(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0064705
(43) 공개일자 2025년05월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/82 (2006.01) *A01H 5/10* (2018.01)
A01H 6/46 (2018.01) *C07K 14/415* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/8261 (2013.01)
A01H 5/10 (2022.05)
(21) 출원번호 10-2023-0148028
(22) 출원일자 2023년10월31일
심사청구일자 2023년10월31일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
전종성
경기도 안양시 동안구 동안로 101 목련선경아파트 103동 1302호
보티수안키우
경기도 수원시 영통구 매영로425번길 4, B01 (영통동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **벼 줄기 신장 감소 및 분얼수 조절을 위한 벼 RNA-binding protein1(OsRBP1) 유전자와 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 벼 줄기 신장 감소 및 분얼수 조절을 위한 벼 RNA-binding protein1(OsRBP1) 유전자와 이의 용도에 관한 것으로서, 본 발명의 벼 유래 OsRBP1 유전자를 과발현시킨 형질전환 식물체는 줄기의 신장이 크게 감소되고 분얼수가 증가된 형질전환 벼를 생산하여 벼의 도복 저항성 및 종자 수량성을 동시에 증대시키는 효과가 있다. 따라서, 벼 줄기 신장 감소 및 분얼수 조절 기능이 있는 형질전환 식물체의 개발을 위해 OsRBP1 유전자는 매우 유용할 것으로 기대되며, 이를 이용하여 수확량을 획기적으로 개선한 벼 품종의 개발에 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A01H 6/4636 (2022.05)
C07K 14/415 (2013.01)
C12N 15/8205 (2013.01)

(72) 발명자
미자노라흐만
경기도 수원시 영통구 매영로425번길 4, B05 (영통동)

심수현
경기도 수원시 영통구 매탄로79번길 6-2, 301호 (매탄동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395077466
과제번호	RD010381
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	차세대농작물신육종기술개발사업
연구과제명	유전자교정 기반 성분 개선 육종소재 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2022.04.01 ~ 2023.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 RBP1(RNA-binding protein 1)은 벼(*Oryza sativa*) 유래인 것을 특징으로 하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 RBP1(RNA-binding protein 1)은 서열번호 3의 염기서열로 표시되는 것인, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 재조합 벡터는 프로모터 서열, RBP1 서열, 표지 단백질 서열 및 종결 부위를 순차적으로 포함하는 것을 특징으로 하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 프로모터 서열은 CaMV 35S 프로모터 서열, 벼 유비퀴틴(*Oryza sativa* Ubiquitin; OsUbi) 프로모터 서열 또는 옥수수 유비퀴틴(*Zea mays* Ubiquitin; ZmUbi) 프로모터 서열인 것을 특징으로 하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 표지 단백질 서열은 c-Myc, 폴리히스티딘(Polyhistitine; His) 또는 헤마글루티닌(hemagglutinin; HA)의 에피토프(epitope) 태그 서열인 것을 특징으로 하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 7

제4항에 있어서,

상기 종결 부위는 노팔린 합성효소(Nopaline synthase; Nos) 종결 부위, 35S 종결 부위 또는 폴리 A 시그널

(poly(A) signal)인 것을 특징으로 하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 8

제4항에 있어서,

상기 RBP1 서열은 종결 코돈이 제거된 것을 특징으로 하는, 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터.

청구항 9

RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자가 도입 또는 과발현된, 형질전환 식물체.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 식물체는 벼, 보리, 밀, 호밀, 옥수수, 사탕수수, 귀리 및 양파로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 형질전환 식물체.

청구항 11

제9항의 형질전환 식물체의 종자.

청구항 12

식물에서 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 도입 또는 과발현시키는 단계를 포함하는, 식물의 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절 방법.

청구항 13

RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 식물체를 도입하여 형질전환하는 단계를 포함하는, 줄기 신장 감소 또는 분얼수가 조절된 형질전환 식물체의 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 벼 줄기 신장 감소 및 분얼수 조절을 위한 벼 RNA-binding protein1(OsRBP1) 유전자와 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 벼는 전 세계적으로 소비되는 주요 식량자원으로서, 세계 인구의 급격한 증가에 따라 벼의 생산량 증대가 요구되고 있는 실정이다. 하지만 기후변화와 경작지 감소 등 여러 요인들로 인해 2050년을 기준으로 벼의 생산량은 증가하는 세계 인구의 쌀 소비량을 충족하지 못할 것으로 예상된다. 이에 따라 다양한 생명공학 기술을 이용하여 생산성이 증대된 벼를 개발하는 것이 미래 식량 안보를 위한 당면과제이다. 벼의 생산성을 높이는 전략으로는 환경 스트레스에 대한 내성을 증대시키고 벼의 분얼 및 이삭의 수를 늘리는 등의 방법이 있다.

