

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0044697 (43) 공개일자 2014년04월15일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A01H 5/00 (2006.01) C12N 15/82 (2006.01) C12N 15/52 (2006.01)	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)	
(21) 출원번호 10-2012-0110973	(72) 발명자	
(22) 출원일자 2012년10월05일	이상원	
심사청구일자 없음	경기 수원시 영통구 영통로290번길 25, 504동 20 3호 (영통동, 신나무실5단지아파트)	
	유영철	
	부산 연제구 거제천로 281, (거제동)	
	안진홍	
	경기 용인시 기흥구 탑실로 152, 210동 1703호 (공 세동, 탑실마을대주피오레2단지)	
	(74) 대리인	
	손민	

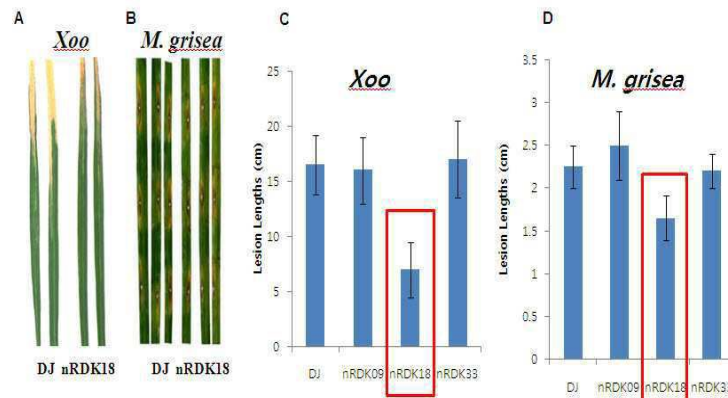
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **흰잎 마름병 및 도열병 저항성 인산화 효소 및 이를 이용한 형질전환 벼**

(57) 요약

본 발명은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010가 활성화되도록 형질전환된 식물 형질 전환체, 상기 유전자를 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는 재조합 벡터 및 상기 형질전환체의 제조방법에 관한 것이다. 또한, LOC_Os01g65010 유전자를 활성화시키는 단계를 포함하는 벼의 병 저항성의 증진방법에 관한 것이다. 본 발명은 벼에 내재적으로 존재하였으나 활성이 없었던 흰잎 마름병 및 도열병에 대한 저항성 유전자, LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열을 삽입함으로써, 흰잎 마름병 및 도열병에 대해 강력한 저항성을 갖는 형질전환 벼에 대한 것으로, 본 발명의 형질전환 벼를 이용하면 병 저항성을 통해 농약사용 절감, 생산성 향상 및 안전한 농산물 공급이 가능하게 되어 널리 이용될 수 있다.

대표도 - 도4



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ008098

부처명 농촌진흥청

연구사업명 차세대바이오그린21

연구과제명 벼 저항성 관련 nRD kinase 유전자 발굴 및 활용

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2011.05.01 ~ 2014.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010가 활성화되도록 형질전환된, 식물 형질 전환체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 내재적 불활성 유전자는 서열번호 1로 기재되는 핵산서열로 이루어진 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 식물 형질 전환체는 벼(*Oryza sp.*)인 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 벼(*Oryza sp.*)는 동진벼 또는 화영벼인 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 활성화는 LOC_Os01g65010 발현 조절 부위에 발현 유도 서열 또는 프로모터(promoter)를 삽입하는 것을 통해 이루어지는 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 발현 조절 부위에 삽입되는 서열은 서열번호 9로 기재되는 발현 유도 서열을 포함하는 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 발현 조절 부위에 삽입되는 서열은 서열번호 2로 기재되는 염기서열로 이루어진 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 식물 형질 전환체는 흰잎 마름병, 도열병 또는 둘다에 대한 저항성을 갖는 것인 식물 형질 전환체.

청구항 9

(a) 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010를 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는 형질전환용 재조합 벡터를 아그로박테리움에 도입하는 단계;

(b) 벼 잎에 상기 (a) 단계의 아그로박테리움을 감염시키는 단계; 및,

(c) 상기 (b) 단계에 감염된 벼 세포를 캘러스(callus)화 하여 형질전환된 벼 세포를 수득하는 단계를

포함하는, 병 저항성이 증진된 형질전환체의 제조방법.

청구항 10

제9항에 있어서, (d) 상기 (c) 단계에서 제조한 캘러스를 뿌리 및 성체 분화를 유도하는 단계를 추가로 포함하는, 제조방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 병 저항성은 흰잎 마름병, 도열병 또는 둘다인 것인, 제조방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 형질전환체는 벼(*Oryza* sp.)인 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 벼는 동진벼 또는 화영벼인 제조방법.

청구항 14

제9항에 있어서, (a) 단계의 상기 발현 유도 서열은 서열번호 9로 기재되는 염기서열로 이루어진 것인, 제조방법.

청구항 15

LOC_Os01g65010 유전자를 활성화시키는 단계를 포함하는 벼의 병 저항성의 증진방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010가 활성화되도록 형질전환된 식물 형질 전환체, 상기 유전자를 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는 재조합 벡터 및 상기 형질전환체의 제조방법에 관한 것이다. 또한, LOC_Os01g65010 유전자를 활성화시키는 단계를 포함하는 벼의 병 저항성의 증진방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 벼 흰잎 마름병은 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* 에 의해서 발생하는 세균성 도관병으로, 발병시기는 7월 초~수확기이나 주로 7월 상순~8월 중순에 발병한다. 중간 기주식물인 줄풀 및 겨풀 등의 땅속줄기 또는 뿌리주위나 병든 벼짚 및 벼 그루터기에서 세균의 월동이 가능하다. 세균이 편모(鞭毛)에 의해 물을 따라 전염하고 벼잎의 물구멍과 공기구멍 부위 및 절단된 뿌리로 침입한다. 병 발생은 해마다 발생이 많은 상습발생지 위주로 발생하나 침관수지역이 아닌 지역에서도 발생이 많다.

[0003] 보통 출수기 전후에 나타나나 상습발생지나 다발생 발생지에는 본답 초기에 발병하며, 드물게는 묘판에서도 발병된다. 국내에서 최초 발병보고는 1930년 전라남도 해남군에서 처음 발견된 이래 1960년까지 남부 일부 지역에 제한적인 발생을 보이다 이병성 품종인 금남풍의 재배 확대로 전국적인 발생을 나타내었으며, 이후 다수계 품종

재배에 의한 밀양 23호에 의해 피해가 확대되어 재배기간 중 후기에 발생하는 잎에서의 발병 뿐만 아니라 이앙 후 분얼기까지 주 전체가 발생하는 금성형 증상을 보여 벼의 3대 병해의 하나로 간주된다.

[0004] 벼 흰잎 마름병균은 그람음성세균으로 분류되고 벼의 세균성 위조병을 유발하는 식물병원세균으로 세계적으로 널리 분포하여 벼에 큰 피해를 주지만, 병원균이 벼의 도관 내에서 증식하므로 약제방제 효과는 매우 낮으며, 현재까지 이 병에 특이적인 살균제 또한 없는 실정이다.

[0005] 한편, 벼 도열병은 Magnaporthe gresea에 의하여 유발되는 병으로 전세계적으로 가장 파괴적인 질병 중의 하나이다. 병원균인 Magnaporthe gresea는 불완전균류에 속하며 분생포자를 형성하는데, 군사 발육 온도는 16~40℃이고 최적 온도는 27~29℃이다. 분생포자의 발아 최적온도는 25~28℃이다. 도열병균은 피해짚의 목 가지 마디에서 군사의 상태로 월동하거나, 잡초에서 월동한 후 다음해 전염원이 된다. 일단 벼 도열병균의 분생자경이 형성되고 분생포자 형성, 분생포자 이탈, 분생포자의 비산, 식물체에의 부착, 발아, 부착기형성, 침입, 병반형성의 과정을 거친다. 병발생 환경을 살펴보면 온도는 27~29℃와 90%이상의 습도에서 발병이 높다.

[0006] 이에 대해 질병 저항성(R) 유전자를 사용하는 것이 상기 질병의 통제를 위한 가장 효과적이며 환경친화적인 방식이다. 벼 도열병 저항성은 일반적으로 하기의 2 가지 유형으로 분류된다; 질적 (완전 또는 주요) 및 양적 (부분 또는 QTL) (Bonman 및 Mackill 1988, Oryza 25: 103-110). 현재까지 벼 도열병에 대한 50 개를 초과하는 많은 수의 주요 저항성 유전자가 맵핑되었으며 (Jeung 등 2007, Theor. Appl. Genet. 115:1163-1177), 저항성 유전자에 밀접하게 연관된 DNA 마커가 개발되었다.

[0007] 마그나포르테 그리세아(Magnaporthe gresea)에 대해 완전 저항성(complete resistance)을 가진 벼 재배종이 최근에 개발되었으나, 많은 경우에 보다 더 강력한 악성 균주의 출현으로 상기 저항성은 해당 계통의 초기 재배 수년 내에 소실되었다(Bonman 및 Mackill 1988, Oryza 25: 103-110).

[0008] 또한, 기존의 작물에 대한 저항성 부여방법은 외래 유전자의 도입을 통해 식물체로 하여금 새로운 형질을 부여하는 기술이 대다수였다.

[0009] 한편, 동진벼는 내병, 양질, 다수성 신품종육성을 목표로 1975년에 농촌진흥청에서 금남풍과 낙동벼 그리고 사도미노리를 교배하여 개발된 품종으로, 병해 저항성의 경우 줄무늬잎마름병에 강하고, 도열병에는 중간 정도의 저항성을 가지며, 흰잎 마름병과 기타 병충해에는 약한 편이다. 이에, 동진벼의 흰잎 마름병과 도열병에 대한 저항성 연구와 개량된 품종에 대한 육성 전략이 요구되고 있다. 또한, 화영벼는 양질, 내병, 다수성등의 유용형질을 개선하고자 주케이830과 도열병 및 줄무늬잎마름병에 강한 YR4811Acp 8을 교배하여 육성한 품종으로, 도열병이나 줄무늬흰잎 마름병, 흰잎 마름병에 강한 품종으로 알려져 있으나 외래병원균이나 병원균의 빠른 저항성 극복을 고려할 때 지속적인 저항성 강화 연구가 필요하다.

