

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2016-0052960 (43) 공개일자 2016년05월13일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A01H 5/00</i> (2006.01) <i>C12N 15/54</i> (2006.01) <i>C12N 15/82</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2014-0148596 (22) 출원일자 2014년10월29일 심사청구일자 2014년10월29일	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내) (72) 발명자 이상원 경기 수원시 영통구 영통로290번길 25, 504동 203호 (영통동, 신나무실주공아파트) 박종찬 부산 부산진구 복지로 70, 206동 304호 (개금동, 현대아이아파트) 안진홍 경기 용인시 기흥구 탑실로 152, 210동 1703호 (공세동, 탑실마을대주피오레2단지) (74) 대리인 손민

전체 청구항 수 : 총 19 항

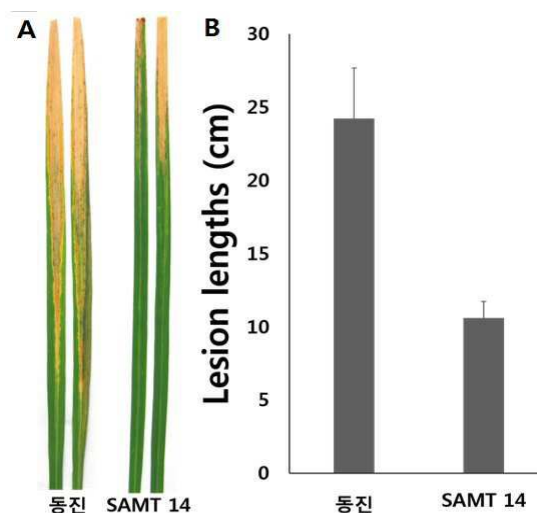
(54) 발명의 명칭 **흰잎 마름병 저항성 메틸전이효소 및 이를 이용한 형질 전환 식물체**

(57) 요약

본 발명은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성이 강화된, 식물 형질 전환체, 상기 유전자의 활성을 강화시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터 및 상기 식물 형질 전환체의 제조방법에 관한 것이다. 또한, 상기 LOC_0s06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 단계를 포함하는, 식물의 병 저항성의 증진방법에 관한 것이다.

본 발명은 벼에 내재적으로 존재하며 흰잎 마름병에 대한 저항성 유전자, LOC_0s06g20790의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열을 삽입함으로써, 흰잎 마름병에 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 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	PJ009110
부처명	농촌진흥청
연구관리전문기관	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21
연구과제명	벼 메틸전이효소 유전자 연구를 통한 다양한 스트레스 저항성 유전자 발굴 및 활용
기 여 율	1/2
주관기관	경희대학교(국제캠퍼스)
연구기간	2012.07.01 ~ 2014.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	PJ008098
부처명	농촌진흥청
연구관리전문기관	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21_GM작물실용화
연구과제명	벼 저항성 관련 non-RD kinase 유전자 발굴 및 활용: nRDA41과 nRDK08
기 여 율	1/2
주관기관	경희대학교(국제캠퍼스)
연구기간	2011.05.01 ~ 2014.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성이 강화된, 식물 형질 전환체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 LOC_0s06g20790 유전자는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 LOC_0s06g20790 유전자는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 메틸전이효소로 코딩되는 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 4

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

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 벼 (*Oryza sp.*)는 동진벼인 식물 형질 전환체.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 활성 강화는 LOC_0s06g20790 유전자의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열 또는 프로모터를 삽입하여 이루어지는 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 발현 유도 서열은 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 식물 형질 전환체는 흰잎 마름병에 대한 저항성을 갖는 것인, 식물 형질 전환체.

청구항 9

메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 LOC_0s06g20790 유전자는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 것인, 재조합 벡터.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 LOC_0s06g20790 유전자는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 메틸전이효소로 코딩되는 것인, 재조합 벡터.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 발현 유도 서열은 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 것인, 재조합 벡터.

청구항 13

제9항에 있어서, 상기 식물은 벼 (*Oryza sp.*)인 것인, 재조합 벡터.

청구항 14

제9항에 있어서, 상기 병 저항성은 흰잎 마름병에 대한 저항성인 것인, 재조합 벡터.

청구항 15

(a) 제9항 내지 제14항 중 어느 한 항의 재조합 벡터가 도입된 아그로박테리움으로 식물을 감염시키는 단계; 및
(b) 상기 (a) 단계에서 감염된 식물의 세포를 캘러스(callus)화하여 형질전환된 식물의 세포를 수득하는 단계를 포함하는,

병 저항성이 증진된 식물 형질 전환체의 제조방법.

청구항 16

제15항에 있어서, (c) 상기 (b) 단계에서 제조한 캘러스를 뿌리 및 성체로 분화 유도하는 단계를 추가로 포함하는, 제조방법.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 식물은 벼 (*Oryza sp.*)인 것인, 제조방법.

청구항 18

제15항에 있어서, 상기 병 저항성은 흰잎 마름병에 대한 저항성인 것인, 제조방법.

청구항 19

메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 단계를 포함하는, 식물의 병 저항성의 증진방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성이 강화된, 식물 형질 전환체, 상기 유전자의 활성을 강화시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터 및 상기 식물 형질 전환체의 제조방법에 관한 것이다. 또한, 상기 LOC_0s06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 단계를 포함하는, 식물의 병 저항성의 증진방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [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] 또한, 기존의 작물에 대한 저항성 부여방법은 외래 유전자의 도입을 통해 식물체로 하여금 새로운 형질을 부여하는 기술이 대다수였다.
- [0006] 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.
- [0007] 이에 본 발명자들은 아직 극복되지 못한 벼 흰잎 마름병에 대한 저항성 유전자를 동정하기 위해 예의 연구 노력한 결과, 천연형 벼 동진의 보유 유전자 중 흰잎 마름병에 저항성을 부여하는 메틸전이효소 유전자(LOC_0s06g20790)를 동정해내어, 이를 활성화시킨 형질전환체가 흰잎 마름병에 저항성을 나타냄을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 하나의 목적은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성이 강화된, 식물 형질 전환체를 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터를 제공하는 것이다.

- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 상기 재조합 벡터가 도입된 아그로박테리움으로 식물을 감염시키는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계에서 감염된 식물의 세포를 캘러스(callus)화하여 형질전환된 식물의 세포를 수득하는 단계를 포함하는, 병 저항성이 증진된 식물 형질 전환체의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_Os06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 단계를 포함하는, 식물의 병 저항성의 증진방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_Os06g20790 유전자의 활성이 강화된, 식물 형질 전환체를 제공한다.
- [0013] 본 발명에서는 메틸전이효소인 서열번호 1 또는 서열번호 2의 염기서열을 가지는 LOC_Os06g20790 유전자의 활성이 강화되도록, LOC_Os06g20790의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열을 삽입함으로써, 해당 유전자를 발현하여 흰잎 마름병에 대해 저항성을 갖춘 형질전환 벼를 제조하였다.
- [0014] 보다 상세하게는 본 발명자들은 아그로박테리움(Agrobacterium)을 이용한 형질전환 방법을 통해 만들어진 10만 개통의 벼 돌연변이 집단에서 흰잎 마름병에 저항성이 있는 식물 형질 전환체를 관찰하였다. 상기 식물 형질 전환체는 아그로박테리움(Agrobacterium)에 의해 유전자를 발현시키는 발현 유도 서열을 포함하는 T-DNA 가 genome 상에 삽입되어 삽입된 지역의 유전자 기능이 활성화된 식물체로, T-DNA의 삽입 위치는 genome DNA PCR과 염기서열 분석을 통해 확인할 수 있으며, 데이터 베이스에서 유전자 locus id를 찾을 수 있다.
- [0015] 본 발명에서 용어 "메틸전이효소"는 메틸기전이를 촉매하는 효소의 총칭으로, 메틸기전달효소의 일종으로 기질인 아미노기, 히드록시기, 티올기를 메틸화하여 메틸화효소라고 부르는 경우도 있다
- [0016] 본 발명에서 용어, "LOC_Os06g20790"는 *Oryza sativa* 6번째 유전체 (chromosome)에 존재하는 유전자로, 이의 발현물은 단백질 메틸전이효소의 일종이다. 상기 LOC_Os06g20790 유전자는 서열번호 2의 염기서열을 가지며, 상기 염기서열은 서열번호 3의 아미노산 서열로 코딩된다.
- [0017] 본 발명에서 상기 식물 형질 전환체 제조에 사용되는 LOC_Os06g20790 유전자는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 염기서열을 가지는 유전자 일 수 있으며, 바람직하게는 서열번호 2의 염기서열을 가지는 유전자 일 수 있으며, 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 코딩되는 유전자 일 수 있다.
- [0018] 상기 LOC_Os06g20790 (TIGR, Os06g0313440 (RAP-DB))의 genome DNA 크기는 8025 bp (서열번호 1)이며 대표 coding sequence (LOC_Os06g20790.1)의 크기는 1113 bp (서열번호 2)로 5개의 exon과 4개의 intron으로 구성되며, 370 개의 아미노산으로 번역되어 단백질 (서열번호 3)이 만들어진다. 이 단백질은 plant methyltransferase domain (Methyltransf_7)을 암호화 한다 (도 1B).
- [0019] 상기 LOC_Os06g20790 유전자는 벼에 내재적으로 존재하는 유전자로, 본 발명에서 용어, "내재적"이란 생물이 천연의 상태로 가지고 있는 것을 의미하는데, 본 발명에서는 식물, 바람직하게는 벼(*Oryza sp.*) 유전체 (chromosome)가 천연적으로 가지고 있는 유전자를 표시할 때 사용한다.
- [0020] 본 발명에서 용어, "활성 강화"는 특정 유전자의 활성을 강화시키는 것을 의미하고, 용어 "활성화"와 혼용하여 사용될 수 있다. 또한 불활성화된 유전자를 활성화시키거나 활성이 낮은 유전자의 활성을 높이는 것도 포함한다. 1) 해당하는 유전자를 1 카피 이상 도입, 2) 해당하는 유전자의 발현 조절 부위에 발현을 유도하는 서열을 삽입, 3) 활성이 강화된 형태로 변형시키는 방법으로 강화, 또는 4) 이의 조합에 의해 활성이 강화되도록 변형시킬 수 있다. 본 발명에서는 바람직하게는 LOC_Os06g20790의 발현 조절 부위에 발현을 유도하는 서열 또는 프로모터(promoter)를 삽입할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 서열번호 4로 기재되는 발현 유도 서열을 포함하는 서열을 삽입할 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 용어, "활성이 낮은 유전자"는 DNA, 즉 유전자 상으로는 존재하나 RNA로 전사(transcription)되는 비율이 낮거나, 단백질로 번역(translation) 되는 비율이 낮아서 본연의 기능을 발휘하지 못하는 것을 의미하고, 본 발명에서는 벼가 내재적으로 가지고 있는 유전자가 전사 또는 번역이 되는 비율이 낮아서 그 기능을 제대로 발현하지 못하는 것을 의미하고, 특히, LOC_Os06g20790 유전자가 그 기능을 제대로 발현하지 못하는 것을 의미한다.

- [0022] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 LOC_0s06g20790 유전자의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열(서열번호 4)을 삽입함으로써, LOC_0s06g20790 유전자의 발현이 증가되는 것을 확인하였다(도 4). 또한, 본 발명의 구체적인 일 실시예에서 상기 LOC_0s06g20790 유전자의 활성이 강화되도록 형질전환된 식물 형질 전환체가 흰잎 마름병에 대해 병 저항성을 가지는 것을 확인하였다(도 5).
- [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 상기 유전자의 발현 조절 부위에 삽입되는 서열은 서열번호 4로 기재되는 발현 유도 서열을 포함하는 것이 바람직하다.
- [0024] 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 생성된 유전자 재조합체를 포함한다.
- [0025] 본 발명에서 용어, "식물 형질 전환체"는 형질전환의 대상이 될 수 있는 모든 식물을 포함하며, 특히, LOC_0s06g20790 유전자 또는 이에 해당하는 유전자가 불활성되거나 활성이 낮은 식물은 모두 제한없이 포함한다. 바람직하게는 상기 식물 형질 전환체는 벼(*Oryza sp.*)일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 동진벼일 수 있다.
- [0026] 본 발명에서 상기 식물 형질 전환체는 흰잎 마름병에 대한 저항성을 가질 수 있다.
- [0027] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 동진벼에 상기 내재적 유전자인 LOC_0s06g20790의 발현 조절 부위에 서열번호 4의 발현 유도 서열을 삽입하는 형질전환을 통하여 LOC_0s06g20790에 해당하는 유전자의 활성이 강화되는 형질전환체를 제조하였으며, 이를 SAMT 14라고 명명하였다.
- [0028] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_0s06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 발현 유도 서열을 포함하는, 식물의 병 저항성 증진용 재조합 벡터를 제공한다.
- [0029] 상기 메틸전이효소, LOC_0s06g20790 및 발현 유도 서열은 상기 설명한 바와 같다.
- [0030] 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 마름병에 대한 저항성을 의미할 수 있다.
- [0031] 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_0s06g20790의 발현 조절 부위에 삽입할 수 있는 기능을 하는 재조합 벡터를 의미한다.
- [0032] 상기 재조합 벡터는 LOC_0s06g20790 유전자가 발현될 수 있도록, 발현조절 서열과 기능적으로 연결되어 있다. 예를 들어, 벡터는 프로모터, 오퍼레이터, 개시코돈, 종결코돈, 폴리아데닐화 시그널, 인핸서 같은 발현 조절 요소 외에도 막 표적화 또는 분비를 위한 신호 서열 또는 리더 서열을 포함하며 목적에 따라 다양하게 제조될 수 있다. 또한, 벡터는 선택성 마커를 포함할 수 있으며, 벡터는 자가 복제하거나 숙주 DNA에 통합될 수 있다. 본 발명의 벡터는 당해 기술 분야에서 잘 알려진 유전자 재조합 기술을 이용하여 제조할 수 있으며, 부위-특이적 DNA 절단 및 연결은 당해 기술 분야에서 일반적으로 알려진 효소 등을 사용한다.
- [0033] 본 발명의 일 실시예에서는, LOC_0s06g20790 유전자의 발현 조절 부위에 서열번호 4의 발현 유도 서열 포함하는 재조합 벡터를 제조하였으며, 이를 아그로박테리움을 통해 벼 세포에 도입하여, 내재적 유전자였던 LOC_0s06g20790 유전자의 발현을 증가하였다.
- [0034] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 (a) 상기 재조합 벡터가 도입된 아그로박테리움으로 식물을 감염시키는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계에서 감염된 식물의 세포를 캘러스(callus)화하여 형질전환된 식물의 세포를 수득하는 단계를 포함하는, 병 저항성이 증진된 식물 형질 전환체의 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(실시예 2).
- [0039] 또 하나의 양태로, 본 발명은 메틸전이효소를 코딩하는 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 LOC_Os06g20790 유전자의 활성을 강화시키는 단계를 포함하는, 식물의 병 저항성의 증진방법을 제공한다.
- [0040] 본 발명의 LOC_Os06g20790 유전자, 활성 강화 및 병 저항성 등은 상기 설명한 바와 같다.
- [0041] 본 발명에서, 상기 용어 "증진"은 본 발명에서 대조군 벼와 비교하여 적어도 5% 또는 10%, 바람직하게는 적어도 20% 또는 40%, 더욱 바람직하게는 50%, 60%, 70% 또는 80% 이상의 병 저항성을 의미하며, 벼가 원래 가지고 있는 병 저항성에 비해 상기 유전자를 도입하여 병 저항성이 증가되는 것을 의미한다.

