

SAGE를 사용한 벼 (*Oryza sativa* L.) 유전자
전사체 분석 및 유용유전자 대량 탐색

Analysis of rice (*Oryza sativa* L.) transcriptomes
and identification of a large number of novel genes
using serial analysis of gene expression

영 남 대 학 교

과학기술부

제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 과학기술부 특정연구개발사업 21세기프론티어연구개발사업 중 과학기술부와 농촌진흥청이 지원하는 작물유전체기능연구사업단 “SAGE를 사용한 벼 (*Oryza sativa*L.) 유전자 전사체 분석 및 유용 유전자 대량탐색” 과제 (과제번호 CG1213)의 단계보고서로 제출합니다.

2004. 8. 31.

주관연구기관명 : 영 남 대 학 교

주관연구책임자 : 강 상 구

연 구 원 : 서 학 수

연 구 원 : 이 동 훈

연 구 원 : 정 혜 경

연 구 원 : 이 현 지

보고서 초록

과제관리번호	CG1213	해당단계 연구기간	2001.09 - 2003.06	단계 구분	(해당단계) / (총1단계)
연구사업명	중 사업명	21세기프론티어연구개발사업			
	세부사업명	작물유전체기능연구사업			
연구과제명	중 과제명				
	세부(단위)과제명	SAGE를 사용한 벼 (<i>Oryza sativa</i> L.) 유전자 전사체 분석 및 유용유전자 대량탐색			
연구책임자	강 상 구	해당단계 참여연구원수	총 : 6 명 내부 : 6 명 외부 : 0 명	해당단계 연구비	정부: 150,000천원 기업: 천원 계: 150,000천원
연구기관명 및 소속부서명	영남대학교 생명공학부		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위탁연구	연구기관명 :		연구책임자 :		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)					보고서 면수 228 번
<p>벼 (<i>Oryza sativa</i> L.)의 수분 전후의 발생과정에 관여하는 유전자들의 발현체들을 연구하였으며 종자 발달 초기단계에 특이적으로 발현되는 유전자군들을 대량 탐색하였다. 이용가치가 높은 유전자들의 cDNA들을 확보하고 염기서열을 분석과 기초적인 기능분석 연구를 수행하였다. 기능유전체적인 방법으로 선별된 유전자들의 실제 발현양상은 Northern analysis를 통하여 검정을 실시하였다. 기능유전체 연구방법은 Serial Analysis of Gene Expression (SAGE), DNA microarray, 차별 cDNA screen방법들을 사용 하였다. 유전자 발현체 분석 결과, 화기형성기에서 약 200여개의 유전자, 수분 5일 후에는 924개의 유전자들의 특이적 발현이 탐지되었다. mRNA 발현분석결과 약 50 여개의 5-DAP specific gene들이 발견 되었으며 약 15개 정도의 유전자들은 수분 전 화기에서만 발현이 되었다. 탐색된 유전자들 중 유전자 기능분석을 위하여 유전자 86개의 cDNA 염기서열을 밝혔다. 이들 중 기능미확인 유전자 (<i>OsGPX</i>, <i>OsLPLA</i>, <i>OsLEUD</i>, <i>OsRHF2</i>) 들의 기능을 분석하였다. 본 연구에서는 주로 벼 초기 종자발생에 관여하는 많은 유전자들의 탐색과 발현특성조사를 하였다.</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	벼, 벼 유전자발현, 벼 종자 발달, 라이포에트 라이게이즈, 기능유전체분석			
	영 어	Rice, <i>Oryza sativa</i> L., gene expression, rice seed development, lipoate ligase, functional genomics			

요 약 문

I. 제 목

SAGE를 사용한 벼 (*Oryza sativa*L.) 유전자 전사체 분석 및 유용유전자 대량탐색

II. 연구개발의 목적 및 필요성

벼 (*Oryza sativa*)의 수분 전후의 발생과정에 따른 유용유전자들의 발현양상을 분석하며, 기능 미확인 novel 유전자와 unidentified cDNA 단편들은 분자생물학적 방법으로 확보하였다. 확보된 기능미확인 Unknown novel gene full length cDNA들을 확보하고 그 염기서열을 밝혔다. 유전자분포 및 발현연구를 Northern analysis 및 expression analysis를 통하여 유전자의 기능을 예측하고 밝혔다. 또한 벼 유용성 novel 유전자의 대량 확보를 위하여 Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 방법 및 DNA microarray을 사용하였다. 아직 알려져 있지 않은 유용유전자들과 novel gene들을 확보함으로써 향후 고부가가치 창출을 위한 유전자원을 준비하고자 하였다. 벼의 유용 유전자들은 향후 생명공학적인 방법을 사용하는 작물분자유종에 필수적 기초자원이므로 유전자의 종합적인 기능연구와 함께 유전자들을 빠른 시일 내에 대량 확보해야 한다. 이를 위하여 최근 개발된 대단위 전사체 (transcriptomes) 연구방법인 Serial Analysis of Gene Expression technology (SAGE: 유전자발현연쇄분석)를 중점적으로 사용하고, 또한 DNA Microarray의 방법을 접목 사용함으로써 벼의 transcriptome (전사체)를 작성하며, 동시에 벼 novel 유전자들을 대량 확보 하고자 하였다. 본 연구에서 밝혀진 Novel유전자, unidentified SAGE 단편, 그리고 조직과 기관 특이적 발현 유용 유전자들은 작물의 분자유종에 제공될 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구의 1년차에는 화기형성시기와 수분후 3-5일 cDNA library 2개 확보, 유용유전자 21개와 기능미확인 novel cDNA 26개 확보, 17개의 선별된 unknown cDNA 유전자발현확인, 화기형성기와 수분전후의 시간적 발현양상에 관한 northern 분석 및 발현확인을 하였다.

연구 2년차에서는 유용유전자 확보 및 그 염기서열 26 건을 완료하였으며, 5개의 unknown gene full length cDNA의 염기서열을 완료하였고, 유용유전자원 30개 stock을 작물유전체에 제공하였다. 새로운 방법의 Long SAGE library 작성 및 분

석을 하였으며, 유전자분포 및 발현연구 Northern analysis 30건 수행하였다. 연구 3년차에서는 유용유전자 확보 및 기능미확인 유전자 86개 염기서열 완료 및 확보, DNA microarray와 Northern을 사용 전체유전자 발현체 분석 및 유용유전자 탐색, microarray의 결과를 사용하여 실제 유전자들을 cloning 하고 염기서열분석을 실시하였다. 그리고 long SAGE library 작성 및 분석, 신규한 유전자 발굴 및 기능 연구 (9건), 신규한 유전자들의 기능 분석 2건을 완료하고 유전자 특허출원을 하였다.

IV. 연구개발결과

벼 화기형성시기와 수분후 3-5일에 작성된 3개의 lambda ZAP cDNA library들로부터 유용유전자와 기능미확인 유전자 염기서열을 86개를 확보하였다. 31 개의 기능미확인 유전자를 확보하였다. 발현연구를 위하여 Northern analysis 30건을 수행한 벼 meiosis stage 특이적 발현을 하는 3개의 cDNA들을 발견하였다. Sucrose synthase, putative eukaryotic lipoate ligase 등을 포함한 6개의 cDNA는 수분 5일 후에 특이적으로 발현이 되었다. 그리고 잎 특이적 발현이 되는 unknown cDNA clone 4개와 *OsVATE* (ATP synthase)를 비롯한 9개의 cDNA들을 확보하였다. 다수의 기능미확인 cDNA들의 발현양상은 기관과 발생과정에 따라 발현정도의 특이성이 있음을 확인하였다. 선별된 23개의 cDNA가 벼 혹은 식물체에서 아직 그 기능이 명확히 규명 되어있지 않은 novel 유전자들이었다. 본 연구결과 DNA binding protein, cold induced protein, phosphoglucomutase, MAP kinase, GTP-binding protein, ubiquitin-RPS27 fusion protein, 그리고 cytidine deaminase, Lipoate ligase 등이 벼 혹은 식물체, 혹은 진핵생물에서 처음으로 보고되는 유전자들이 될 것이다. 수분전후의 mRNA를 사용한 SAGE library의 작성과 염기서열의 분석은 재료의 부족과 기술적인 어려움으로 인해 장기간의 시일이 요구됨으로 계속 꾸준히 진행중이다. 60K rice DNA microarray를 사용한 발현을 분석하였다. 현재 transcription profiling 결과 924개의 유전자가 유도발현이 되었음을 확인 하였고 약 50 여개의 5-DAP specific gene들이 발견되었으며, 약 15개 정도의 meiosis specific gene이 확인되었다. 그러나 대부분 기능미확인 (unknown) 유전자 들이다. 그러므로 기능분석을 한 결과 주요 유용유전자인 Glutathione peroxidase gene (*OsGPX1*)과 abiotic stress에 관한 연구를 완료하였다. 특히 한 개의 기능미확인 유전자가 citric acid cycle과 ATP 생성에 관여하는 lipoate protein ligase 기능을 한다는 것을 밝혔다. 이는 진핵생물체에서 처음으로 밝혀진 lipoate protein ligase 임을 밝혔다. 1단계 연구결과 많은 유용유전자와 기능미확인 유전자들의 탐색과 발현특성조사가 진행되어 기능분석을 위한 차기단계의 기초를 확보하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

현재 생명공학적으로 사용 가능한 유용유전자(GIP, GBSS, GLU, LPLA, RHF2a, GPX1)들을 확보하였다. 지적재산권의 확보로서, 대한민국특허 10-2004-0016434 (2004/3/11)로 Lipoate-protein에 lipoic acid 전이를 하는 신규기능 유전자와 단백질 (A cDNA and it's protein for the lipoate-protein ligase)을 특허 출원을 하였으며, 차기 제 2단계에서 몇 개의 유전자들의 기능분석이 완료되는 대로 유전자특허를 출원하고자 한다. 또한 이들의 다양한 생명공학 생산품, 새로운 품종이나 신기능성 작품의 작성 및 개발을 통한 활용을 위하여 유전자도입체(GMO)의 작성을 시도하고 있다.

S U M M A R Y

Analysis of rice (*Oryza sativa* L.) transcriptomes and identification of a large number of novel genes using serial analysis of gene expression

Sang-Gu Kang

School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

kangsg@yumail.ac.kr

Genes involved in the developmental specific phases, such as the early flowering phase and the post-pollination phase in seed development, are very important resources for crop biotechnology. Numbers cDNAs for useful and novel genes were selected and characterized during the very early stages of flower development and the early seed development by using rice 60K microarray analysis, mini-scale of Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) analysis, and differential expressed cDNA screening methods. The patterns of gene expression were analyzed by northern blot analysis. Furthermore, predicted molecular functions of selected cDNAs were carefully characterized.

About 200 genes were up-regulated in the very early flower development. These were involved in the cellular processes and signaling, nuclear chromosome structure and dynamics, but most were unidentified. However, 924 genes were up-regulated during early seed development. large numbers of these genes identified in 5-DAP were involved in storage and processing, cellular processing and signals, energy production and conversion, carbohydrate transport and metabolism. Hierarchical clustering analysis of differential expressed transcripts were performed from early flower, late flower before pollination, to early seed development (5-DAP).

Sixty-five cDNA clones for specific expressed in the early seed development were identified in 60K-DNA microarray analysis. Forty genes for the early seed development were identified from Long-SAGE analysis. Using functional genomic analysis and the differential expressed cDNA-screening methods, total one-hundred forty-six numbers of full-length cDNAs were cloned. Among them eighty-six cDNAs were sequenced completely. Briefly, these cDNAs coded for translation initiation factor eIF3, starch granule-bound starch synthase, ubiquitin-conjugating enzyme, galactokinase, putative RING-H2 finger protein RHF2a, auxin-responsive GH3, rice specific glutelin, signal

recognition particle19 kDa protein subunits SAP19, sucrose synthase, MAP4K alpha2 protein, liberate protein ligase-like protein (LILA), dormancy-associated protein, EU-1 alpha, nucleotide DNA-binding protein, kidnaps-like protein, beta-expansion, glutathione peroxides (GPS1), RNA binding protein-like, 3-isopropylmalate dehydratase, small subunit, TFIIA-gamma, acyl carrier protein II (ACP II), bifunctional nuclease-S1 type nuclease, and vacuolar V-H+ATPase subunit E. In addition, several differential expressed cDNAs in developmental stages showed unknown function. Among them, RAP19 gene was exactly localized with a rice genomic DNA mutant that showed less-tillering phenotype of Tos17 insertion mutants. Furthermore, here we report the first functional analysis for eukaryotic lipoate-protein ligase (*OsLPLA*) that catalyzes the formation of amide bond between lipoic acid and specific apoproteins pyruvate dehydrogenase and α -ketoglutarate dehydrogenase in Citric Acid Cycle. We also cloned a rice glutathione peroxidase and named *OSGPX1*. Including these cDNAs, useful genes having novel functions will be discussed for their functions. Identification for these useful genes were performed using the profiles of differential gene expression between meiosis and post-pollination specific stages by Northern based selection and DNA microarray.

In this study, we performed the functional and molecular characterization for some of these identified cDNAs. Here we found a cDNA RAP58 was coded for a functional glutathione peroxidase, *OsGPX1*, was isolated and characterized. The *OsGPX1* encodes a protein of 168 amino acids with a predicted molecular mass of approximately 18.5 kDa. The deduced amino acid sequence of *OsGPX1* contains two GPX active site domains and one WNF(S/T)KF domain. There is no plastid transit peptide sequence contained in the *OSGPX1*, suggesting that *OSGPX1* may function in the cytoplasm. The *OsGPX1* gene is located slightly over 85.5 cM from the short-arm end of chromosome 4. The transcripts in the seedlings were quickly induced within an hour after exposure to salt stresses. Furthermore, the gene expression was gradually induced in cold and drought stresses. These results indicated that *OsGPX1* is a newly identified stress-inducible gene of the rice glutathione peroxidase family that protects cells against both metabolic and environmental oxidative stresses.

The cDNA RAP65 was a small subunit of 3-isopropylmalate isomerase and a homolog for *leuD* gene of bacteria. Leucine biosynthesis in bacteria and animal has well been investigated because of main component of protein. However, leucine biosynthesis in plants is largely unexplored. Here we found a

rice cDNA encoding a similar protein to a small subunit of 3-isopropylmalate isomerase (OSIPMI) of *leuD* gene of bacteria. This suggested that plants operate the similar pathway for leucine biosynthesis found in microbe. The *OsIPMI* gene is located on 109.3 cM of chromosome 2. Transcripts of the cDNA were abundant in metabolically active organs including leaves and developing seeds. In a comparison of IPMI protein sequences from various species, we found that the OSIPMI is closely related to those of photosynthetic bacteria than fungus and yeasts. This suggests that plant gene for isopropylmalate dehydratases possibly be chloroplast origin. Further analysis for amino acid composition by PSORT showed that the predicted locations of this protein in cellular organelles could be in chloroplast thylakoid space and/or mitochondrial intermembrane space.

The cDNA RAP19 was predicted as a novel putative RING-H2 zinc-finger protein, named OsRHF2. In the amino terminus of the deduced amino acid sequences of RAP19 OsRHF2 cDNA contained a RING-finger (Really Interesting New Gene) domain, which is specialized type of Zn-finger of 40 residues that binds two atoms of zinc. The domain can be conformed Zn-fingers of the cross-brace motif type, C3H2C3 (RING-H2 finger). The gene expression of RAP19 is up-regulated in flowers in meiosis stage and gradually increased in 5 days after pollination, suggesting that RAP19 may relate to the functions in reproductive organ specific. However, we also predicted that this gene involved in tiller development because of high structural similarity with SE gene of required for normal shoot development. One of the rice Tos17 mutants, NIAS, JP, showed high amino acid sequence homology with that of RAP19. The mutant failed juvenile tillering. The hydropathy profiles of amino acid structure showed typical arrangement of membrane-traversing, hydrophobic regions. This structure suggests that RAP19 is intergral membrane bound protein having some signaling function with protein. *Arabidopsis* photomorphogenic repressor COP1 contained the RING-H2 motif.

The cDNA RAP41 was a gene for lipoate-protein ligase function. Up to date, eukaryotic lipoate-protein ligase of plants has not been identified. Lipoate protein ligase was known to catalyze the transfer of the lipoyl group from lipoyl-AMP to the specific lysine residue of the lipoate dependent enzymes, including glycine cleavage enzymes, α -ketoglutarate dehydrogenase, and pyruvate dehydrogenase which catalyzes a key reaction providing acetyl-CoA for citric acid cycle and NADH for oxidative phosphorylation. Functional complementation analysis using *E. coli* *lplA/lipB* null mutant revealed that novel RAP41 (putative

OsLPL) gene in expression vector substituted functionally the mutant *lplA/lipB* gene of mutant *E. coli*. In seeds development, the gene expression was developmentally up-regulated. These results indicated that RAP41 gene expression is necessary in functions for citric acid cycle to produce energetic molecules such as ATP and NADH in mitochondria. These results demonstrated that RAP41 is the first identified gene for the lipoate-protein ligase of plants.

Contents

PART 1. Outline	15
Chapter 1. Objectives	15
Chapter 2. Necessity of research	16
PART 2. Current research	17
PART 3. Contents and Results	18
Chapter 1. Contents of research	18
1. Outline of research	18
A. SAGE library analysis	19
2. Material and methods of SAGE analysis	20
A. Construction of SAGE library	20
Chapter 2. Result and discussions	22
1. Analysis the pattern of gene expression in the meiosis stages and the seed developmental stage	22
A. Results of 5DAP SAGE DNA sequencing	23
2. DNA Microarray analysis	29
A. Materials and methods	29
(1) RNA labeling	29
(2) Hybridization	29
(3) Scanning and data analysis	30
B. Analysis of cDNA microarray	33
(1) Results of microarray analysis	33
(2) Hierarchical clustering analysis	36
(3) Cloning for genes selected by microarray	39
3. Screening of promoter expressed specifically in 5DAP-seed	41
A. Screening of genes expressed in 5 day-seed after pollination	41
B. Cloning promoter of 5days-specific expressed genes	49
4. Functional genomics and analysis of gene expression by RNA differential northern hybridization	54
A. Materials and methods	54
(1) Construction of cDNA library	54

B. cDNA sequencing and characterization of gene expression	58
(1) Selection of novel gene by SAGE and Microarray and RNA differential northern blot analysis	58
(2) Characterization of gene expression for selecting genes	60
5. Functional analysis of unknown genes	79
A. Functional analysis of RAP41 gene	79
(1) RAP41 materials and methods	82
(2) RAP41 results and discussions	85
B. Functional analysis of RAP58 gene	94
(1) RAP58 materials and Methods	96
(2) RAP58 results and discussions	96
C. Functional analysis of RAP19 gene	110
(1) RAP19 materials and Methods	110
(2) RAP19 results and discussions	111
D. Functional analysis of RAP65 gene	119
(1) RAP65 gene analysis	119
(2) RAP65 results and discussions	121
E. Functional analysis of RAP74 gene	125
(1) RAP74 results and discussions	125
F. Functional analysis of RAP156 gene	131
(1) Results and discussions	131
 PART 4. Accomplishments for proposed goals and contributions	 133
 PART 5. Applications	 135
 PART 6. Technology improvement	 136
 PART 7. References	 137
 Appendix 1.	 144
Appendix 2.	152

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	15
1 절. 연구개발과제의 개요	15
2 절. 연구개발의 필요성	16
1. 연구개발의 중요성	16
2. 연구개발의 필요성 요약	16
제 2 장 국내외 기술개발 현황	17
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	18
1 절. 연구수행 내용	18
1. 연구개요 및 연구체계	18
가. SAGE 분석	19
2. 연구재료 및 방법	20
가. SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) Library 의 작성	20
2 절. 연구수행 결과	22
1. SAGE를 통한 벼 (<i>Oryza sativa</i>)의 수분 전후의 발생과정에 따른 유전자들의 발현양상 분석	22
가. 5DAP SAGE DNA sequencing결과	23
2. Microarray를 통한 유용유전자의 탐색	29
가. Microarray 연구재료 및 방법	29
(1) Oligonucleotide microarray hybridization의 RNA labeling	29
(2) Microarray hybridization	29
(3) Microarray 스캔과 데이터 해석	30
나. Microarray의 결과 분석	33
(1) Microarray의 결과 해석	33
(2) Hierarchical clustering analysis	36
(3) Microarray를 통해 선별된 유전자의 클로닝	39
3. 수분후 특이적으로 발현되는 프로모터의 탐색	41
가. 수분후 (5dAP)에서 특이적으로 발현되는 유전자의 프로모터 탐색	41
나. 수분후 특이적으로 발현되는 프로모터의 클로닝	49

4. 기능유전체의 방법과 RNA differential northern 분석으로 탐색된 유전자의 발현분석 및 염기서열분석	54
가. 연구재료 및 방법	54
(1) library 제작	54
나. 유용 cDNA 염기서열 분석 및 발현특성 연구	58
(1) 기능유전체의 방법 (SAGE와 microarray)과 RNA differential northern 분석	58
(2) 유용유전자 선별을 위한 유전자 발현조사	60
5. 기능 미확인 유전자의 기능 연구	79
가. RAP41 유전자의 기능분석 (Functional analysis)	79
(1) RAP41 연구재료 및 방법	82
(2) RAP41의 연구결과	85
나. RAP58 (<i>OsGPX1: Oryza sativa</i> glutathione peroxidase 1) 유전자의 기능연구	94
(1) RAP58의 연구재료 및 방법	96
(2) RAP58의 연구결과	96
다. RAP19 (<i>OSRHF2a : Oryza sativa</i> putative Ring-H2 finger protein) 유전자의 기능 연구	110
(1) RAP19의 기능연구 재료 및 실험방법	110
(2) RAP19 기능연구 결과	111
라. RAP65 (<i>OsLEU-D : Oryza sativa</i> Leucine D gene) 유전자의 기능 연구	119
(1) RAP65 유전자 분석	121
마. RAP74 (<i>OSGIP : Oryza sativa</i> putative Phosphoinositol Glycan) 유전자의 기능 연구	125
(1) RAP74의 아미노산서열 상동성 비교	125
(2) RAP74 유전자의 호르몬에 대한 발현 양상 분석	125
(3) Glycosylphosphatidylinositol (GPI)의 특성	129
바. RAP156 (<i>OsMADF : Oryza sativa</i> MADS box) 유전자의 기능연구	131
(1) RAP 156 (novel MADS-box gene)	131
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	133
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	135

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	136
감사의 글	136
제 7 장 참고문헌	137
첨부 1	144
첨부 2	151

제 1 장 연구개발과제의 개요

1 절. 연구개발과제의 개요

벼 (*Oryza sativa*)의 수분 전후의 발생과정에 따른 유전자들의 발현양상을 종합적으로 분석하며, 기능 미확인 novel 유전자와 unidentified cDNA 단편들은 분자생물학적 방법으로 확보하였다. 확보된 기능미확인 Unknown novel gene full length cDNA들을 확보하고 그 염기서열을 밝혔다. 유전자분포 및 발현연구를 Northern analysis 및 expression analysis를 통하여 유전자의 기능을 예측하고 밝혔다. 이러한 벼 유용유전자의 대량 확보를 위하여 Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 방법, 벼 DNA microarray, 그리고 수분 후 5일째의 cDNA library로부터 differential northern blotting등을 사용하여 본 연구를 진행하고 유용한 cDNA들을 확보하였다. 확보된 각 유전자의 발현양상을 공간적이고 시간적인 특성으로 종합하여 정리하고 식물체에서 가장 다양한 발생과정과 생리현상이 있는 화기형성기(IF)와 수분 5일 후(5-DAP)의 많은 유용성 및 unknown 유전자들을 중점적으로 연구하였다. 유전자 전사체 분석 (transcription analysis)결과 차별적인 발현을 보이는 spots에 해당하는 유전자들의 단백질 Clusters of Orthologous Groups (COG)을 분석한 결과, very early flower에서는 약 204개의 spot이 up-regulate 되었다. 그 중 post-translational modification, protein turnover, chaperones가 5개, 그리고 cellular process와 signaling에 관여하는 유전자들의 발현이 두드러졌다. 5-DAP에서는 약 924개의 significant spot들이 있었으며, translation, ribosome의 구성 및 생합성, 에너지생성, 탄수화물 대사 및 이동, 아미노산 이동 및 생합성 등의 대사에 관계되는 유전자들의 발현이 두드러졌다. 수분 후 배 발생 시 기관형성에 관계하는 유전자군, 종자의 발생 및 생리관계 유전자군, 식물호르몬들과 신호전달에 관계하는 유전자군 등의 시간과 공간적으로 다양한 변화를 보이며 발현되는 유전자들이 확보되었다.

벼 화기형성시기와 수분 후 3-5일에 작성된 3개의 lambda ZAP cDNA library들로부터 유용유전자와 기능미확인 유전자 염기서열을 86개를 확보하였다. 31 개의 기능미확인 유전자를 확보하였다. 발현연구를 위하여 Northern analysis 30건을 수행한 바 meiosis stage 특이적 발현을 하는 3개의 cDNA들을 발견하였다. Sucrose synthase, putative eukaryotic lipote ligase 등을 포함한 6개의 cDNA는 수분 5일 후에 특이적으로 발현이 되었다. 그리고 잎 특이적 발현이 되는 unknown cDNA clone 4개와 *OsVATE* (ATP synthase)를 비롯한 9개의 cDNA들을 확보하였다. 다수의 기능미확인 cDNA들의 발현양상은 기관과 발생과정에 따라 발현정도의 특이성이 있음을 확인하였다. 선별된 23개의 cDNA가 벼 혹은 식물체에서 아직 그 기능이 명확히 규명 되어있지 않은 novel 유전자들이었다. 본 연구결과 하나의 DNA

binding protein family, cold induced protein, phosphoglucomutase, MAP kinase, GTP-binding protein, ubiquitin-RPS27 fusion protein, Ring H2 zinc-finger protein, cytidine deaminas, pgsospatydilinosytolglycan class-F, GPX, 그리고 lipoate ligase 등의 신규한 (novel) 유전자들이 확보되었다. 신규한 유전자들의 기능분석을 한 결과 주요 유용유전자인 glutathione peroxidase gene (*OsGPX1*)과 abiotic stress에 관한 연구를 완료하였으며, 식물의 Lucine-D 유전자, Ring H2-Zn finger 단백질, Phospatidilinosytol glycan 유전자, 그리고 특히 한 개의 기능미확인 유전자가 citric acid cycle과 ATP 생성에 관여하는 lipoate protein ligase 기능을 한다는 것을 밝혔다. 이는 진핵생물체에서 처음으로 밝혀진 lipoate protein ligase 임을 밝혔다. 1단계 연구결과 많은 유용유전자와 기능미확인 유전자들의 탐색과 발현특성조사가 진행되어 기능분석을 위한 차기단계의 기초를 확보하였다.

2 절. 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 중요성 : 벼의 유용 유전자들은 향후 생명공학적인 방법을 사용하는 작물분자육종에 필수적 기초 자원이므로 종합적인 연구와 함께 한국 소유 유전자들을 빠른 시일 내에 대량 확보해야 한다. 이를 위하여 최근 개발된 대단위 천사체 분석 연구 방법인 Serial Analysis of Gene Expression technology (SAGE: 유전자발현연쇄분석), DNA Microarray, northern blot 분석 방법들을 사용함으로써 벼 신규한 유용유전자들을 확보 하였다. 본 연구에서 확보된 유전자들은 작물의 생명공학적 활용에 중요한 유전자원으로서 그 가치가 높다.

2. 연구개발의 필요성 요약 : 벼 유전자원들을 향 후 식량증산 및 고부가가치 농업 생명공학에 중요한 자원임으로 세계 각국에서 경쟁적으로 유전자들을 확보하고 있다. 한국은 벼를 가장 중요한 작물로서 고유의 유전자원들을 갖고 있지만 미국 일본 등에 비하여 벼 유전자의 genomics 연구는 활발하지 못했다. 현재 선진국에서는 유전자 전체염기서열의 해독이 완료된 상태임으로 접근이 어려운 상태이다. 그러나 각 개별유전자의 기능을 밝히는 기능유전체분야는 아직 완성되지 않았다. 즉, 유전자 발현체인 cDNA 들을 확보하고 연구하여 유전자를 확보하는 것이 시급하다. 그러므로 본 연구에서는 아직 알려져 있지 않은 유용유전자들과 novel gene들을 확보함으로써 향 후 고부가가치 창출을 위한 유전자원을 준비가 필요하다. 연구개발의 필요성은 신규한 유전자들을 확보함으로써 벼 유용유전자들을 실리적 용도와 소유 개념인 DNA형태로 확보하고자 하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

21세기의 폭발적인 인구의 증가와 함께 다가올 세계식량의 심각한 위기는 이제 피할 수 없는 상황에 이르렀으므로 가장 많이 소비되는 식량인 벼에 대한 연구가 전 세계적으로 집중화 되고 있다. 특히 벼에 관한 genomics, 생명공학, 그리고 분자유전육종의 연구는 전 세계 선진국에서 집중화된 연구형태로 진행 중이다. 최근 벼의 유전자 genome염기서열분석은 한국의 Korea Rice Genome Research Program, 일본의 Rice Genome Research Program, 미국의 The Institute for Genomic Research (TIGR)의 벼 genome project, 그리고 국제 International Rice Genome Sequencing Project등 방대한 연구를 수행하고 있다. 이와 함께 소규모 연구소 및 연구실들에서 많은 노력을 경주함으로써 벼의 genome 해독이 완료 상태에 있다. 그러므로 벼의 유전자를 실제 사용할 수 있는 목적으로 기능유전체의 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구의 과제도 한국 과학기술부의 21세기 프론티어 사업인 작물유전체 기능연구사업단의 연구과제의 일부로서 참여하고 있다. 국내에서도 구조유전체가 완성이 된 현재상황에서 벼 유전자의 기능을 밝히거나 발현전사체들을 규명하는 등의 기능유전체에 관한 연구가 진행되고 있다. 현재 한국의 경우 작물유전체 사업에 의하여 microarray와 T-DNA tagging 유전자 연구 등의 방대한 연구가 진행되고 있다. 그럼에도 불구하고 국내 작물의 신규유전자에 관한 기능규명연구 결과는 그 사례가 적다. 그러나 고도 기술의 기능유전체(functional genomics)학의 발전으로 국내외에서 유용 유전자들을 탐색하고 그 기능을 밝히는 종합적인 연구개발이 활발히 진행 될 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1절. 연구수행내용

1. 연구개요 및 연구체계

화기형성기 및 개화전 단계 (IF) 와 수분 후(AP)의 SAGE 분석과 cDNA library를 통해 Novel 유전자 발굴하고 이들 유전자의 기능을 밝히고자 하였다. 벼의 발생 중 vegetative growth의 reproductive growth의 과정과 종자의 결실과정에 따른 cDNA library들을 확보하고 동시에 각 생육단계별 유전자의 발현분석을 실시하였다. Meiosis (감수분열)의 단계를 포함한 수분전과 수분후의 결실단계는 식물체에서 가장 다양한 발생과정과 생리현상이 있으므로 가장 많은 종류의 유전자가 발현이 된다 (그림1). 이는 각종 morphogenesis가 다양하여 homeotic 유전자군, eggs와 pollen의 생성 과정에 관계하는 유전자군, meiosis cell cycle과 recombination에 관계하는 유전자군 등의 다양한 novel 유전자들이 발현하게 된다. 수분과 동시에 zygotes의 형성과 발달 관련 유전자군, embryo (배) 발생 및 초기 기관형성 유전자군, Seed development와 Endosperm의 발생 유전자군, 저장물질 생리대사 관계 유전자군, 식물호르몬들과 신호전달에 관계하는 유전자군 등이 짧은 시간 내에 다양한 변화를 보이며 발현이 조절 될 것이다. 이들 두 발생과정의 유전자 발현체계 변화를 비교분석 함으로써 시간과 공간적으로 특이적 발현을 하는 유전자들을 확보하고자 한다.

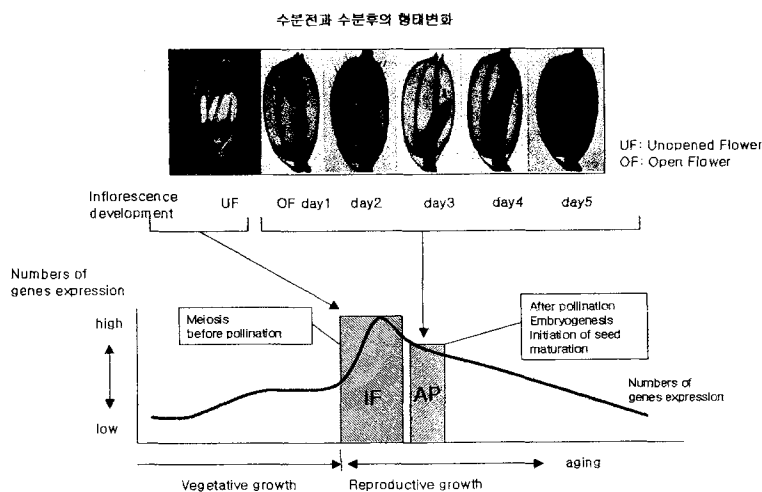


그림 1. 화기형성기 및 개화전 단계 (IF) 와 수분 후 (AP)의 유전자 발현

가. SAGE 분석

수분전 발생 시기 수분 후 종자의 발생 및 생리관계 유전자군 발현되는 유전자를 탐색하고, Microarray 와 Long SAGE를 실시하여 전체적인 유전자 발현을 조사하며, 기능 미확인 및 신규한 novel 유전자의 기능규명을 규명하고자 하였다. 기능유전체의 연구에는 유전자 발현 비교분석법 (Comparative gene-expression analysis) 이 유전자의 기능을 이해하고 동시에 전체발생상의 유전자 발현 양상을 밝히는 유용한 방법으로 평가받고 있다. (Adams, 1996; Bertelson, 1998; Velculescu, 1998) 이러한 발현체 확보는 EST, Differential Display, DNA microarray, 그리고 최근 개발된 Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)가 사용되고 있다. 최근 SAGE를 사용한 유전자 전사체의 작성은 생명체의 시공간적 발달양상을 기술하는 방법으로서 암 연구와 각종질병의 조기진단 및 관련 유전자 탐색에 많이 사용되고 있다 (Velculescu, 1999; Velculescu et al., 1999). 그림2에서 보는 바, SAGE는 sequence-based 접근 방식으로써 서로 다른 조직과 기관, 정상과 비정상, 유전자 발현유도물질 (예, hormone, pathogen, 극환경변화, 및 화학물질)처리 등의 생명체들을 동시에 비교분석을 실시함으로써 종합적인 유전자의 발현양상을 조감할 수 있다. 그리고, 하나의 mRNA를 대표하는 10bp (I-SAGE) 혹은 21bp (Long-SAGE) 정도의 짧은 3' oligo (Tag)는 각 발현 유전자를 대표함으로 단기간에 경제적으로 전체 유전자의 발현양상을 분석할 수 있다. 각 tag들은 concatamer를 형성하도록 ligation 되어 plasmid vector들에 cloning 된다. 그러므로 하나의 plasmid에 1.5 kb의 연결된 tag들의 insert 염기서열결정은 100개의 tag들을 (100개의 mRNA = 100개의 발현유전자) 대표하게 된다. 염기서열이 결정된 tag들을 bioinformatics의 방법으로 분석한 후 전체 유전자 data base에서 상동 유전자들을 검색하여 profile를 만듦으로써 시공간적으로 유전자의 발현을 알 수 있다 (그림2). 비의 SAGE library에 관한 연구를 통하여 유전체의 발현양상을 분석하고 5-DAP에서 많은 출현빈도를 보이는 SAGE tag들에 해당하는 cDNA들을 library나 EST bank로부터 확보하고자 하였다.

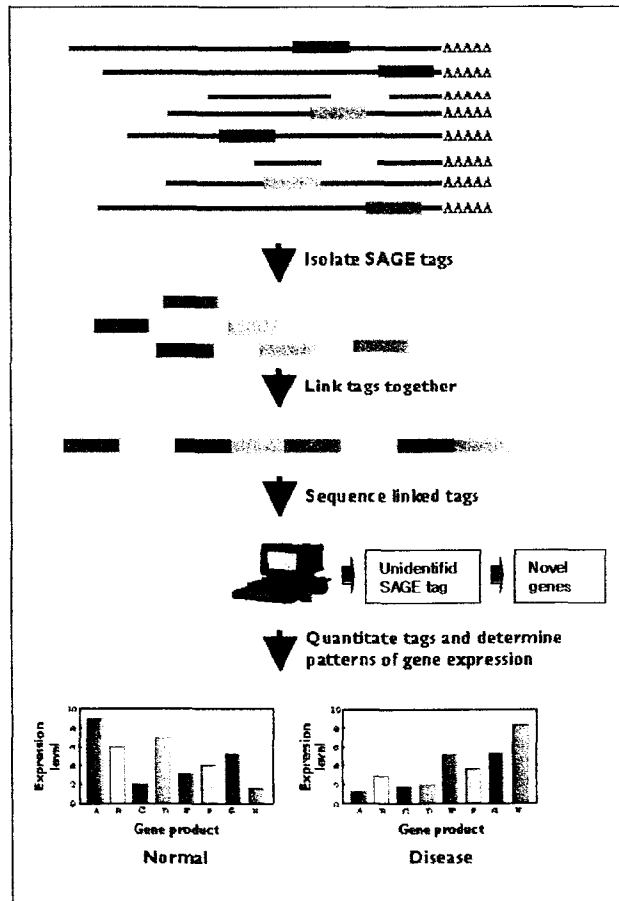


그림 2. SAGE(Serial Analysis of Gene Expression)의 모식도

2. 연구재료 및 방법

가. SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) Library 의 작성 : LongSAGE 방법을 사용하여 SAGE library를 작성하였다 (그림3). 비의 수분진 화서 (VEf)와 수분후 5일된 화서 (5DAP)로부터 mRNA를 분리한 후 cDNA를 만들었고, oligo dT에 biotin를 붙였다. Dynabead M-280 Streptavidin slurry를 사용하여 cDNA를 잡아주고, 12~15개의 bp를 인지하여 절단하는 제한효소 NlaIII을 사용하여 cDNA의 3' 끝부분만 남겨두었다. NlaIII half가 부착된 Adaptor들을 ligation하였다. Adaptor1은 linker1A와 1B, Adaptor2는 linker2A와 2B를 사용하였다.

로 분리되어져 있다 (그림 5, box표시된 sequence). 이들 CATG염기서열은 약 41bp 마다 존재하는 것을 볼 수 있었다. 그림 5에서 보는 바와 같이 하나의 SAGE clone의 염기서열 분석결과 Transcript sequence들은 NlaIII 제한효소자리(CATG)로 분리되어져 있다. 각 CATG (box표시된 sequence)로 연결되어 있는 Long SAGE ditag들은 41-42 bp 들로 이루어져 있으므로 각 tag 들은 21 bp가 된다. 하나의 clone 염기서열 결과는 22개의 발현된 mRNA (cDNA)를 나타낸다.

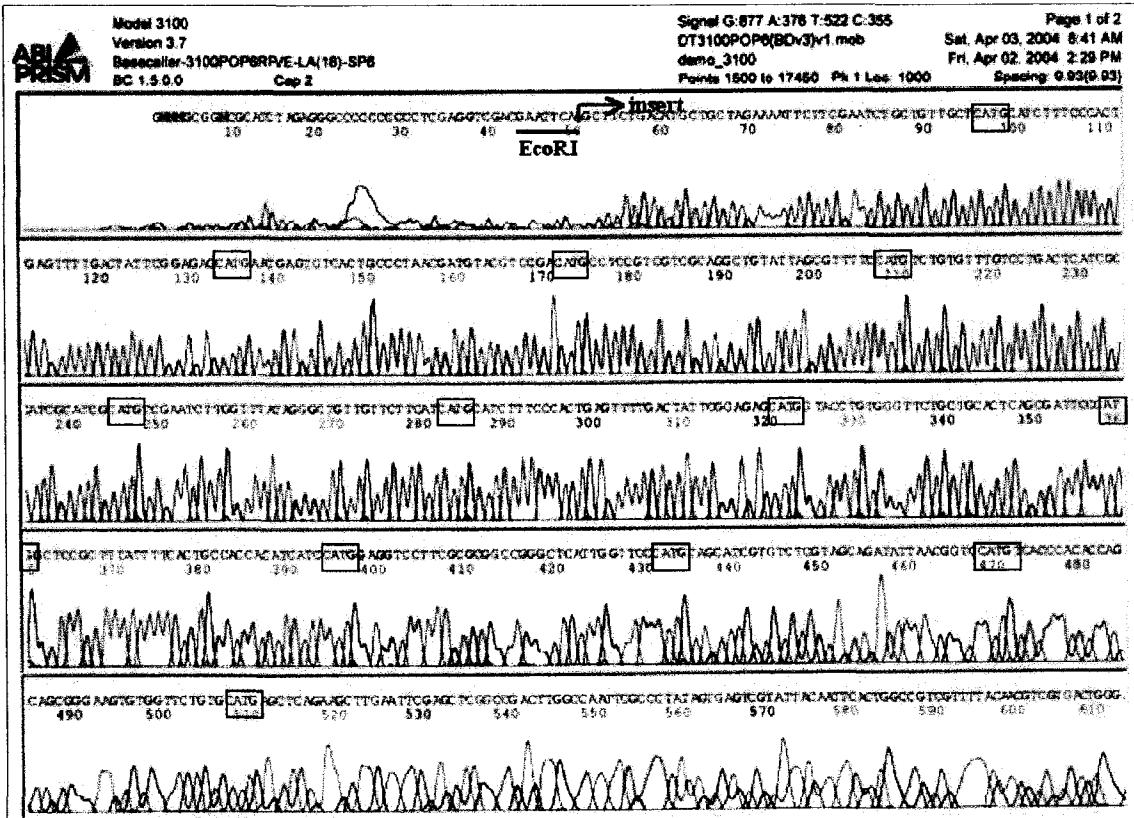


그림 5. SAGE clone의 염기서열 분석. Transcript sequence들은 NlaIII 제한효소자리(CATG)로 분리되어져 있다. 각 CATG (box표시된 sequence)로 연결되어 있는 Long SAGE ditag들은 41-42 bp들로 이루어져 있으므로 각 tag 들은 21 bp가 된다. 하나의 clone 염기서열 결과는 22개의 발현된 mRNA (cDNA)를 나타낸다.

가. 5DAP SAGE DNA sequencing결과

5DAP SAGE DNA sequencing결과는 SAGE 2000 Analysis software 4.0 (Invitrogen.Co.)을 사용하여 분석하였다. Anchoring Enzyme은 NlaIII-CATG를 지

정하였으며, di-Tag length는 41을 기준으로 선정하였고, 전체 SAGE sequencing file결과에서 total 10,020개의 DNA 단편 tag들을 분석하였다. SAGE Analysis software에서는 10개의 bp로 이루어진 tag를 정산하여 반복되는 횟수를 고밀도순으로 정리가 되었다. Table 1에서는 CCTCCGTCGT의 염기를 갖는 tag가 21회 반복으로 가장 높은 빈도를 나타내었다. 그리고 3회 이상의 빈도를 나타내는 tag까지만 정렬을 하였다. 10bp와 tag들을 database search를 하였으나, 다양한 cDNA들이 선택되었다. 현재 SAGE를 통하여 선별된 41개의 cDNA들 중, Rubisco activase의 tag (CCCAGCTATGGCTTGGGCCT)이 포함된 것으로 보아 발현상태가 발생단계나 조직 특이적으로 발현되는 유전자보다 상대적으로 transcript의 양이 많은 유전자의 tag가 반복적으로 포함되었다고 여겨진다. 그러므로 21bp의 Long SAGE tag를 기준으로 높은 빈도를 나타내는 순으로 21bp tag들을 정리하였다. 그리고 4회 이상의 반복 빈도를 나타내는 21bp-tag들을 정리하고 BLAST를 사용하여 각 tag들에 해당하는 cDNA들을 분석하였다. 그 결과, 약 41개의 cDNA들이 수분 후 5일에 많이 발현되는 것을 밝혔다. 이들의 cDNA는 대부분 기능이 밝혀져 있지 않는 유전자들이었다. 그러므로 21 bp을 하나의 tag로 하는 long SAGE의 분석의 경우 DNA 단편의 길이가 10 bp 밖에 되지 않은 I-SAGE보다 상대적으로 염기의 길이가 2배 길기 때문에 BLAST 분석의 error의 확률은 극히 적다. 실제 long SAGE의 tag들을 분석하여 빈도가 4회 이상의 SAGE tag들을 정리하여 본 결과 40개의 유전자가 선택되었다. 이들의 원래유전자들을 BLAST 분석으로 찾아본 결과 대부분이 벼의 cDNA나 혹은 genomic DNA로 밝혀졌다 (Table 2). 그러나 Table 2에서 보는 바와 같이 대부분은 기능미확인의 유전자들이었다. 그러므로 이러한 고밀도의 tag들은 PCR이나 cDNA screening을 통하여 종자발생과정의 발현정도를 northern blot을 통하여 점검하고자 한다. Long SAGE는 microarray가 아직 제작되지 않은 생명체의 유전자들의 발현을 측정하는데 대단히 좋은 방법임에는 분명하였으나, 상대적으로 실험의 시간과 경비 및 노력이 많이 소요되었다. 그러나 21bp tag에 해당하는 수분 후 5일에 발현되는 유전자 40개를 확보하였다.

Table 1. Tag Abundance Report

Tag Abundance Report

MS Access File Name = C:\Program Files\SAGE2000\SAGE.MDB

Molecular Genetics Lab. SANGGU KANG

Total tags after excluding tags = 10020

Count	Percent	Tag Sequence	Tag BaseFour Number
21	1.0184	CCTCCGTCGT	382684
Genes in Class = 1 * Tags in Class = 21			
Cumulative Gene Count = 1 * Cumulative Tag Count = 21			
15	0.7274	AATTGAGTTC	63678
Genes in Class = 1 * Tags in Class = 15			
Cumulative Gene Count = 2 * Cumulative Tag Count = 36			
13	0.6304	GCGGCAAAGC	631818
Genes in Class = 1 * Tags in Class = 13			
Cumulative Gene Count = 3 * Cumulative Tag Count = 49			
12	0.5819	CGTGCCAGGC	451882
Genes in Class = 1 * Tags in Class = 12			
Cumulative Gene Count = 4 * Cumulative Tag Count = 61			
10	0.4849	TCGGACGTAC	893362
10	0.4849	TGCGCGCCTG	1021535
Genes in Class = 2 * Tags in Class = 20			
Cumulative Gene Count = 6 * Cumulative Tag Count = 81			
9	0.4364	GTACCTGTGG	726971
Genes in Class = 1 * Tags in Class = 9			
Cumulative Gene Count = 7 * Cumulative Tag Count = 90			
8	0.3879	CTGCTGGATG	499343
8	0.3879	CTGGAActCT	499832
8	0.3879	GCCGCCGAGC	615818
8	0.3879	TCGGTTCAGT	896844
Genes in Class = 4 * Tags in Class = 32			
Cumulative Gene Count = 11 * Cumulative Tag Count = 122			
7	0.3394	CATTAGCTTT	324224
7	0.3394	TACAGCGAG	791139
7	0.3394	TAATGCCCGG	801115
Genes in Class = 3 * Tags in Class = 21			
Cumulative Gene Count = 14 * Cumulative Tag Count = 143			

6	0.2909	GCCGTTCTTA	618365
6	0.2909	GTAATCCTCA	724341
6	0.2909	GTGGTGACGG	765467

Genes in Class = 3 * Tags in Class = 18
Cumulative Gene Count = 17 * Cumulative Tag Count = 161

5	0.2424	ATGCGTGCCT	236440
5	0.2424	ATGCTGTCAA	237265
5	0.2424	CCCAGCTATG	346575
5	0.2424	CTCAAGATGA	475705
5	0.2424	CTTAGCGGCG	510375
5	0.2424	GGCTAAAGCC	684070
5	0.2424	TAGTGTACTA	834333
5	0.2424	TTCAGTTCTA	1002461

Genes in Class = 8 * Tags in Class = 40
Cumulative Gene Count = 25 * Cumulative Tag Count = 201

4	0.1939	CAAAAGTGGT	262892
4	0.1939	CAACGCAATC	268558
4	0.1939	CAGGAGGCC	303766
4	0.1939	CGCGCCGCCG	419223
4	0.1939	CTATGCTGTG	473583
4	0.1939	CTGAATAATG	492303
4	0.1939	GACGAGGACG	549511
4	0.1939	GACGGGCTGT	551548
4	0.1939	GATAATGCCT	574360
4	0.1939	GTGGCCGCC	763286
4	0.1939	TAAATGTGC	790458
4	0.1939	TCGTTTGCTG	901023
4	0.1939	TGCACTGTGT	935868
4	0.1939	TGTTTAGCCT	982168
4	0.1939	TTACCTATGT	988988
4	0.1939	TTGACCGGTG	1017263
4	0.1939	TTGTGCTTTC	1030654

Genes in Class = 17 * Tags in Class = 68
Cumulative Gene Count = 42 * Cumulative Tag Count = 269

3	0.1454	AACTGATTAG	30963
3	0.1454	AAGTGCGTAC	47538
3	0.1454	AGCCTCTTCG	155127
3	0.1454	ATACGGGGAT	203428
3	0.1454	CAAAGTGATA	265101
3	0.1454	CCCCGATGAG	350435
3	0.1454	CCCGCGCCAC	353874
3	0.1454	CCGCCGGTGG	366267
3	0.1454	CCGGCGATGA	370233
3	0.1454	CCTGCGGTGG	386747
3	0.1454	CGCCAAATAA	413745

3	0.1454	CGCGGCGTGT	420284
3	0.1454	CGTCATTTAT	447476
3	0.1454	CTGCGCGCGT	498076
3	0.1454	GAAAGTTTGA	527353
3	0.1454	GAAGAACTAT	532596
3	0.1454	GACCGTCTAC	547698
3	0.1454	GACCGTTAAT	547780
3	0.1454	GAGTGTC AAC	572226
3	0.1454	GATACTGTGG	575419
3	0.1454	GCCGTGTGCC	618214
3	0.1454	GCGAAGTGGT	623340
3	0.1454	GCGACGCATC	624206
3	0.1454	GCGCTGCTGT	630396
3	0.1454	GCTCATATTT	643904
3	0.1454	GCTCTTTCTG	647135
3	0.1454	GTGAGCTGTT	756208
3	0.1454	TACTCTAGTA	816941
3	0.1454	TACTGCACCA	817429
3	0.1454	TATGCTCGTA	845677
3	0.1454	TCACCCACAC	857362
3	0.1454	TGACGACATT	923728
3	0.1454	TGGGGGCCAG	961107
3	0.1454	TGTACCGGTG	968111
3	0.1454	TGTCATCGTG	971631
3	0.1454	TGTGTGCTGT	978556
3	0.1454	TGTTTCACAT	982292
3	0.1454	TTATT CAGAT	998692
3	0.1454	TTGAACGTAA	1016241
3	0.1454	TTGTAATACT	1028296
3	0.1454	TTTGCTGCTA	1042333

Genes in Class = 41 * Tags in Class = 123

Cumulative Gene Count = 83 * Cumulative Tag Count = 392

Table 2. Selected 21-tags for 5-DAP specific expressed genes from Long-SAGE analysis.

