전자들의 기능을 분석할 수 있고, 환경 친화적이면서 산업적으로 영구적인 형질전환이 가능하도록, 외부의 어떤 처리 없이 노화에 특이적으로 반응(auto-regulate reaction)하는 프로모터에 대한 요구가 끊임없이 존재하여 왔다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <9> 본 발명은 상기 문제점과 요구를 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 식물 노화에만 특이적으로 발현하는 유전자 및 그 유전자의 발현을 유도하는 프로모터를 제공하는 것이다.
- <10> 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 노화 특이적 유전자 발현 신규 프로모터를 포함한 재조합 벡터 및 이에 의해 형질전환된 식물체를 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <11> 본 발명은 서열번호 1의 염기서열을 갖는 식물 노화에 특이적으로 발현되는 분리된 유전자(*AtSIL*)를 제공한다.
- <12> 또한, 본 발명은 서열번호 2의 염기서열을 갖는 식물 노화 특이적 유전자의 발현을 유도할 수 있는 분리된 프로모터를 제공한다.
- <13> 애기장대의 전체 염기서열은 이미 모두 밝혀져 있다. 이들 염기서열을 바탕으로 각 유전자들의 위치와 중요한 도메인(domain), 엑손(exon), 인트론(intron) 등에 관한 정보도 이미 추정하여 공개되어 있지만, 아직도 특정 도메인이 없고 기능을 추정할 수 없는 유전자가 대다수이다. 본 발명자들은 여러 가지 스트레스(stress)를 애기장대에 처리하여 발현이 증가되고 노화에 관련된 미지(unknown) 유전자를 발견하고 *AtSIL*이라 명명하였다.
- <14> 이를 근거로 출원인은 TAIR(The Arabidopsis Information Resource) 사이트에 개시된 애기장대 서열 데이터베이스를 상기 신규 유전자 염기서열과 비교 조사해 본 결과, 상기 유전자와 상동성을 갖는 유전자를 애기장대에서 찾아낼 수 있었다(TAIR 제At2g20920호)(도 2 참조).
- <15> 이 유전자의 프로모터가 노화 특이적인 유전자가 발현되도록 조절하고 있을 것이라고 결론을 내리고 이 유전자의 프로모터로 추정되는 염기서열을 분리하고 이를 확인하였다(도 3 참조).
- <16> 본 발명에 의한 식물 노화 특이적인 유전자 발현을 유도할 수 있는 프로모터에 GUS를 융합시켜 발현 양상을 조사해 본 결과, 노화한 잎의 노화된 부분과 꽃잎이 분리되는 단계에서의 꽃에서 GUS 유전자가 발현된다는 것을 확인하였다(도 5 및 도 6 참조).
- <17> 따라서 상기 애기장대에서 분리된 본 발명에 의한 신규한 프로모터는 노화에 특이적으로 유전자 발현을 유도할

수 있어, 친환경적으로 노화를 조절하는 데 매우 유용하게 이용될 수 있다.

- <18> 상기 서열번호 1 또는 서열번호 2의 염기서열과 실질적 서열 상동성을 갖는 서열, 즉 도 2(서열번호 1) 또는 도 3(서열번호 2)에 나타난 염기서열과 비교해 약간의 서열 변이를 갖지만 서열 기능이 동일한 염기서열도 본 발명에 포함된다 할 것이다.
- <19> 또한, 본 발명은 상기 프로모터의 염기서열을 포함하는 재조합 벡터(도 4 참조) 및 상기 재조합 벡터에 의해 형질전환된 식물체(도 5 참조)를 제공한다.
- <20> 본 발명에 의한 프로모터 염기서열을 포함하는 재조합 벡터를 제조하고 이 재조합 벡터를 식물체 내로 도입시키기 위하여, 본 발명이 속하는 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 다양한 기술을 사용할 수 있다(참고 문헌: Clough SJ and Bent AF, 1998. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. Plant J 16:735-43). 예를 들어 아그로박테리움-매개 형질전환을 이용할 수 있다.
- <21> 또한, 본 발명은 서열번호 2의 염기서열을 갖는 프로모터의 DNA단편을 증폭하기 위한 서열번호 5 및 서열번호 6으로 표시되는 PCR용 프라이머를 제공한다.

