

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0161666

(43) 공개일자 2022년12월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01H 1/00 (2006.01) A01H 1/06 (2006.01)

A01H 5/10 (2018.01) A01H 6/82 (2018.01)

C07K 14/415 (2006.01) C12N 15/82 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01H 1/1245 (2021.01)

A01H 1/06 (2021.01)

(21) 출원번호 10-2021-0069670

(22) 출원일자 2021년05월31일

심사청구일자 2021년05월31일

(71) 출원인

경상국립대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

염선인

경상남도 진주시 새평거로 25, 109동 1104호(평거동, 더 퀸즈웰가)

강원희

경상남도 진주시 진주대로 501(가좌동)

(74) 대리인

최규환

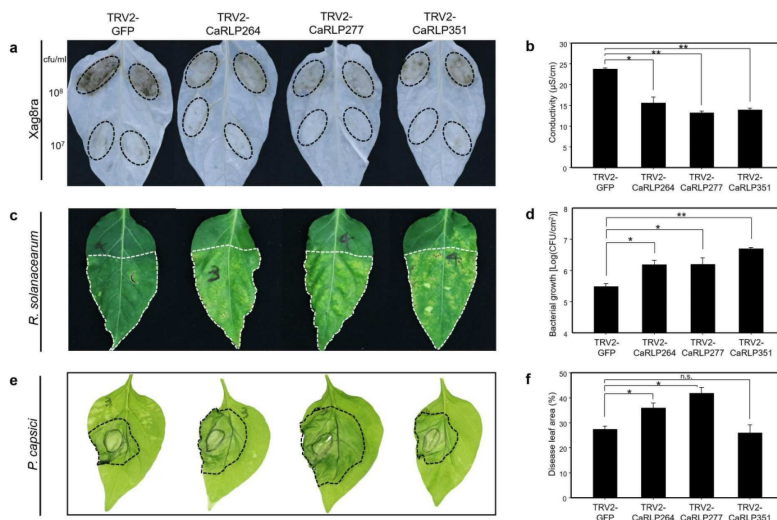
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 고추 유래의 RLP 유전자 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 고추 유래의 RLP 유전자 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명은 *CaRLP264*, *CaRLP277* 또는 *CaRLP351* 유전자의 발현을 조절하여 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절할 수 있으므로, 다양한 식물병에 내성을 갖는 새로운 형질전환 식물체를 개발하는데 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A01H 5/10 (2022.05)

A01H 6/822 (2022.05)

C07K 14/415 (2013.01)

C12N 15/8279 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711107799
과제번호	2019R1C1C1007472
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	이종생명체 동시 전사체 분석 최적화를 통한 고추-꽃마름병 상호작용 통합 전사체
분석 및 핵심 인자 동정	
기 여 율	4/10
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711111815
과제번호	2017R1E1A1A01072843
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	환경스트레스 반응 고추 전사체 통합 커넥션 분석을 통한 핵심 인자 발굴 및 규명
기 여 율	4/10
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345332138
과제번호	2015R1A6A1A03031413
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축(R&D)
연구과제명	농업생명과학연구원
기 여 율	2/10
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP(*Capsicum annuum* Receptor-like proteins) 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 식물병은 담배모자이크병, 불마름병, 풋마름병 및 고추 역병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 CaRLP 유전자의 발현을 저해시켜 담배모자이크병 또는 불마름병에 대한 저항성을 증가시키거나, 풋마름병 또는 고추 역병에 대한 감수성을 증가시키는 것을 특징으로 하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법.

청구항 4

서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계; 및

상기 형질전환된 식물세포로부터 식물을 재분화하는 단계를 포함하는 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 식물병은 담배모자이크병, 불마름병, 풋마름병 및 고추 역병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 고추 유래 RLP 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 식물세포에서 저해시켜 야생형 식물체에 비해 담배모자이크병 또는 불마름병에 대한 저항성이 증가되거나, 풋마름병 또는 고추 역병에 대한 감수성이 증가되는 것을 특징으로 하는 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법.

청구항 7

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체.

청구항 8

제7항에 따른 식물체의 형질전환된 종자.

청구항 9

서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자를 유효성분으로 함유하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성 조절용 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 고추 유래의 *RLP* 유전자 및 이의 용도에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 *CaRLP264*, *CaRLP277* 또는 *CaRLP351* 유전자의 발현 조절을 통한 식물체의 병 저항성 조절에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 식물은 병원균의 침입으로부터 자신을 보호하기 위해서 세포 안과 밖에 면역 신호 체계를 가지고 있다. 식물 면역의 첫 번째 단계는 PTI(pattern-triggered immunity)로, 식물세포 표면에 위치하고 있는 PRR(pattern recognition receptor)이 병원균의 PAMPs/MAMPs(pathogen-/microbe-associated molecular patterns)를 인지하여 활성화된다. PRR은 기생식물, 곰팡이, 박테리아와 같은 다양한 병원균을 인지하는 역할을 하고, 이는 식물 전체에 연결된 복잡한 면역 신호 체계와 관련이 있으며, 최근에는 감자, 담배 및 토마토의 PRR이 다중 병 저항성을 갖는 사례가 발표된 바 있다.

[0003] 식물의 PRR은 세포 내 키나아제 도메인의 유무에 따라서, RLP(receptor-like protein) 및 RLK(receptor-like kinase)로 나눌 수 있다. RLK는 세포 밖 도메인, 단일 세포막 도메인, 세포 내 키나아제 도메인을 가지고 있으며, RLP는 세포 내 키나아제 도메인 대신 짧은 세포 내 말단을 가지고 있다. RLP의 기능 중 하나는 식물의 면역 반응과 관련이 있다는 것이다. 최초로 보고된 *RLP* 유전자는 토마토의 *Cf* 유전자로, 곰팡이 *Cladosporium fulvum*에 대한 저항성 유전자이다. 그 이후로, 식물의 면역반응에 관련된 여러 *RLP* 유전자들이 보고되었는데, 이는 주로 가지과(*Solanaceous*) 작물과 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)에서 동정된 유전자들이다. 또한, RLP의 또 다른 기능으로는 식물의 발달에 관련된 것으로 보고되고 있다. 식물의 게놈 프로젝트로 많은 수의 *RLP* 유전자들이 동정되었지만, 그 기능이 밝혀진 *RLP* 유전자는 매우 적은 수에 불과하다.

[0004] 최근, 시퀀싱 기술의 발달로 그 비용이 줄어들면서 RNA 서열을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이에 따라 많은 데이터들이 생산되고 있다. 그러나, 이렇게 대량으로 생산된 데이터에서 내가 원하는 정보만을 선별하기에는 아직까지 어려움이 남아있다. 기능적으로 서로 연관된 유전자들은 전사 동시 조절(transcription co-regulation)이라는 특징을 보이기 때문에, GCN(gene co-expression networks)을 이용하여 새로운 유전자를 찾는 연구가 주목받고 있다. GCN 분석을 이용하면 대량의 유전자 발현 데이터에서 원하는 생물학적 과정에 관련된 모듈을 확보하고, 관련 유전자의 기능을 예측할 수 있다. 최근에는 식물에서 GCN을 활용하여 스트레스 관련된 유전자를 동정하는 연구가 보고되고 있다. 또한, 통합적인 데이터 분석을 통하여 품종, 처리 조건, 시간 변화 등과 같은 다양하고 복합적인 조건에 따른 GCN 분석도 보고되고 있다. 이러한 GCN 분석은 최종적으로는 생물학적 과정에서의 주요 역할을 하는 허브(hub) 유전자를 동정하는데 사용되지만, 복잡하고 제한된 자원으로 인해 현재까지는 특정 모델 식물에서만 대부분의 GCN 연구가 이루어지고 있다.

[0005] 한편, 고추(*Capsicum annuum*)는 가지과에 속하는 작물로 세계 주요 채소 작물 중 하나이다. 그러나, 곰팡이, 박테리아, 바이러스, 곤충 등과 같은 병원균에 의한 피해로 고추 생산량은 감소 추세에 있다. 병 저항성 품종의 개발은 고추에서 병을 관리할 수 있는 효율적인 방법 중의 하나이다. 최근, 고추의 게놈과 다양한 전사체에 대한 연구들이 보고되었지만, 면역작용에 대한 분자적 메커니즘은 아직까지도 완전히 밝혀지지 않았다. 따라서, 고추의 병 저항성에 관련된 유전자를 동정하고 그에 대한 특성을 분석하는 연구가 필요한 실정이다.

[0006] 한편, 한국등록특허 제1825596호에는 '식물체의 생장, 발달 및 병 저항성을 조절하는 고추 유래의 *CaLOP* 유전자 및 이의 용도'가 개시되어 있고, 한국등록특허 제1191612호에는 '고추 병 저항성 관련 자일로글루칸 분해효소 억제 단백질 유전자 *CaXEGIP1* 및 이를 이용한 형질전환 식물체'가 개시되어 있으나, 본 발명의 '식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 고추 유래의 *RLP* 유전자 및 이의 용도'에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 고추 게놈에서 438개의 *CaRLP* 유전자를 동정하였고, 각기 다른 4개의 병원균을 처리한 102개의 고추 RNA 서열 데이터를 바탕으로 *CaRLP* 유전자의 발현 양상을 분석하였으며, *CaRLP* 유전자 표적 GCN 분석을 통해 3개의 *CaRLP*(*CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351*) 유전자를 선발하였다. 이후, *CaRLP264*, *CaRLP277* 또는 *CaRLP351* 유전자의 발현을 각각 저해한 식물체에서, 담배모자이크병 또는 불마름병에 대한 저항성이 증가되고 풋마름병 또는 고추 역병에 대한 감수성이 증가되었음을 확인함

으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0008] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP(*Capsicum annuum* Receptor-like proteins) 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법을 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계; 및 상기 형질전환된 식물세포로부터 식물을 재분화하는 단계를 포함하는 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법을 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체 및 이의 형질전환된 종자를 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자를 유효성분으로 함유하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성 조절용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명의 *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자는 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절할 수 있으므로, 다양한 식물병에 대한 다중 저항성을 갖는 식물체 개발에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1a는 438개 *CaRLP* 유전자의 12개 염색체 상에서의 위치를 나타낸 모식도이고, 도 1b는 *CaRLP* 유전자를 계통도 및 서열 유사도 분석을 통해 11개 그룹으로 분류한 결과이다.
- 도 2는 병원균을 접종한 식물체와 아무것도 처리하지 않은 대조군(MOCK)의 *CaRLP*-DEG(differentially expressed gene)를 나타낸 히트 맵(heat map)으로, a는 TMV-P0(*Tobacco mosaic virus* pathotype P0), TMV-P2(*Tobacco mosaic virus* pathotype P2) 및 PepMoV(*Pepper mottle virus*)를 접종한 식물체의 *CaRLP*-DEG를 나타낸 것이고, b는 파이토프썬라 캡사이시(*Phytophthora capsici*)를 접종한 식물체의 *CaRLP*-DEG를 나타낸 것이다.
- 도 3은 8개 *CaRLP* 유전자의 침묵을 유도한 식물체에 TMV-P0를 접종하여 담배모자이크병에 대한 저항성을 분석한 결과로, a는 에탄올로 엽록소를 제거한 후 잎을 관찰한 것이고, b는 잎에 나타난 얼룩반점의 개수를 측정하여 HR(hypersensitive response) 수를 분석한 것이다. *, **은 대조군(TRV2-GFP)에 비해 실험군의 HR 수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것을 의미하며, *은 $p<0.05$, **은 $p<0.01$ 이다.
- 도 4는 *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 각각 유도한 식물체의 식물병에 대한 다중 저항성을 분석한 결과로, a 및 b는 Xag8ra(*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 8ra)를 접종하여 불마름병에 대한 저항성을 잎의 관찰 및 이온 누출 측정을 통해 분석한 것이고, c 및 d는 랄스토니아 솔라나세아룸(*Ralstonia solanacearum*)을 접종하여 풋마름병에 대한 저항성을 잎의 병징 및 균 수 측정을 통해 분석한 것이며, e 및 f는 파이토프썬라 캡사이시(*Phytophthora capsici*)를 접종하여 고추 역병에 대한 저항성을 잎의 병징 및 병징이 나타난 면적 측정을 통해 분석한 것이다. *, **은 대조군(TRV2-GFP)에 비해 실험군의 이온 누출, 균 수 및 병징이 나타난 면적이 통계적으로 유의미하게 감소 또는 증가하였다는 것을 의미하며, *은 $p<0.05$, **은 $p<0.01$ 이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP(*Capsicum annuum* Receptor-like proteins) 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 조절하는 단계를 포함하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법을 제공한다.
- [0015] 본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진 것은 *CaRLP264*이고, 서열번호 4의

아미노산 서열로 이루어진 것은 CaRLP277이며, 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 것은 CaRLP351이다.