	Long_Tag	Oryza sativa DNA	Gene	Count
1	CCTCCGTCGTCGCAGGCAAA	cDNA clone:J033073G16, AK073885	UN	8
2	CCTCCGTCGTCGCAGGCACA	cDNA clone:J033073G16, AK071106	UN	8
3	GCGGCAAAGCAAGCGGCCGT	ACCESSION XM_466843 putative phenylalanine ammonia-lyase	putative phenylalanine ammonia-lyase	6
4	GGCTAAAGCCAGCCAAACCA	cDNA clone:002-157-A01, ACCESSION AK119682	UN	6
5	TATGCTCGTATGTGCCATC	chromosome 2, BAC clone:OJ1126_B06. ACCESSION AP004022	UN	6
6	TCACCCACACCAGCAGCGGG	chromosome 5 clone OJ1058_C01, AC112159	UN	6
7	AATTGAGTTCGCTTTGGCGG	cDNA clone:001-120-B02, ACCESSION AK119242	UN	4
8	AATTGAGTTCGCTTTGGTAC	cDNA clone:001-120-B02, ACCESSION AK119242	UN	4
9	CCCAGATTGTGGATGGTCCA	cDNA clone:002-175-G11, ACCESSION AK111099	UN	4
10	CCCAGCTATGGCTTGGGCCCT	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase activase (rca), ACCESSION U74321	RUBISCO activase	4
11	CCTCCGTCGTCGCAGGCAGC	cDNA clone:J033073G16, ACCESSION AK073885	UN	4
12	CCTCCGTCGTCGCAGGCAGT	cDNA clone:J033073G16, ACCESSION AK073885	UN	4
13	CCTGCGGTGGCCTGGAGTCG	predicted mRNA. ACCESSION NM_187865	UN	4
14	CGTGCCAGGCTTCTTAATCT	cDNA clone:002-130-C04, ACCESSION AK119630	UN	4
15	CTATCGTGTGTGAACAATT	partial mRNA for ribosomal protein L31(xd5 gene). ACCESSION AJ417520	ribosomal protein L31	4
16	CTCAAGATGATCGAGGACAG	cDNA clone:J023104B18, ACCESSION AK071613	UN	4
17	CTGCTGGATGTAGTAGATCA	cDNA clone:J033105G07, ACCESSION AK102721	UN	4
18	CTGCTGGATGTAGTAGATTC	cDNA clone:J033105G07, ACCESSION AK102721	UN	4
19	CTGGAACCTCTGTTTAGGCCG	cDNA clone:J023104E19	UN	4
20	CTTAGCGGGCGCCGGTCCAA	mRNA. ACCESSION XM_469305	similar to ankyrin	4
21	GACGGGCTGTTGCGCCGATA	predicted mRNA. ACCESSION XM_470560	Putative AP2 domain containing transcription factor	4
22	GATCACTGCGACAGCCAGC	cDNA clone:001-127-G12, ACCESSION AK105533	UN	4
23	GCCGCCGAGCCGAGATTC	mRNA. ACCESSION XM_479895	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	4
24	GCCGTTCTTAGTTGGTGGGA	Umblicaria thamnoides 18S ribosomal RNA gene, ACCESSION AY648116	18S ribosomal RNA	4
25	GCGACGCATCGCCTTCAGAA	cDNA clone:J033034J10, ACCESSION AK121563	UN	4
26	GCTCTTTCGTGTGAGGGCA	mRNA. ACCESSION XM_469834	putative UDP-glucose dehydrogenase	4
27	GGCTAAAGCCAGCCAAACAA	cDNA clone:002-157-A01, ACCESSION AK119682	UN	4
28	GTAATCCTCACTCGTACCAC	cDNA clone:006-311-D11, ACCESSION AK104660	UN	4
29	GTACCTGTGGGTTCTGCCTG	cDNA clone:J033028A03, ACCESSION AK121519	UN	4
30	GTGGTGACGGGTGACGGAAC	cDNA clone:001-110-D01, ACCESSION AK063037	UN	4
31	TAATGCCCGGTTGCTGGATG	mRNA. ACCESSION XM_483630	putative osc4 protein	4
32	TACTGCACCAGCAAATCCCA	Drosophila subobscura adenine phospho-ribosyltransferase(Aprt), ACCESSION AF025800	UN	4
33	TACTTGTGTGATGTCTGCAA	cDNA clone:J023088C07, ACCESSION AK071246	UN	4
34	TCGGACGTACATCGTTAGAT	NA	UN	4
35	TCGGACGTACATCGTTAGCA	NA	UN	4
36	TCGGGTTTATTTGTGTGCCCT	cDNA clone:J023008D14, ACCESSION AK069118	UN	4
37	TCGTTTGTCTGGCTGAAC	mRNA. ACCESSION XM_480185	putative Caffeic acid 3-O-methyltransferase	4
38	TGCCCTGCTTGCCATTGGGCA	mRNA. ACCESSION XM_481095	UN	4
39	TGTACCGGTGGACCACTTAG	cDNA clone:J013128C09	UN	4
40	TTGCCGCCTGGCCCTAAGA	cDNA clone:001-028-B05, ACCESSION AK104075	UN	4

2. Microarray를 통한 유용유전자의 탐색

벼 60k DNA microarray 분석을 통해 대규모 벼 유전자 발현분석을 수행하였다. 벼 화기형성기와 수분 후 5일 (5-DAP) 유전자의 전체발현을 연구하기 위하여 GreenGene Biotech의 60,000 개 oligomeric DNA 가 장착된 DNA microarray를 사용하여 연구를 수행하였다. 60K Microarray는 2002년에 일반에게 공개되었으므로 SAGEdml 분석과 함께 사용할 수 있었다. 벼 60K microarray는 벼의 genomic DNA 중 58,417개의 알려져 있거나 혹은 그 기능을 예측할 수 있는 유전자가 장착이 되어져 있음으로 벼의 전체 기능이 있는 유전자들을 대표한다고 할 수 있다. Positive control로서 2,310개의 house-keeping 유전자가 2중으로 장착이 되어있으며 66개의 oligomer가 무작위로 나열되었기 때문에 실험의 오차가 적다. 본 연구의 microarray 분석결과 중 5DAP에서 early flower의 log2 차이이상을 보이는 cDNA 들을 선별하고 실제 발현 상황을 양적으로 보여주는 northern blot analysis를 실험 결과 Microarray의 결과와 그 발현 양상이 대단히 일치함을 보여주었다 (그림 9). 그러므로 유전자의 발현정도는 Microarray의 결과를 선택하여 분석을 하였다.

가. Microarray 연구재료 및 방법

(1) Oligonucleotide microarray hybridization의 RNA labeling:

VEF (flower of meiosis stage), LF (flower of late stage), 5DAP (flower after pollination)의 각 total RNA를 acid-phenol extraction 방법으로 추출, 정제하였다. RNA (poly A+ 또는 Total RNA)는 반드시 random primer를 사용해서 labeling 하였다. 각 시료 VEF, LF, 5DAP의 Total RNA (100-150 mg) 또는 polyA+ (2 mg) 50.0 ml, dNTP (10mM dATP, dCTP, dGTP, 2mM dTTP) 3.0 ml, Cy5 or Cy3 dUTP (1 mM; Amersham Biosciences) 2.0 ml, Random 15-mer primer (0.5 mg/ml; Operon) 2.0 ml를 섞어 Labeling Reaction을 만들고 잘 섞어준 후, 65°C에서 5분간 처리하였다. 5×First Strand buffer 17.0 ml, 0.1 M DTT 8.0 ml, RNase inhibitor (10 U/ml) 1.0 ml, PowerScript (BD Biosciences) 1.0 ml를 첨가하고, RNase-free water로 85.0 ml까지 부피를 맞추어 주었다. 42°C에서 2시간 동안 반응을 시켜준 후, 0.5 M EDTA 5 ml와 1M NaOH.5 ml를 첨가하고 65°C에서 10분간 처리하였다. 1 M Tris-HCl (pH-8.0) 25 ml와 TE. 100 ml를 첨가하고, Microcon column을 이용하여 labeling된 product를 정제하였다.

(2) Microarray hybridization:

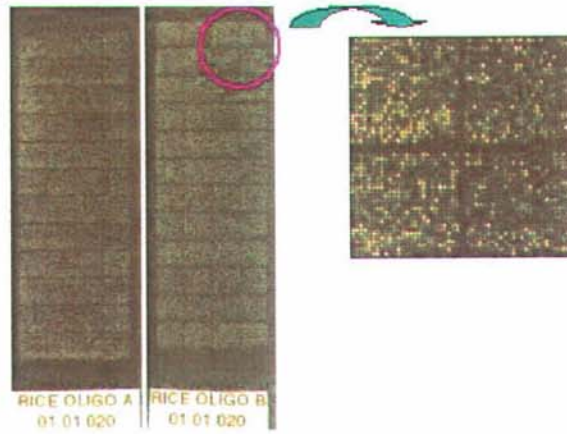
20×SSC 20.0 ml, Liquid Block (Amersham, Co.) 12.0 ml, 2% SDS 8.0 ml, Labeled Target을 첨가하고, 증류수로 200 ml의 부피를 맞추었다. Labeling된 target을 10 0°C에서 2분간 열처리하여 변성시켜 주고, 얼음에서 식혀주었다. Microarray slide

(Label-side-up)를 65°C heating block에 두고 labeling된 target을 넣어 준 후, bubble이 생기지 않도록 주의하면서 plastic coverglass를 덮어 주었다. 55°C에서 8-12시간동안 hybridization을 시켜준 후, 2×SSC, 0.5% SDS로 55°C에서 5분간, 0.5×SSC로 상온에서 5분간 0.05×SSC로 상온에서 5분간 washing해 주었다. 1000rpm으로 원심분리하여 건조시켜주고, 즉시 slide를 scanning하였다.

(3) Microarray 스캔과 데이터 해석:

Hybridization과 data는 Genisphere 3DNA Array Detection Array 50 Kit (Version 2)를 사용하였다. Microarray는 Genepix 5.0 (Axon Instruments, USA)으로 스캔을 한 후, Acuity 3.1 (Axon Instruments, USA)을 사용하여 분석을 하였다. Log ratio는 2를 기준으로 block-by-block Lowess normalization을 사용하여 normalize를 하였다. Cy3에 significant한 spot은 Log ratio가 -1.0 ($2^{**(-1.0)}=2.0$ fold decrease) 이상인 것과 Cy3 intensity가 500이상인 것으로 선정하였다. 반면, Cy5에 significant한 spot은 Log ratio가 1.0 ($2^{**(1.0)}=2.0$ fold increase) 이상인 것과 Cy3 intensity가 500 이상인 것으로 선정하였다.

A.



B.

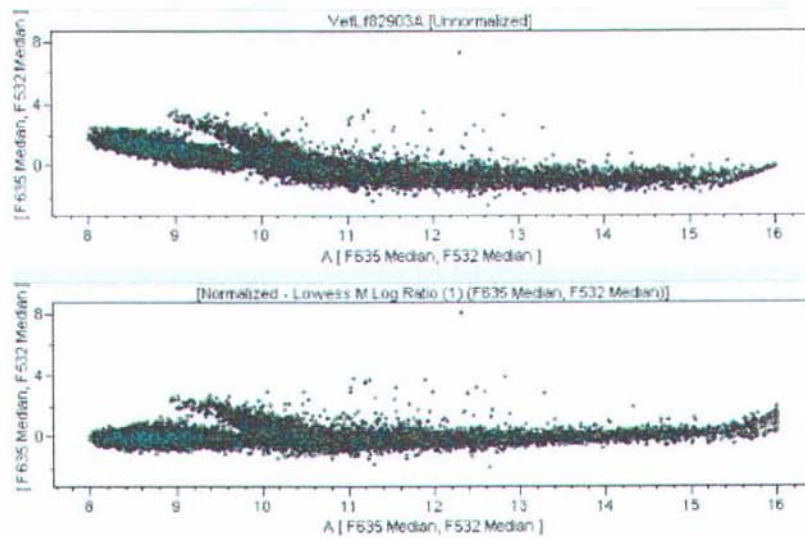
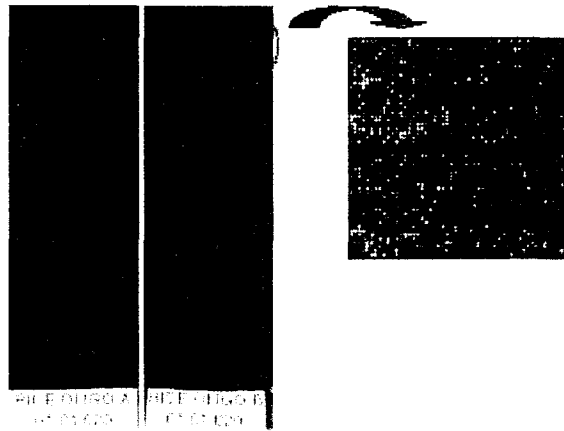


그림 6. 60K DNA microarray analysis. (A) Hybridization with Cy3 labelled Vef and Cy5 labelled Lf. (B) Normalization: Log Ratio before and after Block-by-block Lowess normalization of Vef (cy3) and Lf (cy5).

A.



B.

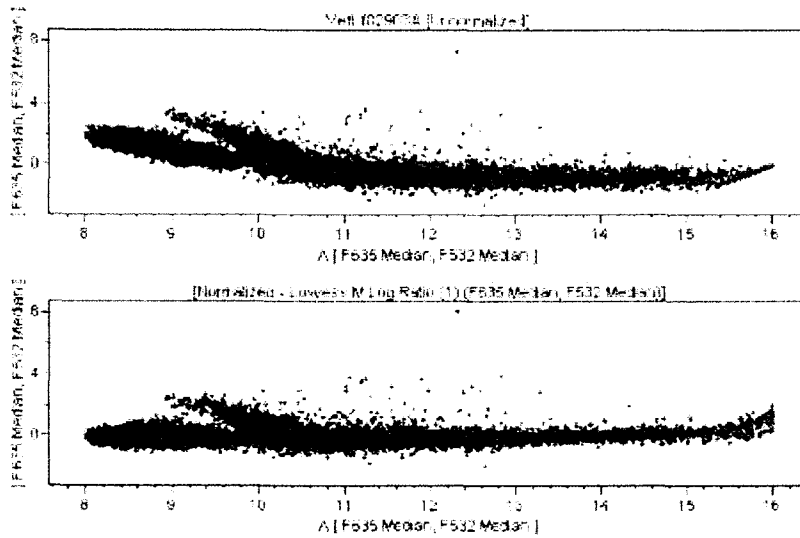
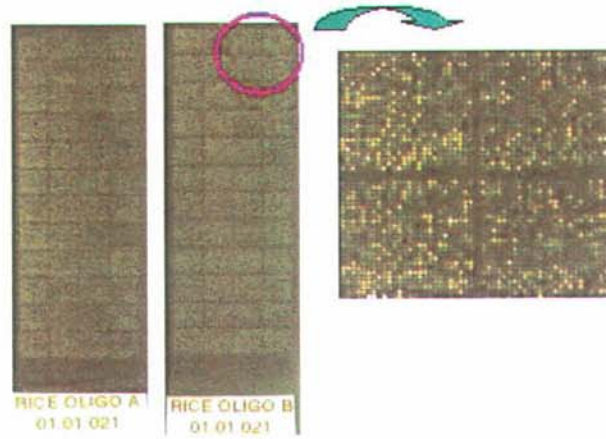


그림 6. 60K DNA microarray analysis. (A) Hybridization with Cy3 labelled Vef and Cy5 labelled Lf. (B) Normalization: Log Ratio before and after Block-by-block Lowess normalization of Vef (cy3) and Lf (cy5).

A.



B.

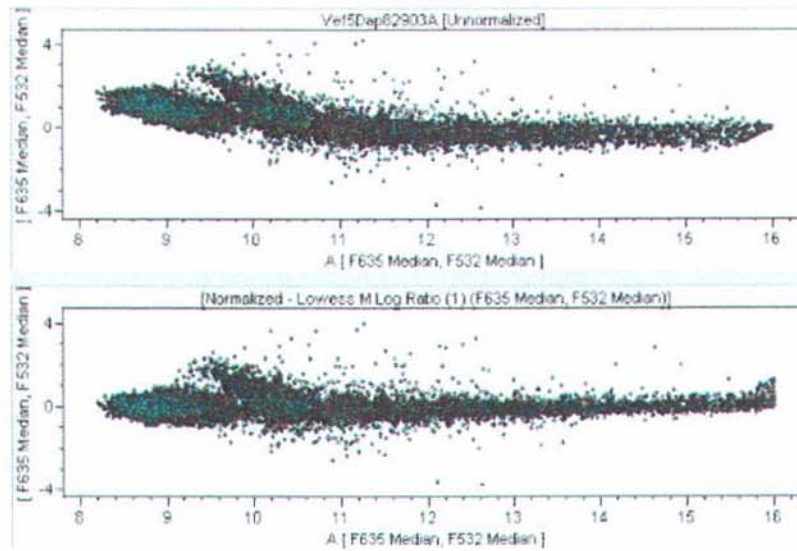


그림 7. 60K DNA microarray analysis. (A) Hybridization with Cy3 labelled Vef and Cy5 labelled 5-DAP. (B) Normalization: Log Ratio before and after Block-by-block Lowess normalization of Vef (cy3) and 5-DAP (cy5).

A.



B.

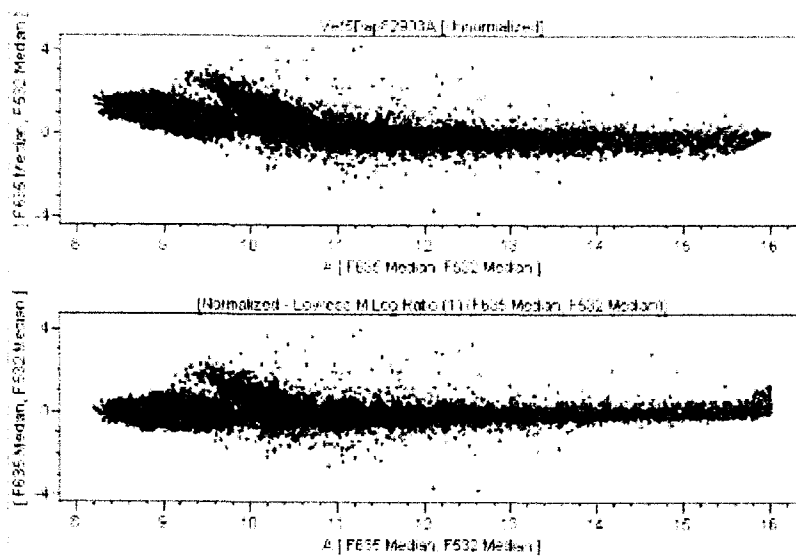


그림 7. 60K DNA microarray analysis. (A) Hybridization with Cy3 labelled Vef and Cy5 labelled 5-DAP. (B) Normalization: Log Ratio before and after Block-by-block Lowess normalization of Vef (cy3) and 5-DAP (cy5).

나. Microarray의 결과분석

(1) Microarray의 결과 해석:

Microarray를 사용하여 수분전기와 수분후 5일째의 유전자 발현양상을 Green Gene Biotech의 60K DNA microarray를 사용하여 분석하였다. 실험의 설계는 감수분열 단계 (Vef)와 수분전의 화서 (Lf), 그리고 수분 후 5 일째의 화서 (5DAP)로부터 mRNA를 추출하여 사용하였다. Microarray Array 실험은 Vef (cy3) 대 Lf (cy5), Vef (cy3) 대 5DAP (cy5)를 사용하였다. 1차적으로 조직 및 기관의 significant한 spot은 Log ratio가 1.0 ($2^{**}1.0$)=2.0 fold increase) 이상인 것과 Cy5 intensity가 500 이상인 것으로 선정하였으나, 너무 많은 spot이 선택되었으므로 각 기관별 특이적 발현 유전자들을 선별하기 위하여 각각 Cy5, Cy3의 Log값은 +/-2값을 선택하여 분석하였다. 그 결과, 감수분열기에 많이 발현되는 유전자는 WD-40 와 PR-10을 포함한 약 50개 정도가 선별되었으며, 5DAP에 차별적으로 발현되는 유전자들은 glutelin을 포함한 unknown gene이 많았다. 이들은 northern을 사용하여 발현강도를 측정하였고, transcription profile을 작성하였다.

차별적인 발현을 보이는 spots에 해당하는 유전자들의 단백질 Clusters of Orthologous Groups (COG)을 분석한 결과, very early flower (Cy3)에서는 약 204개의 spot이 up-regulate되었다. 그 중 post-translational modification, protein turnover, chaperones가 5개, 그리고 cellular process와 signaling에 관여하는 유전자들의 발현이 두드러졌다. 5DAP (Cy5)에서는 약 924개의 significant spot들이 있었으며, translation, ribosome의 구성 및 생합성, 에너지생성, 탄수화물 대사 및 이동, 아미노산 이동 및 생합성 등의 대사에 관계되는 유전자들의 발현이 두드러졌다. 이는 early flower는 주로 감수분열과 화분생성 등의 기초적인 구조, 변형, 발생에 관계하는 유전자들이 발현된 것으로 보이며, 수분 후 5일이 된 종자에서는 주로 대사와 탄수화물의 이동 및 생성, 세포분열 등에 관계되는 유전자들의 발현양상이 뚜렷하였다. 이는 초기 종자발달에 필수적인 배형성 및 배유의 영양분 저장 등에 관계되는 유전자의 발현체들임을 의미한다. 이러한 COG분석과 유도 발현된 유전자들의 세기는 전사체 분석의 일부로써, Table 3과 첨부 1에 기록하였다. 이러한 초기 종자발달기에 발현체 (transcriptome)의 증가는 서론에서 예측한 가설 (그림 1)과 다소 다른 양상을 보이고 있다. 즉, 기관발생형대상 종자의 발달은 단순히 녹말저장에 관여하는 것으로 지극히 단순해 보이나 대단히 많은 유용유전자들이 발현이 되는 것을 알 수 있다 (Table 3). 그 이유는 수분과 동시에 배의 형성과 발달 그리고 초기 기관형성 유전자군, 배유 발생 및 저장단백질과 탄수화물대사 관련 유전자군, 저장물질대사 관계 유전자군, 식물호르몬들과 신호전달에 관계하는 유전자군 등이 짧은 시간 내에 다양한 변화를 보이며 발현이 증감되었기 때문일 것이다.

Table 3. Analysis of Clusters of Orthologous Groups of proteins (COGs).

Cy3(Very early flower) significant spots		Cy5(5DAP) significant spots	
Number of total Cy3 significant spots: 204		Number of total Cy5 significant spots: 924	
[B]	1	[B]	1
[E]	1	[Z]	4
[A]	2	Unidentified	665
[X]	4	[J]	13
[C]	2	[GMW]	1
[MVG]	1	[W]	4
[Z]	1	[KR]	1
[OR]	2	[GOU]	1
Unidentified	143	[L]	3
[RW]	1	Unclassified	30
[O]	5	[H]	1
[V]	1	[U]	3
[M]	2	[IR]	1
[L]	1	[MVG]	1
Unclassified	8	[Q]	2
[R]	8	[GC]	1
[I]	1	[F]	2
[T]	4	[S]	18
[K]	2	[MG]	1
[RI]	4	[YUJ]	1
[Q]	1	[NI]	1
[P]	1	[E]	12
[G]	5	[TZ]	1
[S]	3	[A]	8
		[QR]	3
		[C]	18
		[QI]	1
		[KA]	1
		[P]	6
		[OW]	1
		[OR]	1
		[EO]	1
		[X]	21
		[O]	18
		[UZ]	1
		[KT]	1
		[PET]	1
		[V]	6
		[M]	6
		[RT]	1
		[R]	32
		[I]	1
		[T]	10
		[K]	4
		[QV]	2
		[G]	11
		[OU]	1

* Functional categories

INFORMATION STORAGE AND PROCESSING

- [J] Translation, ribosomal structure and biogenesis
- [A] RNA processing and modification
- [K] Transcription
- [L] Replication, recombination and repair
- [B] Chromatin structure and dynamics

CELLULAR PROCESSES AND SIGNALING

- [D] Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning
- [Y] Nuclear structure
- [V] Defense mechanisms
- [T] Signal transduction mechanisms
- [M] Cell wall/membrane/envelope biogenesis
- [N] Cell motility
- [Z] Cytoskeleton
- [W] Extracellular structures
- [U] Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport
- [O] Posttranslational modification, protein turnover, chaperones

METABOLISM

- [C] Energy production and conversion
- [G] Carbohydrate transport and metabolism
- [E] Amino acid transport and metabolism
- [F] Nucleotide transport and metabolism
- [H] Coenzyme transport and metabolism
- [I] Lipid transport and metabolism
- [P] Inorganic ion transport and metabolism
- [Q] Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism

POORLY CHARACTERIZED

- [R] General function prediction only
- [S] Function unknown

(2) Hierarchical clustering analysis:

화분 발달과정으로부터 수분, 그리고 종자발생단계까지의 유전자 발현 양상들의 Hierarchical clustering 분석 결과를 그림 8에 정리하였다. Early flower에서는 발현이 적었으나 5DAP에서 특이적으로 증가발현된 유전자는 279개 정도였고, early flower의 발생시 특이적으로 증가를 보이나 종자발달기에서는 감소되는 유전자는 353개 정도 관찰되었다. 특이적으로 종자발생기에 급격히 유도발현되는 유전자들의 hierarchical clustering (그림 8)들은 5DAP에서 very early flower간의 microarray spot들과 일치하였으며, northern blot analysis의 결과와도 일치하였다(그림 9). 이들 유전자군은 주로 종자의 저장단백질들인 glutelin과 prolamine (Table 4, 첨부 1) 등이었으며 이들의 northern blot 분석 (그림 9) 및 cDNA cloning (Table 4)결과와도 일치하였다. 이는 본 연구에서 수행한 microarray를 사용한 화기형성 및 종자발달진행 상황의 transcription analysis (전사체 분석)이 대단히 정밀하게 진행되었음을 반영하고 있다.

Hierarchical clustering analysis of differentially expressed transcripts

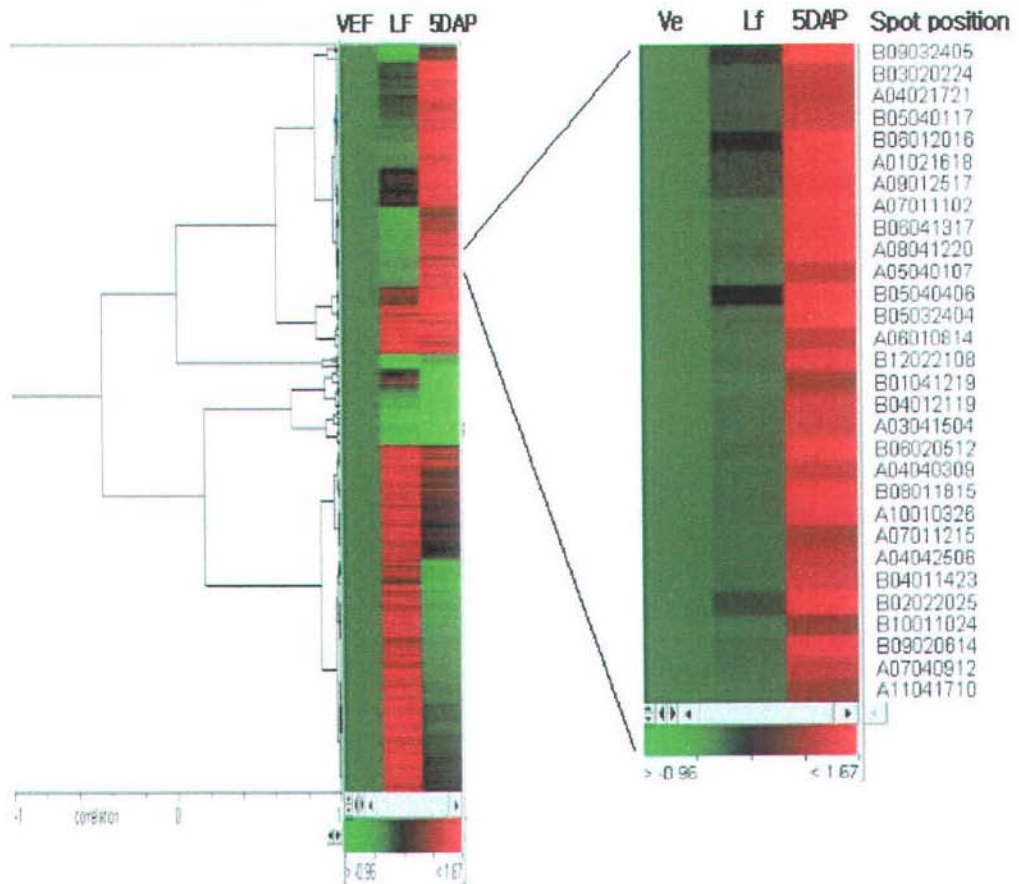


그림 8. 60K DNA microarray. Hierarchical clustering analysis of differential expressed transcripts. Mesiosis Flower (VE), unopen flower (LF), 5days after pollination seed (5DAP).

Hierarchical clustering analysis of differentially expressed transcripts

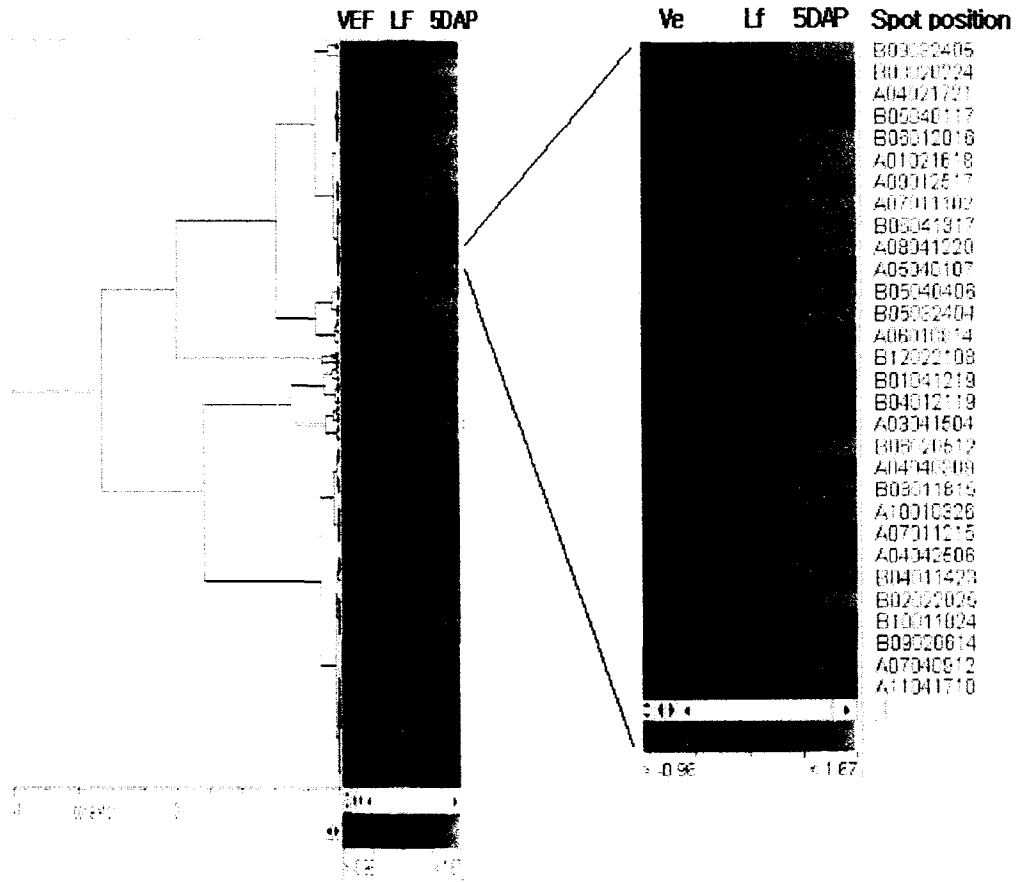


그림 8. 60K DNA microarray. Hierarchical clustering analysis of differential expressed transcripts. Mesiosis Flower (VE), unopen flower (LF), 5days after pollination seed (5DAP).

Table 4. Identification of specific genes expressed in the early-seed development by DNA microarray

ID	Cy3 (Ref) VEF	Cy5 (Test) 5DAP	Spot Position	Log2 Ratio (Cy5/Cy3)	Locus	Annotation	Northern Analysis
1	471	19025	B05040406	5.661	AU075667	cDNA clone E10068_5A	5DAP
2	467	18592	B04020617	5.431	AA750103	OLPROLA1 prolamine	5DAP
3	444	11593	B02022025	4.663	AU085949	cDNA clone E11825	5DAP
4	374	7429	B06042025	4.4	BE230349	cDNA clone 99AS699	
5	410	8004	B02022118	4.118	AU082975	cDNA clone E12170	5DAP
6	475	7770	B03022101	3.897	30DGS-01-F-H16		
7	417	7517	B12011904	3.878	AA752251	OSGLUI1 glutelin 1	
8	396	6001	B11041518	3.84	AA750447	RICPROLA14A	5DAP
9	529	7622	B12022026	3.706	BI799027	cDNA clone H123A10	
10	528	7166	B09021026	3.627			
11	466	6653	B10012101	3.612	AA751226	RICGT22A glutelin 1	
12	461	5056	B09011512	3.095	AA749590	OSPROLA2 prolamin	
13	582	4675	B06042026	3.085	AA750316	OSGLU glutelin	
14	315	3831	B01022101	3.052	AU094605	cDNA clone E12108	5DAP
15	459	3910	B02042324	2.947			
16	436	3599	B01042006	2.889	CB648629	cDNA clone	
17	947	6621	B02022026	2.811	30DGS--01-F-K04		L/5DAP
18	454	4126	B09012511	2.757	AU075892	cDNA clone S0814_10Z	
19	1473	8794	B04022026	2.743	AU223328	cDNA clone S5887	L/5DAP
46	349	2182	B10032104	2.092	BE230609	cDNA clone 99AS823	All

(2) Microarray를 통해 선별된 유전자의 클로닝

(가) Microarray를 통해 선별된 클론들의 클로닝 :

Microarray에서 확인된 EST중에서 Unknown 유전자를 중심으로 다음의 primer를 작성하였고 (Table 5.), 이는 PCR을 통해서 증폭하였다.

Table 5. Primer design

Rice EST clone	Primer name	Sequence (5'-->3')
1(AU075667)	AU075667-1U	CCG TCG TTT GCT TGT TCC TCT
	AU075667-253L	AAC AGA AGA CCT CTA GGT TCG
2(AA750103)	AA750103-1U	TCC CTG CAG CAG CAA TGT TGC
	AA750103-183L	GTT GAA GTT GAC AGG GGC AGT
3(AU085949)	AU085949-5U	CAG TAT AGC ATT GCG GCA AGC
	AU085949-382L	ATA TCA CCT TAA GTT TCA CAT
4(BE230349)	BE230349-11U	GCA CGA GAG ACT ACA AGC ATT
	BE230349-420L	ATA AAC ATA TCG GCC ACC ACC
5(AU082975)	AU082975-1U	TGC CAA CAA TGG CAG CAT ACA
	AU082975-329L	TTG TTG TTG GCC AAG TCC ACC
9(BI799027)	BI799027-33U	GCT ATT GCT GCA ACA GCG CCT
	BI799027-301L	TAG CTG CTG CGC TAT GGC CTG
14(AU094605)	AU094605-99U	GGT CCA ATG TCA CTT TGG TCA
	AU094605-420L	ACC CCG GGA TTT TGG CTA CTC
16(CB648629)	CB648629-1U	GGA GGG AGG GAG GGC CCT ATG
	CB648629-346L	CAT CAC GCA GTG GCA GTG GAC
18(AU075892)	AU075892-57U	GAT TGG CGA ATA GGC CTC AAC
	AU075892-380L	ATT ACA ACA TGC AGC AGT GGC
19(AU223328)	AU223328-1U	GCT TGC GGT GGA TAC CTA GGT
	AU223328-170L	TGT TTC AGT TCG CCA GGT TGT
46(BE230609)	BE230609-1U	GCA CGA GGC AAC TTC ACC AAT
	BE230609-269L	TAA ATC TGG GTT GAA CCC AGC
48(CB649794)	CB649794-1U	GTT CTT GTA CGT GAC GAA CAG
	CB649794-271L	AGC CGC AAC CGG CAG TAC AAT
51(AU096248)	AU096248-26U	CGA AGG CCC GTG TGG TTC AAG
	AU096248-411L	GTT GTT GTT GAC GGG GTC GGC

작성한 각 프라이머 와 Pfu polymerase를 사용하고, 주형은 벼의 cDNA를 사용하여 PCR 실시하였다. PCR조건으로, ① 95℃, 2 min ② 95℃, 50 sec ③ 55℃, 1 min 30 sec ④ 68℃, 2min ⑤ go to ②, 29 cycles ⑥ 68℃, 5 min ⑦ 4℃로 실시하였고, PCR로 증폭된 DNA는 pBluescriptII SK(+)에 클로닝하여 염기서열을 분석하였다. 증폭된 DNA조각은 northern blot 분석의 프로브로 사용하였다.

(나) 수분후 5일된 화기의 cDNA Microarray를 통해 선별된 클론들의 northern blot analysis : 벼 뿌리 (R), 잎 (L), 수분전 화서 (VE), 수분후 5일된 화서 (5d), 수분후 15일된 화서 (15d)의 RNA와 클로닝된 microarray 클론을 (α -³²P)dCTP로 방사능 표지한 프로브를 사용하여 northern hybridization시켰다. 그 결과, 수분후 5일, 15일이 지난 화서에서 높게 발현되는 것을 볼 수 있었다. 그 중 뿌리, 잎, 수분전 화서에서 발현이 되는 것도 있었으나, 수분후 5일된 화서에서만 특이적으로 발현되는 cDNA를 5개 확인할 수 있었다. 이 cDNA들은 다른 조직에서는 거의 발현이 되지 않고 수분후 화서에서만 발현이 되었다. 이 cDNA들의 프로모터를 찾아 수분후 화서조직에서만 발현이 되는 프로모터를 클로닝하였고, 염기서열을 분석하였다. 그 결과, 수분후 5일이 지난 화서에서 높게 발현된 cDNA들 중 glutelin, prolamine, germ-like protien등의 stroage protein들이 대부분이었다.

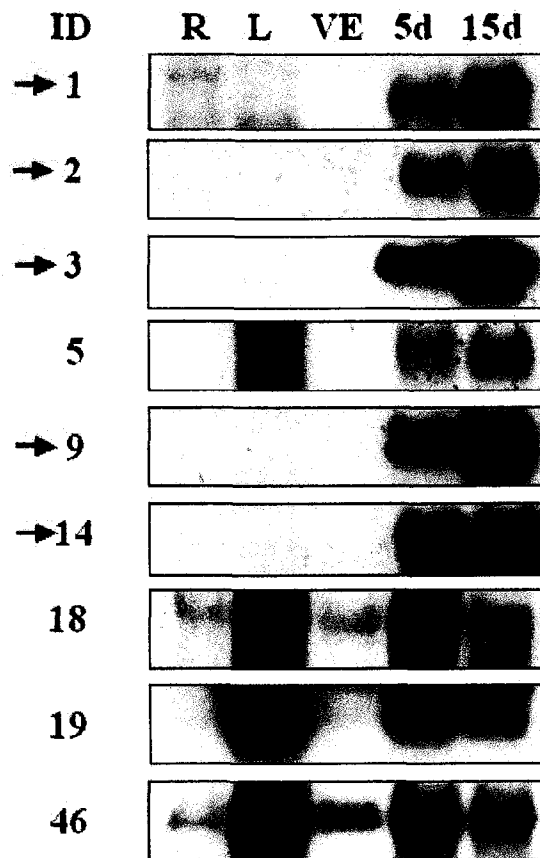


그림 9. Microarray에서 선별된 cDNA의 벼 조직별 발현양상

3. 수분후 특이적으로 발현되는 프로모터의 탐색

가. 수분후 (5dAP)에서 특이적으로 발현되는 유전자의 프로모터 탐색 : 5dAP에서 특이적으로 발현되는 유전자를 선별하여 클로닝을 실시하였고, NCBI를 통해 유전자를 조사, 확인하였다. 5dAP에서 특이적으로 발현되는 유전자의 프로모터를 찾기 위해, 다음의 유전자들이 포함된 염색체에서 프로모터를 포함하는 부위의 DNA의 프라이머를 작성하였고, PCR을 실시하였다.

(1) Microarray 1의 homology조사 결과

① Nucleotide homology

>gi|33667145|gb|AC133398.4|_Oryza sativa chromosome 3 BAC OSJNBa0083F15 genomic sequence, complete sequence

Length = 136916
Score = 502 bits (253), Expect = e-139
Identities = 253/253 (100%)
Strand = Plus / Plus

```
M1 : 1      aacagaagacctctaggttcgataactcgacggacaacaatactccagtacattgaaac 60
      |||
Sbjct: 107162 aacagaagacctctaggttcgataactcgacggacaacaatactccagtacattgaaac 107221

M1 : 61      aactcattagagacatcaaaaaactcagttgtaccagcttgggaccttacagtgcgaaac 120
      |||
Sbjct: 107222 aactcattagagacatcaaaaaactcagttgtaccagcttgggaccttacagtgcgaaac 107281

M1 : 121     ggctcaaatgcttgcaaccgatcaaatctgcactctcttggacttccacggcgagaactt 180
      |||
Sbjct: 107282 ggctcaaatgcttgcaaccgatcaaatctgcactctcttggacttccacggcgagaactt 107341

M1 : 181     tgccattgactagtactttggctaagaagttgggctaacgaaccattacacaagaggaac 240
      |||
Sbjct: 107342 tgccattgactagtactttggctaagaagttgggctaacgaaccattacacaagaggaac 107401

M1 : 241     aagcaaacgacgg 253
      |||
Sbjct: 107402 aagcaaacgacgg 107414
```

② Protein homology

>gb|AAR01757.1| glutelin [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

Length = 496
Score = 162 bits (410), Expect = 2e-39
Identities = 80/80 (100%), Positives = 80/80 (100%)

```
M1 : 1      LFLLCNGSLAQLLSQSTSQWQSSRRGSPRECRFDRLQAFEP|RTVRSQAGTTEFFDVSNE 60
```


M1 아미노산 서열은 *Oryza sativa*의 glutelin (S18745)과 85%의 높은 상동성을 보였고, *Oryza sativa*의 glutelin 22 precursor (D34332)와는 83%, *Oryza sativa*의 glutelin 3 precursor (C34332)와는 83%, *Oryza sativa*의 glutelin type II precursor (A34332)와는 78%, *Oryza sativa*의 Glutelin type I PREE 103 precursor (P07729)와는 78%, *Oryza sativa*의 glutelin type-B 1 precursor (Q02898)와는 60%, *Oryza sativa*의 glutelin precursor (P14614)와는 60%의 상동성을 보였다 (그림 11).

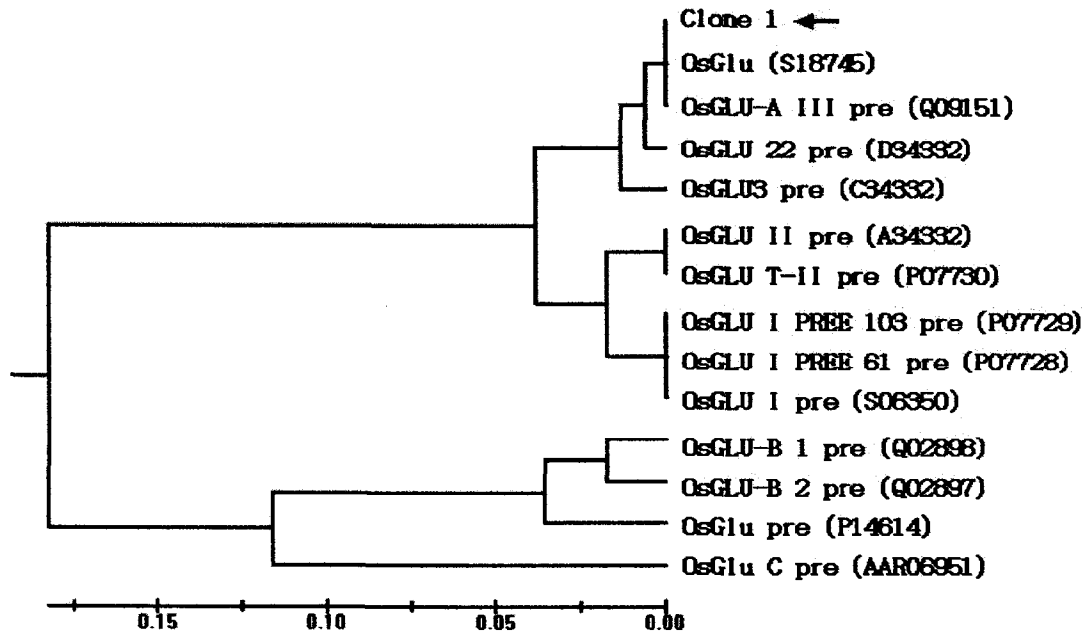


그림 11. Phylogenetic tree of deduced amino acid sequences of rice glutelin family. Accession numbers of sources are shown in each protein. Clone 1 protein is indicated by arrow.

M1은 glutelin 유전자인 GluA3와 거의 일치하였고, 이 GluA3 유전자는 *Oryza sativa* chromosome 3 BAC OSJNBa0083F15 genomic sequence에 존재하였다. 본 결과를 기초로 벼의 3번 염색체에서 GluA3 유전자의 프로모터를 찾음으로써, 수분 후 특이적으로 발현되는 M1 유전자의 프로모터 부위를 탐색하였다.

(2) Microarray 2의 homology조사 결과

① Nucleotide homology

>gi|30725921|gb|AC099043.6|_Oryza sativa chromosome 3 BAC OSJNBa0079B15 genomic sequence, complete sequence

Length = 159091

Score = 331 bits (167), Expect = 3e-88

Identities = 175/178 (98%)

Strand = Plus / Plus

M2 : 2 cctgcagaagaaatgttgcacatgcagntacaaggcatgatgcctcagtgccactgtggcac 61
||||||| || ||||||||||||||| ||||||||||||||| |||||||||||||||

Sbjct: 69779 cctgcagcagcaatgttgcacatgcagctacaaggcatgatgcctcagtgccactgtggcac 69838

M2 : 62 cagttgccagatgatgcagagcatgcaacaagttatttgtgctggactcgggcagcagca 121
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct: 69839 cagttgccagatgatgcagagcatgcaacaagttatttgtgctggactcgggcagcagca 69898

M2 : 122 gatgatgaagatggcgatgcagatgccatcacatgtgcaacatggcccctgtcaacttc 179
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct: 69899 gatgatgaagatggcgatgcagatgccatcacatgtgcaacatggcccctgtcaacttc 69956

② Protein homology

sp|P15839|PRO1_ORYSA 10 kDa prolamin precursor

prolamin, 10K, precursor - rice

Length = 134

Score = 126 bits (317), Expect = 1e-28

Identities = 56/59 (94%), Positives = 58/59 (98%)

M2 : 1 LQKCCMQXQGMPQCHCGTSCQMMQSMQQV|CAGLGQQQMMKMMQMPYMCNMAPVNF 59

LQ++CCMQ QGMPQCHCGTSCQMMQSMQQV|CAGLGQQQMMKMMQMPYMCNMAPVNF

Sbjct: 68 LQQCCMQLQGMPQCHCGTSCQMMQSMQQV|CAGLGQQQMMKMMQMPYMCNMAPVNF 126

Microarray clone 2 (M2)의 아미노산 서열은 벼의 prolamin과 70%이상의 상동성을 보였다. M2는 *Oryza sativa*의 10KD prolamin precursor (P15839)와는 76%, *Oryza longistaminata*의 prolamin (S12453)과는 75%, *Oryza rufipogon*의 prolamin (CAA35861)과는 75%의 상동성을 보였다.

M2는 10kDa prolamin 유전자와 거의 일치하였고, 이 10kDa prolamin 유전자는 *Oryza sativa* chromosome 3 BAC OSJNBa0079B15 genomic sequence에 존재하였다. Prolamine 10kDa의 프로모터를 찾음으로써, 수분후 화서에서 특이적으로 발현되는 M2 유전자의 프로모터 부위를 탐색하였다.

(3) Microarray 3의 homology조사 결과

① Nucleotide homology

Oryza sativa prolamin 7 gene, complete cds

Length = 1429
 Score = 696 bits (351), Expect = 0.0
 Identities = 363/367 (98%)
 Strand = Plus / Plus

```

M3   : 1   cagtatagcattgcggaagccccttcttgcaatcagctgcggttcaactgagaaacaac 60
      ||||| |||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 852 cagtatggcatagcggcaagccccttcttgcaatcagctgcggttcaactgagaaacaac 911

M3   : 61   caagtctggcaacagctcgcgctggtggcgcaacaatctcactatcaggacattaacatt 120
      ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||
Sbjct: 912 caagtctggcaacagctcgcgctggtggcgcaacaatctcactatcaggacattaacatt 971

M3   : 121  gttcaggccatagcgcagcagctacaactccagcagtttggatcttactttgatcgg 180
      ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||
Sbjct: 972 gttcaggccatagcgcagcagctacaactccagcagtttggatcttactttgatcgg 1031

M3   : 181  aatctggctcaagctcaagctctgttggcttttaacgtgcatctagatatggtatctac 240
      ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||
Sbjct: 1032 aatctggctcaagctcaagctctgttggcttttaacgtgcatctagatatggtatctac 1091

M3   : 241  cctaggtacaatggtgcaccagctaccattaccacccttggcgggtgtcttghtaatgagtt 300
      ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||
Sbjct: 1092 cctaggtactatggtgcaccagctaccattaccacccttggcgggtgtcttghtaatgagtt 1151

M3   : 301  ttaacagtatagtggttcggaagttaaaataagctcagatatcatcatatgtgacatgt 360
      ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||
Sbjct: 1152 ttaacagtatagtggttcggaagttaaaataagctcagatatcatcatatgtgacatgt 1211

M3   : 361  gaaactt 367
      |||||||
Sbjct: 1212 gaaactt 1218
  
```

② Protein homology

>prolamin precursor (clone pX24) - rice prolamin [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

Length = 149
 Score = 189 bits (479), Expect = 2e-47
 Identities = 95/97 (97%), Positives = 95/97 (97%)

```

M3   : 1   QYSIAASPFLQSAAFQLRNNQVWQQLALVAQQSHYQDINIVQAI AQQLQLQQFGDLYFDR 60
      QYIAASPFLQSAAFQLRNNQVWQQLALVAQQSHYQDINIVQAI AQQLQLQQFGDLYFDR
Sbjct: 53  QYGI AASPFLQSAAFQLRNNQVWQQLALVAQQSHYQDINIVQAI AQQLQLQQFGDLYFDR 112

M3   : 61  NLAQAQALLAFNVPSRYGIYPRYNGAPSTITTLGGVL 97
      NLAQAQALLAFNVPSRYGIYPRY GAPSTITTLGGVL
Sbjct: 113 NLAQAQALLAFNVPSRYGIYPRYNGAPSTITTLGGVL 149
  
```

Microarray clone 3 (M3)의 아미노산 서열은 벼의 prolamin과 80%이상의 상동성을 보였다. M3는 *Oryza sativa*의 13 kda prolamin (NP_911471)와는 98%, *Oryza*

*sativa*의 prolamin precursor (JH0220)와는 96%, *Oryza sativa*의 prolamin 4a precursor (P20696)와는 83%, *Oryza sativa*의 prolamin 14 precursor (P20697)와는 84%의 높은 상동성을 보였다.

M3는 prolamine 7 유전자와 거의 일치하였고, 이 유전자는 *Oryza sativa* (japonica cultivar-group) genomic DNA, chromosome 7, BAC clone (OSJNBa0031C24)에 존재하였다. 벼의 7번 염색체에서 prolamine 7 유전자의 프로모터를 찾음으로써, 수분 후 화서에서 특이적으로 발현하는 M3 유전자의 프로모터부위를 탐색하였다.

(4) Microarray 9의 homology 조사 결과

① Nucleotide homology

5.1 AF194115 *Oryza sativa* prolamin 7 gene, complete cds

Length = 1429
 Score = 505 bits (255), Expect = e-140
 Identities = 265/267 (99%), Gaps = 1/267 (0%)
 Strand = Plus / Plus

```

M9   : 1   gctattgctgca-acagcgctctgcgagtttgatgttttaggtcaaagttataggcaa 59
      |||
Sbjct: 723 gctattgctgcatgcagcgctctgcgagtttgatgttttaggtcaaagttataggcaa 782

M9   : 60   tatcagctgcagtcgcctgtcctgctacagcaacaggtgcttagcccatataatgagttc 119
      |||
Sbjct: 783 tatcagctgcagtcgcctgtcctgctacagcaacaggtgcttagcccatataatgagttc 842

M9   : 120  gtaagggcagcagtatggcatagcggcaagcccccttcttgcaatcagctgcgtttcaactg 179
      |||
Sbjct: 843 gtaagggcagcagtatggcatagcggcaagcccccttcttgcaatcagctgcgtttcaactg 902

M9   : 180  agaaacaaccaagtctggcaacagctcgcgctggggcgcaacaatctcactatcaggac 239
      |||
Sbjct: 903 agaaacaaccaagtctggcaacagctcgcgctggggcgcaacaatctcactatcaggac 962

M9   : 240  attaacattgttcaggccatagcgcag 266
      |||
Sbjct: 963 attaacattgttcaggccatagcgcag 989
  
```

② Protein homology

AAA5042.1 prolamin

```

M9   : 1   LQSPVLLQQQVLSPLYNEFVRQQYGI AASPFLQSAAFQLRNNQVWQQLALVAQQSHYQDIN 60
      LQSPVLLQQQVLSPLYNEFVRQQYGI AASPFLQSAAFQLRNNQVWQQLALVAQQSHYQDIN
Sbjct: 33 LQSPVLLQQQVLSPLYNEFVRQQYGI AASPFLQSAAFQLRNNQVWQQLALVAQQSHYQDIN 92

M9   : 61   IVQAIAQ 67
      IVQAIAQ
Sbjct: 93 IVQAIAQ 99
  
```

Microarray clone 9 (M9)의 아미노산 서열은 벼의 prolamin과 100%의 상동성으로 일치하였다. M9는 prolamine 7 유전자와 거의 일치하였으므로 M3와 동일한 것으로 프로모터 탐색에서 제외되었다.

(5) Microarray 14의 homology조사 결과

① Nucleotide homology

>gi|40253817|dbj|AP005531.3|_Oryza sativa (japonica cultivar-group) genomic DNA, chromosome 8, BAC clone:B1099H05
 Length = 186036
 Score = 638 bits (322), Expect = e-180
 Identities = 322/322 (100%)
 Strand = Plus / Minus

```

M14 : 1      accccgggattttggctactcagtcagcaatggcaactgccggcttgtgtgggttagga 60
          |||
Sbjct: 71170 accccgggattttggctactcagtcagcaatggcaactgccggcttgtgtgggttagga 71111

M14 : 61      ttgaactggaagtggatgagcccctcaggaacacaaacacatcaccttgttgagcacc 120
          |||
Sbjct: 71110 ttgaactggaagtggatgagcccctcaggaacacaaacacatcaccttgttgagcacc 71051

M14 : 121     ttgacaatagcctgttatctgggttgacgtaacaaagccaacgtagagtgttccttca 180
          |||
Sbjct: 71050 ttgacaatagcctgttatctgggttgacgtaacaaagccaacgtagagtgttccttca 70991

M14 : 181     agcaccgtgaagatctcggttgcacgaggggtcgtgtgtggtgggttcaaaccgaagggt 240
          |||
Sbjct: 70990 agcaccgtgaagatctcggttgcacgaggggtcgtgtgtggtgggttcaaaccgaagggt 70931

M14 : 241     gcaaagtcaagacgtgctatcgagatgccaagggtattgagaccaggaagctgcaagaca 300
          |||
Sbjct: 70930 gcaaagtcaagacgtgctatcgagatgccaagggtattgagaccaggaagctgcaagaca 70871

M14 : 301     ttgaccaaagtgacattggacc 322
          |||
Sbjct: 70870 ttgaccaaagtgacattggacc 70849
  
```

② protein homology

>dbj|BAD05768.1_putative germin A [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

Length = 221
 Score = 209 bits (532), Expect = 1e-53
 Identities = 102/102 (100%), Positives = 102/102 (100%)

```

M14 : 1      LVNVLQLPGLNLTGSIARLDFAPLGLNPPHHPRATEIFTVLEGTLVGVFVTSNPDNRL 60
          LVNVLQLPGLNLTGSIARLDFAPLGLNPPHHPRATEIFTVLEGTLVGVFVTSNPDNRL
Sbjct: 82     LVNVLQLPGLNLTGSIARLDFAPLGLNPPHHPRATEIFTVLEGTLVGVFVTSNPDNRL 141
  
```

M14 : 61 LSKVLNKGDFVVFPEGLIHFQFNPNPHKPAVAIAALSSQNPG 102
 LSKVLNKGDFVVFPEGLIHFQFNPNPHKPAVAIAALSSQNPG
 Sbjct: 142 LSKVLNKGDFVVFPEGLIHFQFNPNPHKPAVAIAALSSQNPG 183

Microarray clone 14 (M14)의 아미노산 서열은 cupin domain을 가지고 있었으며 (그림 12), 벼의 germin-like protein과 100%의 상동성을 보였다. 이들 cupin family에는 11S와 7S의 식물 seed storage proteins와 germins가 속하고, 이들 식물의 seed storage protein들은 식물의 발달에 있어 주요 질소원이 된다

M14의 아미노산 서열은 *Oryza sativa*의 germin-like protein 3 (AAC04834)과 100%의 상동성을 보였으며, *Pisum sativum*의 germin-like protein (CAB65371)과는 79%, *Mesembryanthemum crystallinum*의 Germin-like protein precursor (P45852)와는 73%, *Arabidopsis thaliana*의 Germin-like protein subfamily 1 member 8 precursor (Q9LEA7)와는 72%의 상동성을 보였다.