효 과

- <22> 상술한 바와 같이, 본 발명은 식물 노화에 특이적으로 발현되는 신규한 *AtSIL* 유전자 및 정상적인 푸른 잎 조직에서는 발현되지 않고 노화 조직에서만 특이적으로 상기 유전자를 발현시킬 수 있는 신규한 프로모터 등을 제공하여, 식물체의 발육과 생장에는 전혀 영향을 미치지 않으면서 단시간 내에 효율적으로 노화 관련 유전자들의 기능을 분석할 수 있고, 환경 친화적이면서 산업적으로 영구적인 형질전환이 가능한 효과를 도모할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <23> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- <24> [실시예 1. 신규한 유전자(*AtSIL*)의 발견]
- <25> 본 발명자들은 여러 가지 스트레스(stress)를 애기장대에 처리하여 발현이 증가되고 노화에 관련된 미지(unknown) 유전자를 발견하고 *AtSIL*이라 명명하였다.
- <26> 이를 근거로 출원인은 TAIR(The Arabidopsis Information Resource) 사이트에 개시된 애기장대 서열 데이터베이스를 상기 신규 유전자 염기서열과 비교 조사해 본 결과, 상기 유전자와 100 % 상동성을 갖는 유전자를 애기장대에서 찾아낼 수 있었다(TAIR 제At2g20920호).
- <27> [실시예 2. 타겟 유전자(TAIR 제At2g20920호)의 RT-PCR]
- <28> TAIR 사이트에서 추정된 상기 *AtSIL* 유전자의 ORF(open reading frame)가 실제로 애기장대에서 전사되는지 알아 보기 위하여 RT-PCR을 수행하였다.
- <29> RT-PCR에 이용할 표준 cDNA를 합성하기 위해 뉴클레오스핀 RNA 플랜트 키트(Nucleospin RNA plant kit, Macherey-Nagel)를 이용하여, 애기장대(*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia)의 각 조직, 즉 꽃(flower), 경생엽(cauline leaves), 근생엽(rosette leaves), 줄기(stem), 뿌리(root)의 전체 RNA(total RNA)를 추출하였다.
- <30> 정량한 전체 RNA(total RNA) 4 μ g과 10mM의 각각 dNTP, 50M의 oligo dT primer와 뉴클레아제가 없는(nuclease-free) 멸균수를 잘 섞은 다음 65 $^{\circ}$ C에서 5분간 처리한 후, 그 튜브를 얼음에 옮겨 RT-PCR 버퍼(buffer), RNase 저해제(RNase inhibitor), 0.1 M DTT를 첨가하여 70 $^{\circ}$ C에서 2분간 처리하였다.
- <31> 다시 얼음으로 옮긴 후 역전사효소(reverse transcriptase) 200 유니트(unit)를 넣고 50 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 처리하였다. 이 생성물을 70 $^{\circ}$ C에서 15분간 불활성화시켜 조직별 cDNA 풀(pool)을 만들었으며, 이 cDNA 풀(pool)을 RT-PCR의 주형(template)으로 사용하였다.
- <32> RT-PCR에 이용된 프라이머는 TAIR 사이트의 염기서열을 바탕으로 유전자의 엑손 연결부위에서 합성하였다. RT-PCR에 이용된 타겟 유전자 특이 프라이머는 표 1에 구체적으로 나타나 있다. 그리고 이때 PCR 반응은 Gene Amp

® PCR System 2700 (Perkin Elmer, USA)을 사용하여, 95℃에서 2분간 초기 변성 후, 터치-다운(touch-down) PCR 방법으로 5회 [95℃ 40초, 62℃ → 57℃ (매 cycle당 1℃씩 감소) 15초, 72℃ 1분] 실시하고, 정상적인 PCR 방법으로 20회 [95℃ 40초, 57℃ 15초, 72℃ 1분]와 72℃에서 5분을 수행하였다. 표 1은 RT-PCR에 이용된 타겟 유전자 특이 프라이머를 나타낸다.