- [0016] 본 발명에 따른 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 단백질의 범위는 고추로부터 분리된 서열번호 2, 서열번호 4 및 서열번호 6으로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 상기 단백질의 기능적 동등물을 포함한다. 본 발명에 있어서, 용어 "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 2, 서열번호 4 및 서열번호 6으로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 2, 서열번호 4 및 서열번호 6으로 표시되는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. "실질적으로 동질의 생리활성"이란 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 활성을 의미한다.
- [0017] 본 발명은 또한, 본 발명의 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하며, 상기 유전자의 범위는 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 단백질을 코딩하는 게놈 DNA, cDNA 및 합성 DNA를 모두 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 단백질을 코딩하는 유전자는 서열번호 1, 서열번호 3 및 서열번호 5로 표시되는 염기서열을 포함할 수 있다. 또한, 상기 염기서열의 상동체가 본 발명의 범위 내에 포함된다. 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 1, 서열번호 3 및 서열번호 5의 염기 서열과 각각 70% 이상, 더 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 염기서열을 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드에 대한 "서열 상동성의 %"는 두 개의 최적으로 배열된 서열을 비교함으로써 확인되며, 비교 영역에서의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 두 서열의 최적 배열에 대한 참고 서열(추가 또는 삭제제를 포함하지 않음)에 비해 추가 또는 삭제(즉, 갭)를 포함할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법에 있어서, 상기 식물병은 담배모자이크병, 불마름병, 풋마름병 및 고추 역병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 상기 담배모자이크병은 TMV(*Tobacco mosaic virus*)에 의해 유발된 것일 수 있고, 불마름병은 Xag8ra(*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 8ra)에 의해 유발된 것일 수 있고, 풋마름병은 랄스토니아 솔라나세아룸(*Ralstonia solanacearum*)에 의해 유발된 것일 수 있으며, 고추 역병은 파이토프썴라 캡사이시(*Phytophthora capsici*)에 의해 유발된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 본 발명의 일 구현 예에 따른 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 방법에 있어서, 바람직하게는 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 유전자의 발현을 저해시켜 담배모자이크병 또는 불마름병에 대한 저항성을 증가시키거나 풋마름병 또는 고추 역병에 대한 감수성을 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 본 명세서에서, 용어 "재조합"은 세포가 이종의 핵산을 복제하거나, 상기 핵산을 발현하거나 또는 펩티드, 이종의 펩티드 또는 이종의 핵산에 의해 암호된 단백질을 발현하는 세포를 지칭하는 것이다. 재조합 세포는 상기 세포의 천연 형태에서는 발견되지 않는 유전자 또는 유전자 절편을, 센스 또는 안티센스 형태 중 하나로 발현할 수 있다. 또한 재조합 세포는 천연 상태의 세포에서 발견되는 유전자를 발현할 수 있으며, 그러나 상기 유전자는 변형된 것으로서 인위적인 수단에 의해 세포 내 재도입된 것이다.
- [0022] 본 명세서에서, 용어 "벡터"는 세포 내로 전달하는 DNA 단편(들), 핵산 분자를 지칭할 때 사용된다. 벡터는 DNA를 복제시키고, 숙주세포에서 독립적으로 재생산될 수 있다. 용어 "전달체"는 흔히 "벡터"와 호환하여 사용된다.
- [0023] 본 발명의 벡터는 전형적으로 발현 또는 클로닝을 위한 벡터로서 구축될 수 있다. 또한, 본 발명의 벡터는 원핵 세포 또는 진핵 세포를 숙주로 하여 구축될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 벡터가 발현 벡터이고, 원핵 세포를 숙주로 하는 경우에는, 전사를 진행시킬 수 있는 강력한 프로모터(예를 들면, pL λ 프로모터, trp 프로모터, lac 프로모터, T7 프로모터, tac 프로모터 등), 해독의 개시를 위한 리보솜 결합 자리 및 전사/해독 종결 서열을 포함하는 것이 일반적이다. 숙주 세포로서 대장균(*Escherichia coli*)이 이용되는 경우, *E. coli* 트립�판 생합성 경로의 프로모터 및 오퍼레이터 부위, 그리고 파아지 λ 의 좌향 프로모터(pL λ 프로모터)가 조절 부위로서 이용될 수 있다.
- [0024] 본 발명의 재조합 벡터에서, 상기 프로모터는 형질전환에 적합한 프로모터들로서, 바람직하게는 CaMV 35S 프로모터, 액틴 프로모터, 유비퀴틴 프로모터, pEMU 프로모터, MAS 프로모터 또는 히스톤 프로모터일 수 있으며, 바람직하게는 CaMV 35S 프로모터일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 본 명세서에서, 용어 "프로모터"란 용어는 구조 유전자로부터의 DNA 업스트림의 영역을 의미하며 전사를 개시하기 위하여 RNA 폴리머라아제가 결합하는 DNA 분자를 말한다. "식물 프로모터"는 식물세포에서 전사를 개시할 수

있는 프로모터이다. "항시성(constitutive) 프로모터"는 대부분의 환경 조건 및 발달 상태 또는 세포 분화하에서 활성이 있는 프로모터이다. 형질전환체의 선택이 각종 단계에서 각종 조직에 의해서 이루어질 수 있기 때문에 항시성 프로모터가 본 발명에서 바람직할 수 있다. 따라서, 항시성 프로모터는 선택 가능성을 제한하지 않는다.

[0026] 본 발명의 재조합 벡터는 당업자에 주지된 방법에 의해 구축될 수 있다. 상기 방법은 시험관 내 재조합 DNA 기술, DNA 합성 기술 및 생체 내 재조합 기술 등을 포함한다. 상기 DNA 서열은 mRNA 합성을 이끌기 위해 발현 벡터 내의 적당한 프로모터에 효과적으로 연결될 수 있다. 또한 벡터는 번역 개시 부위로서 리보솜 결합 부위 및 전사 터미네이터를 포함할 수 있다.

[0027] 본 발명의 재조합 벡터의 바람직한 예는 아그로박테리움 튜머파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)와 같은 적당한 숙주에 존재할 때 그 자체의 일부, 소위 T-영역을 식물세포로 전이시킬 수 있는 Ti-플라스미드 벡터이다. 다른 유형의 Ti-플라스미드 벡터(EP 0 116 718 B1호 참조)는 현재 식물세포, 또는 잡종 DNA를 식물의 계놈 내에 적당하게 삽입시키는 새로운 식물이 생산될 수 있는 원형질체로 잡종 DNA 서열을 전이시키는데 이용되고 있다. Ti-플라스미드 벡터의 특히 바람직한 형태는 EP 0 120 516 B1호 및 미국 특허 제4,940,838호에 청구된 바와 같은 소위 바이너리(binary) 벡터이다. 본 발명에 따른 DNA를 식물 숙주에 도입시키는데 이용될 수 있는 다른 적합한 벡터는 이중 가닥 식물 바이러스(예를 들면, CaMV) 및 단일 가닥 바이러스, 게미니 바이러스 등으로부터 유래될 수 있는 것과 같은 바이러스 벡터, 예를 들면 비완전성 식물 바이러스 벡터로부터 선택될 수 있다. 그러한 벡터의 사용은 특히 식물 숙주를 적당하게 형질전환하는 것이 어려울 때 유리할 수 있다.

[0028] 재조합 발현 벡터는 바람직하게는 하나 이상의 선택성 마커를 포함할 수 있다. 상기 마커는 통상적으로 화학적인 방법으로 선택될 수 있는 특성을 갖는 핵산 서열로, 형질전환된 세포를 비형질전환 세포로부터 구별할 수 있는 모든 유전자가 이에 해당된다. 상기 마커 유전자는 항생제 내성 유전자(antibiotics resistance gene)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 본 발명의 재조합 벡터에서, 통상의 터미네이터를 사용할 수 있으며, 그 예로는 노팔린 신타아제(NOS), 베타-아밀라아제 RAmY1 A 터미네이터, 파세올린(phaseoline) 터미네이터, 아그로박테리움 튜머파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)의 옥토판인(Octopine) 유전자의 터미네이터 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 터미네이터의 필요성에 관하여, 그러한 영역이 식물세포에서의 전사의 확실성 및 효율을 증가시키는 것으로 일반적으로 알려져 있다. 그러므로 터미네이터의 사용은 본 발명의 내용에서 매우 바람직하다.

[0030] 본 발명의 벡터를 안정되면서 연속적으로 클로닝 및 발현시킬 수 있는 숙주세포는 당업계에 공지된 어떠한 숙주 세포도 이용할 수 있으며, 원핵세포의 예로는, *E. coli* JM109, *E. coli* BL21, *E. coli* RR1, *E. coli* LE392, *E. coli* B, *E. coli* X 1776, *E. coli* W3110, 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 바실러스 쉐린겐시스(*Bacillus thuringiensis*)와 같은 바실러스 속 균주, 그리고 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 세라티아 마르세센스(*Serratia marcescens*) 및 다양한 슈도모나스 종과 같은 장내균과 균주 등이 있다.

[0031] 본 발명의 벡터를 진핵 세포에 형질전환시키는 경우에는 숙주세포로서, 효모(*Saccharomyce cerevisiae*), 곤충세포, 사람세포(예컨대, CHO 세포주 (Chinese hamster ovary), W138, BHK, COS-7, 293, HepG2, 3T3, RIN 및 MDCK 세포주) 및 식물세포 등이 이용될 수 있다. 숙주세포는 바람직하게는 식물세포이다.

[0032] 본 발명의 벡터를 숙주세포 내로 운반하는 방법은, 숙주 세포가 원핵 세포인 경우, CaCl₂ 방법, 한나한 방법(Hanahan, D., 1983 J. Mol. Biol. 166, 557-580) 및 전기천공 방법 등에 의해 실시될 수 있다. 또한, 숙주세포가 진핵세포인 경우에는, 미세주입법, 칼슘포스페이트 침전법, 전기천공법, 리포솜-매개 형질감염법, DEAE-덱스트란 처리법, 및 유전자 밤바드먼트 등에 의해 벡터를 숙주세포 내로 주입할 수 있다.

[0033] 본 발명은 또한, 서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환하는 단계; 및 상기 형질전환된 식물세포로부터 식물을 재분화하는 단계를 포함하는 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법을 제공한다.

[0034] 본 발명의 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법에 있어서, 상기 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 단백질의 범위 및 식물병은 전술한 것과 같다.

[0035] 식물의 형질전환은 DNA를 식물에 전이시키는 임의의 방법을 의미한다. 그러한 형질전환 방법은 반드시 재생 및 (또는) 조직 배양기간을 가질 필요는 없다. 식물 종의 형질전환은 이제는 쌍자엽 식물뿐만 아니라 단자엽 식물

양자를 포함한 식물 중에 대해 일반적이다. 원칙적으로, 임의의 형질전환 방법은 본 발명에 따른 잡종 DNA를 적당한 선조 세포로 도입시키는데 이용될 수 있다. 방법은 원형질체에 대한 칼슘/폴리에틸렌 글리콜 방법(Krens, F.A. et al., 1982, Nature 296, 72-74; Negrutiu I. et al., June 1987, Plant Mol. Biol. 8, 363-373), 원형질체의 전기천공법(Shillito R.D. et al., 1985 Bio/Technol. 3, 1099-1102), 식물 요소로의 현미주사법(Crossway A. et al., 1986, Mol. Gen. Genet. 202, 179-185), 각종 식물 요소의 (DNA 또는 RNA-코딩된) 입자 충격법(Klein T.M. et al., 1987, Nature 327, 70), 식물의 침윤 또는 성숙 화분 또는 소포자의 형질전환에 의한 아그로박테리움 튜머파시엔스 매개된 유전자 전이에서 (비완전성) 바이러스에 의한 감염(EP 0 301 316호) 등으로부터 적당하게 선택될 수 있다. 본 발명에 따른 바람직한 방법은 아그로박테리움 매개된 DNA 전달을 포함한다. 특히 바람직한 것은 EP A 120 516호 및 미국 특허 제4,940,838호에 기재된 바와 같은 소위 이원 벡터 기술을 이용하는 것이다.

[0036] 또한, 상기 형질전환된 식물세포로부터 형질전환 식물을 재분화하는 방법은 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용할 수 있다.

[0037] 본 발명의 일 구현 예에 따른 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체의 제조 방법에 있어서, 바람직하게는 고추 유래 RLP 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 식물세포에서 저해시켜 야생형 식물체에 비해 담배모자이크병 또는 불마름병에 대한 저항성을 증가시키거나, 풋마름병 또는 고추 역병에 대한 감수성을 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0038] 본 발명은 또한, 상기 방법에 의해 제조된 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 형질전환 식물체 및 이의 형질전환된 종자를 제공한다.