[0004] 녹색혁명이라 불리는 1960-1970년대 '통일벼'의 개발은 국내외 식량 보급률을 크게 증가시킨 바 있다. '통일

벼'는 줄기의 신장이 감소된 단간형질을 가짐으로써 강풍에 대한 도복 저항성을 보여 다양한 기후 환경에서 안정적인 생산성을 유지하는 방식으로 수확량 증대에 크게 기여하였다. 또한 벼의 분얼 수 증가는 궁극적으로 이삭 수의 증가로 이어져 수확량 증대에 기여할 수 있다.

[0005] 이에 본 발명자들은 벼 RNA-binding protein1(OsRBP1) 유전자의 기능상실 돌연변이체 및 과발현 형질전환체를 제작하여 OsRBP1의 과발현체에서 단간 형질과 분얼수의 증가를 통한 수확량 증대를 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-1322319호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터를 제공하는 데 있다.

[0009] 또한, 본 발명의 다른 목적은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자가 도입 또는 과발현된 형질전환 식물체를 제공하는 데 있다.

[0010] 또한, 본 발명의 다른 목적은 형질전환 식물체의 종자를 제공하는 데 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 다른 목적은 식물에서 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 도입 또는 과발현시키는 단계를 포함하는 식물의 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절 방법을 제공하는 데 있다.

[0012] 또한, 본 발명의 다른 목적은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 식물체를 도입하여 형질전환하는 단계를 포함하는 줄기 신장 감소 또는 분얼수가 조절된 형질전환 식물체의 제조방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터를 제공한다.

[0015] 이어서, 본 발명은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자가 도입 또는 과발현된 형질전환 식물체를 제공한다.

[0016] 나아가, 본 발명은 형질전환 식물체의 종자를 제공한다.

[0017] 더불어, 본 발명은 식물에서 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 도입 또는 과발현시키는 단계를 포함하는 식물의 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절 방법을 제공한다.

[0018] 마지막으로, 본 발명은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 식물체를 도입하여 형질전환하는 단계를 포함하는 줄기 신장 감소 또는 분얼수가 조절된 형질전환 식물체의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명의 벼 유래 OsRBP1 유전자를 과발현시킨 형질전환 식물체는 줄기의 신장이 크게 감소되고 분얼수가 증가된 형질전환 벼를 생산하여 벼의 도복 저항성 및 종자 수량성을 동시에 증대시키는 효과가 있다. 따라서, 벼 줄

기 신장 감소 및 분얼수 조절 기능이 있는 형질전환 식물체의 개발을 위해 OsRBP1 유전자는 매우 유용할 것으로 기대되며, 이를 이용하여 수확량을 획기적으로 개선한 벼 품종의 개발에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 있어서, CRISPR/Cas9 시스템을 사용하여 OsRBP1의 유전자 기능 상실 돌연변이에 의해서 생산된 rbpko-1, rbpko-2를 나타낸 도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1의 과발현 재조합 운반체를 나타낸 모식도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1의 과발현 형질전환 벼의 유전자 및 단백질 발현 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1 기능 상실 돌연변이 벼의 표현형을 나타낸 도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1 과발현 돌연변이 벼의 분얼수 증가를 나타낸 도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1 과발현 돌연변이 벼의 개화 후 성숙한 단계의 생장 표현형을 나타낸 도이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1 과발현 돌연변이 벼의 분얼수 및 벼의 키를 나타낸 도이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1 과발현 돌연변이 벼의 줄기 분석을 나타낸 도이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 있어서, OsRBP1 과발현 돌연변이 벼 줄기 길이의 정량적 분석 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현 예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현 예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허 청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0024] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시 예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 “포함”한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0025] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 '%'는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는(w/w) %, 고체/액체는(w/v) %, 그리고 액체/액체는(v/v) %이다.

[0027] 일 측면에서, 본 발명은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 식물 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절용 재조합 벡터를 제공한다.

[0028] 본 발명에서 사용되는 용어 ‘RBP1(RNA-binding protein 1)’은 세포 내 이중 또는 단일 가닥 RNA에 결합하고 리보핵단백질 복합체 형성에 참여하는 단백질이다.