발명의 효과

- [0042] 본 발명은 벼에 내재적으로 존재하는 흰잎 마름병에 대한 저항성 유전자, LOC_Os06g20790의 발현 조절 부위에 발현 유도 서열을 삽입함으로써, 흰잎 마름병에 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

- [0043] 도 1은 흰잎 마름병에 대한 저항성과 관련된 유전자로 선별된 LOC_Os06g20790의 구조에 대한 개요도로, 도 1의 A는 유전자 상의 구조를 나타내며, 도 1의 B는 유전자가 발현된 단백질의 구조를 나타낸다. 이에 표시된 Methyltransf_7은 메틸전이효소 활성 부분 (methyltransferase domain)을 의미한다.
- 도 2는 LOC_Os06g20790의 발현을 조절하는 부위에 T-DNA를 포함한 유전자 발현 유도 서열이 삽입된 SAMT 14 유전자 변형 벼의 게놈 DNA의 일부분을 나타내는 구조도이다.
- 도 3은 SAMT 14 유전자 변형 벼에서 T-DNA 삽입위치를 PCR로 확인한 도면이다.
- 도 4는 SAMT 14 유전자 변형 벼에서 LOC_Os06g20790의 발현을 확인하는 RT-PCR 결과를 보여주는 도면이다.
- 도 5는 SAMT 14 유전자 변형 벼의 흰잎 마름병에 대한 저항성을 실험한 결과를 보여주는 도면으로, 도 5의 A는 천연형 벼 및 SAMT 14 유전자 변형 벼의 흰잎 마름병균을 가위 접종법으로 접종한 결과를 보여주는 사진이고, 도 5의 B는 이의 감염에 의해 파괴된 벼 잎의 길이를 측정하여 평균 낸 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0044] 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.

[0045] **실시예 1. Bioinformatics를 통한 형질전환 타겟 유전자 선별**

[0046] 동진벼의 유전체가 보유한 식물체의 질환 저항성과 밀접한 관련이 있을 것으로 예측되는 메틸전이효소 230개를 동정하였다. 이 중, microarray data를 바탕으로 MeV v2.0 프로그램을 이용하여 흰잎 마름병에 저항성을 가질 확률이 높은 유전자를 108개 선별하였다. 선별된 유전자에 대하여 형질전환체를 제조하여 병 저항성을 갖는 유전자를 동정해 내는 과정에서, 본 발명의 LOC_Os06g20790이 흰잎 마름병에 저항성을 갖는 유전자로 선별되었다.

[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. 먼저, 유전체 삽입을 위한 T-DNA, 삽입위치의 왼쪽 유전자 서열을 확인하기 위한 N-GUS, 서열번호 4의 유전자의 발현 유도 서열을 포함하는 재조합 벡터를 제조하기 위한, 담배 잎 모자이크바이러스 35S 프로모터 유래 DNA, 삽입위치의 오른쪽 유전자 서열을 확인하기 위한 L-0.5/1.5를 가지는 벡터를 제작하였다. 삽입된 유전체로부터 타겟 유전자의 확인과 증폭을 위한 프라이머는 아래와 같다.

[0050] Enhancer-F (정방향, 서열번호 9)

[0051] 5'- gatccccaacatggtggagc -3'

[0052] Enhancer-R (역방향, 서열번호 10)

[0053] 5'- ggatctagatatcacatcaa -3'

[0054] 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 DNA 합성은 7분으로 하였다.

[0055] 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.

[0056] 추출한 PCR 산물을 상기 제한효소 BamH I /Kpn I 으로 절단하였다. 또한, 재조합 벡터인 pGA2772 벡터를 제한효소 BamH I /Kpn I 로 절단하여, 절단된 벡터를 상기 아가로스겔 정제법으로 정제하였다. 상기 PCR 산물에 의한 DNA 단편을 절단된 재조합 벡터에 삽입하여, 조절부위 발현 유도체 서열 (Enhance sequence, 서열번호 4)이 삽입된 재조합 벡터 pGA2772 vector를 제조하였다.

[0057] **2-2. 형질전환체 제조**

[0058] 상기 제조된 벡터를 전기충격 방법(electroporation)을 이용하여 아그로박테리움 투메파키엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)에 도입하였다. 배양실에서 무균상태로 자란 동진벼에 리프 디스크(leaf disc)법으로 형질전환하였다. 구체적으로는 벼잎을 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, 1mg 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-인덕션 배지(MSO배지에 250 μ g 세포탁심, 10mg 포스피노트리신, 0.7% 피토 한천, pH 5.6)로 옮겨 주었다.

[0059] 발현 유도체가 삽입된 상기 유전자 형질전환 벼를 SAMT 14로 명명하였으며, 이의 유전자 구조는 도 2에 개시된

바와 같다. 구체적으로는, 동진 벼의 첫 번째 유도체에 존재하는 LOC_Os06g20790의 발현 조절 부위로 예측되는 상류부분 (upstream region)에 T-DNA 서열 (서열번호 5)을 삽입하여, 도 2와 같은 유전체 구조를 가진 형질전환체를 제작하였다.

[0060] 2-3. 재조합 벡터의 벼 유전체 삽입위치 확인

[0061] T-DNA 삽입에 의해 만들어진 SAMT 14에 대한 inverse-PCR 및 염기 서열 분석을 통해 T-DNA가 삽입된 염색체를 분석하였다.

[0062] 상기 선발된 계통의 벼 종자를 MSO 배지에 28℃에서 10일간 배양하였다. 이렇게 배양한 개체들의 잎 100mg을 채취하여 액체질소를 이용하여 급냉각한 후 분쇄하였다. 분쇄된 잎에서 one step buffer (1M Tris (pH9.5) 5ml, 0.5M EDTA 1ml, KCl 3.73g을 넣고 물로 50ml을 맞춰 조제)을 이용하여 DNA를 추출하였다.

[0063] SAMT 14는 LOC_Os06g20790 유전자의 발현조절 상류부분에 T-DNA가 삽입된 계통으로 T-DNA 삽입위치에서 앞뒤에서 만들어진 프라이머 (서열번호 6 및 서열번호 7)와 T-DNA 삽입서열 중 NGUS1 프라이머 (서열번호 8)를 이용하여 PCR로 유전형 분석을 하였다.

[0064] PCR 반응은 95℃에서 5분 후; 95℃에서 1분, 57℃에서 1분, 72℃에서 1분 을 38회 반복하고, 마지막으로 72℃에서 7분을 진행하였다. PCR 산물은 agarose gel을 이용하여 전기영동으로 확인하였다(도 3). 이를 통해 유전형을 선발하였다.

[0065] 이에 사용된 프라이머 서열은 다음과 같다.

[0066] SAMT 14_F (서열번호 6)

[0067] 5'-GTCAACATTCGCAGTCAACA- 3'

[0068] SAMT 14_R (서열번호 7)

[0069] 5'-GTGGGTATGTGCAGGGATTA- 3'

[0070] NGUS1 (서열번호 8)

[0071] 5'-AACGCTGATCAATTCACAG- 3'

[0072] 실시예 3. 형질전환 벼의 유전자 활성 검증

[0073] LOC_Os06g20790 유전자의 발현 조절 부위에 발현 유도체를 삽입한 형질전환 벼 (SAMT 14)에서 LOC_Os06g20790 유전자 활성을 역전사 효소 PCR (RT-PCR, reverse transcriptase-PCR)로 확인 하였다.

[0074] 구체적으로는, 형질전환 벼 (SAMT 14)의 잎 0.1g에서 total RNA를 추출하였다. 이를 주형으로 하여 LOC_Os06g20790의 발현을 확인할 수 있는 RNA 역전사효소 프라이머와 역전사 효소 (reverse transcriptase DNA polymerase)를 이용하여 역전사 효소 PCR을 수행하였다.

[0075] 도3 에서 확인할 수 있듯이, 천연형 동진벼에 비하여 본 발명의 형질전환 벼에서는 유전자 LOC_Os06g20790의 발현이 높아졌다는 것을 확인할 수 있었다.

[0076] RT-SAMT 14_F (정방향, 서열번호 11)

[0077] 5'- CAGCTTGCAATGGTTATCCG -3'

[0078] RT-SAMT 14_R (역방향, 서열번호 12)

[0079] 5'- CAACTCACCTTAATGCCA -3'

[0080] **실시예 4. 형질전환 벼(SAMT 14)의 벼 흰잎 마름병에 대한 저항성 검정**

[0081] 상기 실시예 2에서 제조된 형질전환 벼가 흰잎 마름병에 대해 저항성을 보이는지 확인하기 위해, LOC_Os06g20790 발현 조절부위에 발현 유도체가 삽입된 형질전환 벼인 SAMT 14와 대조군으로 천연형 동진벼를 6주간 생장시켜 흰잎 마름병을 유발하는 균주인 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (strain : PXO99Az)를 가위에 묻혀 접종한 2주 후 병증을 측정하였다 (도 5). 병증 측정은 접종한 부위로부터 감염되어 파괴된 상처 길이 (Lesion Lengths)를 측정하여 천연형 동진벼와 비교하였다.