[0010] 이에 본 발명자들은 아직 극복되지 못한 벼 흰잎 마름병 및 도열병에 대한 저항성 유전자를 동정하기 위해 예의 연구 노력한 결과, 재배벼 동진/화영의 보유 유전자 중 발현이 없는 유전자 중에 흰잎 마름병 및 도열병에 저항성을 부여하는 인산화 효소 유전자(LOC_Os01g65010)를 동정해내어, 이를 과발현시킨 형질전환체가 흰잎 마름병 및 도열병에 저항성을 나타냄을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 하나의 목적은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010가 활성화되도록 형질전환된, 식물 형질 전환체를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010을 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 병 저항성 증진용 재조합 벡터로 형질전환된 벼 세포를 수득하는 단계를 포함하

는 병 저항성이 증진된 형질전환체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 LOC_Os01g65010 유전자를 활성화시키는 단계를 포함하는 벼의 병 저항성의 증진방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010가 활성화되도록 형질전환된, 식물 형질 전환체를 제공한다.

[0016] 본 발명에서는 벼에 내재적으로 존재하였으나 활성이 없었던 유전자, LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열을 삽입함으로써, 해당 유전자를 발현하여 흰잎 마름병 및 도열병에 대해 저항성을 갖춘 형질전환벼를 제조하였다.

[0017] 본 발명에서 용어, "내재적"이란 생물이 천연의 상태로 가지고 있는 것을 의미하는데, 본 발명에서는 식물, 바람직하게는 벼(*Oriza* sp.)가 천연적으로 가지고 있는 유전자를 표시할 때 사용한다.

[0018] 본 발명에서 용어, "내재적 불활성 유전자"란 DNA, 즉 유전자 상으로는 존재하나 RNA로 전사(transcription)되지 못하거나, 단백질로 번역(translation)되지 못하여 본연의 기능을 발휘하지 못하는 것을 의미하고, 본 발명에서는 벼가 내재적으로 가지고 있는 유전자가 전사 또는 번역되지 않는 특성상 그 기능을 발현하지 못하는 것을 의미하고, 특히, LOC_Os01g65010 유전자가 그 기능을 발현하지 못하는 것을 의미한다.

[0019] 본 발명에서 용어, "LOC_Os01g65010" 는 *Oryza sativa* 1번째 유전체(chromosome)에 존재하는 유전자로, 이의 발현물은 세린/쓰레오닌 단백질 인산화 수용체의 전구체로 nRD 인산화 효소의 일종이다.

[0020] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서 LOC_Os01g65010 유전자는 천연형 벼에서 불활성화되어 있는 것을 확인하였으며(도 3), 이의 활성을 유도한 형질전환을 통하여 해당 형질전환체가 병 저항성을 가지는 것을 확인하였다(도 4). 특히, 흰잎 마름병 및 도열병에 대하여 병 저항성을 가졌다.

[0021] 본 발명에서 상기 내재적 불활성 유전자는 바람직하게는 LOC_Os01g65010 유전자일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열을 코딩하는 염기서열로 이루어진 유전자일 수 있으며, 가장 바람직하게는 서열번호 8로 기재되는 염기서열로 이루어진 유전자일 수 있다.

[0022] 본 발명에서 용어, "활성화"는 특정 유전자의 활성을 강화시키는 것을 의미하고, 1) 해당하는 유전자를 1 카피 이상 도입, 2) 내재적 유전자의 발현 조절 부위에 발현을 유도하는 서열을 삽입, 3) 활성이 강화된 형태로 변형시키는 방법으로 강화, 또는 4) 이의 조합에 의해 활성화되도록 변형시킬 수 있다. 본 발명에서는 바람직하게는 내재적 유전자의 발현 조절 부위에 발현을 유도하는 서열 또는 프로모터(promoter)를 삽입할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 서열번호 9로 기재되는 발현 유도 서열을 포함하는 서열을 삽입할 수 있다. 가장 바람직하게는 서열번호 2로 기재되는 서열을 삽입할 수 있다.

[0023] 본 발명에서 용어, "발현 유도 서열"은 유전자의 발현 조절 부위에 존재할 때 발현을 촉진하는 기능을 하는 서열을 제한없이 포함하며, 전사인자 결합 부위, 인핸서(enhancer), 조효소 결합 부위(co-factor binding region) 등을 포함한다. 본 발명에서 내재적 불활성 유전자의 발현 조절 부위에 삽입되는 서열은 서열번호 9로 기재되는 발현 유도 서열을 포함하는 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는 서열번호 2로 기재되는 염기서열로 이루어질 수 있다.

[0024] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, LOC_Os01g65010 유전자의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열(서열번호 2)을 삽입함으로써, LOC_Os01g65010의 유전자가 발현되는 것을 확인하였다(도 3).

[0025] 본 발명에서 용어, "형질전환"은 DNA 염기서열 상의 삽입, 결실 또는 대체 등의 변이를 통해 특정 형질이 발생하거나 사라지거나 조절되는 모든 행위를 의미하며, 특히 본 발명에서는 외부로부터 주어진 DNA에 의하여 생물의 유전적인 성질이 변하는 것을 의미한다. 본 발명에서 용어, "형질 전환체"는 형질전환으로 인해 생성된 형질 전환 식물을 의미하며, 유전자 재조합 기술을 이용하여 특정 유전자의 변형 또는 활성의 변이가 유발되어 생성

된 유전자 재조합체를 포함한다.

- [0026] 본 발명에서 용어, "식물 형질 전환체"는 형질전환의 대상이 될 수 있는 모든 식물을 포함하며, 특히, LOC_Os01g65010 유전자 또는 이에 해당하는 유전자가 불활성화되어 있는 식물은 모두 제한없이 포함한다. 바람직하게는 상기 식물 형질 전환체는 벼(*Oryza sp.*)일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 동진벼 또는 화영벼일 수 있다.
- [0027] 본 발명에서 상기 식물 형질 전환체는 흰잎 마름병, 도열병 또는 둘다에 대한 저항성을 가질 수 있다.
- [0028] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 동진벼에 상기 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위에 서열번호 2의 발현 유도 서열을 삽입하는 형질전환을 통하여 LOC_Os01g65010에 해당하는 유전자가 발현하는 흰잎 마름병 및 도열병에 저항성을 갖는 형질전환체를 제조하였으며, 이를 nRDK-18이라고 명명하였다.
- [0029] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010을 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터를 제공한다.
- [0030] 상기 내재적 불활성 유전자, LOC_Os01g65010 및 발현 유도 서열은 상기 설명한 바와 같다.
- [0031] 본 발명에서 용어, "병 저항성"은 각종 질병에 대해 발병이 잘 일어나지 않거나, 발병되더라도 병 진행의 속도가 현저히 느리거나, 회복이 되는 능력이 뛰어난 것을 의미한다. 본 발명에서 병 저항성은 흰잎 마름병, 도열병 또는 둘다에 대한 저항성을 의미할 수 있다.
- [0032] 본 발명에서 용어, "재조합 벡터"는 특정 서열이 변이, 삽입 또는 제거되는 유전자 재조합 과정을 거친 벡터를 의미하며, 바람직하게는 발현 유도 서열이 삽입된 벡터를 의미하고, 더욱 바람직하게는 해당 발현 유도 서열을 LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위에 삽입할 수 있는 기능을 하는 재조합 벡터를 의미한다.
- [0033] 본 발명의 일 실시예에서는, T-DNA를 포함하는 재조합 벡터를 제조하였으며, 이를 아그로박테리움을 통해 벼 세포에 도입하여, LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위에 T-DNA 서열이 삽입되어 내재적 불활성 유전자였던 LOC_Os01g65010 유전자가 발현이 유도되었다(도 3).
- [0034] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 내재적 불활성 유전자인 LOC_Os01g65010을 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는 형질전환용 재조합 벡터를 아그로박테리움에 도입하는 단계; 벼 잎에 상기 아그로박테리움을 감염시키는 단계 및 감염된 벼 세포를 캘러스(callus)화하여 형질전환된 벼 세포를 수득하는 단계를 포함하는 병 저항성이 증진된 형질전환체의 제조방법을 제공한다.
- [0035] 본 발명에서 용어, "아그로박테리움"은 그람양성의 세균으로, 식물의 뿌리나 줄기의 상처를 통해 식물세포에 감염되어, 자신이 가지고 있는 유전자를 식물 세포의 유전체에 삽입하여 식물세포의 형질전환을 일으키는 암종세균의 일종이다. 본 발명에서 상기 아그로박테리움은 바람직하게는 아그로박테리움 투메파키엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)일 수 있다.
- [0036] 본 발명에서 용어, "캘러스(callus)"란, 식물에 상처가 났을 때 생기는 분화되지 않은 부정형의 세포덩어리로 즉, 미분화세포를 의미하며, 특히, 본 발명에서는 식물의 잘린 부위에 아그로박테리움 등 형질전환용 암종세균을 감염시켰을 때 감염된 세포가 미분화상태로 상처부위에 덩어리진 것을 의미한다. 즉, 본 발명에서는 암종세균에 감염되어 형질전환된 세포만이 암종 덩어리를 생성하는 특징을 이용하여 형질전환된 미분화세포를 얻을 수 있는데 이것이 캘러스 형태로 생성되게 된다.
- [0037] 상기 병 저항성이 증진된 형질전환체의 제조방법은, 바람직하게는 수득된 캘러스를 뿌리 및 성체로 분화시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 캘러스는 상기 설명한대로 미분화된 상태의 세포 덩어리에 불과하기 때문에, 이를 온전한 종자로 수득하기 위해서는 뿌리 및 성체로 분화하는 것을 유도하는 것이 필요할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 수득된 캘러스를 루트-인덕션 배지에서 배양하여 뿌리 및 성체로 분화하는 것을 유도하였다.

[0039] 또 하나의 양태로, 본 발명은 LOC_Os01g65010 유전자를 활성화시키는 단계를 포함하는 벼의 병 저항성 증진방법을 제공한다.

[0040] 본 발명의 LOC_Os01g65010 유전자, 활성화 및 병 저항성 등은 상기 설명한 바와 같다.