표 1

<33>

5'-GTC-AAG-CTA-GGG-AAA-GCA-GCT-GC(서열번호 3)	23-mer
5'-CAT-ATA-AAC-GAA-GTA-CAT-ATA-CCA-GCG-TG(서열번호 4)	29-mer

<34>

내적대조군(Internal control)으로는 *eIF4a1*을 사용하였으며, 조직별 cDNA 풀(pool)에서 동일한 양이 발현되는 것을 확인하였다. 상기 타겟 유전자 특이 프라이머를 이용한 RT-PCR의 결과는 도 1과 같다. 도 1에 나타난 바와 같이 타겟 유전자가 꽃, 경생엽, 근생엽에서 강하게 발현이 되는 것을 확인할 수 있었다.

<35>

[실시에 3. 노화 특이적 발현 유전자(TAIR 제At2g20920호)의 프로모터 염기서열 확인]

<36>

상기 *AtSIL* 유전자(At2g20920)의 바로 앞부분에 있는 유전자의 3' UTR(untranslated region)에서부터 상기 유전자(At2g20920)의 시작부분(ATG)까지 1,923 염기쌍(base pair)을 이 유전자의 프로모터 부위라 추정하고 1,740 염기쌍(base pair)을 클로닝하였다.

<37>

먼저 애기장대의 게놈 DNA(gDNA)를 추출하고, 양 말단에 *Hind*III(5'말단)와 *Bam*HI(3'말단) 사이트를 포함하고 있는 서열번호 5 및 서열번호 6으로 표시되는 프라이머를 합성하였다(표 2 참조). 상기 gDNA를 주형(template)으로 하여, 합성한 상기 프라이머와 교정(proofreading) 기능을 갖는 DNA 중합효소(pyrobest, TAKARA)를 이용하여 터치-다운 PCR(touch-down PCR) 방법으로 프로모터 부위를 증폭하였다. 그리고 이때 PCR 반응은 Gene Amp® PCR System 2700 (Perkin Elmer, USA)을 사용하여, 95℃에서 2분간 초기 변성 후, 터치-다운(touch-down) PCR 방법으로 5회 [95℃ 40초, 60℃ → 55℃ (매 cycle당 1℃씩 감소) 15초, 72℃ 1분 30초] 실시하고, 정상적인 PCR 방법으로 30회 [95℃ 40초, 55℃ 15초, 72℃ 1분 30초]와 72℃에서 30초를 수행하였다. 표 2는 프로모터 클로닝에 이용한 프라이머를 나타낸다.

표 2

<38>

5'-CGG-AAG-CTT-GTT-ATG-TCT-CCC-TTC-CCT-TGT-TTG(서열번호 5)	33-mer
5'-CAT-GGA-TCC-TTC-TGT-CTT-CTG-TTG-GTG-TTG-TT(서열번호 6)	35-mer

<39>

PCR로 얻은 산물을 각 제한효소로 말단을 자른 다음 pBI101 벡터(vector)에 클로닝하였다. 이 클론을 시퀀싱(sequencing)한 결과 정확한 염기서열이 클로닝되었음을 확인할 수 있었다(서열번호 2, 도 3 참조).

<40>

[실시에 4. 타겟 프로모터 클로닝 및 프로모터의 노화 특이적 발현 양상 확인]

<41>

레프트 보더(left boarder)와 라이트 보더(right boarder) 사이에 GUS(β -glucuronidase) 리포터 유전자를 가지고 있는 형질전환용 바이너리벡터(binary vector)에 타겟 프로모터 클로닝하였다(도 4 참조). 이렇게 제작된 벡터를 아그로박테리움(*Agrobacterium*, GV3101)에 형질변환시킨 후 꽃 침지(flower dipping, Clough et al., Plant J., 16(6): 735 - 743, 1998) 방법으로 애기장대를 형질전환시켰다. 형질전환시킨 애기장대를 세 세대에 걸친 선발(screening)로 T₃ 계통(line)을 확보할 수 있었다.

<42>

GUS(β -glucuronidase)는 특정한 기질(X-GlcA)을 분해시켜 푸른색을 나타내게 하므로, GUS 유전자가 도입된 식물체를 X-GlcA 용액에 담가 두면 이 유전자가 발현되는 조직에서만 푸른색을 띄게 된다.