[0039] 상기 식물체는 벼, 보리, 밀, 호밀, 옥수수, 사탕수수, 귀리, 양파 등의 단자엽 식물 또는 애기장대, 감자, 가지, 담배, 고추, 토마토, 우엉, 쑥갓, 상추, 도라지, 시금치, 근대, 고구마, 당근, 미나리, 배추, 양배추, 갯무, 수박, 참외, 오이, 호박, 박, 딸기, 대두, 녹두, 강낭콩, 완두 등의 쌍자엽일 수 있고, 바람직하게는 쌍자엽 식물일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 고추일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0040] 본 발명은 또한, 서열번호 2, 서열번호 4 또는 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진 고추 유래의 CaRLP 단백질을 코딩하는 유전자를 유효성분으로 함유하는 식물병에 대한 식물체의 저항성 또는 감수성 조절용 조성물을 제공한다.

[0041] 본 발명의 조성물은 유효성분으로 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 조절할 수 있는 고추 유래 CaRLP264, CaRLP277 및 CaRLP351 단백질을 코딩 유전자를 포함하며, 상기 유전자의 발현이 저해되면, 식물병에 대한 저항성 또는 감수성을 증가시킬 수 있다.

[0042] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0043] 재료 및 방법

[0044] 1. *CaRLP* 유전자의 동정

[0045] 기능과 특성이 보고된 13개의 RLP 유전자 서열(표 1)을 바탕으로 HMMER software package(version 3.0; <http://hmmer.org/>)로 HMM(hidden Markov model) 도메인을 만들고, tBLASTn을 수행하여, *Capsicum annum* CM334 v. 1.55 genome에서 *RLP* 유전자로 추정되는 후보들을 선별하였다. 그 중 7,376개의 유전자를 확보한 후, Manual curation으로 784개의 중복 유전자를 제거하였고, Pfam과 SMART 프로그램으로 *CaRLP* 유전자의 구조를 확인하여 키나아제 또는 NB-ARC 도메인을 가지는 유전자도 제거하였다. 이러한 과정을 통해 최종적으로 CM334 게놈에서 438개의 고추 유래 *RLP*(*CaRLP*) 유전자를 확보하여 이후 실험을 수행하였다.

표 1

기존 보고된 13 개 RLP 유전자의 정보

Name	Species	Function	References
<i>Cf-2</i>	Tomato	<i>Cladosporium fulvum</i> resistance	(Dixon et al., 1996)
<i>Cf-4</i>	Tomato	<i>Cladosporium fulvum</i> resistance	(Thomas et al., 1997)
<i>Cf-5</i>	Tomato	<i>Cladosporium fulvum</i> resistance	(Dixon et al., 1998)
<i>Cf-9</i>	Tomato	<i>Cladosporium fulvum</i> resistance	(Jones et al., 1994)
<i>Cf-4A</i>	Tomato	<i>Cladosporium fulvum</i> resistance	(Takken et al., 1998)
<i>Ve1</i>	Tomato	<i>Verticillium</i> resistance	(Kawchuk et al., 2001)
<i>Ve2</i>	Tomato	Interaction with SOBIR1	(Kawchuk et al., 2001)
<i>LeEIX2</i>	Tomato	Xylanase elicitor perception of <i>Trichoderma viride</i>	(Ron and Avni, 2004)
<i>ReMAX</i>	Arabidopsis	Recognition of eMAX from Xanthomonads	(Jehle et al., 2013)
<i>RFO2</i>	Arabidopsis	<i>Fusarium oxysporum</i> resistance	(Shen and Diener, 2013)
<i>HcrVf2</i>	Apple	<i>Venturia inaequalis</i> resistance	(Vinatzer et al., 2001)
<i>TMM</i>	Arabidopsis	Stomatal ditribution	(Yang and Sack, 1995)
<i>CLV2</i>	Arabidopsis	Meristem development	(Taguchi-Shiobara et al., 2001)

[0046]

[0047]

2. *CaRLP* 유전자의 계통 분석과 분류

[0048]

계통분석(phylogenetic analysis)과 서열유사도 클러스터링(sequence similarity-based clustering) 결과를 바탕으로 *CaRLP* 유전자를 분류하였다. 클러스터링 분석은 애기장대, 토마토, 고추 및 선행연구에서 보고된 *RLP* 유전자의 전장 아미노산 서열을 이용하여 OrthoMCL 프로그램으로 Li 등(2003, Genome Res. 13:2178-2189)에 기술된 방법에 따라 수행하였다. 동일한 클러스터 내의 *RLP* 유전자는 계통 발생 결과에서 할당된 서브그룹과 동일한 서브그룹으로 분류하였다. 클러스터링 되지않고 어느 그룹에도 속하지 않는 개체(singleton)로 할당된 *RLP* 유전자는 BLASTP 분석을 하여 그룹이 아닌 단독 유전자로 분류하였다.

[0049]

HMM 프로파일의 보존된 도메인은 *RLP* 유전자의 C3-D 도메인의 아미노산 서열을 바탕으로 만들었다. 56개의 애기장대 유래 *AtRLP* 유전자, 176개의 토마토 유래 *SIRLP* 유전자, 438개의 고추 유래 *CaRLP* 유전자 및 기능이 보고된 13개의 기존 *RLP* 유전자를 이용하여 계통도 분석을 수행하였다. *RLP* 유전자의 C3-D 도메인 전체 서열 중 80% 이상을 가지고 있는 *RLP* 유전자만을 계통도 분석에 사용하였다. MUSCLE(<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>) 프로그램으로 C3-D 도메인의 다중 서열 정렬 분석(multiple sequence alignment)을 수행하였고, 이 결과를 바탕으로 PhyML(<http://www.phylogeny.fr/>) 프로그램으로 계통도 분석을 수행하였다. 계통도 결과는 MEGA8(<http://www.megasoftware.net/>) 프로그램을 사용하여 나타내었다.

[0050]

3. *CaRLP* 유전자의 염색체상의 위치 분석, 물리적 위치 기반 클러스터링 및 모티프 분석

[0051]

CM334 게놈의 정보를 바탕으로 MapChart 프로그램(Voorrips 등(2002, J Hered. 93:77-78))을 이용하여 *CaRLP* 유전자를 CM334의 12개 염색체상에서의 위치를 표현하였다. 물리적 위치 기반 클러스터링(physical clustering)은 다음과 같은 2가지 조건을 바탕으로 분석을 수행하였다; 1) 유전자 사이의 거리가 200 kb 이내인 것, 2) 하나의 클러스터안에서 2개의 *CaRLP* 유전자 사이에 *RLP* 유전자가 아닌 유전자의 개수가 8개 미만인 것. 이와 같

은 조건을 만족할 때 물리적 위치 기반 클러스터라 하였다.

[0052] 모티프 분석은 MEME suite(<http://meme-suite.org/tools/meme>) 프로그램을 이용하여, 최대 모티프 개수=20, 모티프 최소 길이=15, 모티프 최대 길이=200의 조건으로 분석하였고, 추가적으로 MAST(<http://meme-suite.org/tools/mast>) 프로그램으로도 모티프 분석을 수행하였다.

[0053] 4. RNA 서열 라이브러리 제작

[0054] 4~5 주령의 고추(CM334 품종) 잎에 *Phytophthora capsici*(5×10^4 zoospores/ml)를 접종하였고, 접종 0, 1, 2, 4, 6, 12 및 24 시간 후(hpi)에 각 실험구의 잎을 샘플링하였다. TRIzol 시약(Invitrogen, USA)을 사용하여 RNA를 추출하였고, Kang 등(2016, Sci Rep 6, 33332)에 기술된 방법에 따라 RNA 서열 라이브러리를 제작하였다. 총 39개의 RNA 서열 라이브러리(*P. capsici*를 접종한 샘플 21개 라이브러리 및 대조군 샘플의 18개 라이브러리)를 만들었고, Illumina HiSeq 2000(Illumina Inc., USA)으로 시퀀싱을 수행하였다.

[0055] 5. RNA 서열 데이터 분석

[0056] *P. capsici*를 접종한 고추 샘플의 RNA 서열에서 저품질(low-quality)의 리드(reads) 및 오염을 제거한 후, QC(quality control)를 수행하였다. 어댑터(adapter)와 저품질 서열은 Cutadapt와 Trimmomatic 프로그램을 사용하여 제거하였다. TMV-P0(Tobacco mosaic virus pathotype P0), TMV-P2(Tobacco mosaic virus pathotype P2) 및 PepMoV(Pepper mottle virus)를 접종한 고추의 전사체 데이터는 기존에 보고된 연구(Kim 등(2018, Sci Data. 5:180103) 및 Kang 등(2016, Sci Rep. 6:33332))를 통해서 확보하였고, 이 모든 데이터를 활용하여 *CaRLP* 유전자의 발현 분석을 수행하였다.

[0057] 6. *CaRLP* 유전자의 발현 분석

[0058] 생물학적 스트레스 처리에 따른 *CaRLP* 유전자의 발현 패턴을 분석하기 위해서 TMV-P0, TMV-P2, PepMoV 및 *P. capsici*를 접종한 고추의 RNA 서열을 분석하였다. 모든 RNA 서열 데이터의 리드는 Hisat2 프로그램을 이용하여 CM334 게놈에 맵핑하였다. 바이러스를 접종한 식물체의 RNA 서열과 *P. capsici*를 접종한 식물체의 RNA 서열은 RPKM(reads per kilobase per million mapped reads)과 FPKM(fragments per kilobase per million mapped fragments)으로 각각 그 값을 보정하였다. 각 RNA 서열에 대한 DEG(differentially expressed gene)는 DESeq2(FDR<0.05)를 이용하여 확보하였고, DEG의 발현 패턴은 ComplexHeatmap 프로그램으로 분석하였다.

[0059] 7. GCN 구축, GO 및 KEGG 분석

[0060] 102개의 RNA 서열을 mDNA package의 exp2net 프로그램을 사용하여 GCN(gene co-expression network)을 구축하였다. 이후, *CaRLP* 유전자와 같이 발현되는 유전자를 가진 모듈을 correlation coefficient($|r| > 0.8$)을 기준으로 필터링하였고, Cytoscape v3.4.0 프로그램으로 도식화하였다. 각각 다른 스트레스의 반응에 따른 네트워크를 확인해보고자, Cytoscape의 merge 툴을 이용하여 다양한 조건으로 통합 GCN을 구축하였다. GO(gene ontology)와 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)는 BLAST2GO를 기반으로 하여 G0seq 프로그램으로 분석을 수행하였다.

[0061] 8. Virus induced gene silencing(VIGS) 실험 수행

[0062] *CaRLP* 유전자의 침묵을 유도한 후, 병원균에 대한 반응을 분석하기 위해, 고추 품종 녹광(Nockwang) 또는 MC4를 실험에 사용하였다. 고추의 떡잎이 완전히 성장하였을 때, VIGS 실험을 수행하였다. 8개의 *CaRLP* 유전자(*CaRLP35*, *CaRLP71*, *CaRLP181*, *CaRLP211*, *CaRLP264*, *CaRLP277*, *CaRLP286/287* 및 *CaRLP351*)의 3' 또는 5' UTR(untranslated region)영역(서열번호 7~14)을 포함하여 pTRV2 벡터에 클로닝하였다. 클로닝한 각각의 pTRV2-*CaRLP*는 아그로박테리움 튜메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens* GV3101)에 형질전환한 후, 이를 이용하여 VIGS 실험을 수행하였다. pTRV1과 함께 접종한 pTRV2-GFP와 pTRV2-PDS는 대조군으로 사용하였다. *CaRLP* 유전자의 침묵을 유도한 각 식물에서 잎을 샘플링하여, RNA를 추출하고 침묵 유무를 검증하였다.

[0063] 9. 병원균 접종

[0064] 모든 병원균 접종 실험은 VIGS 실험 후 약 4~5주령의 식물체의 3번째와 4번째의 본엽에 수행하였다. TMV-P0에 감염된 담배(*Nicotiana benthamiana*) 잎 1 g을 이용하여 TMV-P0 접종을 수행하였고 3일 후, 에탄올로 엽록소를 제거하고 잎을 관찰하고 HR(hypersensitive response) 수를 측정하였다. *Ralstonia solanacearum*(SL1931 strain)을 TZC(tripheny tetrazolium chloride) 배지에서 2일간 배양 후 다시 CPG(casamino acid peptone glucose) 배지에 1일간 배양하여 10^5 cfu/ml의 농도로 고추 잎에 침윤(infiltration)을 유도하여 접종을 수행하

였고 5일 후, 잎의 병징을 관찰하고 균 수를 측정하였다. Xag8ra(*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 8ra)와 *P. capsici*의 준비는 Yeom 등(2011, Mol Plant Microbe Interact. 24:671-684) 및 Yeom 등(2012, Plant J. 69:755-768)에 기술된 방법에 따라 수행하였다. Xag8ra는 10 mM MgCl₂의 용액에 10⁷ 및 10⁸ cfu/ml의 농도로 접종하였고 2일 후, 잎을 관찰하고 이온 누출을 측정하였다. *P. capsici*는 1×10⁵ zoospores/ml의 농도로 접종하였고 3일 후, 잎의 병징을 관찰하고 병징이 나타난 면적을 측정하였다. 모든 병원균 접종 실험은 각 실험당 8~12개의 식물체를 사용하여 3번 이상의 독립적인 실험을 수행하였다.