발명의 효과

[0041] 본 발명은 벼에 내재적으로 존재하였으나 활성이 없었던 흰잎 마름병 및 도열병에 대한 저항성 유전자, LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열을 삽입함으로써, 흰잎 마름병 및 도열병에 대해 강력한 저항성을 갖는 형질전환 벼에 대한 것으로, 본 발명의 형질전환 벼를 이용하면 병 저항성을 통해 농약사용 절감, 생산성 향상 및 안전한 농산물 공급이 가능하게 되어 널리 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 흰잎 마름병 및 도열병에 대한 저항성과 관련된 유전자로 선별된 LOC_Os01g65010의 구조에 대한 개요도로, 도 1의 A는 유전자 상의 구조를 나타내며, 도 1의 B는 유전자가 발현된 단백질의 구조를 나타낸다. 이에 표시된 SP는 단백질의 막관통을 유도하는 신호 펩티드(Signal peptid) 도메인을 의미하고, Lectin은 렉틴 단백질 도메인을 의미하며, TM은 막관통 도메인(Transmembrane domain)을 의미하고, PK는 단백질 인산화 효소 활성 부분(Protein kinase)을 의미한다.

도 2는 LOC_Os01g65010의 발현을 조절하는 부위에 T-DNA를 포함한 유전자 발현 유도 서열이 삽입된 nRDK-18 유전자 변형 벼의 게놈 DNA의 일부분을 나타내는 구조도이다.

도 3은 nRDK-18 유전자 변형 벼에서 LOC_Os01g65010의 발현을 확인하는 RT-PCR 결과를 보여주는 도면이다.

도 4는 nRDK-18 유전자 변형 벼의 흰잎 마름병 또는 도열병에 대한 저항성을 실험한 결과를 보여주는 도면으로, 도 4의 A는 천연형 벼 및 nRDK-18 유전자 변형 벼의 흰잎 마름병균을 가위 접종법으로 접종한 결과를 보여주는 사진이고, 도 4의 B는 천연형 벼 및 nRDK-18 유전자 변형 벼의 도열병을 펀치 접종법으로 접종한 결과를 보여주는 사진이며, 도 4의 C 및 D는 각기 전자와 후자를 측정하여 평균 낸 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0044] 실시예 1. Bioinformatics를 통한 형질전환 타겟 유전자 선별

[0045] 동진/화영벼의 유전체가 보유한 식물체의 질환 저항성과 밀접한 관련이 있다고 알려진 nRD(non-Arginine-Aspartate) 인산화 효소 448개를 동정하였다. 이 중, bioinformatics tool(Web site: <http://www.ricearray.org>, Program: Mev- Multi Experimet Viewer)을 이용하여 흰잎 마름병 및 도열병에 저항성을 가질 확률이 높은 유전자를 61개 선별하였다. 선별된 유전자에 대하여 형질전환체를 제조하여 병 저항성을 갖는 유전자를 동정해 내는 과정에서, 본 발명의 LOC_Os01g65010이 흰잎 마름병 및 도열병에 저항성을 갖는 유전자로 선별되었다(*p< 1.8).

[0046] 이 과정에서 총 448개의 nRD 인산화 효소에서 단 5개의 유전자만이 병 저항성과 관련된 신규한 유전자였다. 상기 벼의 내재적인 병 저항성 관련 후보 nRD 인산화 효소 유전자 중에서 실제로 병 저항성과 관련된 유전자는 1.1% 뿐이었으며 또한, 흰잎 마름병 및 도열병 동시에 저항성을 갖게 하는 유전자는 오직 1개 뿐이었다.

[0047] 실시예 2. 발현 유도체 삽입된 형질전환 벼 제조

[0048] 2-1. 벼 형질전환용 재조합 벡터 제조

- [0049] 타겟 유전자의 발현 조절 부위의 염기서열에 발현 유도 서열을 삽입하기 위해 벡터를 제작하였다.
- [0050] 먼저, 유전체 삽입을 위한 T-DNA, 삽입위치의 왼쪽 유전자 서열을 확인하기 위한 N-GUS, 서열번호 9의 유전자의 발현 유도 서열을 포함하는 재조합 벡터를 제조하기 위한, 담배 잎 모자이크바이러스 35S 프로모터 유래 DNA, 삽입위치의 dhfmsWHR 유전자 서열을 확인하기 위한 L-0.5/1.5를 가지는 벡터를 제작하였다. 삽입된 유전체로부터 타겟 유전자의 확인과 증폭을 위한 프라이머는 아래와 같다.
- [0051] Enhancer-F (정방향, 서열번호 3)
- [0052] 5'-ccggtaccATGGCGGCGGTGGTGGAGGG-3'
- [0053] Enhancer-R (역방향, 서열번호 4)
- [0054] 5'-ccggatccTTAGCTTAGAGATGAGACGAA-3'
- [0055] PCR 증폭 조건은 처음 DNA의 열변성을 위하여 94℃에서 3분간 1 cycle, 그리고 94℃ 1분, 58℃에서 1분, 72℃에서 2분간으로 총 35 cycle을 실시하였으며, 최종 DNA합성은 7분으로 하였다.
- [0056] 해당 증폭된 PCR 산물을 1.0%의 아가로스겔(agarose gel)로 전기영동 한 후 EtBr(ethidium bromide) 용액에 염색하여 UV lamp하에서 염기 크기에 해당하는 band를 절단하여 아가로스겔(agarose gel) 정제법으로 정제하였다.
- [0057] 추출한 PCR 산물을 상기 제한효소 Not I /Kpn I 으로 절단하였다. 또한, 재조합 벡터인 pGA2772 벡터를 제한효소 Not I /Kpn I 로 절단하여, 절단된 벡터를 상기 아가로스겔 정제법으로 정제하였다. 상기 PCR 산물에 의한 DNA 단편을 절단된 재조합 벡터에 삽입하여, 유래 발현 유도체 서열이 포함된 재조합 벡터를 제조하였다.

[0058] 2-2. 형질전환체 제조

- [0059] 상기 제조된 벡터를 전기충격 방법(electroporation)을 이용하여 아그로박테리움 투메파키엔스(Agrobacterium tumefaciens)에 도입하였다. 배양실에서 무균상태로 자란 화염버에 리프 디스크(leaf disc)법으로 형질전환하였다. 구체적으로는 버잎을 대략 5 x 5 mm 크기로 잘라서 200 μ l의 아그로박테리움이 포함된 MSO 액체 배지(MS 염 4.3g, 수크로스 30g/L, pH 5.6 내지 5.8)에 넣었다가 암조건에서 2 내지 3일 동안 배양하고, 배양된 잎 절편을 캘러스-슈트(callus-shoot) 유도 배지(MSO배지에 100 μ g NAA, 1mg BA, 500 μ g 세포탁심, 1 mg 포스피노트리신(phosphinothricin), 0.7% 피토 한천(phyto agar), pH 5.6)으로 옮기고, 새로운 배지로 옮겨 주었다. 유도된 발아는 1.5 내지 2 cm 정도 자라면 루트-인덱션 배지(MSO배지에 250 μ g 세포탁심, 10mg 포스피노트리신, 0.7% 피토 한천, pH 5.6)로 옮겨 주었다.
- [0060] 발현 유도체가 삽입된 상기 유전자 형질전환 버를 nRDK-18로 명명하였으며, 이의 유전자 구조는 도 2에 개시된 바와 같다. 구체적으로는, 동진버의 1번째 유전체에 존재하는 LOC_Os01g65010의 발현 조절 부위로 예측되는 상류 부분(upstream region)에 T-DNA 서열을 삽입하여, 도 2와 같은 유전체 구조를 가진 형질전환체를 제작하였다.

[0061] 2-3. 재조합 벡터의 벡 유전체 삽입위치 확인

- [0062] 제조된 형질전환체의 유전체를 대상으로 타겟 유전자의 발현 유도를 위한 벡터의 삽입위치를 삽입된 벡터의 말단에 특이적인 프라이머를 사용하여 확인하였다.
- [0063] 이에 사용된 프라이머 서열은 다음과 같다.
- [0064] pGA2772LiRS-F (서열번호 5)
- [0065] 5' -CAGGACGTAACATAAGGGACTGA-3'

[0066] 상기 프라이머를 이용하여 확인한 결과, 재조합 벡터의 삽입 위치가 타겟 유전자의 발현 조절 부위임을 확인하였다.

[0067] 실시예 3. 형질전환 벼의 유전자 활성 검증

[0068] 상기 실시예 2에서 제조한 화염벼에서 발현되지 않는 LOC_Os01g65010 유전자의 발현 조절 부위에 발현 유도체를 삽입한 형질전환 벼(nRDK-18)에서 LOC_Os01g65010 유전자 활성을 역전사 효소 PCR(RT-PCR, reverse transcriptase-PCR)로 확인하였다.

[0069] 구체적으로는, 형질전환 벼(nRDK-18)의 잎 0.1g에서 total RNA를 추출하였다. 이를 주형으로 하여 LOC_Os01g65010의 발현을 확인할 수 있는 RNA 역전사용 프라이머(정방향; 5'-CTCACTGTGGTACAGAGACC-3', 서열번호 6, 역방향; 5'-GTGTTGTTGCCTTCACCAT-3', 서열번호 7)와 역전사 효소(reverse transcriptase DNA polymerase)를 이용하여 역전사 효소 PCR을 행하였다.

[0070] 도 3에서 확인할 수 있듯이, 천연형의 화염벼에서는 LOC_Os01g65010d1 전혀 발현되지 않는데에 비하여 본 발명의 형질전환 벼에서는 LOC_Os01g65010가 발현되는 것을 확인할 수 있었다.

[0071] 실시예 4. 형질전환 벼의 병 저항성 검증

[0072] 4-1. 형질전환 벼(nRDK-18)의 벼 흰잎 마름병에 대한 저항성 검증

[0073] 상기 실시예 2에서 제조된 형질전환 벼가 흰잎 마름병에 대해 저항성을 보이는지 확인하기 위해, LOC_Os01g65010 발현 조절부위에 발현 유도체가 삽입된 형질전환 벼인 nRDK-18와 대조군으로 천연형 동진벼 및 기타 다른 nRD 인산화 효소 형질전환체를 6주간 키워 흰잎 마름병을 유발하는 균주인 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*(strain : PX099Az)를 가위에 묻혀 접종한 2주 후 병증 측정하였다(도 4). 병증 측정은 접종한 부위로부터 감염되어 파괴된 상처 길이(Lesion Lengths)를 측정하여 천연형과 기타 병 저항성과 관련없는 것으로 확인된 다른 nRD 인산화 효소 형질전환체와 비교하였다.