[0029] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 RBP1(RNA-binding protein 1)은 벼(*Oryza sativa*) 유래인 것일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0030] 본 발명에서 용어 “벼”는 학명이 *Oryza sativa L.*이며, 일년생 초본식물이고, 본 발명에서의 벼에는 자포니카(Japonica)형, 인디카(Indica)형 및 자바니카(Javanica)형으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0031] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 RBP1(RNA-binding protein 1)은 서열번호 3의 염기서열로 표시되는 것일

수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0032] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 재조합 벡터는 프로모터 서열, RBP1 서열, 표지 단백질 서열 및 종결 부위를 순차적으로 포함하는 것일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 프로모터 서열은 CaMV 35S 프로모터 서열, 벼 유비퀴틴(*Oryza sativa* Ubiquitin; OsUbi) 프로모터 서열 또는 옥수수 유비퀴틴(*Zea mays* Ubiquitin; ZmUbi) 프로모터 서열인 것, 바람직하게는 CaMV 35S 프로모터 서열일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 표지 단백질 서열은 c-Myc, 폴리히스티딘(Polyhistitine; His) 또는 헤마글루티닌(hemagglutinin; HA)의 에피토프(epitope) 태그 서열인 것, 바람직하게는 c-Myc 서열, 더 바람직하게는 4X c-Myc 서열일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명에서 사용되는 용어 '에피토프(epitope)'는 항체나 T 세포와 상호 작용하여 그에 대응하는 면역 반응을 유발하는 단백질 부분이나 화합물을 의미한다. 에피토프는 주로 항원의 일부로서 작용하며, 면역 시스템은 이러한 에피토프를 식별하여 인식한다.

[0036] 본 발명에서 사용되는 용어 '에피토프(epitope) 태그 서열'은 특정 단백질에 부착되어 그 단백질을 특이적으로 식별하거나 추출하는데 사용되는 서열을 의미한다. 에피토프 태그는 생물학적 실험에서 단백질을 연구하거나 정제할 때 유용하게 활용된다.

[0037] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 종결 부위는 노팔린 합성효소(Nopaline synthase; Nos) 종결 부위, 35S 종결 부위 또는 폴리 A 시그널(poly(A) signal)인 것, 바람직하게는 노팔린 합성효소(Nopaline synthase; Nos) 종결 부위일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0038] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 RBP1 서열은 종결 코돈이 제거된 것일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0040] 일 측면에서, 본 발명은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자가 도입 또는 과발현된 형질전환 식물체를 제공한다.

[0041] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식물체는 벼, 보리, 밀, 호밀, 옥수수, 사탕수수, 귀리 및 양파로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상, 더 바람직하게는 벼인 것일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0043] 일 측면에서, 본 발명은 형질전환 식물체의 종자를 제공한다.

[0045] 일 측면에서, 본 발명은 식물에서 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 도입 또는 과발현시키는 단계를 포함하는 식물의 줄기 신장 감소 또는 분얼수 조절 방법을 제공한다.

[0047] 일 측면에서, 본 발명은 RBP1(RNA-binding protein 1)을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 식물체를 도입하여 형질전환하는 단계를 포함하는 줄기 신장 감소 또는 분얼수가 조절된 형질전환 식물체의 제조방법을 제공한다.

[0049] 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 구체적인 실시예를 상세하게 설명되었으나, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서 다른 구성요소를 추가, 변경, 삭제 등을 통하여, 퇴보적인 다른 발명이나 본 발명 사상의 범위 내에 포함되는 다른 실시예를 용이하게 제안할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상술한 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구의 범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구의 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

[0051] **<실시예 1> OsRBP1 돌연변이 제작**

[0052] OsRBP1 유전자의 기능 분석을 위하여, OsRBP1 유전자 기능이 상실된 벼 및 과발현 벼를 제작하였다.

[0053] OsRBP1 유전자의 기능이 상실된 돌연변이는 CRISPR/Cas9 시스템을 사용하여 벼 OsRBP1 유전자의 6번째 엑손의 5'-TTCCAAATGTGGAATTATAA-3'을 표적서열로 하여 sgRNA를 제작하였다(표 1). 이후, 해당 sgRNA를 pRGEB32에 클로닝하여 기능 상실용 재조합 운반체를 제작하였다. 해당 운반체는 아그로박테리움(*Agrobacterium*) 매개 형질전환법을 이용하여 야생형 자포니카(japonica) 품종인 동진에 도입하였다. 그 결과, 표적 부위 주변에 돌연변이가 유발된 형질전환체 다수를 확보하였으며, T0 세대의 이형접합체를 자가수정하여 분리한 전이유전자 제거 동형접합 돌연변이 2종을 각각 rbpko-1 및 rbpko-2로 명명하였다(도 1 참조).

표 1

[0055]

유전자	guide RNA	서열번호
OsRBP1_sgRNA	TTCCAAATGTGGAATTATAAgttttagagctagaaatagcaagttaaaataaggctagtccgttatcaacttgaaaaagtggcaccgagtcggtgc	1

[0057] OsRBP1 유전자의 기능이 증가한 돌연변이는 벼 잎 조직으로부터 추출한 전장 RNA를 이용하여 OsRBP1 유전자의 coding sequence(CDS)를 합성한 후, 이를 pDONR201 entry vector에 도입하고, 이후 식물 전신발현 프로모터인 pCaMV35S를 포함하는 pGWB502 벡터에 subcloning하였다. 이후 OsRBP1 CDS의 종결코돈 앞에 표지 단백질인 4 x c-myc을 in frame으로 추가하여 과발현용 재조합 운반체(벡터)를 제작하였다(도 2 참조). 해당 운반체는 아그로박테리움(*Agrobacterium*) 매개 형질전환법을 이용하여 야생형 자포니카 품종인 동진에 도입하였다. 유전자 기능이 증가한 돌연변이 2종을 각각 RBPOX-1 및 RBPOX-2로 명명하였다.