[0082] 도 5의 B에서 확인할 수 있듯이 SAMT 14 형질전환체는 평균 병증의 길이가 천연형 동진벼의 반 정도에 불과하여 (천연형 vs. SAMT 14 : 24.2cm vs. 10.6cm), 흰잎 마름병에 대한 강력한 저항성을 가짐을 확인할 수 있었다.

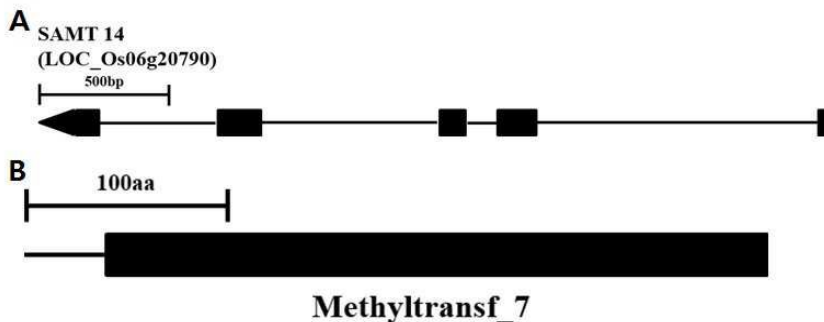
[0083] 이와 같은 결과를 통하여, 본 발명의 형질전환 벼 SAMT 14는 내재적 유전자 LOC_Os06g20790를 활성화시킴으로써 흰잎 마름병에 대한 저항성을 가질 수 있음을 확인하였다.

[0084]

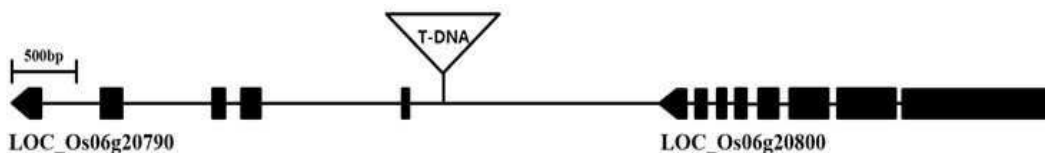
[0085] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

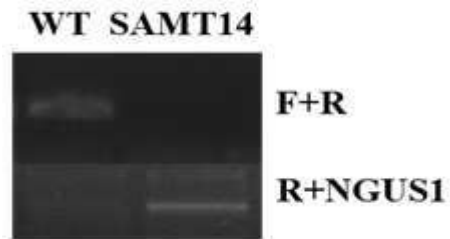
도면1



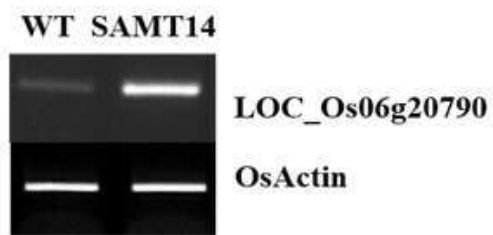
도면2



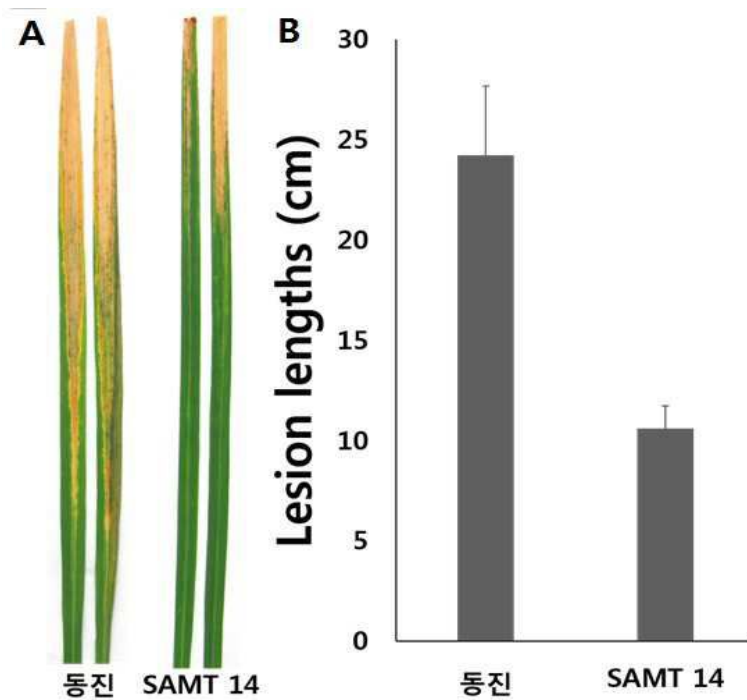
도면3



도면4



도면5



서열 목록

- <110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
- <120> Methyltransferase gene resistant to a bacterial blight, and the transgenic plant using the same
- <130> KPA141024-KR