[0074] 도 4의 C에서 확인할 수 있듯이, nRDK-18 형질전환체는 평균 파괴된 상처 길이가 천연형 또는 타 nRD 인산화 효소 형질전환체의 반정도에 불과하여(천연형 vs. nRDK-18 : 16.5 vs. 7.2), 흰잎 마름병에 대한 강력한 저항성을 가짐을 확인할 수 있었다.

[0075] 4-2. 형질전환 벼(nRDK-18)의 도열병에 대한 저항성 검증

[0076] 상기 실시예 2에서 제조된 형질전환 벼가 도열병에 대해 저항성을 보이는지 확인하기 위해, LOC_Os01g65010 발현 조절부위에 발현 유도체가 삽입된 형질전환 벼인 nRDK-18와 대조군으로 천연형 동진벼 및 기타 다른 nRD 인산화 효소 형질전환체를 6주간 키워 도열병을 유발하는 곰팡이 균주인 *Magnaporthe grisea* (strain : P06-6)를 펀치를 이용하여 접종한 2주 후 병증 측정하였다(도 4). 병증 측정은 접종한 부위로부터 감염되어 파괴된 상처 길이(Lesion Lengths)를 측정하여 천연형과 기타 병 저항성과 관련없는 것으로 확인된 다른 nRD 인산화 효소 형질전환체와 비교하였다.

[0077] 도 4의 D에서 확인할 수 있듯이, nRDK-18 형질전환체는 평균 파괴된 상처 길이가 천연형 또는 타 nRD 인산화 효소 형질전환체의 70%정도에 불과하여(천연형 vs. nRDK-18 : 2.25 vs. 1.6), 도열병에 대한 강력한 저항성을 가짐을 확인할 수 있었다.

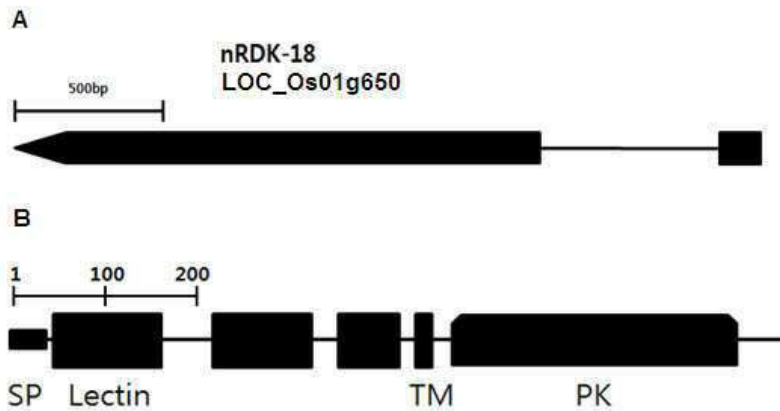
[0078] 이와 같은 결과를 통하여, 본 발명의 형질전환 벼 nRDK-18은 활성화되어 있지 않던 내재적 유전자 LOC_Os01g65010를 활성화시킴으로써 흰잎 마름병 및 도열병에 대한 저항성을 가질 수 있음을 확인하였다.

[0079] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서

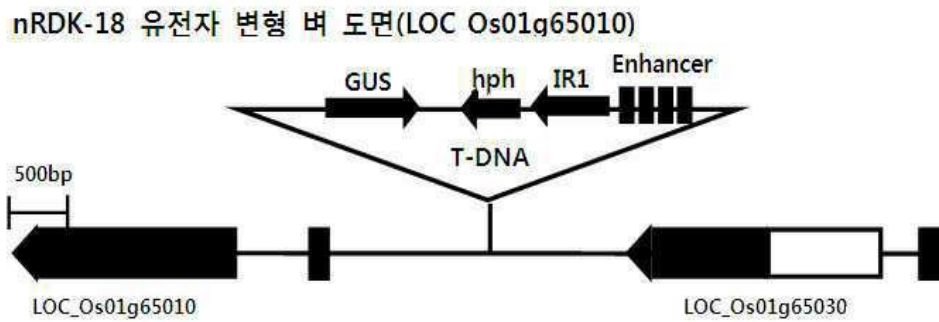
기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

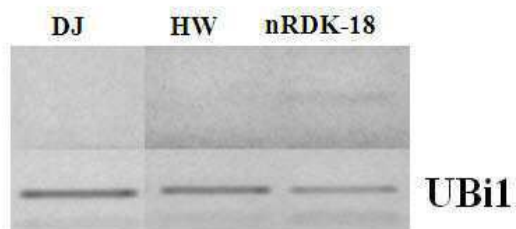
도면1



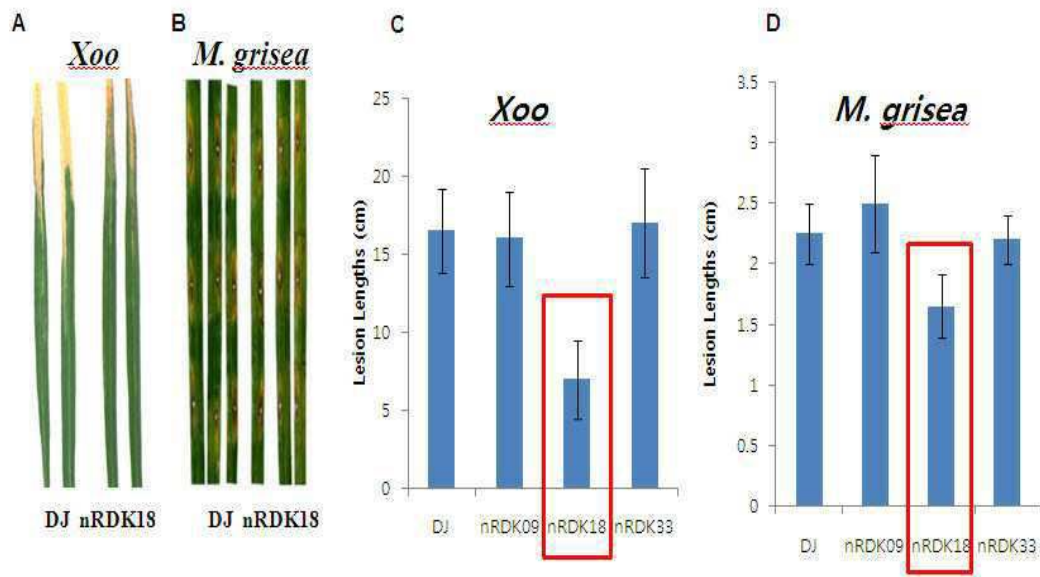
도면2



도면3



도면4



서열 목록

- <110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
- <120> Kinase gene resistant to a bacterial blight and blast, and the transgenic plant using the same
- <130> PA120852KR
- <160> 9
- <170> KopatentIn 2.0
- <210> 1
- <211> 824
- <212> PRT
- <213> Oryza sativa LOC_Os01g65010
- <400> 1

Met Ala Pro Pro Cys Ser Ser Ala Leu Val Leu Pro Cys Leu Leu Val

1 5 10 15

Ile Ala Met Ala Ala Leu Gln Ser Ala Val Val Phe Ala Asp Thr Val

20 25 30

Thr Ala Lys Arg Pro Leu Ser Gly Ser Gln Ser Ala Leu Val Ser Lys

35 40 45

Arg Arg Lys Phe Ala Leu Gly Phe Phe Gln Pro Glu Asn Ser Gln His

50 55 60

Trp Tyr Leu Gly Ile Trp Tyr Asn Gln Ile Ser Lys His Thr Pro Val
 65 70 75 80
 Trp Val Ala Asn Arg Gly Thr Pro Ile Ser Asn Pro Asp Thr Ser Gln
 85 90 95

 Leu Thr Ile Ala Thr Asp Gly Asn Met Val Leu Leu Asp Asn Ser Thr
 100 105 110
 Thr Ala Ile Trp Ser Thr Asn Ile Ser Lys Ile Ala Ser Asn Ser Thr
 115 120 125
 Val Gly Val Ile Leu Asp Thr Gly Asn Leu Val Leu Ala Asp Glu Ser
 130 135 140
 Asn Thr Ser Ile Ile His Trp Gln Ser Phe Asp His Phe Gly Asn Thr
 145 150 155 160
 Trp Leu Pro Gly Gly Lys Leu Gly Arg Asn Asn Lys Leu Ala Gly Val

 165 170 175
 Ser Thr Arg Leu Val Ala Trp Lys Ala Arg Asn Asp Pro Ser Pro Gly
 180 185 190
 Val Phe Ser Leu Glu Leu Asp Pro Asn Gly Thr Ser Gln Tyr Leu Leu
 195 200 205
 Glu Trp Ser Ile Thr Gln Gln Tyr Trp Thr Ser Gly Asn Trp Thr Gly
 210 215 220
 Arg Ile Phe Ala Asp Val Pro Glu Met Thr Gly Cys Tyr Pro Ser Ser
 225 230 235 240

 Thr Tyr Thr Phe Asp Tyr Val Asn Gly Glu Asn Glu Ser Glu Ser Tyr
 245 250 255
 Phe Val Tyr Asp Leu Lys Asp Glu Ser Val Leu Thr Arg Phe Phe Leu
 260 265 270
 Ser Glu Met Gly Gln Ile Gln Phe Leu Thr Trp Ile Tyr Ala Ala Lys
 275 280 285
 Asp Trp Met Pro Phe Trp Ser Gln Pro Lys Val Lys Cys Asp Val Tyr
 290 295 300
 Ser Leu Cys Gly Pro Phe Ser Val Cys Thr Glu Asn Ala Leu Thr Ser

305 310 315 320
 Cys Ser Cys Leu Arg Gly Phe Ser Glu Gln Asn Val Gly Glu Trp Leu
 325 330 335
 Gln Gly Asp His Thr Ser Gly Cys Arg Arg Asn Val Glu Leu Gln Cys
 340 345 350
 Ser Ser Asn Ala Ser Val Met Gly Arg Thr Asp Gly Phe Tyr Thr Met
 355 360 365
 Ala Asn Val Arg Leu Pro Ser Asn Ala Glu Ser Val Val Val Ile Gly
 370 375 380