표 2

[0059]

	guide RNA	서열번호
CaMV35S promoter	tgagacttttcaacaaagggtaatatccggaaacctcctcggattccattgcccagctatctgtcactttattgtgaagatagtggaaaaggaaggtggctcctacaaatgccatcattgcgataaaggaaaggccatcgttgaagatgcctctgccgacagtggtcccaaagatggacccccacccacgaggagcatcgtggaaaaagaagacgttccaaccacgtcttcaaagcaagtggattgatgtgatatctccactgacgtaagggatgacgcacaatcccactatccttcgcaagacccttcctctatataaggaagttcatttcatttggagagaaca	2
OsRBP1 (종결코돈 제거)	ATGGAGGGCGGCGGCGAGGTGGGCTGGTACGTGCTCGGCCCGAACCAGGAGCACGTCGGCCCCTACGCGCTCTCCGAGCTGCGAGAACATTTTGCTAATGGGTACATCAGTGAGAGCTCAATGCTCTGGGCAGAAGGGAGGAGTGAATGGATGCCATTGTCGTCGATTCCTGACCTACTTGCGGTGGTCACAAAAAAGGATCAACCTGATGAAGGAATTGAAGATGATTTCGATAAATTTCAAAAGGAGGTTATAGAAGCTGAGGCAGAGGTGGAAGCCTCGACAGACAAGGCTGCAGATAACGACATAAACCAAGAACATGGGGCCGATGATCCTGATGACCGGCCAGCAACCCCACCAGATGGCGAGGACGAATTTACTGATGATGATGGTACTGTTTACAAGTGGGATCGTGTCCTGAGGGCATGGGTTCCTCAAGATGACCTAGAAGGCAAAAATGACAACTATGAAGTTGAAGACATGACTTTTGCACATGAGGAAGAAGTTTTCCAAGCACCAGATATTGCTGGTTCAACCACATTAGAAGAAAACAATGTTTCTGCCGAAATTGAAATCAAAGAACCAACAAAGGTAGAAAAGAGAGCAGATAAGAAGCGGAAGTCTTCTGAGAAGCCAGCCGATAAAAAGGAAGCTAACAAACCTCCAGATAGTTGGTTTGATCTCAAAGTTAACACACATGTCTACGTTACTGGTTTGCCTGATGATGTCACAGCTGAGGAGATTGTGGAGGTATTTTCCAAATGTGGAATTATAAAGGAGGACCCAGAGACAAGAAAACCCCGAGTAAAAATCTATACTGACAGAGAAACAGGCAGAAAGAAAGGTGATGCGCTAGTGACCTACCTCAAGGAGCCTTCTGTAGCACTAGCAATTCAACTGTTGGATGGGACATCATTTCGCCCTGGTGGTAAGACTCTAATGTCTGTTAGCCCGGCCAAATTTGAGCAGAAAGGTGATGTTTTCATTTCTAAGAAGACAGATAAGCAAAAGAAAAGGAAAACCAAGAAAGTTGAGGATAAAATTCTAGGATGGGGTGGACATGATGACAAGAAGGTGACGATTACAACTACAGTTATTTTGAGGCATATGTTCACTCCTGCTGAATTGCGAGCCGATGAAACTCTTCTTCCCGAGCTTGAGGCAGATGTTAGAGAAGAATGCATGAAGCTTGGTCCAGTTGATAATGTCAAGGTCTGTGAAAATCATCCAGAGGGTGTTATTTTGGTGAAATTCAAAGACCGGAAAGATGGTATCAAATGCATAGAGAAGATGAATGGAAGATGGTTTGGTGGGAATCAAATCCAGGCGAGTGAAGATGACGGTTCTATCAACCATGCTCTGATCCGTGATTATGATGCAGAGGTGTCAAGGCTTGATCGATTTGGAGAAGAGTTAGAAGAGTCCACA	3

[0061] **<실험예 1> OsRBP1 유전자 및 단백질 발현 분석**

[0062] 상기 실시예 1에서 제작한 OsRBP1을 과발현하는 형질전환체에서 유전자 발현을 확인하기 위하여, OsRBP1 과발현하는 형질전환체로부터 잎 전장 RNA를 추출하였다. 이를 OsRBP1 CDS 특이적 프라이머 쌍(표 3)을 이용하여 분석하였다.