M14는 germin like-protein 유전자와 거의 일치하였고, *Oryza sativa* (japonica cultivar-group) genomic DNA, chromosome 8, BAC clone (B1099H05)에 존재하였다. 벼의 8번 염색체에서 germin like-protein 유전자의 프로모터를 찾음으로써, M14 유전자의 프로모터부를 탐색하였다.

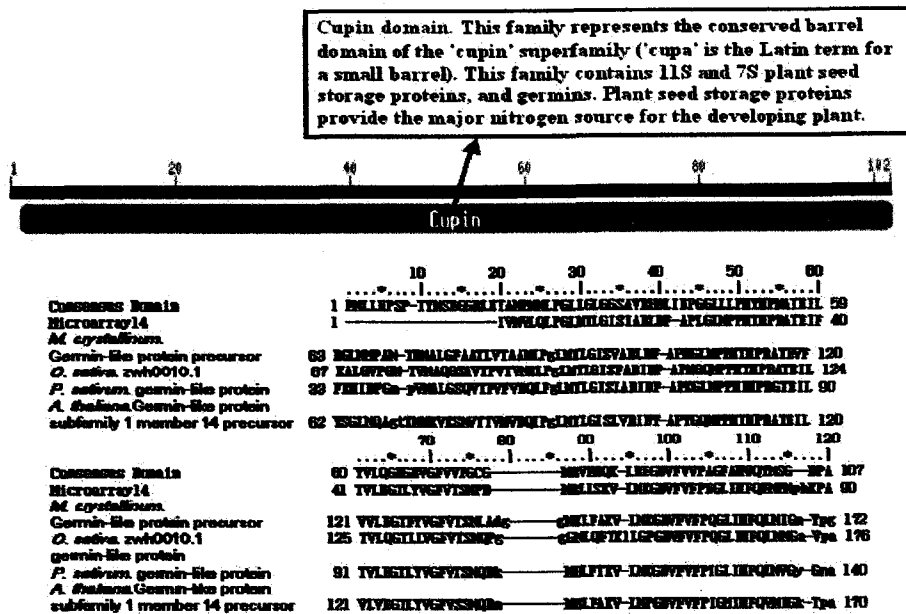


그림 12. Domain analysis of clone 14. Clone 14 contained cupin domain. Clone 14 protein shared high homology with plant germin-like protein. Germin-like proteins are glycoproteins expressed in many plants in response to developmental and environmental cues.

나. 수분후 특이적으로 발현되는 프로모터의 클로닝 : 수분후 특이적으로 발현이 되었던 클론들의 promoter부분을 탐색하여 primer를 작성하였고, 벼 chromosome DNA (50ng), Tac polymerase (2U), 각각의 작성한 Upper primer와 Low primer, (50pmol)를 사용하여 PCR을 실시하였다. PCR조건으로, ① 95℃, 2 min ② 95℃, 50 sec ③ 50℃, 1 min 30 sec ④ 68℃, 2min ⑤ go to ②, 29 cycles ⑥ 68℃, 5 min ⑦ 4℃로 실시하였고, PCR로 증폭된 DNA는 pGEM T-Easy vector에 클로닝 하여 염기서열을 분석하였다.

(1) promoter primer design

① M1 (glutelin-GluA3) promoter primer design

: *Oryza sativa* chromosome 3 BAC OSJNBa0083F15 genomic sequence에서 프라이머를 작성하였다.

-GluA3p-U : 5'-aga aca att tgt ttt cag gtA-3'
-GluA3p-L : 5'-gcc tct aga aaa ata gat ggg-3'

② M2 (prolamine 10kDa) promoter primer design

: *Oryza sativa* chromosome 3 BAC OSJNBa0079B15 genomic sequence에서 프라이머를 작성하였다.

-Prolamine10Kp-U ; 5'-tgg cag cat aca aga tct tgg-3'
-Prolamine10Kp-L ; 5'-ggt gaa ttg gga tgg aga act-3'

③ M3 (prolamine 7 gene) promoter primer design

: *Oryza sativa* (*japonica* cultivar-group) genomic DNA, chromosome 7, BAC clone (OSJNBa0031C24)에서 프라이머를 작성하였다.

-Prolamine7p-U ; 5'-ggc aat atc agc tgc agt cgc-3'
-Prolamine7p-L ; 5'-tta aat cac cat tcg aga gat-3'

④ M14 (putative germin A) promoter primer design

: *Oryza sativa* (*japonica* cultivar-group) genomic DNA, chromosome 8, BAC clone (B1099H05)에서 프라이머를 작성하였다.

-GerminAp-U ; 5'-ccc ggt tgg tgt tac tcc cgg-3'
-GerminAp-L ; 5'-gtg ttt atg gtt tct gtg atg-3'

(2) Promoter PCR과 클로닝 : 각 작성한 프라이머와 벼 Genomic DNA를 이용하여

Tac polymerase PCR을 실시하였다. 벼 Genomic DNA의 농도는 50 μ g을 사용하였고, 각 프라이머는 50pmol을 사용하였다. PCR조건으로는 ① 95 $^{\circ}$ C, 2 min ② 95 $^{\circ}$ C, 50 sec ③ 50 $^{\circ}$ C, 1 min 30 sec ④ 72 $^{\circ}$ C, 2min ⑤ go to ②, 29 cycles ⑥ 72 $^{\circ}$ C, 5 min ⑦ 4 $^{\circ}$ C, store로 하였다. PCR로 확인된 DNA 밴드 중에서 계획한 크기와 같은 밴드를 분리해 낸 후, pGEM T-Easy vector (그림 15)에 클로닝하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열 분석은 BigdyeTM Terminator Cycle Sequencing kits (PE Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하였고, 프라이머는 T7과 SP6 primer를 사용하였다.

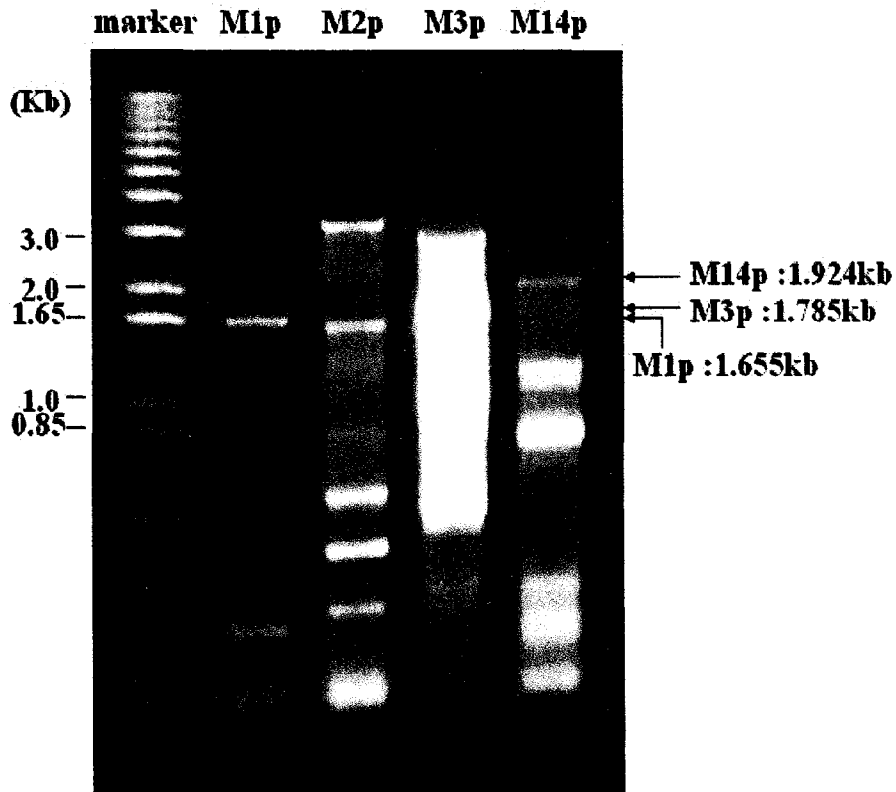


그림 13. PCR을 통한 promoter의 region의 증폭. 수분후 특이적으로 발현되는 promoter를 탐색하기 위해 PCR을 실시하였다.

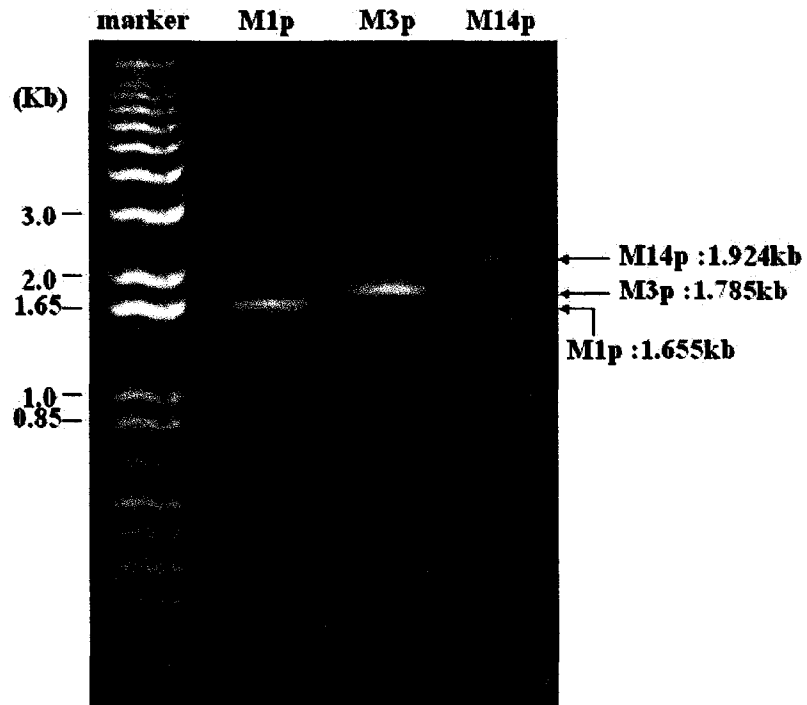


그림 14. PCR 결과물 중에서 계획된 크기의 DNA 분리. 아가로스 젤에서 필요한 크기의 단편부분만을 분리하였다.

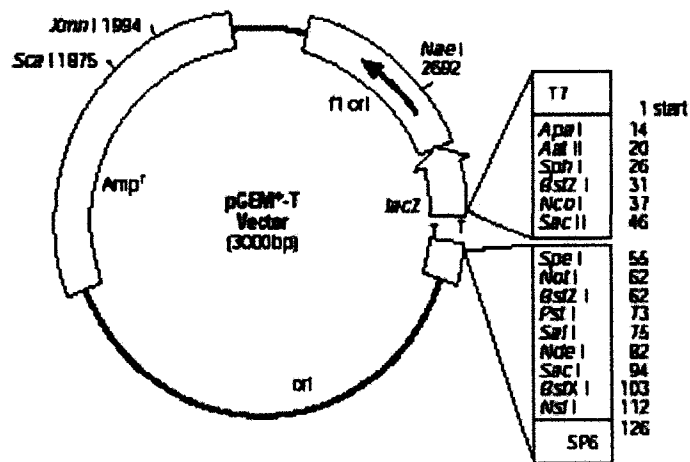


그림 15. pGEM T-Easy vector의 지도. 수분후 특이적으로 발현되는 promoter부위의 PCR 결과물을 pGEM T-Easy vector에 클로닝하였다.

① M1 promoter의 클로닝 : *Oryza sativa* chromosome 3 BAC OSJNBa0083F15 genomic sequence에 포함되어 있는 GluA3 (glutelin) 유전자의 promoter부위를 PCR을 통해서 증폭하였다. 증폭된 DNA의 크기는 약 1.65kb로, primer 제작시 예상하였던 크기와 유사하였다 (그림 13, 14). 이를 pGEM-T-Easy vector에 클로닝하였고 (그림 15), 염기서열을 분석하였다. 염기서열 분석결과, 이 염색체에서 M1의 프로모터 부위임을 확인하였다 (그림 16). 현재 M1 유전자 염기서열은 특허출원을 준비하고 있으므로 염기서열은 생략한다.

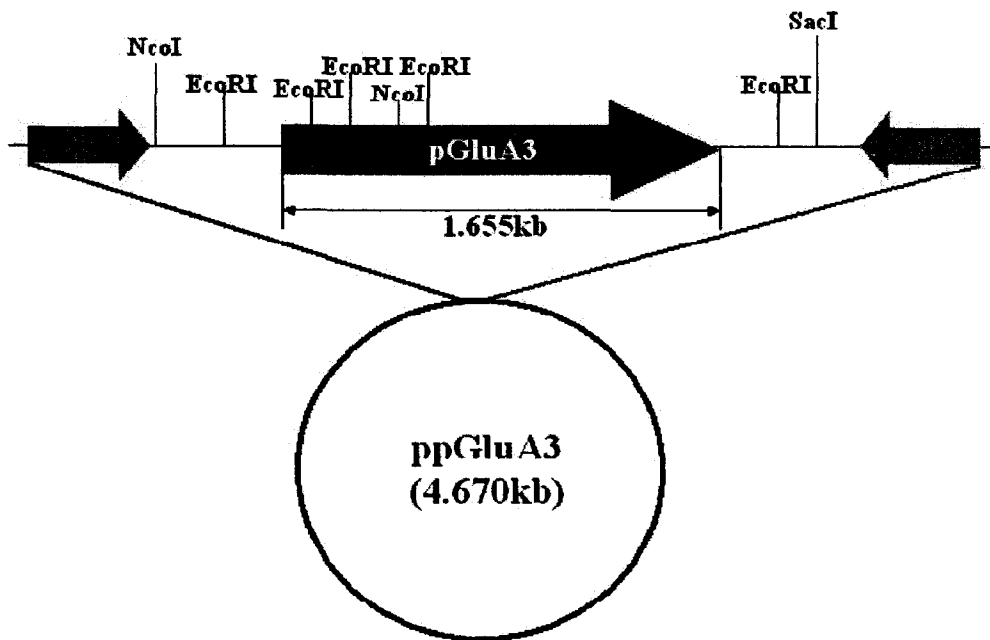


그림 16. ppGluA3(M1의 프로모터)의 유전자지도. 수분후 특이적으로 발현되는 Glutelin 3유전자의 프로모터를 pGEM T-Easy vector에 클로닝하였다. 그 프로모터를 포함한 부위의 크기는 1.655kb이며, EcoRI으로 클로닝되었다.

② GluA3 promoter report vector의 작성 : pBI121 (Gibco, BRL)을 HindIII와 BamHI으로 절단하고, CaMV-35S promoter를 제거하였다. PCR로 정제한 GluA3 유전자의 promoter 부위를 제한효소 HindIII와 BamHI으로 절단하였다. 절단한 vector와 insert를 T4 DNA ligase (10 U/ μ l, NEB)를 사용하여 4°C에서 12시간 ligation 시켰다. Competent cell은 XL I-Blue를 사용하여 electroporation (2,500V) 방법으로 형질전환하였다. 1ml의 SOC 배지를 첨가하여 37°C에서 1시간 배양한 후 항생제 kanamycin (50 μ g/ml)이 첨가된 LB고체배지에서 37°C, 18시간 배양하였다. 블루화이트스크린된 흰색 콜로니를 선택하여 kanamycin이 첨가된 2XYT 액체배지에 배양한 후 플라스미드를 정제하였다. 플라스미드 1 μ l를 제한효소 HindIII와 BamHI으로 절단하여 1% 아가로스 겔에서 GluA3 promoter부위가 클로닝된 것을 확인하였다.

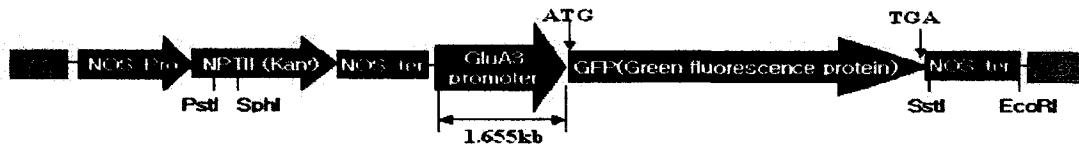


그림 17. GluA3프로모터를 가진 발현벡터제작. GluA3 프로모터의 downstream에 GFP (green fluroescence protein)을 가진 발현벡터를 제작하였다.

4. 기능유전체의 방법과 RNA differential northern 분석으로 탐색된 유전자의 발현 분석 및 염기서열 분석

가. 연구재료 및 방법

(1) library 제작

(가) Poly A⁺ mRNA 분리 및 cDNA 작성 : 각 시료 비의 수분전 화서 (VEf)와 수분후 5일된 화서 (5DAP)로부터 acid-phenol extraction method로서 total RNA를 분리하였다. 분리된 total RNA로부터 oligo dT column을 사용하여 mRNA를 분리하였다. 분리된 mRNA는 oligo-dT를 사용한 reverse transcriptase로 cDNA를 작성하였다. (GibcoBRL recommended).

(나) cDNA Library 작성 : λZAP cDNA library (Sratagen Co.)를 사용하여 비의 수분전 화서 (VEf)와 수분후 5일된 화서 (5DAP) cDNA library를 작성하였다. 각 시료의 mRNA와 oligo-dT primer (XhoI제한효소자리를 포함)를 이용하여 cDNA를 만들었고, EcoRI adator를 ligation한 후, XhoI과 EcoRI을 처리하였다. 만들어진 cDNA는 size fractionation을 통해 400bp이하는 제거하고, Uni-ZAP XR vector에 ligation시켰다. 클로닝된 cDNA들을 Gigapack III XL packaging extract와 섞어 반응시켰다. Phage에 packing된 cDNA들을 XL1Blue MRF' 균주에 infection시키고, NZY top agar와 함께 NZY 고체배지에 분주하여 37°C에서 6~8시간동안 배양하였다. 배지에 생긴 투명한 (plaque)을 관찰한 후, SM buffer를 넣고, 4°C에서 overnight하였다. 배지 위의 SM buffer를 수거하고, chloroform을 첨가하여 cDNA Library로 보관하였다.

(다) cDNA library 탐색 : Lamda phage cDNA library 20 μl를 10 mM MgSO₄에 녹아있는 bacterial host strain XL1Blue MRF' (OD₆₀₀=0.5) 600 μl에 넣은 후 37°C에서 15분간 처리한 후, NZY top agar 6 ml와 섞어 NZY 고체배지에 분주하였다. 37°C 배양기에서 8시간동안 배양하였다. 플라크를 확인한 후, 4°C에 2시간 방치하고 nylon membrane (Schleicher & Schuell, 2002)에 플라그들을 옮겨주었다. 블라팅된 membranes은 Denaturation-Neutralization-Rinse 과정을 거친 후, UV-crosslink시켰다. Prehybridization은 hybridization용액 [50% formamide, 6×SSC (1×SSC: 0.15 M NaCl, 0.25 M NaH₂PO₄, 25 mM Na₂EDTA), 5×denhardt's solution, 0.1% SDS, 0.1 mg/ml denatured salmon sperm DNA]으로 42°C에서 3시간 실시하였다. Hybridization은 비 cDNA를 PCR을 통해 증폭해서 만든 PCR결과물과 α³²P-dCTP와 함께 random labeling system (Promega Co., Madison, WI) 방

법으로 합성한 probe를 사용하여 42℃에서 12시간 수행하였다. membrane을 washing (2×SSC, 0.1%SDS for 5min-twice/1×SSC, 0.1%SDS for 10min/0.1×SSC, 0.1%SDS for 20 min/0.1×SSC, 0.1%SDS at 55℃ for 5 min)한 후, X-ray film에 노출시켰다 (Sambrook et al.,1989). 방사능이 표지된 플러그 위치를 선택, 추출하여 SM buffer (0.01% gelatin, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 100 mM NaCl, 8 mM MgSO₄)와 5% chloroform을 넣고 섞은 후 실온에 5분간 방치한 후 500×g에 10분간 원심분리하였다. 상층액을 수거한 후 0.3%의 chloroform과 함께 4℃에 보관하였다. 2, 3 차 스크린을 거친 후, 원하는 유전자의 cDNA를 가진 플러그들을 exision의 과정을 거쳐 플라스미드를 추출, 정제하였다. 정제한 cDNA들은 영남대학교 생명공학연구소의 automatic DNA sequencer (ABI PRISM 3100; Applied Biosystem, Foster City, USA) 를 사용하여 dye-primer cycle 염기서열방법으로 분석하였다.

(라)벼 유전자의 발현(Expression)연구

① 실험재료: 본 실험에서 사용한 벼는 *Oryza sativa L. ilpum*을 사용하였다. 생육 발달 단계에 따라 수분전의 화서 (7월 초경)와 수분후의 화서 (7월말경)를 채취하였으며, 조직별에 따라 벼의 잎과 뿌리를 같은 시기에 채취하였다. 이들 식물재료들은 액체질소에 급냉각시킨 후, -80℃에 보관하였다. 이들 식물재료는 genomic DNA와 total RNA를 추출하는데 사용되었다.

②) Hormone 처리 : 30~40℃인 온실에서 25일간 생육한 일품벼의 잎을 각각 100μM의 Kinetin, GA3, NAA에 담근다. 주야간 온도 30℃, 일장이 16시간인 growth chamber에 두면서 0, 12, 24, 48, 72시간 침지한 후, 액체질소를 사용하여 급속냉각을 시키고 total RNA를 추출하는 시료로 사용하였다. 대조구로 같은 양의 벼를 3차 증류수에 담그고, 같은 시간에 잎을 채취하였다.

③ 냉해처리 : 30~40℃인 온실에서 25일간 생육한 일품벼의 잎을 3차 증류수에 담근다. 4℃, 일장이 16시간인 growth chamber에 두면서 0, 6, 12, 24, 48, 72시간 침지한 후, 액체질소를 사용하여 급속냉각을 시키고 total RNA를 추출하는 시료로 사용하였다. 대조구로 같은 양의 벼를 3차 증류수에 담그고, 30℃, 일장이 16시간인 growth chamber에 두면서 0, 6, 12, 24, 48, 72시간 침지한 후, 잎을 채취하였다.

④ 벼 Genomic DNA추출과 southern blot analysis : 온실에서 생육시킨 일품벼의 잎 5g을 CTAB (Gawel, N. J and Jarret, R. L, 1991)방법을 사용하여 벼 Genomic DNA를 추출하였다. 벼 genomic DNA 30μg을 제한효소 (BamHI, EcoRI, HindIII)를 이용하여 16~18시간 동안 37℃에서 절단하였다. 제한효소로 절단된 genomic

DNA와 size marker (lambda phage marker and 1kb ladder marker)를 0.8 % 아가로스 젤에 전기영동하였다. 전기영동한 아가로스 젤을 0.25N HCl에 5분간 담그고, Denaturation 용액에 30분간 담근 후, Neutralization 용액에 30분간 담겼다. 이 agarose gel을 25 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 nylon membrane (Schleicher & Schuell, 2002)에 옮기고, DNA가 블라팅된 nylon membrane은 UV-crosslink시켰다. Membrane을 hybridization용액 [6×SSPE (1×SSPE : 0.15 M NaCl, 0.25 M NaH₂PO₄, 25 mM Na₂EDTA), 5×DH (denhardtts solution), 50 % formamide, 0.5 % SDS, 0.1mg/ml denatured salmon sperm DNA] 으로 42℃에서 3 시간동안 prehybridization시켰다. 프로브는 유전자의 cDNA단편을 (α-32P)dCTP와 함께 random primer labeling system (Promega Co., Madison, WI) 방법으로 합성하고, prehybridization시킨 membrane을 방사능으로 표지된 변형시킨 프로브를 넣고 42℃에서 16~18시간 동안 반응시켰다. membrane을 washing (2×SSC, 0.1%SDS for 5min-twice/1×SSC, 0.1%SDS for 10min/0.1×SSC, 0.1%SDS for 20 min/0.1×SSC, 0.1%SDS at 55℃ for 5 min)한 후, X-ray film에 노출시켰다 (Sambrook et al.,1989).

⑤ Total RNA 추출과 northern blot analysis : 비의 뿌리, 잎, 수분전 화서, 수분후 화서에서 total RNA를 추출하였다. 액체질소를 이용해서 고정을 하고, 조직 각각 5g씩 phenol-chloroform방법으로 추출, 정제하였다. 비로부터 얻은 뿌리, 잎, 수분전 화서, 수분후 화서의 total RNA (20μg)를 1.4% 포름알데하이드 아가로스 젤에 전기영동하고, 0.5M ammonium acetate용액에 0.5μg/ml의 ethidium bromide가 든 염색 용액에 5분간 담그고, 증류수로 1시간 동안 씻어내었다. Membrane에 RNA를 옮기는 방법은 southern blot과 동일한 방법으로 실시하였다. 준비된 RNA blot membrane을 65℃에서 2시간 동안 prehybrization [50 % formamide, 0.5 % SDS, 1.0M NaCl, 0.1mg/ml denatured salmon sperm DNA]시켰다. (α-32P)UTP labeled Riboprobe를 사용하여 62℃에서 16시간동안 hybridization시켰다. Membrane을 washing 한 후, X-ray film에 노출시켰다.

(마)벼 유전자의 단백질 발현 연구(Protein expression)

벼 유전자의 단백질 발현 연구를 위해 다음의 세 가지 E. coli 발현시스템들을 사용하였다. 그 중 하나는 Champion™ pET101/pET102 Directional TOPO Expression (His-tag fusion system)이고, pGEX vector expression (GST fusion system)과, pTrcHis vector expression (His-tag fusion system)도 사용하였다. 발현 벡터시스템들의 클로닝과 단백질 발현, 정제 실험은 유사한 방법으로 진행되었다.

① 클로닝 (cloninig) : Expression system 방법에 따라 비의 기능미확인 유전자의

프라이머를 작성하였다. 작성한 프라이머와 pfu polymerase를 사용하여 PCR을 실시하였다. PCR조건으로, ① 95℃에서 2분, ② 95℃에서 50초, ③ 55℃에서 1분 30초, ④ 68℃에서 2분, ⑤ ②로 다시 돌아가 29주기 반복, ⑥ 68℃에서 5분, ⑦ 4℃에서 보관하였다. PCR product 5 μ l, pET102 vector 1 μ l, salt solution 1 μ l를 잘 섞어준 후, 상온에서 5분동안 ligation 반응을 시켰다. TOP10을 ligation 반응액과 섞은 후, 얼음에서 30분간 두었다. 42℃에서 30초간 반응시킨 후, 바로 얼음에 두었다. 250 μ l의 SOC 배지를 첨가하여 37℃에서 30분간 배양 (200rpm)한 후, ampicillin (100 μ g/ml)이 첨가된 고체 LB배지에서 37℃, 18시간 동안 배양하였다. 선택배지에서 자란 콜로니를 2 \times YT 액체배지에 37℃, 6~8시간 배양하여 플라스미드를 추출, 정제하였다. 추출한 플라스미드를 제한효소로 절단한 후, 1% agarose gel에 1 \times TAE buffer를 사용하여 전기영동하였다. 클로닝된 플라스미드를 BL21starDE3 (단백질발현균주)에 형질전환하였다. BL21starDE3에 형질전환된 것을 확인한 후, 이를 단백질 발현에 사용하였다.

② DNA 염기서열분석 : 벼 유전자가 클로닝된 발현백터를 영남대학교 생명공학연구소의 automatic DNA sequencer (ABI PRISM 3100; Applied Biosystem, Foster City, USA) 를 사용하여 dye-primer cycle 염기서열방법으로 분석하였다.

③ 단백질발현과 추출 : 벼 유전자가 클로닝된 플라스미드를 가진 BL21star(DE3) 콜로니를 carbenicillin (50mg/ml)과 1% glucose가 포함된 LB액체배지 3ml에 접종한 후, 37℃에서 12시간 동안 배양하였다. 배양액 3ml을 50ml의 carbenicillin (50mg/ml)과 1% glucose가 포함된 LB 액체배지에 접종하여 37℃에서 흡광도 0.5~0.8이 될 때까지 배양하였다 (흡광도; OD₆₀₀). 0.5mM의 IPTG (Isopropyl- β -D-Thiogalactopyranoside)를 첨가하고, 37℃에서 4시간 동안 배양하였다. 원심분리하여 세포를 모으고, 세포용해용액 (1 \times Ni-NTA bind buffer : 300mM NaCl, 50mM sodium phosphate buffer, 10mM imidazole, pH 8.0)을 첨가하여 초음파로 세포를 마쇄하여 전단백질(total protein)을 준비하였다. 전단백질을 원심분리를 하여 상층액을 털어내어 용해성단백질 (soluble protein)로 분리하고, 가라앉은 찌꺼기는 불용해성 (insoluble protien)으로 분리하였다.

④ 융합 단백질의 정제 : 다음은 His 융합 단백질의 정제과정이다. His· 융합 단백질을 Ni-NTA His·Resin을 이용하여 정제하였다. 1 \times Ni-NTA bind buffer에 녹아 있는 용해성단백질 (soluble protein)과 Ni-NTA His Bind resin을 1시간 동안 섞어주고, 컬럼에 흘려주었다. Ni-NTA HisBind resin에 His·융합 단백질을 붙여진 상태에서 4ml의 1 \times Ni-NTA wash buffer (300mM NaCl, 50mM sodium phosphate buffer, 20mM imidazole, pH 8.0)로 컬럼을 씻어주었다. 1 \times Ni-NTA elution buffer (300mM NaCl; 250mM imidazole, 50mM sodium phosphate buffer, pH 8.0)로 His·

융합 단백질을 추출하였다.

GST융합 단백질의 경우, GST purification module을 사용하여 정제하였다. 1×PBS (0.14M NaCl, 2.7mM KCl, 10.1mM Na₂PO₄, 1.8mM KH₂PO₄, pH 7.3) buffer로 단백질을 녹이고, glutathione sepharose 4B microspin column으로 GST융합단백질을 정제하였다. 정제시, 용출용액으로, glutathione elution buffer (10mM glutathion in 50mM Tris-HCl, pH 8.0)를 사용하였다.

⑤ SDS-PAGE 분석 (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis analysis) : 단백질 발현의 확인을 위하여, SDS-PAGE분석 방법을 실시하였다. 단백질추출용액을 로딩 용액과 섞고, 95℃에서 5분간 끓여주었다. 열처리한 단백질을 SDS-PAGE 젤에 로딩하고 25mA에서 4시간 동안 전기영동하였다. SDS-PAGE젤을 0.05 % comassie brilliant blue R-250으로 염색하고, 10 % methanol, 7 % acetic acid 용액으로 탈색한 후, 단백질 발현을 확인하였다.

나. 유용 cDNA 염기서열 분석 및 발현특성 연구

(1)기능유전체의 방법 (SAGE와 microarray)과 RNA differential northern 분석

기능유전체의 방법 (SAGE와 microarray)과 RNA differential northern 분석으로 86개의 유용 cDNA를 cDNA library로부터 확보하였으며 염기서열을 결정하고 BALST를 search를 통하여 유전자의 Annotation을 하였다 (Table 6. cDNA list, 첨부 2, Rice cDNA clones 참조). 그 중 30개는 전혀 알려져 있지 않은 유전자였다. cDNA중 기능이 밝혀진 유전자와 유사성이 30% 이하가 많았다. 이는 annotation이 원래의 유전자 기능과 다를 수 있으며 고등 식물에서 기능연구가 되어 있지 않은 경우이다. 현재 아미노산 서열 domain유사성이 기능 검정된 유전자와 20% 이하일 경우 기존유전자와 기능이 다를 수 있다. 그러므로 많은 cDNA가 신규한 유전자일 가능성이 있다. Annotation과 기능이 반드시 일치하지는 않는다. 그 예로, RAP41과 RAP58번을 선택하여 기능검정을 실시한 결과, domain의 유사성과 일치한 기능을 확인하였다. 결과 RAP41은 Acetyl-CoA를 생산하는 lipoate protein ligase이며 RAP58은 glutathione peroxidase 로 기능을 규명하였다.

Table 6. cDNA list

No.	Clone	Size (bp)	Identifier	No.	Clone	Size (bp)	Identifier	No.	Clone	Size (bp)	Identifier
1	RAP03	1453 bp	OsEIF3	30	RAP94	1059 bp	OsRPS4	59	RAP136	1600bp	OsTRA
2	RAP04	940 bp	OsRPL13	31	RAP100	1084 bp	OsVATE	60	RAP144	2500bp	OsENTH
3	RAP07	2692 bp	unknown	32	RAP01	1731bp	OsPGM	61	RAP147	3500bp	OsMLP
4	RAP12	1793 bp	OsGBSS	33	RAP33	850bp	OsCKA	62	RAP13	798bp	unknown
5	RAP15	873 bp	OsUBC	34	RAP44	2439bp	OsSDCCP	63	RAP20	535bp	unknown
6	RAP18	1544 bp	OsGLKA	35	RAP06	4800bp	OsSPKG	64	RAP116	1469bp	unknown
7	RAP19	1623 bp	OsRHF2A	36	RAP14	1550bp	OsRPL18a	65	RAP02	1454bp	unknown
8	RAP27	2084 bp	OsARP	37	RAP62	2300bp	OsPPFP	66	RAP09	2000bp	unknown
9	RAP29	1516 bp	unknown	38	RAP67	1000bp	OsRSC	67	RAP17	1300bp	unknown
10	RAP31	1643 bp	OsGLU	39	RAP71	1400bp	OsLGLP	68	RAP25	1600bp	unknown
11	RAP37	1748 bp	OsSRP19	40	RAP72	1400bp	OsGB200	69	RAP26	3800bp	unknown
12	RAP39	1314 bp	OsSS3	41	RAP75	2000bp	OsADRH	70	RAP30	2800bp	unknown
13	RAP40	2535 bp	OsMAPK4	42	RAP81	2200bp	OsARGP	71	RAP34	1400bp	unknown
14	RAP41	1369 bp	OsLPLA	43	RAP83	1600bp	OsNTR	72	RAP42	1600bp	unknown
15	RAP43	779 bp	OsDRM1	44	RAP85	2100bp	OsCPN	73	RAP54	1600bp	unknown
16	RAP45	1667 bp	OsEF1A	45	RAP86	1300bp	OsPGPAP	74	RAP68	800bp	unknown
17	RAP46	1283 bp	OsNDBP	46	RAP87	700bp	OsYLP	75	RAP69	1100bp	unknown
18	RAP52	2779 bp	OsKLP	47	RAP88	1900bp	OsCAP	76	RAP73	2000bp	unknown
19	RAP53	876 bp	OsBEX	48	RAP89	2500bp	OsNRT1-5	77	RAP78	2800bp	unknown
20	RAP58	795 bp	OsGPX1	49	RAP90	1000bp	OsORD	78	RAP79	1300bp	unknown
21	RAP64	1244 bp	OsRRM	50	RAP92	900bp	OsSREBF	79	RAP84	600bp	unknown
22	RAP65	1064 bp	OsIPMDH	51	RAP93	1800bp	OsGPR	80	RAP91	2500bp	unknown
23	RAP66	848 bp	OsTFIIA	52	RAP98	1400bp	OsACPPS	81	RAP97	1500bp	unknown
24	RAP70	698 bp	OsACPII	53	RAP99	1600bp	OsKLP	82	RAP120	2500bp	unknown
25	RAP74	1351 bp	unknown	54	RAP101	1600bp	OsATS5a	83	RAP138	4500bp	unknown
26	RAP76	632 bp	OsRPS15	55	RAP105	2800bp	OsGAM	84	RAP141	2000bp	unknown
27	RAP77	949 bp	OsBNASE	56	RAP106	1000bp	OsDEIAS	85	RAP145	2550bp	unknown
28	RAP80	807 bp	unknown	57	RAP108	1800bp	OsBTR	86	RAP146	2550bp	unknown
29	RAP82	1269 bp	unknown	58	RAP128	2000bp	OsDAZA1				

(Note) RAP named by cloned screened from cDNA library constructed from 5-days after pollination.

(2) 유용유전자 선별을 위한 유전자 발현조사

발생조직별 시공간적인 특이성을 갖는 유전자를 탐색하기 위하여 Northern blot analysis를 수행하였다. 동시에 genomic southern blot 분석을 통하여 genome 조성을 분석하였다 (그림 22~63). 발현양상연구 결과, 감수분열(meiosis)시기의 화서에 특이적으로 발현되는 유전자 3개를 확인 (RAP5, RAP11, RAP46)하였고, 수분 후 종자발생에서 특이적으로 발현되는 유전자 8개를 확인 (RAP1, RAP2, RAP4, RAP12, RAP37, RAP39, RAP41)하였으며, 잎에서 특이적으로 발현되는 유전자 (RAP6을 포함 16개)를 확인하였다. 그리고, 지속적으로 발현되는 유전자 (RAP40을 포함한 11개 확인)도 확인하였다. 이들의 종합적이 발현양상은 Table 7에 정리를 하였다.

5day after pollinated flower specific

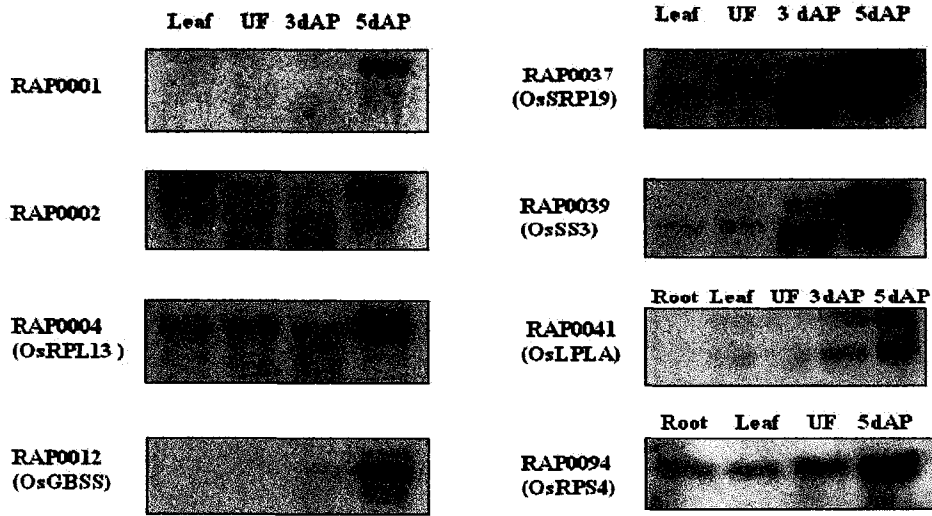


그림 18. 5dAP(flower after pollination)-specific expressed rice cDNA clones in northern hybridization.

Leaf specific

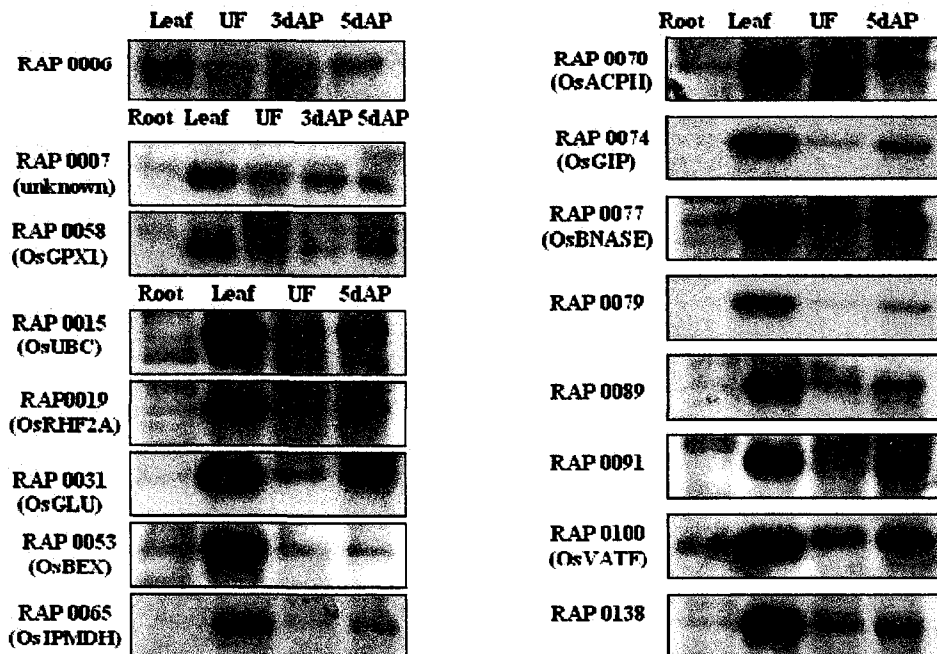


그림 19. Leaf-specific expressed rice cDNA clones in northern hybridization.

Meiosis specific

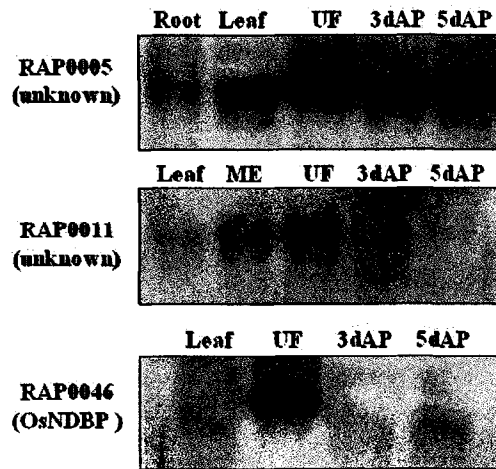


그림 20. Meiosis stage-specific expressed rice cDNA clones in northern hybridization.

Constitutive

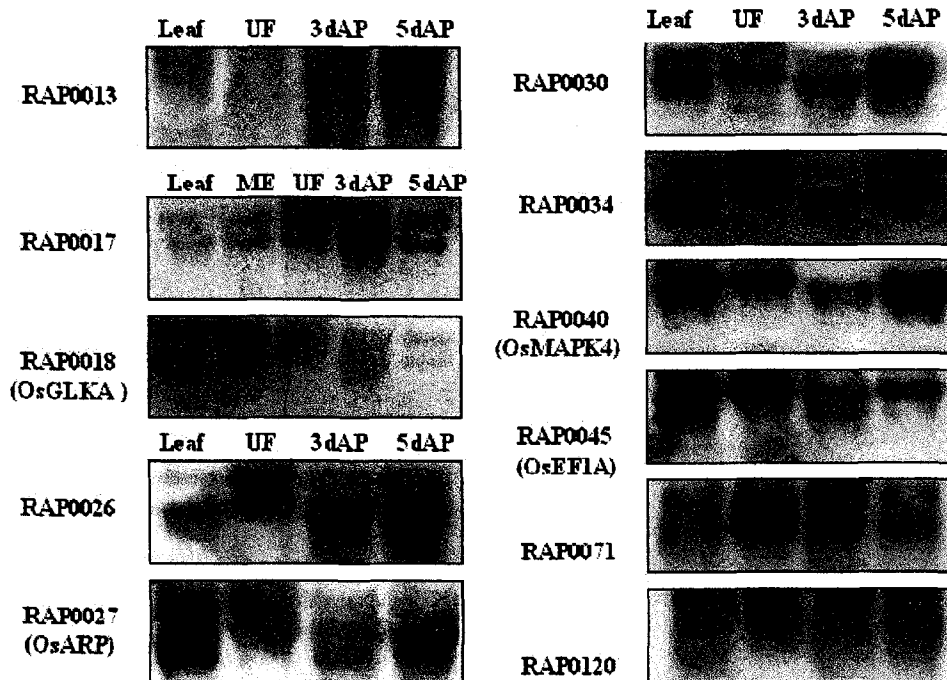


그림 21. Constitutive expressed rice cDNA clones in northern hybridization

Table 7. 발생단계별 특이유전자의 발현양상연구 결과

Gene	Annotation	R	L	UF	5-DAP (seed)	Specific
RAP1	UN				++	5DAP
RAP2	UN				++	5DAP
RAP4	RPL13				+++	5DAP
RAP12	GBSS				++++	5DAP
RAP37	SRP19				+++++	5DAP
RAP39	SS3				+++++	5DAP
RAP41	LPLA				+++	5DAP
RAP94	RPS4	+	+	+	++++	5DAP
RAP6	UN		++		+	Leaf
RAP7	UN		+++	+	+	Leaf
RAP15	UBC		+++		+	Leaf
RAP31	GLU		+++++	+	++	Leaf
RAP53	BEX		+++	+	+	Leaf
RAP58	GPX1		++++	+	+	Leaf
RAP65	IPMDH		+++		+	Leaf
RAP70	ACPII		+++++	++	++	Leaf
RAP74	GIP		+++		+	Leaf
RAP77	BNASE		++++		+	Leaf
RAP79	UN		+++		+	Leaf
RAP89	UN		++++	+	++	Leaf
RAP91	UN		+++++	+	+	Leaf
RAP100	VATE	+	+++++	+	++	Leaf
RAP5	UN	+	+	+++++	++	UF
RAP11	UN			+++		UF
RAP46	NDBP			++++		UF
RAP13	UN		+	+	+	CON
RAP17	UN		+	++	++	CON
RAP18	GLKA		+	+	+	CON
RAP19	RHF2a		+	++	+++	CON
RAP26	UN		+	+	++	CON
RAP27	ARP		+	+	+	CON
RAP30	UN		+	+	+	CON
RAP34	UN		++	++	++	CON
RAP40	MAPK4		+++	+++	+++	CON
RAP45	EF1A		+++	+++	+	CON
RAP71	LGLP		++	++	+	CON
RAP120	UN		+	+	+	CON

(Note) R: root, L: Leaf, UF: flower from meiosis stage~mature flower, 5-DAP seeds for 3-5 days after pollination, UN: unknown, Expressivity: Signal intensity score: from highest(+++++) to low(+), negative: blank, CON: constitutive.

(가) cDNA들의 northern과 southern blot analysis

벼 cDNA library에서 선별된 cDNA clone들에 대해 각각 northern과 southern blot analysis을 다음과 같이 정리하였다 (그림 22~63). Northern hybridization에는 벼의 조직별로 뿌리 (Root), 잎 (Leaf), 수분전 화서 (UF; unopen flower, MEF; flower in meiosis stage, LF; flower in late stage), 수분후 화서 (3dAP; 3day after pollination, 5dAP; 5day after pollination, 10dAP; 10day after pollination, 15dAP; 15day after pollination)를 사용하였다. Southern hybridizaion에는 각각 BamHI, EcoRI, HindIII 제한효소를 처리한 벼 genomic DNA를 사용하였다.