<43>

이러한 특징을 갖는 GUS 유전자의 발현 양상을 관찰한 결과, 노화된 잎(경생엽 및 근생엽)의 노화된 부분에서 강하게 발현하는 것을 확인하였고 또한 노화가 진행됨에 따라 발현이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(도 5 참조).

<44>

꽃에서도 개화(開花)전 어린 꽃에서의 발현은 관찰할 수 없었으나 (도 6의 A), 노화가 시작되는 꽃부터 그 발현이 천천히 증가하여, 수정이 끝나 노화가 진행된 꽃의 꽃잎, 꽃받침 및 수술에서의 매우 강한 발현을 관찰할 수 있었다 (도 6의 B).

<45> 따라서 본 발명에 의한 프로모터는 노화 특이적인 프로모터임을 명확하게 확인할 수 있었다.

도면의 간단한 설명

<46> 도 1은 본 발명에 의한 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자의 전사발현 양상을 나타내는 도면이다.

<47> 도 2는 본 발명에 의한 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자의 전체 염기서열을 나타내는 도면이다.

<48> 도 3은 본 발명에 의한 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자의 발현을 유도하는 프로모터의 전체 염기서열을 나타내는 도면이다.

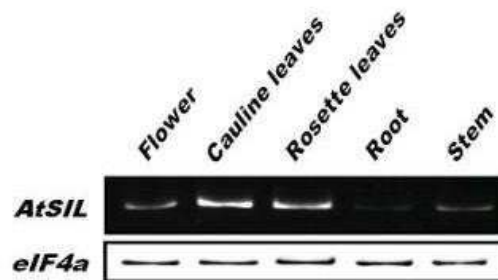
<49> 도 4는 본 발명에 의한 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자의 발현을 유도하는 프로모터의 클로닝에 사용되는 pBI101 벡터의 레프트 보더와 라이트 보더 카세트를 나타내는 도면이다.

<50> 도 5는 본 발명에 의한 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자의 발현을 유도하는 프로모터에 GUS를 융합시켜 잎에서의 발현 양상을 관찰한 결과를 나타내는 도면이다.

<51> 도 6은 본 발명에 의한 식물 노화에 특이적으로 발현되는 유전자의 발현을 유도하는 프로모터에 GUS를 융합시켜 꽃에서의 발현 양상을 관찰한 결과를 나타내는 도면이다.

도면

도면1



도면2

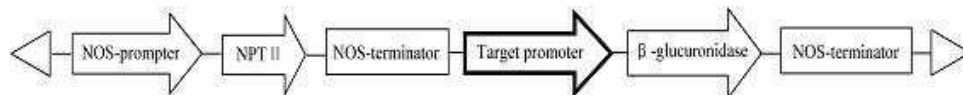
```

ATGGCAACCGCAGCTCTCTCCGCGCCCGACCCCAACGCGCTTAGCTCAGCCTCCTCCGATGTTCTCTCCACCCCTATA
TCTCCCTACCAAGCTCCAATTTCTTCCCGTAAGACTCAGCTGTGGCGCTCCGCCGCGATTCTCTTACCCACACGGCGGC
GATGCGCTCCGCC TAGAGCTAGTTCTCGCGCCGACGATTCTCCACCCTTCGATATGTCTGTGGAGACGGCGCTTAAGGTT
CTCGGAGTCTCCGAAGGAGCTTCTTCGACGAAATTCCTGTGCCAAGAAATCGATCCTGGCTTCGTGAAGGACGACCC
CAACGCCATCTCTCAGGCTGAGGCTGCATATGACATGCTGCTGATGCAGAGCCTAAACCAACGCCGAGCAGGAAAAGTTG
TAAGCAACAACATTCGCTACGCTGATGTTAAATCTAGTAACCTCTGGGAACAAGTACTGTGACTCAGTGGATGAAGAAT
CCACCTGTCTCTGTTGATATGCCTTCCACGAGCGATCTCGGGATACAAGCTGGAGTCTATGGAGCCATGATGGTTTTGAC
TTATGTGAATGGGAGTTCTTTGAATCTTCTGGGATGCCCTTATGCTGGTGCTGATGTGCCCGGACTTATATTGGCTAGCA
GCTTTGGGGCTTCCCTATACTTTATGACCAAAAAGAAAGTCAAGCTAGGGAAAGCAGCTGCGTTGACGGCAGGAGGATTA
GTGGCAGGTGCAGTGGTGGGATCAGCCATTGAGACCTGGCTGCACGTTGATGTGGTTCCGTTTCTGGGTCTCCACTCCCC
AGCTGCAGTCGTGAGTGAATTCATAGTATTCTCTCAGTTCTTGGTGTCTCTATGCTTAAGGTAG
    
```