10. 이온 누출(Ion leakage) 측정

Xag8ra를 접종한 잎의 이온 누출 정도를 Yeom 등(2011, Mol Plant Microbe Interact. 24:671-684)에 기술된 방법에 따라 측정하였다. *CaRLP* 유전자 침묵 식물체 4~6개로부터 지름 1 cm 크기의 잎 디스크 16개를 확보하여, 15 ml의 멸균수에 담근 채 2시간 동안 실온에 두었다. 이후, 전해질 누출(electrolyte leakage)을 conductivity meter(Eutech con 510; Thermo scientific, USA)를 사용하여 그 값을 측정하였다.

11. 균수 측정

*R. solanacearum*을 접종한 식물체에서의 세균 수를 측정하였다. *CaRLP* 유전자 침묵 식물체 3~4개로부터 지름 1 cm 크기의 잎 디스크 6개를 확보하여 멸균수가 첨가된 1.5 ml 튜브에 넣고 갈았다. 이후, 이를 농도별로 단계 희석하여 CPG 배지에서 2일간 배양한 후, 배지에 자란 *R. solanacearum*의 수를 측정하였다.

실시예 1. 고추 게놈에서의 *RLP* 유전자 동정

고추(*Capsicum annuum*) 게놈에서 총 438개의 고추 유래의 *RLP*(*CaRLP*) 유전자를 동정하였다. 모든 *CaRLP* 유전자는 염색체상의 위치에 따라 순서대로 명명하였다(도 1a). 계통도 분석과 서열유사도 분석을 하여 438개 중 364개의 *CaRLP* 유전자를 11개의 그룹으로 분류하였고, 나머지 74개의 *CaRLP* 유전자는 어느 그룹에도 속하지 않는 개체(singleton)로 분류하였다(도 1b).

또한, 토마토 유래의 *SIRLP* 유전자, 애기장대 유래의 *AtRLP* 유전자와의 진화적인 관계를 보기 위하여, *RLP* 유전자의 C3-D 도메인의 아미노산 서열로 계통 분석을 수행하였다. 대부분의 *CaRLP* 유전자는 *SIRLP* 유전자와 함께 클러스터링되었고, 반면에 *AtRLP* 유전자는 *CaRLP* 유전자와 *SIRLP* 유전자와 클러스터링되지 않고, 애기장대 특이적인 계통 분기를 이루는 것을 확인하였다. 상기 결과를 통해서, *CaRLP* 유전자는 애기장대와 가지과 작물의 공통 조상으로부터 분화된 이후에 확장되었다는 것을 알 수 있었다.

실시예 2. 염색체상의 위치, 물리적 클러스터 및 모티프 분석

438개의 *CaRLP* 유전자 중에 350개의 유전자만이 고추의 12개 염색체에 위치하고, 나머지 88개는 염색체상에 위치가 확정되지 않은 scaffold에 위치하고 있는 것을 확인하였다. 대부분의 *CaRLP* 유전자는 계통분석상에서 같은 그룹에 속하는 경우, 유전자 사이의 물리적 거리도 염색체상에서 매우 가까이 위치하고 있었다. 이에, *CaRLP* 유전자의 물리적 클러스터를 조사하였다.

그 결과, 227개의 유전자가 54개의 물리적 클러스터를 이루는 것을 알 수 있었다. 각 물리적 클러스터의 크기는 0.7~885 kb 사이였고, 200 kb 이상의 크기를 차지하는 물리적 클러스터는 염색체 1, 4, 5, 8 및 12번에 있었고, 반면에 염색체 10 및 11번에는 *CaRLP* 유전자의 물리적 클러스터가 없었다. 앞선 계통분석을 통해 나뉜 그룹 1과 7에 속하는 대부분의 유전자도 물리적 클러스터를 이루고 있었다. 추가적으로 *CaRLP* 유전자의 그룹간 특성을 살펴보기 위해 모티프(motif) 예측 분석을 수행하였다. 기존에 보고된 *RLP* 유전자와 함께 438개의 *CaRLP* 유전자의 20개의 모티프를 예측하였다. 대부분의 모티프 서열은 LRR(leucine-rich repeat) 도메인을 암호화하는 서열들이었고, 이 중에서 9번 모티프는 막 단백질을 암호화하였다. 또한, 계통분석에서 같은 그룹으로 분류되었던 유전자는 모티프 분석에서도 서로 비슷한 모티프 구성을 가지는 것을 알 수 있었다. 상기 결과를 통하여, 같은 그룹에 속하는 *CaRLP* 유전자는 보존된 모티프, 단백질의 구성 및 염색체 상에서의 위치가 비슷한 것을 알 수 있었다(도 1).

실시예 3. 생물학적 스트레스에 대한 *CaRLP* 유전자의 발현 분석

병 저항성과 관련된 *CaRLP* 유전자의 기능을 알아보기 위해 병원균을 접종한 고추와 대조군의 RNA 서열 분석을 통해 *CaRLP* 유전자 발현 차이를 확인하고, 발현 차이를 보이는 유전자를 *CaRLP*-DEG라 명명하였다. *CaRLP*-DEG를 분석하기 위해서 3개의 바이러스, TMV-P0(*Tobacco mosaic virus* pathotype P0), TMV-P2(*Tobacco mosaic virus* pathotype P2) 및 PepMoV(*Pepper mottle virus*)를 접종한 63개 고추의 RNA 서열을 사용하였다. 추가적으로 본

연구에서 난균류의 접종 초기 단계와 고추와의 상호작용을 분석하기 위해 고추에 *P. capsici*를 접종하고, 이후 3번의 반복 실험으로 얻은 샘플과 대조군의 RNA 서열을 확보하였다. 최종적으로는 102개의 RNA 서열 정보를 확보하여 *CaRLP* 유전자의 발현을 분석하였다. RNA 서열의 식물 재료는 고추 품종 CM334를 사용하였으며, 이는 TMV-P0, PepMoV 및 *P. capsici*에는 저항성 반응을, TMV-P2에는 감수성 반응을 보이는 것으로 알려져 있다.

[0077] DEG를 분석한 결과, TMV-P0 및 PepMoV를 접종한 식물체에서의 *CaRLP*-DEG(fold-change ≥ 2)는 각각 35개 및 6개인 것을 확인하였다. 그러나, CM334가 감수성 반응을 보이는 TMV-P2의 DEG 분석에서는 위와 동일 조건에서 *CaRLP*-DEG를 찾을 수 없었다. 위의 결과를 가지고 히트맵(Heat map)을 작성하였고, 발현 패턴을 기반으로 한 *CaRLP*-DEG의 계층 클러스터(hierarchical clusters) 분석도 함께 수행하여 *CaRLP*-DEG가 4개의 클러스터로 나뉘는 것을 알 수 있었다(도 2a). *CaRLP*-DEG의 발현 패턴을 보면 TMV-P2 및 PepMoV를 접종했을 때의 발현보다 TMV-P0의 발현 패턴이 시간의 흐름에 따라서 더 역동적이었다. 계층 클러스터에서의 클러스터 1에서는 TMV-P0 및 PepMoV 접종 72 시간 후에 *CaRLP* 유전자의 발현이 감소하였고, 클러스터 2, 3 및 4에서는 주로 TMV-P0 접종한 샘플의 후속시간포인트(later time point)에서 발현이 증가하였다. 이 결과를 통해서, *CaRLP* 유전자가 바이러스의 침입에 대한 다양한 반응에 관여한다는 것을 알 수 있었다.

[0078] 바이러스 외에도 *P. capsici*를 감염시킨 샘플에서 DEG를 분석하여, 총 158개의 *CaRLP*-DEG(fold-change ≥ 2)를 확보하였다. 158개의 *CaRLP*-DEG도 계층 클러스터 분석을 통하여 *P. capsici*에 반응하는 *CaRLP*-DEG도 4개의 클러스터로 분류하였다(도 2b). 클러스터 1과 4의 유전자의 발현이 감소하였고, 클러스터 2의 유전자는 후속시간포인트에서 발현이 증가하였다. 클러스터 3에 해당하는 유전자는 접종 후 1시간에서 발현이 매우 높았으며 시간에 지남에 따라서 발현이 감소하였다. 바이러스와 *P. capsici*를 접종한 샘플에서 공통적으로 DEG로 선발된 유전자는 31개였으며, 이 유전자는 접종 후 그 시간이 지남에 따라서 발현이 증가하는 패턴을 보였다. 위와 같은 대량의 전사체를 이용한 발현 분석을 통하여, 바이러스와 *P. capsici*가 침입하였을 때, 식물에서의 일어나는 면역 반응에 *CaRLP* 유전자가 관여한다는 것을 알 수 있었다.

[0079] 실시예 4. *CaRLP* 유전자의 GCN 구축

[0080] 병원균 침입시에 *CaRLP* 유전자의 발현과 그에 따른 영향을 확인하기 위해서 102개의 RNA 서열 정보로 *CaRLP*-표적 GCN(gene co-expression network)을 구축하였다. 4개의 병원균(TMV-P0, TMV-P2, PepMoV 및 *P. capsici*)을 접종하여 제작한 RNA 서열로 4개의 GCN을 구축하였고, 4개의 GCN은 각각 TMV-P0-4,041 nodes와 11,825 edges/ TMV-P2-1,073 nodes, 1,194 edges/ PepMoV-3,732 nodes, 7,933 edges/ *P. capsici*-10,878 nodes, 84,255 edges로 구성되는 것을 확인하였다. 위의 4개의 GCN의 모듈을 이루고 있는 유전자에 대해서 GO 분석을 수행하였다. MF(Molecular function), CC(cellular component) 및 BP(biological process) 3개의 GO 카테고리에서 다양한 GO term을 확인하였다. 흥미롭게도 BP 카테고리에 있는 2개의 GO term '산화-환원 과정'과 '세포 산화-해독 작용'이 CM334가 저항성을 보이는 TMV-P0, PepMoV, *P. capsici*의 *CaRLP*-GCN에서 모두 존재하였다. 이 2개의 GO term에 해당하는 생물학적 메커니즘은 식물의 면역반응과 관련이 되어있다. 산화-환원 전환은 병원균에 침입 시에 일어나며, 결과적으로 HR이나 식물의 면역작용이 세포예정사(programmed cell death)와 같은 면역반응을 일으키게 된다. 세포 산화-해독 작용은 식물이 스트레스를 받으면 일어나는 반응이라고 보고된 바 있다. TMV-P2의 GCN에서는 많은 수의 유전자가 '인산화 반응'이라는 GO term의 기능을 갖는다고 예측되었는데, 이는 식물의 바이러스 감염에 의해서 유도되는 반응 중의 하나라고 보고된 바 있다. 이러한 결과들은 *CaRLP* 유전자와 모듈에 있는 유전자가 고추에서 생물학적 스트레스에 대한 반응에 관여한다는 것을 보여준다. 추가적으로 KEGG 분석을 수행하였다. 그 결과 TMV-P0, PepMoV, *P. capsici*의 *CaRLP*-GCN에서 '항생제 합성', '페닐알라닌 대사', '페닐프로파노이드 합성'과 같은 식물의 면역작용과 관련된 생물학적 경로들을 확인하였다. 4개의 GCN의 GO와 KEGG 결과를 종합하여볼 때, GCN에서 있는 *CaRLP* 유전자와 연결된 유전자가 모두 고추에서 면역반응에 관련이 있다는 것을 추측할 수 있었다.