[0063] 또한, 상기 실시예 1에서 제작한 OsRBP1을 과발현하는 형질전환체에서 단백질 발현을 확인하기 위하여, 야생형 동진 벼 및 OsRBP1 과발현하는 형질전환체로부터 잎 전장 단백질을 추출하여 anti-c-myc 항체로 western blot을 수행하여 분석하였으며, 이를 도 3에 나타내었다.

표 3

[0065]

primer name	guide RNA	서열번호
OsRBP1-RT-F	5'-ACATCATTTCGCCCTGGTGGTAAG-3'	4
OsRBP1-RT-R	5'-TCATCATGTCCACCCCATCCTAGA-3'	5

[0067] **<실험예 2> OsRBP1 기능 상실 및 과발현 벼의 표현형 분석**

[0068] OsRBP1 기능 상실 및 과발현 벼의 표현형 특성을 분석하기 위하여, 벼의 생장을 관찰하였으며, 이를 도 4, 내지 도 6에 나타내었다.

[0069] 도 4에서 보듯이, OsRBP1 기능이 상실된 벼(rbpko-1 및 rbpko-2)는 생장결핍으로 인하여 성체에 도달하지 못하고 죽는 표현형을 보였다.

[0070] 반면, 도 5에서 보듯이, OsRBP1 발현이 증가된 형질전환 벼(RBPOX-1 및 RBPOX-2)는 발아 후 3주부터 분얼의 생성이 촉진되어 분얼수가 크게 증가하는 것을 확인하였다.

[0071] 도 6에서 보듯이, OsRBP1 발현이 증가된 형질전환 벼(RBPOX-1 및 RBPOX-2)는 개화 후 성체에서 전체적으로 줄기의 감소와 분얼의 증가가 명확히 나타남을 확인하였다.

[0072] 이를 통해, OsRBP1 유전자는 벼 생장에 핵심적으로 중요한 기능을 가짐을 확인하였다.

[0073] OsRBP1 기능이 증가한 형질전환 벼의 키와 분얼수에 대한 정량적인 분석 결과를 도 7에 나타내었다.

[0074] 도 7에서 보듯이, OsRBP1 발현이 증가한 벼에서 분얼 수가 크게 증가하고, 식물의 키가 작아짐을 확인하였다.

[0075] OsRBP1 기능이 증가한 형질전환 벼의 줄기를 분석하여 도 8에 나타내었다.

[0076] 도 8에서 보듯이, OsRBP1 발현이 증가한 벼는 줄기의 크기가 감소하였으며, 이러한 줄기의 길이가 작아진 단간 표현형이 전체 식물체의 키를 감소시킴을 확인하였다.

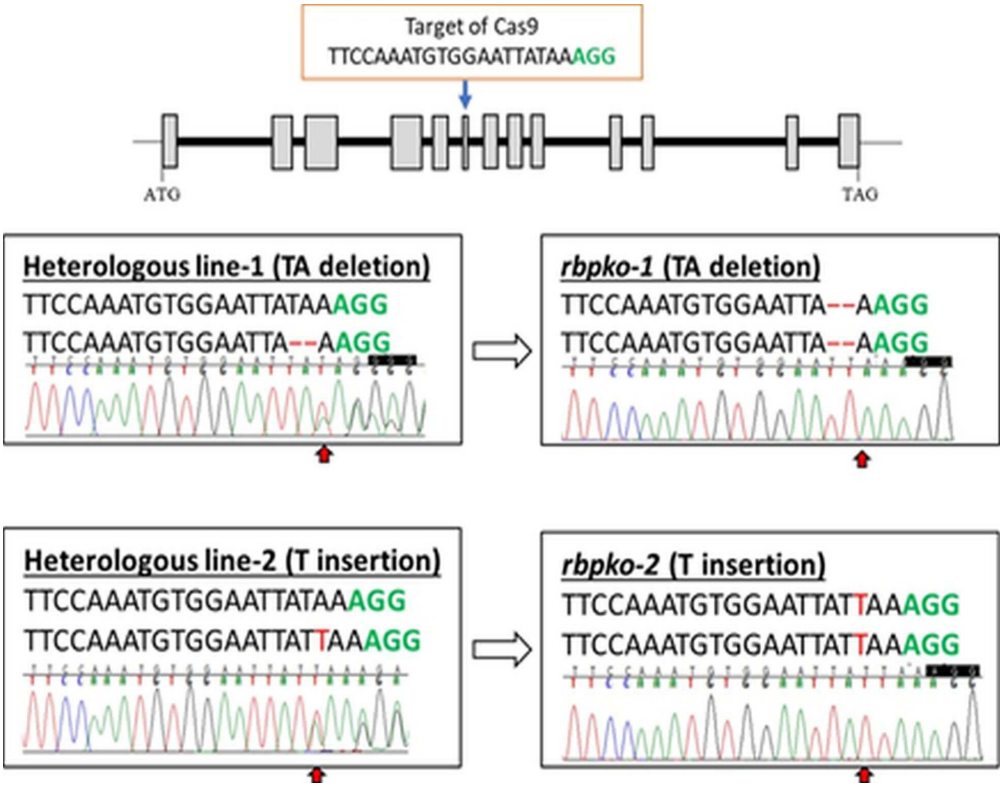
[0077] OsRBP1 기능이 증가한 형질전환 벼 줄기의 정량적 길이 분석 결과를 도 9에 나타내었다.