<160> 12

<170> Kopatent In 2.0

<210> 1

<211> 8025

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<400> 1

aaactgaatc atggccacca actccaaaca gagtgtgcat atgaatccag ggcaagggtga 60

aacgagctat gctcagaact cagcacttca ggtatgcttg tgtttaactc ttaaatgcac 120

aaacttaggc tatgcatgat cacctaattt ctcttatgtg gaatttatgt gtgtactgac 180

tagatgaaga aaccatatgg tgcctttaga tgcgtcggta cgggtgttga aggcaccggt 240

tatgaagatc accgtgcggc gacggcgaat ggaattcgcc attcgttccc cttcaacaca 300

ccttaagatc gaaagtctga gagtgttggg tttggctaag ccgtaaatcg atcgtcgcca 360

atgaacgggt aacgttccct ttatatgttt gtgcattgag gggatcgtgg gcgagtcggt 420

tacgtagata gcgcgtccga tcatcgaca agagagagag caatgtgcac tcgagaccga 480

gggaatcggg tctcatcggt aggcgcgagt gggagtgggg tggaccaagc ccattggcgc 540

aaatctctga ctcggtggcc agagatgcct gctctttctt caaagtgcta taccggcttc 600

ttatgattgt cgaagttga gggcgttgcc tcatttctga gtattacatg ccttgtacta 660

attcgtcatc tgaaggaact gacagtagca gattataaat gaattgaatc attgaaataa 720

gaaccagtca aggcagaatt tgtactgac agatattttt gttttataa aagggtctatt 780

gtacaaaaat tgatgacagt ttgatatttg ccaaaaaaca gagaaatgga tttatttttg 840

tcataatgca atcttattca cctgtttttg acaaaataag gaaaggaatt gccattaata 900

tgggtggaagc taatttttaat ggcctaaatg tttatataaa aatgatcggc tgaatagcta 960

atatggtctc tgaagttttg cttgggctca gtttagtcct cggagtttca aatcattcaa 1020

aaaagtcttc caaattaatc atttgggtta atatagtcct tgaactcaa aaagtgtccc 1080

ttgagcatgc catgccaagt catcctgcca tgcagcggta tgaatgaaat gaccattcta 1140

tccttatata ccatataaaa aagaaagaaa agaaaagaag acaaatgttt cacaggtgta 1200

tgatcgtttt agaattgtca cttacgattg ctgtagtcaa gcaccgatcg ttgggcctcg 1260

gctagcctgt tatttttttc tatttgtgtt tttctttct tttctatata ttatataagg 1320

ttagaatggt catttttatc ataccgctac atcgaggat aacttggcat gctcacgtga 1380

tatttttttg gtccaaggat tatattaacc caaataatta atttggagga ctcgtttgaa 1440

cgatttgaaa cattgaggac taaattgagt ccgaagtga acttaaggga cgtattggc	1500
tatttaccce aatgatcat ataactatgt ttacttggga caattttttt aagaactagg	1560
tgaaccccg cgcatgtctg cgggaattta gtatgaagat atacattgaa acattatgtg	1620
aattatgtta gatgataatt taacatattt gtgtttgaaa agctcttaaa ttataaaaac	1680
tataagata tagcatgctt gcatgatgtt taaatgtgat gattgttagt ggatgatgat	1740
gtggcatctt gtttaattagt ggatgattat atggcatctt gttagtggat gattatgtgg	1800
catctttgca tattaagctt aaggagttag tgggggataa gtttatagta agctaggata	1860
tgctcacttg ttcaaattaa atactccaat tttaatgtaa cggaatattg caccattttt	1920
tcgaactatg atactagatg catcgaggta tgttcgagat aggagaattt ttacaatact	1980
taagagatac caagagatat taaaattttt agttgaaatt tgatacctct tgctactgga	2040
agtattgaga ggaccaaatt ttatataaaa aatatgatac ttgcaggtac ctctcaagt	2100
attataaaat cactcgctaa atagagtcag cttgaagggt gtgtaaaaaa aatgggtttc	2160
acatggaacc aatctaccta gttgtctgac ttgagcgcac ataaatttta taattttgat	2220
gtttgacagt ttaacttggg gcattcataat tttgggtgtg tttagttcac gctaaaattg	2280
aaagtttggg tgaaattgaa gcatgtgac ggaaaagtgt gaagtttgtg tgtgtagaaa	2340
agttttgatg tgatagaaaa gttggaagtt tgaagaaaac ttttggaact aaactcggcc	2400
ttcatcataat tccagttgg taactctatc cattgacggc tgtgttttgt tccacgctaa	2460
aattggaagt ttgactaaaa ttagaagttt aaaggaaaaa gttggaagtt tatgtgtgta	2520
ggaaagtttt gatgtgatgg aaaagttgca agtttgaaga aaagttttgg aactaaactc	2580
tgccctcatc atattcccag ctggtaactc tatccattga cggtgtgttt tagtttcaca	2640
ttaaaattag aagtttgaca aaaattagaa gtttgaagga aaaagttgga agtttatgag	2700
tgtagaaaag ttttgatgtg atggaaaagt tgaaagtttg aagtaaacct ggccttcac	2760
atattcccag ctggtaactc tatccattga cgattgtgtt tagttccaca ccaaattag	2820
aagtttgact aaaattagaa ttccagagaa aaaagttgaa agtttaatta tgtgtgtaaa	2880
aaaagtttta atctgatgga aaaattggaa gtttgaagaa aaaattgaaa actaaacccc	2940
gccgtaatct gaaaatcatc atactacacc caccctgcat tgtgtggcca aaaaagccaa	3000
ctatttcaat gtttactttg cttgcttgca agatctgatt gagacatc tgaaaataat	3060
ttgcacgcag aaaacagccc aggataggat gaagactctg atagaggagg cagtcacagg	3120
cttatgcaca agctcatgtc ctcacccaaa gaacatgggt atcgcggtact tgggtgtctc	3180
ctcgggacca aacgcgtcga cgctcgtctc tgccgcccgc gacgccatcc accgtactg	3240
cgcgagcac gagcagctgc cgccggagat gtgcgtgctc ctgaacgac tgcctgacaa	3300

cgatttcaac gccgtggcga agagcttgga cacactgaag cacagtgggtg atgaagcgct	3360
cgctcgccct actgctgtga tcaccgggtat ggtacctggg tcgttctacg agaggctatt	3420
cgctcgtggc tccttgcat tggtttgctc ggctaacagc ttgcattgggt tatccgaggt	3480
aagtactgcc tccgtttttt aaatatatga tactgttgac ttttaacaa acgttcgac	3540
attcgtctta tttaaaattt ttatgtaaat ataaaaaaaa ttaagtaata cttaaaaaaa	3600
catttaata taaatcaagt cacaatataa taaatgataa ttacataatt ttttttaata	3660
agatgaattg tcaaatgaat ctcaaaagtc aaatggcgctc gtatattaaa aaatggagag	3720
agtaactaat tgtgttgatt acccatccat gtatggaggg ggtatgtttt gatttctgta	3780
agtagtgtgc attgtaactg caggcacctg aagatctcaa gaagagtaga atcccgatgc	3840
atgatagtga tgaacagttg agatcatcaa ggcatcaaat tgtcgcggat tcttatgctc	3900
ggcagtttag gaaggatttc atgcgattct tgagcttgag ggcacaggag attgtccctg	3960
gaggccgaat ggttgtctca ctgttgggtc agcgctcgga caaacctgac actgagttaa	4020
ttcaaccatg gacgccggcg gtgacggctt taagtacat ggcatlaagg gtgagttgac	4080
caatttcggc acataccaat tcagtccttat gttcgtgttt tccaatcaca tatgacacaa	4140
gcacacacat aatctctttg gactgctgtt cccttgttgc ttcgtattca tctacctttt	4200
tcttcaagct cttattcgca aaaaaacaaa aacaaaaaca aaaacaaaag gacacaagca	4260
cacacaagat gtctttgcac acgtcaactc ttaattacg acctacatga ttaattaaag	4320
agggtttttac ctgtatgcc ttaagaaaga tgatgcatgt ctctgtacca cttaaaagtt	4380
cgagccttcc tatatgcat cggcgagctt tatitgcgcc tccacacat tctgtcgcta	4440
ttctgtgtgg gttaaacgt ttggcaaatc tgacatatgg gcccggttag gaaaaatgtc	4500
gctcttgccc tttaaaaaga ggacaggcgg cacggcgac aagcgccag gcgcggcgct	4560
gagtcaggcg accggcgcg cggaagcg gccagccaca atgctgaggc aggcgaccgc	4620
gcgaggcggc caggcgcggc caggcgccag gcggcgctcg cagccagccg aggcgcgcg	4680
gcgcggcgac caggaggggt ggggtggcg gcgggcaagg ccgccccgt agggaatgat	4740
ggccaccgcc acctccatcc acgcgcacca ccacactcaa tccactccac agccaaatcg	4800
aaatctcacc ccgtctcca agccgacgac tcctccccg tccgcccgtg gcatcggcgg	4860
catccgccac ctacaactcc ctcgcgcca ccatcgagct ccacttccgc aagctcaacg	4920
ccatgaaggc cggctcctcc tctcctcct ttgccggcga cggcgctcc ggatcatccc	4980
agcccacggg ctctcctcg tcgcggacca agaagatgga cgaggagcgg cggcgtccgg	5040
ggagggatcc ctctcccg ccatccgggt gtgagatgg gctggcgggt aagagatgag	5100
gaggagcagc ggtggcgcg gcggcgcac ggcagctacc tctcctctc cttctccgtg	5160

ctcgccatcg tggaccggct cgtcgacttc ccactgctct cgttcactat ccagacggac	5220
gccctcgagc acgccacat gtacctccac ctagccatgt acgcgtccgt ggcgctcgcc	5280
gccgacagtg ttgcgtctc ccacaacatc ggcgcgcagg cgctgcttgt ggacgtggtg	5340
gccgcgctcg tcacgtcggg gctcggccag gagctgttcc cctcctcccc ctccctcggc	5400
gccttgggga cgaacgaacg aacacgttgg caagaacgcc taatggcaac taagtcattt	5460
agatgcgctg ttttctaccg ttaggacaaa aaggacggaa tgggtgttag ggcgctataa	5520
agttcgacga tggcatagag ggaggctcga acttttcagt ggacagagg ccagcatcat	5580
ctttcttaat ggcatacggg taataacctc ttaattaaat tctgaaaata atttcatat	5640
gtacaacgtg cgttcactca ctgtcccaca aaatttccag tccagtgaca gttggatgtt	5700
gagtgacaga acatgtgctg caaaactttt caggcgtcct cccttaggg attaaaagag	5760
tttcgaata aatcagctca taggggtact tgcacaagtg catatgtagg caccaaacta	5820
ggttaattta ttacctgaat tactctacaa ctatattgta tttatataa agcagctaca	5880
ctgatacaaa tctactctgt tatactgaat tttcttcaat tcaatgccag ggtgttatca	5940
gcaaagaaaa gcttgactcc ttctacattc ccttgtctg ccctatggac agtgaagtta	6000
acaacatcat agaggaggag ggttcatttg aggtcaacaa gatgatgatg cacgatccgt	6060
atgacggcac gggcaaagcc ttgctcgatc tgaagatggg agccttgcgc gtaagagctg	6120
tatttgagcc aataatagtg cagcattttg cagcgtcaga tgaaatcatg gacgacttcg	6180
tcagagcagt ggagcggcac ttgatcagtt caggggctct ggaagctagg ctgtccggcc	6240
aacaccatt tgccttcttg tgtttgtctc ttactagagc gatgtgatga gacagacggg	6300
tgatagataa tacggtgata ccctgcacct tacggtagga ttgctatgta atgtactact	6360
aacttttact ttttcatct cacaagact ctatttttta gtttttaat ataaggtttg	6420
actcttcac ttttttaaaa ttttatatgg ttagcacttt tattattatt agatgataa	6480
acattaatag tactttgttt gtgtgtatit attttttatt tttttaata agacgtgcag	6540
tcaaaaattg gacataaaac tcaaaggtaa agtctttgtg ggacggaggg tgtaatacga	6600
aactctctgt gaacaatgga gcaagagaaa aagggatatt aattattgac aactatataa	6660
gatcacgcaa caggtttgcc aataaatcag tagtggagag atcaagtaat caagtttcag	6720
tggagagata aatctgatgg acaatgtaaa gaacagataa aattattggc caagatttac	6780
agtgtcaaaa gtacaaggct gcaggataat tgatcgaaaa gccgggttta ttattacata	6840
tttatcaagg aacaaaattg ttggttatta ttatcaaac agaggaaggg aatcgagaag	6900