 Asn Asp Gln Cys Glu Gln Ala Cys Leu Arg Ser Cys Ser Cys Thr Ala
 385 390 395 400
 Tyr Ser Tyr Asn Gly Ser Cys Ser Leu Trp His Gly Asp Leu Ile Asn
 405 410 415
 Leu Gln Asp Val Ser Ala Ile Ser Ser Gln Gly Ser Ser Thr Val Leu
 420 425 430
 Ile Arg Leu Ala Ala Ser Glu Leu Ser Gly Gln Lys Gln Lys Asn Thr
 435 440 445
 Lys Asn Leu Ile Thr Ile Ala Ile Val Ala Thr Ser Val Leu Val Leu

 450 455 460
 Met Ile Ala Ala Leu Phe Phe Ile Phe Arg Arg Arg Met Val Lys Glu
 465 470 475 480
 Thr Thr Arg Val Glu Gly Ser Leu Ile Ala Phe Thr Tyr Arg Asp Leu
 485 490 495
 Lys Ser Val Thr Lys Asn Phe Ser Glu Lys Leu Gly Gly Gly Ala Phe
 500 505 510
 Gly Leu Val Phe Lys Gly Ser Leu Pro Asp Ala Thr Val Val Ala Val
 515 520 525

 Lys Lys Leu Glu Gly Phe Arg Gln Gly Glu Lys Gln Phe Arg Ala Glu
 530 535 540
 Val Ser Thr Ile Gly Asn Ile Gln His Val Asn Leu Ile Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Gly Phe Cys Ser Glu Lys Ser Arg Arg Leu Leu Val Tyr Glu Tyr Met

565	570	575	
Pro Asn Gly Ser Leu Asp Lys Gln Leu Phe Asp Asn Lys Lys His Val			
580	585	590	
Leu Ser Trp Asn Thr Arg Tyr Gln Ile Ala Leu Gly Ile Ala Arg Gly			
595	600	605	
Leu Asp Tyr Leu His Glu Lys Cys Arg Asp Cys Ile Ile His Cys Asp			
610	615	620	
Ile Lys Pro Glu Asn Ile Leu Leu Asp Gly Ser Phe Ala Pro Lys Val			
625	630	635	640
Ala Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Met Gly Arg Asp Ile Ser Arg Val			
645	650	655	
Leu Thr Thr Ala Arg Gly Thr Val Gly Tyr Ile Ala Pro Glu Trp Ile			
660	665	670	
Ala Gly Thr Ala Val Thr Ala Lys Ala Asp Val Phe Ser Tyr Gly Met			
675	680	685	
Thr Leu Leu Glu Ile Val Ser Gly Arg Arg Asn Val Gln Gly Arg Arg			
690	695	700	
Arg Arg Gln Glu Gln Gln Asp Asp Gly Gly Ala Ala Ala Asp Arg Pro			
705	710	715	720
Phe Pro Leu Val Ala Ala Gly Arg Leu Val Gly Gly Gly Gly Gly Arg			
725	730	735	
Arg Glu Glu Leu Val Ser Ala Val Val Asp Gly Arg Leu Gly Gly Asp			
740	745	750	
Ala Asp Met Gly Glu Ala Glu Arg Ala Cys Arg Val Ala Phe Trp Cys			
755	760	765	
Ile Gln Asp Asp Glu Asn Ala Arg Pro Ala Met Ala Thr Val Val Gln			
770	775	780	
Val Leu Glu Gly Leu Val Glu Ile Gly Val Pro Pro Ile Pro Arg Ser			
785	790	795	800
Leu Gln Phe Leu Ala Glu Leu Ala Asp Gln Ser Asn Tyr Leu Gln Phe			
805	810	815	

Phe Ser Asp Leu Leu Pro Ser Asn

820

<210> 2

<211> 16174

<212> DNA

<213> Inserting Sequence

<400> 2

gtttaccgc caatatacc tgtcaaacac ggatccgagg taccaggtac caggtgagtt	60
ccattcttac taccacggtg ctatTTTTT tgctatgtgg ctaattacat gactaacttg	120
gggtgctaaa tcttacaggt tataatgcagg ttatatgcag gtcccgggta ggtcagtcct	180
ttatgttacg tctgtagaa accccaaccc gtgaaatcaa aaaactcgac ggcctgtggg	240
cattcagtct ggatcgcaa aactgtggaa ttgatcagcg ttggtgggaa agcgcgttac	300
aagaaagccg ggcaattgct gtgccaggca gttttaacga tcagttcgcc gatgcagata	360
ttcgtaatta tgcgggcaac gtctggtatc agcgcgaagt ctttataccg aaaggttggg	420
caggccagcg tatcgtgctg cgtttcgaig cggtcactca ttacggcaaa gtgtgggtca	480
ataatcagga agtcatggag catcagggcg gctatacgcc atttgaagcc gatgtcacgc	540
cgtatgttat tgcgggaaa agtgtacgta tcaccgtttg tgtgaacaac gaactgaact	600
ggcagactat cccgccggga atggtgattt ccgacgaaa cggcaagaaa aagcagtcct	660
acttccatga tttctttaac tatgccggaa tccatcgag cgtaatgctc tacaccacgc	720
cgaacacctg ggtggacgat atcacctgg tgacgcatgt cgcgcaagac tgtaaccacg	780
cgtctgttga ctggcaggtg gtggccaatg gtgatgtcag cgttgaactg cgtgatcgcg	840
atcaacaggt ggttgcaact ggacaaggca ctagegggac tttgcaagtg gtgaatccgc	900
acctctggca accgggtgaa ggttatctct atgaactgtg cgtcacagcc aaaagccaga	960
cagagtgtga tatctaccg cttcgcgtcg gcatccggtc agtggcagtg aaggccaac	1020
agttcctgat taaccacaaa ccgttctact ttactggctt tggtcgtcat gaagatgcgg	1080
acttacgtgg caaaggattc gataacgtgc tgatggtgca cgaccacgca ttaatggact	1140
ggattggggc caactctac cgtacctgc attacctta cgtgaagag atgctcgact	1200
gggcagatga acatggcatc gtgggtattg atgaaactgc tgctgtcggc ttttaacctt	1260
ctttaggcat tggtttcgaa gcgggcaaca agccgaaaga actgtacagc gaagaggcag	1320
tcaacgggga aactcagca gcgcacttac aggcgattaa agagctgata gcgcgtgaca	1380
aaaaccaccc aagcgtggtg atgtggagta ttgccaacga accggatacc cgtccgcaag	1440
tgacgggaa tatttcgcca ctggcggaag caacgcgtaa actcgaccg acgcgtccga	1500

tcacctgcgt caatgtaatg ttctgcgacg ctacaccga taccatcagc gatctctttg	1560
atgtgctgtg cctgaaccgt tattacggat ggatgtcca aagcggcgat ttggaaacgg	1620
cagagaaggt actggaaaaa gaacttctgg cctggcagga gaaactgcat cagccgatta	1680
tcatcaccga atacggcgtg gatacgttag ccgggctgca ctcaatgtac accgacatgt	1740
ggagtgaaga gtatcagttg gcatggctgg atatgtatca ccgcgtcttt gatcgcgtca	1800
gcgccgtcgt cggatgaacag gtatggaatt tcgccgattt tgcgacctcg caaggcatat	1860
tgcgcgttgg cggtaacaag aaagggatct tactcgcga ccgcaaaccg aagtcggcgg	1920
cttttctgct gcaaaaacgc tggactggca tgaacttcgg tgaaaaaccg cagcagggag	1980
gcaacaatg aatcaacaac tctctggcg caccatcgtc ggctacagcc tcgggaattg	2040
ctaccgagct cgaatttccc cgatcgttca aacatttggc aataaagttt cttaagattg	2100
aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc tgttgaatta cgttaagcat	2160
glaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat gggtttttat gattagagtc	2220
ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa	2280
ttatcgcgcg cgggtgtcatc tatgttacta gatcgggaat taattcatcg ataggtagtc	2340
catggtgact gtacgttgta agtgcagcaa actgccgacg cgatgcaaac tgtacacgtt	2400
aacatgccac tcacctggaa cgcacaatgg ccactagggtg cggccgtagt gtggatttca	2460
aagagagaga gagagagaga gagctaatca cgtaaacgta aacacagcag atagcagaga	2520
tgttgattag gcaaacagt ataaaagcca atccaataaa ctacatttag cgaagtgcta	2580
tactaatgca ctaataacga actgttcttt tcttaagatc ggagccagta atgggttgtc	2640
agcaggagaa gcacgtaaac cttgaacat actaagttcc acagtcgaga gtaaacgta	2700
atcaacacaa gaaacaaaca taaaattgaa caaacgcga tattataagt gacgaagcgg	2760
tctcacataa aacagggcac acaggttaca acaacgaggg ttgtaagccc attaagcccc	2820
aaacatcaga tcaccacaag caaatgtctc gaagacacac gcacacggca acaggataac	2880
tccacactgg cagatcatgg gatagcagca gtatcaatc aggccttgac acacagaaca	2940
tcaagcccc agacgacgac gactcctcta gatcccggtc ggcatctact ctattccttt	3000
gccctcggac gagtgcgtgg gcgtcggttt ccactatcgg cgagtacttc tacacagcca	3060
tcggtccaga cggccgcgtt tctgcgggcg atttgtgtac gcccgacagt cccggtccg	3120
gatcggacga ttgcgtcgca tcgacctgc gcccaagctg catcatcgaa attgccgtca	3180
accaagctct gatagagttg gtcaagacca atgcggagca tatacgcccg gagccgcggc	3240