RAP0001
(Os Phosphoglucomutase)

RNA blot analysis

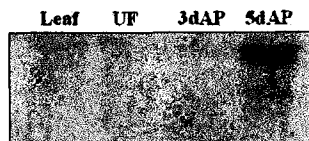


그림 22. RAP1 유전자의 조직별 발현양상

RAP0002
(Unknown)

RNA blot analysis

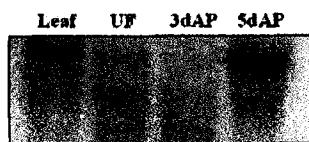
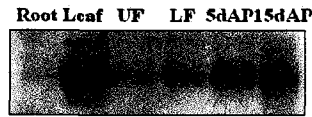


그림 23. RAP2 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0004
(OSRPL13)**

RNA blot analysis



Southern blot analysis

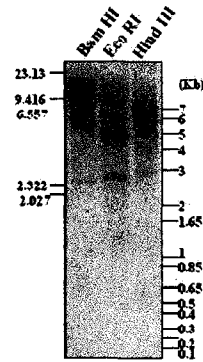
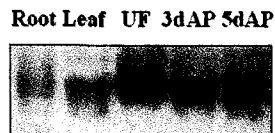


그림 24. RAP4 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0005
(Unknown)**

RNA blot analysis



Southern blot analysis

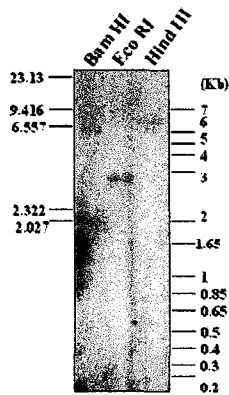


그림 25. RAP5 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0006
(Unknown)**

RNA blot analysis

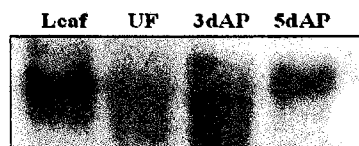


그림 26. RAP6 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0007
(Unknown)**

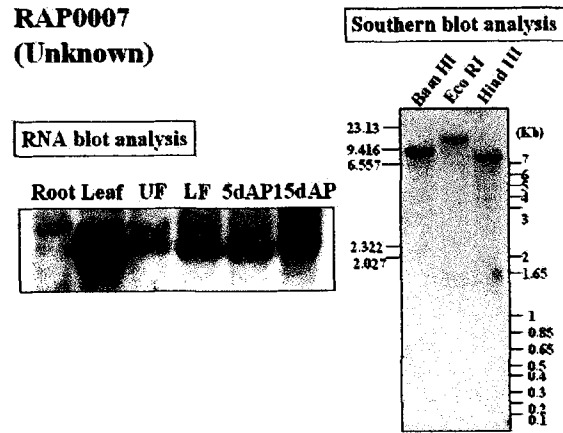


그림 27. RAP7 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0011
(Unknown)**

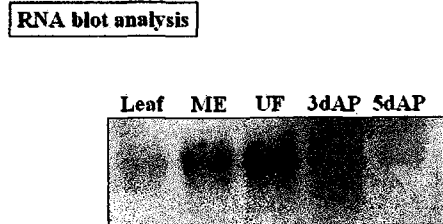


그림 28. RAP11 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0012
(OsGBSS)**

-Starch granule-bound starch synthase

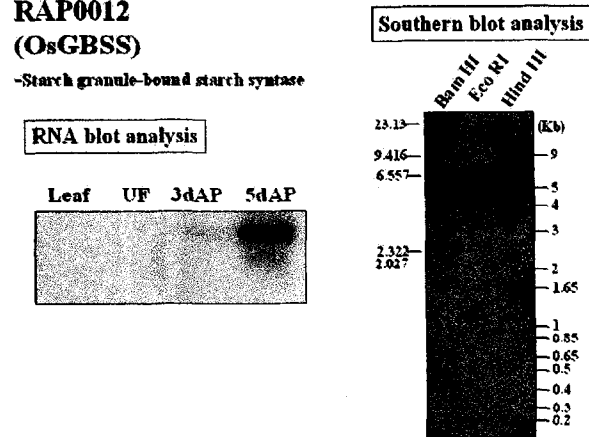


그림 29. RAP12 유전자의 조직별 발현양상

RAP0013
(Unknown)

RNA blot analysis

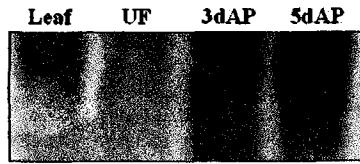


그림 30. RAP13 유전자의 조직별 발현양상

RAP0015
(OsUBC)

-putative ubiquitin-conjugating enzyme

RNA blot analysis



그림 31. RAP15 유전자의 조직별 발현양상

RAP0017
(Unknown)

RNA blot analysis

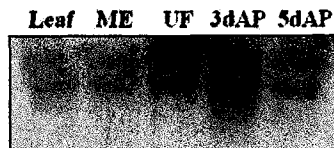


그림 32. RAP17 유전자의 조직별 발현양상

RAP0018
(OsGLKA)

-putative galactokinase like protein

RNA blot analysis

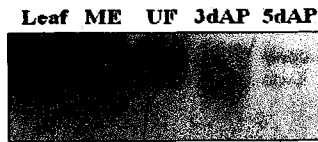


그림 33. RAP18 유전자의 조직별 발현양상

RAP0019
(OsRHF2a)

-putative RING-H2 finger protein RHF2a

RNA blot analysis



Southern blot analysis

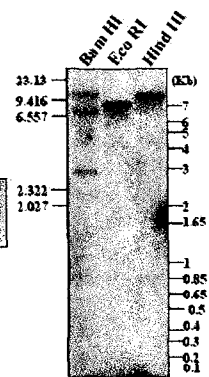


그림 34. RAP19 유전자의 조직별 발현양상

RAP0026
(Unknown)

RNA blot analysis

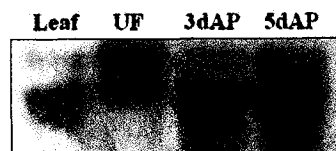


그림 35. RAP26 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0027
(OsARP)**

- putative auxin-responsive GHS

RNA blot analysis

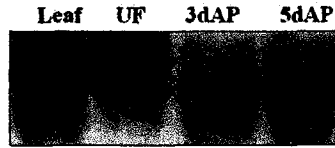


그림 36. RAP27 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0030
(Unknown)**

RNA blot analysis

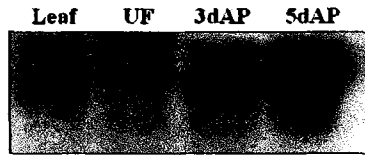
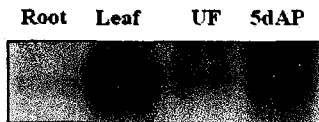


그림 37. RAP30 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0031
(OsGLU)**

- *Oryza sativa glutein*

RNA blot analysis



Southern blot analysis

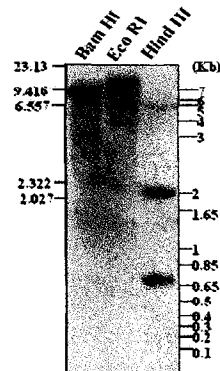


그림 38. RAP31 유전자의 조직별 발현양상

RAP0034
(Unknown)

RNA blot analysis

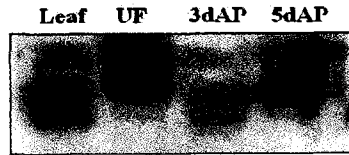


그림 39. RAP34 유전자의 조직별 발현양상

RAP0037
(OsSRP19)

-Signal recognition particle 19 kDa

RNA blot analysis

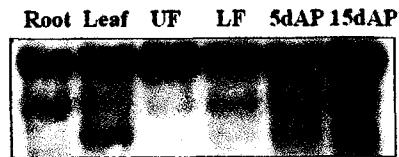


그림 40. RAP37 유전자의 조직별 발현양상

RAP0039
(OsSS3)

-*Oryza sativa* sucrose synthase 3

RNA blot analysis

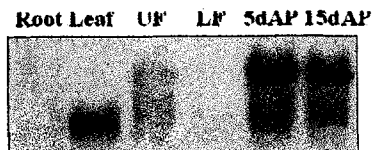


그림 41. RAP39 유전자의 조직별 발현양상

RAP0040
(OsMAPK)
 -MAP4K alpha2 protein

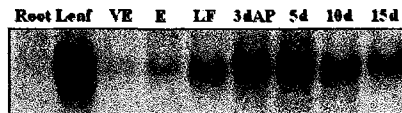
RNA blot analysis



그림 42. RAP40 유전자의 조직별 발현양상

RAP0041
(OsLPLA)
 - lipase protein Mgase-Mke protein

RNA blot analysis



Southern blot analysis

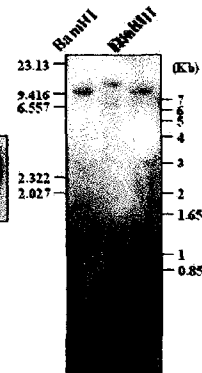


그림 43. RAP41 유전자의 조직별 발현양상

RAP0045
(OsEF1A1)
 - *Oryza sativa* mRNA for EF-1 alpha

RNA blot analysis

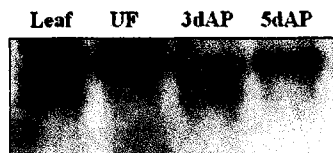
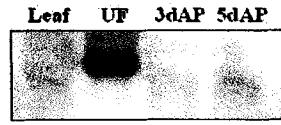


그림 44. RAP45 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0046
(OsNDBP)**

- Putative nucleoid DNA-binding protein

RNA blot analysis



Southern blot analysis

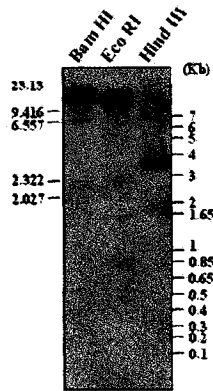


그림 45. RAP46 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0053
(OsBEX)**

- *Oryza sativa* beta-expansin

RNA blot analysis

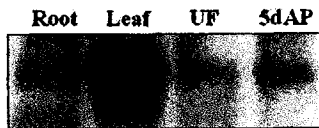
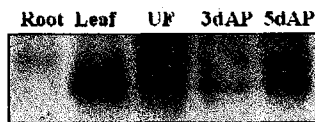


그림 46. RAP53 유전자의 조직별 발현양상

**RAP58
(OsGPX1)**

- glutathione peroxidase

RNA blot analysis



Southern blot analysis

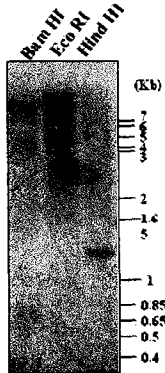


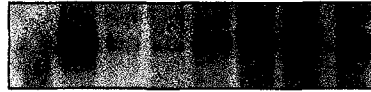
그림 47. RAP58 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0065
(OsIPMDH)**

-Putative RNA binding protein like

RNA blot analysis

Root Leaf VE E LF 3dAP 5d 15d



Southern blot analysis

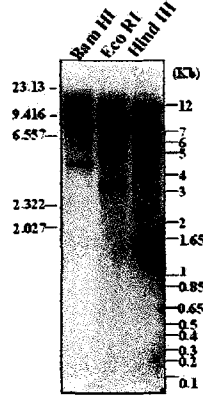


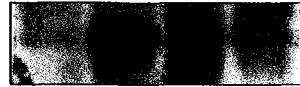
그림 48. RAP65 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0070
(OsACPII)**

-Putative acyl carrier protein II

RNA blot analysis

Root Leaf UF 5dAP



Southern blot analysis

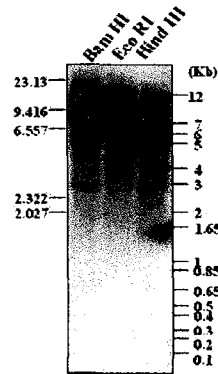


그림 49. RAP70 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0071
(Unknown)**

RNA blot analysis

Root Leaf UF 5dAP



Southern blot analysis

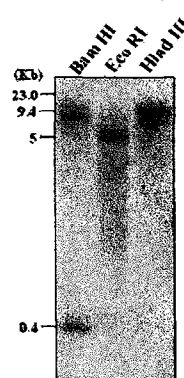
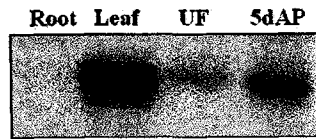


그림 50. RAP71 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0074
(OsGIP)**

-putative phosphatidylinositol glycan

RNA blot analysis



Southern blot analysis

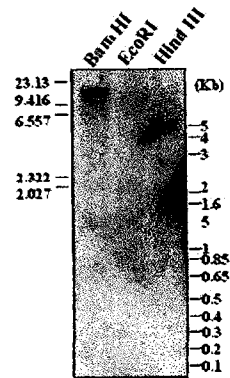


그림 51. RAP74. 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0076
(OsRPS15)**

-putative 40S ribosomal protein S15

RNA blot analysis



Southern blot analysis

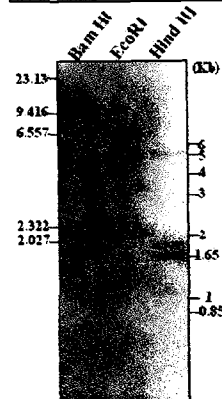


그림 52. RAP76 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0077
(OsBNASE)**

- putative bifunctional nuclease

RNA blot analysis

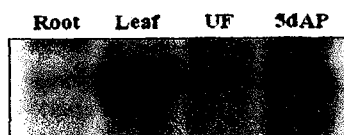


그림 53. RAP77 유전자의 조직별 발현양상

RAP0078
(Unknown)

RNA blot analysis

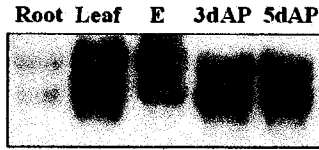


그림 54. RAP78 유전자의 조직별 발현양상

RAP0079
(Unknown)

RNA blot analysis

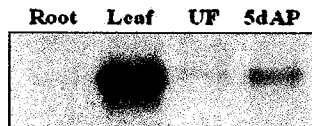


그림 55. RAP79 유전자의 조직별 발현양상

RAP0089
(Unknown)

RNA blot analysis

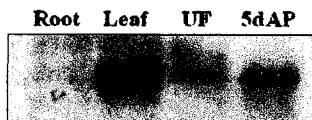


그림 56. RAP89 유전자의 조직별 발현양상

RAP0091
(Unknown)

RNA blot analysis

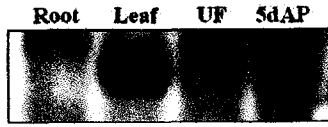


그림 57. RAP91 유전자의 조직별 발현양상

RAP0094
(OsRPS4)
-putative ribosomal protein S4

RNA blot analysis

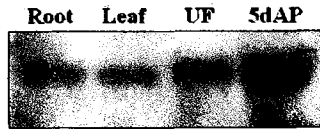


그림 58. RAP94 유전자의 조직별 발현양상

RAP0097
(Unknown)

RNA blot analysis

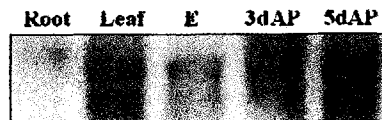
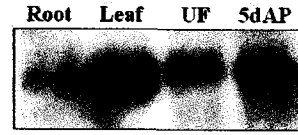


그림 59. RAP97 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0100
(OsVATE)**

- vacuolar V-H+ATPase subunit E

RNA blot analysis



Southern blot analysis

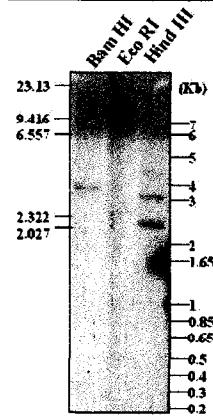


그림 60. RAP100 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0120
(Unknown)**

RNA blot analysis

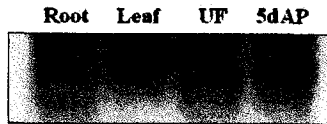


그림 61. RAP120 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0138
(Unknown)**

RNA blot analysis

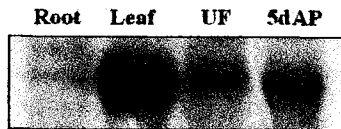


그림 62. RAP138 유전자의 조직별 발현양상

**RAP0156
(OsMADF)**

-*Oryza sativa* MADs box

RNA blot analysis



Southern blot analysis

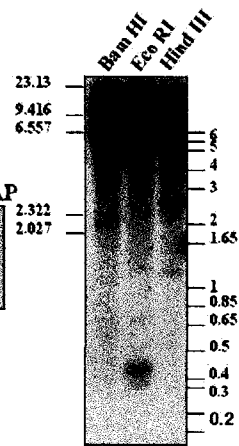


그림 63. RAP156 유전자의 조직별 발현양상

5.기능미확인유전자의기능연구

가.RAP41유전자의기능분석(Functional analysis)

Lipoic acid (6,8-thioctic acid or 1,2-dithiolane-3-pentanoic acid)는 이황화결합을 가진 보조요인 (cofactor)으로서, central metabolism에 필요한 효소복합체의 활성을 위해 필수적이다 (그림 64, 65). Lipoic acid의 결합으로 인해 활성을 가지는 효소복합체로서 pyruvate dehydrogenase, α -ketoglutarate dehydrogenase (Reed and Hackert 1990, Perham 1991, Mattevi et al. 1992), 그리고 최근에 알려진 glycine cleavage enzyme (Fujiwara et al. 1990, Kim and Oliver 1990, Macherel et al. 1990)이 있다. 5개의 단백질들이 lipoylated proteins로 알려져 있다 : pyruvate dehydrogenase (PDH), 2-oxoglutarate dehydrogenase (OGDH), branched chain 2-oxoacid dehydrogenase complexes의 dihydrolipoamide acyltransferase (E2) subunits, PDH complex의 protein X, 그리고 glycine cleavage complex의 H-protein. Lipoic acid는 이들 단백질들의 특이적인 lysine잔기의 ϵ -amino group과 amide결합을 이룬다 (Reed and Hackert 1966). 단백질에 결합된 lipoate는 효소복합체의 활성자리에서 reaction intermediates의 carrier로서 역할을 한다 (douce et al. 1994, Yeaman 1989). 그러므로 lipoate dependent enzymes의 lysine잔기에 lipoate를 붙여주는데 lipoyl-protein ligases가 필요하다.

Escherichia coli (Morris et al. 1994, Morris et al. 1995)에서는, lipoic acid를 apoproteins에 옮겨주는 두 종류의 효소가 있다 (그림 66). 하나는 *LplA* gene에 의해 코드되는 lipoyl ligase로, ATP를 필요로 하는 효소이며, lipoyl전이를 위해 중간 매개체로 lipoyl-AMP 형태를 가진다. *LplA* ligase는 외생적으로 공급된 lipoic acid를 protein modification을 위해 단백질에 붙여준다 (Morris et al. 1994, Morris et al. 1995). 다른 하나는, *lipB* gene에 의해 코드되는 $N\epsilon$ -lysine lipoyltransferase로서, lipoyl-ACP (lipoyl-acyl carrier protein)에서 lipoyl기를 apoproteins에 옮겨준다. 지방산합성과정에서 생성된 octanoyl-ACP를 LipA(lipoate synthesis)에 의해 lipoate의 형태로 만들고, 이때 생성된 lipoic acid를 LipB lipoyltransferase는 단백질에 붙여주게 된다 (Jordan and Cronan 1997).

효모인 *Kluyveromyces lactis*에서는, LIPB gene이 클로닝되었다 (Chen 1997). LIPB polypeptide의 deduced amino acid sequence는 *E. coli LipB*의 것과 유사하지만, *LplA*와는 다르다. *K. lactis* LIPB disruptant strains는 glycerol medium에서 잘 자라지 못하는데, 이는 PDH와 OGDH가 활성을 가지는 시트르산회로의 기능이 필요하기 때문이다. 또한 이들 strains는 glycine cleavage enzyme의 결여로 질소원으로로서의 glycine을 이용할 수 없다. 이것은 LIPB gene이 이 효모에 있어 효소 lipoylation의 결정요인이 된다는 것을 의미한다.

Central metabolism의 주요 효소복합체의 기능에서 lipoyl prosthetic group의 중요

성에도 불구하고, 고등식물에서는 lipoic acid의 전이에 관련된 효소에 대한 연구는 극히 드물다. 고등식물에서, Lipoic acid를 붙여주는 효소의 cDNA와 유전자가 클로닝되거나 연구되어진 바가 없었다. 그리고 생합성과정에서 생성된 lipoate의 ligation에 관여하는 LipB에 대한 연구는 다소 이루어지고 있으나, 외생적으로 공급된 lipoate의 ligation에 관여하는 LplA에 관한 연구는 거의 없었다. 이 연구에서, 우리는 *E. coli*의 *LplA*와 기능적으로, 그리고 구조적으로 유사한 벼 RAP41 유전자에 대한 연구하였다.

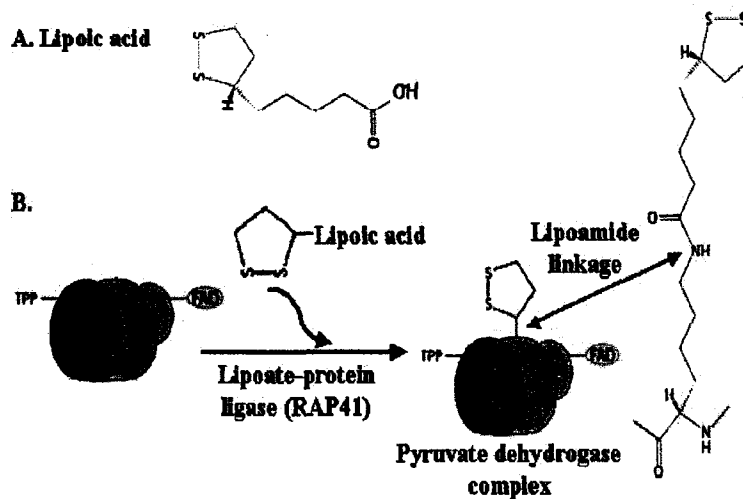


그림 64. Lipoic acid structure and putative pathway of lipoylation of pyruvate dehydrogenase complex by RAP41 protein. A: Lipoate containing disulfide bond. B: RAP41 protein catalyzes the formation of amide linkage between lipoate and lysine residue of dihydrolipoyl transferase (E2).

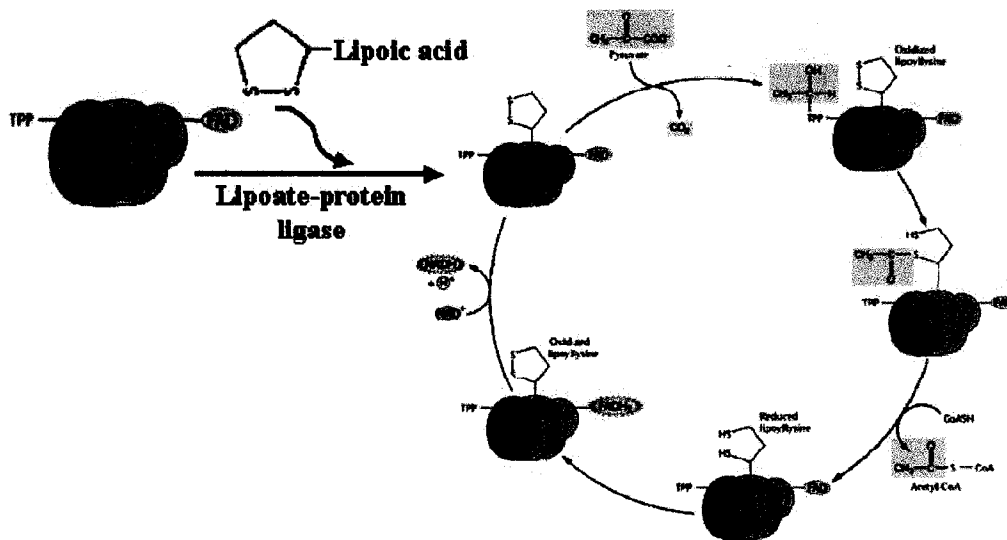


그림 65. Oxidative decarboxylation of pyruvate to acetyl-CoA by the pyruvate dehydrogenase complex. The pyruvate dehydrogenase complex contains three separate enzymes: pyruvate dehydrogenase (E1), dihydrolipoyl transferase (E2), dihydrolipoyl dehydrogenase (E3) The overall reaction catalyzed by this complex involves the oxidative decarboxylation of pyruvate and lead to the formation of acetyl-CoA, CO₂, AND NADH.

Proposed two-pathway model of protein lipoylation in Mutant *E. coli*.

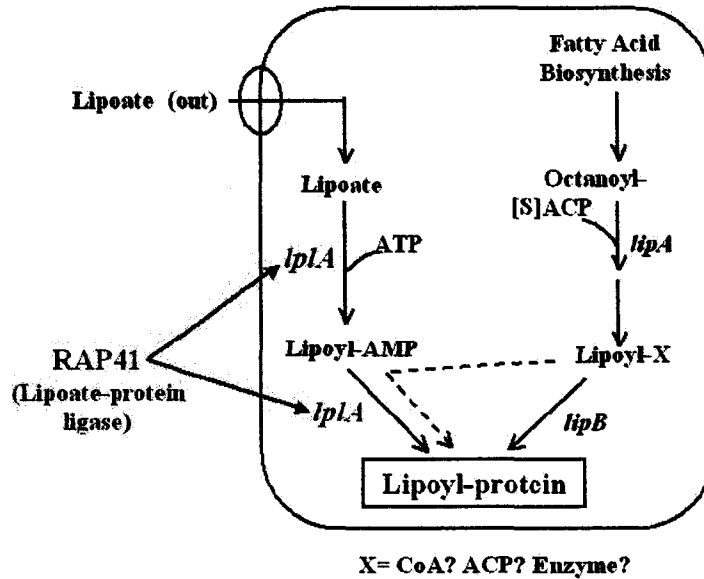


그림 66. Functional hypothesis of RAP41 cDNA for lipoylation in the proposed two-pathway model (Reed and Cronan, 1993) of protein lipoylation in Mutant *E. coli*.

(1) RAP41 연구재료 및 방법

(가) *E. coli* 재료: 본 실험에서 사용된 *E. coli*는 정상 *E. coli* (wild type)인 JK1과 *lipB*와 *lplA* null mutant인 TM137 (*lipB*182 Tn1000dKn *lplA*329 Tn10dTc)을 사용하였다. Wild type인 JK1은 완전배지인 MME/GAS (minimal medium E supplemented with 0.4%(w/v) glucose, 5mM acetate and 5mM succinate) 고체배지에 배양하였고, mutant type인 TM137은 kanamycin (50µg/ml)과 tetracycline (10 µg/ml)을 첨가한 완전배지인 MME(GAS) 고체배지에 37°C에서 3일동안 배양하였다. 완전배지에서 자란 콜로니를 MME(GAS) 액체배지에 접종하여 37°C에서 16시간 배양하여 사용하였다.

(나) RAP41의 클로닝 (cloninig): 소프트웨어 Oligo4 (Hitach, Japan)를 사용하여 primer를 작성하였다. 작성한 프라이머 (RAP41-U279-B와 RAP41-L1085-H)와 Pfu polymerase를 사용하여 PCR 실시하였다. PCR조건으로, ① 95°C, 2 min ② 95°C, 50 sec ③ 55°C, 1 min 30 sec ④ 68°C, 2min ⑤ go to ②, 29 cycles ⑥ 68°C, 5 min ⑦ 4°C, 보관하였다. 발현벡터로서 pTrcHis2A (Invitrogen, life technologies)를

선정하고, BamHI과 HindIII의 제한효소를 처리하였고, PCR된 RAP41 PCR product 또한 BamHI과 HindIII를 처리하였다. 발현벡터와 RAP41 PCR product를 T4 DNA ligase (2U/ μ l, Epicentre)를 사용하여 16°C에서 16 시간동안 반응시켰고, 50mM CaCl₂를 처리한 TOP10에 42°C에서 1분간 두어 형질전환하였다. 그리고 1ml의 SOC 배지를 첨가하여 37°C에서 1시간 배양한 후, ampicillin (100 μ g/ml)이 첨가된 고체 LB배지에서 37°C, 18시간 동안 배양하였다. 선택배지에서 자란 콜로니를 2×YT 액체배지에 37°C, 6~8시간 배양하여 플라스미드를 추출, 정제하였다. 추출한 플라스미드를 제한효소 BamHI과 HindIII로 절단한 후, 1% 아가로즈 젤에 1×TAE buffer를 사용하여 전기영동하였다. 클로닝이 확인된 pTrc-RAP41과 대조구인 pTrcHis2A 벡터를 TM137 (*lipBlplA*)에 전기충격 (2500V)방법으로 형질전환하였다. 그리고 1ml의 SOC 배지를 첨가하여 37°C에서 1시간 배양한 후, ampicillin (100 μ g/ml)이 첨가된 고체 MME(GAS)배지에서 37°C, 18시간 동안 배양하였다. 선택배지에서 자란 콜로니를 2×YT(GAS) 액체배지에 37°C, 16~18시간 배양하여 plasmid를 추출, 정제하고 확인하였다.

(다) 상보성 검증 실험 (complementation test): Wild type E. coli인 JK1과 *lipB*와 *lplA* null mutant인 TM137, 그리고 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137을 완전배지인 MME/GAS 고체배지에 배양하였고, Wild type E. coli인 JK1과 *lipB*와 *lplA* null mutant인 TM137, 그리고 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137은 각각 선택배지에 접종하여 배양하였다. 선택배지는 0.4% (w/v) glucose만 포함하는 최소배지 MME와 0.4% (w/v) glucose, lipoate (500ng/ml)와 0.6mM IPTG (isopropyl-1-thio- β -D-galactoside)를 첨가한 MME를 사용하였다. 각 배지를 37°C에서 2일간 배양한 후, RAP41유전자 기능의 상보성을 검증하였다.

(라) 성장속도 측정: 상보성 검증에 사용되었던 각 균주를 완전 배지에서 배양하고, 자란 콜로니들을 액체배지에 37°C에서 배양하였다. JK1은 MME/GAS배지에서 배양하였고, TM137은 kanamycin (50 μ g/ml)과 tetracycline (10 μ g/ml)이 포함된 MME/GAS배지에서 배양하였다. 그리고 pTrcHis2A가 형질전환된 TM137과 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137은 ampicillin (50 μ g/ml)이 포함된 MME/GAS배지에서 배양하였다. 각 배양액의 OD₆₀₀수치를 측정한 후, 0.1에 해당하는 배양액을 각각 lipoate (500ng/ml)와 0.1mM IPTG (isopropyl-1-thio- β -D-galactoside)가 포함된 MME/GAS 액체배지 접종하였다. 이들 액체배지를 37°C에서 200rpm으로 배양을 하면서, 매 1시간마다 OD₆₀₀수치를 측정하였다.

(마) RT-PCR: RT-PCR을 통해 RAP41유전자 전사체의 발현을 확인하였다. pTrcHis2A 와 pTrc-RAP41이 각각 형질전환된 TM137에서 total RNA를 추출하기 위해 Trizol reagent (Life technologies, GIBCOBRL)를 사용하였다. 두 균주를

ampicillin (100 μ g/ml)이 첨가된 MME/GAS액체배지에 18시간 동안 배양한 후, 4 $^{\circ}$ C, 12000 rpm으로 원심분리하여 cell pellet을 회수하였다. 1×10^7 cell당 1ml의 trizol reagent를 넣어 cell을 용해시킨 후, 15~30 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰다. 1ml의 trizol당 0.2ml의 chloroform을 첨가하고 강하게 섞어준 후, 15~30 $^{\circ}$ C에서 2~3분간 반응시켰다. 2~8 $^{\circ}$ C, 12,000 \times g에서 15분간 원심분리하였다. 상층액부분만을 덜어내어 새 튜브에 옮기고, 1ml의 trizol당 0.5ml의 isopropyl alcohol을 첨가하여 RNA를 침전시켰다. 10분간 15~30 $^{\circ}$ C에서 반응시킨 후, 2~8 $^{\circ}$ C, 12,000 \times g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거하고, 70% ethanol을 넣고 7,500 \times g에서 5분간 원심분리하여 RNA pellet을 씻어 주었다. 5~10분간 RNA pellet을 말리고, RNase-free water를 넣어 pellet을 녹였다. Trizol을 이용하여 뽑은 total RNA를 이용하여 RT-PCR을 하였다. RT-PCR은 SuperScriptTM First-strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, life technologies)을 사용하여 실시하였다. 각 total RNA을 5 μ g에 10mM dNTP mix 1 μ l와 specific primer인 RAP41-L1085-H (50pmol/ μ l) 1 μ l를 첨가하고, DEPC-treated water로 10 μ l를 맞추었다. 이 반응액을 65 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시키고, ice에서 1분간 두었다. 10 \times RT buffer 2 μ l, 25mM MgCl₂ 4 μ l, 0.1M DTT 2 μ l와 RNaseOUT RNase Inhibitor 1 μ l를 첨가한 후, 42 $^{\circ}$ C에서 2분간 반응시켰다. RT (Reverse Transcriptase, 50U/ μ l)를 1 μ l 첨가하고 42 $^{\circ}$ C에서 50분간 반응시켰다. 70 $^{\circ}$ C에서 15분간 반응시켜 RT 반응을 정지시키고 얼음에 보관하였다. First-strand cDNA, RAP41-U279-B와 RAP41-L1085-H primer와 Taq polymerase를 사용하여 PCR을 실시하였다. PCR조건으로, ① 95 $^{\circ}$ C, 2 min ② 95 $^{\circ}$ C, 50 sec ③ 55 $^{\circ}$ C, 1 min 30 sec ④ 72 $^{\circ}$ C, 2min ⑤ go to ②, 29 cycles ⑥ 72 $^{\circ}$ C, 5 min ⑦ 4 $^{\circ}$ C, 보관하였다. PCR의 확인을 위해 1% 아가로스 젤에 1 \times TAE buffer를 사용하여 전기영동하였다.

(마) TM137에서의 RAP41 유전자 전사체의 확인: RT-PCR된 유전자가 RAP41 여부를 확인하기 위해 southern blot analysis를 통해 확인하였다. RT-PCR한 RAP41을 1 \times TAE buffer를 사용하여 전기영동하였던 아가로스젤을 southern의 방법과 동일하게 처리한 후, nylon membrane에 옮겨주었으며, southern hybridization을 실시하였다. 프로브는 RAP41 cDNA단편을 (α -32P)dCTP와 함께 random primer labeling system (Promega Co., Madison, WI) 방법으로 합성하였다.

(사) Western blot analysis: Wild type *E. coli*인 JK1과 *lipB*와 *lplA* null mutant인 TM137, 그리고 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137을 배양한 후, 각 균주로부터 단백질을 추출하였다. 각 배양액을 원심분리하고 세포를 lysis buffer (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 3 mM KCl, 0.1 mM PMSF, 1 mM MgCl₂, 1 mM DTT)에 현탁시킨 후, 초음파를 이용하여 전단백질을 분리하였다. 분리한 각 균주의 전단백질을 SDS-PAGE analysis를 이용하여 단백질을 크기에 따라 분리한 후, 단백질을

(나)Southernblotanalysis:

Genomic DNA analysis결과, RAP41 유전자는 *Oriza sativa* genome의 single-copy 유전자인 것으로 나타났다 (그림 68).

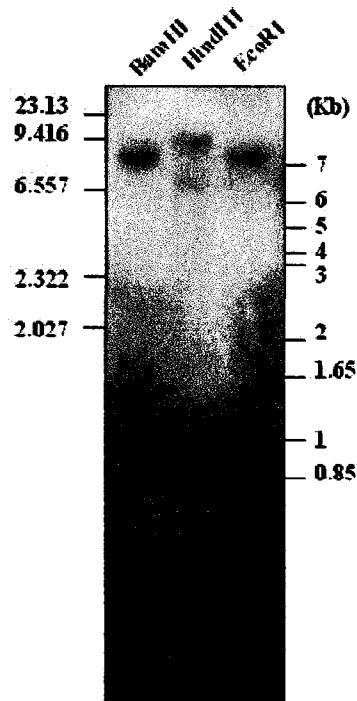


그림 68. Southern blot analysis of the RAP41 gene. The DNA size markers are indicated on the right (DNA/ HindIII digested marker) and left (1Kb ladder marker).

(다)RAP41cDNA의 northern blot analysis:

RAP41 transcripts는 leaves와 수분후flowers에서 높게 발현되었다. 그리고, RAP41 transcripts는 meiosis stages의 flowers와 roots에서는 거의 나타나지 않았다. 이 결과들로 보아, RAP41의 발현은 공간적으로, 조직발달적으로 조절된다는 것을 나타낸다. RAP41 transcripts는 salt, chilling (4°C), hormones such as NAA, Kinetin, and GA3를 처리한 leaves에서 지속적으로 발현되었다. 그 결과, RAP41 유전자의 발현은 스트레스와 호르몬에 의존적임을 알 수 있다 (그림 69).

Northern blot analysis of the RAP41gene

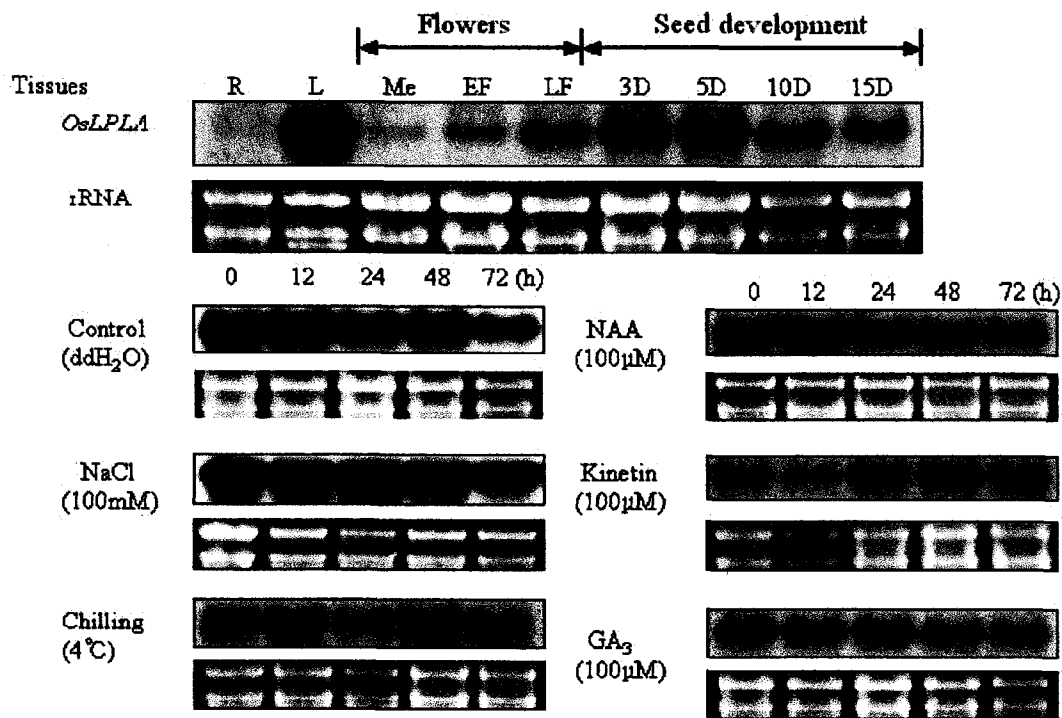


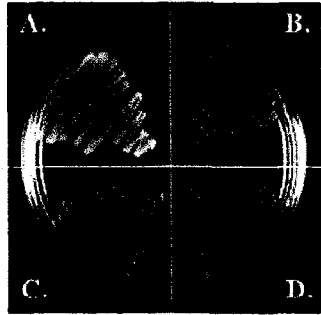
그림 69. Northern blot analysis of the RAP41 gene. The levels of RAP41 transcripts were high in the leaves and flowers after pollination. The RAP41 transcripts were weakly detected in the flowers of meiosis stages and not detectable in the roots. The RAP41 transcripts were constantly expressed in leaves that treated by salt (100mM), chilling (4°C), hormones (100µM) such as NAA, Kinetin, and GA3. In controls (ddH₂O) for treatment, RAP41 transcripts were also constantly expressed.

(라) *E. coli. lplA lipB* strain (TM137)에서 RAP41의 기능적 상보성 검증 실험:

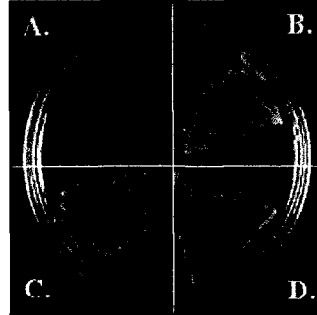
TM137 (*lplA lipB*) null mutant는 minimal media에서 성장할 수 없다. 이는 TM137 (*lplA lipB*)은 metabolism에 매우 중요한 lipoate-dependent enzyme에 lipoate를 붙여주는 역할이 결여되어 있기 때문이다 (Morris et al. 1995). Active pyruvate dehydrogenase and α -ketoglutarate dehydrogenase의 결여로 인해, TM137 균주의 성장에는 반드시 acetate (to bypass the PDH deficiency), succinate (to bypass the OGDH deficiency), 그리고 glucose (as an energy source)가 필요하다. 그러나 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137은 minimal media에서도 성장할 수 있다. 이는 RAP41 유전자가 TM137 (*lplA lipB*) null mutant에서 LplA의 기능을 보완해 주었음을 나타낸다. pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137은 glucose만 포함한 것보다 minimal media에 glucose, lipoate가 포함된 배지에서 더 잘 자랐다 (그림 70). 이는 RAP41이 외생적으로 공급되는 lipoate를 이용하여 단백질에 붙여주는 LPLA의 기능을 한다는 것을 나타낸다. pTrcHis2A가 형질전환된 TM137 (대조구)은 minimal media에서 자라지 않았다 (그림 70).

Functional complementation of an *E. coli* *lplAlipB* strain (TM137)

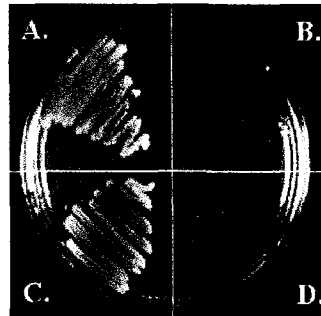
1. MME(GAS)



2. MME(GAS)+Kan+Tet



3. MME(G)



4. MME(GL)

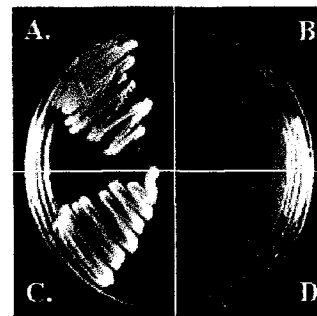


그림 70. Functional complementation of RAP41 cDNA in the *E. coli* *lplAlipB* strain (TM137). 1. JK1 (wild type), 2. TM137 (*lplAlipB* mutant), 3. pTrcHis2A- transformed TM137, 4. pTrcRAP41- transformed TM137. TM137 (*lplAlipB*) null mutant was not grown in minimal media, but pTrcRAP41-transformed TM137 was grown in minimal media.

(마) RT-PCR을 이용하여 RAP41 유전자 전사체의 발현 확인:

RT-PCR을 통해 RAP41 유전자 전사체의 발현을 확인하였다. pTrcHis2A가 형질전환된 TM137에서는 RAP41 전사체의 발현을 확인할 수 없었으나, pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137에서는 확인할 수 있었다 (그림 71). 이를 southern과 northern blot을 통해 RAP41 유전자임을 확인하였다.

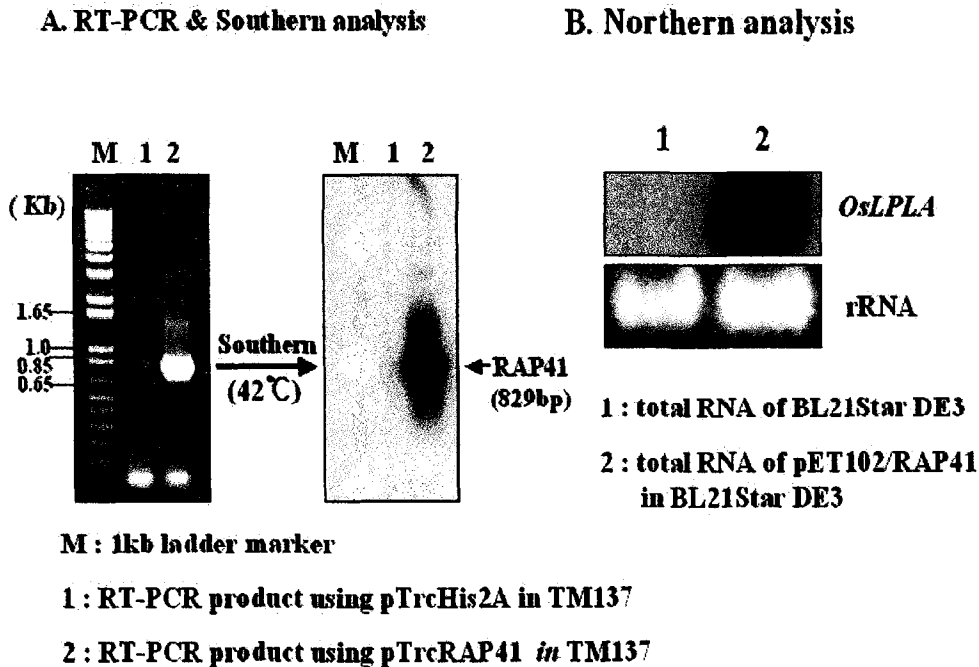


그림 71. Determination of RAP41 gene expression. (A) RT-PCR product and southern blot analysis. M : 1kb ladder marker, 1 : RT-PCR product using pTrcHis2A in TM137, 2 : RT-PCR product using pTrc RAP41 in TM137. (B) Northern blot analysis of RAP41 transcripts. 1 : total RNA from pTrcHis2A-transformed TM137, 2 : total RNA from pTrcRAP41-transformed TM137. RAP41 was expressed in pTrcRAP41-transformed TM137.

(바)RAP41이 형질전환된 TM137의 성장을:

RAP41 유전자가 *lplA*의 기능을 하는지 *lipB*의 기능을 하는지를 알아보기 위해, lipoate를 이용하여 RAP41이 형질전환된 TM137의 성장곡선을 측정하였다. pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137은 wildtype인 JK1만큼 빠르게 성장하였다. 이것은 RAP41이 TM137 (*lplA**lipB*) null mutant에서 LplA의 기능을 보완해 주었음을 나타낸다. 또한 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137은 lipoate가 첨가된 액체배지에서 빠르게 성장하는 반면에, lipoate를 첨가하지 않은 배지에서는 느리게 성장하였다 (그림 72). 이는 RAP41이 외생적으로 공급되는 lipoate를 이용하여 단백질에 붙여주는 LPLA의 기능을 한다는 것을 나타낸다.

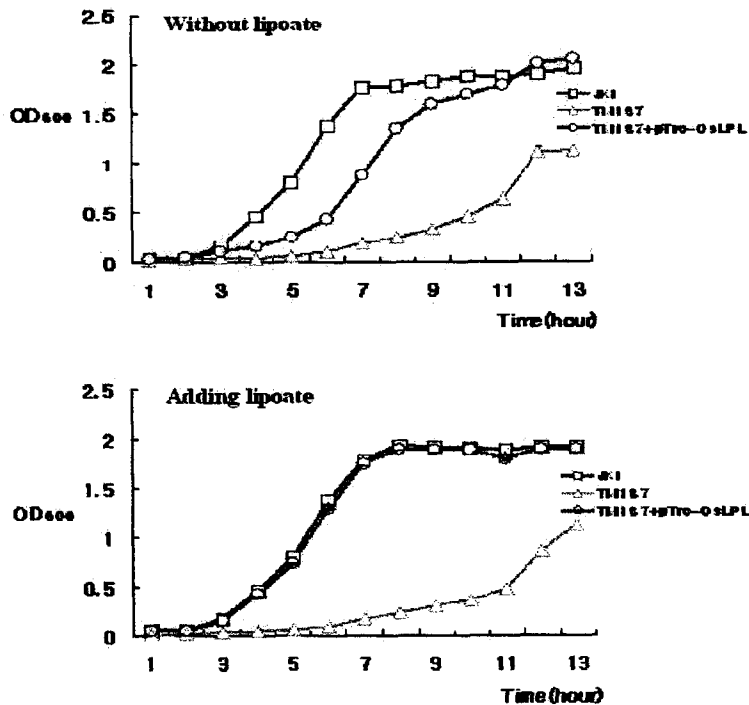


그림 72. Growth rate of E. coli in two conditions. Inoculate each colonies in two kinds of MME (GAS) broth media, one is without lipoate (A) and with lipoate (500ng/ml) (B). And incubate at 37°C and measure OD₆₀₀ of 1ml culture every 1 hour. pTrc/RAP41- transformed TM137 was grown well and fast up to steady phase as well as JK1 (wildtype) in complete medium with lipoate.

(사)Western blot analysis의 결과:

Western blot analysis의 결과, Wild type *E. coli*인 JK과 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137의 total protein에서 lipoic acid가 붙어있는 E2 subunit band를 확인 할 수 있었다 (그림 73). TM137mutant에서는 그 band를 확인할 수 없었다. 이는 JK과 pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137의 total protein에는 lipoate-dependent protein이 존재함을 나타내며, pTrc-RAP41이 형질전환된 TM137에서 lipoate protein ligase가 기능을 하였음을 나타낸다.

Western blot analysis

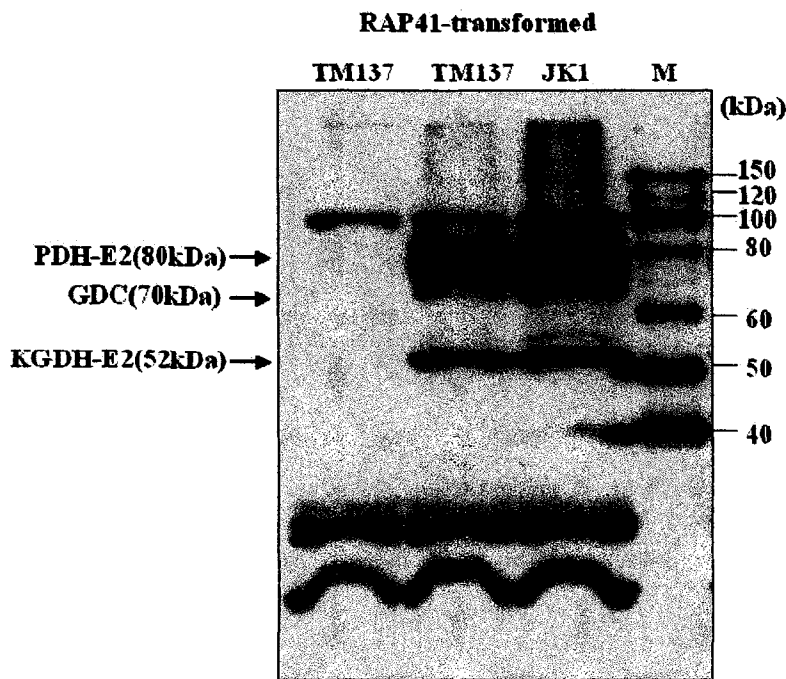


그림 73. Western blot analysis of Lipoate-dependent protein.

(아) *E. coli* system을 이용한 RAP41 단백질의 발현:

pET102/D/TOPO vector (Invitrogen, life technologies)에 RAP41 유전자를 클로닝 하였다. BL21(DE3)Star에서 단백질을 발현시켜 본 결과, 약 45kDa 크기에서 과발현된 단백질을 확인할 수 있었다. 추정하는 His가 융합된 RAP41 단백질의 크기인 약 42kDa과 흡사하게 나타났다 (그림 74). 그러나, 모든 과발현된 His융합 RAP41 단백질은 불용해성 단백질의 형태로 존재하였다. 이는 단백질이 지나치게 과발현되어 단백질이 뭉쳐진 것으로 보인다. IPTG의 농도와 발현유도 온도, 그리고 발현유

도 시간의 조절을 통해 적당한 His 융합 RAP41 단백질의 발현을 시도하였다.

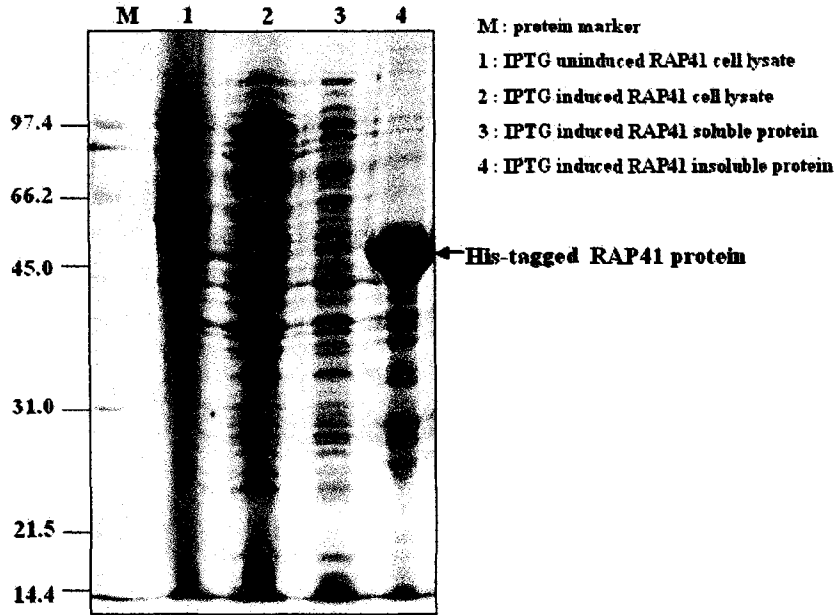


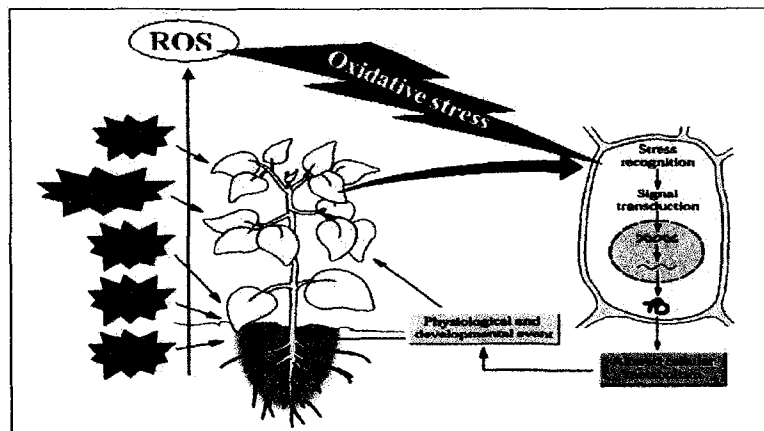
그림 74. RAP41 [pET102-RAP41in BL21(DE3)Star] 단백질의 발현

(자)RAP41의기능연구요약:

RAP41은 novel lipoate protein ligase를 코딩하는 유전자였다 (*OsLPLA*). Citric acid cycle에 필요한 Acetyl coA 생성의 Pyruvate De-hydrogenase 효소복합체의 활성을 위해 필수적인cofactor인 lipoate를 붙여주는 ligase를 코딩하는 유전자이다. Lipoate를 옮겨 붙여주는 ligase가 결여된 mutant *E. coli*를 이용한 complementation analysis 결과, 치사돌연변이균 lipoate protein null mutant (TM137)가 RAP41 유전자의 발현으로 최소배지에서 성장을 하였다. 생장곡선으로 RAP41 (*OsLPLA*)의 기능을 확인하였다. 실험결과, RAP41은 lipoate- protein ligase 기능을 하는 것을 확인하였다.

나. RAP58 (*OsGPX1*: *Oryza sativa* glutathione peroxidase 1) 유전자의 기능 연구

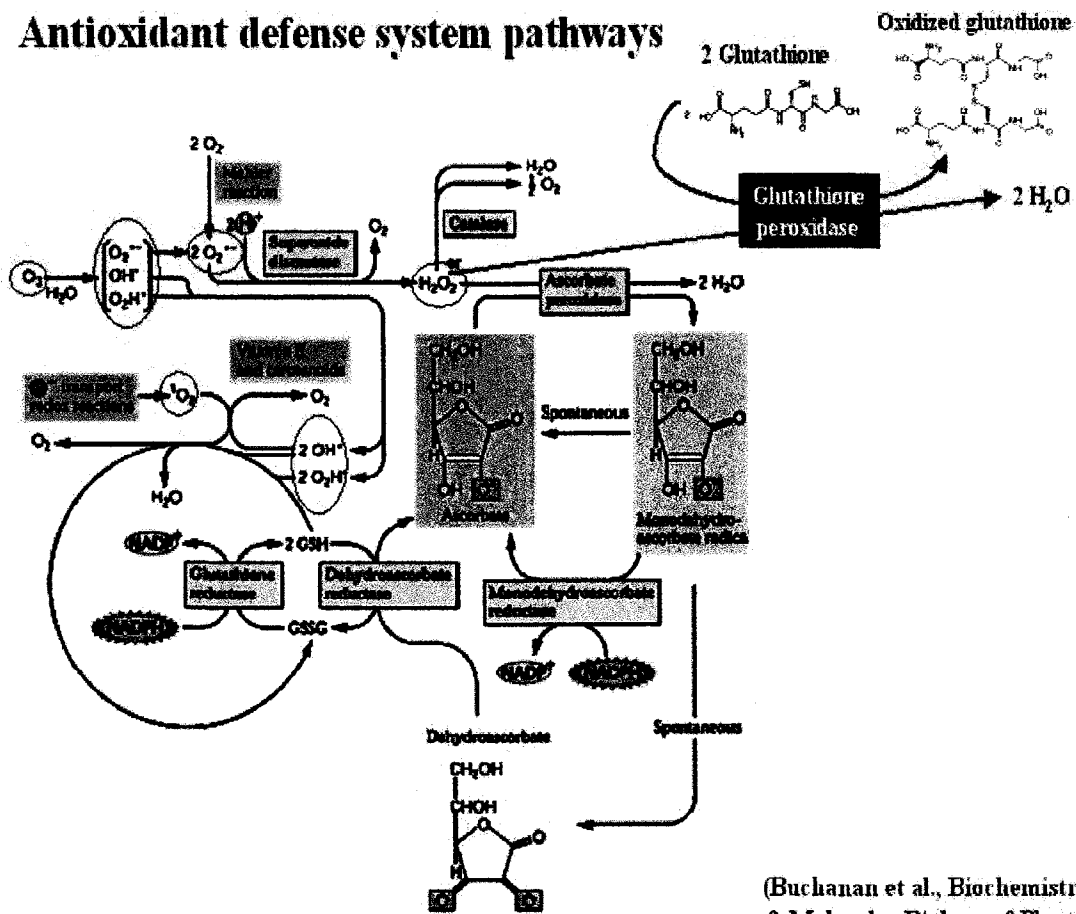
식물세포는 끊임없이 유독성 활성산소종 (Reactive Oxygen Species, ROS)에 의해 스트레스를 받으며, 이들 유독성 ROS가 식물세포 내에 축적되면, 산화적 스트레스를 일으켜 세포막이 파괴되고 세포가 죽게 된다 (Alscher, 1997) (그림 75). Glutathione peroxidase (GPX)는 reduced glutathione (GSH, 환원제)을 산화시키면서 hydrogen peroxide, organic hydroperoxides 그리고 lipid hydroperoxides의 환원을 촉진시키고, 그로 인해 산화적 손상으로부터 세포를 보호한다 (Chaudiere and Ferrari-Iliou, 1999; Chaudiere and Tappel, 1983; Flohe and Gunzler, 1984; Grossmann and Wendel, 1983) (그림 76). 이들 GPX는 항산화제로서 포유동물에서 널리 연구가 되어져 있다 (Chaudiere and Tappel, 1983). 포유동물의 GPX의 많은 기능연구에 비하며, 식물에서는 동물의 것과 유사성이 있는 식물의 GPX의 기능연구는 미흡하다. 본 연구에서는 염, 냉해, 건조스트레스에 대해 생리적으로 반응하는 벼 PHGPX와 유사한 단백질을 코딩하는 cDNA를 새롭게 밝히고자 하였다.