[0081] 실시예 5. 생물학적 스트레스에 반응하는 핵심 *CaRLP* 유전자의 선발

[0082] 다양한 병원균에 저항성을 보이는 *CaRLP* 유전자를 동정하기 위해, CM334가 저항성 반응을 보이는 병원균을 처리한 3개의 *CaRLP*-GCN(TMV-P0, PepMoV, *P. capsici*)를 처리한 GCN)을 통합하고, 그 중에서 3개 GCN의 공통적인 모듈과 *CaRLP* 유전자를 선발하여 이를 universal resistance-responsive GCN이라하여 RN으로 명명하였다. 그 결과, RN은 총 8개의 모듈(8개 중 유전자의 수가 많은 순서대로 5개의 모듈에만 RN1부터 RN5으로 명명함)과 14개의 hub-*CaRLP* 유전자로 구성된 것을 확인하였다. RN에 속하는 유전자와 *CaRLP* 유전자가 생물학적 과정 중 식물의 면역작용에 어떠한 영향을 미치는지 확인해보기 위해, GO와 KEGG 분석을 수행하였다. GO 카테고리 중 BP 카테고리에 해당하는 GO term에 초점을 맞춰 분석하였다. RN 모듈에는 스트레스와 관련된 유전자가 많이

있었는데, RN2와 3에 특히 많이 분포하는 것을 알 수 있었다. RN2에서는 '산화-환원 과정', '스테롤 합성 과정', '에틸렌 합성 과정'에 해당하는 유전자가, RN3에서는 '산화-환원 과정', '곰팡이에 대한 방어 반응', '세포 산화-해독 작용'에 해당하는 유전자가 많이 예측되었다. 앞서 말했듯이, 산화-환원과 세포 산화-해독 작용은 식물체에 병원균이 침입했을 때, 일어나는 반응 중의 하나이다. 또한, 병의 발생 동안 기주의 세포막 등에서 스테롤의 흡수 등이 일어나며, 에틸렌은 스트레스 동안에 신호 전달 인자로 여겨진다. 이후, KEGG 분석 결과에서도 면역반응과 관련된 '항생제 합성', '테르페노이드 백본 합성', '페닐프로파노이드 합성'과 같은 경로가 예측되었다. '테르페노이드 백본 합성', '페닐프로파노이드 합성'은 식물의 면역반응에 관련이 있는 2차 대사산물을 생산하는 경로로 알려져 있다. GO와 KEGG 결과를 종합하여 볼 때, *CaRLP* 유전자와 RN에 같이 공발현되는 유전자는 생물학적 스트레스에 관련이 있다고 유추해 볼 수 있다. 추가적으로 이 유전자의 발현 패턴을 RNA 서열을 이용하여 분석하였다. RN1에 속하는 유전자는 PepMoV와 TMV-P0 접종시에 발현이 증가하는 것과, *P. capsici* 접종시에 발현이 증가하는 두 가지의 패턴을 보였고, RN2와 RN3에 해당하는 유전자는 *P. capsici* 접종시에 발현이 증가하는 패턴을 보였다. 이러한 결과를 통하여 RN에 속하는 hub-*CaRLP* 유전자가 다양한 생물학적 스트레스에 대해 저항성 반응을 보일 수 있다는 것을 유추할 수 있었다.

[0083] 실시예 6. 병원체 침입에 대한 반응에 관여하는 핵심 *CaRLP* 유전자의 기능적 검증

[0084] RN의 핵심 *CaRLP*(Core *CaRLP*, hub *CaRLP*) 유전자가 식물체의 생물학적 스트레스에 대한 저항성 반응에 관여하는지 분석하기 위해, 9개의 *CaRLP* 유전자를 녹광 품종에 VIGS를 통해 유전자의 침묵을 유도하여 대조군과 비교 분석하였다. RN에 포함되어 있는 총 14개의 *CaRLP* 유전자 중에 7개 유전자는 VIGS 실험에 필요한 유전자 특이적 서열을 찾기 힘들었고, 특이적 서열을 가지고 있는 나머지 핵심 *CaRLP* 유전자 7개(*CaRLP181*, *CaRLP211*, *CaRLP264*, *CaRLP277*, *CaRLP286*, *CaRLP287* 및 *CaRLP351*)와 RN에 포함되지 않는 유전자 2개(*CaRLP35* 및 *CaRLP71*)를 이용하여 VIGS를 수행하였다. 이 중 두 개의 유전자 *CaRLP286*과 *CaRLP287*은 둘 사이의 서열 유사도가 매우 높아서 공통된 서열 영역으로 디자인하여 두 개의 유전자가 같이 침묵되도록 하나의 컨스트럭트로 제작하여 VIGS를 수행하였다. 그 결과, 대조군인 TRV2-GFP에 비해 각 유전자의 발현이 유의적으로 감소한 것을 확인하였으며, *CaRLP* 유전자의 침묵을 유도한 각 식물체의 표현형도 대조군과 비교했을 때 큰 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 따라서, VIGS를 통해 각 *CaRLP* 유전자의 침묵이 효과적으로 유도되었으며 식물체의 생장과 발달에는 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있었다.

[0085] 실시예 7. 담배모자이크병에 대한 저항성 분석을 통한 병 저항성에 관여하는 *CaRLP* 유전자 선발

[0086] TMV-P0를 접종하였을 때 *CaRLP* 유전자가 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위하여 *CaRLP*(*CaRLP35*, *CaRLP71*, *CaRLP181*, *CaRLP211*, *CaRLP264*, *CaRLP277*, *CaRLP286/287* 및 *CaRLP351*) 유전자의 침묵을 각각 유도한 녹광 품종에 TMV-P0를 접종하고 3일 후, 잎의 엽록소를 제거하고 관찰하였고 잎에 나타난 HR 수를 측정하였다.

[0087] 그 결과, *CaRLP264*, *CaRLP277*, *CaRLP286/287* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 유도한 각각의 식물체의 HR 수가 대조군(TRV2-GFP)에 비해 약 0.22~0.72배 감소한 것을 확인하였다. 반면, 상기 4개를 제외한 다른 유전자의 침묵을 유도한 식물체의 HR 수가 대조군(TRV2-GFP)과 유의미한 차이를 보이지 않은 것을 확인하였다(도 3).

[0088] 상기 결과를 통해, 모든 *CaRLP* 유전자가 고추의 병원균에 대한 저항성에 관여하는 것은 아니며, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 유도하면 담배모자이크병에 대한 저항성이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

[0089] 실시예 8. *CaRLP* 유전자 침묵 식물체의 불마름병, 풋마름병 및 고추 역병에 대한 저항성 분석

[0090] 상기 *CaRLP* 유전자 중 담배모자이크병에 대한 저항성이 대조군 대비 유의미한 차이를 보였던 3개의 유전자(*CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351*)를 선발하여 병원균에 대한 다중 저항성에 관여하는지 확인해보고자 하였다. *CaRLP* 유전자의 침묵을 유도한 식물에 불마름병 원인균인 *Xag8ra*, 풋마름병 원인균인 *R. solanacearum* 및 고추 역병 원인균인 *P. capsici*를 각각 접종한 후, 저항성 반응을 분석하였다.

[0091] *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 각각 유도한 녹광 품종에 *Xag8ra*를 접종하고 2일 후, 잎의 엽록소를 제거하고 관찰하였고 이온 누출 분석을 수행하였다. 그 결과, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자 침묵 식물체 잎의 병 증상은 대조군 대비 감소하였으며, 이온 누출량도 대조군 대비 약 1.5~2배 정도 감소한 것을 확인하였다(도 4a, b). 상기 결과를 통하여, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 유도하면 불마름병에 대한 저항성이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

[0092] 또한, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 각각 유도한 식물체(풋마름병에 저항성을 가지는 것으로 알려진 MC4 품종)에 *R. solanacearum*을 접종하고 8일 후, 잎의 병징을 관찰하였고 *R. solanacearum*의 균

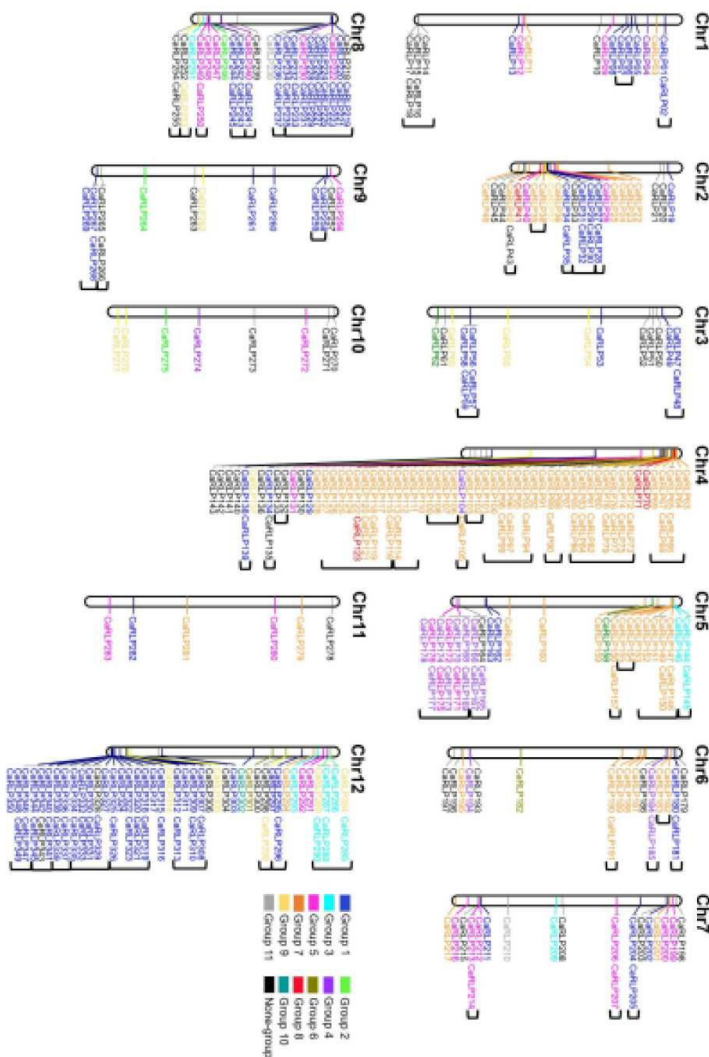
수를 측정하였다. 그 결과, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자 침묵 식물체 잎의 병 증상은 대조군 대비 증가하였으며, 군수도 대조군 대비 약 5~15배 정도 증가한 것을 확인하였다(도 4c, d). 상기 결과를 통하여, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 유도하면 풋마름병에 대한 감수성이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

[0093] 또한, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자의 침묵을 각각 유도한 녹광 품종에 *P. capsici*를 접종하고 3일 후, 잎의 병징을 관찰하였고 병징이 나타난 면적을 측정하였다. 그 결과, *CaRLP264* 및 *CaRLP277* 유전자 침묵 식물체 잎의 병 증상은 대조군 대비 증가하였으며, 병징이 나타난 면적도 대조군 대비 유의미하게 증가한 것을 확인하였다(도 4e, f). 상기 결과를 통하여, *CaRLP264* 및 *CaRLP277* 유전자의 침묵을 유도하면 고추 역병에 대한 감수성이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

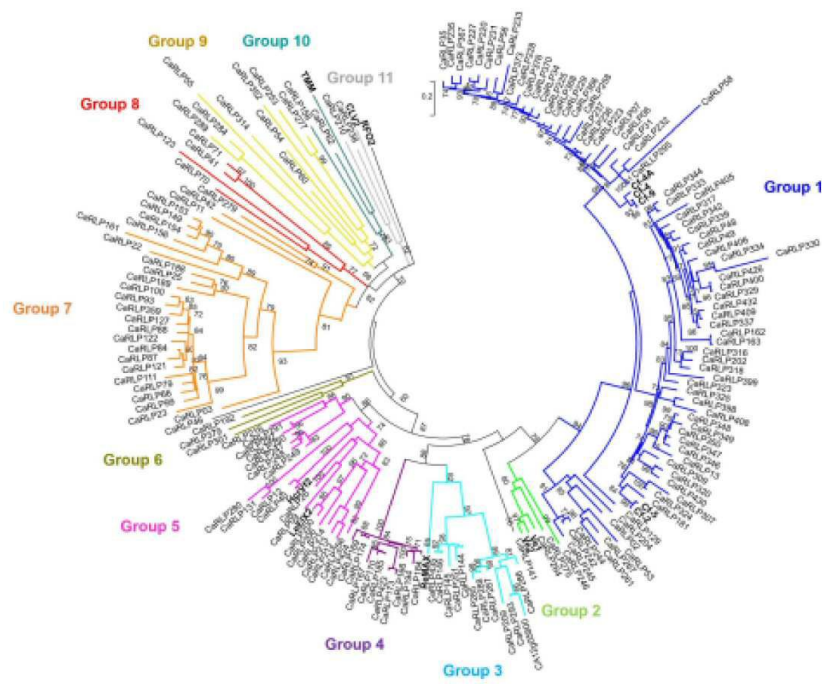
[0094] 따라서, *CaRLP264*, *CaRLP277* 및 *CaRLP351* 유전자는 바이러스, 박테리아 및 난균류 등 다양한 병원균에 대한 저항성 또는 감수성을 조절하는 것을 알 수 있었으며, 상기 유전자의 침묵을 유도한 식물체는 각 식물병에 대한 저항성 또는 감수성이 조절된 반응이 일관되게 관찰되는 것을 확인하였다.