gatcctgcaa gctccggatg cctccgctcg aagtagcgcg tctgctgctc catacaagcc	3300
aaccacggcc tcacagaaga gatgttggcg acctcgtatt gggaatcccc gaacatcgcc	3360
tcgctccagt caatgaccgc tgttatgcgg ccattgtccg tcaggacatt gttggagccg	3420
aaatccgcgt gcacgaggtg cgggacttcg gggcagtcct cggcccaaag catcagctca	3480
tcgagagcct gcgcgacgga cgcactgacg gtgtcgtcca tcacagtttg ccagtgatac	3540
acatggggat cagcaatcgc gcataatgaaa tcacgccatg tagtgtattg accgattcct	3600
tgcggtccga atgggccgaa cccgctcgtc tggctaagat cggccgcagc gatcgcatcc	3660
atggcctccg cgaccggctg cagaacagcg ggcagttcgg tttcaggcag gtcttgcaac	3720
gtgacaccct gtgcacggcg ggagatgcaa taggtcaggc tctcgctgaa ttccccaatg	3780
tcaagcactt ccggaatcgg gagcgcggcc gatgcaaagt gccgataaac ataacgatct	3840
ttgtagaaac catcggcgca gctatttacc cgcaggacat atccacgccc tcctacatcg	3900
aagctgaaag cagcagattc ttgcgcctcc gagagctgca tcaggtcgga gacgctgtcg	3960
aacttttcga tcagaaactt ctcgacagac gtgcgggtga gttcaggctt tttcatatct	4020
cattgcccc cgggatccgt cgagtcagcc tgaaaggaca aaatacatgt tagcgcctta	4080
gtggtacatt attatttcag tacagcaaga taacacaatt caaaagactg acccataata	4140
aataactagt cctcaattta aaatttgagt tcctaaatag acatctatga atatgctgta	4200
catcggcact acagaaaata cgattcccaa taattgaaca attgtacttt atttagttgt	4260
tactacaaca atggaagata caagatcgtt tcaaaactac catacatgca tggagtattt	4320
gttcacaga tctggaaaaa acagatctga cgggcagtgt caccaaacac tagacatatg	4380
tatttgtatt aggtggatga cgtgtacaaa catgactacc agatctagaa ttagaacgcg	4440
gcgtgctttg gaaatgttaa gtagatccaa atacatcggt aacaaatgaa catattcata	4500
tgacatagct gtaaaacatc atgatctatc atatcaacta gaggggatct cggcatgtat	4560
cattctattg catctagaac catagcattt ccatgtgaca aacaattttg aaacatacat	4620
tgtcagatc taccataaga acaccatgtt catgacagca tcgacatga ttccacatt	4680
taacagcatc ccgaggtcag atccagtgtt tagaactatc atttcagcaa aattcacaaa	4740
ataaatctc caattgcct acatatatcc attccacgca tcctaggacc agatccacca	4800
taccagtata cacgaacact aaacatttca tcagatccgc taactacgac agagaaaacg	4860
cagatccaga caaccagatc caccgacaaa taaacacagc cccccacatc caacaaccgc	4920
gaatccacc agatctgacc cagaagcagg cacgaagaac acggggggtg agggagatgg	4980
gacgcggatc caagcttggc ggcggattgg gttgatgctg cgacggcggc ggagaaggga	5040
gagaggggag aggaggaaaa gcgcggaggc gcggagagag gcgagtacga agacgccttt	5100

ctctgcgttg tctcggctta gggtttgcga tccccgcact cgcgccgttt tatagggccca	5160
gacagcctgg acctctcagg agcggaagcg aagggatggg ggagtttttc gttttacccc	5220
ctttgacgtc ttcaaaattc actcgcactc cacatcgtgc ctgcaaaggt cgggtggttg	5280
gatcatatcg agaataattta ataagttagg gagctttctg ataatatcca cgcgaaggag	5340
gccatttcgt ttgcactcgg ttgaagtcca taccgcctc tcgttagttt cactgacagg	5400
tgggtccaga ggcttccctc gtgtcgggtt agcgagtga cgcgtcgtc caagaaaaag	5460
cagtaggtga cctggccacc tcgtttagg tgcgaccgat gcagacgtcc cgcttgccgg	5520
tgggcccacg ttacagctgg gtcccacata tcggtgggtg cgatgagttg ttcggtcgt	5580
aggagtagat tggatccaa cgggtggttg cgtcgtcggc ggccctgccg attttat	5640
cgatttttga aatgcgagag cgggagaacg gcaccgttgg cttggctgtg gatgccgtta	5700
gccgcaccgg actattcggc ccagttccat ttggcccaa cttgaaacag cgcggagcac	5760
aagacggggg agcccattha ggcccgtaat ctacgcctg tagaaagtcc gtgtcgttgc	5820
gatggaccag aaagcccata aaccttgag gcgttctctg ctgggaataa aataagttca	5880
cactctgtcc ctcaacttha cgtcagagttt gtttgacatc gctaataccc agtaccagaa	5940
atcttgata caaataaggt ttgatataaa gtggcacgtg gtgaatggca tcgtttgaaa	6000
aatcttcaga tcgagcgggc ttcaaacgc gtaagtcaa gtgcaaaat ttgtgaagaa	6060
aattacttcc ttcatctcac aatgtaagtt attttagcat tttccacatt catattgata	6120
tcaataaatt tagatagata tatatgtctg aattcgtacc gttaacgagc tctagaagct	6180
tcagtactac gcgtctcgag gcctattatt gaagcattha tcagggttat tgtctcatga	6240
gcgatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc	6300
ccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa	6360
ataggcgtat cacgaggccc ttctgtctcg cgcgtttcgg tgatgacgtt gaaaacctct	6420
gacacatga gctcccgag acggtcacag ctgtgtgtga agcggatgcc gggagcagac	6480
aagcccgtca gggcgcgtca gcgggtgttg gcgggtgtcg gggctggctt aactatgcgg	6540
catcagagca gattgtactg agagtgcacc atatgcggtg tgaaataccg cacagatgcg	6600
taaggagaaa ataccgcac aggcgccatt cgccattcag gctgcgcaac tgttggaag	6660
ggcgatcgtt gcgggcctct tcgtatttac gccagctggc gaaaggggga tgtgtgcaa	6720
ggcgattaag ttgggtaacg ccagggtttt ccagtcacg acgttgtaa acgacggcca	6780
gtgaattcac tagtgattgc tctagacact gatagtttcg gatctagata tcacatcaat	6840
ccacttgctt tgaagacgtg gttggaacgt cttcttttc cacgatgttc ctcgtgggtg	6900
ggggtccatc ttggggacca ctgtcggtag aggcactctt aacgatagcc tttcctttat	6960

cgcaatgatg gcattttgtag aagccatctt cctttttctac tgtcctttcg atgaagtgc	7020
agatagctgg gcaatggaat ccgaggaggt tccccgatat taccctttgt tgaaaagtct	7080
caatagccct ctggtcttct gagactgtat ctttgatatt cttggagtag acgagagtgt	7140
cgtgctccac catgttgggg atctagatat cacatcaatc cacttgcttt gaagacgtgg	7200
ttggaacgtc ttctttttcc acgatgttcc tcgtgggtgg gggtccatct ttgggaccac	7260
tgtcggtaga ggcatcttga acgatagcct ttcctttatc gcaatgatgg cattttaga	7320
agccatcttc cttttctact gtcctttcga tgaagtgaca gatagctggg caatggaatc	7380
cgaggagggt tccccgatatt accctttgtt gaaaagtctc aatagccctc tggctctctg	7440
agactgtatc ttigatatcc ttggagtaga cgagagtgtc gtgctccacc atgttgggga	7500
tctagatata acatcaatcc acttgctttg aagacgtggt tggaacgtct tctttttcca	7560
cgatgttccct cgtgggtggg ggtccatctt tgggaccact gtcggtagag gcactttgaa	7620
cgatagcctt tcctttatcg caatgatggc attttagaaa gccatcttcc ttttctactg	7680
tcctttcgat gaagtgcacg atagctgggc aatggaatcc gaggagggtt cccgatatta	7740
ccctttgttg aaaagtctca atagccctct ggtcttctga gactgtatct ttgatattct	7800
tggagtagac gagagtgtcg tgctccacca tgttggggat ctagatatca catcaatcca	7860
cttgctttga agacgtggtt ggaacgtctt ctttttccac gatgttctc gtgggtgggg	7920
gtccatcttt gggaccactg tcggtagagg catcttgaac gatagccttt cttttatcgc	7980
aatgatggca ttgtagaag ccactttcct tttctactgt cctttcgatg aagtgcaga	8040
tagctgggca atggaatccg aggaggtttc ccgatattac ctttgttga aaagtctcaa	8100
tagccctctg gtcttctgag actgtatctt tgataattct ggagtagacg agagtgtcgt	8160
gtccaccat gttggggatc ctctagagtc gagaattcag tacattaaaa acgtccgcaa	8220
tgtgttatta agttgtctaa gcgtcaattt gtttacacca caatatatcc tgccaccagc	8280
cagccaacag ctccccgacc ggcagctcgg cacaaaatca ccactcgata caggcagccc	8340
atcagtccgg gacggcgta cggggagagc cgttgtaagg cggcagactt tgctcatgtt	8400
accgatgcta ttcggaagaa cggcaactaa gctgccgggt ttgaaacacg gatgatctcg	8460
cggagggtag catgttgatt gtaacgatga cagagcgttg ctgcctgtga tcaaatatca	8520
tctccctcgc agagatccga attatcagcc ttcttattca tttctcgtt aaccgtgaca	8580
ggctgtcgat cttagaact atgccgacat aataggaaat cgctggataa agccgctgag	8640
gaagctgagt ggcgctattt ctttagaagt gaacgttgac gatcgtcgac ggatcttttc	8700