(Buchanan *et al.*, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*)

그림 75. Change of gene expression pattern in response to stress. When plants are exposed to stresses, such as pathogenic attack, high-salt environment, mechanical damages and chilling damages, large amounts of ROS are generated (Buchanan *et al.*, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*). The stress generates large amount of ROS (Holland *et al.*, 1993) and may triggers the up-regulation for the GPX gene expression.

Antioxidant defense system pathways



(Buchanan et al., Biochemistry & Molecular Biology of Plants)

그림 76. Currently identified antioxidant defense system pathways, with detailing enzymes and nonenzymatic antioxidants. Superoxide radicles are eliminated by superoxide dismutase that yields hydrogen peroxide, H_2O_2 . Hydrogen peroxide is consumed through its conversion to oxygen and water by catalase or to water by ascorbate peroxidase. Damage by singlet oxygen and hydroxyl ions is also diminished by the nonenzymatic antioxidants, vitamine E and carotenoids (Buchanan *et al.*, Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Courier Companies, Inc., 2000).

(1)RAP58의 연구재료 및 방법

(가)RAP58 단백질의 기능 분석: RAP58 단백질의 기능을 *E. coli*에서 과산화수소 (H_2O_2)에 대해 방어능력을 가지는지 여부를 확인하였다. 대조구 *E. coli*로 XL1Blue, pBluescript,II SK(-)를 가진 XL1Blue를 사용하였고, 실험구로 RAP58유전자를 가진 XL1Blue로 실험을 수행하였다. 각 균주를 LB 액체배지에 접종하고 180rpm, 37°C에서 log phase까지 배양하였고, 유전자의 발현을 위해 1mM IPTG를 첨가하고 37°C에서 5시간 동안 배양하였다. OD₆₀₀=0.05의 각 균주 배양액을 다양한 농도의 과산화수소가 든 시험관에 접종하였다. 과산화수소의 농도는 0, 150, 300, 450, 600, 750, 1000 μ M을 사용하였다. 37°C에서 12시간 더 배양한 후, 흡광도를 측정하였다.

(나)RAP58 단백질의 발현 (protein expression): Champion™ pET101 Directional TOPO Expression (Invitrogen, life technologies)방법에 따라 RAP58 단백질의 발현을 수행하였다. 발현된 단백질을 RAP58임을 확인하기 위해, RAP58유전자가 형질전환된 *E. coli*에서 RNA를 추출하여 northern blot analysis를 실시하였다. 발현된 RAP58 단백질을 이용하여 glutathion peroxidase의 기능여부를 확인하기 위해 enzyme assay를 실시하였다. glutathion peroxidase의 활성을 측정하기 위해 NADPH의 산화정도를 흡광도 OD₃₄₀으로 모니터하였다. 기본반응용액은 50mM HEPES, 0.2mM β -NADPH, 1.4U GR (glutathion reductase), 5 μ M GSH (reduced glutathione), 그리고 recombinant protein 50 μ g으로 하였다. NADPH 산화는 0.5mM Hydroperoxide를 첨가하면서 개시되고, 이들 용액을 OD₃₄₀에서 Time scanning으로 10분간 측정하였다. 대조구로 GSH의 자연적인 산화를 측정하기 위해, recombinant protein이 들어가지 않은 반응용액도 모니터하였다. 이들 RAP58단백질이 TPX (thioredoxin peroxidase)인지 여부를 확인하기 위해, 기본반응용액은 50mM HEPES, 0.2mM β -NADPH, 1 μ M TR (thioredoxin reductase), 5 μ M Trx (reduced thioredoxin), 그리고 recombinant protein 50 μ g으로 하여 0.5mM Hydroperoxide를 첨가하면서 개시되고, 이들 용액을 OD₃₄₀에서 Time scanning으로 10분간 측정하였다.

(2)RAP58의 연구결과

(가) RAP58 유전자 분석: 본 연구에서는 *Oryza sativa*에서 항산화 기능이 있는 glutathion peroxidase를 코드하는 유전자 RAP58 cDNA를 클로닝하였고, *OsGPX1* (*Oryza sativa* glutathion peroxidase 1)이라 명명하였다 (GenBank AY100689). RAP58 유전자는 168 아미노산으로 번역되고 분자량이 18.5kDa이며 (그림 78), *Zea mays*의 GPX와 92%의 상동성을 보였으며 벼의 PHGPX와는 65%의 상동성만을 보였다 (그림 81, 82). BLASTA 조사에서, RAP58의 아미노산서열은 2

개의 GPX active site domains과 하나의 WNF(S/T)KF domain을 가졌으며, plastid transit peptide sequence가 없다 (그림 78). 이로써 RAP58은 세포질에서 그 기능을 하는 것으로 여겨진다. Southern blot analysis 결과로, 벼 RAP58 유전자는 단일 유전자임을 확인하였다 (그림 79). Rice Genomic Program에서 linkage map을 분석한 결과, RAP58 유전자는 벼 chromosome 4의 short-arm으로부터 85.5 cM에 위치하는 것으로 밝혀졌다 (그림 80).

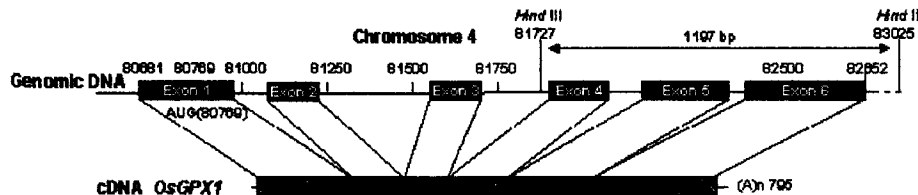


그림 77. Molecular sequences of the *OsGPX1* gene.

```

1   ttccatcgttcgtcctcgtctccagctaccggttccgaacca
44  cccgcttctcctccggagaccgctcggccgcccgtcgtccagc
89  atggccgcccgcgctccgccacctccgtccacgactcaccgctc
   N A A A P S A T S V H D F T V 15
134 aaggatgcaagcggaaaagcgtgaacctgagcacctacaaggg
   K D A S G K D V N L S T Y K G 30
179 aaggtctcctcatcgttaacgtcgcatcccaatgtggcttaact
   K Y L L I Y N V A S Q G L T 45
224 aactccaactacactgagctgagccagctgatgagaagtacaag
   N S N Y T E L S Q L Y E K Y K 60
269 gtccaaggccttgagatattggctttcccgtaacagtttggg
   V Q G F E I L A R P C H Q F G 75
314 gggcaggaaocccgctccaatgaggagattgtccagtttgccttc
   G Q E P G S N E E I V Q F A C 90
359 actcgttcaaggctgagatcccattttgacaaggttgatgtc
   T R F K A E Y P I F D K V D V 105
404 aacggtaacaatgctgcaccocctgtacaagtatctgaagtctaac
   N G N N A A P L Y K Y L K S N 120
449 aagggtggcctttcgggtgatagcatcaagtggaaactctccaaa
   K G G L F G D S I K W N F S K 135
494 ttcttggttgacaaggagggtcgcgtggtgatcgctatcgcccc
   F L V D K E G R V V D R Y A P 150
539 accacctccctcttagtattgagaaggatacaagaagctgctt
   T T S P L S I E K D I K K L L 165
584 gggagctctaaacctaaagtcgggatctgtagagcaacctgca
   G S S * 168
629 cttatgcactgtattcagcactgagagttgattaataaattggt
674 gacatgtacttcacaggttgcatcttgactatactccttgcatcc
719 tgaatctttatgtactctgtacctgtatagttttcatgtcagata
764 aatttccttgctgtaaaaaaaaaaaaaaaaaa 795

```

그림 78. Molecular sequences of the *OsGPX1* gene. Three conserved glutathione peroxide domains are underlined. Three putative glycosylation sites are indicated by bold type. Three putative myristoylation sites are shaded at positions, 43-48, 76-81, and 122-127. A polyadenylation signal (AATAAAA) is underlined and shaded. An asterisk (*) indicates a stop codon for translation. Numbers to the right and left indicate the nucleotide positions and amino acid positions, respectively. The accession number of *OsGPX1* is AY100689.

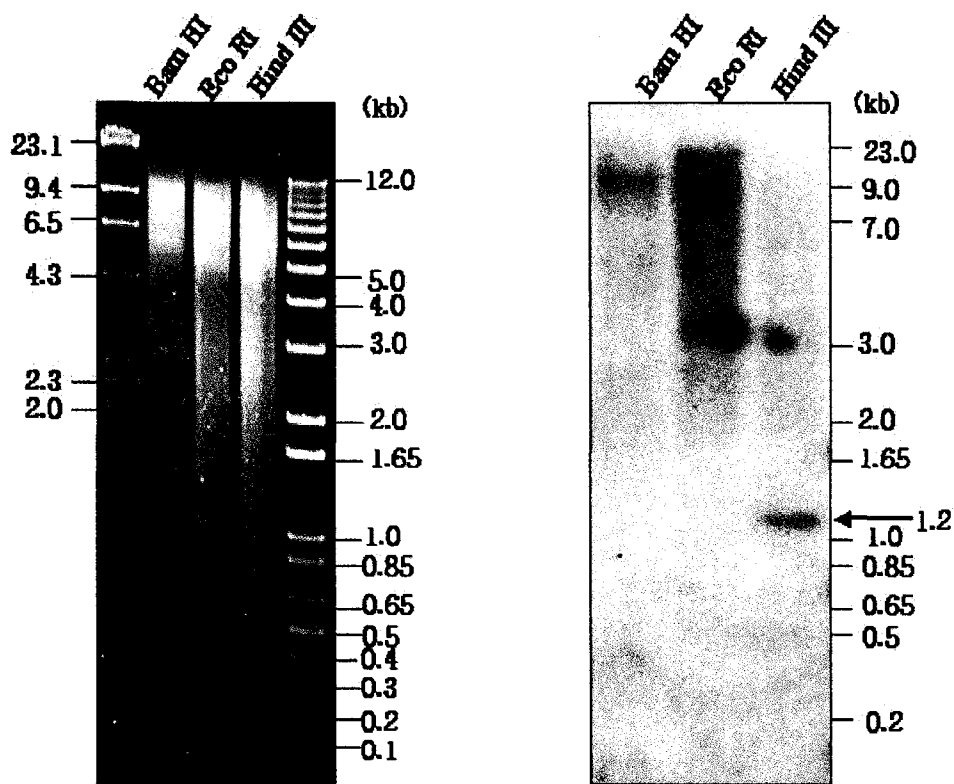


그림 79. Southern hybridization analysis of *OsGPX1*. Approximately 1.2 kb of DNA fragment in *Hind*III digested genomic DNA was identified (arrow). In each lane 20 g of genomic DNA was digested with the indicated restriction enzymes and hybridized with ^{32}P -labeled *OsGPX1* cDNA probe. Size markers are indicated on the left (lambda phage marker) and right (1 kb ladder marker).

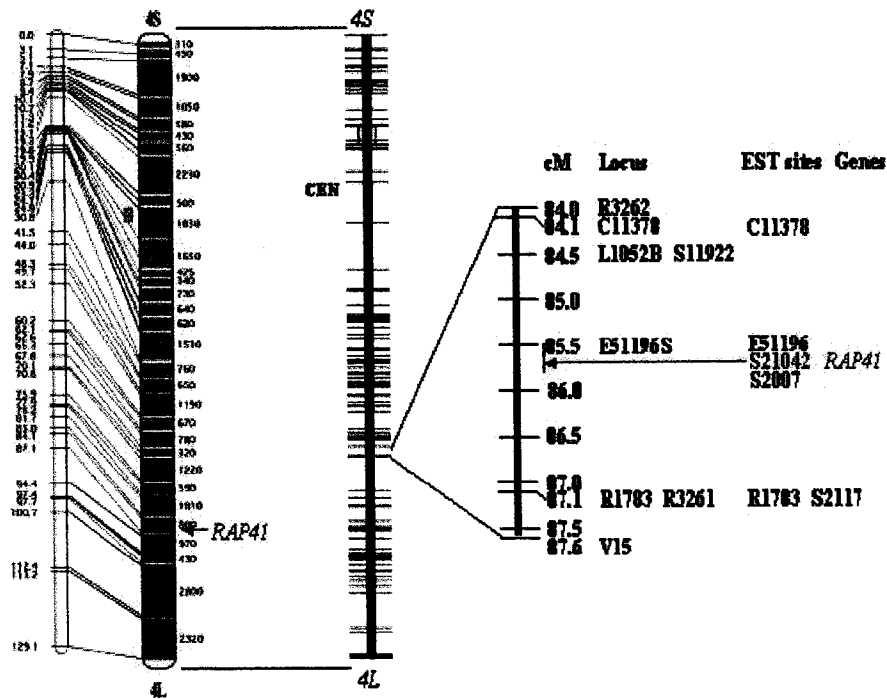


그림 80. Genetic linkage map of the *OsGPX1*. RGP high-density genetic map of chromosome 4 is on the left. A linkage map showing the location of *OsGPX1* gene homologous to an EST clone, S21042, is shown to the right. Putative map position of *OsGPX1* from 85.5 to 86.0 cM is indicated by an arrow. The distance in centimorgans (cM) from the distal ends of the short arm of chromosome 4 is also indicated. Centromere position is indicated as CEN.

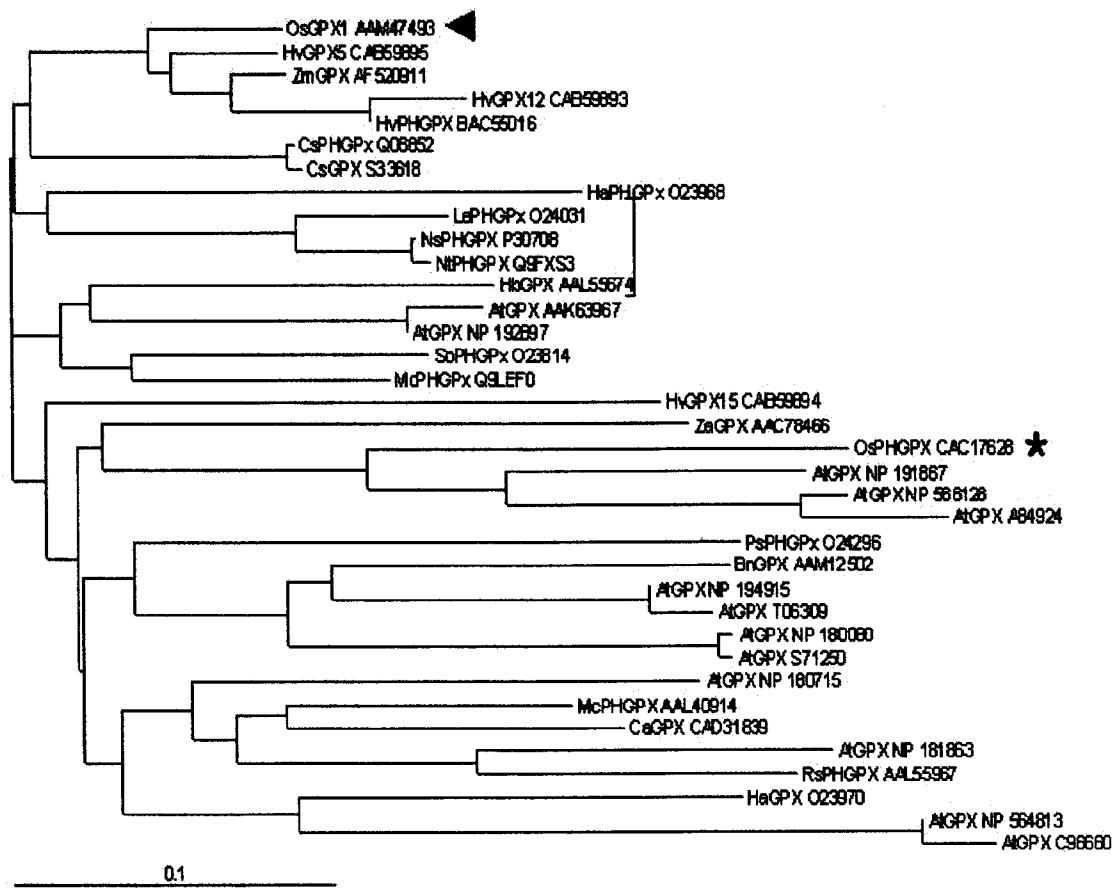


그림 82. Phylogenetic tree of deduced amino acid sequences of the plant GPX family. The phylogenetic tree was constructed by neighbor-joining method without gap. Accession numbers of sources are shown in each protein. Rice PHGPX protein is indicated by a star. OSGPX is indicated by arrow. A cluster containing OsGPX1 is indicated by a bracket.

(나)Northernblotanalysis: RAP58 유전자는 성숙된 잎에서만 높게 발현이 되었으며, 어린 잎에서는 거의 발현이 되지 않았다. 또한 RAP58 유전자는 감수분열시기의 화서와 수분 후 3일과 5일의 종자에서 약하게 발현이 되었으며, 뿌리에서는 거의 발현이 되지 않았다. 이것은 RAP58 유전자의 발현은 조직특이적으로, 발달단계적으로 조절된다는 것을 알 수 있다. 염스트레스에 노출되었을 때, RAP58 유전자는 어린 잎에서 1시간 내에 빠르게 발현이 유도되었다. 그리고, 냉해와 건조스트레스에서는 점차적으로 발현이 유도되었다. 이로써, RAP58는 스트레스에 의해 발현이 유도되는 유전자임을 알 수 있다 (그림 83).

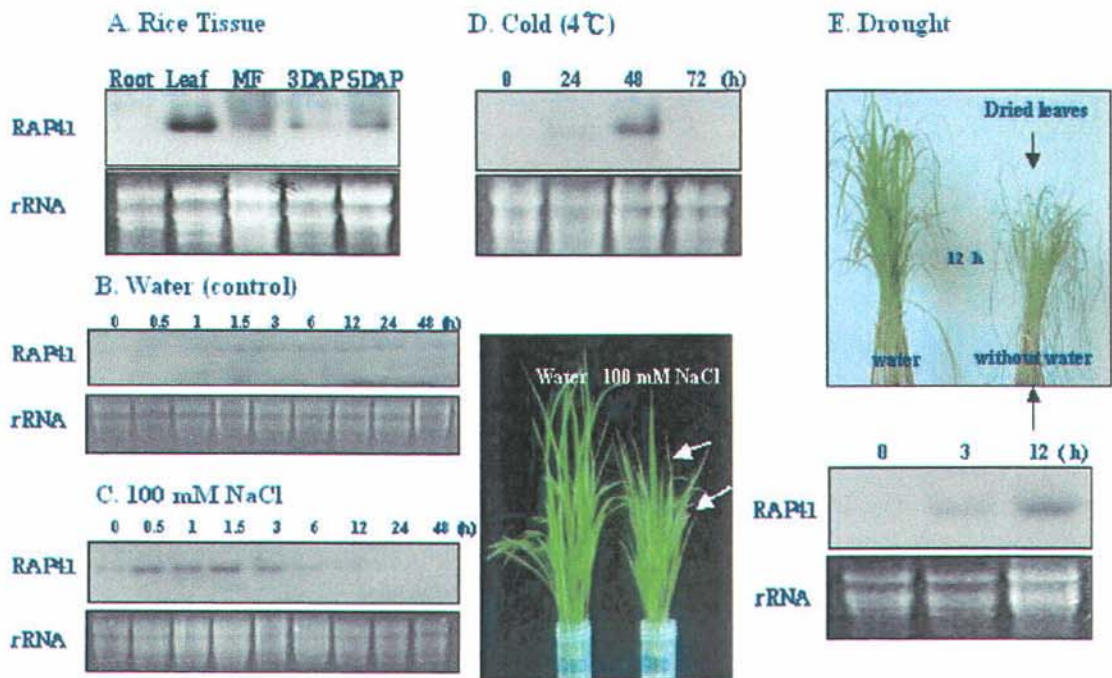


그림 83. Northern blot analysis of *OsGPX1* gene expression in rice plants. A. Subjected total RNA was isolated from the roots (R), flag leaves (L), inflorescence in meiosis stage (MF), and 3 days (3dAP) or 5 days (5dAP) after pollinated seeds. Ribosomal RNA (rRNA) was shown as a loading control, Time course of accumulation of *OsGPX1* transcripts in rice leaves under NaCl, cold, drought stress. Total RNA was extracted from 6-week-old seedling leaves, which were treated with water (B) or 100 mM NaCl (C) for appropriate hours, and were treated with chilling (D) at 4°C for 28, 48 and 72 h. were treated on drought conditions for 3 and 12 h as indicated (E). Untreated seedlings were indicated as 0 h. Ribosomal RNA (rRNA) were shown as a loading control

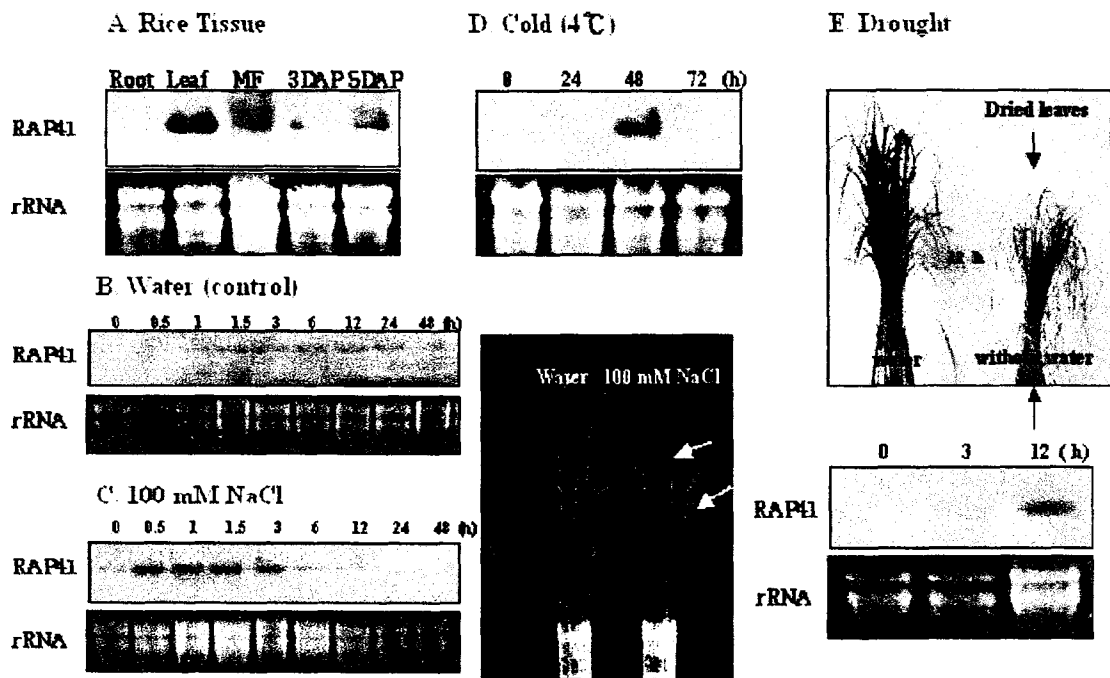


그림 83. Northern blot analysis of *OsGPX1* gene expression in rice plants. A. Subjected total RNA was isolated from the roots (R), flag leaves (L), inflorescence in meiosis stage (MF), and 3 days (3dAP) or 5 days (5dAP) after pollinated seeds. Ribosomal RNA (rRNA) was shown as a loading control. Time course of accumulation of *OsGPX1* transcripts in rice leaves under NaCl, cold, drought stress. Total RNA was extracted from 6-week-old seedling leaves, which were treated with water (B) or 100 mM NaCl (C) for appropriate hours, and were treated with chilling (D) at 4°C for 28, 48 and 72 h. were treated on drought conditions for 3 and 12 h as indicated (E). Untreated seedlings were indicated as 0 h. Ribosomal RNA (rRNA) were shown as a loading control

(다)RAP58단백질의기능분석결과: In vivo에서 RAP58 이 과산화수소 (H₂O₂)로부터 *E. coli*를 보호함을 확인하였다. *E. coli* 에 RAP58을 클로닝하고 H₂O₂를 처리하여 성장곡선을 확인한 결과, RAP58이 클로닝된 *E. coli* 는 RAP58이 클로닝되지 않은 *E. coli*에서와는 달리, 고농도의 H₂O₂ (750μM)에서도 성장함을 확인하였다 (그림 84).

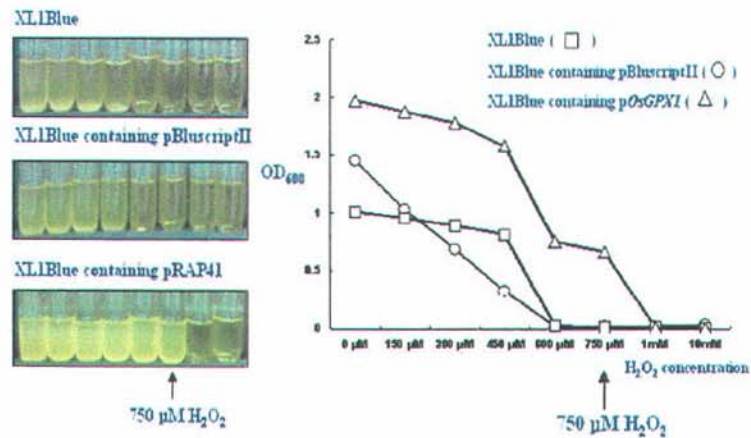


그림 84. OSGPX1 functional analysis. *E. coli* XL1Blue (●), XL1Blue XL1Blue containing pBluescript SK(+) (■) and XL1Blue containing pOsGPXI (▲) cultures (each OD₆₀₀= 0.05) were cultured in LB broth with IPTG and gradient concentration of H₂O₂. Cells were incubated at 37°C for 12 hours and the value at OD₆₀₀ was measured in each tube. *OsGPXI*-transformed XL1Blue grew in toxic (750 M) H₂O₂.

(다)RAP58단백질의기능분석결과: In vivo에서 RAP58 이 과산화수소 (H₂O₂)로부터 *E. coli*를 보호함을 확인하였다. *E. coli* 에 RAP58을 클로닝하고 H₂O₂를 처리하여 성장곡선을 확인한 결과, RAP58이 클로닝된 *E. coli* 는 RAP58이 클로닝되지 않은 *E. coli*에서와는 달리, 고농도의 H₂O₂ (750μM)에서도 성장함을 확인하였다 (그림 84).

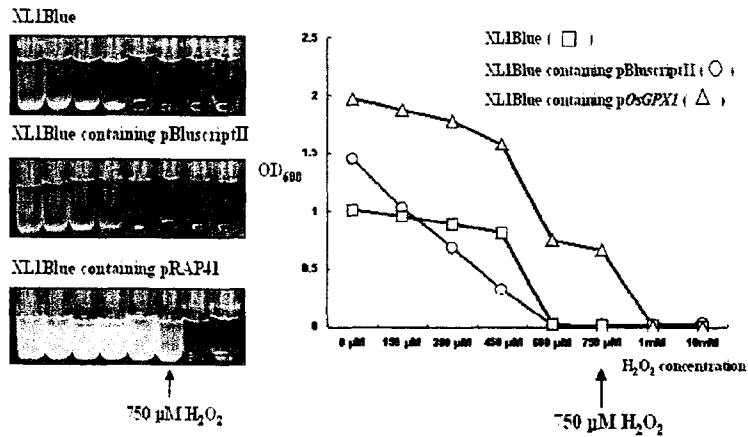


그림 84. OSGPX1 functional analysis. *E. coli* XL1Blue (●), XL1Blue XL1Blue containing pBluescript SK(+) (■) and XL1Blue containing pOsGPX1 (▲) cultures (each OD₆₀₀= 0.05) were cultured in LB broth with IPTG and gradient concentration of H₂O₂. Cells were incubated at 37°C for 12 hours and the value at OD₆₀₀ was measured in each tube. *OsGPX1*-transformed XL1Blue grew in toxic (750 M) H₂O₂.

(라)RAP58의 단백질 발현: 발현벡터 (pET101)에 클로닝한 후 (그림 85), 단백질 발현을 하였다. His-tag이 융합된 RAP58단백질은 약 30kDa 크기에서 발현이 확인되었으며, His-tag 컬럼으로 단백질을 분리하였다 (그림 86) 발현된 단백질이 RAP58 인지를 확인하기 위해 northern blot을 실시한 결과, RAP58이 클로닝된 BL21StarDE3에서 RAP58유전자 전사체를 확인할 수 있었다 (그림 87).

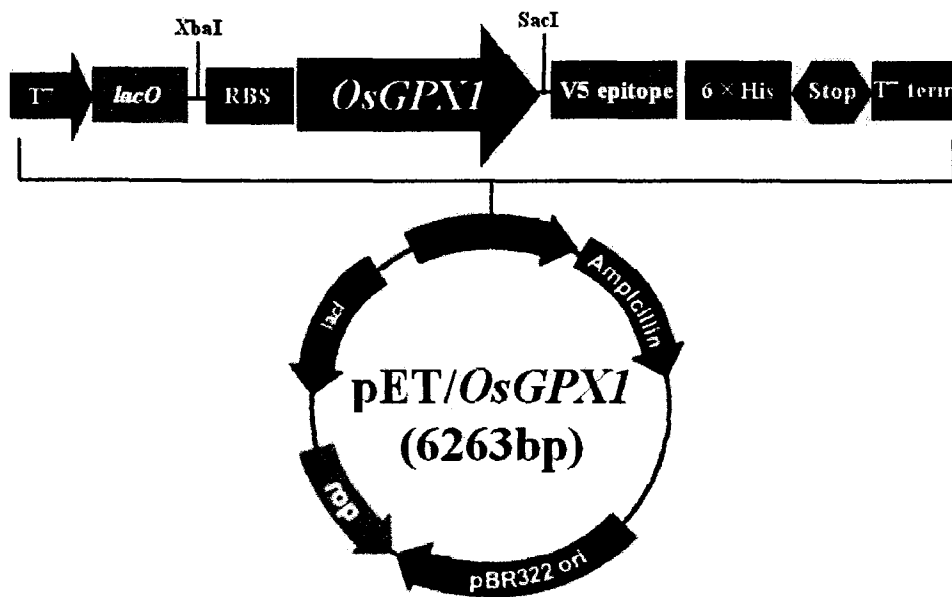


그림 85. Map of pET/OsGPX1. *OsGPX1* cDNA was cloned into pET101/Dvector. T7: T7 promoter, *lac O*: *lac* operator, RBS: ribosome binding site, *OsGPX1* : *OsGPX1* cDNA (the arrow is direction of *OsGPX1* ORF), V5 epitope: C-terminal V5 epitope tag, 6xHis: C-terminal 6xHis tag, STOP: stop codon, T7 term: T7 transcription termination region, *rop*: interacting with the pBR322 origin to facilitate low-copy replication in *E. coli*, *lacI*: *lac* repressor, Ampicillin: ampicillin resistance gene (β -lactamase).

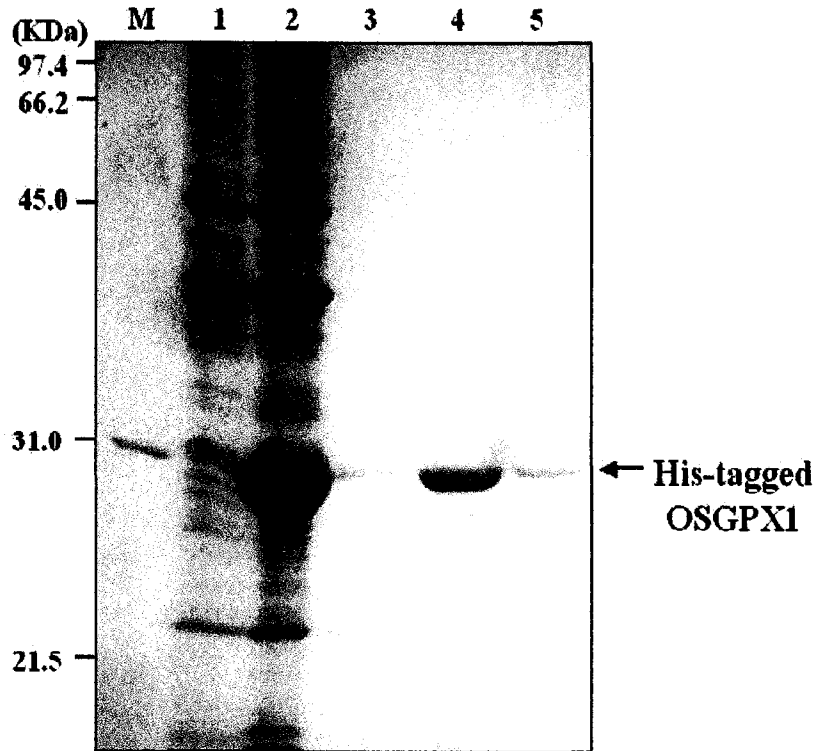


그림 86. SDS-PAGE analysis of OSGPX1 protein. OSGPX1 was purified by HisTag column. M: low range protein marker, 1: uninduced BL21StarDE3 contained pET/*OsGPX1*, 2: IPTG induced BL21StarDE3 contained pET/*OsGPX1*, 3: HisTag column wash fraction after bind with resin, 4,5: HisTag column eluate fraction (1),(2)

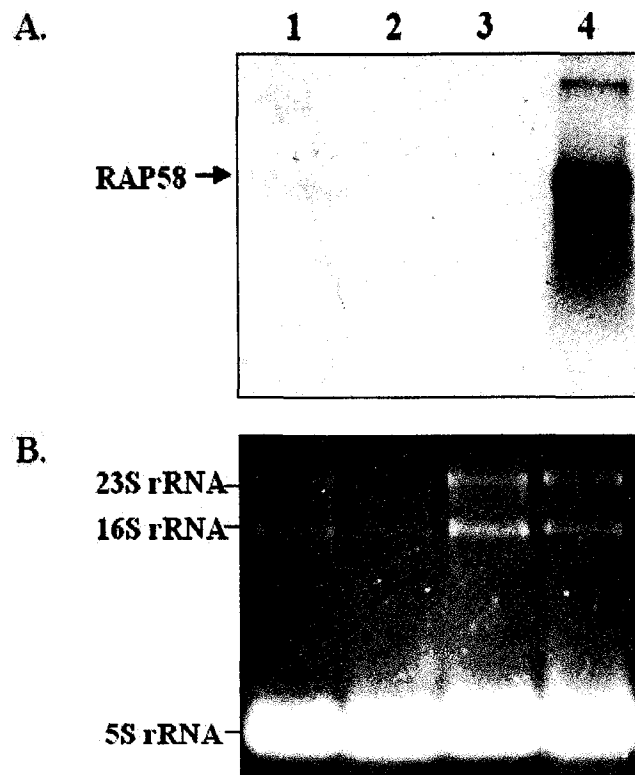


그림 87. Northern hybridization analysis for determination of expression cloning. A. Northern blot analysis. 1: Total RNA from BL21Star (DE3) contained pET101/D/lacZ, 2: Total RNA from IPTG-induced BL21Star(DE3) contained pET101/D/lacZ, 3: Total RNA from BL21Star(DE3) contained pET/OsGPX1, 4: Total RNA from IPTG-induced BL21Star(DE3) contained pET/RAP58. B. Ribosomal RNA (rRNA) was shown as a loading control.

(마)RAP58의 연구결과 요약: RAP58은 novel glutathione peroxidase의 기능이었다 (*OsGPX1*). 생리적 환경스트레스에 의한 활성산소 저항성을 가진다. RAP58은 기능을 가진 glutathione peroxidase를 코드하는 유전자이다. *OsGPX1* 유전자의 발현양상을 확인 결과, 각 조직 중 성숙된 잎에서 특이적으로 발현되었다. 스트레스 처리 실험결과, 각 스트레스에 대하여 시간적으로 RAP58 유전자의 발현이 일어났다. 이는 RAP58 유전자가 스트레스에 반응하여 발현이 유도되었음을 알 수 있다. 외부의 스트레스에 의해 발생하는 ROS로부터 세포를 보호하기 위한 방어시스템으로 glutathione을 환원제로 이용하여 ROS를 제거할 때, *OsGPX1*이 작용하는 것으로 여겨진다. In vivo에서 RAP58 이 과산화수소 (H_2O_2)로부터 *E. coli*를 보호함을 확인하였다. *E. coli* 에 RAP58을 클로닝하고 H_2O_2 를 처리하여 생장곡선을 확인한 결과, RAP58이 클로닝된 *E. coli* 는 RAP58이 클로닝되지 않은 *E. coli*에서와는 달리, 고농도의 H_2O_2 (750 μ M)에서도 생장함을 확인하였다.

다. RAP19 (*OSRHF2a*: *Oryza sativa* putative Ring-H2 finger protein) 유전자의 기능 연구

RAP19 유전자의 아미노산서열은 *Arabidopsis*의 RING-H2 finger protein과 62%의 상동성을 보였으며, *Oryza sativa*의 기능미확인의 RING-H2 finger protein과는 52%의 상동성의 보였다. 벼의 RING-H2 finger protein에 관한 실험적인 기능연구는 전혀 보고되어 있지 않다. 그러므로 RING-H2 finger 단백질의 기능연구가 필요하므로 본 연구를 수행하였다.

(1) RAP19의 기능 연구 재료 및 실험 방법

(가) GST 융합 단백질의 발현 및 정제 : 벼 유전자의 단백질 발현 및 정제 실험 방법과 동일하게 수행하였다.

(나) 단백질 추출 : 벼 잎 1 g을 lysis buffer (10 mM PEPES, 3 mM KCl, 0.1 mM PMSF, 1 mM MgCl₂, 1 mM DTT) 0.7 ml에 넣고 유발과 유봉으로 갈아 1,200×g에 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거하고 다시 100,000×g에서 30분간 초원심분리한 후 단백질은 다시 lysis buffer에 녹이고 Bradford 방법으로 정량하여 벼 잎 전 단백질을 준비하였다.

(다) Probe endlabeling : DNA binding 실험을 위해 준비한 각 primer를 T4 DNA kinase (10 U/μl, NEB)와 5 μl의 γ³²P-ATP를 넣은 후 37°C에서 1시간 반응시켰다. 그리고 25 μl의 TE buffer (pH 7.5)를 첨가하고 sephadex G-50 column chromatograph를 사용하여 γ³²P-ATP가 endlabeling된 DNA를 분리하였다.

(라) Gel mobility shift assay : 대조구로 RAP19 유전자가 클로닝되지 않은 *E. coli*에서 추출한 전단백질, 벼 잎에서 추출한 전단백질을 사용하였고, 실험구로 *E. coli*에서 발현시켜 분리, 정제한 RAP19 단백질로 shift assay를 실시하였다. 방사선 동위원소가 표지된 end labeling primer DNA 1 μl와 각 전단백질 (10~150 μg), 그리고 non-specific competitor DNA (poly dI-dC, 0.1~1 μg)를 2×binding buffer (40 mM Tris-HCl pH 8.0, 100 mM NaCl, 0.2 mM DTT, 20% glycerol)에 넣고 실온에서 30분간 반응시켰다. 다시 얼음에서 10분간 방치한 후 2 μl의 10×TBE loading buffer를 첨가하고, 4% non-denaturating polyacrylamide gel에 0.5×TBE buffer를 사용하여 전기영동하였다. Polyacrylamide gel을 3MM paper에 blotting한 후 80°C

에서 30분간 vaccum으로 건조시키고 X-ray 필름에 24시간 노출시켰다.

(2)RAP19기능연구결과

(가) RAP19 cDNA의 아미노산서열의 특징 : RAP19 OsRHF2 cDNA (Accession number AAP85546)의 아미노산서열은 RING-finger domain을 가지고 있으며, 이들은 두 개의 아연원소가 결합하는 40-60개의 잔기를 가진 특이적인 형태를 가지고 있다 (그림 88). 이는 단백질과 단백질의 interaction을 증재하는 기능을 가진 것으로 여겨진다 (Freemont P.S, 1993). 이들은 두 개의 서로 다른 형태를 띠고 있는데, C3HC4형태와 C3H2C3형태가 있다. 두 번째의 형태가 RING-H2 finger라고 한다. RING domain은 다양한 생물학적 기능을 갖고 있다. 특히 E3 ubiquitin-protein ligase의 기능으로서, E2 ubiquitin conjugating 효소에 주로 결합하는 기능을 갖고 있다.

RAP19는 RING-H2 finger 단백질로 여겨지며, BLASTA 연구결과, 단자엽식물에서는 처음으로 알려진 것으로 여겨진다. 그리고 C3H2C3의 전형적인 맞물린 cross-brace motif (RING-H2 finger)를 다음과 같은 형태로 갖고 있다 [(C-x(2)-C-x(9 to 39)-C-x(1 to 3)-H-x(2 to 3)-C-x(2)-C-x(4 to 48)-C-x(2)]. 그러므로, RAP19는 벼의 ubiquitin protein ligase의 기능을 갖는 것으로 여겨진다. 주로, DNA binding 단백질들은 zinc finger motif가 많으므로, RAP19가 DNA transcription factor일 가능성도 배제할 수 없다. 그러므로, RAP19가 ubiquitin protein ligase 혹은 transcription factor 중 어떠한 기능을 하는지 두 가지의 가설을 중심으로 연구를 진행하였다.

(나)RAP19 유전자의 발현 특성: Northern blot analysis 분석 결과, RAP19 유전자 전사체는 meiosis 단계의 화서에서 높게 발현되었으며, 수분후 5일이 지난 화서에서는 점차적으로 발현도가 높아졌다 (그림 89). 이는 RAP19가 reproductive organ에 특이적으로 기능하는 것으로 여겨진다.

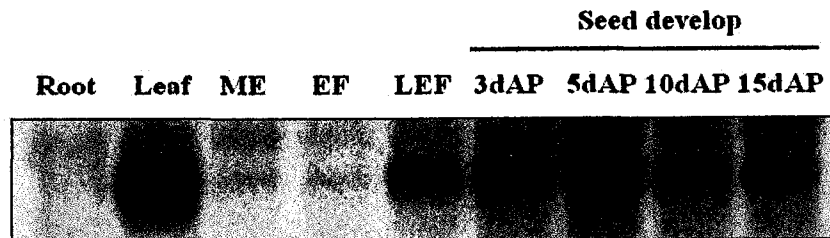


그림 89. RAP19의 northern blot analysis. RAP19 유전자 전사체는 meiosis 단계의 화서에서 높게 발현되었으며, 수분후 5일이 지난 화서에서는 점차적으로 발현도가 높아졌다

(다)RAP19의 유전자기능분석: Rice Tos17 Insertion Mutant Database의 T32649T 돌연변이체와 약 36%의 상동성을 보였다. 그러므로, Tos mutant T32649T는 RAP19의 기능이 파괴된 돌연변이 표현형을 가지고 있을 것으로 여겨진다. Tos mutant T32649T (RAP19 유전자와 높은 유사성을 가진 돌연변이체)는 tiller 발달에 문제가 있는 것으로 보인다. T32649T Mutant는 tiller 발달이 저해되는 것을 볼 수 있다 (그림 91). 그러므로, RAP19 (RING-H2 finger) 또한 tiller 발달에 관여할 것으로 추정한다.

그리고, 인간의 membrane bound ubiquitin ligase인 Rml1과 단백질의 hydrophathy 구조가 일치한다 (Matsuda N. et. al., 2001) (그림 90). 이는 Rml1의 기능처럼 세포막에 부착된 모습으로 ubiquitin ligase기능을 할 것으로 여겨진다.

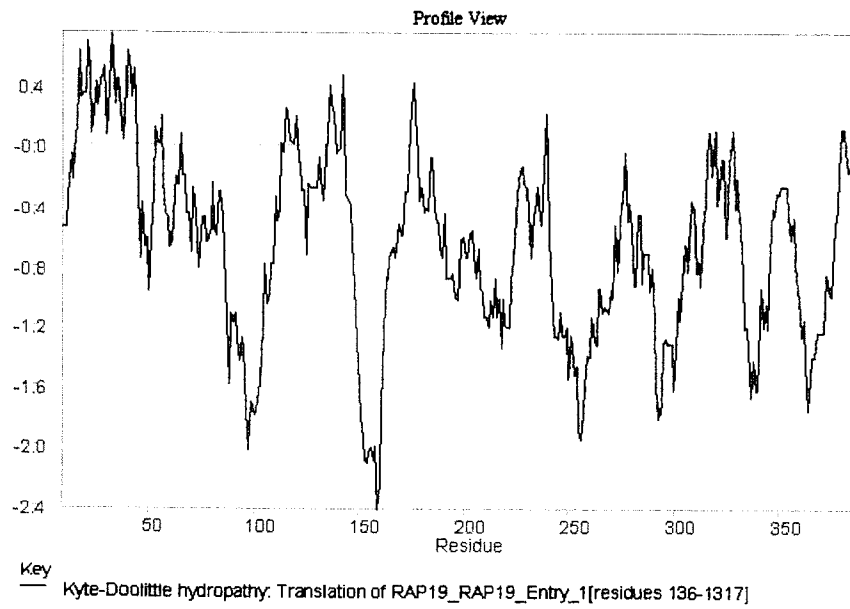


그림 90. RAP19 (RING-H2 finger) 아미노산의 hydropathy profile

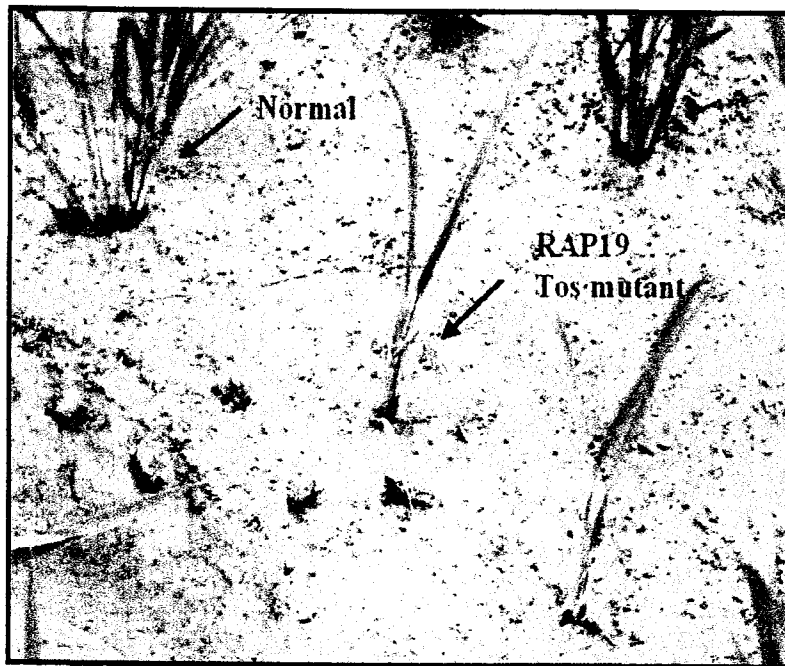


그림 91. RAP tos mutant. RAP19의 cDNA 와 일치되는 Genomic DNA 위치와 동일한 tos mutant (RAP19 Tos mutant)는 seedling 시기에 tiler의 발달이 저해되었다. Normal 의 경우 4-5개의 tiler가 발달 되었다 (Normal).

(라)RAP19 단백질의 발현 및 enzyme assay : 이러한 생명정보학적인 연구를 기초로, RAP19가 ubiquitin protein ligase 혹은 transcription factor 중 어떠한 기능을 하는지 두 가지의 가설을 증명하기 위해 *E. coli* system으로 단백질을 발현시키고, 분리, 정제하여 enzyme assay를 실시하였다. RAP19 단백질의 발현을 위해 pGEX-5X-1 발현벡터에 RAP19유전자를 클로닝하였다 (그림 92). GST 융합 RAP19 단백질의 발현시켰고, GST column을 이용하여 정제하였다. GST 융합된 RAP19 단백질의 추정하는 크기는 약 69.34kDa이었다. GST column으로 정제한 단백질의 크기와 거의 유사한 약 69.34kDa의 단백질을 확인하였다 (그림 93).

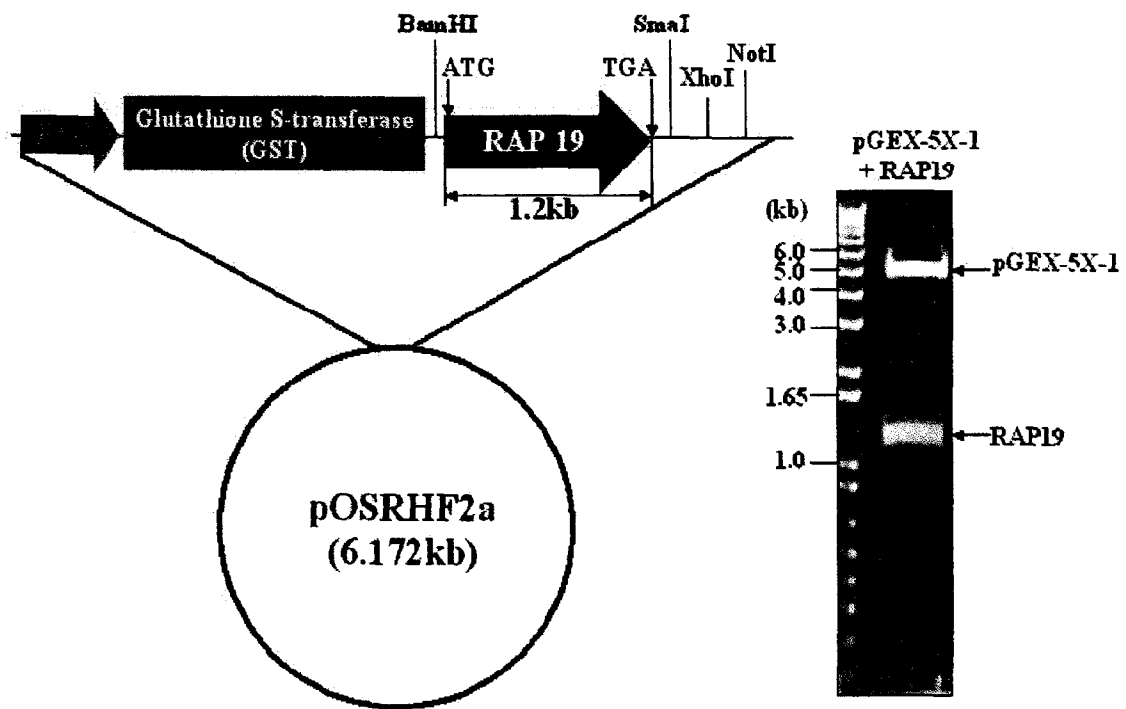


그림 92. pOSRHF2a의 유전자지도. RAP19는 pGEX-5X-1에 클로닝되었다.

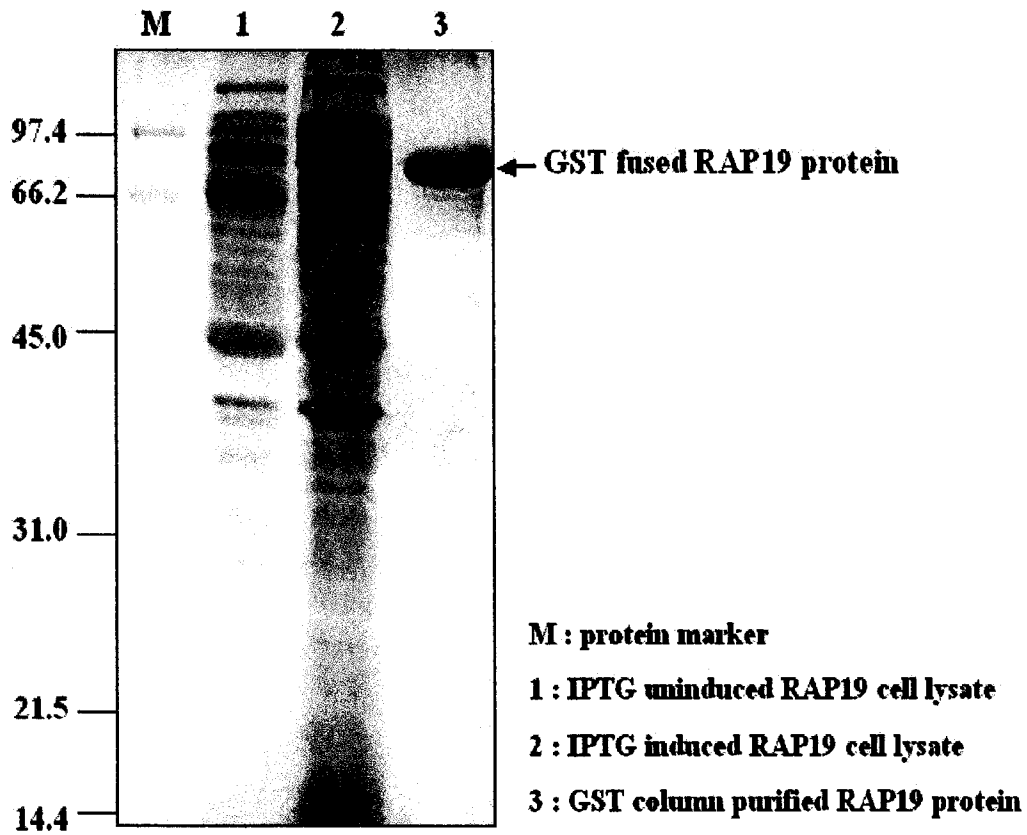


그림 93. GST 융합 RAP19 단백질의 발현과 추출, 정제. GST 컬럼으로 정제한 단백질의 크기는 66.2kDa보다 약간 컸다. 이는 추정하는 GST 융합된 RAP19 단백질의 크기인 약 69.34kDa과 유사하다.

DNA binding 단백질들은 zinc-finger motif가 많으므로, RAP19 유전자가 DNA transcription factor일 가능성도 배제할 수 없다. 그러므로, transcription factor 중 어떠한 기능을 하는지 그 연구를 진행하였다. 분리된 RAP19 단백질을 사용하여 DNA binding assay를 실시하였다. 다음의 primer들은 주로 tranacription factor의 element로서 double strand를 작성하여 DNA binding assay에 사용하였다 (Table 8).