[0078] 도 9에서 보듯이, 이삭 길이를 제외한 모든 단간의 크기가 감소함을 확인하였다.

[0080] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예, 실험예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시 예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구 범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

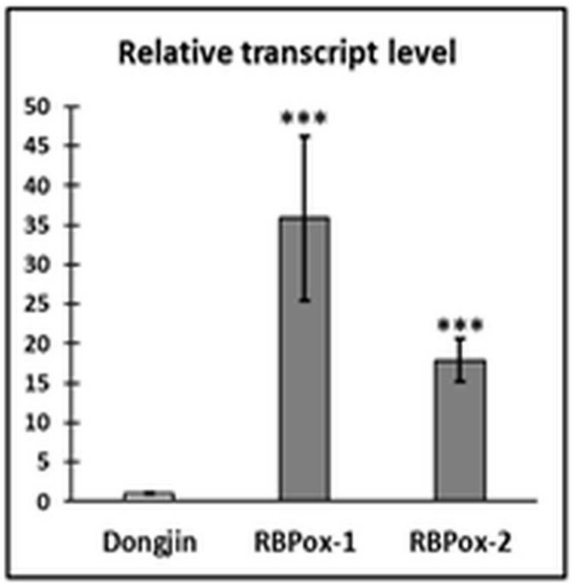
도면1

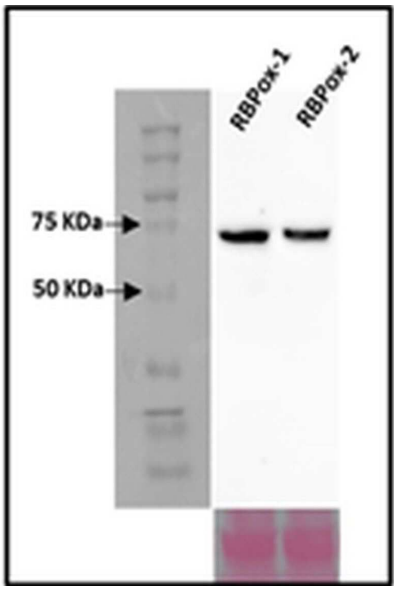


도면2

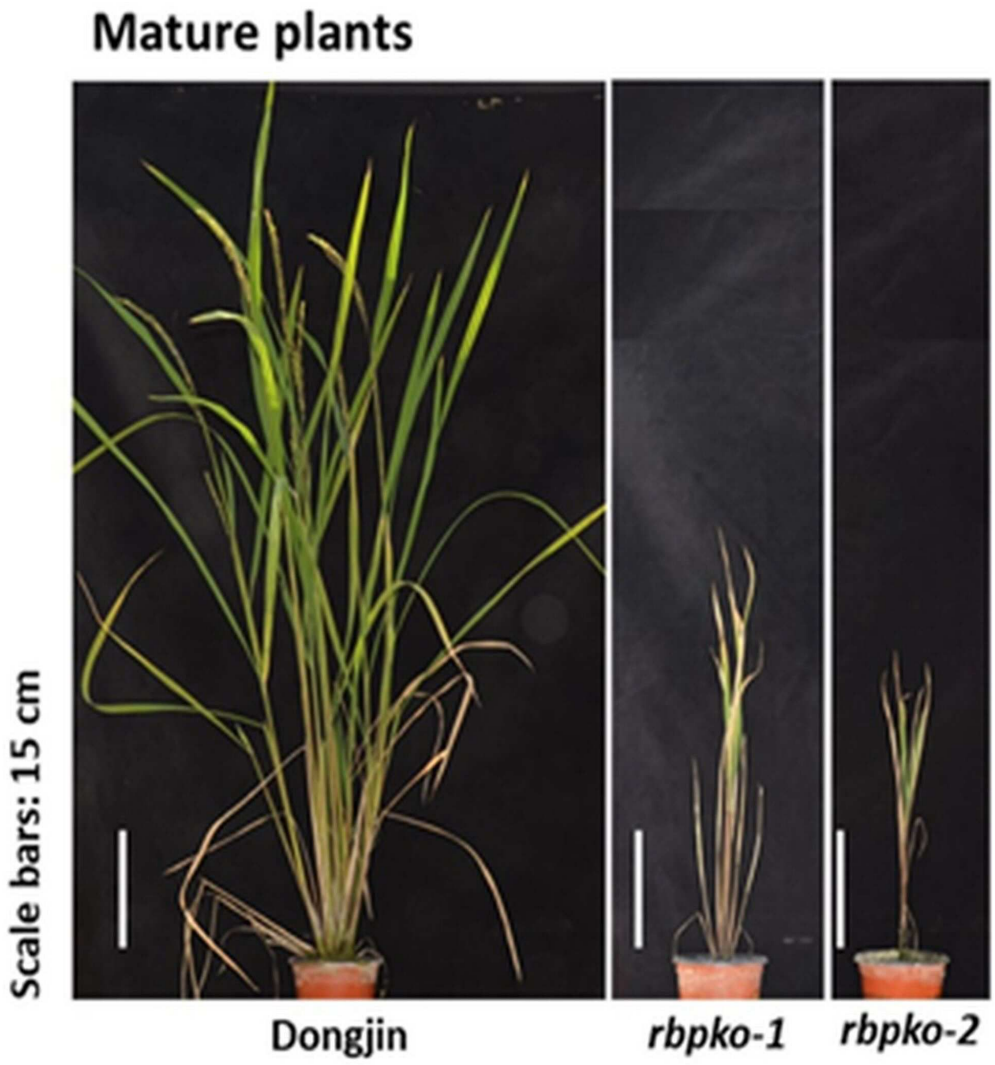


도면3

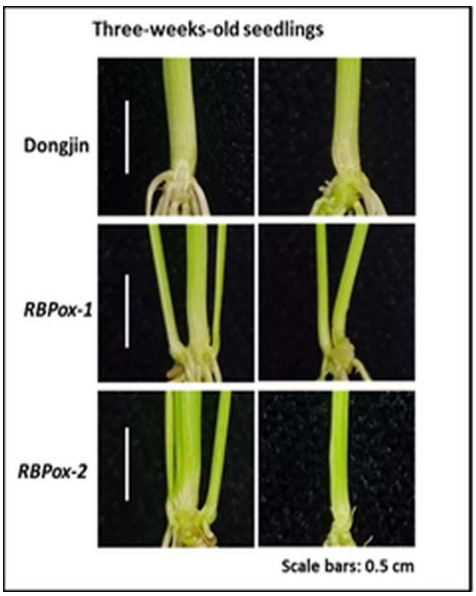




도면4

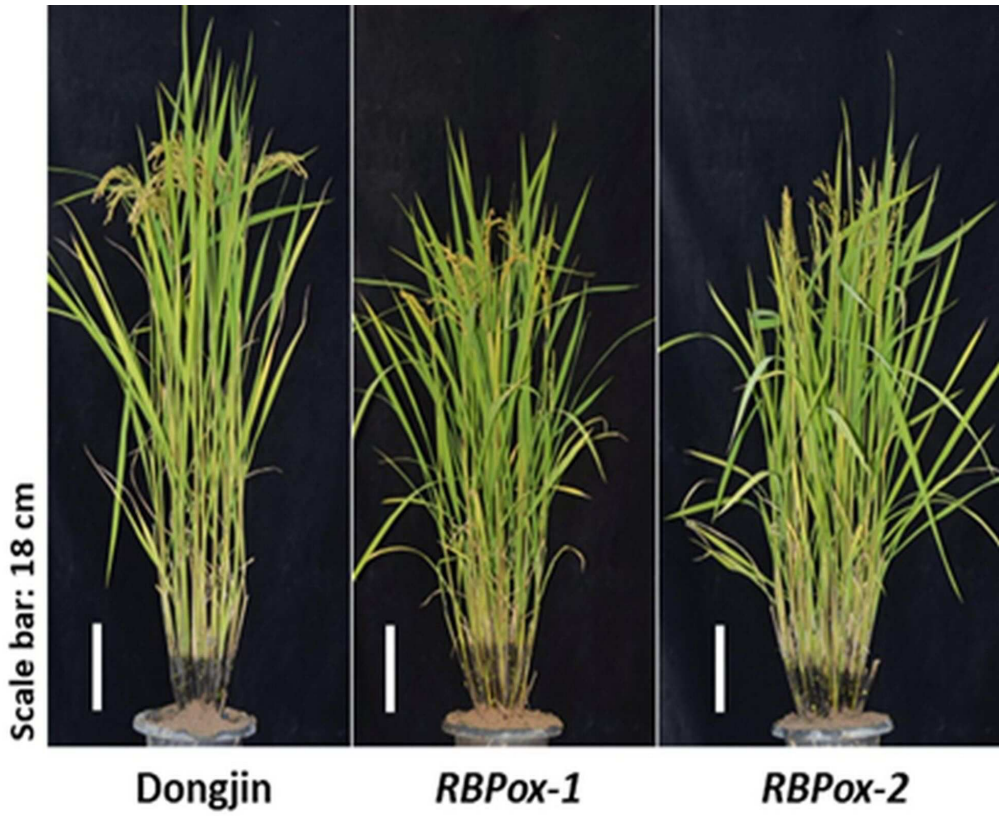