cgctgcataa ccctgcttcg gggtcattat agcgattttt tcggtatata catccttttt	8760
cgcacgatat acaggatttt gccaaagggt tcgtgtagac tttccttggt gtatccaacg	8820
gcgtcagccg ggcaggatag gtgaagtagg cccaccgcg agcgggtgtt ccttcttcac	8880
tgtcccttat tcgcacctgg cggtgctcaa cggaatcct gctctgcgag gctggccggc	8940
taccgccggc gtaacagatg agggcaagcg gatggctgat gaaaccaagc caaccaggaa	9000
gggcagccca cctatcaagg tgtactgcct tccagacgaa cgaagagcga ttgaggaaaa	9060
ggcggcggcg gccggcatga gcctgtcggc ctacctgtg gccgtcggcc agggctaaaa	9120
aatcacgggc gtcgtggact atgagcacgt ccgcgagctg gcccgcata atggcgacct	9180
gggccgcctg ggcggcctgc tgaaactctg gctcacgcac gaccgcgcga cggcgcggtt	9240
cggatgatgcc acgatcctcg ccctgctggc gaagatcgaa gagaagcagg acgagcttgg	9300
caaggtcatg atgggcgtgg tccgcccag ggcagagcca tgactttttt agccgctaaa	9360
acggccgggg ggtgcgcgtg attgccaagc acgtcccat gcgtccatc aagaagagcg	9420
acttcgcgga gctggatttc gtgcagggca agattcggaa taccaagtac gagaaggacg	9480
gccagacggt ctacgggacc gacttcattg ccgataaggt ggattatctg gacaccaagg	9540
caccaggcgg gtcaaatcag gaataagggc acattgcccc ggctgagtc ggggcaatcc	9600
cgcaaggagg gtgaatgaat cggacgtttg accggaaggc atacaggcaa gaactgatcg	9660
acgcggggtt ttccgccgag gatgccgaaa ccatcgcaag ccgcaccgtc atgcgtgcgc	9720
cccgcgaaac ctccagtc gtcggctcga tggccagca agctacggcc aagatcgagc	9780
gcgacagcgt gcaactggct cccctgccc tggccgcgc atcggccgcc gtggagcgtt	9840
cgctcgtct cgaacaggag gcggcagggt tggcgaagtc gatgaccatc gacacgcgag	9900
gaactatgac gaccaagaag cgaaaaaccg ccggcgagga cctggcaaaa caggtcagcg	9960
aggccaagca ggccgcgttg ctgaaacaca cgaagcagca gatcaaggaa atgcagcttt	10020
ccttgttcga tattgcgccg tggccggaca cgatgcgagc gatgccaaac gacacggccc	10080
gctctgccct gttcaccacg cgcaacaaga aaatcccgcg cgaggcgtg caaaacaagg	10140
tcattttcca cgtcaacaag gacgtgaaga tcacctacac cggcgtcgag ctgcgggccg	10200
acgatgacga actgggtgtg cagcagggtg tggagtacgc gaagcgcacc cctatcggcg	10260
agccgatcac cttcacgttc tacgagcttt gccaggacct gggctggtcg atcaatggcc	10320
ggtattacac gaaggccgag gaatgcctgt cgcgcctaca ggcgacggcg atgggttca	10380
cgccgaccg cgttgggcac ctggaatcgg tgcgtctgct gcaccgttc cgcgtcctgg	10440
accgtggcaa gaaaacgtcc cggttccagg tctgatcga cgaggaaatc gtcgtgctgt	10500
ttgctggcga ccactacacg aaattcatai gggagaagta ccgcaagctg tcgccgacgg	10560

cccgaacgat gttcgactat ttcagctcgc accgggagcc gtacccgctc aagctggaaa	10620
ccttcgcct catgtgcga tcgattcca cccgctgaa gaagtggcgc gacgaggtcg	10680
gcgaagcctg cgaagagttg cgaggcagcg gcctggtgga acacgcctgg gtcaatgatg	10740
acctggtgca ttgcaaacgc tagggccttg tggggtcagt tccggctggg gggtcagcag	10800
ccagcgcttt actggcattt caggaacaag cgggcactgc tcgacgcact tgcttcgctc	10860
agtatcgctc gggacgcacg gcgcgctcta cgaactgccg ataacagag gattaaaatt	10920
gacaattgtg attaaggctc agattcgacg gcttggagcg gccgacgtgc aggatttccg	10980
cgagatccga ttgtcggccc tgaagaaagc tccagagatg ttcgggtccg ttacgagca	11040
cgaggagaaa aagcccatgg aggcgttcgc tgaacggttg cgagatgccg tggcattcgg	11100
cgcttacatc gacggcgaga tcattgggct gtccgtcttc aaacaggagg acggcccaa	11160
ggacgctcac aaggcgcatc tgtccggcgt ttcgtggag cccgaacagc gaggccgagg	11220
ggtcgccggt atgtctgtgc gggcgttgcc ggccgggtta ttgctcgtga tgatcgtccg	11280
acagattcca acgggaatct ggtggatgcg catcttcac ctcggcgac ttaatatctc	11340
gctattctgg agcttgtgt ttatttcggt ctaccgctg cggggcgggg tcgcggcgac	11400
ggtaggcgct gtgcagccg tgatggtcgt gttcatctct gccgtctgc taggtagccc	11460
gatacgattg atggcggcc tgggggctat ttgcggaact gcgggcgtgg cgctgttgg	11520
gttgacacca aacgcagcgc tagatcctgt cggcgctgca gcgggcctgg cggggcggt	11580
ttccatggcg tcggaaccg tgctgaccg caagtggcaa cctccgtgc ctctgctcac	11640
ctttaccgcc tggcaactgg cggccggagg acttctgctc gttccagtag ctttagtgtt	11700
tgatcgcca atccgatgc ctacaggaac caatgttctc ggcctggcgt ggctcgcct	11760
gatcggagcg ggtttaacct acttctttg gttccggggg atctcgcgac tcgaacctac	11820
agttgtttcc ttactgggct ttctcagccc ggggaccgcc gtgttgctag gatggttgtt	11880
cttgatcag acgtgagtg cgcttcaa atcatcgctc ctgctcgtga tcgggagtat	11940
ctggctgggc caacgttcca accgcactcc tagggcgct atagcttgcc ggaagtcgc	12000
ttgaccgca tggcatagc ctatcgttt cagcatcagc gatcggtcg ttgcctgcg	12060
ccgtccaaa gcccgcgac cagcggcgc aggcagagca agtagaggc agcgcctgca	12120
atccatgcc acccgttcca cgttgttata gaagccgat agatgccgt gaagaggagg	12180
ggtccgacga tcgaggtcag gctggtgagc gccgccagt agccttgag ctgcccctga	12240
cgttcctcat ccacctgcct ggacaacatt gcttgagcg ccggcattcc gatgccacc	12300
gaagcaagca ggacatgat cgggaacgcc atccatcccc gtgtcgcgaa ggcaagcagg	12360
atgtagcctg tgccgtcggc aatcattccg agcatgagtg cccgccttc gccgagccgg	12420

gcggttacag ggccggtgat cattgcctgg gcgagtgaat gcagaatgcc aaatgcggca	12480
agcgaaatgc cgatcgtggt cgcgtcccag tgaaagcgat cctcgccgaa aatgacccaa	12540
agcgcgggcg gcacctgtcc gacaagttgc atgatgaaga agaccgcat cagggcggcg	12600
acgacggtca tgccccgggc ccaccggaac gaagcgagcg ggttagagac ctcccgcgct	12660
aacggccggc gttcgcttt gtgcgactcc ggcaaaagga aacagcccgt caggaaattg	12720
aggccgttca aggtgcgcg ggcaagaac ggagcgtggg gggagaaacc gcccatcagc	12780
ccaccgagca caggtccgc gaccatcccg aaccgaaac aggcgctcat gaagccgaag	12840
tgccgcgcg gctcatcgcc atcagtata tcggcaatat aagcgccggc taccgcccc	12900
gtcgccccgg tgatgccggc cacgatccgc ccgatataga gaacccaaag gaaaggcgct	12960
gtcgccatga tggcgtagtc gacagtggcg ccggccagcg agacgagca gattggccgc	13020
cgcccgaaac gatccgacg cgcgcccgac acaggtgcgc aggcgaattg caccaacgca	13080
tacagcgcca gcagaatgcc atagtggcg gtgacgtcgt tcgagtgaac cagatcgcg	13140
aggaggcccg gcagcaccgg cataatcagg ccgatgccga cagcgtcgag cgcgacagt	13200
ctcagaatta cgatcagggg tatgttgggt ttcatgtctg gcctccggac cagcctccgc	13260
tggtcgatt gaacgcgcg attctttatc actgataagt tggtagcat attatgttta	13320
tcagtataa agtgtcaagc atgacaaagt tgcagccgaa tacagtgatc cgtgccgccc	13380
tggacctgtt gaacgaggtc ggcgtagac gtctgacgac acgcaaaact gcggaacggt	13440
tgggggttca gcagccggcg ctttactggc acttcaggaa caagcggcg ctgctcgacg	13500
cactggccga agccatgctg gcggagaatc atacgattc ggtgccgaga gccgacgacg	13560
actggcgctc atttctgatc gggaatgcc gcagcttcag gcaggcgctg ctgcctacc	13620
gcgatggcg gcgcatccat gccgcacgc gaccggcgcg accgcagatg gaaacggccg	13680
acgcgcagct tcgttctc tcgaggcggt gtttttcggc cggggacgcc gtcaatgcgc	13740
tgatgacaat cagctactc actgttgggg ccgtgcttga ggagcaggcc ggcgacagcg	13800
atgccggcga gcggcgccg accgttgaac aggtccgct ctcgccgctg ttgcgggccc	13860
cgatagacgc cttcgacgaa gccgtccgg acgcagcgtt cgagcaggga ctgcggtga	13920
ttgtcgatgg attggcgaaa aggaggctcg ttgtcaggaa cgttgaagga ccgagaaagg	13980
gtgacgatt atcaggaccg ctgccggagc gcaaccact cactacagca gagccatgta	14040
gacaacatcc cttccccctt tccaccgct cagacgccg tagcagccc ctacgggctt	14100
tttcatgcc tgccctagcg tccaagctc acggccgcgc tcggcctctc tggcgccctt	14160