도면

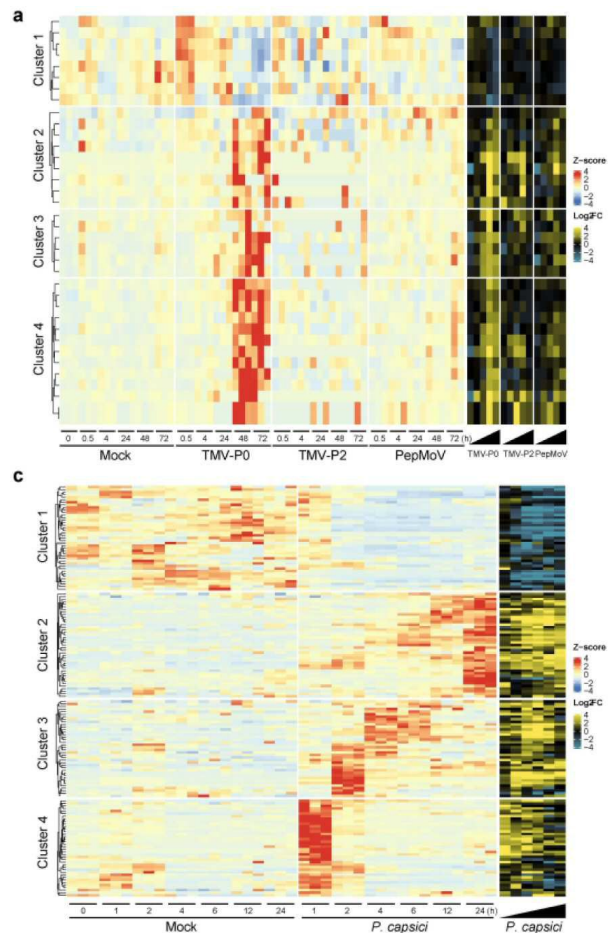
도면1a



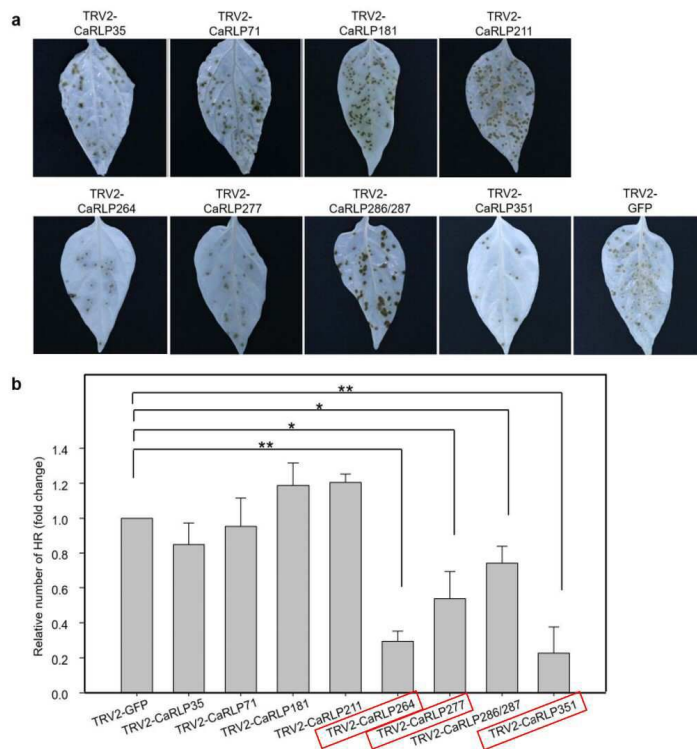
도면1b



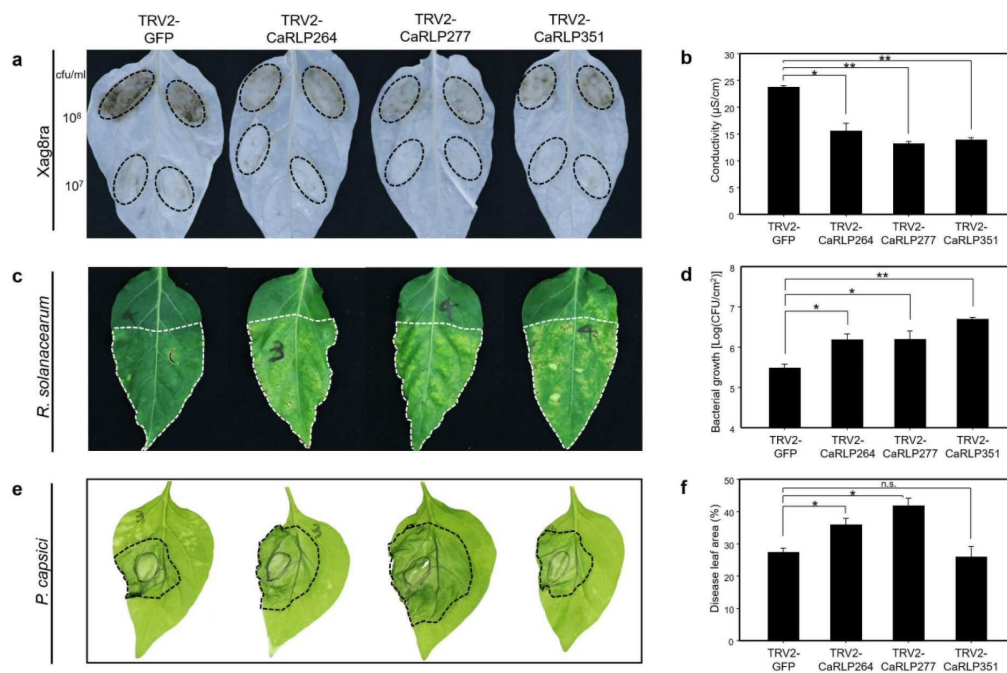
도면2



도면3



도면4



서열 목록

<110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY

<120> RLP genes from Capsicum annuum for controlling tolerance or susceptibility against plant disease and uses thereof

<130> PN21104

<160> 14

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 3423

<212> DNA

<213> Capsicum annuum

<400> 1

atgagagttt tacatcttct atggcttttc ttgataccct ttgccaat attatcaggt 60

aatgagattt tcttggtttc ctctcaatgt ctgatgac aaaaagcatt gttgctgcag 120

ttgaaggga gccctcatta tgattctact ctgtcaaata aattggcaag atggaaccag 180

aacacaagt aatgttgcaa atggaatggg gttacatgt atggctctgg tcatgtgatt 240

gccttggaa ttgataatga gacaatttct agtggcaatt agaattcaag tgcacttttc 300

agtcttcgat atcttgagaa gctaaatttg gcttacaaca ggttcaatgt tggcatacca 360

gttggtatag acaacctcac gaactgaag tacctgaatt tatcgaatgc tggttttgct 420

ggacaaattc caatgatgt atcaagatta acaaggctgg ttactcttga tctctcaact 480

cttttcttg atgtaatcca tccactaaaa ctgagaatc ccaatttgag acatttcatt 540

gagaactcaa cagaacttag agagctttat ctgatgggt ttgatcttcc agctcaaagg 600

agcgagtggg gtcaatcttt atcgctgtat ttgcctaact tgactatctt gagtgtgcgt 660

actagcaaa tticaggccc tattgatgaa tcactttcta agcttcagtt ttatctatt 720

atccatcttg accagaacaa tctctctacc tcagtacctg aatattttgc caatttctca 780

aacatgacta ccttgacctc cagctcttgt aatctgcagg gagcatttcc taaaagaatc 840

tttcaggtag cagttttaga gattttggac ttgtcaaata acaagttgct tgggtgtaat 900

attctgaatt ttctctgaaa tggatctttg aggacgatat cactaagcta caccaatttt 960

tctggttcat tacccgagtc catttccaac ctctggaact tgtccaagtt agacctctcc 1020

aattgcaatt tcagtgaacc aatacttcc acaatggcaa accttacgaa tcttggtcac 1080

ttagatttct ccttgaacaa ctctactggt tctgtccat atttacaatg gtccaagaaa 1140

ctcacctact tggacctctc tcataatggt ttaactgggc tctctctccc tgctcatttc 1200

aaaggacttt cagagcttgt gtacataaat ttaggggaaca acttactcaa cgggattctt 1260

ccttcttata tctttgagtt gccctccttg cagaagcttt ttctttatag caatcaattt 1320

attggaccgg tcaacaaatt cctgaatgca tctctctcta tgctggatc aattgatttg 1380

agcaacaacc ttctgaatgg atcgattccc aagtccatct ttgaggttga gaggcttaag	1440
gtcctctcac tttcttccaa cttcttttagt gggacagtgc cactagatct cattgggagt	1500
ctcagtagcc ttacaagact agagctttct tacaataact tgaccattga aacaggtaga	1560
agcaattcaa cccttttcac ttttccgcag atgagcgtat tgaaactagc ttcctgtcgg	1620
ttgcaacatt ttctgatct taaaaatcag ccaaggataa tccaattaga cttttctgac	1680
aacaaaaataa agggagcaat tccgaattgg atttggggaa ttggggaggg agctctcact	1740
cacctgaatc tttccttcaa tcagctggag tacctggaac agccttacag tgtttccagc	1800
aatcttatag tctttgactt gcattccaac cgaataaaag gtgacctacc aattccacct	1860
tctactgcc a tctttgtgga ctactcaagc aataatttca gcaattctat cccactagat	1920
attggtgatt caattgtttt tgcttctt tttcagctg caaataatag cctcactgga	1980
agaattcctg aatcaatatg caaggccaac tatcttcaag tttttgattt gtctaacaat	2040
gccttgagtg gaacaatacc accatgtctia ctggaatata gtacaactct tggagtgtg	2100
aatctaggga acaatcatct caatagtgtt ataccagatt catttccaat tggttgtgcg	2160
ctgaaaactt tagacctcag taggaatttc ttaaaaaggg agctgccaaa atctcttgtc	2220
aactgtgagc tattggaggt cctgaatgtt ggaaataaca acctatttga tcgtttccca	2280
tgcatgttga ggagctcagg caatctaaga gtcctagtca tgcgttccaa tcacttctat	2340
ggaaaactta catgtgatgt aacaagaaat agctggcaga atctccagat catagatata	2400
gcttccaatg attttaccgg tgtgttgaat gcggaatgct tttcaaattg gagaggaaatg	2460
atggttgaag atgattacgt ggagacagga cgcaatcaca tccagtttca gttccttgca	2520
caaagtaact ttactatca ggatacagtg acaataacca tcaaagggtt ggagctggag	2580
cttgtgaaaa ttctcagggt cttcacatct attgatttct cttcaaatag atttcaagga	2640
gtgtaccag atacagttgg ggatcttagc tcactttatg ttctgaacct gtcacacaat	2700
gcccttgcag gaccaattcc aagatcaatc gggaagctac aagtgttga atcactagac	2760
ttgtcatcaa accacctgtc cggggagatc cctcagagc ttgcaaatct cacattcata	2820
gcacttttga acctatcgtt caacaattta tctggtaaaa tccgctaag taatcaactt	2880
caaacattct cggaagattc ctttgaagga aacagaggcc tatgcgggtt ccctctcaat	2940
ggaagttgca aaagtaatgc ttcagattg acaccaccgc caagttttga agatgacact	3000
tatgattggc agttgatatt tatgggtgtg ggatatggag taggagcagc aatctccatt	3060
ggacctctgt tgttttacaa gcgagggcgg gaatactgtg acaaacactt ggagagattg	3120
cttaaattga tgtttccaac atgggggttc acttacacca gatatggccc tgggaaggtt	3180
gtggcagtgg aacactatga agatgagacc ccagatgaca gtgaagatga cgatgagggg	3240

aaaaaagaag catcttttgg gcattattgt gtcttctgta gtaacttga ttttcacaga	3300
aaggaagcaa tacatgatcc aaaatgcact tgccatatgt catcatcccc catttctttt	3360
cctcatgcac catcctcttc ttcaccttgg ttagtcatat ataacaaaag ttttgattct	3420
taa	3423