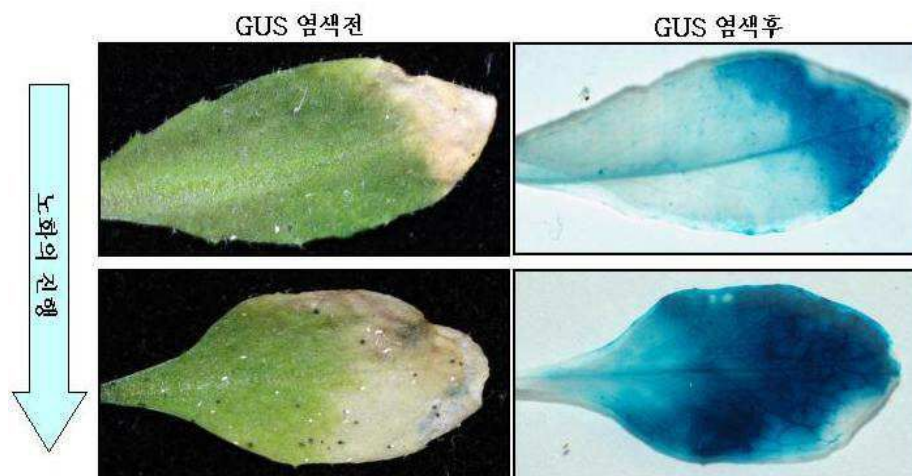
도면3

GTTATGTCTCCCTTCCCTTGTGTTGGGCTTAGCCTATGTTGATATACTCCTATGTATGAAGACTCATGACATTGGTTAGC
TAGGCAGTAAGATGAAGGAAAAATTTAGTCTATTACAACCTTGCCTGCAGCCATTAGAGGAAGAAAAGATATCTTGTCTGC
TAAAGAGAGCCGAGAAAACTGCAGAAATAACAATGGTAAGAAATGGGATCATGAAGAATATTTGAGAAACAGGGGAAATA
TTTGACTTACTTGAGAATACTACTGTATAGAAGAAGCTCTTGAAATACAGGAACTTAACCTTAAACACATAAACATTT
TCATCCTTATAGGTTTCTTGCTTCATAAGAAACAGAGAAAAATATATGAGTACCTGTAAATCTTCCCAGGTTGTGAAGG
GTTTGAGTCCAGTTGATCAACCAAGGAAAATATGTTTCCATTGCGATACCAAAACCTTGTGACAGATCACATGTAT
TAGTTGGGTAACTGAAAACAAAAGGTAATTAATGGGTTACCTTGGAAACCAACATCAACAGGACCATGACCATCGTCA
AGAACTGTGACATCAAAATGGAGTTGGAGATGAGAAATATCAAAAGTAAAGTAACCTTGGTTACAAAGATGATGAGCGGCAC
CAAAAGCAGCCCAGCTAGAACCCACGACAACCACTTCTTCTTCATTTTTTTTTGGTTTAAACAACCTTCTTCTTCTT
ATCTGAGGTGGCTCCTCCATCGCTTGGGCTATGATACATAGTCTTCTCCGGCGCACGGGACCTTGTACTATTATCAGAT
TCAGGCTCCACACCACAACATCTTACTGCCTCACAACTTTCTTCTTTTGTTCCTTGTGTTAACTTGTGAGTAAGT
GATGTGTGGTGCCATGGCCACAAAGACATCATAAACCAATTTTGTCTGTATTTTTTGGTTACAAAGATGATGAGCGG
CACCAGAGCAGCCCAGCTAGAACCCACGACAACAACCTTCTTCTTCTTATTTGAGGTGGCTCCTCCATCCTCCATCCCC
TTGGGACCTAGTACTATTATCGGATTCAGGCTCCCACACCACAACATCTTACTACCTTACAATCTTCTTCTTCTGTTT
TGTTTCTTGTGTTAACTTGTGAGTAAGTATGTGTGGGTAATGCCATAGCCACAAAGACATCATAAACCAATTTTGT
CTGTATTTTTTTTTACCTAAAATATATTAGCATTCTTCTACAATTATGCAGTTGTTTCTAATACAGTATGCTTATTTTT
CAGTATTACTCATAGATTAATTAACATTTACCTCACAAACAATTATAGAAATAGAAAGACATGGAAAAAAAATAG
AAAGACATGGACCACAAAATAAATAATATGTGAAAAACAATAATCCATTTGACATACTTATCAAAATATCAATTTATTAT
CAAAGATTCAAAGTAATTGATGTAAGTACAAAAAATGCCGAATCTTTTGTCTCCACGCTTCGAATTGTGTATTGGA
CCCAAATTTATGTGTGTGACACAAGATAATCGTTAGTATAGGTCTATCTACCGTCCGCGTTTCAATCTGACGGCTATCG
TACAAGCCGTACAATATAGACTCAATCTAACGGTGGAAATAGAAAGATCATAAATCCCTCAAATCTCACAGTTACCTCAA
GTTTTTTTTTTTTTTTGTGGTGGAGACGAACAACAACACCAACAGAAAGACAGAA