ctggcgctcc tgctgcggcg tccgctctgt ggccgtggcg cgggtccgcg cgccggcctc	14220
gtgcgcctgg cgctcgccgg cgaggtccag ggccggccgtc ttcacgttct gccttgccga	14280
gatgagatag atccagtctg caagtgtcag aaacgagtct gcatttgatg ccctgaacgt	14340
cttcatacat ctgataagcc cctcccgga gtcgtctttc tctccgtcag aaagcatacc	14400
ctgaccggtt tcaatcacgg accgttctgt caggtaatgc tctgtccagt catacagagc	14460
cgggtttgtc acccgataaa gctgaagcag gcacaaatca gggaaataaa caaaatcccg	14520
catccccgga taaagaaaaa tcagggaatt aatggcctga tggatttccc gtggcgctga	14580
aagtgcggca ccataggtat cagtcaccgc gatgagatcc cttaccattc cagagtctgg	14640
cggttgatta ttaatttgct gatataagac ctacgcccgc tggcgaaatt cattacgtaa	14700
atcaaaggct tcaggtcggg gtaatttaaa actaagctga atgattttct ggagataacg	14760
gctgccatct tcgatatcca gcgcattgtc aacggcatga gtgataatct gcctgtcata	14820
acagagaata tgggtaaagc ggggcagatc ggctactgca cgcacaagcc tgaacacttc	14880
cgccacctgg gatggctcca gtcggtccag atcatccatg acaacaatga acttcagatc	14940
cagactcacc agttgtcctg caatttcagc ccgaagctag cttggctgcc atttttgggg	15000
tgaggccgtt cgccggccgag gggcgccagcc cctgggggga tgggaggccc gcgttagcgg	15060
gccgggaggg ttcgagaagg gggggcacc ccttcggcg tgcgcggtca cgcgcacagg	15120
gcgcagccct ggttaaaaaa aagggtttata aatattggtt taaaagcagg ttaaaagaca	15180
ggttagcggg gcccgaaaaa cgggcggaaa ccttgcaaa tgcgtgattt tctgcctgtg	15240
gacagccctt caaatgtcaa taggtgcgcc cctcatctgt cagcactctg cccctcaagt	15300
gtcaaggatc gcgccccca tctgtcagta gtgcgcgcc tcaagtgtca ataccgcagg	15360
gcacttatcc ccaggcttgt ccacatcatc tgtgggaaac tcgcgtaaaa tcaggcgttt	15420
tcgccgattt gcgaggetgg ccagctccac gtccgccgcc gaaatcgagc ctgccctca	15480
tctgtcaacg ccgcgccggg tgagtcggcc cctcaagtgt caacgtccgc cctcatctg	15540
tcagtgaggg ccaagttttc cgcgaggtat ccacaacgcc ggccggccgc gtgtctcgca	15600
cacggcttcg acggcgtttc tggcgcgttt gcagggccat agacggccgc cagcccagcg	15660
gcgagggcaa ccagcccggt gagcgtcgga aagggtcgac gatcttgctg cgttcggata	15720
ttttcgtgga gttcccgcca cagaccgga ttgaaggcga gatccagcaa ctgcgccag	15780
atcatcctgt gacggaactt tggcgcgtga tgactggcca ggacgtcggc cgaaagagcg	15840
acaagcagat cacgcttttc gacagcgtcg gatttgcat cgaggatttt tcggcgtgc	15900
gtacgtccg cgaccgcgtt gagggatcaa gccacagcag cccactcgac cttctagccg	15960
accagacga gccaaaggat ctttttgaa tgcgtctccg tcgtcaggct ttccgacgtt	16020

tgggtggttg aacagaagtc attatcgac ggaatgccaa gcactcccga ggggaaccct 16080
 ggggttgga tgcacatata aatggacgaa cggataaacc ttttcacgcc cttttaata 16140
 tccgattatt ctaataaacg ctcttttctc ttag 16174

<210> 3
 <211> 28
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> primer Enhancer-F
 <400> 3
 ccggtacat ggcggcgggtg gtggaggg 28
 <210> 4
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer Enhancer-R
 <400> 4
 ccggtacatt agcttagaga tgagacgaa 29
 <210> 5
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer pGA2715L1.5S-F
 <400> 5
 agtacattaa aaacgtccgc 20
 <210> 6
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer rt-0s10g35040-F
 <400> 6
 gcgctgagcc acgagt 16
 <210> 7
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer rt-0s10g35040-R

<400> 7

gtcgctctcc cgtctc 16

<210> 8

<211> 2475

<212> DNA

<213> Oryza sativa LOC_0s01g65010

<400> 8

atggcgccgc cctgctcttc tgctctcggt ctctcttgcc tgcttgatcat agccatggcc 60

gctctgcaaa gtgctgtggt gtttccgat accgtcactg ccaaagcccc gtgtgccggc 120

agccagagtg cactggtgtc caagcgtcgc aagttcgcgc tcggtttctt ccagccagaa 180

aattcacagc attggtacct tggcatctgg tacaacaaa tttccaaaca cacacctgtc 240

tgggttgcaa acaggggcac tccaatctcg aatccggaca cctcacaact aacctatgca 300

accgacggca acatggtatt actcgacaat tcaacaactg caatttggtc cacgaacatc 360

tccaagatcg cctccaactc cagggtcggt gtcatctcgc acaccggcaa ccttgtcttc 420

gcagacgaat cgaacacctc catcatccac tggcagagct tcgaccattt cggcaacacc 480

tggtccccg gcggcaagct cggccggaat aacaagctcg ccggcgtgag caccgtctg 540

gtcgcatgga aggtctgcaa tgaccatct ccaggcgtct tctccctcga gctggatccg 600

aatggcacga gccaatacct gctcgaatgg agcatcacgc agcagtactg gacgagcggc 660

aactggactg gccgcatatt cgccgacgtg ccggagatga cgggatgcta cccgagctcg 720

acgtacacct tcgactacgt caatggcgag aacgagagcg agagctactt cgtgtacgac 780

ctcaaggacg agtccgtcct cagcaggttc ttctgagcg agatggggca gatccagttc 840

ttgacatgga tctacgcagc caaggactgg atgccgttct ggtctcagcc caaggtgaag 900

tcgcagctgt actcgtgtg tggcccggtc agtgtctgca ccgagaacgc actgacatct 960

tgtagctgcc tccggggatt cagcagcag aacgttggcg agtggttgca gggagatcac 1020

acttcagggt gcagaagaaa cgtcgagctg cagtgtagca gcaatgcctc agtgatgggg 1080

aggactgatg gtttctacac gatggccaac gtgagattac caagcaatgc agagagcgtg 1140

gtggtcatag gaaatgatca gtgtgagcaa gcatgcttaa gaagtgttc ttgactgct 1200

tactctaca acggcagctg ctactgtgg catggagacc tcatcaacct gcaggatgtg 1260

tctgccatta gtagccaagg aagcagcact gttttgattc gcttggccgc ttcagaattg	1320
tctggccaga agcagaagaa caccaagaac ttgatcacta ttgccatcgt tgctactagt	1380
gttctagtagc tcatgatagc tgctttgttt ttcattcttca gaagaagaat ggtaaaggaa	1440
acaacaagag tggaagggtc cttgatagca ttcacatacc gtgacctgaa atctgtgacc	1500
aaaaatttct ccgagaagct cggggggaggc gcattcgggt tagtgttcaa agggtcgcta	1560
cctgatgcga ccgtgggtgc cgtgaagaag ctggaagggt ttcgtcaggg ggagaagcag	1620
tttcgcgcgg aggtgagcac gatcggcaac atccaacacg tcaacctgat tcgattgctc	1680
gggttttgct cggagaaatc gcgaaggcta ctgctctacg agtacatgcc aaacggttca	1740
ctggacaagc aactttttga caataaaaaa catgtcctga gttggaacac gaggtaccag	1800
attgctcttg gaatcgcgag gggattagac tacctccacg agaaatgcag ggattgcatc	1860
atacactcgc acatcaagcc agagaacata ctgctcgatg gctcgtttgc acccaaggtc	1920
gccgacttcg ggctcgccaa gctcatgggc cgcgacatca gccgcgtgct gaccacggcg	1980
aggggcacgg tggggtacat cgcgccggag tggatcgccg gcacggccgt cacggcgaag	2040
gcggacgtgt tcagctacgg catgacgctg ctcgagatcg tgtcggggag gcggaacgtg	2100
cagggacgac ggaggaggca ggagcagcag gacgacggcg gcgcggcggc ggaccgcca	2160
ttcccgttgg tggcggcggg caggctcgtc ggcggcggcg gaggccggcg ggaggagctg	2220
gtcagcgccg tgggtgacgg ccggctcggc ggcgacgccg acatgggcga ggcggagaga	2280
gcatcgaggg tggcgttctg gtgcatccag gacgacgaga acgcgaggcc ggccatggcg	2340
acggtgggtc aggtgctcga agggctcgtg gagatcggcg tcccgcgat tccgagatca	2400
cttcagttcc tcgcggagtt ggccgatcaa tcaaattact tgcagttctt ctccgattta	2460
ttaccgtcga attga	2475
<210> 9	
<211> 1400	
<212> DNA	
<213> enhanced sequence	
<400> 9	
gaattgatcc ccaacatggt ggagcacgac actctcgtct actccaagaa tatcaaagat	60
acagtctcag aagaccagag ggctattgag acttttcaac aaagggtaat atcgggaaac	120
ctcctcggat tccattgccc agctatctgt cacttcatcg aaaggacagt agaaaaggaa	180
gatggcttct acaaatgcc tcatcgcat aaaggaaagg ctatcgttca agatgcctct	240
accgacagtg gtcccaaaga tggaccccca ccacgagga acatcgtgga aaaagaagac	300

gttccaacca cgctttcaaa gcaagtggat tgatgtgata tctagatccc caacatgggtg	360
gagcacgaca ctctcgtcta ctccaagaat atcaaagata cagtctcaga agaccagagg	420
gctattgaga cttttcaaca aagggttaata tcgggaaacc tctcggatt ccattgccca	480
gctatctgtc acttcatcga aaggacagta gaaaaggaag atggcttcta caaatgccat	540
cattgcgata aaggaaaggc tatcgttcaa gatgcctcta ccgacagtgg tcccaaagat	600
ggacccccac ccacgaggaa catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac gtcttcaaag	660
caagtggatt gatgtgatat ctagatcccc aacatgggtgg agcacgacac tctcgtctac	720
tccaagaata tcaaagatac agtctcagaa gaccagaggg ctattgagac ttttcaacaa	780
agggtaatat cgggaaacct cctcggattc cattgccccag ctatctgtca ctcatcgaa	840
aggacagtag aaaaggaaga tggcttctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggct	900
atcgttcaag atgcctctac cgacagtggc cccaagatg gacccccacc cacgaggaac	960
atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc aagtggttg atgtgatatc	1020
tagatcccca acatggtgga gcacgacact ctctctact ccaagaatat caaagataca	1080
gtctcagaag accagagggc tattgagact tttcaacaaa gggtaatatc gggaaacctc	1140
ctcggattcc attgcccgac tatctgtcac ttcatcgaaa ggacagtaga aaaggaagat	1200
ggcttctaca aatgccatca ttgcgataaa ggaaaggcta tcgttcaaga tgcctctacc	1260
gacagtggtc ccaaagatgg acccccaccc acgaggaaca tcgtggaaaa agaagacgtt	1320
ccaaccacgt cttcaaagca agtggttgga tgtgatatct agatccgaaa ctatcagtgt	1380
ctagctagag tcgagaattc	1400