<210> 2
 <211> 1140
 <212> PRT
 <213> Capsicum annuum
 <400> 2

Met Arg Val Leu His Phe Leu Trp Leu Phe Leu Ile Pro Phe Cys Gln	
1 5 10 15	
Ile Leu Ser Gly Asn Glu Ile Phe Leu Val Ser Ser Gln Cys Leu Asp	
20 25 30	
Asp Gln Lys Ala Leu Leu Leu Gln Leu Lys Gly Ser Leu His Tyr Asp	
35 40 45	
Ser Thr Leu Ser Asn Lys Leu Ala Arg Trp Asn Gln Asn Thr Ser Glu	
50 55 60	
Cys Cys Lys Trp Asn Gly Val Thr Cys Asp Gly Ser Gly His Val Ile	
65 70 75 80	
Ala Leu Glu Leu Asp Asn Glu Thr Ile Ser Ser Gly Ile Glu Asn Ser	
85 90 95	
Ser Ala Leu Phe Ser Leu Arg Tyr Leu Glu Lys Leu Asn Leu Ala Tyr	
100 105 110	
Asn Arg Phe Asn Val Gly Ile Pro Val Gly Ile Asp Asn Leu Thr Asn	
115 120 125	
Leu Lys Tyr Leu Asn Leu Ser Asn Ala Gly Phe Ala Gly Gln Ile Pro	
130 135 140	
Met Met Leu Ser Arg Leu Thr Arg Leu Val Thr Leu Asp Leu Ser Thr	
145 150 155 160	
Leu Phe Pro Asp Val Ile His Pro Leu Lys Leu Glu Asn Pro Asn Leu	
165 170 175	
Arg His Phe Ile Glu Asn Ser Thr Glu Leu Arg Glu Leu Tyr Leu Asp	

180 185 190
 Gly Val Asp Leu Ser Ala Gln Arg Ser Glu Trp Cys Gln Ser Leu Ser

 195 200 205
 Ser Tyr Leu Pro Asn Leu Thr Ile Leu Ser Val Arg Thr Ser Gln Ile
 210 215 220
 Ser Gly Pro Ile Asp Glu Ser Leu Ser Lys Leu Gln Phe Leu Ser Ile
 225 230 235 240
 Ile His Leu Asp Gln Asn Asn Leu Ser Thr Ser Val Pro Glu Tyr Phe
 245 250 255
 Ala Asn Phe Ser Asn Met Thr Thr Leu Thr Leu Ser Ser Cys Asn Leu
 260 265 270

 Gln Gly Ala Phe Pro Lys Arg Ile Phe Gln Val Pro Val Leu Glu Ile
 275 280 285
 Leu Asp Leu Ser Asn Asn Lys Leu Leu Gly Gly Asn Ile Leu Asn Phe
 290 295 300
 Pro Arg Asn Gly Ser Leu Arg Thr Ile Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Phe
 305 310 315 320
 Ser Gly Ser Leu Pro Glu Ser Ile Ser Asn Leu Arg Asn Leu Ser Lys
 325 330 335
 Leu Asp Leu Ser Asn Cys Asn Phe Ser Glu Pro Ile Pro Ser Thr Met

 340 345 350
 Ala Asn Leu Thr Asn Leu Val His Leu Asp Phe Ser Leu Asn Asn Phe
 355 360 365
 Thr Gly Ser Val Pro Tyr Leu Gln Trp Ser Lys Lys Leu Thr Tyr Leu
 370 375 380
 Asp Leu Ser His Asn Gly Leu Thr Gly Leu Leu Ser Pro Ala His Phe
 385 390 395 400
 Lys Gly Leu Ser Glu Leu Val Tyr Ile Asn Leu Gly Asn Asn Leu Leu
 405 410 415

 Asn Gly Ile Leu Pro Ser Tyr Ile Phe Glu Leu Pro Ser Leu Gln Lys
 420 425 430

Leu Phe Leu Tyr Ser Asn Gln Phe Ile Gly Pro Val Asn Lys Phe Leu
 435 440 445
 Asn Ala Ser Ser Ser Met Leu Asp Thr Ile Asp Leu Ser Asn Asn Leu
 450 455 460
 Leu Asn Gly Ser Ile Pro Lys Ser Ile Phe Glu Val Glu Arg Leu Lys
 465 470 475 480
 Val Leu Ser Leu Ser Ser Asn Phe Phe Ser Gly Thr Val Pro Leu Asp
 485 490 495
 Leu Ile Gly Ser Leu Ser Ser Leu Thr Arg Leu Glu Leu Ser Tyr Asn
 500 505 510
 Asn Leu Thr Ile Glu Thr Gly Arg Ser Asn Ser Thr Ser Phe Thr Phe
 515 520 525
 Pro Gln Met Ser Val Leu Lys Leu Ala Ser Cys Arg Leu Gln His Phe
 530 535 540
 Pro Asp Leu Lys Asn Gln Pro Arg Ile Ile Gln Leu Asp Leu Ser Asp
 545 550 555 560
 Asn Lys Ile Lys Gly Ala Ile Pro Asn Trp Ile Trp Gly Ile Gly Glu
 565 570 575
 Gly Ala Leu Thr His Leu Asn Leu Ser Phe Asn Gln Leu Glu Tyr Leu
 580 585 590
 Glu Gln Pro Tyr Ser Val Ser Ser Asn Leu Ile Val Phe Asp Leu His
 595 600 605
 Ser Asn Arg Ile Lys Gly Asp Leu Pro Ile Pro Pro Ser Thr Ala Ile
 610 615 620
 Phe Val Asp Tyr Ser Ser Asn Asn Phe Ser Asn Ser Ile Pro Leu Asp
 625 630 635 640
 Ile Gly Asp Ser Ile Val Phe Ala Ser Phe Phe Ser Ala Ala Asn Asn
 645 650 655
 Ser Leu Thr Gly Arg Ile Pro Glu Ser Ile Cys Lys Ala Asn Tyr Leu
 660 665 670
 Gln Val Leu Asp Leu Ser Asn Asn Ala Leu Ser Gly Thr Ile Pro Pro
 675 680 685

Cys Leu Leu Glu Tyr Ser Thr Thr Leu Gly Val Leu Asn Leu Gly Asn
 690 695 700

 Asn His Leu Asn Ser Val Ile Pro Asp Ser Phe Pro Ile Gly Cys Ala
 705 710 715 720
 Leu Lys Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn Phe Leu Lys Arg Glu Leu Pro
 725 730 735
 Lys Ser Leu Val Asn Cys Glu Leu Leu Glu Val Leu Asn Val Gly Asn
 740 745 750
 Asn Asn Leu Ile Asp Arg Phe Pro Cys Met Leu Arg Ser Ser Gly Asn
 755 760 765
 Leu Arg Val Leu Val Met Arg Ser Asn His Phe Tyr Gly Lys Leu Thr

 770 775 780
 Cys Asp Val Thr Arg Asn Ser Trp Gln Asn Leu Gln Ile Ile Asp Ile
 785 790 795 800
 Ala Ser Asn Asp Phe Thr Gly Val Leu Asn Ala Glu Cys Phe Ser Asn
 805 810 815
 Trp Arg Gly Met Met Val Glu Asp Asp Tyr Val Glu Thr Gly Arg Asn
 820 825 830
 His Ile Gln Phe Gln Phe Leu Ala Gln Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Asp
 835 840 845

 Thr Val Thr Ile Thr Ile Lys Gly Leu Glu Leu Glu Leu Val Lys Ile
 850 855 860
 Leu Arg Val Phe Thr Ser Ile Asp Phe Ser Ser Asn Arg Phe Gln Gly
 865 870 875 880
 Val Leu Pro Asp Thr Val Gly Asp Leu Ser Ser Leu Tyr Val Leu Asn
 885 890 895
 Leu Ser His Asn Ala Leu Ala Gly Pro Ile Pro Arg Ser Ile Gly Lys
 900 905 910
 Leu Gln Val Leu Glu Ser Leu Asp Leu Ser Ser Asn His Leu Ser Gly

 915 920 925
 Glu Ile Pro Ser Glu Leu Ala Asn Leu Thr Phe Ile Ala Ser Leu Asn

930 935 940
 Leu Ser Phe Asn Asn Leu Ser Gly Lys Ile Pro Leu Ser Asn Gln Leu
 945 950 955 960
 Gln Thr Phe Ser Glu Asp Ser Phe Glu Gly Asn Arg Gly Leu Cys Gly
 965 970 975
 Phe Pro Leu Asn Gly Ser Cys Lys Ser Asn Ala Ser Glu Leu Thr Pro
 980 985 990

 Pro Pro Ser Phe Glu Asp Asp Thr Tyr Asp Trp Gln Leu Ile Phe Met
 995 1000 1005
 Gly Val Gly Tyr Gly Val Gly Ala Ala Ile Ser Ile Gly Pro Leu Leu
 1010 1015 1020
 Phe Tyr Lys Arg Gly Arg Glu Tyr Cys Asp Lys His Leu Glu Arg Leu
 1025 1030 1035 1040
 Leu Lys Leu Met Phe Pro Thr Trp Gly Phe Thr Tyr Thr Arg Tyr Gly
 1045 1050 1055
 Pro Gly Lys Val Val Ala Val Glu His Tyr Glu Asp Glu Thr Pro Asp

 1060 1065 1070
 Asp Ser Glu Asp Asp Asp Glu Gly Lys Lys Glu Ala Ser Phe Gly His
 1075 1080 1085
 Tyr Cys Val Phe Cys Ser Lys Leu Asp Phe His Arg Lys Glu Ala Ile
 1090 1095 1100
 His Asp Pro Lys Cys Thr Cys His Met Ser Ser Ser Pro Ile Ser Phe
 1105 1110 1115 1120
 Pro His Ala Pro Ser Ser Ser Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Asn Lys
 1125 1130 1135

 Ser Phe Asp Ser
 1140
 <210> 3
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> Capsicum annuum
 <400> 3

atggcaactg tgiacaaaat ccagggtgct ttcttgaaat catgtgtttt ttgggtgtt 60
gtacttgttt tagctgtttc tgtaaggga aattcagaag gggatgcttt gtatgctctt 120
cgtaggagct tatctgaccc ggataacgtg cttcaaagct gggatccgaa tcttgtaac 180
ccgtgtactt ggtttcatgt tacttgtaat ggagataatc aagtactcg tgtggatctt 240
ggcaactcca aattatctgg tcatttggtg cctgagcttg gaaagcttga acatctgcag 300

tatattgact attggttttc aagggttcat atccatgatg taattgtttg ttgtttcagg 360
gagctttaca agaataatat tcagggaacc atccctaaag agctcggtaa cttgaagagc 420
cttattagtc tggatctgta caacaacaac atttcgggga caattcctaa ttcactggga 480
aagttgaaaa aacttgtttt cctgcgtctg aatgataata agctaacagg accaattcca 540
agagaactta ctacgtttc tagcctgaaa gttgtggatg tctcgaataa cgatttgtgt 600
ggaacaatcc ccacttctgg tccatttgag catattcttc tgaacaactt tgagcacaat 660
cctcgacttg aaggtcgga gttgttggga cttgctagct acgacaccaa ctgttcttag 720

720

<210> 4
<211> 239
<212> PRT
<213> Capsicum annuum
<400> 4

Met Ala Thr Val Tyr Lys Ile Gln Gly Ala Phe Leu Lys Ser Cys Val

1 5 10 15

Phe Leu Gly Val Val Leu Val Leu Ala Val Ser Val Lys Gly Asn Ser

20 25 30

Glu Gly Asp Ala Leu Tyr Ala Leu Arg Arg Ser Leu Ser Asp Pro Asp

35 40 45

Asn Val Leu Gln Ser Trp Asp Pro Asn Leu Val Asn Pro Cys Thr Trp

50 55 60

Phe His Val Thr Cys Asn Gly Asp Asn Gln Val Thr Arg Val Asp Leu

65 70 75 80

Gly Asn Ser Lys Leu Ser Gly His Leu Val Pro Glu Leu Gly Lys Leu

85 90 95

Glu His Leu Gln Tyr Phe Asp Tyr Trp Phe Ser Arg Val His Ile His

100 105 110

Asp Val Ile Val Cys Cys Phe Arg Glu Leu Tyr Lys Asn Asn Ile Gln

115 120 125
Gly Thr Ile Pro Lys Glu Leu Gly Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ser Leu

130 135 140
Asp Leu Tyr Asn Asn Asn Ile Ser Gly Thr Ile Pro Asn Ser Leu Gly

145 150 155 160
Lys Leu Lys Lys Leu Val Phe Leu Arg Leu Asn Asp Asn Lys Leu Thr

165 170 175
Gly Pro Ile Pro Arg Glu Leu Thr Ser Val Ser Ser Leu Lys Val Val
180 185 190