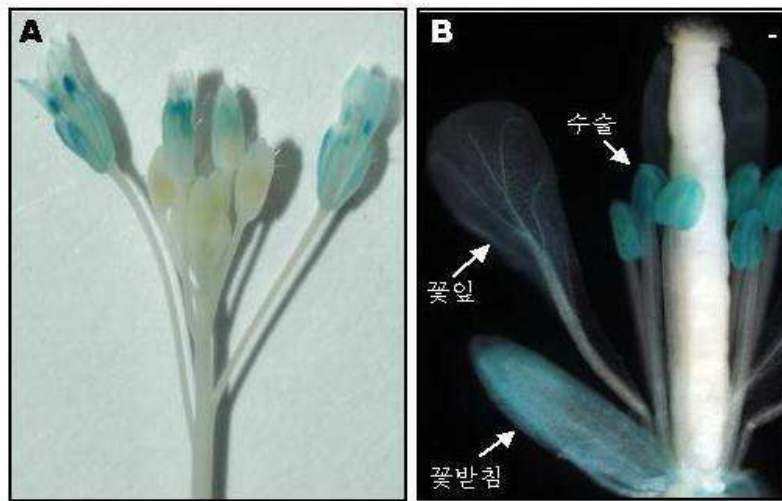
도면4



도면5



도면6



서열 목록

<110> Korea University Industrial and Academic Collaboration Foundation
 <120> A novel senescence-specific plant AtSIL gene and its promoter

<130> P11-070828-02

<160> 6

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1
 <211> 864
 <212> DNA
 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 1	
atggcaaccg cagctctctc cgccgcccga cccaaccgcc ttagctcagc ctctccgat	60
gttctctctc accccctata tctcctacc aagctccaat ttcttcccg taagactcag	120
ctgtggcgct ccgccgcgat tctcttacc acacggcggc gatgcgctcc gcctagagct	180
agttctcgcg ccgacgattc tccacccttc gatatgtctg tggagacggc gcttaaggtt	240