aggaaggagc tcccatcca tggttcgata gactcgagtg agtcaaggaa atagaactgg 6960
 ttaattaatt ggattcatgc cattataaat ttgctagtgc gaaaaatac cattattatt 7020
 atttgtacaa ctgtaacatt tttaaaattg gatccataac atgccgtaca cttgatacac 7080
 attttgaatc atttcttacc cactgtatct atatatggac ccaaatatcc gtatcttcta 7140
 cagctcaaaa actgtgggta aatttcggta aacatagtta tacatacaag ggaaaaaggg 7200
 ggaaattggg aaaagaaatt tagaaaatgg aaaaataata aaaaagaaag ggcgggtggag 7260
 cggctcgctat ccatgatgac tacccgagcc ggccatccca tccccaccgt cgttggcatc 7320

gacggctttt aactatttac cacttttaga ttggcacaac aactatttgc catctctatc 7380
 tcaatgacat gtgggtccac atgtatttat tacatgtggc ttcagtggca aaaagttaat 7440
 tgtcacatct aaatgtggca aatgggttaa ttttctctc tgctaagctc attgtgttg 7500
 tcggaccatg cagtgcagct acgtctcttg tcaccgttgg ccatgtcacc tctgtcagac 7560
 cgcacgtcgt agctcaacac cagacccgat accgtcgtct ccactagatc tgcttgagct 7620
 gagctcaccg ccaccgggtg tggatcagct cggatagcac gcaagtggc gctaaggcca 7680
 tcgtcgtcgc caggccgcgc atcgctactg ccgggatttg gggaatttgg agcttcggtt 7740

gctgggattt gggctctatg ttaagagagg attggcagga gtacaaaaaa aaatattaca 7800
 caaaaaagat tcaaaacatg tatcaagtgt ataacatggc atagatctaa tttcacgagt 7860
 gttgcaatgg aatgggtata aatagagaat tgtaactagt aagctatatt ttccaaagta 7920
 glaaatttat tgtggcatgt atccaataat ctttttttt tgagacgatg tatccaataa 7980
 tctgattcac ttgagatggc caaaactgtc ctgattatgt tgctc 8025

<210> 2
 <211> 1113
 <212> DNA
 <213> Oryza sativa
 <400> 2

atggccacca actccaaaca gagtgtgcat atgaatccag ggcaaggatga aacgagctat 60
 gctcagaact cagcacttca gaaaacagcc caggatagga tgaagactct gatagaggag 120
 gcagtcacag gcttatgcac aagctcatgt cctcacccaa agaacatggg gatcgcgagc 180
 ttgggtgctt cctccggacc aaacgcgtc acgctcgtct ctgccgccgt cgacgccatc 240
 caccgtact gcgcgcagca cgagcagctg ccgccggaga tgtgcgtgct cctgaacgat 300
 ctgcctgaca acgatttcaa gcgcgtggcg aagagcttgg acacactgaa gcacagtggg 360
 gatgaagcgc tcgctcgccc tactgctgtg atcaccggta tggctacctg gtcgttctac 420

gagaggctat tcgctcgtgg ctcccttgc at ttggtttgct cggctaacag ctgcatgg 480

ttatccgagg cacctgaaga tctcaagaag agtagaatcc cgatgcatga tagtgatgaa 540

cagttgagat catcaaggca tcaaattgtc gcggattctt atgctcggca gtttaggaag 600

gatttcatgc gattcttgag cttgagggca caggagattg tccctggagg ccgaatggtt 660

gtctcactgt tggtaagcg ctggacaaa cctgacactg agttaattca accatggacg 720

ccggcgggta cggtttaag tgacatggca ttaaggggtg ttatcagca agaaaagctt 780

gactccttct acattccctt gtgctgccct atggacagtg aagttaaca catcatagag 840

gaggagggtt catttgaggt caacaagatg atgatgcacg atccgtatga cggcacgggc 900

aaagccttgc tcgatctgaa gatggtagcc ttgcgcgtaa gagctgtatt tgagccaata 960

atagtgcagc attttgcagc gtcagatgaa atcatggacg acttcgtcag agcagtggag 1020

cggcacttga tcagttcagg ggctctggaa gctaggtgt cggccaaca cccatttggc 1080

ttcttgtgtt tgtctcttac tagagcgatg tga 1113

<210> 3

<211> 370

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 3

Met Ala Thr Asn Ser Lys Gln Ser Val His Met Asn Pro Gly Gln Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ser Tyr Ala Gln Asn Ser Ala Leu Gln Lys Thr Ala Gln Asp

20 25 30

Arg Met Lys Thr Leu Ile Glu Glu Ala Val Thr Gly Leu Cys Thr Ser

35 40 45

Ser Cys Pro His Pro Lys Asn Met Val Ile Ala Asp Leu Gly Cys Ser

50 55 60

Ser Gly Pro Asn Ala Leu Thr Leu Val Ser Ala Ala Val Asp Ala Ile

65 70 75 80

His Arg Tyr Cys Ala Gln His Glu Gln Leu Pro Pro Glu Met Cys Val

85 90 95

Leu Leu Asn Asp Leu Pro Asp Asn Asp Phe Asn Ala Val Ala Lys Ser

100 105 110

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

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

 225 230 235 240
 Pro Ala Val Thr Ala Leu Ser Asp Met Ala Leu Arg Gly Val Ile Ser
 245 250 255
 Lys Glu Lys Leu Asp Ser Phe Tyr Ile Pro Leu Cys Cys Pro Met Asp
 260 265 270
 Ser Glu Val Asn Asn Ile Ile Glu Glu Glu Gly Ser Phe Glu Val Asn
 275 280 285
 Lys Met Met Met His Asp Pro Tyr Asp Gly Thr Gly Lys Ala Leu Leu
 290 295 300