Asp Val Ser Asn Asn Asp Leu Cys Gly Thr Ile Pro Thr Ser Gly Pro
195 200 205

Phe Glu His Ile Pro Leu Asn Asn Phe Glu His Asn Pro Arg Leu Glu
210 215 220

Gly Pro Glu Leu Leu Gly Leu Ala Ser Tyr Asp Thr Asn Cys Ser
225 230 235

<210> 5
<211> 1575
<212> DNA
<213> Capsicum annuum
<400> 5

atggatccaa accctacaaa ttcccaatt ctctcttaag tcatgtccaa gtcctccagt 60

attggccgta aatccccac cgccgccgat gaattcgaca tcgaacagcc tcagtcctt 120

cctaagccac caccagagcc tcaattcgat atcaccgagc gtatgcctca tctcaccgat 180

cctaaagtcg tcaacgctat gcgtgcagct gttgctgacg tgtcacagac tcgatcgggtg 240

ctgaaaaccc taggcgagag gccgtatcat gagcttgttg atactgcgag agtgaagtta 300

gctgagatcg aagcgggaatt gtcgaagcgg ttggaggaga ttgtgcttcc gccgcgtccg 360

ccggagatgg agagggagga ttggagatcg gatttggcgg ttaaagagga ggagtgtagg 420

aaggcgggtgg agaaggagaa agaggcgtat aaggcgttga ttgctttgga tgagctgcat 480

gaggcgtatg aaaagatgtt gaaggatgcg gaacagaggt tggagaagat ttacgagact 540

gctgttgctg gtggtaattt ggaggaacag gtgtctggtg agaagagttc tgaggatgaag 600

gatgaagcga atgaggaagt gatcgggatt ttgcaggagg cgttggggaa gagcgtggaa 660
agggttgatt tgtccggcag gcagctgagg atattgcctg aagcttttgg gaagattcgc 720
tccttaatcg tgcttaattt gtccaacaat catcttaagg tgattcctga ttcaattgcg 780
agcttggaag accttgagga gcttcatctt tcctctaate ttttggaaac actgccagac 840
tccattgggc tgttggttag ttgaaattc ttagatgtct ccagtaacaa gcttgtcagt 900

ttgccagata gcatttgta ttgcaggctg ttagtggaat tggatgcagg cttcaataag 960
ctttcttatt tgccaacaaa tattgggtat gaactggtaa atctgaaaag gctttcactt 1020
tcttttaaca agctccgttc gttaccacag tctgttggtg agatgaagtc cttacgcctt 1080
ttagatctgc actttaatga actacacgtg cttccacgtt caattgggaa cttgacaaat 1140
cttgagaccc tcaatctgag caacaattc agtgatctaa cttcgcttcc tgacaccatt 1200
ggtgacttga taaatctaaa agaacttgat ctgagcaaca accagatcca tgaactgcct 1260
gatacaatta gccggcttga caacctgagt gtgctcaagt tggacgagaa ccctcttgtg 1320

atacctccaa aggaagtcgt agttcaaggg gttgaagcag taaaggctta tatgattaag 1380
cggcgacttg acatactgtt ggcagaagag ccacaaatta tgcttcaaga gatggggcag 1440
acaccgactg gcatactaac tcgaagtacc tcttggttga atggtgctgt ttcaaatgtt 1500
cttggaaactg ttgcagggtta tttgggtggt ggagggaagt cagatgcaga ccattatctc 1560
aaccagcagt tatga 1575

<210> 6

<211> 524

<212> PRT

<213> Capsicum annuum

<400> 6

Met Asp Pro Asn Pro Thr Asn Phe Pro Ile Leu Ser Tyr Val Met Ser

1	5	10	15
Lys	Leu	Pro	Ser
Ile	Gly	Arg	Lys
Ser	Pro	Thr	Ala
Ala	Asp	Glu	Phe
20	25	30	
Asp	Ile	Glu	Gln
Pro	Gln	Ser	Leu
Pro	Lys	Pro	Pro
Pro	Glu	Pro	His
35	40	45	
Phe	Asp	Ile	Thr
Glu	Arg	Met	Pro
His	Leu	Thr	Asp
Pro	Lys	Val	Val
50	55	60	
Asn	Ala	Met	Arg
Ala	Ala	Val	Ala
Asp	Val	Ser	Gln
Thr	Arg	Ser	Val

65						70						75						80	
Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Glu	Arg	Pro	Tyr	His	Glu	Leu	Val	Asp	Thr	Ala				
					85					90					95				
Arg	Val	Lys	Leu	Ala	Glu	Ile	Glu	Ala	Glu	Leu	Ser	Lys	Arg	Leu	Glu				
					100					105					110				
Glu	Ile	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Pro	Pro	Glu	Met	Glu	Arg	Glu	Asp	Trp				
					115					120					125				
Arg	Ser	Asp	Leu	Ala	Val	Lys	Glu	Glu	Glu	Cys	Arg	Lys	Ala	Val	Glu				
					130					135					140				
Lys	Glu	Lys	Glu	Ala	Tyr	Lys	Ala	Leu	Ile	Ala	Leu	Asp	Glu	Leu	His				
145					150					155					160				
Glu	Ala	Tyr	Glu	Lys	Met	Leu	Lys	Asp	Ala	Glu	Gln	Arg	Leu	Glu	Lys				
					165					170					175				
Ile	Tyr	Glu	Thr	Ala	Val	Ala	Gly	Gly	Asn	Leu	Glu	Glu	Gln	Val	Ser				
					180					185					190				
Gly	Glu	Lys	Ser	Ser	Glu	Val	Lys	Asp	Glu	Ala	Asn	Glu	Glu	Val	Ile				
					195					200					205				
Gly	Ile	Leu	Gln	Glu	Ala	Leu	Gly	Lys	Ser	Val	Glu	Arg	Val	Asp	Leu				
					210					215					220				
Ser	Gly	Arg	Gln	Leu	Arg	Ile	Leu	Pro	Glu	Ala	Phe	Gly	Lys	Ile	Arg				
225					230					235					240				
Ser	Leu	Ile	Val	Leu	Asn	Leu	Ser	Asn	Asn	His	Leu	Lys	Val	Ile	Pro				
					245					250					255				
Asp	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Glu	Asn	Leu	Glu	Glu	Leu	His	Leu	Ser	Ser				
					260					265					270				
Asn	Leu	Leu	Glu	Ser	Leu	Pro	Asp	Ser	Ile	Gly	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu				
					275					280					285				
Lys	Phe	Leu	Asp	Val	Ser	Ser	Asn	Lys	Leu	Val	Ser	Leu	Pro	Asp	Ser				
290					295					300									
Ile	Cys	His	Cys	Arg	Ser	Leu	Val	Glu	Leu	Asp	Ala	Gly	Phe	Asn	Lys				
305					310					315					320				

Leu Ser Tyr Leu Pro Thr Asn Ile Gly Tyr Glu Leu Val Asn Leu Lys

325 330 335

Arg Leu Ser Leu Ser Phe Asn Lys Leu Arg Ser Leu Pro Thr Ser Val

340 345 350

Gly Glu Met Lys Ser Leu Arg Leu Leu Asp Leu His Phe Asn Glu Leu

355 360 365

His Val Leu Pro Arg Ser Ile Gly Asn Leu Thr Asn Leu Glu Thr Leu

370 375 380

Asn Leu Ser Asn Asn Phe Ser Asp Leu Thr Ser Leu Pro Asp Thr Ile

385 390 395 400

Gly Asp Leu Ile Asn Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile

405 410 415

His Glu Leu Pro Asp Thr Ile Ser Arg Leu Asp Asn Leu Ser Val Leu

420 425 430

Lys Leu Asp Glu Asn Pro Leu Val Ile Pro Pro Lys Glu Val Val Val

435 440 445

Gln Gly Val Glu Ala Val Lys Ala Tyr Met Ile Lys Arg Arg Leu Asp

450 455 460

Ile Leu Leu Ala Glu Glu Pro Gln Ile Met Leu Gln Glu Met Gly Gln

465 470 475 480

Thr Pro Thr Gly Ile Leu Thr Arg Ser Thr Ser Trp Leu Asn Gly Ala

485 490 495

Val Ser Asn Val Leu Gly Thr Val Ala Gly Tyr Leu Gly Gly Gly Gly

500 505 510

Lys Ser Asp Ala Asp His Tyr Leu Asn Gln Gln Leu

515 520

<210> 7

<211> 456

<212> DNA

<213> Capsicum annuum

<400> 7

tggactccgt acgctgaacc tatctcataa tgacttggaa ggtgttatac ccacatcatt

60

gcaacattta tccatacttg aatcggttga tctctcatcc aacaaaatag gcggtgaaat	120
tccacaacaa ctgtatccc tcacatttct tgcagtctta aatctctctc acaatcatct	180
tggtggatgc attcccaaag gaaaacaatt tgatacgttt gacagtccat accaagggaa	240
tgatgggtta cgiggattgc cactatcaaa agattgtggt ggcgatgatg gggtaaccga	300
agcgacaact gcagctagat gaagaagaag aagaaggaga gttgatcagt tggcaagcgg	360
ttctcatggg ttttggttgt ggtctggtta ttggactatc cataatatac ataatgttgt	420
caactcaata tccagtctgg ttttcgagga tgattg	456
<210> 8	
<211> 224	
<212> DNA	
<213> Capsicum annuum	
<400> 8	
ccgcgctaaa agaattgctg cgagagatgc tccttatgca aagaaaagaa cacatttta	60
ccatattcag atgtcaagac acaatcacca tggtcagcat cagaaaata atactcggac	120
agctgttgag aatggacctc ctttgcttac ctgagttcgt gtcaagagga ttcaacaggt	180
tatatataca ccaacgaaag attgttctta tcgtattttg caca	224
<210> 9	
<211> 258	
<212> DNA	
<213> Capsicum annuum	
<400> 9	
gcattagacg atcaagaaag caattctgaa tctttcgacg atttttggaa aggtgctctg	60
atgggctacg gcgtggact atgtattgga ttatccatag catatttcat gatgccagct	120
gaaaatccga aatggcttgc aagaatcgtt ttggtgctgg aacacagaat gagaaagaag	180
cagagacgtt aaaagaacta cagaggatga aataatccct tctagacaag ttigttagag	240
ttttgcctta atttttca	258
<210> 10	
<211> 332	
<212> DNA	
<213> Capsicum annuum	
<400> 10	
atgtgggctc caggagaaat cgtagagata atggtttatt gctccaacct ggacaagatg	60

tagagaaagc tcctcctcta gtgaggccaa aggaagagca acaaccaaga agaccggctc 120
gcactcccat gccacagcat gagcaggagg taaatgtgcg gaacatgagt gcagtgccaa 180
agaaggatgc tagtgagata aatctaagca gaattgatat tgatttgatg gctccaccac 240
gacccctcc tccacccctt ccaccaccgc ctccaccacc accaccaccc ctctctcaag 300
agagagttat tgtgaagcca attccacctg ct 332

<210> 11
<211> 422
<212> DNA
<213> Capsicum annuum
<400> 11

gggcgggaat actgtgacaa acacttggag agattgctta aattgatgtt tccaacatgg 60
gggttcactt acaccagata tggccctggg aaggttgtgg cagtgggaaca ctatgaagat 120
gagaccccag atgacagtga agatgacgat gaggggaaaa aagaagcatc ttttgggcat 180
tattgtgtct tctgtagtaa acttgatfff cacagaaagg aagcaataca tgatccaaaa 240
tgcacttgcc atatgtcatc atccccatt tcttttctc atgcaccatc ctcttcttca 300
cctttgttag tcatatafaa caaaagtttt gattcttaag ctttctctct gcacattagt 360

agtctgtata tatttaaagg taccatagga tattgaatca aagcaaattc aagtctcttc 420
aa 422

<210> 12
<211> 226
<212> DNA
<213> Capsicum annuum
<400> 12

tctccgtcaa aatccaagca aaaccaaca attttcttga atttttgtt ggtacagcaa 60
ccatggcaac tgtgtacaaa atccagggtg ctttcttgaa atcatgtgtt tttttgggtg 120
ttgtacttgt tttagctgtt tctgttaagg gaaattcaga aggggatgct ttgtatgctc 180
ttcgtaggag cttatctgac ccggataacg tgcttcaaag ctggga 226

<210> 13
<211> 268
<212> DNA
<213> Capsicum annuum
<400> 13

tcgtctctcg agatgcaaca ttggtggaga ctttccaaat tggttgtag aaaacaattc	60
taggcttgga gaagtttact tggatggaaa tgcattcgct ggatctcttc aattgccatt	120
ccttcataat ctgaaagctt tggatatctc gaacaacaag attcgagggc cagttcctcc	180
taacattgga tccattttcc caaatctcgt gatatcaaca atgtccaaca atatgcttga	240
aggcatgttg ccttcaagtt ttgccgac	268

<210> 14

<211> 283

<212

> DNA

<213> Capsicum annuum

<400> 14

gcagtagcca tggatccaaa ccctacaaat ttccaattc tctcttacgt catgtccaag	60
ctccccagta ttggccgtaa atccccacc gccgccgatg aattcgacat cgaacagcct	120
cagtccttc ctaagccacc accagagcct cacttcgata tcaccgagcg tatgcctcat	180
ctcaccgac ctaaagtcgt caacgctatg cgtgcagctg ttgctgacgt gtcacagact	240
cgatcggtagc tgaaaaccct aggcgagagg ccgtatcatg agc	283