Table 8. RAP19의 gel mobility shift assay에 사용된 primer

primer name	Sequence (5'→3')
PN1(+)	TCG TTG ACT TGA CTT GGC TCT GCT CGT CAA TGG T
PN1(-)	ACC ATT GAC GAG CAG AGC CAA GTC AAG TCA ACG A
MPN1(+)	TCG TTG AAT TGA ATT GGC TCT GCT CTT CAA TGG T
MPN1(-)	ACC ATT GAA GAG CAG AGC CAA TTC AAT TCA ACG A
W1(+)	GTT TGA CCG AGT TAT TTA TTT GTG TTT GTT T
W1(-)	AAA CAA ACA CAA ATA AAT AAC TCG GTC AAA C
W2(+)	GTT TGA CCG AGT TAT TAT TTT GAC CGA GTT T
W2(-)	AAA CTC GGT CAA AAT AAT AAC TCG GTC AAA C
W0(+)	GTT TAC CCG AGT TAT TTA TTT GTG TTT GTT T
W0(-)	AAA CAA ACA CAA ATA AAT AAC TCG GGT AAA C

DNA binding assay를 실시한 결과 RAP19 단백질은 DNA의 binding activity가 없었다 (그림 94). *E. coli* S100 protein은 W1 DNA와 binding 하여 gel retardation shift가 형성되었다. 이는 실험의 control이므로 실험의 이상이 적다는 것을 의미한다. 그러므로 RAP19는 DNA binding protein의 기능이 없는 것으로 여겨진다. 그러므로 두 번째 가설인 ubiquitin protein ligase의 기능여부를 확인하기 위해 분리된 단백질을 이용하여 ubiquitination assay를 수행 중이다.

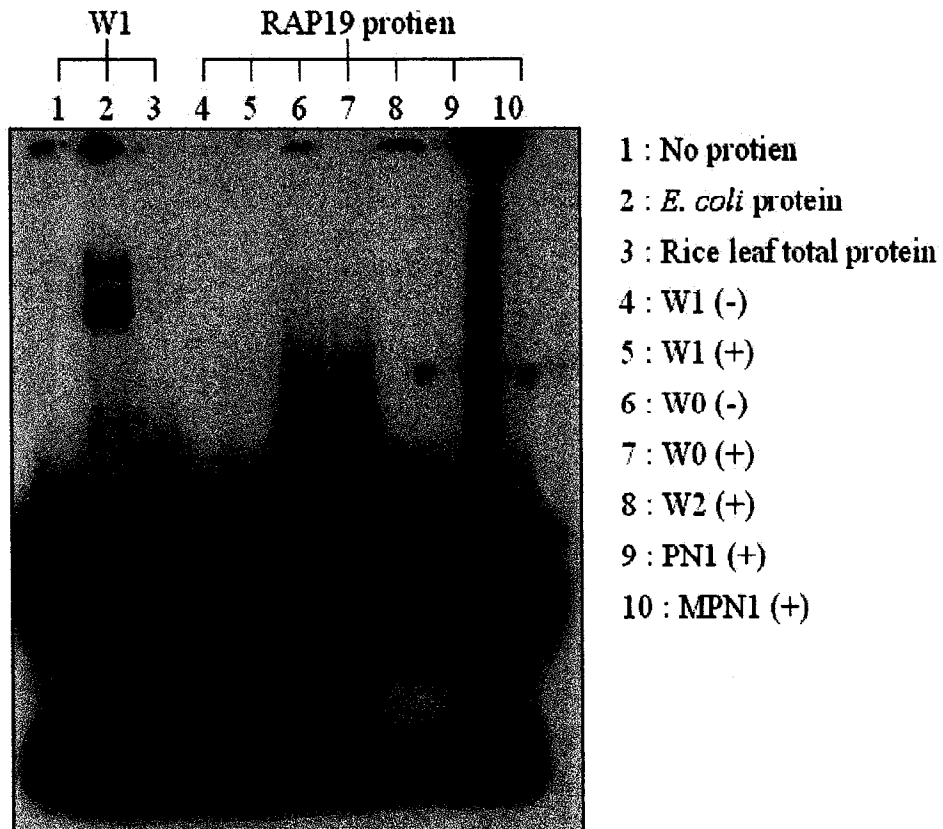


그림 94. RAP19단백질의 gel mobility shift assay. 대조구인 *E. coli* S100 protein 은 W1 DNA와 binding하여 gel retardation shift가 형성되었다. 그러나, RAP19는 shift 현상이 보이지 않았다.

라.RAP65(*OsLEU-D* : *Oryzasativa*LeucineDgene) 유전자의 기능 연구

(1) RAP65 유전자 분석 : RAP65는 벼의 3-isopropylmalate dehydratase small submit 유전자이며, 이 유전자는 수분후 5일된 화서에서 특이적으로 높게 발현되었다. RAP65는 아미노산 서열 257개로 구성되어 있으며, 상동성 연구결과 Cyanobacteria의 *LeuD* 유전자의 단백질인 3-isopropylmalate dehydratase의 β -subunit 와 58%의 상동성을 갖고 있다. 이 유전자는 염색체 2번의 109.3 cM 위치에 있다. 유전자 발현의 특징은 대사작용이 활발한 잎과 성숙기 종자에 많이 발현되었다. 벼의 *LeuD* 유전자는 효모나 곰팡이보다도 광합성 박테리아의 유전자와 훨씬 높은 상동성을 보였다. 이는 벼의 *LeuD* 유전자가 plastid genome에서 nuclear genome으로 진화를 한 것으로 여겨진다.

현재까지 고등식물의 Leucine 생합성에 관한 명확한 연구결과는 없으며 leucine 합성유전자에 관한 연구보고도 없다. 그러므로 박테리아 혹은 Yeast의 영양요구균주의 연구결과에 의존하여 leucine 생합성에 관한연구를 추정하여왔다. 미생물의 Leucine 생합성 단계에는 세 가지 효소가 작용한다. 2-isopropylmalate (EC 2,3,3,13)은 acetyl-CoA에서 acetyl group을 2-ketoisovalerate로 옮겨 3-carboxy-hydroxyisocaproate (isopropylmalate) 로 만든다. Isopropylmalate dehydratase (EC 4,21,33)는 3-isopropylmalate isomerase로 불리며, hydroxyl group을 옮겨 3-carboxy-hydroxyisocaproate (isopropylmalate)를 만든다. 3-isopropylmalate는 NAD^+ 와 isopropylmalate dehydrogenase (EC 1,1,1,85)에 의하여 2-oxo-4-methy-3-carboxypentanoate가 되고 CO_2 가 이탈하여 2-oxoiso-hexanoate가 된다. Branched-chain amino acid aminotransferase (EC 2,6,1,42)에 의하여 L-glutamate를 2-oxoglutarate로 만들면서 amino group을 2-oxoiso-hexanoate가 L-Leucine으로 만들어지게 된다. 박테리아의 isopropylmalate isomerase (IPMI: Isopropylmalate dehydratase IPDH)는 두개의 subunit로 구성되어 있으며 large subunit는 *LeuC*, 그리고 small subunit는 *LeuD* 유전자에 coding되어 있다. 박테리아와 동물의 단백질 주요 구성성분인 Leucine 생합성 과정은 잘 알려져 있으나, 식물의 Leucine 합성은 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서 RAP65의 cDNA가 박테리아의 *LeuD* 상동성이 있는 것으로 보아 genomic DNA에 있는 *LeuD* homologus 유전자 위치가 실제 발현된 것임으로, genomic DNA에 있는 *LeuD* homologus가 실제 *LeuD* 유전자인 것으로 여겨진다. 그리고 Northern blot analysis의 연구결과, 대사작용이 활발한 기관에서 많이 발현되는 것으로 보아 박테리아의 Leucine 합성과 유사한 과정으로 plastid의 Leucine이 합성되는 것으로 추정할 수 있다. 기초연구에 의하여 유전자 위치 아미노산서열의 유사성, 유전자의 발현 양상 등을 종합하여 본 결과, cDNA RAP65는 벼의 *LeuD*유전자로서 3-isopropylmalate isomerase를 coding는 것으로 leucine 합성의 기능을 하는 것으로 판명되었다.

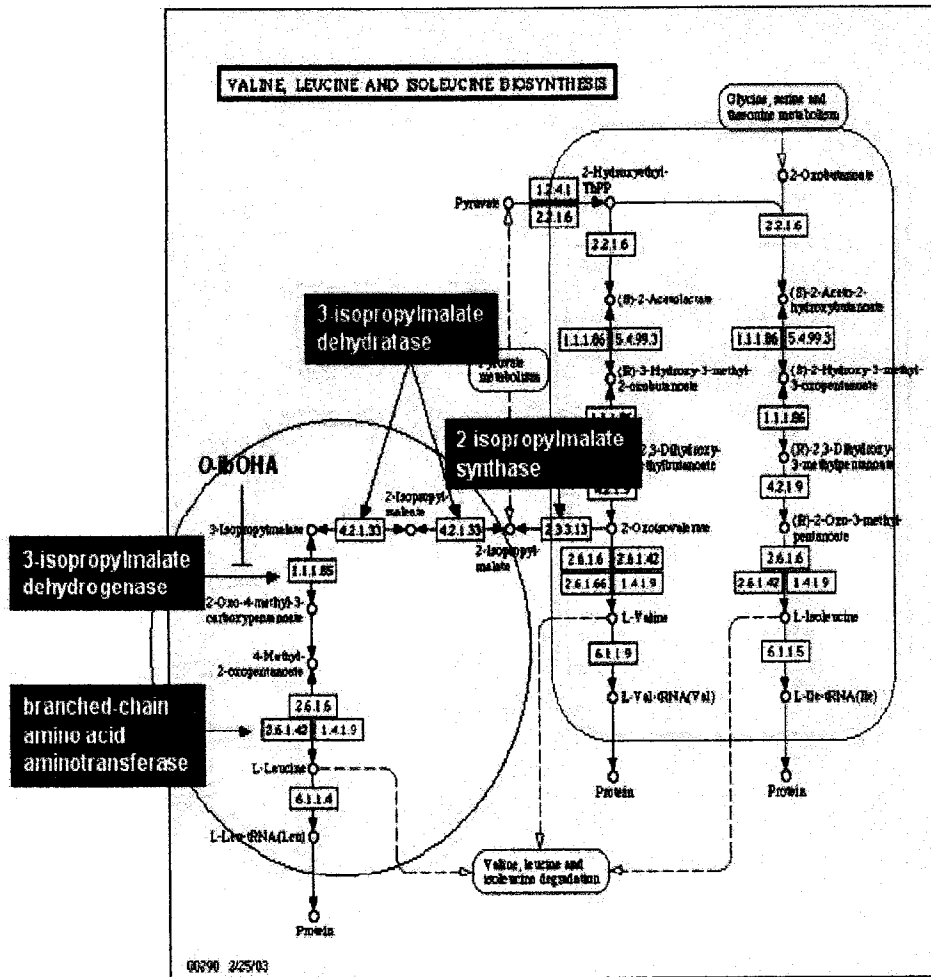


그림 95. Bacterial Leucine 생합성 경로. 미생물의 Leucine 생합성 단계에는 세 가지 효소가 작용한다. 2-isopropylmalate (EC 2,3,3,13)은 acetyl-CoA에서 acetyl group을 2-ketoisovalerate로 옮겨 3-carboxy-hydroxyisocaproate (isopropylmalate)로 만든다. Isopropylmalate dehydratase (EC 4,21,33)는 3-isopropylmalate isomerase로 불리며, hydroxyl group을 옮겨 3-carboxy-hydroxyisocaproate (isopropylmalate)를 만든다. 3-isopropylmalate는 NAD^+ 와 isopropylmalate dehydrogenase (EC 1,1,1,85)에 의하여 2-oxo-4-methyl-3-carboxypentanoate가 되고 CO_2 가 이탈하여 2-oxoisohexanoate가 된다. Branched-chain amino acid aminotransferase (EC 2,6,1,42)에 의하여 L-glutamate를 2-oxo-glutarate로 만들면서 amino group을 2-oxoisohexanoate가 L-Leucine으로 만들어지게 된다.

```

1 CCTCACACACTGAACACCATGGCGGCGGCGGCGGCGCTCCGGCTCTATCCTTGGCCGAG
      M A A A A A A P A L S L A E 14
61 GCGGCGCCGGTGACAGCAGTTCTGGCACCGTGTCCACGCCCCTCGAGGACGTTCCGCGCG
  A A P V T A V L A P C P T P S R T F R R 34
121 CGCAGCTGGGTGCGGGCTATCTGCCGCGCCGCTCTGAAATGCCACCACAGTCGTCCCGTG
  R S W V A A I C R P A L K C H H S R P L 54
181 ACCGCGGTGGCGCGCGCGCTGGCGCTGCCGCTGCCGCGGGGACTCGACGTCGGCCGGC
T A V A A A A A A A A A A A A G D S T S A G 74
241 GTATCCACGCGAGTGTCTCGTCGTGGGGATAACATCGACACCGACCAGATCATCCCG
  V F H G E C F V V G D N I D T D Q I I P 94
301 GCCGAGCACCTGACCC TGGTCCCGTCCAAGCCGACGAGTACCGCAAGCTCGGCTCGTTC
  A E H L T L V P S K P D E Y R K L G S F 114
361 GCCTTCGTTGGCTCCCCACCGCGGCTACCCGACGCGTTCGTGCCCGCGGCGAGGAG
  A F V G L P T A A Y P T P F V A P G E E 134
421 ACCACCGCTACGCGCTCATCATCGGCGGCGCAACTTCGGCTGCCGCTCCTCCCGCAG
  T T R Y A V I I G G A N F G C G S S R E 154
481 CACGCGCCGTCGCCC TGGCGCCGCGCGGCGCCGCGCGTCTGTGCCGAGGGCTACGCG
  H A P V A L G A A G A R A V V A E G Y A 174
541 CGCATCTTCTCCGCACTCCGTGGCCACCGGTGAGGTC TACCGTTGGAGCTAGCGGAC
  R I F F R N S V A T G E V Y P L E L A D 194
601 ACTGGAGCCTGGAAGGAGTGCAAGACCGGGATGTGGTCACGGTGGAACTTGATAATTGC
  T G A W K E C K T G D V V T V E L D N C 214
661 GTCATGATCAACCACATCCGGCAAGCAGTACAAGCTGAAGCCTATCGGCGATGCCGGG
  V M I N H T S G K Q Y K L K P I G D A G 234
721 CCGTATTGAGGCAGGCGGATCTTTGCC TATGCCGGAAGACCGGAATGATCGCATCC
  P V I E A G G I F A Y A R K T G M I A S 254
781 AAGTCTGCGTGAGGGAAAGCGAGTTTGGTCTGCTGTCAAGATAGTCGAGGCCCTCTGCAG
  K S A * 257
841 ATAGCAAGACTGGGTTGTGGATTTGAACCTATTGCACCTCTATGCGATTGTCCATCAGTT
  901 GTACTGCTGTTTTACCTAGGTTGTGTGCATCAGTGGTGT TTTTGGAAATAAGTAAAAG
  961 TTACAGAGTACTGAAC TATGATGATTAGTCCATGTGATCTTATGTAACCCCTTATGTA
1021 ATAACACTCGTTTTATACCTGCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 1063

```

그림 96. RAP65 Nucleotide sequence of RAP65 (*OsIPMI*) cDNA and its deduced amino acid sequence. Amino acid residues from 54 to 68 involved in signal for putative intrachloroplastic sorting were underlined. The nucleotides for poly (A) signal were bolded.

RAP65는 chloroplast나 mitochondria의 3-isopropylmalate dehydratase small submit를 코드한다. RAP65는 257개의 아미노산으로 구성되어 있으며,

cyanobacteria의 *LeuD* 유전자의 산물인 3-isopropylmalate dehydratase small subunit와 33.3%의 일치성을 보였다. 그러므로 cDNA RAP65는 벼의 *LeuD* 유전자로서 OsLUE-D로 명명하였다. pSORT (Bannai et. al., 2002)를 사용한 연구결과, chloroplast 혹은 mitochondria의 localization signaling sequence가 존재함을 알 수 있었다 (그림 96). 특히 chloroplast의 thylakoid space에 위치하게 하는 intrachloroplast signal이 아미노산 54와 68번 위치에 존재하였다. 이는 이 단백질이 chloroplast나 thylakoid space와 mitochondrial intermembrane의 space에 존재할 것이라는 가정을 뒷받침해 준다.

(2) *OsLEU-D* 유전자의 northern과 southern blot analysis

(가) Southern blot analysis와 BLAST 분석 : *OsLEU-D* 유전자는 2번 염색체의 109.3 cM에 위치한다. BLAST 연구결과, *OsLEU-D* 유전자는 벼의 genomic DNA sequence AJ307662 (Mayer et al., 2001)안에 존재하였다. 실제 *OsLEU-D* 유전자의 genome내의 존재를 RAP65 cDNA의 southern blot분석으로 그 일치성을 연구하였다. 연구 결과 3.1kb의 EcoRI DNA단편이 AJ307662에 존재하며 southern blot 분석에서도 EcoRI-digested DNA단편이 확인되었다 (그림 97, EcoRI). 약 11.9kb의 HindIII 단편이 AJ307662에 존재하였으며 실제 southern blot분석에서도 Hind III절단 단편이 나타났다. (그림 97, Hind III) 이러한 결과에서 *OsLEU-D* cDNA는 genomic BAC clone AJ037663의 3kb CDS의 발현결과로 만들어진 cDNA임을 알 수 있다. genomic DNA AJ037662와 cDNA RAP65의 비교분석 연구결과, *OsLEU-D* 유전자는 5개의 exon과 4개의 intron으로 구성되어 있으며 일반적인 eukaryotic splicing의 특징인 5'-exon/GT-intron-AG-exon의 exon-intron의 junction을 갖고 있었다. Rice genomic BLAST분석에서 *OsLEU-D* cDNA는 genomic DNA서열 AP005006의 발현체이며 *O. sativa* Nipponbare의 japonica genome (Harushima, Y., et. al., 1998)의 high density linkage map의 2번 염색체 109.3cM 위에 위치하고 있다.

(나) Northern blot analysis 분석 : *OsLEU-D* gene expression은 발달과정에 따라 발현이 조절되었다. 그림에서 보듯이 *OsLEU-D* (RAP65)는 잎과 수분후의 종자 발생단계에 대단히 높은 발현을 보였다. 감수분열을 포괄한 꽃의 발달과 감수분열 후의 화기 발달에는 다소 약하게 발현되었으나, 수분후에는 대단히 많은 양이 발현됨을 알 수 있었다 (그림 97). 특히 수분후 과정에는 녹말과 단백질 그리고 기타 영양물의 축적이 활발하므로 필수 아미노산의 생성은 당연히 높아질 것이다. 이러한 것은 종자발달과정에서 valine, leucine, 그리고 isoleucine 등의 아미노산을 공급하기 위한 *LeuD*와 같은 관련 유전자의 발현을 뒷받침해준다. 본 실험의 결과 RAP65는 기능이 있는 벼 *LeuD* 유전자임을 알 수 있었다.

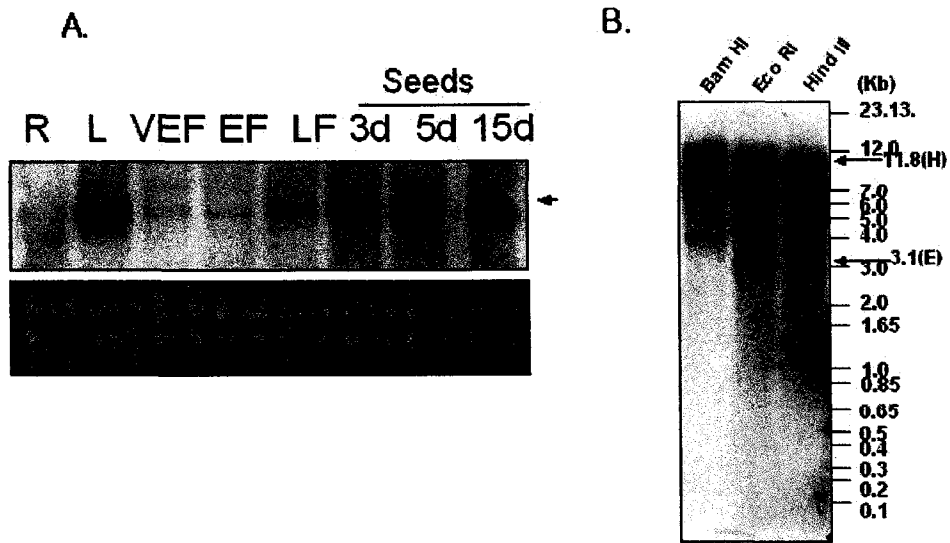


그림 97. RAP19의 northern (A)과 southern blot analysis (B). A: *OsLEU-D* (RAP65)는 잎과 수분후의 종자 발생단계에 대단히 높은 발현을 보였다. B: Southern blot 분석에서, EcoRI-digested DNA단편과 Hind III절단 단편을 확인하였다.

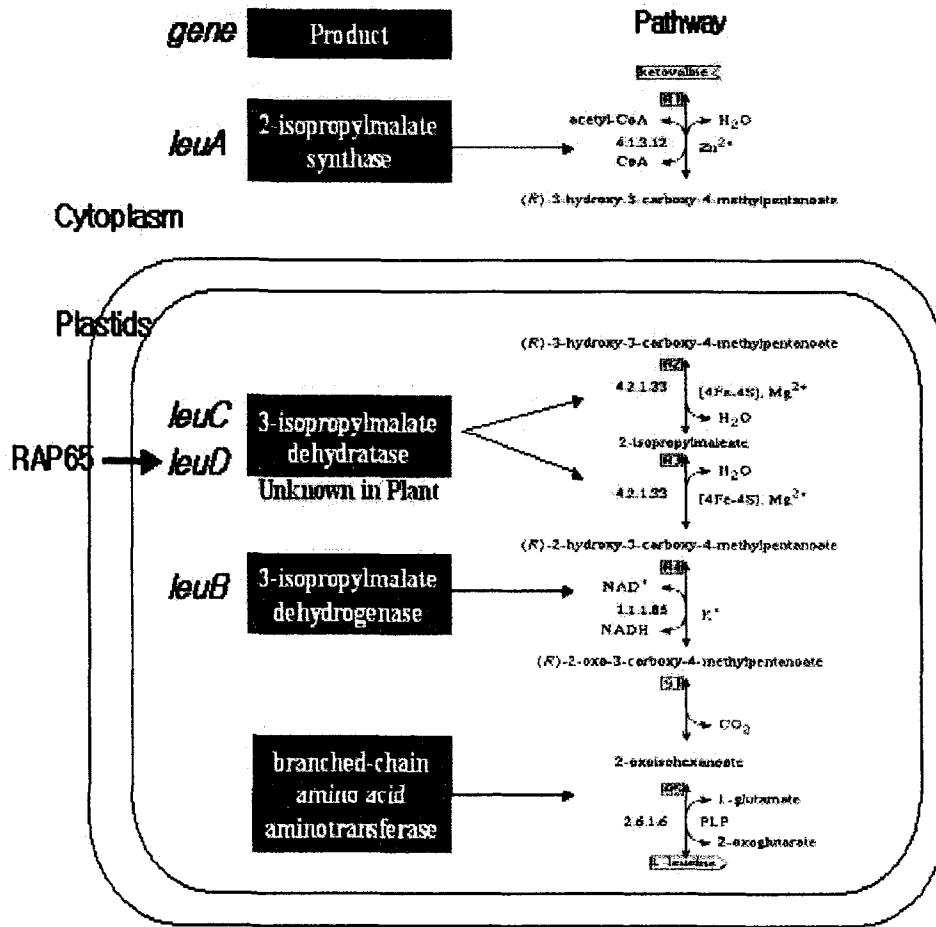


그림 98. Plant leucine 생합성 경로에서 추정되는 *LeuD* (RAP65)의 기능

마. RAP74 (*OSGIP: Oryza sativa putative Phosphoinositol Glycan*) 유전자의 기능 연구

(1) RAP74의 아미노산서열 상동성 비교 : RAP74 유전자의 아미노산서열은 *Mus musculus*의 phosphatidylinositol glycan, class F와 36%의 유사성을 나타내었다.

>(BC028862) phosphatidylinositol glycan, class F [*Mus musculus*]

```
Query: 108 WIIHINGPFTGLHICRYWAATTYWSLLMSLFTFVPAACVFGASKVNWQAVLSHSIYCGST 167
      + + + H I   G +   T + + + + S FT VP C+ G+ W V S+ G T
Sbjct: 92 FLLHII FVLYGAPLIELVLETFLFAVVLSTFTTVPCLCLLGNLKAWLRFVSPN—GVT 148
```

```
Query: 168 DSVDYMISAPAHGAVIGAWLGAWPMPDWERPWQEWPI SVTYGSAVAGHLIGMAIS 222
      + +   + GAWLGA+P+PLDWERPWQ WPIS T G+ G+ G+ IS
Sbjct: 149 SIWENSLQITTISSFTGAWLGAFPIPLDWERPWQWPI SCTLGATFGYVAGLVIS 203
```

(2) RAP74 유전자의 호르몬에 대한 발현 양상 분석 : 세포막단백질 혹은 세포막의 구성성분의 생합성에 관여하는 단백질은 주로 수용체의 역할을 하고 있으므로 세포 외적 환경에 민감할 것이다. 그러므로 각종 호르몬의 영향에 반응을 할 것으로 여겨진다.

식물의 주요 호르몬인 GA, ABA, Kinetin, IAA 그리고 MeJA 등을 벼에 처리하고 12 시간 간격으로 식물체를 수거하여 mRNA를 분리한 후 northern blot analysis를 통하여 그 발현정도를 측정하였다.

벼의 조직별 northern 분석 결과, RAP74 유전자는 성숙된 잎에서 특이적으로 발현이 되었고, 수분후 5일 지난 화서에서도 발현을 확인할 수 있었다 (그림 51). 반면 뿌리와 수분전의 화서에서는 발현이 거의 나타나지 않았다. 호르몬 처리된 잎에서 RAP74 유전자의 발현양상을 확인하기 위해, 100 μ M의 GA3, Kinetin, NAA을 시간별로 처리한 잎의 RNA로 northern blot analysis를 실시하였다. 그 결과, GA3를 처리한 잎에서는 RAP74 전사체의 발현이 시간에 따라 점차적으로 증가하는 것을 볼 수 있었고 (그림 99), Kinetin을 처리한 잎에서는 처리하지 않은 0시간보다 Kinetin 처리된지 12시간에 발현이 감소되었다가 24시간부터 다시 증가하기 시작하였다 (그림 100). NAA를 처리한 잎에서는 12시간에 급격히 발현이 증가되었다가 계속 발현이 유지되는 것을 볼 수 있었다 (그림 101).

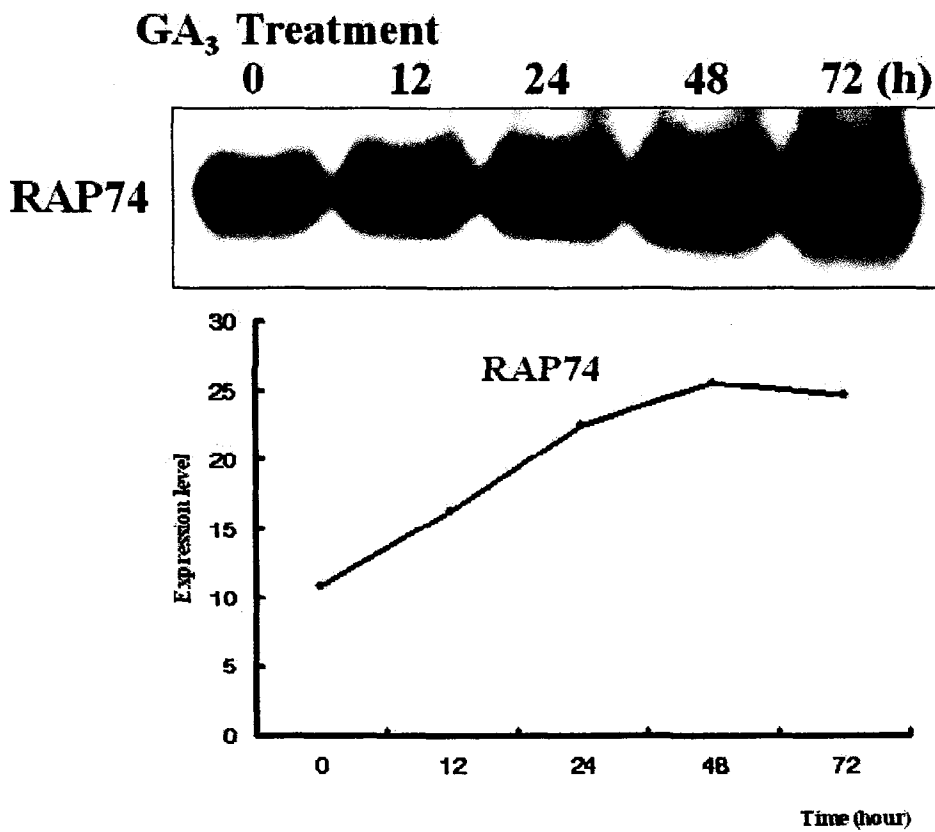


그림 99. GA₃처리에 대한 RAP74 유전자의 발현양상. GA₃를 처리한 잎에서는 RAP74 전사체의 발현이 시간에 따라 점차적으로 증가하였다.

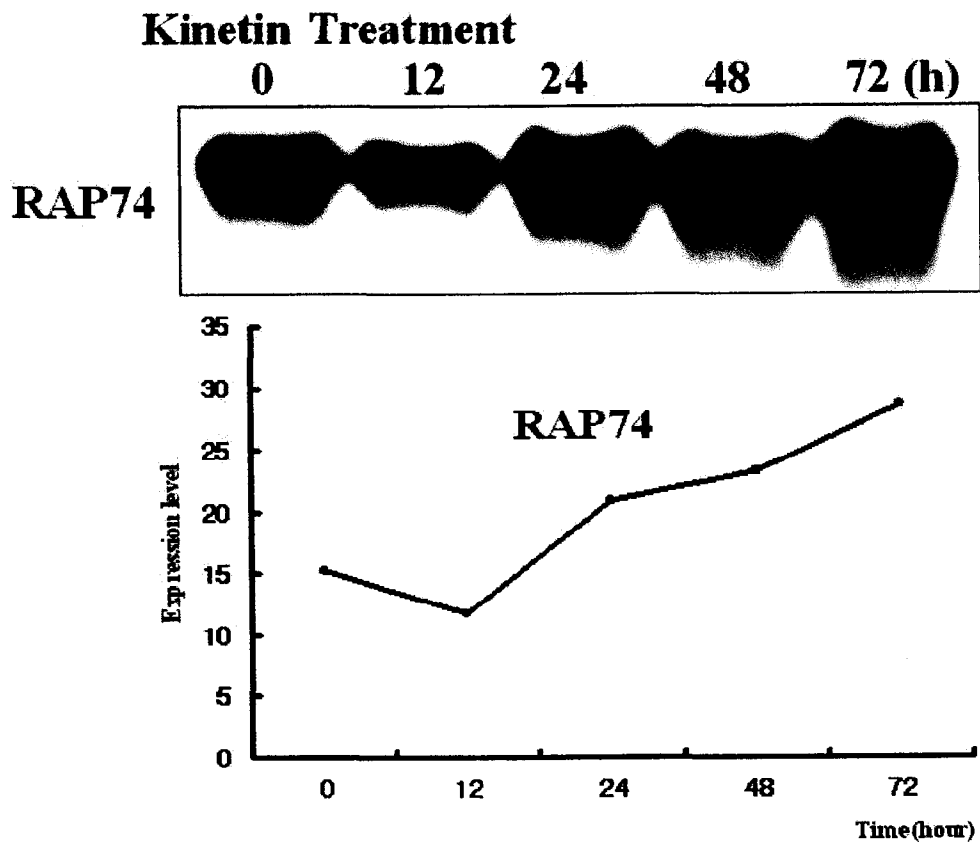


그림 100. Kinetin처리에 대한 RAP74 유전자의 발현양상. Kinetin을 처리한 잎에서는 처리하지 않은 0시간보다 Kinetin 처리된 지 12시간에 발현이 감소되었다가 24시간부터 다시 증가했다.

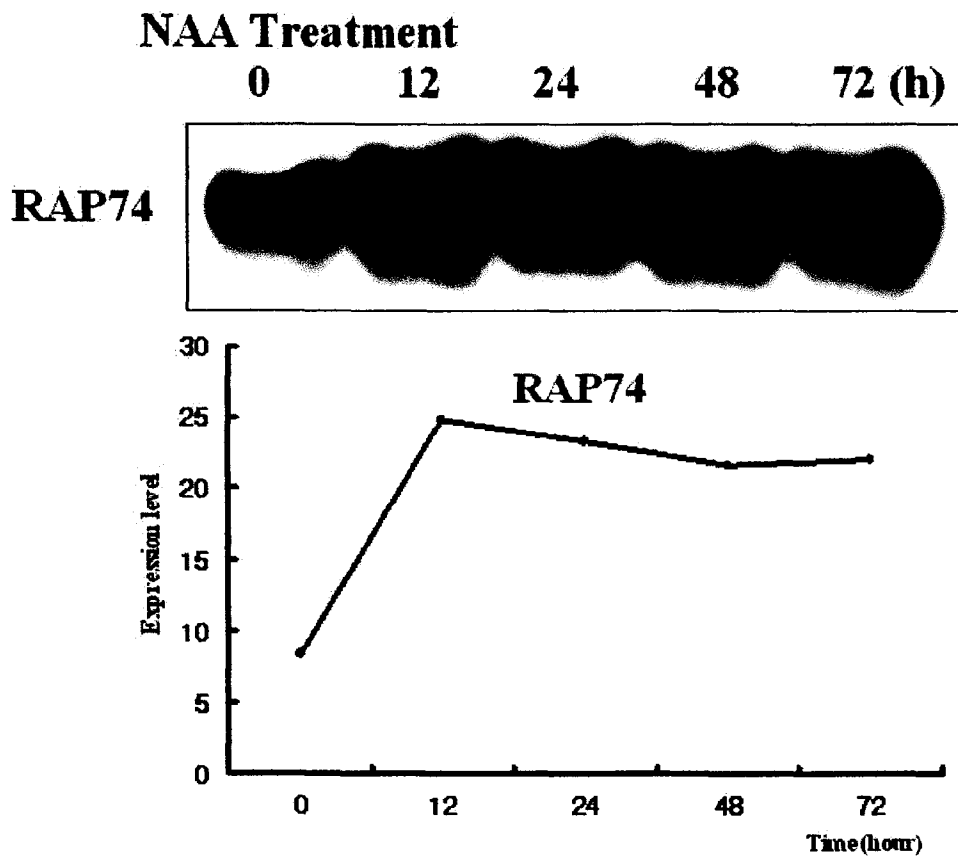


그림 101. NAA처리에 대한 RAP74 유전자의 발현양상. NAA를 처리한 잎에서는 12시간에 급격히 발현이 증가되었다가 계속 발현이 유지되었다.

(3) Glycosylphosphatidylinositol (GPI)의 특성

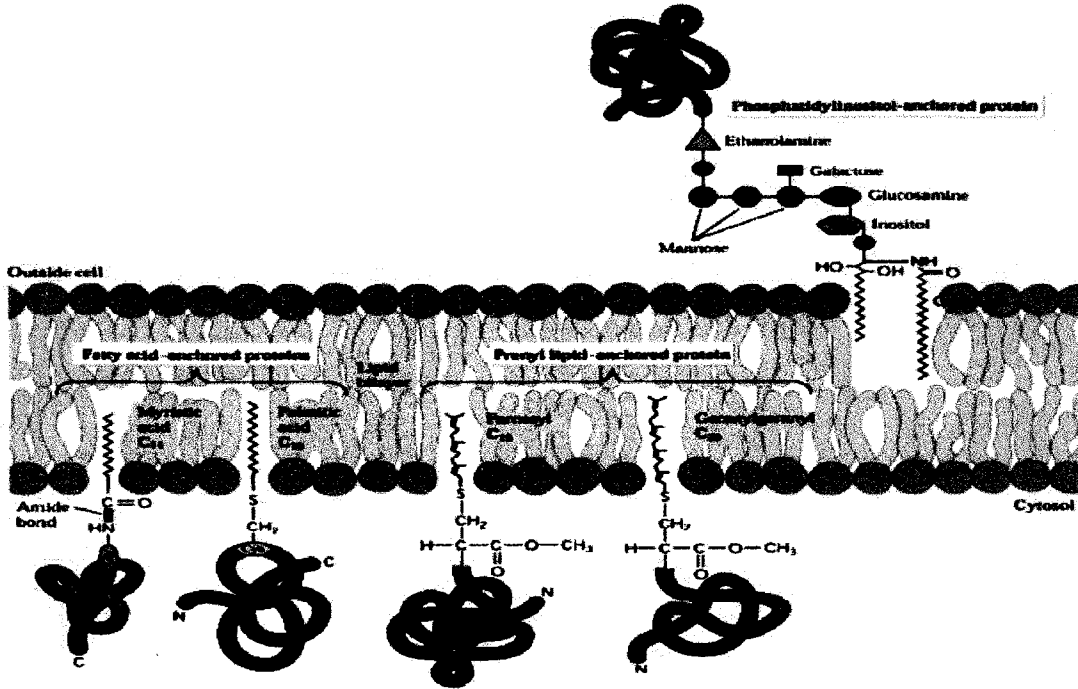


그림 102. 막 표면에 존재하는 Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored protein. GPI anchor는 3번째 만노오스 (mannose)에 있는 카르복시말단(carboxyl terminus)과 포스포에탄올아민 (phosphoethanolamine)사이에 형성된 아미드결합 (amide bond)에 의해 단백질에 연결되어 있다.

현재까지 연구된 바 많은 진핵성 단백질들은 세포막 표면에 글리코실포스파티딜이노시톨 (GPI)에 의해 부착되어 세포막에 점착되어 있다 (McConville and Ferguson, 1993) GPI anchor는 3번째 만노오스 (mannose)에 있는 카르복시말단(carboxyl terminus)과 포스포에탄올아민 (phosphoethanolamine)사이에 형성된 아미드결합 (amide bond)에 의해 단백질에 연결되어 있다 (그림 102). Hong 등 (2000)은 GPI에 있는 3번째 만노오스 (mannose)에 포스포에탄올아민 (phosphoethanolamine)을 옮겨주는 데 관여하는 두개의 포유동물 유전자 (mammalian gene)의 역할을 연구하였다. 이 연구에서 생쥐의 포스포디에스테라이스(phosphodiesterases)에서 보존된 1101개의 아미노산으로 구성된 PIG-O단백질 운반영역을 코딩하는 유전자인 *Pig-o*

가 클로닝되었다. 연구결과, *Pig-o* 녹아웃 F9 배 암세포 (*Pig-o* knockout embryonal carcinoma cells)는 매우 적은 GPI-부착단백질 (GPI anchor protein)을 발현하였으며, 마우스의 class F 돌연변이세포와 동일한 주요 GPI 중간생성물을 축적하였다. 이 class F 돌연변이세포는 *Pig-f* 유전자의 돌연변이 때문이며 3번째 만노오스에 포스포에탄올아민을 옮겨주는 기작이 결여되었다. PIG-O와 PIG-F 단백질들은 서로 연관되어 있고, PIG-O의 안정성은 PIG-F에 의존되었다. 그러나, class F 세포는 표면에서 GPI 부착단백질이 완전히 결여되어 있다. 아래 단계의 GPI 중간생성물이 *Pig-o* 녹아웃에서는 발견되었으나, class F 세포에서는 첫번째와 세번째 만노오스에 포스포에탄올아민과 함께 3개의 만노오스 이상을 붙 수가 없었다. 이 GPI는 GPI부착단백질이 매우 적게 발현되었음을 나타낸다. 그러므로, 포유동물 세포들은 세번째 만노오스에 포스포에탄올아민을 옮겨주는데 있어 PIG-F의 역할이 필수적임을 나타낸다 (Hong et al., 2000). 식물의 경우 이와 같은 유전자와 기작에 대한 연구 사례는 전혀 없었다.

진핵세포표면에서 많은 단백질들은 글리코실포스파티딜이노시톨 (GPI : glycosylphosphatidylinositol)에 의해 부착되어 있다. 일반적인 골격, EtNP-6Man α -1,2Man α -1.6Man α -1.4-GlcN α -1,6myo-inositol-P-lipid (EtNP : phospho-ethanolamine, Man : mannose, GlcN : glucosamine, P : phosphate)는 포스파티딜인시톨에 당과 EtNP 구성요소의 연속적인 첨가에 의해서 소포체 (ER : endoplasmic reticulum)에 결집되어 있다. 이 핵심부는 모든 진핵세포에서 보존되어 있으나, 각 종에 따라 다양한 결사슬에 의해 변형되어진다. 효모 *Sacharomyces cerevisiae*와 포유동물세포에서, 첫번째 만노오스 (Man1)는 포지션 2에서 EtNP에 의해 변형된다. 포유동물과 효모 GPI의 두번째 만노오스 (Man2)는 또한 포지션 6에서 EtNP에 의해 변형될 수 있다. 세번째 만노오스(Man3)에 있는 EtNP는 포스포에탄올아민으로부터 옮겨졌으나, 반면 Man1과 Man2의 EtNP에 대한 공여체는 아직 밝혀지지 않았다.

최근 동물 세포막의 GPI anchor 단백질들의 유전자 특성에 관한 연구가 진행되고 있으나 (Ohishi et al., 1996) 고등식물의 경우 그 유전자의 기능연구의 사례는 전무하다. 특히 식물의 GPI biosynthesis나 GPI-anchored protein의 합성과정은 거의 알려져 있지 않았다. GPI-anchored protein의 기능에 관여 하는 신호전달 혹은 세포벽과 세포막의 특성에 관한 연구는 생명공학적인 활용도가 높음에도 불구하고 거의 연구 사례를 찾아보기 힘들다. 특히 벼는 단자식물의 모델로서 가장 연구가 많이 진행되고 있으며 한국을 비롯한 전 세계적으로 생명공학적인 활용을 목적으로 가장 활발히 연구를 진행하고 있는 주요 농작물이다. 그러므로 향후 식량자원의 생명공학적인 활용을 위하여 아직 연구가 되지 않은 벼의 GPI biosynthesis와 GPI-anchored 단백질에 관한 연구를 수행 할 필요가 있다.

바.RAP156(*OsMADF*:*Oryzasativa*MADSbox)유전자의기능연구

(1)RAP156(novelMADS-box gene): MADS box 유전자는 생식생장과 체세포생장의 조절을 담당하는 transcription factor로 알려져 있다 (De Bodt, S et al., 2003). 5-DAP에서 특이적으로 발현되는 screen cDNA중 RAP156이 있었다. RAP156은 1328 bp로 되어 있으며 258 amino acid로 구성이 되어있다. 아미노산 서열의 N-terminal 부분에는 MADS box domain을 갖고 있었다. RAP156의 발현양상을 연구한 결과, root에서는 거의 발현되지 않았으며, 화기형성기인 early flower와 화기발달기인 mature flower에서는 적게 발현되었다. 그러나 수분 후 5일, 15일이 지난 종자 발달기에는 대단히 많은 양의 RAP156 transcripts가 발현되었다 (그림 103). 이는 RAP156이 종자의 발달에 관여하는 것으로 여겨진다. RAP156의 유전자는 현재까지 알려져 있는 벼의 MADS box와는 다른 것으로 보아, 종자발달에 관여하는 새로운 기능을 하는 MADS box중의 하나인 것으로 여겨진다 (Kang, H.G. et. al., 1997, Kang, H.G. et. al., 1998, Lee S. et. al., 2003). Southern blot 분석에서 high molecule 부분에 많은 signal이 분포한 것은 RAP156과 상동성이 높은 많은 종류의 MADS box 유전자들이 혼성화되었기 때문으로 여겨진다. 그러나 1kb이하에서는 1~2개의 밴드들이 나타난 것으로 보아 RAP156 유전자는 genome상에서 하나인 것으로 추정된다. 현재 벼의 임성연구 및 생명공학적인 활용을 목적으로 특허출원을 준비중이며, 상보성검정을 시도한 후 RAP156의 유전자를 사용할 예정이다.

**RAP0156
(OsMADF)**

-*Oryza sativa* MADs box

RNA blot analysis



Southern blot analysis

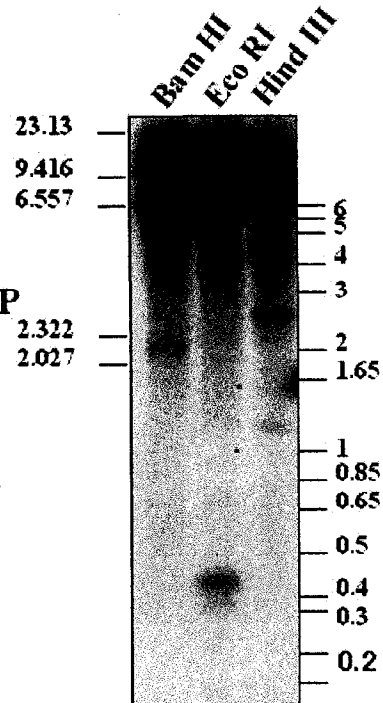


그림 103. RAP156의 northern과 southern blot analysis. (left) RAP156의 northern 결과, root에서는 거의 발견되지 않았으며, 화기형성기인 early flower와 화기발달기인 mature flower에서는 적게 발견되었다. 그러나 수분 후 5일, 15일이 지난 종자 발달기에는 많은 양의 RAP156 transcripts가 발견되었다. (Right) Southern blot 분석에서 high molecule 부분에 많은 signal이 분포한 것은 RAP156과 상동성이 높은 많은 종류의 MADs box 유전자들이 혼성화되었기 때문으로 여겨진다. 그러나 1kb이하에서는 1~2개의 밴드들이 나타났다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	연구개발 세부목표	추진 실적	달성도 (%)
2001 (1차년도)	<ul style="list-style-type: none"> - cDNA library 작성 (2개) - 유전자분포 및 발현확인 (1건) - 잠초성비의 형질확인 (1건) 	<ul style="list-style-type: none"> - 화기형성시기와 수분후 3-5일 cDNA library 확보 (3개) - 유용유전자 21개 / 기능미확인 novel cDNA 확보 (26개) - 17개의 선별된 unknown cDNA 유전자발현확인-화기형성기와 수분전후의 시간적 발현양상에 관한 northern 분석 및 발현확인 (17건) 	100%
2002 (2차년도)	<ul style="list-style-type: none"> - Long SAGE library 작성 및 분석 - unidentified tag 선별 - unknown gene full length cDNA 확보 - 유용유전자 확보 및 발현연구 (10건) - 유전자분포확인 	<ul style="list-style-type: none"> - 유용유전자 확보확보 및 염기서열 완료 (26건) - unknown gene full length cDNA 확보 (5건) - 작물유전체에 DB 컨텐츠 (30개) 제공하였음 - 유용유전자원 (30개) stock을 작물유전체에 제공하였음 - 유전자분포 및 발현연구 Northern analysis (30건) 수행하였음 	100%
2003 (3차년도)	<ul style="list-style-type: none"> - Novel 유전자 확보 (10개) - 유용유전자 확보 (10개) - SAGE library 작성 및 분석 - 야생벼 유용유전자선별 (1건) - Micorarray 유전자 발현분석 - 특허출원 (1건) 	<ul style="list-style-type: none"> - full length 유전자 염기서열 완료 및 확보 (86개) - 발현전사체 분석(DNA microarray 와 Northern을 사용 전체유전자 발현체 분석 및 유용유전자 탐색: Early flower 화기 (200개); 5-DAP종자 (924개) - Long SAGE library 분석 (2건) - 신규한 유전자 발굴 및 기능연구 (9건) - Novel gene들의 기능 분석 및 응용연구 (4 건) - 논문게제 (1건) - 특허출원 (1건) 	100%

본 연구를 통하여 논문투고 (SCI), 특허출원 국내외 학술발표 8건, 국제협력 1 건, 그리고 석사배출 3명과 연구교수 1명을 배출하는 성과가 있었다. 그리고 유전자의 기능분석과 발현전사체 분석은 수년이 소요됨으로 현재 지속적으로 연구가 진행되고 있으며 그 결과들은 2 단계 연구과정에서 발표될 예정이다. 그 결과들은 국내외의 생명과학 관련 분야에 많은 도움을 주는 성과가 될 것이다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구의 결과들은 학술적 측면으로 벼의 유전육종, 세포유전, 분자유전과 농업생명과학 연구에 활용될 것이다. 특히 유용하고 신규한 유전자들은 향후 생명공학 분야에 사용될 것이다. 본 연구에서 얻어진 SAGE technology library작성의 방법, microarray의 이용, cDNA library들, 많은 수의 유전자단편, 각 유전자에 해당하는 수백개의 oligo primer들, 그리고 형질전환체 등은 벼 연구에 지속적으로 활용하고자 한다. 현재 다수의 고유한 신규 유용유전자원이 축적되었으므로 벼의 생명과학 연구에 활용함과 동시에 다양한 생명공학생물상품, 새로운 품종이나 신기능성 작물의 작성 및 개발을 추구함으로써 BT 산업의 국제화와 한국농업의 장기발전에 활용하고자 한다. 식물과학과 미래농업생명공학의 발전을 위하여 유용한 유전자의 분양을 실시하여 국내 연구자에게 활용할 수 있게 할 것이며, 유용유전자의 특허권을 확보하여 고부가가치창출이 가능하도록 식물생명공학에 직접 활용하고자 한다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

SAGE 분석의 주요방법들은 미국 Harvard Medical School의 Dr. Kenneth W. Kinzler 교수와 방문 및 교류를 통하여 SAGE software와 protocol를 전수받았으며, 적절한 방식으로 실험기술을 실시하였다. 그리고 2002년 5월에 개발된 Long SAGE 방법은 version 1.0a를 입수하여 연구에 맞게 변형하여 실험을 수행하였다. 이러한 최근기술의 도입은 기술의 과정을 정확히 익힌 후 문제점을 파악하며 연구의 재료가 맞게 그리고 좀더 개선된 방법으로 개발 할 필요성 있다. 본 연구의 개발과정에서 많은 해외과학기술정보들을 수집하여 활용 할 수 있었다.

감사의 글

본 연구과제 수행에 참여한 영남대학교 생명공학연구소 분자유전학 연구실의 김민경, 한정현, 권효진 연구원들에게 감사를 드립니다. 연구에 많은 도움을 주신 명지대학교 남백희 교수, 김연기 박사에게도 감사를 드립니다.