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

Ala Met

370

<210> 4

<211> 1361

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> promoter

<400> 4

gatecccaac atgggtggagc acgacactct cgtctactcc aagaatatca aagatacagt	60
ctcagaagac cagagggcta ttgagacttt tcaacaaagg gtaatatcgg gaaacctcct	120
cggattccat tgccagcta tctgtcactt catcgaaagg acagtagaaa aggaagatgg	180
cttctacaaa tgccatcatt gcgataaagg aaaggctatc gttcaagatg cctctaccga	240
cagtgggtccc aaagatggac cccacccac gaggaacatc gtggaaaaag aagacgttcc	300
aaccacgtct tcaaagcaag tggattgatg tgatatctag atccccaaca tgggtggagca	360
cgacactctc gtctactcca agaatatcaa agatacagtc tcagaagacc agagggctat	420
tgagactttt caacaaaggg taatatcggg aaacctctc ggattccatt gccagctat	480
ctgtcacttc atcgaaagga cagtagaaaa ggaagatggc ttctacaaat gccatcattg	540
cgataaagga aaggctatcg ttcaagatgc ctctaccgac agtgggtcca aagatggacc	600
ccccccacg aggaacatcg tggaaaaaga agacgttcca accacgtctt caaagcaagt	660
ggattgatgt gatatctaga tccccaacat ggtggagcac gacactctcg tctactccaa	720
gaatatcaaa gatacagttc cagaagacca gagggctatt gagacttttc aacaaagggt	780
aatatcgga aacctctcg gattccattg cccagctatc tgtcacttca tcgaaaggac	840
agtagaaaag gaagatggct tctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt	900
tcaagatgcc tctaccgaca gtgggtccaa agatggaccc ccaccacga ggaacatcgt	960
ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctagat	1020
ccccaacatg gtggagcacg acactctcgt ctactccaag aatatcaaag atacagtctc	1080
agaagaccag agggctattg agacttttca acaaagggtg atatcgggaa acctctcgg	1140
attccattgc ccagctatct gtcacttcat cgaaaggaca gtagaaaagg aagatggctt	1200
ctacaaatgc catcattgcg ataaaggaaa ggctatcgtt caagatgcct ctaccgacag	1260
tggtcccaaa gatggacccc caccacgag gaacatcgtg gaaaaagaag acgttccaac	1320
cacgtcttca aagcaagtgg attgatgtga tatctagatc c	1361

<210> 5

<211> 8275

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> T-DNA

<400> 5

gtttaccgc caatatacc tgtcaaacac ggatccgagg taccaggta caggtaggtt 60
ccattcttac taccacggtg ctatTTTTT tgctatgtgg ctaattacat gactaacttg 120

gggtgctaaa tcttacaggt tatatgcagg ttatatgcag gtcccggtta ggtcagttccc 180
ttatgttacg tcctgtagaa accccaaccc gtgaaatcaa aaaactcgac ggctgtggg 240
cattcagttc ggatcgcgaa aactgtggaa ttgatcagcg ttggtgggaa agcgcgttac 300
aagaaagccg ggcaattgct gtgccaggca gttttaacga tcagttcgcc gatgcagata 360
ttcgtaatta tgcgggcaac gtctggtatc agcgcgaagt ctttataccg aaaggttggg 420
caggccagcg tatcgtgctg cgtttcgatg cgtcactca ttacggcaaa gtgtgggtca 480
ataatcagga agtgatggag catcagggcg gctatacgcc atttgaagcc gatgtcacgc 540

cgatatgtat tgccgggaaa agtgtacgta tcaccgtttg tgtgaacaac gaactgaact 600
ggcagactat cccgccggga atggtgatta ccgacgaaaa cggcaagaaa aagcagttctt 660
acttccatga tttctttaac tatgccgaa tccatcgag cgtaatgctc tacaccacgc 720
cgaacacctg ggtggacgat atcacctggg tgacgcatgt cgcgcaagac tgtaaccacg 780
cgctctgtga ctggcaggtg gtggccaatg gtgatgtcag cgttgaactg cgtgatcgcg 840
atcaacaggt ggttgcaact ggacaaggca ctacggggac tttgcaagtg gtgaatccgc 900
acctctggca accgggtgaa ggttatctct atgaactgtg cgtcacagcc aaaagccaga 960

cagagtgtga tatctaccg cttcgcgtcg gcatccggtc agtggcagtg aaggccaac 1020
agttcctgat taaccacaaa ccgttctact ttactggctt tggctgctat gaagatcgcg 1080
acttacgtgg caaaggattc gataacgtgc tgatggtgca cgaccacgca ttaatggact 1140
ggattggggc caactcctac cgtacctgc attaccctta cgctgaagag atgctcgact 1200
gggcagatga acatggcatc gtggtgattg atgaaactgc tgctgtcggc tttaacctct 1260
ctttaggcat tggtttcgaa gcgggcaaca agccgaaaga actgtacagc gaagaggcag 1320
tcaacgggga aactcagcaa gcgcacttac aggcgattaa agagctgata gcgcgtgaca 1380

aaaaccaccc aagcgtggtg atgtggagta ttgccaacga accggatacc cgtccgcaag 1440
tgcacgggaa tatttcgcca ctggcggaag caacgcgtaa actcgaccg acgcgtccga 1500

tcacctgcgt caatgtaatg ttctgcgacg ctcacaccga taccatcagc gatctctttg	1560
atgtgctgtg cctgaacctg tattacggat ggtatgtcca aagcggcgat ttggaaacgg	1620
cagagaaggt actggaaaaa gaacttctgg cctggcagga gaaactgcat cagccgatta	1680
tcatcaccga atacggcgtg gatacgttag ccgggctgca ctcaatgtac accgacatgt	1740
ggagtgaaga gtatcagttg gcatggctgg atatgtatca ccgctcttt gatcgcgtca	1800
gcgccgtcgt cggatgaacag gtatggaatt tcgccgattt tgcgacctcg caaggcatat	1860
tgcgcgttgg cggtaacaag aaagggatct tctctcgca ccgcaaaccg aagtcggcgg	1920
cttttctgct gcaaaaacgc tggactggca tgaacttcgg tgaaaaaccg cagcaggag	1980
gcaacaatg aatcaacaac tctctggcg caccatcgtc ggctacagcc tcgggaattg	2040
ctaccgagct cgaatttccc cgatcgttca aacatttggc aataaagttt cttagattg	2100
aatctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc tgttgaatta cgttaagcat	2160
gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat gggtttttat gattagagtc	2220
ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa	2280
ttatcgcgcg cgggtgtcatc tatgttacta gatcggaat taattcatcg atagctagt	2340
catggtgact gtacgttgta agtgcagca actgccgacg cgatgcaaac tgtacacgtt	2400
aacatgccac tcacctggaa cgcacaatgg ccactaggtg cggccgtagt gtggatttca	2460
aagagagaga gagagagaga gagctaatac cgtaaacgta aacacagcag atagcagaga	2520
tgttgattag gcaaacagc 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 attagcccc	2820
aaacatcaga tcaccacaag caaatgtctc gaagacacac gcacacggca acaggataac	2880
tccacactgg cagatcatgg gatagcagca gttatcaatc aggccttgac acacagaaca	2940
tcaagcccc agacgacgac gactcctcta gatcccggtc ggcatctact ctattccttt	3000
gccctcggac gagtgtggg gcgtcgggtt ccactatcgg cgagtlactc tacacagcca	3060
tcggtccaga cggccgcgt tctgcgggcg atttgtgtac gcccgacagt cccggtccg	3120
gatcggacga ttgcgtcgca tcgacctgc gcccaagctg catcatcgaa attgccgtca	3180
accaagctct gatagagttg gtcaagacca atgcggagca tatacgccc gagccgcggc	3240
gactctgcaa gtcctggatg cctccgctcg aagtagcgcg tctgtgtctc catacaagcc	3300
aaccacggcc tcagaagaa gatgttggcg acctcgtatt gggaatcccc gaacatcgcc	3360