ctcggagtct ccgaaggagc ttccttcgac gaaattcttc gtgccaagaa atcgatcctg	300
gcttctcgta aggacgaccc caacgccatc tctcaggctg aggcctgcata tgacatgctg	360
ctgatgcaga gcctaaacca acgccgagca ggaaaagtgt taagcaacaa cattcgtctac	420
gctgatgtta aaictagtaa ccctctggga acaagtactg tgactcagtg gatgaagaat	480
ccacctgtct ctgttgatat gccttcacg agcgatctcg ggatacaagc tggagtctat	540
ggagccatga tggttttgac ttatgtgaat gggagttcct ttgaatcttc tgggatgcct	600
tatgctgggtg ctgatgtgcc cggacttata ttggctagca gctttggggc ttcctatac	660
tttatgacca aaaagaaagt caagctaggg aaagcagctg cgttgacggc aggaggatta	720
gtggcagggtg cagtgggtggg atcagccatt gagacctggc tgcacgttga tgtggttcg	780
tttctgggtc tccactcccc agctgcagtc gtgagtgaat tcatagtatt ctctcagttc	840
ttggtgtctc tatgcttaag gtag	864
<210> 2	
<211> 1740	
<212> DNA	
<213> Arabidopsis thaliana	
<400> 2	
gttatgtctc cttcccttg tttgggcttt agcctatgtt gatatactcc tatgtatgaa	60
gactcatgac attgggttagc taggcagtaa gatgaaggaa aatttagtcc tattacaact	120
tgctgcagc cattagagga agaaaagata tcttgtctgc taaagagagc cgagaaaact	180
gcagaaataa caatggtaag aaatgggatc atgaagaata tttgagaaac aggggaaata	240
tttgacttac ttgagaatac tactgtatag aagaagctct tgaaatacag gaaacttaac	300
cttaaaacac ataaacattt tcatccttat aggtttcttg cttcataaga aacagagaaa	360

aaatatatga gtacctgtaa atcttcccag gttgtgaagg gtttgagtcc aagttgatca	420
accaaggaaa atatgtttcc attcggatac caaaaccctt gttgcacaga tcacatgtat	480
tagttgggta acgtaaaact aaaaggtaat taaatgggtt accttggaac ccaacatcaa	540
caggaccatg accatcgta agaactgtga catcaaatgg agttggagat gagaatatca	600
aagtgaaagt aaccttggtt acaaagatga tgagcggcac caaaagcagc ccagctagaa	660
cccacgacaa ccaccttctt cttcattttt tttttgggtt aaaacaacct tcttcttctt	720
atctgaggtg gtcctccat cgccttgggc tatgatacat agtcttctcc ggcgcacggg	780
accttgtaact attatcagat tcaggtctcc acaccacaac atctttactg cctcacaatc	840
tttcttcttt tgtttccttg tgtttaactt gtgagtaagt gatgtgtggg tgccatggcc	900
acaaagacat cataaaccaa attttgtctg tatttttttg gttacaaaga tgatgagcgg	960
caccaagagc agcccagcta gaaccacga caacaacctt cttcttctta ttgaggtgg	1020
ctcctccatc ctccatcccc ttgggacctt gtactattat cggattcagg ctccacacc	1080
acaacatctt tactacctta caatctttct tcttctgttt tgtttccttg tgtttaactt	1140
gtgagtaagt gatgtgtggg taatgccata gccacaaaga catcataaac caaatittgt	1200
ctgtattttt tttaacctaa aatatattag cattcattct acaattatgc agttgtttct	1260
aatacagtat gcttattttt cagtattact catagattaa aattaacatt tacctcacia	1320
acaattatag aaatagaaag acatggaaaa aaaaaaatag aaagacatgg accacaaaat	1380
aaataatatg tcgaaaacaa aatatccatt tgacatactt atcaaatatc aatttattat	1440
caaagattca aaagtaattg atgtaagtac aaaaaaatg ccgaattctt ttgcttcac	1500

gtttcgaatt gtgtattgga cccaaattta tgtgtgtgac acaagataat cgtagtagata 1560

gggtctatcta ccgtccgccg ttccaatctg acggctatcg tacaagccgt acaatataga 1620

ctcaatctaa cgggtggaaat agaaagatca taaatccctc aaatctcaca gttacctcaa 1680

gttttttttt ttttttttgt tgggtggagac gaacaacaac aacaccaaca gaagacagaa 1740

1740

<210> 3
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> PCR PRIMER

<400> 3
 gtcaagctag ggaaagcagc tgc 23

<210> 4
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> PCR PRIMER

<400> 4
 catataaacg aagtacatat accagcgtg 29

<210> 5
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 5
 cggaagcttg ttatgtctcc cttcccttgt ttg 33

<210> 6
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> PCR PRIMER

<400> 6
catggatcct tctgtcttct gttggtgttg ttgtt

35