제 7 장 참고문헌

- Adams, M.D. (1996) Serial Analysis of Gene Expression; ESTs Get Smaller. *Bioessays* (England), Vol. 18, No. 4: 261-2.
- Ali, S.T., A.G.J. Moir, P.R. Ashton, P.C. Engel, and J.R. Guest.(1990) Octanoylation of the lipoyl domains of the pyruvate dehydrogenase complex in lipoyl-deficient strain of *Escherichia coli*. *Mol.Microbiol.*4: 943-950.
- Ali, S.T., and J.R. Guest.(1990) Isolation and characterization of lipoylated and unlipoylated domains of the E2p subunit of the pyruvate dehydrogenase complex of *Escherichia coli*. *Biochem. J.*271: 139-145.
- Alscher, R. G., Donahue, J.L. and Cramer, C.L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiol. Plant.* 100, 224-233.
- Bertelson, A.H. and Velculescu, V.E. (1998) High-throughput Gene Expression Analysis Using SAGE. *Drug Discovery Today*, Vol.3, No. 4: 152-159
- Boutin, J.A. (1997). Myristoylation. *Cell Signal.* 9(1), 15-35
- Chambers, I., Frampton, J., Goldfrab, P., Affara, N., McBain, W., and Harrison, P.R. (1986). The structure of the mouse glutathione peroxidase gene: the selenocysteine in the active site is encoded by the 'termination' codon, TGA. *Embo J* 5(6), 1221-7
- Chaudiere, J., and Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol* 37(9-10), 949-62.
- Chaudiere, J., and Tappel, A.L. (1983). Purification and characterization of selenium-glutathione peroxidase from hamster liver. *Arch Biochem Biophys* 226(2), 448-57
- Chen X.J.(1997) Cloning and characterization of the lipoyl-protein ligase gene *LIPB* from the yeast *Kluyveromyces lactis*: synergistic respiratory deficiency due to mutations in *LIPB* and mitochondrial F1-ATPase subunits. *Mol. Gen. Genet.* 255: 341-349
- Churin, Y., Schilling, S., and Borner, T. (1999). A gene family encoding glutathione peroxidase homologues in *Hordeum vulgare* (barley). *FEBS Lett* 459(1), 33-8.
- Criqui, M. C., Jamet, E., Parmentier, Y., Marbach, J., Durr, A., and Fleck, J. (1992). Isolation and characterization of a plant cDNA showing homology to

- animal glutathione peroxidases. *Plant Mol Biol* 18(3), 623-7.
- De Bodt, S., Raes, J., de Peer, Y.V. and Theien G. (2003). And then there were many; MADS goes genomic. *TRENDS in Plant Science*. 8(10): 475-483
- Depege, N., Drebet, J., and Boyer, N. (1998). Molecular cloning and characterization of tomato cDNAs encoding glutathione peroxidase-like proteins. *Eur J Biochem* 253(2), 445-51.
- Eshdat, Y., Holland, D., Faltin, Z., and BenHayyim, G. (1997). Plant glutathione peroxidases. *Physiol Plant* 100(2) 234-240
- Flohe, L., and Gunzler, W.A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 105, 114-21.
- Freemont P.S. (1993). The RING finger. A novel protein sequence motif related to the zinc finger, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 684: 174- 192
- Fu, L.H., Wang, X.F., Eyal, Y., She, Y.M., Donald, L.J., Standing, K.G., and Ben-Hayyim, G. (2002). A selenoprotein in the plant kingdom. Mass spectrometry confirms that an opal codon (UGA) encodes selenocysteine in *Chlamydomonas reinhardtii* glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 277(29), 25983-91.
- Fujiwara, k., Okamura-Ikeda, K. and Motokawa, Y.(1990) cDNA sequence, *in vitro* synthesis, and intramitochondrial lipoylation of H-protein of glycine cleavage system. *J. Biol. Chem.*265: 17463-17467.
- Fujiwara, k., Okamura-Ikeda, K. and Motokawa, Y.(1992) Expression of mature bovine H-protein of the glycine cleavage system in *Escherichia coli* and *in vitro* lipoylation of the apoform. *J. Biol. Chem.* 267: 20011-20016
- Fujiwara, k., Okamura-Ikeda, K. and Motokawa, Y.(1994) Purification and characterization of lipoyl-AMP:*N*ε-lysine lipoyltransferase from bovine liver mitochondria. *J. Biol. Chem.*269: 16605-16609
- Fujiwara, k., Okamura-Ikeda, K. and Motokawa, Y.(1996) Lipoylation of acyltransferase components of -ketoacid dehydrogenase complexes. *J. Biol. Chem.*271: 12932-13936
- Fujiwara, k., Okamura-Ikeda, K. and Motokawa, Y.(1997) Cloning and expression of a cDNA encoding bovine lipoyltransferase. *J. Biol. Chem.*272: 31974-31978
- Grossmann, A., and Wendel, A. (1989). Non-reactivity of the selenoenzyme glutathione peroxidase with enzymatically hydroperoxidized phospho- lipids. *Eur J Biochem* 135(3), 549-53.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C. (1989) Free Radicals in Biology and

- Medicine. Clarendon Press, Oxford.
- Harushima Y, Yano M, Shomura A, Sato M, Shimano T, Kuboki Y, Yamamoto T, Lin SY, Antonio BA, Parco A, Kajiya H, Huang N, Yamamoto K, Nagamura Y, Kurata N, Khush GS, and Sasaki T. (1998). A high-density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F2 population.. *Genetics*. 148(1): 479-94.
- Harushima, Y., Yano, M., Shomura, A., Sato, M., Shimano, T., Kuboki, Y., Yamamoto, T., Lin, S.Y., Antonio, B.A., Parco, A., Kajiya, H., Huang, N., Yamanoto, K., Nagamura, Y., Kurata, N., Khush, G.S., and Sasaki, T. (1998). A high-density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F2 population. *Genetics* 148(1), 479-94.
- Herbette, S., Lenne, C., Leblanc, N., Julien, J.L., Drebet, J.R., and Roeckel-Drevet, P. (2002). Two GPX-like proteins from *Lycopersicon esculentum* and *Helianthus annuus* are antioxidant enzymes with phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and thioredoxin peroxidase activities. *Eur J Biochem* 269(9), 2414-20.
- Hipps, D., and R.N. Perham.(1992) Expression in *Escherichia coli* of a subgene encoding the lipoyl and peripheral subunit-binding domains of the dihydrolipoamide acetyl transferase component of the pyruvate dehydrogenase complex of *Bacillus stearothermophilus*. *Biochem. J.* 283: 665-671.
- Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y., and Matsui, H. (2001). A large family of class III plant peroxidases. *Plant Cell Physiol* 42(5), 462-8.
- Holland, D., Ben-Hayyim, G., Faltin, Z., Camoin, L., Strosberg, A.D., and Eshdat, Y. (1993). Molecular characterization of salt-stress-associated protein in citrus: protein and cDNA sequence homology to mammalian glutathione peroxidases. *Plant Mol Biol* 21(5), 923-7.
- Hong Y., Maeda Y, Watanabe R, Inoue N, Ohishi K, Kinoshita T. (2000). Requirement of PIG-F and PIG-O for transferring phosphoethanol to the third mannose in glycosylphosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* 275: 20911-20919
- Huang, K., Lauridsen, E., and Clausen, J. (1994). Selenium-containing peroxidases of germinating barley. *Biol Trace Elem Res* 46(1-2), 173-82.
- Johnson, P.R., Cranston, H.J., Chaverra, M.E., and Dyer, W.E. (1995). Characterization of cDNA clones for differentially expressed genes in embryos of dormant and nondormant *Avena fatua* L. caryopses. *Plant Mol Biol* 28(1), 113-22.

- Jordan SW, Cronan JE Jr(2003) The *Escherichia coli* lipB gene encodes lipoyl (octanoyl)-acyl carrier protein:protein transferase. *J Bacteriol.* 185(5):1582-9.
- Jung, B.G., Lee, K.O., Lee, S.S., Chi, Y.H., Jang, H.H., Kang, S.S., Lee, K., Lim, D., Yoon, S.C., Yun, D.J., Inoue, Y., Cho, M., and Lee, S.Y. (2002). A chinese cabbage cDNA with high sequence identity to phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase encodes a novel isoform of thioredoxin-dependent peroxidase. *J Biol Chem* 277(15), 12572-8.
- Kang, H.G., and An, G. (1997). Isolation and characterization of a rice MADS box gene belonging to the *AGL2* gene family. *Mol Cell.* 7: 45-51
- Kang, H.G., Jeon, J.S., Lee, S. and An, G. (1998). Identification of class B and class C floral organ identify genes from rice. *Plant Mol. Biol.* 38: 1021-1029
- Kuroda, H., Sagisada, S., and Chiba, K. (1992). Collapse of peroxide-scavenging systems in apple flower-buds associated with freezing injury. *Plant Cell Physiol.* 33, 743-750.
- Lebine, A., Tenhaken, R., Dixon, R., and Lamb, C. (1994). H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79(4), 583-93.
- Lee, S. et al. (2003). MADS-box genes as a test case. *Plant Cell Physiol.* 44(12): 1403-1411
- Li, W.J., Feng, H., Fan, J.H., Zhang, R.Q., Zhao, N.M., and Liu, J.Y. (2000). Molecular cloning and expression of a phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase homolog in *Oryza sativa*. *Biochim Biophys Acta* 1793(1-2), 225-30.
- Magnuson, K.S., S. Jackowski, C.O. Rock, and J.E. Cronan, Jr.(1993) Regulation of fatty acid biosynthesis in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* 57: 522-542.
- Matsuda N, Suzuki T, Tanaka K, Nakano A. (2001). Rma1, a novel type of RING finger protein conserved from Arabidopsis to human, is a membrane-bound ubiquitin ligase. *J Cell Sci.* 114(10): 1949-57
- Mayer, K., Murphy, G., Tarchini, R., Wambutt, R., Volckaert, G., Pohl, T., Duesterhoeft, A., Stiekema, W., Entian, K. D., Terry, N., Lemcke, K., Haase, D., Hall, C. R., van Dodeweerd, A. M., Tingey, S. V., Mewes, H. W., Bevan, M., and Bancroft, I. (2001). Conservation of microstructure between a sequenced region of the genome of rice and multiple segments of the genome of Arabidopsis thaliana. *Genome Res.* 11 (7): 1167-1174
- McConville M.J., and Ferguson M.A. (1993). The structure, biosynthesis and

- function of glycosylated phosphatidylinositols in the parasitic protozoa and higher eukaryotes. *Biochem J.* 294(2): 305-324.
- Mullineaux, P.M., Karpinski, S., Jimenez, A., Cleary, S.P., Robinson, C., and Creissen, G.P. (1998). Identification of cDNAs encoding plastid-targeted glutathione peroxidase. *Plant J* 13(3), 975-9.
- Nacht, M., Ferguson, A., Zhang, W., Petroziello, J., Cook, B., Gao, Y., Maguire, S., Riley, D., Coppola, G., Landes, G., Madden, S., Sukumar, S. (1999) Combining Serial Analysis of Gene Expression and Array Technologies to Identify Genes Differentially Expressed in Breast Cancer. *Cancer Research*, 59:5464-5470.
- Ohishi K, Kurimoto Y, Inoue N, Endo Y, Takeda J, and Kinoshita T. (1996). Cloning and characterization of the murine GPI anchor synthesis gene Pigf, a homologue of the human PIGF gene. *Genomics*. Jun 15;34(3):340-6
- Prasad, P.D., Wang, H., Kekuda, R., Fujita, T., Fei, Y.J., Devoe, L.D., Leivach, F.H., and Ganapathy, V.(1998) Cloning and functional expression of a cDNA encoding an mammalian sodium-dependent vitamin transporter mediation the uptake of pantothenate, biotin, and lipoate. *J. Biol. Chem.*273: 7501-7506
- Reed, K.E., and J.E. Cronan, Jr.(1993) Lipoic acid metabolism in *Escherichia coli*: sequencing and functional characterization of the *lipA* and *lipB* genes. *J. Bacteriol.*175: 14325-1336.
- Reed, K.E., T. W. Morris, and J.E. Cronan, Jr.(1994) Mutants of *Escherichia coli* K-12 that are resistant to a selenium analog of lipoic acid identify unknown genes in lipoate metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*91: 3720-3724.
- Reed, L.J., F.R. Leach, and M. Koike.(1958) Studies on a lipoic acid activating system. *J. Biol. Chem.*232: 123-142.
- Ren, X., Yang, L., Liu, J., Su, D., You, D., Liu, C., Zhang, K., Luo, G., Mu, Y., Yan, G., and Shen, J. (2001). A novel glutathione peroxidase mimic with antioxidant activity. *Arch Biochem Biophys* 387(2), 250-6.
- RoeckelDrevet, P., Gagne, G., Labrouhe, D.T.d., Dufaure, J.P., Nicolas, P., and Drevet, J.R. (1998). Molecular characterization, organ distribution and stress mediated induction fo two glutathione peroxidase encoding mRNAs in sunflower (*Helianthus annuus*). *Physiol Plant* 103(3), 385-394.
- Sabeh, F., Wright, T., and Norton, S.J. (1993). Purification and characterization fo a glutathione peroxidase from the Aloe vera plant. *Enzyme Protein* 47(2), 92-8.

- Sakata, K., Nagamura, Y., Numa, H., Antonio, B.A., Nagasaki, H., Idounma, A., Watanabe, W., Shimizu, Y., Horiuchi, I., Matsumoto, T., Sasaki, T., and Higo, K. (2002). RiceGAAS: an automated annotation system and database for rice genome sequence. *Nucleic Acids Res* 30(1), 98-102.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, R.(1989) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- Sugimoto, M., and Sakamoto, W. (1997). Putative phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase gene from *Arabidopsis thaliana* induced by oxidative stress. *Genes Genet Syst* 72(5), 311-6.
- Sugimoto, M., Furui, S., and Suzuki, Y. (1997). Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding putative phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase from spinach. *Biosci Biotechnol Biochem* 61(8), 1379-81.
- Sulo, P., and N. Martin.(1993) Isolation and characterization of *LIP5*: a lipoate biosynthetic locus of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*268: 17634-17639.
- Swidzinski, J.A., Sweetlove, L.J., and Leaver, C.J. (2002). A custom microarray analysis of gene expression during programmed cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 30(4), 431-46.
- Timothy W. Morris, Kelynn E. Reed, and John E. Cronan, Jr.(1994) Identification of the Gene Encoding Lipoate-protein Ligase A of *Escherichia coli*: molecular cloning and characterization of the *lplA* gene and gene product. *J. Biol. Chem.* 269(23): 16091-16100.
- Vanden Boom, T.J., K.E. Reed, and J.E. Cronan,Jr.(1991) Lipoic acid metabolism in *Escherichia coli*: isolation of null mutants defective in lipoic acid biosynthesis, molecular cloning and characterization of the E. coli lip locus, and identification of the lipoylated protein of the glycine cleavage system. *J. Bacteriol.* 173: 6412-6420.
- Velculescu, V. (1999) Tantalizing Transcriptomes SAGE and its use in global gene expression analysis. *Science*, 286:1491-1492.
- Velculescu, V., Madden, S., Zhang, L., Lash, A., Yu, J., Wang, C., Lal, A., He, T.C., Hermeking, H., Hwang, P., Rago, C., Zawel, L., Zhou, W., Jen, J., Sukumar, S., Landes, G., Riggins,G., Vogelstein, B., Kinzler, K. (1999) Analysis of human transcriptomes. *Nature Genetics*, Vol. 23:387-388.
- Welinder, K.G. (1991). Bacterial catalase-peroxidases are gene duplicated members of the plant peroxidase superfamily. *Biochim Biophys Acta*

1080(3), 215-20.

White, R.H.(1980) Biosynthesis of lipoic acid: extent of incorporation of deuterated hydroxy- and thiooctanoic acids into lipoic acid. *J. Am. Chem. Soc.*102: 6605-6607.

White, R.H.(1980) Stable isotope studies on the biosynthesis of lipoic acid in *Escherichia coli*. *Biochemistry*.19: 15-19.

Yoshida, I., Sweetman, L., Kulovich, S., Nyhan, W.L. and Rovinson, B.H.(1990) Effect of lipoic acid in patient with defective activity of pyruvate dehydrogenase, 2-oxoglutarate dehydrogenase, and branched-chain keto acid dehydrogenase. *Pediatr. Res.*27: 75-79.

첨부 1. Profiling of the up-regulated genes in either the very early flower or the early seeds.

Name	ID	Log Ratio	SwissProt ID	COG	Predicted function
Os054932_01	B01032115	-3.736			
Os013213_01	A04021124	-3.73			
Os057881_02	B02042417	-3.634			
Os003931_01	A11020408	-3.576			
Os040794_01	B10010925	-3.514			
Os041291_01	B01031008	-2.68			
Os038504_01	B08040801	-2.603			
Os008246_01	A07040722	-2.584			
Os055200_01	B12012124	-2.479			
Os008424_01	A06030803	-2.339			
Os002436_01	A03040224	-2.288			
Os044158_01	B04041213	-2.269			
Os018261_01	A01011603	-2.182	J023013F22_Anter-specific_proline-rich_protein_APG_(Protein_CEX)_ (Fragment)	[RI]	A_Predicted_lipase
Os044853_01	B03041306	-2.173			
Os022625_01	A02041916	-2.147	002-116-A02_(R)-mandelonitrile_lyase_isoform_	[R]	Glucose_dehydrogenase choline_dehydrogenase mandelonitrile_lyase_(GMC_oxidoreductase_family)
Os002581_01	A04020303	-2.145			
Os052114_01	B02041824	-2.137			
Os033360_01	B11010401	-2.104			
Os032271_01	B03020225	-2.065			
Os056874_01	B04022223	-2.017			
Os015684_01	A03011404	-2.015		[V]	A_Harpin-induced_protein_involved_in_plant_hypersensitive_response_and_related_proteins
Os027629_01	A01032323	-2.013			
Os054489_01	B03032101	-2.004			
Os041636_01	B02011022	-1.965			
Os056110_01	B01042212	-1.937			
Os025168_01	A08042117	-1.898	002-149-A07_Putative_serine	[T]	A_Receptor-like_protein_kinase_contains_lectin_domains
Os057266_02	B03042320	-1.889			
Os021603_01	A12011901	-1.888	001-107-F03_Mitogen-activated_protein_kinase_kinase_kinase_4_(EC_2.7.1.-)_ (MAPK)	[T]	MEKK_and_related_serine(threonine_protein_kinases)
Os000169_01	A05010107	-1.851			
Os054959_01	B03042110	-1.843			
Os007254_01	A04040624	-1.84			
Os022600_01	A06041914	-1.814	002-115-D11_Cationic_peroxidase_1_precursor_(EC_1.1.1.1.7)	[]	
Os058212_02	B07042507	-1.808			
Os021480_01	A10041816	-1.786			
Os045727_01	B02041323	-1.776			
Os021705_01	A07011902	-1.76		[O]	Glutaredoxin_and_related_proteins
Os054699_01	B04042103	-1.759		[C]	Mitochondrial_oxoglutarate malate_carrier_proteins
Os009658_01	A07010903	-1.733		[RI]	A_predicted_lipid_transfer_protein
Os017416_01	A06011513	-1.729			
Os018086_01	A10041522	-1.727			
Os058049_02	B06042422	-1.726	J023013F22_Anter-specific_proline-rich_protein_APG_(Protein_CEX)_ (Fragment)	[RI]	A_Predicted_lipase
Os058175_02	B11042501	-1.712	J023042N13_Dehydriin_COR410_(Cold-induced_COR410_protein)		
Os008438_01	A02010805	-1.706	001-023-H05_Replication_protein_A_70_kDa	[L]	Single-stranded_DNA-binding_replication

Os022670_01	A04041920	-1.685		[OR]	A_Predicted_carboxyl-terminal_proteinase_ contains_an_unknown_domain
Os023160_01	A03012006	-1.671	002-127-F08_Cytochrome_B2_precursor_(EC_1.1.2.3)_(L-lactate_dehydrogenase_[Cytochrome]_(L-lactate_fer	[C]	Glycolate_oxidase
Os054912_01	B07032114	-1.668		[M]	A_Expansin
Os017988_01	A03041521	-1.652		[]	
Os009986_01	A10010915	-1.628			
Os023860_01	A02032026	-1.628	002-141-A12_Myb-related_protein_Zm38	[K]	Transcription_factor_Myb_superfamily
Os048556_01	B07031608	-1.624			
Os028054_01	A07032409	-1.61			
Os015273_01	A11011319	-1.609			
Os057491_02	B06042326	-1.597		[X]	A_Unnamed_protein
Os015704_01	A11011406	-1.592			
Os009616_01	A10010908	-1.587	J023105D14_Brassinosteroid-regulated_protein_BRUI	[]	
Os057673_02	B02022407	-1.566		[S]	A_Uncharacterized_protein
Os057824_02	B03042416	-1.561		[OR]	A_Predicted_carboxyl-terminal_proteinase_ contains_an_unknown_domain
Os044460_01	B05021224	-1.558			
Os000102_01	A07010102	-1.556			
Os022641_01	A06041917	-1.556		[R]	FOG:_Transposon-encoded_proteins_with_T YA_reverse_transcriptase_integrase_domains_in_various_combinations
Os009300_01	A09030822	-1.552			
Os052032_02	B01021826	-1.552			
Os057299_02	B02042317	-1.531			
Os010434_01	A03010922	-1.529	001-110-H02_Anter-specific_proline-rich_protein_APG_precursor	[RI]	A_Predicted_lipase
Os054050_01	B02032021	-1.524			
Os051935_01	B01011825	-1.514			
Os021367_01	A03031822	-1.511		[T]	Serine/threonine_protein_kinase
Os007121_01	A01030702	-1.507			
Os054976_01	B03042111	-1.506			
Os029387_01	A02042507	-1.5			
Os009622_01	A08020901	-1.5		[]	
Os047994_01	B04021519	1.501			
Os036348_01	B07030608	1.503			
Os007335_01	A02010706	1.507			
Os000301_01	A08040102	1.51			
Os057614_02	B11022406	1.513	J013001I21_Pyrophosphate--fructose_6-phosphate_1-phosphotransferase_alpha_subunit_(EC_2.7.1.90)_(PPF)_(6-phosphofructokinase_(Pyrophosphate))_(Pyrophosphate-dependent_6-phosphofructose-1-ki	[G]	Pyrophosphate-dependent_phosphofructo-1-kinase
Os057857_01	B12042414	1.514			
Os016739_01	A10011504	1.518			
Os017247_01	A03041506	1.518	J023135E20_ATP_synthase_gamma_chain_mitochondrial_precursor_(EC_3.6.1.34)	[C]	F0F1-type_ATP_synthase_gamma_subunit
Os052124_01	B06021826	1.518	006-204-C06_Germin-like_protein_subfamily_1_member_7_precursor	[V]	A_Germin oxalate_oxidase
Os003543_02	A03020323	1.519	J023081D16_Hypothetical_21.6_kDa_protein_EEED8.12_in_chromosome_II		
Os002731_01	A03030307	1.52			
Os019591_02	A04041702	1.522			
Os019569_01	A05041708	1.525			
Os018056_01	A11041601	1.526		[M]	Chitinase
Os013650_01	A04011211	1.528			
Os002685_01	A04030311	1.531			
Os018097_01	A12021524	1.534			
Os038125_01	B06040719	1.538		[R]	A_Predicted_retrotransposon_gag_protein
Os057540_01	B10012409	1.538			

Os037062_01	B06030702	1.539			
Os041383_01	B07041008	1.542			
Os049049_01	B07041617	1.542			
Os011915_01	A03011101	1.543	J013002N13_Ketol-acid_reductoisomerase,_chloroplast_precursor_(EC_1.1.1.86)(Acetohydroxy-acid_reductoisomerase)(Alpha-keto-beta-hydroxylacid_reductoisomerase)		
Os030097_01	B06040103	1.544			
Os014414_01	A02011302	1.546	J013159L15_ERD1_protein,_chloroplast_precursor	[O]	Chaperone_HSP104_and_related_ATP-dependent_Clp_proteases
Os000151_01	A05010106	1.548			
Os031212_01	B08040125	1.549			
Os022954_01	A10041921	1.551	001-202-H04_CCR4-NOT_transcription_complex_subunit_7_(CCR4-associated_factor_1)(CAF1)	[A]	mRNA_deadenylase_subunit
Os036502_01	B09020614	1.552			
Os027111_01	A12042312	1.553			
Os042266_01	B12021101	1.554			
Os005105_01	A08040504	1.557			
Os013388_01	A03031204	1.561	J013106O15_Cadmium-induced_protein_AS30	[K]	A_AP2_domain_transcription_factor
Os040055_01	B04030910	1.564			
Os007433_02	A11030706	1.565			
Os040412_01	B04040916	1.567			
Os035411_01	B06020512	1.567			
Os018256_01	A02031610	1.571	J013106I02_Aminomethyltransferase,_mitochondrial_precursor_(EC_2.1.2.10)(Glycine_cleavage_system_T_protein)(GCVT)	[E]	Aminomethyl_transferase
Os058105_02	B08032505	1.573			
Os022323_01	A08031914	1.578			
Os040340_01	B04040910	1.579			
Os021894_01	A10041901	1.585			
Os008689_01	A05040810	1.587	001-018-D06_Zeamatin_precursor	[I]	
Os016661_01	A10011423	1.587		[M]	GDP-mannose_pyrophosphorylase manno-1-phosphate_guanylyltransferase
Os029166_01	A03012506	1.589			
Os027822_01	A08042324	1.589			
Os018773_01	A03041614	1.595	J023019E12_Hypothetical_17.1_kDa_protein_in_SIP3-MRPL30_intergenic_region	[O]	E3_ubiquitin_ligase_interacting_with_ar
Os053844_02	B05042012	1.599	J013042P14_Long-chain-fatty-acid--CoA_ligase_4_(EC_6.2.1.3)(Long-chain_acyl-CoA_synthetase_4)(LACS_4)		
Os050712_01	B06031801	1.602			
Os045235_01	B11021315	1.602			
Os038148_01	B06030721	1.605			
Os018807_02	A01021618	1.607			
Os024338_01	A01042101	1.607	002-151-H05_5-methyltetrahydroperoylglutamate--homocysteine_methyltransferase_(EC_2.1.1.14)	[E]	Methionine_synthase_II_(cobalamin-independent)
Os011671_01	A11041022	1.613		[I]	
Os016000_01	A02031414	1.614		[S]	Uncharacterized_conserved_protein
Os042369_01	B08011110	1.616			
Os005173_01	A10030510	1.617			
Os011883_01	A09031024	1.618	J013002J06_6-phosphofructokinase_2_(EC_2.7.1.11)(Phosphofructokinase_2)(Phosphohexokinase_2)		
Os019901_01	A09021713	1.621		[O]	Predicted_E3_ubiquitin_ligase
Os003584_01	A03040326	1.625			
Os051893_01	B08011904	1.625			
Os016899_01	A05021501	1.625	002-147-B08_Nitrate_transporter_(Nitrate_permease)	[P]	A_High_affinity_nitrate_transporter
Os054543_01	B01032106	1.625	J013145C05_Catalase_isozyme_B_(EC_1.11.1.6)(CAT-B)	[P]	Catalase

Os009117_01	A08020815	1.628	006-205-A04_Nonspecific_lipid-transfer_protein_1_precursor_(LTP_1)_(PAPI)	[X]	A_Unnamed_protein
Os037633_01	B03040710	1.63			
Os015453_01	A04041317	1.632		[S]	A_Predicted_auxin-independent_growth_regulator
Os054538_01	B11032106	1.638		[]	
Os003818_02	A03010405	1.643			
Blank	A12012525	1.645			
Os002320_01	A02030304	1.653			
Os024941_01	A08032121	1.658	002-137-G05_Hypothetical_protein_KIAA0210	[R]	GTPase-activating_protein
Os051435_01	B08011815	1.659			
Os055712_01	B03022202	1.661			
Os009921_01	A10010910	1.663	J013058M01_Pyruvate_dehydrogenase_E1_component_alpha_subunit_mitochondrial_precursor_(EC_1.2.4.1)_(PDHE1-A)	[C]	Pyruvate_dehydrogenase_E1_alpha_subunit
Os019775_01	A01031709	1.663	001-200-F05_Homeobox-leucine_zipper_protein_ATHB-5_(HD-ZIP_protein_ATHB-5)	[K]	Transcription_factor_HEX_contains_HOX_and_HALZ_domains
Os058237_01	B12042504	1.667			
Os035454_01	B04020515	1.669			
Os035298_01	B05040509	1.669			
Os020141_01	A01011717	1.672		[E]	ATP_phosphoribosyltransferase
Os037206_01	B01040624	1.682			
Os013019_01	A05011123	1.684	J013084I15_DNA_repair_protein_rhp16_(RAD16_homolog)	[L]	Nucleotide_excision_repair_protein_RAD16
Os032988_01	B07010320	1.685			
Os032194_01	B03030226	1.686			
Os052242_01	B10031909	1.687			
Os042746_01	B02011117	1.688			
Os040329_01	B02020910	1.692			
Os009340_01	A11030825	1.694	J013037C05_Stem-specific_protein_TSJT1		
Os054793_01	B02032111	1.695			
Os036312_01	B10010614	1.695			
Os018337_01	A05011610	1.695	J013026J15_Probable_glutathione_S-transferase_(EC_2.5.1.18)_(Auxin-induced_protein_PCNT103)	[O]	Glutathione_S-transferase
Os012134_01	A02021104	1.696		[Z]	Actin-related_protein_-_Arp4p Act3p
Os011919_01	A07011102	1.699	J013002N22_Glutamate_dehydrogenase_(EC_1.4.1.3)_(GDH)		
Os054994_01	B03022114	1.699			
Os037117_01	B01010625	1.701			
Os028293_01	A04032413	1.702		[L]	CDC45_(cell_division_cycle_45)-like_protein
Os052307_01	B07011908	1.703	J013039L05_Pyruvate_phosphate_dikinase_chloroplast_precursor_(EC_2.7.9.1)_(Pyruvate_orthophosphate_dikinase)		
Os000296_01	A06040101	1.707			
Os002030_01	A11030221	1.708			
Os005444_01	A06040510	1.714			
Os057737_02	B08032417	1.714	J023098M19_Glucose-1-phosphate_adenylyltransferase_large_subunit_1_precursor_(EC_2.7.7.27)_(ADP-glucose_synthase)_(ADP-glucose_pyrophosphorylase)_(AGPASE_S)_(Alpha-D-glucose-1-phosphate_adenylyltransferase)_(Shrunken-2)	[M]	GDP-mannose_pyrophosphorylase mannose-1-phosphate_guanylyltransferase
Os038212_01	B10010802	1.718			
Os006264_01	A12010609	1.719			
Os057036_02	B07042305	1.72	006-301-D04_Developmental_protein_seven_in_absentia	[R]	Zn_finger_protein
Os017420_01	A10011514	1.724		[QV]	A_Terpene_synthase cyclase
Os011652_01	A01041020	1.725			
Os006435_01	A01020608	1.726			
Os005975_01	A07010525	1.733			

Os027615_01	A05012323	1.848			
Os046815_01	B10041417	1.85			
Os033154_01	B08020318	1.856			
Os007986_01	A06020716	1.86			
Os046034_01	B04041325	1.863			
Os017303_01	A09021512	1.869		[X]	A_Unnamed_protein
Os014046_01	A02031220	1.873	J013149G03_Glucose-6-phosphate_isomerase_cyto solic_B_(GPI-B)_(EC_5.3.1.9)_(Phosphoglucose_iso merase_B)_(PGI-B)_(Phosphohexose_isomerase_B)_(PHI-B)	[G]	Glucose-6-phosphate_isomerase
Os052399_01	B07021908	1.876			
STR-ALIEN-2	B06022517	1.878			
Os002011_01	A03030219	1.88			
Os033572_01	B04040402	1.88			
Os056136_01	B02022207	1.884			
Os045298_01	B04041311	1.888			
Os049893_01	B06021707	1.891			
Blank	B03022603	1.895			
Os005968_01	A12030606	1.907			
Os002376_01	A07010302	1.918			
Os019916_01	A03041713	1.918		[C]	NAD-dependent_malate_dehydrogenase
Os002169_01	A08040217	1.925			
Blank	A06042616	1.928			
Os005128_01	A10040506	1.929			
Os023000_01	A12041925	1.932	002-125-D05_Retrotransposable_element_TF2_155 _kDa_protein	[R]	FOG-Transposon-encoded_proteins_with _TYA_reverse_transcriptase_integrase_d omains_in_various_combinations
Os056910_02	B02042226	1.934	006-302-E04_Chlorophyll_A-B_binding_protein_4_p recursor_(LHCI_type_III_CAB-4)_(LHCP)	[C]	A_Chlorophyll_A B_binding_protein
Os026132_01	A11012219	1.936		[X]	A_Unnamed_protein
Os050879_01	B03041725	1.937			
Os005953_01	A06010605	1.94			
Os044897_01	B10041302	1.948			
Os023014_01	A08022001	1.948	002-125-F03_Flavonol_3-O-glucosyltransferase_(E C_2.4.1.91)_(UDP-glucose_flavonoid_3-O-glucosylt ransferase)_(Bronze-1)_(BZ-MCC_allele)	[GC]	UDP-glucuronosyl_and_UDP-glucosyl_t ransferase
Os035911_01	B04010604	1.949			
Os051889_01	B04011903	1.951			
Os054645_01	B09022108	1.956			
Os016442_01	A11031420	1.958	J023098M19_Glucose-1-phosphate_adenylyltransfe rase_large_subunit_1_precursor_(EC_2.7.7.27)_(ADP -glucose_synthase)_(ADP-glucose_pyrophosphoryla se)_(AGPASE_S)_(Alpha-D-glucose-1-phosphate_a denyl_transferase)_(Shrunken-2)	[M]	GDP-mannose_pyrophosphorylase manno se-1-phosphate_guanylyltransferase
Os054558_01	B05032107	1.962			
Os011976_01	A11041024	1.963	J023113D18_Dynein_alpha_chain_flagellar_outer_ar m_(DHC_alpha)	[T]	A_LOV_kelch_protein_involved_in_circadi an_clock_mechanism
Os024775_01	A07022116	1.969	006-301-C08_Chlorophyll_A-B_binding_protein_of_ LHCI_type_III_precursor_(CAB)	[C]	A_Chlorophyll_A B_binding_protein
Os021035_01	A03041810	1.972			
Os005952_01	A08010605	1.981			
Os031301_01	B08010208	1.986			
Os027665_01	A01012401	1.99			
Os041218_01	B06031010	1.992			
Os051306_01	B05041811	1.995			
Os014328_01	A08041220	2.005	J013157H23_Protein_PTM1_precursor		
Os005631_01	A09010519	2.007			
Os009338_01	A03010826	2.008			
Os002114_01	A05020221	2.009			
Os032279_01	B11040225	2.011	006-301-C12_Chlorophyll_A-B_binding_protein_pre cursor_(LHCI_type_I_CAB)_(LHCP)	[C]	A_Chlorophyll_A B_binding_protein

Os002371_01	A05010301	2.019			
Os027666_01	A11012402	2.019	002-126-F01_Seed_allergenic_protein_RAG2_precursor		
Os031591_01	B10040207	2.022			
Blank	B01032614	2.023			
Os021780_01	A09041825	2.042	001-126-A05_Hypothetical_62.8_kDa_protein_in_TAF145-YOR1_intergenic_region	[L]	3'-5' exonuclease
Os041885_01	B02041018	2.067			
Blank	B06022614	2.073			
Os018280_01	A11011605	2.073	J013000J11_Galactose-proton_symporter_(Galactose_transporter)	[R]	Predicted_transporter_(major_facilitator_superfamily)
Os023833_01	A08032024	2.088			
Os054421_01	B10032104	2.092	002-111-A06_Glutelin_type-A_III_precursor	[W]	A_12S_cruciferin_seed_storage_protein vicilin-like_seed_storage_protein
Os029315_01	A02042501	2.096			
Os043904_01	B02031216	2.096			
Os050932_01	B05041804	2.102		[]	
Os000972_01	A09040120	2.108			
Os033793_01	B11020406	2.112			
Os054998_01	B07042113	2.12			
Os053700_01	B06012016	2.124			
Os051263_01	B07041808	2.135			
Blank	A03042620	2.136			
Os005294_01	A01010513	2.157			
Os056136_02	B12022208	2.157			
Os018245_01	A12031609	2.163			
Os022725_01	A08011926	2.172		[YUJ]	Nuclear_mRNA_export_factor_receptor_LOS1 Exportin-t_(importin_beta_superfamily)
Os023026_01	A08042001	2.19			
Os036525_01	B10020608	2.193			
Os050655_01	B02021723	2.209			
Os023974_01	A07042020	2.212	002-142-G03_WD-40_repeat_protein_MSI1	[B]	Nucleosome_remodeling_factor_subunit_CAF1 NURF55 MSI1
Os051897_01	B10031903	2.244			
Os005954_01	A04010605	2.259			
Os009835_01	A06040901	2.272			
Os014748_01	A10041305	2.276			
Os012261_01	A05031106	2.287	J013041123_Hypothetical_41.0_kDa_protein_in_NUCB-AROD_intergenic_region		
Os027709_01	A07022323	2.291			
Os047874_01	B05021517	2.291			
Os026801_01	A02032309	2.312			
Os032997_01	B01030319	2.315			
Os022977_01	A12041923	2.326	002-125-A07_Protein_Z_(Z4)_Major_endosperm_albumin	[V]	Serpin
Os046518_01	B10011417	2.327			
Os010535_01	A01040921	2.327	001-112-F08_Barwin	[R]	Predicted_chitinase
Os023013_01	A10022001	2.343	002-125-F02_Glutelin_precursor	[W]	A_12S_cruciferin_seed_storage_protein vicilin-like_seed_storage_protein
Os031617_01	B06040209	2.353			
Os005956_01	A12010606	2.354			
Os049294_01	B03031622	2.357			
Os054371_01	B04042025	2.414			
Os051892_01	B10011904	2.43			
Os044717_01	B01011303	2.436			
Os044716_01	B03011303	2.455			
Os011255_01	A11041010	2.512		[A]	RNA-directed_RNA_polymerase_QDE-1_required_for_posttranscriptional_gene_silencing_and_RNA_interference
Os051893_02	B06011904	2.514			
Os013945_01	A04041211	2.557		[]	
Os052398_01	B09021908	2.558			
Os036964_01	B12040620	2.649			
Os006571_01	A04020612	2.661			
Os051887_01	B08011903	2.687			

Os039341_01	B08030824	2.733			
Os045518_01	B03031322	2.739			
Os054365_01	B04022026	2.743		[I]	
Os058324_02	B09012511	2.757	001-042-B11_Catalase_isozyme_A_(EC_1.11.1.6)_(CAT-A)	[P]	Catalase
Os002159_01	A06020217	2.788			
Os002590_01	A10040303	2.798			
Os054366_01	B02022026	2.811	J013156H12_Ribulose_bisphosphate_carboxylase_s mall_chain_A_chloroplast_precursor_(EC_4.1.1.39)_(RuBisCO_small_subunit_A)	[X]	A_Unnamed_protein
Os025656_01	A04012210	2.823			
Os014071_01	A12011223	2.854	J023042N11_Ribulose_bisphosphate_carboxylase_s mall_chain_C_chloroplast_precursor_(EC_4.1.1.39)_(RuBisCO_small_subunit_C)	[X]	A_Unnamed_protein
Os009124_01	A06020816	2.87	006-205-C07_Nonspecific_lipid-transfer_protein_2_ precursor_(LTP_2)	[I]	A_Lipid_transfer_protein_type_1
Os053504_01	B01042006	2.889			
Os024242_01	A11032101	2.928			
Os057480_02	B02042324	2.947			
Os014555_01	A05011306	2.957	J013170H02_1,4-alpha-glucan_branching_enzyme_(EC_2.4.1.18)_(<i>Starch_branching_enzyme</i> _(Q-enzym e))	[G]	1,4-alpha-glucan_branching_enzyme star ch_branching_enzyme_II
Os054571_01	B01022101	3.052	001-108-B05_Germin-like_protein_subfamily_1_me mber_14_precursor	[V]	A_Germin oxalate_oxidase
Os054376_01	B06042026	3.085	002-126-D11_Glutelin_type_II_precursor	[W]	A_12S_cruciferin_seed_storage_protein vi cilin-like_seed_storage_protein
Os047427_01	B09011512	3.095			
Os006570_01	A06020612	3.301			
Os003266_01	A06040314	3.315			
Os054379_01	B10012101	3.612	002-125-H12_Glutelin_type-A_III_precursor	[W]	A_12S_cruciferin_seed_storage_protein vi cilin-like_seed_storage_protein
Os023116_01	A02012010	3.66			
Os027136_01	A08032314	3.661	J023104B18_Major_pollen_allergen_Bet_v_1-D		
Os054361_01	B12022026	3.706			
Os004928_01	A03010505	3.746			
Os047889_01	B11041518	3.84			
Os051891_01	B12011904	3.878			
Os054570_01	B03022101	3.897	J023104B18_Major_pollen_allergen_Bet_v_1-D		
Os005955_01	A02010605	3.985			
Os055412_01	B02022118	4.118			
Os054370_01	B06042025	4.4			
Os054360_01	B02022025	4.663			
Os036926_01	B04020617	5.431			
Os033808_01	B05040406	5.661			
B: A로 시작되는 것은 A slide, B로 시작하는 것은 B slide.					
C: Block-by-Block Lowess Normalization 값. Lowess M Log Ratio (I) (F635 Median, F532 Median)					
D: SwissProtID					
E: Analysis of Clusters of Orthologous Groups of proteins (COGs)					
F: COG ID, Putative function					

첨부 .2 Rice cDNA clones

과제명 : SAGE를 사용한 벼(Oryza sativa L.) 유전자 전사체 분석 및 유용유전자 탐색

과제번호 : CG1213 SAGE를 사용한 벼(Oryza sativa L.) 유전자 전사체 분석 및 유용 유전자 대량 탐색

소속및 부서명 : 영남대학교 생명공학부

연구책임자 : 강상구

Vector : Plasmid pBluescript II SK(-)

CloneName:RAP3

Size: 1453 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsEIF3

Sequence Specification: putative translation initiation factor eIF3 [Oryza sativa]

Protein: translation initiation factor eIF3

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar)

Sequencing Date: 2002/11/27

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh, Hae-kyong Jeong, Min-Kyeong Kim

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan, Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP3 OsEIF3 tmpseq_0 1453 bp linear 27-NOV-2002

DEFINITION putative translation initiation factor eIF3 [Oryza sativa]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oryza sativa.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1453

CDS 32..1273,32..1273

/note="predicted coding region"

/translation="MREQIPFANFTKLSFSVADQPEDLLLCGAVEYYDRAFDRVNPKA

ARRLERFKSRNFFKVTITDDPVIRRLAEEDKATVFATDAILAALMCTPRSIHSDIVV

QRVGNKLEFFDKRDGSQLDLLSVNETAQEQLPENKDDINSAHSLAVEATYINQNSQQV

LLRDGEKVTFDEPNPFASEGEEAASVGYRYYRRWKLDDAISIVARCEVHAVNADPGGGR

QFLTALNEFDPKITGVDWRQKLETQRGAVLATELKNANKLARWTCQALLAGADM

KLGYVSRVHPRDHYNHAILTVMGYKPRDFATQINLNTSNMGLVKSIVDICKMFEQK

YVLVKDPAKPQVRIYEVPSDAFENDYVEEPLPEEQVRPPSDDVDATAEEMDAAAEAE

ANNAASAGGEGEKSAEAAAA"

BASE COUNT 337 a 386 c 386 g 344 t

ORIGIN

1 gtcctccgtc gacatccagc ccgactggac catgcgtgag cagatcccct tcgccaactt
 61 taccaagctc tccttctccg tcgccgacca gcccgaggac ctctcttctg gcggcgccgt
 121 cgagtactac gaccgcgcct tcgatcgcgt caaccccaag gccgcacgcc gcctcgagcg
 181 cttcaagtct cgcaacttct tcaaggtcac caccaccgac gaccctgtca tccgccgcct
 241 ggctgaggag gacaaggcca cgggtgttcg caccgacgcc atcctcgccg cgcttatgtg
 301 cacaccccg cagcatccact cgtgggacat cgtcgtgcag cgcgctcgca acaagctctt
 361 ctttgacaag cgtgatggtt cccagctcga tctgctatct gtcaacgaga ccgcgcagga
 421 gcagctccca gaaaacaagg atgatatcaa ctccgcgcac tccctggctg tcgaggctac
 481 ctacatcaac cagaacttct cgcagcaggt gcttcttcgc gatgggtgaga aggttacctt
 541 tgatgagcct aacccgtttg cttctgaggg cgaggaggca gcatctgttg gctaccgcta
 601 ccgccgctgg aagctggatg atgagatcag cattgttgct cgctgtgaag tgcattgctg
 661 gaatgctgat ccaggtggtg gtcgtcagtt ccttactctc aatgcgctca atgagtttga
 721 tcctaagatt actggtggtg actggaggca gaagcttgag acacagcgtg gggctgtgct
 781 cgctacagag ctcaagaaca atgccaaca acttgctcgc tggacttgcc aggccttctg
 841 tgctggtgct gacatgatga agttgggata tgtgtcacgt gtgcaccccc gtgatcacta
 901 caacctagcc atactcactg ttatgggata caagccaagg gattttgcta cacagatcaa
 961 cctcaacaca tcaaacatgt ggggaattgt caagtcgac gtggacatct gcatgaagtt
 1021 tgaggaggga aagtatgtgc ttgtaaaaga tccagcgaag ccacaagtga ggatctatga
 1081 ggtgccttct gatgcatttg agaatgacta tgtggaagag ccaactccgg aggaggaaca
 1141 ggctcggccg ccatcagatg atgttgatgc taccgcgag gaaatggatg cagcggcaga
 1201 ggctgaggcg aacaatgcag cagcttctgc aggtggtgag ggcgagaaga gcgcagaagc
 1261 tgctgcccgt tgaagggctc ctctcaggt tgccagctag atcctttttg gtttaattat
 1321 ctgtttttat ggtttacatt taagagttga actgcctgtt atcgatacag tggcttctgt
 1381 tggctgatga taaaactggt ctgtttttca tcttaaagat gctaagttgc ccgctcaaaa
 1441 aaaaaaaaaa aaa

CloneName:RAP04

Size: 940 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: *OsRPL13*

Sequence Specification: putative 60S ribosomal protein 13

Protein: putative 60S ribosomal protein 13; putative cold-induced protein

Organism: *Oryza Sativa* L. Japonica cultivar group

Date: 2002/09/25

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr; Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP4tmpseq_0 940 bp linear 28-OCT-2002
 DEFINITION putative 60S ribosomal protein 13
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE Unknown.
 ORGANISM *Oryza sativa*.
 Unclassified.
 FEATURES Location/Qualifiers

```

source          1..940
CDS             75..701,75..701
               /note="predicted coding region"
               /translation="MVKHNNVIPNGHFKKHWQNYVKTWFNQPARKQRRRIARQKKAVK
               IFPRPTSGPLRPVQCQTLKYNMKS RAGRGFTLEELKAAGIPKKYAPTIGISVDHRRK
               NRSLEGLQANVQRLKTYKAKLVIFPRRARKVKAGDSTAEELATATQVQGDYMPIARGE
               KRSVEVVKVTDEMKAFAKAYAKLRVERMNQRHVGARQKRAAEAEKEEKK"
BASE COUNT     275 a   230 c   236 g   199 t
ORIGIN
    1 tcccaccttc cgccgccgcc gccgtcgtc tcctcttcgc tccgccgcgc aggtaagaag
   61 gagaggagga gaaaatggtg aagcacaaca acgttatccc caatggccac ttcaagaagc
  121 actggcagaa ctatgtcaag acatggttca accagcccgc ccgcaagcag aggcgccgca
  181 ttgctcgcca gaagaaggct gtgaagatct tccccgcccc aacatctggc cctcttcgac
  241 ccattgttca gtgccaaact ttgaagtaca acatgaagtc gagggctggg agaggcttta
  301 cccctgagga gctgaaggct gcgggcatcc ccaagaagta tgctccaacc attggaattt
  361 ccgtaggata cgcgcccaag aaccgctcac ttgagggact ccaggctaata gtccagaggc
  421 tcaagacata caaggccaag ctggttatct tcccaaggcg tgctcgcaag gtcaaggctg
  481 gtgattccac tgccgagga cttgccactg ccaccaggt ccagggtgac tacatgccta
  541 ttgctcgtgg tgagaagcgc tcagttgagg ttgtgaaggt caccgatgag atgaaggcgt
  601 tcaaggccta tgctaagctc cgtgttgaga ggatgaacca gcgccatgtt ggtgcccgcc
  661 agaagagggc tgctgaggca gagaaggaag agaagaagtg aagtgaccgg acatagtata
  721 tgttttgtta tattcagcag ctagtggatg ctatcagga ctaaatctaa attttgtttt
  781 tgtgctgtaa atagagacca gcttatcatt ttggtgtcat catacccctt ctgtttgata
  841 tctgtactg atttgcacg tctgtatcg aatgaaattc catccaaaaa aaaaaaaaaa
  901 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

CloneName:RAP7

Size: 2692 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: RAP7 Unknown

Sequence Specification: unknown

Protein: unknown

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar)

Sequencing Date: 2002/10/14

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

```

LOCUS   RAP7      tmpseq_0                2692 bp          linear          14-OCT-2002
DEFINITION   No definition line found.
ACCESSION   tmpseq_0
SOURCE      Unknown.
ORGANISM    Oryza sativa.
            Unclassified.
FEATURES    Location/Qualifiers

```

```

source      1..2692
CDS         59..2164,59..2164
           /note="predicted coding region"
           /translation="MAAPPGRGGADGYCDLPDVRELELDPGKVRGGGGGFTVCFWLYLS
SSARPSSVILHQVAEGGGDKVPFLALGEGNKLILFPLLGFHREAPTDPSSYPWTDITN
LTEVNECPLDNWFHVGCEVTENIMRLHIDGDLVAETHLSLYNEPDYQDDANQINLLG
SEDKLEGYVYNMELSCMLGNIQQQFAKNPPFKLSIDYSCSDGIEEGDDGIWNIVGGKA
SCRRNFILEVILVDAFGAAKDREIVASLVYADNGALVEKSRDDSEPLLISCDGIEY
PAVSRPLPIIRGRALFKLKISQLSSKCDNKLFRIFSTLGMKRYTFLEAYSKPIRCIS
RNRTSRPLGSAKRIGSASMDDIKSINNCEGFGHSGKANGRLQTHDPSSVVCFHPSKFS
KIEDDVQKTSSQNKHAKKMVLDKGAQDVMVSDSTASDYDSMDAGSSWSLSDGDDVESF
SDAEIFRYCLDGTHERSKFLRAAAPSVNEDDLIKLANQVSLYSGCTHHRNQILISKQL
LQEGADIWSIISKNNERALWSSAVPEMKAKFLEIVHPSNRGLSEQDFEVLRIAGCGD
DIGRDEFDKLWSWLYPVAIALSKDKINRLWDFTAHRWIEGLITLQETENALRSSRDL
MKPGTFVLRFPTRSWPHPDAGSLVVVTVGSDNSIHHRLSLDVSDAKSGNLEDLLK
EPELSQLGRVDRLPSSMQS"

```

```

BASE COUNT      783 a      555 c      633 g      721 t

```

ORIGIN

```

   1 aagcggcaca aaaccctcgc cacctccgac ctcccggagc gggcgcccc gcccgccgat
  61 gggcgccgcg ccgggacgcg gcgagccga cgggtactgc gacctccctg acgtgaggct
121 cgagttggac ccgggtaagg tcagaggcgg cggaggtggg tttaccgtct gcttctggct
181 ctacctctcc agctccgcga ggccttcctc tgtcatcctc catcaggtag cgaagaggg
241 tggcgacaag gtgccatttc ttgattggg tgaaggaat aaactgattc tcttcccatt
301 gctggggttt cacaggaag ccctactcc tgatagttct taccatgga ctgacataac
361 caatctaact gaagttaatg agtgtcccct tgacaattgg ttccatgctg ggtgtgagg
421 taccgaaaac attatgcgtc ttcatttga tggcgaccta gttgctgaa ctcattctca
481 ttcgctgtac aacgaaccag actatcagga tgatgcaaac caaattaact tactaggaag
541 cgaggacaag ctcgaaggat atgtatataa catggagttg tcatgtatgc taggaaacat
601 acaacaacaa tttgcaaaga acccaccatt taaattatct attgactact catgctctga
661 tggaatcgaa gaggtgatg atggtatttg gaatatttg ggtgggaagg cctcttgcg
721 gaggaacttc attttgaag ttatactagt agatgcattt ggtgaagcag caaaggatag
781 agagatcggt gcttactcgc tctatgctga caatggagcg ttagttgaa aatcaagaga
841 tgattcagaa cctcctttgc taattagttg tgatggaatt gaataccag ctgtaagcag
901 gcctctacca attattcgtg ggcgtgcaact atttaaactc aagatttctc agctatcttc
961 taaatgcgac aataagctct tccgtatttt tttctctaca cttggcatga aaagatatac
1021 ttttttgtag gcgatttcca aacctattcg ttgtatatct cgaaaccgca ccagccgccc
1081 attgggttct gcaaagcggg taggctctgc atcaatggat gatattaaat caatcaataa
1141 ttgtgaaggg tttggtcaca gtggaaaagc aaatggctcg ttgcagacac acgacccaag
1201 ttcagtggta tgtttccatc catccaagtt ttccaagata gaagatgatg tacagaaaac
1261 atcatcacag aataaacatg caaaaaagat ggtgctagac aaaggagcac aggatgtcat
1321 ggtgtctgat tctacagcat cagattacga cagcatggat gcaggaagtt cttggagttt
1381 atcagatgga gatgatgttg aatccttttc ggacgctgag attttcagat attgtttaga
1441 tggtagacat gagcgtgcaa agtttctcag agctgcagct ccttctgtta acgaagatga
1501 cttgataaaa cttgcaaact aggtctcttt gtatagtgga tgcaccatc acagaaacca
1561 aatattaata tcaaagcaac tgctccaaga ggggtgctgac atttggagta taatctcaaa
1621 gaacaatgaa cgtgctcttt ggtcatctgc agttcctgaa atgaaagcaa aatttttgga
1681 aatagtccat ccttccaaca ggggtttgtc ggagcaggat tttgaggttt taagaggaat
1741 tgctggttgt ggtgatgaca ttggaagaga cgagtttgat aagctatggt cctggttata
1801 cccagttgcc attgctttgt caaaagacaa aataaacagg ctatgggatt tcacagcaca
1861 tagatggata gagggattga ttacattaca ggaaactgag aatgcgctaa gaagtccag
1921 ggaccgctt atgaagccag gaacatttgt ccttagattt cctactacce gaagctggcc

```

1981 acatccagat gccggtagcc tggttgttac ctatggtgac tccgataact caattcatca
 2041 tagacttttg tctcttgatg tcaagtgatgc taagtctggc aacctagaag atttgttgct
 2101 gaaggagcct gaattgtccc agctaggaag ggttgatcgc ctgccatcct ctatgcagag
 2161 ctaagaaaag aatggattg tggctcaca tatgagagcc aacaccagca actcgaaggt
 2221 cactactaac cagaactctg aatacaacaa ccagttgcat gttggtgaa ctttttaggc
 2281 tgtagccatg tacagtttgt atgtaaatct agcgctttag ggaatagat gatagataat
 2341 ataggctagc agtgaacatg tagccatgta cattatagtt gtattgggtc tggtccttt
 2401 gctggggttt tgcctctctc accagtctca tccgaaattt tagttcaaat tctaggccca
 2461 catatgtgaa tggacctgaa ttgtggctca tccaaccaag gcatgtagtg ggagcccatc
 2521 aaagcaaagg aagctccggg gattttgtag cgaattatca aaattcaaag gccgcatcat
 2581 gatgtattgc tgcaaaaata tccaacaga ttgccatgac tcaacttacc aagagacctt
 2641 actgttctga attagcaaac cataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa

CloneName:RAP12

Size: 1793 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsGBSS

Sequence Specification: *Oryza sativa* granule-bond starch syntase

Protein: granule-bond starch syntase (rice waxy protein)

Organism: *Oryza Sativa* L. Japonica cultivar group

Date: 2002/09/25

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP12 tmpseq_0 1793 bp linear
 25-SEP-2002
 DEFINITION OsGBSS (granule-bond starch syntase)
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE cDNA
 ORGANISM *Oryza sativa*
 Unclassified.
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..1793
 CDS 39..1535,39..1535
 /note="predicted coding region"
 /translation="MAANGHRVMVISPRYDQYKDAWDTSVVAEIKVADRYERVRFFHC
 YKRGVDRVDFIDHPSFLEKVVWGTGEKIYGPDTGVDYKDNQMRFSLLCQAALAPRILN
 LNNNPYFKGTYGEDVVFCNDWHTGPLASYLKNNYQPNGIYRNAKVAFCIHNISYQGR
 FAFEDYPELNLSEFRSFDYDIDYDTPVEGRKINWMMKAGILEADRVLTVSPYYAEE
 ISGIARGCELDNIMRLTGTITGIVNGMDVSEWDPSKDKYITAKYDATTAEAKALNKEA
 LQAEAGLPVDRKIPLIAFIGRLEEQKGPDMMAAIPELMQEDVQIVLLGTGKKKFEKL
 LKSMEEKYPGKVRVAVVKNAPLAHLIMAGADVLAVPSRFEPCLIQGMRYGTPCAC
 ASTGGLVDTVIEGKTGFHMGRLSVDCKVVEPSDVKKVAATLKRAIKVVGTPAYEEMVR

NCMNQDLSWKGPKNWENVLGLGVAGSAPGIEGDEIAPLAKENVAAP"

BASE COUNT 436 a 452 c 535 g 370 t

ORIGIN