tcgtccagt caatgaccgc tgttatgcgg ccattgtccg tcaggacatt gttggagccg	3420
aaatccgcgt gcacgaggtg ccggacttcg gggcagtcct cggcccaaag catcagctca	3480
tcgagagcct gcgcgacgga cgcactgacg gtgtcgcca tcacagtttg ccagtatac	3540
acatggggat cagcaatcgc gcatatgaaa tcacgccatg tagtgtattg accgattcct	3600
tgcggtccga atgggccgaa cccgtctgtc tggctaagat cggccgcagc gatcgcatcc	3660
atggcctccg cgaccggctg cagaacagcg ggcagttcgg ttccaggcag gtcttgcaac	3720
gtgacaccc tgtcacggcg ggagatgcaa taggtcaggc tctcgtgaa ttcccaatg	3780
tcaagcattt ccggaatcgg gagcgcggcc gatgcaaagt gccgataaac ataacgatct	3840
ttgtagaaac catcggcgca gctatttacc cgcaggacat atccacgccc tcctacatcg	3900
aagctgaaag cagcagattc ttcccccctc gagagctgca tcaggtcgga gacgtgtcg	3960
aacttttcga tcagaaactt ctgcacagac gtgcgggtga gttcaggctt ttccatatct	4020
cattgcccc cgggatccgt cgagtcagcc tgaaaggaca aaatcatgt tagcgcctta	4080
gtgttacatt attatttcag tacagcaaga taacacaatt caaaagactg acccataata	4140
aataactagt cctcaattta aaatttgagt tctaaatag acatctatga atatgtgta	4200
catcggcact acagaaaata cgattcccaa taattgaaca attgtacttt atttagttgt	4260
tactacaaca atggaagata caagatcgtt tcaaaactac catacatgca tggagtattt	4320
gtccacaga tctggaaaaa acagatctga cgggcagtgt caccaaacac tagacatatg	4380
tatttgtatt aggtggatga cgtgtacaaa catgactacc agatctagaa ttagaacgcg	4440
gcgtgctttg gaaatgttaa gtagatccaa atacatcggg aacaaatgaa catattcata	4500
tgacatagct gtaaacatc atgatctatc atatcaacta gaggggatct cggcatgtat	4560
cattctattg catctagaac catagcattt ccatgtgaca aacaattttg aaacatacat	4620
tgctcagatc taccataaga acaccatgtt catgacagca tcgacatga ttccacatt	4680
taacagcatc ccgaggtcag atccagtgtt tagaactatc atttcagcaa aattcaciaa	4740
ataaatctc caattcgctt acatatatcc attccacgca tctaggacc agatccacca	4800
taccagtata cacgaacact aaacatttca tcagatccgc taactacgac agagaaaacg	4860
cagatccaga caaccagatc caccgacaaa taaacacagc cccccacatc caacaaccgc	4920
gaatccacc agatctgacc cagaagcagg cacgaagaac acgggggggtg agggagatgg	4980
gacgcggatc caagcttggc ggcggattgg gttgatgctg cgacggcggc ggagaaggga	5040
gagaggggag aggaggaaaa gcgcggaggc gcggagagag gcgagtacga agacgccttt	5100

ctctgcgttg tctcggctta gggtttgcga tccccgcact ccgcccgttt tatagggccca	5160
gacagcctgg acctctcagg agcgggaagcg aagggatggg ggagtttttc gttttacccc	5220
ctttgacgtc ttcaaaattc actcgcactc cacatcgtgc ctgcaaaggt cgggtggttg	5280
gatcatatcg agaataatta ataagttagg gagctttctg ataatatcca ccgaaggag	5340
gccatttcgt ttgcactcgg ttgaagtcca taccgcctc tcgttagttt cactgacagg	5400
tgggtccaga ggcttccctc gtgtgcggtt agcgagtga cgctcgtc caagaaaaag	5460
cagtaggtga ccigggcacc tcgtttagg tgcgaccgat gcagacgtcc cgcttgccgg	5520
tgggcccacg ttacagctgg gtcccacata tcggtgggtg cgatgagttg ttcggtgcgt	5580
aggagtagat tggatcccaa cgggtggttg cgtcgtcggc ggccctgccg attttat	5640
cgatttttga aatgcgagag cgggagaacg gcaccgttgg cttggctgtg gatgccgtta	5700
gccgcaccgg actattcggc ccagttccat tttggcccaa cttgaaacag cgcggagcac	5760
aagacggggg agcccattha ggcccgtaat ctacagcctg tagaaagtcc gtgtcgttgc	5820
gatggaccag aaagcccata aaccttgag gcgttctctg ctgggaataa aataagttca	5880
cactctgtcc ctcaacttha cgtcagagttt gtttgacatc gctaataccc agtaccagaa	5940
atcttggata caaataaggt ttgatataaa gtggcacgtg gtgaatggca tcgtttgaaa	6000
aatcttcaga tcgagcgggc ttcacaagcc gtaagtcaa gtgccaaaat ttgtgaagaa	6060
aattacttcc ttcatctcac aatgtaagt attttagcat tttccacatt catattgata	6120
tcaataaatt tagatagata tatatgtctg aattcgtacc gtaacgagc tctagaagct	6180
tcagtactac gcgtctcgag gcctattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga	6240
gcgatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc	6300
ccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa	6360
ataggcgtat cagaggccc tttcgtctcg cgcgtttcgg tgatgacggt gaaaacctct	6420
gacacatgca gctcccgag acggtcacag cttgtctgta agcggatgcc gggagcagac	6480
aagcccgtca gggcgcgtca gcgggtgttg gcgggtgtcg gggctggctt aactatgcgg	6540
catcagagca gattgtactg agagtgcacc atatgcgtg tgaataaccg cacagatgcg	6600
taaggagaaa ataccgcatc aggcgccatt cgccattcag gctgcgcaac tgttggaag	6660
ggcgtcgggt gcgggcctct tcgtattac gccagctggc gaaaggggga tgtgtgcaa	6720
ggcgattaag ttgggtaacg ccagggtttt cccagtcacg acgttgtaa acgacggcca	6780
gigaattcac tagtgattgc tctagacact gatagtttcg gatctagata tcacatcaat	6840

ccacttgctt tgaagacgtg gttggaacgt cttctttttc cacgatgttc ctctggggtg 6900
ggggtccatc ttggggacca ctgtcggtag aggcatcttg aacgatagcc ttctctttat 6960
cgcaatgatg gcattttag aagccatctt ctttttctac tgtcctttcg atgaagtgc 7020
agatagctgg gcaatggaat ccgaggaggt ttcccgatat taccttttgt tgaaaagtct 7080
caatagccct ctggtcttct gagactgtat ctttgatatt cttggagtag acgagagtgt 7140
cgtgctccac catgttgggg atctagatat cacatcaatc cacttgcttt gaagacgtgg 7200
ttggaacgtc ttctttttcc acgatgttcc tcgtgggtgg gggtccatct ttgggaccac 7260

tgctcgtaga ggcatcttga acgatagcct ttcttttacc gcaatgatgg cattttaga 7320
agccatcttc cttttctact gtcttttcga tgaagtgaca gatagctggg caatggaatc 7380
cgaggagggt tcccgatatt accctttgtt gaaaagtctc aatagccctc tggcttctg 7440
agactgtatc ttgatattc ttggagtaga cgagagtgc gtgctccacc atgttgggga 7500
tctagatata acatcaatcc acttgctttg aagacgtggt tggaacgtct tctttttcca 7560
cgatgttctt cgtgggtggg ggtccatctt tgggaccact gtcggtagag gcattctgaa 7620
cgatagcctt tcctttaccg caatgatggc attttagaaa gccatcttcc ttttctactg 7680

tcctttcgat gaagtgcag atagctgggc aatggaatcc gaggagggtt cccgatatta 7740
ccctttgttg aaaagtctca atagccctct ggtcttctga gactgtatct ttgatattct 7800
tggagtagac gagagtgtcg tgctccacca tgttggggat ctagatatca catcaatcca 7860
cttgctttga agacgtggtt ggaacgtctt ctttttcac gatgttctc gtgggtgggg 7920
gtccatcttt gggaccactg tcggtagagg catcttgaac gatagccttt cttttatcgc 7980
aatgatggca ttgtagaag ccatcttctt tttctactgt cctttcgatg aagtgcaga 8040
tagctgggca atggaatccg aggagggttc ccgatattac cctttgttga aaagtctcaa 8100

tagccctctg gtcttctgag actgtatctt tgatattctt ggagtagacg agagtgtcgt 8160
gtccaccat gtgggggac ctctagagtc gagaattcag tacattaaaa acgtccgcaa 8220
tgtgttatta agttgtctaa gcgtcaattt gtttacacca caatatatcc tgcca 8275

<210> 6
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> SAMT 14_F primer
<400> 6
gtcaacattc gcagtcaaca 20
<210> 7

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> SAMT 14_R primer
 <400> 7
 gtgggtatgt gcagggatta 20
 <210> 8
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> NGUS1 primer
 <400> 8
 aacgctgata aattccacag 20
 <210> 9
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Enhancer-F
 <400> 9
 gatccccaac atggtggagc 20
 <210> 10
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Enhancer-R
 <400> 10
 ggatctagat atcacatcaa 20
 <210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> RT-SAMT 14_F
 <400> 11

cagcttgcat tggttatccg	20
<210> 12	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> RT-SAMT 14_R	
<400> 12	
caactcaccc ttaatgcca	19