Mature plants
Scale bars: 15 cm
Dongjin
rbpko-1
rbpko-2

도면5

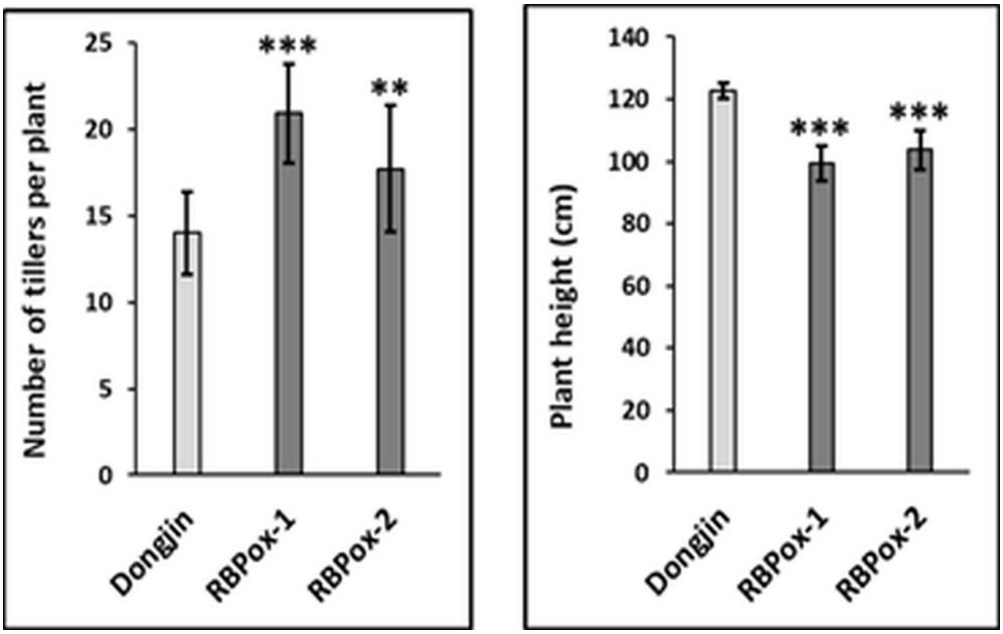

Three-weeks-old seedlings
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2
Scale bars: 0.5 cm


Eight-weeks-old plants
Scale bar: 10 cm
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2

도면6


Scale bar: 18 cm
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2

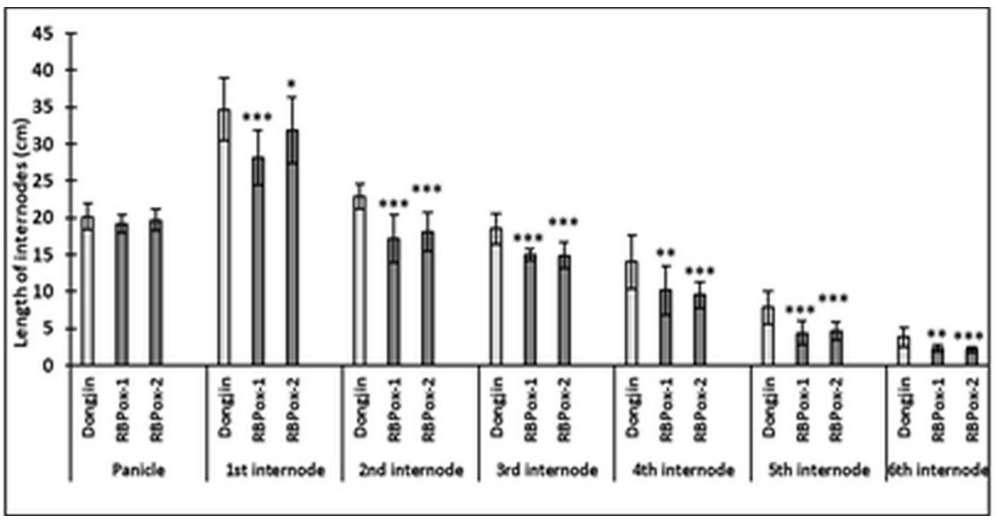
도면7


Number of tillers per plant
25
20
15
10
5
0
***
**
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2
Plant height (cm)
140
120
100
80
60
40
20
0
***
***
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2

도면8


Scale bar: 5 cm
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2

도면9


Length of internodes (cm)
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Dongjin
RBPox-1
RBPox-2
Panicle
1st internode
2nd internode
3rd internode
4th internode
5th internode
6th internode

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.