```

1 gcggcctcgg tgacgtcctc ggtggcctcc ccctgccat ggctgcgaat ggccacaggg
61 tcatggtgat ctctcctcgg tacgaccagt acaaggacgc ttgggatacc agcgttggtg
121 ctgagatcaa ggttcagac aggtacgaga ggtgaggtt ttccattgc tacaagcgtg
181 gagtcgaccg tgtgttcate gaccatccgt cattcctgga gaaggtttg ggaaagaccg
241 gtgagaagat ctacggacct gacactggag ttgattaca agacaaccag atgcgtttca
301 gccttctttg ccaggcagca ctcgaggctc ctaggatcct aaacctcaac aacaacccat
361 acttcaaagg aacttatggt gaggatgtg tgttcgtctg caacgactgg cacactggcc
421 cactggcgag ctacctgaag aacaactacc agcccaatgg catctacagg aatgcaaagg
481 ttgctttctg catccacaac atctcctacc agggccgttt cgctttcgag gattaccctg
541 agctgaacct ctccgagagg ttcaggtcac ccttcgattt catcgacggg tatgacacgc
601 cgggtggagg caggaagatc aactggatga aggccggaat cctggaagcc gacaggggtg
661 tcaccgtgag cccgtactac gccgaggagc tcatctccgg catcgccagg ggatgcgagc
721 tcgacaacat catgcggctc accggcatca ccggcatcgt caacggcatg gacgtcagcg
781 agtgggatec tagcaaggac aagtacatca ccgccaagta cgacgcaacc acggcaatcg
841 aggcgaaggc gctgaacaag gaggcgttgc aggcggaggc ggttcttccg gtcgacagga
901 aaatcccact gatcgcgttc atcggcaggc tggaggaaca gaagggccct gacgtcatgg
961 ccgccgccat cccggagctc atgcaggagg acgtccagat cgttcttctg ggtactggaa
1021 agaagaagtt cgagaagctg ctcaagagca tggaggagaa gtatccgggc aaggtagggg
1081 ccgtggtgaa gttcaacgcg ccgcttgctc atctcatcat ggccggagcc gacgtgctcg
1141 ccgtcccag ccgcttogag ccctgtggac tcatccagct gcaggggatg agatacggaa
1201 gcacctgtgc ttgcgcgtcc accggtgggc tcgtggacac ggtcatcgaa gcaagactg
1261 gtttcacat gggccgtctc agcgtcgact gcaagtggtt ggagccaagc gacgtgaaga
1321 agtgggcgcc caccetgaag cgcgccatca aggtcgtcgg cacgccggcg tacgaggaga
1381 tggtcaggaa ctgcataaac caggacctc cctggaaggg gcctgcaag aactgggaga
1441 atgtgctcct gggcctgggc gtcgccggca gcgcgccggg gatcgaaggc gacgagatcg
1501 gcgcgctcgc caaggagaac gtgggtgctc cttgaagagc ctgagatcta catatggagt
1561 gattaattaa tatagcagta tatggatgag agacgaatga accagtgggt tgtttgtgtg
1621 agtgaatttg tagctatagc caattatata ggctaataag tttgatgttg tactcttctg
1681 ggtgtgctta agtatcttat cggaccctga atttatgtgt gtggcttatt gccataata
1741 ttaagtaata aagggtttat tatattatta tataaaaaaa aaaaaaaaaa aaa

```

CloneName:RAP15

Size: 873 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsUBC

Sequence Specification: Putative ubiquitin-conjugating enzyme

Protein:ubiquitin-conjugating enzyme

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Complete Sequencing Date: 2002/09/25

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP15 OsUBCtmpseq_0 837 bp linear 30-MAR-2003

DEFINITION No definition line found.

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oryza sativa.
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..837
CDS 66..548,66..548
/note="predicted coding region"
/translation="MSGGIARGRLAERKAWRKNHPHGFVAKPETLADGTVNLMIWHC
TIPGKQGTDWEGGYFPLTLHFSEDYPSKFPKCKFPQGFHFPNVYPSGTVCLSILNEDS
GWRPAITVKQILVGIQDLLDQPNFADPAQTDGYHLFIQDPTFYKRRVRLQAKQYPPIV
"

BASE COUNT 223 a 209 c 206 g 199 t

ORIGIN

```
1 ccccaccca ccaaacccc caccgccgga gagaaggagg agacgccgcc gccgccgccg
61 cagccatgtc ggggggaatc gcgcgcgcc gcctcgcgga ggagcggaag gcgtggcgga
121 agaaccacc acacggtttc gtcgccaagc cggagacggt ggccgacggg acggtcaacc
181 tcatgatctg gcactgcaca atccccgca agcaaggac tgattgggaa ggtggatact
241 ttctctcac tttcatttc agtgaggatt accctagcaa acctccaag tgcaagtcc
301 cacagggttt cttccacca aatgtctatc cttcaggac agtctgcctt tcaattctta
361 atgaagacag cggttgaga cctgctatta ccgtcaagca aattcttggt ggaatccagg
421 acttgcttga tcagcctaata cctgctgata ctgctcagac cgatggttac catcttttta
481 tccaggatcc tacggaatac aagaggcgtg ttcggctgca ggccaagcag taccctccga
541 ttgtctgaga atattggcat agggacccat gctgcacatt cgcttagttc ttgctagatc
601 taaaatgagt gcctctgcaa atatggatta gacaaaata tgacctgaa aaagggtgct
661 ttcggagttt gagaagtatt atcatcgttg tggactaatg tcttgtgaga tccgtcttgg
721 atgtaaacgg tttcttaac tgtgatttt caaccgtttg agtgcctgct ttatgggata
781 atgtcaaaca ttggtttggc aggcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa
```

CloneName:RAP18

Size: 1544 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsGALK

Sequence Specification: putative galactokinase [Oryza sativa]

Protein: putative galactokinase

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/10/21

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP18 tmpseq_0 1544 bp linear 21-OCT-2002

DEFINITION putative galactokinase

ACCESSION tmpseq_0

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oryza sativa.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1544

CDS 74..1177,32..1177

/note="predicted coding region"

/translation="MTINYGVLLGFVASDDAEISLQSGQFEGVIRFRVDDLQKPIENP

ENINWESYARGAVYALQNFYDLKKGIIGYISGVKGLDSSGLSSAAVGIAYLMALEN

VNDLVVSPVDNIQLDKSIENKYLGLENGILDPSAILLSRYGYLTFMCKTATHSYVYF

SVLSKSQQCQGELPFKILLAFSGLQHNLPKSGYNTRVFECKEAAARALLCASGCEDAS

SILRNVNPAIYEAQKCILENLARRAEHYFSEMKRVVKGRDAWARGDLREFGQLISAS

GRSSILNYECGSKEMIQLYEILLKAPGVLGARFSGAGFRGCCLAVVESGHAEAAAAFPV

RAEYEKAQPELVSKIPPGRRLVCEPGDGARVI"

BASE COUNT 369 a 354 c 437 g 384 t

ORIGIN

```
1 ggtggtgct tgcccctaca ggattgccc tctggggct cacatcgatc atcagggtgg
61 aactgtcaca gctatgacca ttaattatgg tgtacttctc ggttttgagg cctctgatga
121 tgccgagatt tcaactcaat ctggtcaatt cgaagggtg atacgattca gattgatga
181 ctgcaaaaag ccattgaaa acccagaaaa cataaactgg gagagctatg caagagggtc
241 tgtttatgcc ctgcaaaatt ttggatatga tctcaagaag ggtattatag gatataattc
301 tgggtgtaaa ggacttgaca gttcagggtc cagttcatct gcagcagtcg ggattgccta
361 tttgatggct ttagaaaatg tgaatgatct ggttgatca ccagtggaaca acattcagtt
421 ggacaagtcc atcgaaaata aatatttggg tcttgaaaat ggtattctgg atccatcagc
481 tattttgctc tcacggtatg gctatctcac cttcatggac tgcaagaccg ccacacattc
541 ctacgtctac ttctcagtg ttagtaaaag tcagcaatgt caaggagaac taccattcaa
601 gattttgtta gccttttcag ggctgcaaca taacctaccg aagaagagtg gatataaac
661 gcgagttttt gaggcaaaag aggtgcccgc tgctctttta tgtgcttcag gctgtgaaga
721 tgcatacaag attcttcgta atgttaaccg agccatatac gaggctcaga agtgatatt
781 agaagaaaat ctgcctagga gagctgagca ctacttctct gagatgaagc gattgtcaa
841 ggaagagat gcgtgggctc gtggagatct tcgtgagttt ggccagctga tctctgcatc
901 tggtcgcagc tccatactga actatgaatg cgggagcaag gagatgatcc agctgtacga
961 gatcctctc aaggcaccgc gcgtcctcgc gcgcgggttc agcggcgccg gcttcagagg
1021 ctgctgcctc gccgtcgtg agagcggcca cgcggaggcg gcggcgccgt tcgtccgggc
1081 cgagtacgag aaggcgcagc cggagctggt gagcaagatc ccgccgggcc gccgcgtgct
1141 ggtctgcgag cccggtgacg gcgcccgcgt catatagctc accgccacc gccgttctgc
1201 cgtctcgcgc ggagcagcct cgcattgccg tgcccggcgc gccgcgaagc cgggtgctc
1261 gtggcgacgc cggcgtgcaa ggatggacgg tggctgcttg ggcctcggcg cggcgagctc
1321 ccccggttta cgcgtacgga gcttgcttag ttccagttga gacttgagag tgggtgtaat
1381 ggtaatggta taggtacgaa ctgtccgtgt gtatacgggt acagactaca gattgccagc
1441 tttgtccgt gtatgtgtag aaccaattga tgatcaattt ttgataaata tctcagcaat
1501 aagcagcgac gtagatatgt actattaataa aaaaaaaaaa aaaa
```

CloneName:RAP19

Size: 1623 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR
 Identifier: OsRHF2A
 Sequence Specification: putative RING-H2 finger protein RHF2a [*Oryza sativa*]
 Protein: RING-H2 finger protein RHF2a
 Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)
 Sequencing Date: 2002/11/19
 CFGC project number: CG1213
 Corresponding Author: Sang-Gu Kang
 Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh, Hae Kyong Jong, Min Kyong Kim
kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498
 Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP19 tmpseq_0 1623 bp linear 19-NOV-2002
 DEFINITION putative RING-H2 finger protein RHF2a
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE Unknown.
 ORGANISM *Oryza sativa*.
 Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..1623
 CDS 136..1320,136..1320
 /note="predicted coding region"
 /translation="MASGTDEKAKMEGLTSAAAFVEGGIQDACDDACSICLEAFCESD
 PSTLTGCKHEFHLQCILEWCQRSSQCPMCWQPISLKDPTSQELLEAVERRNVRTNQF
 RNTTIFHHPALGDFEVQHLFPVVGNDAELEERILQHAAAAAMGRSHHLGRREGHRGRS
 GSHGRPQFLVFSHPNMPAGSVSSSSVQGEVDNESSPVHTTGELSLSHANTHEEAGNQ
 SPGMLTYDADQDAVVSSGNSTPVSSPRFFNRRHSTGQSTPVNNDRAGPSDLQSFSDSL
 KSRLNAVSMKYKESITKSTRGWKERLFSRNSVADLGSEVRREVNAGIASVSRMMERL
 ETRGSNGRTSDGPAISTSEVIPSTESSNERVTENNPTAATSTSNSTASSAPCVTTTG
 SN"

BASE COUNT 450 a 353 c 394 g 426 t

ORIGIN

```

1  aggaggcgaa  gaggctagct  agctagctag  ggtttcgtgc  tccccatcgc  ctgcgcgcgcg
61  cagccggatc  cgatcggggc  tcctcgtcgg  cgtcggcggc  ggtgccctg  atatcagggt
121  tgtgattccg  ttgcaatggc  atctggaact  gatgagaaag  ccaagatgga  gggtttgaca
181  tcagctgcag  ctttgttga  gggtgggatt  caggatgcat  gtgatgatgc  atgtagtatc
241  tgccttgagg  cgttctgtga  gagtgacct  tccacattga  ctggttgcaa  acacgagttc
301  cacctccaat  gcattcttga  atgggtgcag  agaagttctc  agtgcctat  gtgttgccag
361  cctatcagtt  tgaaggatcc  taccagtcaa  gagctgctcg  aggcagtgga  gcgtgaaagg
421  aatgtaagga  ccaatcaaac  tcgaaataca  actatatctc  atcatcctgc  tcttgagat
481  tttgaggttc  agcatttacc  tgttgttgg  aatgatgctg  aacttgaaga  gcgtatatta
541  cagcacctag  cagcagccgc  tgcaatggga  aggtcacacc  accttggtag  aagagaagga
601  cacaggggtc  gttccggctc  tcattgctcg  ccacagttct  tagtttttct  ttcgcatcca
661  aacatgcctt  ctgctggttc  agtttcttca  tcgtccgttc  aaggggaagt  ggataatgaa
721  tcaagtcctg  tccacacaac  tggatgaatta  tcaactgcatg  ctaacacca  tgaagaagca
781  ggcaatcaaa  gtcctgggat  gcttacctac  gatgctgac  aagatgctgt  tgtttcatct
841  ggaatatgta  ccctgtatc  tagccctagg  ttttcaaca  ggaggcattc  cactgggcaa
  
```

901 tcaactccag taaacaacga cagagctggg ccttcagatc ttcagtcttt ctcagactct
 961 ctgaagtctc gcttaaatgc tgtctctatg aagtacaagg aatctattac aaaaagtact
 1021 cgaggatgga aggagagact tttttcgcgt aattcatctg tggcagatct tggttctgaa
 1081 gtaagaagag aagttaatgc tgggaattgcg tccgtatcaa ggatgatgga gcgtctggaa
 1141 actagaggta gtaatggtag aacaagtgat ggcccagcaa tatccacttc tgaagttatt
 1201 cccagtacag aatcaagcaa tgagagagtt acagaaaaca atccaactac tgcagcgaca
 1261 agtactagca aacttctgc gtcttctgcc cttgtgtta caacaaccgg ttcaaattag
 1321 catgttatag gttccgaaag cgcacattc ccattcttct ccatcaaagg attgccattg
 1381 ccaggcatgg gcaggtaacc aaaagcaacg tcacgatgtt gtcacctca gcattgcata
 1441 aatcacctcc agaaaatcgg aatgacaaat ttgatgtatt ggtttgataa aagggctcag
 1501 cccgaggtat taccttagga tgccgttttg ttctgcttca tctatgtaa aagggaaaaa
 1561 aatcaggggac aagtttttac cggtataaat aatggatttg gtgacaaaaa aaaaaaaaaa
 1621 aaa

CloneName:RAP27

Size: 2084 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsARP

Sequence Specification: auxin-regulated GH3-like protein [*Oryza sativa*]

Protein: auxin-regulated GH3 protein, putative

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/11/27

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh, Min Kyeong Kim

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP27 OsARPtmpseq_0 2084 bp linear 27-NOV-2002

DEFINITION auxin-regulated GH3-like protein [*Oryza sativa*]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..2084

CDS 498..998,498..998

/note="predicted coding region"

/translation="MASRACTASCSVAYFTDAKVDRVGASFAAGLVRGIKFLFNHWEE

MCFNIRSGQLSDWITHTPLRDAVTGQYLQGSNPALADEIASECARKPWDGIVRRLWPR

ARYIRTIVTGSMSQYIPILEVYGGGLPLVSPPIYASTECAAGINLRPLDPPFPVICIA

SKHLL"

BASE COUNT 494 a 508 c 552 g 530 t

ORIGIN

1 gtacctccgc cgcttctgg gcggcgccgc cggcgacgac gacgacgtgc gagacgcatt

61 caagaggcgc gtccccgtgt ccggctacga ggatgtcaag ccgtacgtcg accgcgtcgc

121 gtccggcgc gagccctcct ctgccctcct ctgctccgac cccatcacct gcctcagcag

181 gagctccggc acgtccggcg ggcagcagaa gctggtgccg tccaccgagg aggagctcga
241 caggaaggta ttcttctatg ctgtccaggc gctcgtgagg aacatgagct tgcacaccga
301 tcatggtgaa gacgactacg gcggtggtgg cgagggaatg tacctcatgt tcgccttcca
361 cggtgaccgg acatttgttt ggcccgcca tccatctgct ctaactacct actaccacag
421 cagacaagtt tcaggaatgc gacattggcg ggtttgataa gtgcacaaag cccctggag
481 gcaatccttt tgcccctatg gcgagcagag catgtactgc cagttgctct gtggcctact
541 tcaccgatgc aaaagtggac cgtgttggcg ccagctttgc cgctgggttg gttcggggga
601 tcaagttcct ggaaaatcac tgggaggaga tgtgcttcaa catccggagc gggcagctca
661 gcgactggat cacgcatact cctctgcgtg atgcggtcac tggacagtat cttcaaggat
721 ctaaccacgc tttagccgat gagattgcat ccgagtgtgc gaggaaacct tgggatggga
781 tagtcaggag gctatggcct agggcacggt atatccggac cattgtgact ggttcaatgt
841 cacagtacat tccaattcct gaggtttatg gtggcgggct accgttggtc tcaccaatct
901 atgcatctac agaatgcgct gccgggataa atctgaggcc acttgatcca ccattcccat
961 gtgtcatatg cattgcttcc aaacattgct tactttgagt tcttgagggt catggatgaa
1021 aatgggtgaaa aggtacaagg aactaccagg cttgatgaca atttgggtga ggtaaaagt
1081 gttgaccttg tggatgtcaa agttggtcga tgctatgagt tgattgtcac tacctttgca
1141 ggtaccgggt ggggtgacctg tttactgtga gtggcttcta caatgcgacg ccattgttcc
1201 acttctcagg acggcatgat gtcatcctaa gcatagatta cgagaagata agtgaggagg
1261 accttctcaa tgccattgca gaaacagata agttccacct caggcctctt ggctacatgc
1321 ttgttgtag cactgcatat gcagacatat ccactttgcc tggccactat atccttttct
1381 gggagctgac caatacctgt gatagcaatg ttgccattga catcgaccaa actgccatgg
1441 agaagtgttg cttggcagtg gaagaccact tcgatgaaat gtaccgcaa attagacc
1501 gtggctcaat cagtgcgctc gagataagga ttcttagcca tgggtcggtt gatgctctga
1561 tggaactcct tgtgtctaga gggacatcag cgagtcaata caaaactccg acagccattc
1621 ggtcgaaaga ggcgatgatg gtattggagg aaaagggttg aagaagggtt tttcagccaa
1681 gcaactccca gctgtcgctc agccgaattt gagaggagat aataattgta ctgcctgttc
1741 ggttggcgtc tcggtgacag gacagggcat gttccttatg aaaagttcag tctgatcac
1801 gaataagtgg cgcagcattg caattcgtgc actggagaag gatgatccac tcactccat
1861 cttggcacgg tcctttttca gtctggaatt tggctcagg agtatcattt cgtgttttct
1921 tgtaaatca gaagaactt ctgtactgct ccttccacat agcctttggg cgtaactgta
1981 gacacaacc ttgctccgag gtttataagt tacctccgaa tttactgatt gactgtgttc
2041 tcaagtccaa gtttccaacc tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa

CloneName:RAP29

Size: 1516 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: unknown

Sequence Specification: unknown

Protein: unknown protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2003/03/30

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hae Kyeong Jeong, Min Kyeong Kim

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP29 tmpseq_0 1516 bp linear 30-MAR-2003

DEFINITION No definition line found.

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oryza sativa
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1516
CDS 7..537,7..537
/note="predicted coding region"
/translation="MPRLSSLPLIPIDQSSGTLVQVPQKSCRFLSLNFRGDSANGV
ENYGHKLDGISSITSSETDNDVKNKSIKHAHSILRNIHKSIFEEQVDFMVIREFVQ
SQGINVTGMREDFLQLAIGQECSLCLSLAHSBGDGSSEMVDHEDHANSEDASNLVLVT
MNGKLDPLRKRDRVS"

BASE COUNT 416 a 323 c 336 g 441 t

ORIGIN

```
1 gcagcaatgc ctcgactgtc atcattacca ttgattccaa ttgaccaaga ctcacatcaggc
61 acttttgccg tacaagtccc tcaaaaatct tgccgtttct tgagtcttaa ttttcgaggg
121 gacagtgcc aatggtgtgga aaactacggt cataaactga aagatggcat ctcaagcatc
181 acttctctcg aaacagacaa tgatgatgtc aataaatcca tcaaacatgc acattctatt
241 ctctgcaaca tccacaagtc aatatttgag gagcaggat ttgatatggt gatccgtgag
301 acatttgcc aatctcaagg catcaatggt actggaatgc gtgaagatt tctccaatta
361 gctattggtc aggaatgttc attgtgcctc tcgcttgctc attctggaga tggtagtgac
421 tcagaaatgg tagaccatga agaccatgcc aattcagagg atgcctcaa tctgtgttg
481 gtcactatga atgggaagct ggacccttta agaaaagac gtgacagggt ttcctaatcc
541 cagaagtctg gaaatttact tgctacaatt gtttcagag aacattctta ggaaggtcag
601 ggagaaatcc cttaacattg gtcgctacca aagtctgct caggttgcag gtgatgatta
661 tggcctgcta ggtcatttct gcttgacagt ggctcacagg atattttcta acaaagtact
721 cgtggagctt gagagtgtgg tcagcagggt tccatatctc catttgcgtt ctcttctac
781 ttggcattct cgaacttcc tcttggtctc tatgccttga aaagtctctc agcccttacc
841 ctttggtgctc cagaatcggg attgcaaagc cttctgataa ccatgaactt aagtacaaat
901 ccaggtcaca gttcaatact aaggatgatc tgaagatag ccaaattagt ctaatgggtg
961 aaggctcccc aagcattgct ggatcattga ctgggaagcc ctccgatgga tatttggtaa
1021 atagctacaa ttgtgacttg gaggacctcc caacaatgct tctgcagcag gttgctagtc
1081 aagtaatcca ctggcttcat gaagaagcat tggttctcgg tatgaatgtg actagagatt
1141 tctctgtcct ttaccttgat cttagcaag gtgaaacgct tggcctggtg gcgaatgttg
1201 acccggacga cacctgtgga tgcatttctt ggtacctac tattgatcac ccaacggagg
1261 atgggaagat gtcagcagat agtcaggagt ttgagaagcg taggtttttg ggctatgttt
1321 ctcttgaagt attgtactct acccttatgg acctgataaa tttgtgtaac gctggcgccc
1381 accactgaca tctatctgaa tatccatgta atactactta ctaccttga gattggctct
1441 ttgcttaggc gaatggaatc ctgttggtgctg ttgcccgcta tcattcatat taaaaaaaaa
1501 aaaaaaaaaa aaaaaa
```

CloneName:RAP31

Size: 1643 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsGLU

Sequence Specification: glutelin [Oryza sativa]

Protein: glutelin

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Date: 2002/09/25

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang; Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP31 OSGLU tmpseq_0 1643 bp linear 31-MAR-2003

DEFINITION . glutelin [*Oryza sativa*]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1643

CDS 8..1531,8..1531

/note="predicted coding region"

/translation="MSTILPLCLGLLLFFQVSMQFSFGGSPLQSPRGFRGDQDSRHQ

CRFEHLTALEATHQQRSEAGFTEYYNIEARNEFRFCAGVSVRRLVSVESKGLVLPYANA

HKLVYIVQGRGVFGMALPGCPETFQSVRSPFEQEVATAGEAQSSIQKMRDEHQQLHQF

HQGDVIAVPAGVAHWLYNNGDSPVVAFTVIDTSNNANQLDPKRREFFLAGKPRSSWQQ

QSYSYQTEQLSRNQNFAGFSPDLLSEALSVSKQTVLRLQGLSDPRGAIIRVENGLQA

LQPSLQVEPVKKEEQTQAYLPTKQLQPTWLRSGGACGQQNVLDEIMCAFKLRKNIDNPQ

SSDIFNPHGGRITRANSQNFILNIIQMSATRIVLPNNALLTPHWTVNAHTVMYVTAG

QGHIQVVDHRGRSVFDGELHQQQILLIPQNFVAVVVKARREGFAWVSFKTNHNAVDSQI

AGKASILRALPVDVVANAYRLSREDSRHVKFNRGDEMAVFAPRRGPQQYAEWQINEK"

BASE COUNT 460 a 391 c 403 g 389 t

ORIGIN

```
1 ggcttccatg tctaccattc ttccattgtg ccttggcctc cttctcttct tccaagtgtc
61 catggcacia ttttcatttg ggggaagccc acttcagagc ccacgtggat ttaggggaga
121 ccaagatagt cgtcatcaat gtcgttttga gcacctcacc gcccttgagg caacacacca
181 gcagagatct gaagctggat tcaactgagta ctacaacatt gaggcaagaa atgagttccg
241 ttgtgccgga gtgagcgtga ggcgcttagt cgtcgagagc aagggttag ttttaccat
301 gtatgcta at gctcacaagc ttgtctacat cgtccaaggt cggggagtgt ttgggatggc
361 actgcctggt tgcacagaga cgttccagtc agttaggtct cccttgagc aagaggtggc
421 aacagctggt gaggctcaat catcaatcca aaaaatgaga gacgagcacc agcaacttca
481 ccaattccac caaggtgatg taatcgagc gccagctgga gtagccact ggctatataa
541 caatggtgat tctcctgtgg ttgctttcac tgcctcagc accagcaaca atgccaacca
601 gctcgatcct aaaagaagg agtttttctt ggctggaag cctagaagta gctggcagca
661 gcaatcgtac tcataccaga cagaacaact gagcagaaat cagaacatct ttgctgggtt
721 cagccagat ttactttctg aagccctgag tgtgagcaag caaactgtgt tgaggctcca
781 aggctgagt gaccaagag gtgccatcat tagagttgaa aatgggctcc aggcactgca
841 gccctctctc caagttgagc cagtgaagaa ggaacaacc caagcttact tgccaacca
901 gcagctacag cccacctggt tgcgaagtgg tggagcttgc ggccagcaaa atgtcctaga
961 tgaattatg tgtgattta agttgaggaa gaacatagac aaccacaat ccagtgcacat
1021 atttaacccc catggtggaa ggatcacaag ggccaatagc cagaatttcc caatactcaa
1081 tatcatccag atgagtcca ccagaatcgt tctcccaaat aatgccttgc ttactcctca
```

1141 ttggacggta aacgcacaca cgtgatgta cgtgaccgct ggccaagggc acatccaggt
1201 ggtggatcac cgtggtagga gtgtcttga tggtagcct caccaacagc agatcttgtt
1261 gatccacag aactttgcag tgggtgtaa ggctcgacgt gaaggatttg catgggtatc
1321 cttcaagacc aatcacaatg ctgctgacag tcagatcgca ggaaggcct ccattcttcg
1381 tgctctacc gttgacgtg tcgccaatgc ttataggctt tcaagggagg actctaggca
1441 tgtaaagttc aaccgcgcg atgagatggc tgtcttctc cggaggcgtg ggccgcaaca
1501 gtatgctgag tggcagatca acgagaagta aactaaatgt gtaacgatct tactgtaatg
1561 aataatgtga agaagattgc ctacacctct tttccataa aatatcaat aagcaattac
1621 taagaaaaaa aaaaaaaaaa aaa

CloneName:RAP37

Size: 1748 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsSRP19

Sequence Specification: signal recognition particle 19 K protein

Protein: signal recognition particle 19 K protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Date: 2002/09/25

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang; Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP37 OsSRP19tmpseq_0 1748 bp linear 10-MAR-2003
DEFINITION . signal recognition particle 19 K protein
ACCESSION tmpseq_0
SOURCE Unknown.
ORGANISM *Oryza sativa*.
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1748
CDS 166..1023,166..1023
/note="predicted coding region"
/translation="MHTSPSEPEKTRQLDLDAVGGGLELEAIGAGVAVAAGGDEEG
RAGDEEVVVAGDPAADLPPDAAVDLLEDEVLRRDVLGEGVAEVGREGDVRAGEHRRP
DVDVAVALVHRRERGGERDLLVLVGGVDVEAVVVDADAVIGVAGGDGLEGGEDAGG
GGIGEVELAERGVLEEARVGGAEHEVDDERDDGHDQGEAEEDRQPPARLPDVVVAV
VAAVLAHRRRRASSLAMDGWISWLSWLRVTSCRIRHQRIKPPFYVYRSPSPNPGTRF
IPPRPKKPN"
CDS 1102..1512,1036..1512
/note=" signal recognition particle 19 K protein "
/translation="MDGGDLRSSIKKWNVIYPVYLNKKTVAEGRRIASGKACPDPTC
VEIADCCSHLKIPHAIELDKAYPRDFFQVGRVVRVQLKKDDGSPVNPAAIKTKKQLMIQI
AELVPKHHGRTTKKQEPAAASSTAGTSKGGGKGGK"
BASE COUNT 407 a 456 c 529 g 356 t

ORIGIN

```
1 gaagagttcc tttttttta accatagtta taatatacctt ttattaacaa ttaaactgtg
61 aactgaaagc ttaacaacgc ttaaacacaa aatatacttt gattaaccca cgctaaattt
121 acctctatac cccccacctc aacgctacag taattaccga catttatgca cacctcgccg
181 tcgccggagc cggagaagac gagacagcta gacctcgacg cggcagtagg tggcggctcg
241 gaacttgagg ccattggcgc cgggtagacc gttgccgccg gaggcgatga agaaggccgg
301 gcaggtgacg aagaggtggt agtgccgga gatccagctg ccgaccttc accggacgcg
361 gccgtcgatc ttgacctgga ggatgaggta ctccgccgcg acgtccttgg cgagggcgtc
421 gccgaggtag ggcgcgaagg ggacgtccgg gccggagac accggcgacc agacgtcgac
481 gtcgccgtgg ccctgttaca ccggcgggag cgagggcgcg agcgtgatct gctggtaact
541 gtaggaggcg tagacgtcga ggcgctgta gtagacgccg acgcggtcat tggggttgcg
601 ggaggcgacg gtgacctgga gggcggtgga gaggacgccg gagggtgagg aattggagag
661 gtcgagctgg cggagcgtgg cgtcctggag gaagaagcga ggggtgggtg gccggagcac
721 gaggtagacg atgagcgcga tgatggccac gatcaggcgc aggccgaaga ggatcgtcag
781 cagccgccgg cagcctgcc ggatgctgct gtcgccgtgg ttgccgagt ccttgcccat
841 cgccgccggc gagctagctc ccttgctatg gatggatgga tttcttgct tcttgctt
901 cgtgtgacct cgtgccgaat tcggcaccaa ggacgcata aacctcctt ctatgtctat
961 agaccctcga gccctaatec ggggacgaga ttcacccctc cgcgaccaa gaaaccgaat
1021 taacctccga gtcctctgct ccctctttgc ttcttgacc aggatctgat ctgcgcggtg
1081 ctcgaccgga atcgcgcgga gatggacggc ggcgacctga ggagcagcat caagaagtgg
1141 aacgtcatct acccgggtga cctcaactcc aagaagacg tcgccgaggg ccgccgcatc
1201 gcctccgca aggcctgccc cgaccccacc tgcgtcgaga tcgccgattg ctgctcccac
1261 ctcaagatcc ctcacgccat cgaattggat aaggcgtatc cagcagattt cttccaggtg
1321 ggaagggtga gactgcagct caagaaggat gacggctccc cagtcaatcc tgcaatcaa
1381 acaagaagc agctgatgat ccaaatcgcg gagctagtcc ccaagcatca tggcaggact
1441 aagaagcagg aaccagcagc ttcttcaact gcagggactt caaaggggaa aggtggcaag
1501 aaaaagaagt gatgatagta caccatcttg tgcgttctt ctgtccatag gaagtccct
1561 gagattcgtc gatgtctggt ttgaggcctg aaattctgcg tctcttctgt gctctgaatt
1621 tctaatttct cgggaaacat caatcaatgc ccgtatttct tgtgatttgg actattggaa
1681 agaggaagat tgcactggtt tttgcaatgg atagcttcca agttatggtg aaaaaaaaaa
1741 aaaaaaaaa
```

CloneName:RAP39

Size: 1314 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsSS3

Sequence Specification: sucrose synthase 3 (Sucrose-UDP glucosyltransferase 3)

[*Oryza sativa* (japonica cultivar-group)]

Protein: sucrose synthase 3

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing date: 2002/10/22

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang; Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP39 tmpseq_0 1314 bp linear 22-OCT-2002
 DEFINITION sucrose synthase 3 (Sucrose-UDP glucosyltransferase 3) [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE Unknown.
 ORGANISM Oryza sativa.
 Unclassified.
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..1314
 CDS 40..1068,31..1068
 /note="predicted coding region"
 /translation="MNHADFIITSTFQEIAGNKETVGYESHMAFTMPGLYRVVHGID
 VFDPKFNIVSPGADMSIYFPFTESQKRLTSLHLEIEELLFSDVENTEHKFLVKDKKKP
 IIFSMARLDHVKNLTGLVELYGRNPRLQELVNLVVCGDHGKESKDKEEQAEFKMFN
 LIEQYNLNGHIRWISAQMNVRNNGELYRYICDMRGAFVQPALYEAFLTVIEAMTCGL
 PTFATAYGGPAEIIVHGVSQYHIDPYQNDKASALLVEFFEKQEDPNHWIKISQGGLO
 RIEEKYTWKLYSERLMTLSGVYGFWKYVTNLDRETRRYLEMLYALKYRKMATTVPLA
 IEGEASTK"
 BASE COUNT 347 a 308 c 329 g 330 t

ORIGIN

```

1 gatcacttct cctgccagtt cacagctgac ctgattgcaa tgaacctatgc tgacttcac
61 atcacaagta ccttccagga gattgctgga aacaaggaaa ctgtggggca gtatgagtct
121 cacatggcat tcacaatgcc tggcctttat cgtgttgctc atggtatcga tgtccttgac
181 cccaagtcca acatcgtctc tcctggtgct gacatgtcca tctacttccc attcaccgaa
241 tcacagaaga ggctcacctc tctccattta gagatagagg agctactctt cagtgatgtt
301 gaaaacactg agcacaagtt tgttctgaag gacaagaaga agccaatcat cttctcgatg
361 gctaggctag accatgtcaa gaatttgact ggtctggttg agttgtatgg tcggaacct
421 gcgctgcaag agctagtaaa cttgtggtt gtctgtggtg accatggcaa ggaatccaag
481 gacaaagaag agcaggctga gttcaagaag atgtttaatc tgatcgagca gtacaatttg
541 aatggccaca tccgctggat ctccgctcag atgaaccgtg tccgcaatgg tgagctctac
601 cgctacatct gcgacatgag gggagccttt gtgcagcccg ctctctatga ggccttggg
661 ctaactgtga ttgaggccat gacctgtggt cttccaacat ttgcaactgc ctatggtggt
721 ccagccgaga tcacgtgca cggcgtgtct ggctaccaca ttgatcctta ccagaacgac
781 aaggcctcgg cgctgctcgt ggagttcttt gagaagtgtc aggaagacc aaacctggtg
841 atcaagatct cgcagggtg acttcagcgc atcgaggaga agtacacatg gaagctctac
901 tctgagaggc tgatgactct ctccggtgtc tacggtttct ggaagtatgt caccaacctc
961 gacaggcgtg agacacgcc ctacctggag atgctgtacg ccctcaagta ccgcaagatg
1021 gctaccaccg ttccattggc cattgagggg gaggcctcca ccaaatgatc tggccttacc
1081 cggtgaaaag aatgggcaat ggggtgctcca ttggtgcagt gctgatccag gggatgaagaa
1141 aaacagaaat cgaggaacga atgcatccat ttagtttcta agggtttagt tgatttcagg
1201 gccagttctt gtggggtttt caatggaaga aattgatgta atgctctggc cttttcatgg
1261 atactatgaa tgaataaat gaataacaag attctctaaa aaaaaaaaaa aaaa

```

CloneName:RAP40

Size: 2535 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsMAP4K alpha 2

Sequence Specification: putative MAP kinase 4 (Oryza sativa)

Protein: putative MAP kinase 4

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/10/22

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang; Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP40tmpseq_0 2535 bp linear 22-OCT-2002

DEFINITION MAP4K alpha2 protein [Oriza sativa]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oriza sativa.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..2535

CDS complement(1294..2346,complement(1294..2346))

/note="predicted coding region"

/translation="MSDSASMAAAIEARFSGRDLIGRGSFGDVYKGFDKELHKEVAIK

VIDLEEAEDDIEDIQEISVLSQCRCPIYITDYYGSYLHQTKLWIVMEYMAGGSVADLL

QTGPPLDELSIACILRDLHVEYLHSEGGKIHRDIKANILLTESGDVKVADFGVSAQ

LTKTMSRRKTFVGTFFWMAPEVIQNSDGYNEKADIWSLGITAEMAKGEPPLADIHPM

RVLFMIPRENPPQLDEHFSKPMKEFVSLCLKKNPAERLSAKDLLKHRFVRNARKSPKL

LDRIRERPKFPVKSSADATQNGRTHVEEDDGTGTIKVERATRDVSPSSQGTVRKLLA

GIFQTDQRAQELFEVV"

BASE COUNT 615 a 570 c 600 g 750 t

ORIGIN

```
1 gtttttttt ttttttttg gaaaaaatt gatgtgtat taatgttct cagtgatat
61 acaggtacag tgggtgcaa gttacattat aaaatggga gaaaatgtgt tattcaccgc
121 gaacacaac aatgaaaca accggtagca gcacaagctg ctgagaacag ctagcaaca
181 agagatttct aaccatagcg ttatgtacac tcaaaattaa ttatacattg aatcatgacg
241 ggttttttt tttttgtatt gtcttcagac ggagttaaga tcttgggaaa cttggttttg
301 ccaccttga agaaggaacc tcgccaaagg gcttacgga ggggcagcca aggaaggtgt
361 attagccatt ttctgttac ttggaggttc agaggagggt tcagatttct ttgcgaaaac
421 tgatgtgcc gtctcttgaa gactttgag cgaggactcc ttcgagctcc ctgaccgatg
481 gagcattctg ccaatcagca cctcaaga tccaggtagc tcttttcga gatgcatcaa
541 ggaatcaagg aatgtatgaa caactgttcc gttaaacttg tcaccagtag cctcttttag
601 agaaggaatt atcaatgacg agagtgcagg tgaagataga gaaccagaag cttgaggagc
661 tgattgtcca tcatgtatct ggcgtggtt gcgaccttt tccatgtcag cattctcact
721 tggggcatca tgactgttta ctgccgaaat tctgggttca tgtgattcct tttcatgttt
781 gctgataaca tgtctttcac gagcattacc ctttttaaac gcagcctgga gagcagcctt
841 tgcctctgca aggttagttg cactgtctc cagtgaagca tttggtgact tttcttgat
901 tcccagtctc gacctgaag atcgtggagt ttctggttct tcaatttgat tccgaacgac
961 tgtcccactg atagacgtgt cttcatacga ggagaatcta ctgggaggct tggaaactgtg
1021 gttagtagct gcagggtaca cctgagatgc tcttggcgag cgcagtacaa cagttccaga
1081 cccacttata gattggtcat tatcttctgt agaactctct agtcttccat attcactttg
1141 tgcactctct tgcgacgggt ttgttgagat cgactcttca gaccccgctc atgatgttct
1201 ccattgattt tctcgatcag ctgtacgttt tggagtgttt ggactatgag aagcatcgga
```

1261 ttactatcc ttggggaggt gacttgtgat ggcttaaacc acctcgaaca gttcctgtgc
1321 cctctgatct gtctggaaga ttccagccag cagcttcta acagttcctt gacttgaagg
1381 agagactaca tcctttag ccctctcaac cttgatagta ccagtacat catcttcttc
1441 aacatgtgtt cgaccattht gtgtggcatc cgcactgctt tttactggaa acttcgggtc
1501 ctctcttatt ctatccagaa gctttggaga ttttctagca tttcttaca agcgggtgctt
1561 aagaagatcc ttggcactta gcctctctgc tggattcttc tttaaacata gtgacacaaa
1621 ctcttctatc ggttagaga aatgctcatc aagctgagga ggattttcac gaggtatcat
1681 gaaaagaact ctcatgggat ggatatctgc caaaggggt tcacctttg ccatttcaat
1741 agcagttata cctaacgacc agatatctgc cttttcattg tacctcag agttttgat
1801 aacctcaggt gccatccaaa agggagtcc aacaaatgc tttctcctg acattgttt
1861 agtcagctgc gcagaaacac caaagtctgc aaccttaca tctccacttt cagtcaggag
1921 gatatttgc gctttaatgt cacgggtgaat ctttcttct gaatgaagat attcaactgc
1981 atgtaacaag tcctcagaa tgcattgcaat agacaatca tctagaggag gcccagttg
2041 gtagtagtca gcgacagaac caccagccat atattccatt actatccaca gtttctgtg
2101 atgaagatat gagccataat agtcagttat atatggaca cggcattgtg acaaacaga
2161 tatctctttt tggatgtctt caatgtcatc ctcagcttct tctaaatcga taactttat
2221 tgcaacttcc ttatgcagtt cttgtcaaa cccttttag acgtcgcga aggagccgg
2281 gccgatgagg tcgcggccgc tgaaccgccc ctcgatggcg gcggccatgg acgaggagtc
2341 cgacatccta agatctgcac ccccgcgcc gccgcgcct cctccgcgc gggctagggt
2401 tttggggggg cggaaggcgg agggaggaga ggagatcgag ggatttggcg tctctgctcg
2461 cggcggttgg cgctagggtc tggattgat tcggggaggg tgggtgtggc gtggagcttg
2521 cgggttacgc ctagt

CloneName:RAP41 (patentapplied)

Size: 1369 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Sequence Specification: lipoate protein ligase-like protein [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date:

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hae-Kyong Jeong, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

Clone Name: RAP43

Size: 779 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsDRM1

Sequence Specification: dormancy-associated protein (DRM1)-like protein

Protein: dormancy-associated protein (DRM1)

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar)

Sequencing Date: 2003/01/02

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP 43 OsDRM1 tmpseq_0 779 bp linear 02-JAN-2003

DEFINITION dormancy-associated protein

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..779

CDS 57..434,57..434

/note="predicted coding region"

/translation="MLEKLWDDVVAGPRPETGLEKLRKAATRPLVINKDGDGEASGA

AYKRTQSMPTTPTTPVTPSSSSPTTATTTTPRGSNVWRSVVFHGPSNLATKSLGANLFD

RPQPNSPTVYDWLYSDETRSSHHR"

BASE COUNT 186 a 212 c 211 g 170 t

ORIGIN

```
1 gtaaagttgc aagagagaga tcagttggtg agtgcgtgga agcagagatc aggaagatgc
61 tggagaagct gtgggacgac gtggtggcgg ggcctcgacc ggagaccggc ctggagaagc
121 tccgcaaggc cgctacaacc cgcccccttg tcatcaacaa agatggcgac ggcgaggcga
181 gcggggcggc gtacaagcgg acgcagtcga tgccgacgac cccgacgacg ccggtgacgc
241 cgtcgtcttc gtctccgacg acgacggcga cgacgacgcc gcggggcagc aacgtgtgga
301 ggagcgtggt ccaccggggg agcaacctcg ccaccaagag ctcgggcgcc aacctctcg
361 accgccgca gcccaactcc cccaccgtct acgactggct gtacagcgac gagaccagga
421 cgagccatcg ctgaactaaa taatcccatt gatcggagge tggtcgatct ctctgtcacg
481 ccacgtttgc tggtccttgt ggttatctaa tacgtaatta attatctagt atgttgctat
541 cttatcttgt tactctgttc ctagtagctt gctgtctctg ttagtactac cagagaccgg
601 tacgtgtcag ctagecctgt ggctcctatc aagggctagc gacaacccaa agaagtgtgt
661 ttgtgtgtaa acatcttcca tgtgtaaata ctgccatgtg tttccctact ttcagcgttt
721 aattaccttt gatgtgataa taccaatacc agcttgagat atttaaaaaa aaaaaaaaa
```

CloneName:RAP45

Size: 1667 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsEF1A

Sequence Specification: translation elongation factor-1 alpha; EF-1 alpha [*Oryza sativa*]

Protein: translation elongation factor-1 alpha

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/10/22

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang; Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP45 tmpseq_0 1667 bp linear 22-OCT-2002

DEFINITION . Oryza sativa mRNA for EF-1 alpha

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oryza sativa.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1667

CDS 63..1472,63..1472

/note="predicted coding region"

/translation="MGKEKTHINIVVIGHVDSGKSTTTGHLIYKLGIDKRVIERFEK

EAAEMNKRSFKYAWVLDKLAERERGITIDIALWKFETTKYYCTVIDAPGHRDFIKNM

ITGTSQADCAVLIIDSTTGGFEAGISKDQGTREHALLAFTLGVKQMICCCNKMDATTP

KYSKARYDEIVKEVSSYLKKGYNPKIPFVPISGFEGDNMIERSTNLDWYKGPLLE

ALDQINEPKRPSDKPLRLPLQDVYKIGGIGTVPVGRVETGVLKPGMVVTFGPSGLTTE

VKSVMHHEALQEALPGDNVGFNVKNVAVKDLKRGYVASNSKDDPAKEAASFTSQVII

MNHPGQIGNGYAPVLDCHTSHIAVKFAELVTKIDRRSGKELEKEPKFLKNGDAGMVKM

IPTKPMVVETTFSEYPPLGRFAVRDMRPTGGCWRHQEREGEPNRCQGDQGCQEEMSL

VQVLSISAFEISSSFSTR"

BASE COUNT 391 a 438 c 434 g 404 t

ORIGIN

1 ccgcagcctc ctcaaggctg ctcccatcct ctccctcgag ttagcttctc ccttattcaa
61 ccatgggtaa ggagaagacg cacatcaaca ttgtggtcat tggccacgct gactccggca
121 agtcgaccac cacgggcat ctgatctaca agcttggagg tatcgacaag cgtgtgattg
181 agaggttcga gaaggaagcc gctgagatga acaagaggtc ctcaagtac gctggtgctc
241 ttgacaagct caaggccgag cgtgagagag gtatcaccat cgatatcgcc ctgtggaagt
301 tcgagaccac caagtactac tgcacggctc tcgatgcccc tggtcaccgt gacttcatca
361 agaacatgat cacgggtacc tcccaggctg actgtgccgt gctcatcatt gactccacca
421 ctgggtggtt tgaggctggt atctccaagg atggccagac ccgtgagcac gctcttcttg
481 ctttactctc tggagtgaag cagatgatct gctgctgcaa caagatggat gccaccactc
541 ccaagtactc caaggcccg taccgatgaaa tcgtgaagga agtctcatcc tacctgaaga
601 aggtcggcta caacctgac aagattccct tcgttcccat ctctgggttt gagggtgaca
661 acatgattga gaggtccacc aacctgact ggtacaagg cccacacttg cttgaggctc
721 ttgaccagat caacgagccc aagaggccat cagacaagcc cctgcgtctt cccctcagg
781 acgtgtacaa gatcgggtgt attggcaccg tgcctgtggg tcgtgttgag actggagtcc
841 tcaagcctgg tatggtggtg accttggtc ccagcgcct gaccactgag gtcaagtcgg
901 ttgagatgca ccacgaggct ctccaggagg ctcttctcgg tgacaacgct gggttcaacg
961 tgaagaacgt tgcgggtaag gatctgaagc gtgggtacgt ggcctccaac tccaaggatg
1021 accctgcaa ggaggctgcc agcttcacct cccaggatgat catcatgaac caccctggcc
1081 agatcggcaa cggtacgcc ccagtctgag actgccacac ctcccacatt gccgtcaagt
1141 ttgctgagct ggtgaccaag atcgacagac gatctggtaa ggagctggag aaggagccca
1201 agttcctcaa gaacggtgat gctggtatgg ttaagatgat tcccaccaag cccatgggtg
1261 tggagacctt ctctgagtac cctcctcttg gtcgttttgc cgtgcgggac atgaggccaa
1321 cgggtgctg ttggcgtcat caagaacgtg gagaagaagg acccaaccgg tgccaagggtg
1381 accaaggctg ccgccaagaa gaaatgagc tcgttcaagt ggtgctttcc atatctgcat
1441 ttgagatata tagctctttt agtactcgtt aagttttgtc gacggtcatt tcagtgttg
1501 cattgaccgt taatatctgc tcgctttgtg cactatgtca gtcatttaaa actctatctt
1561 ctgttcggtt taaacttggg tgtaagact tattattgcc cttcgactgt tgtggaatgc

1621 gagtatacat tgctaattcc tttgtcttta aaaaaaaaaa aaaaaaa

CloneName:RAP46

Size: 1283 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsNDBP

Sequence Specification: putative nucleoid DNA-binding protein [*Oryza sativa*]

Protein: nucleoid DNA-binding-like protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2003/02/03

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP46 ONDBP tmpseq_0 1283 bp linear
03-FEB-2003

DEFINITION putative nucleoid DNA-binding protein [*Oryza sativa*]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*.
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1283
CDS 261..965,51..965
/note="predicted coding region"
/translation="MPRQGLLGLGRGPMALLSQAGSLYNGVFSYCLPSYRSYFSGSL
RLGAGGGQPRSVRYTPMLRNPHRSSLYVNVVTGLSVGHAWVKVPAGSFADFDAATGAGT
VVDSGTVITRWTPVYAALREEFRQVAAPSGYTSLGAFDTCFNTDEVAAGGAPAVTV
HMDGGVDLALPMENTSIIHSSATPLACLAMAEAPQNVNSVNVNVIANLQQQNI R VVFDVA
NSRVGFAKGV LQLIKN"

BASE COUNT 232 a 407 c 396 g 248 t

ORIGIN

1 ccaactcctc ctctacgcc tcctcccgt gtcctcgtc gtggtgcccg ctgttccagg
61 gccaggcgtg cccggcgccg cagggcgccg ggcagcggc gccgccgccg ggcagcgtgc
121 cgacgtgcgc cttctccaag ccgttcgccg acgcgtcgtt ccaggcgccg ctgccagcgc
181 acacgtgtag gctgggcaag gacgccatcc cgaactacac gttcgggtgc gtgagctcgg
241 tgacggggcc gacgacgaac atgccaaggc aagggtctgct cggcctcggg cgtggcccca
301 tggcgctgct ctcccaggcc gggagcttgt acaatggcgt cttctctac tgctcccga
361 gctacaggtc atactacttc tccggctcgc tccggctggg cgccggcgcc gggcagccga
421 ggagcgtccg gtacacgccg atgctgagga acccgcacag gtcgtctctc tactacgtga
481 acgtgacggg gctcagcgtg gggcacgcgt ggggtgaagg ccccgcgcca tcgttcgcgt
541 tcgacgccgc caccggcgcc ggcacggtg tggactccgg cacggtgatc acgcggtgga
601 cgccgccggt gtacggggcg ctgcgggagg agttccggcg gcaggtagcg gcgccagcgc
661 ggtacacgtc gctgggcgcg ttcgacacgt gttcaacac cgacgaggtg gccgccggcg
721 gagccccgcg ggtgacggtg cacatggacg gcggcgtgga cctggcgctg ccgatggaga

781 acacgctcat ccacagcagc gccacgccgc tggcctgctt cgccatggcc gaggcgccgc
841 agaacgtcaa ctcgctgctc aacgtcatcg ccaacctgca gcagcagaac atccgggtcg
901 tcttcgacgt cgccaactcc cgcgctggct tcgccaagg agtctctgca ttaattaaga
961 attaagatta attaagatga tctaccgcta tcteatctag agccaagctg ctgctagcaa
1021 atgcacgaga acggcttgtg cagtctatgt attctcttct tttccctttc tgaaatcacg
1081 gtgtcctctt gtggccttgt agctttccga tctgtgcaat aaggatatac tgacatcaaa
1141 acttgggtcac gggcgcctgt ctcactgtga tgtgccaata gggctatata taggtgatta
1201 cgtacgtact cagggtttta ccagtgtgaa ttggtatggt tacatcgatc ttaaagatct
1261 tcatacaaaa aaaaaaaaaa aaa

CloneName:RAP52

Size: 2779 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsKLP

Sequence Specification: Putative kinase-like protein [Oryza sativa]

Protein: Putative kinase-like protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/10/14

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang; Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP52 tmpseq_0 2779 bp linear 14-OCT-2002

DEFINITION . kinase-like protein [Oryza sativa]

ACCESSION tmpseq_0
SOURCE Unknown.
ORGANISM Oryza sativa.
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..2779
CDS 7..1644,7..1644
/note="predicted coding region"
/translation="MAFRGMASAAPRGYAETVGESEGAAGSPVRVDSSEDSAPKRKCI
SLNSDGFVDVKREIFVPAKMSSERRHLRKRFRTELDVSRNLLKKPEFAVVPVNRAPA
LSSSAAPRGKKGQRGNHVVRGAKGRFLPTKPRPEASTVLTEDAIFKQCDAILKLMTO
KCSNIFDSPVDVAVKLNIPDYFQIIKKPMDLGTIRNKLDGSGSYTSPSEFAADVRLTFSN
AMTYNPRGHVVHDIYAIQLNKMFESESRWRTIEKKLASIATEAHVEVDRAKSRKRKTPVD
CSEVSTECVRPTESVSRPTESVVKPKMTFEEKESFGNCLASLSEDEPEVPSHIIDLQCCI
DNNTDQLGDGEIEIDIHAVSDDLLFELKKHVDKYLQEREQSQAQKSEPSSENEAANVSG
LSHSSTNPCKGGDPVEEDVDICGNASPILIEKDAHNNPNKCGSPSSSSSDSGSSSSDS
ESGSDSESEQEKGGSPGKPKGSKRSEQLVEQEKSDVISPVDAIRPADDELREQDNES
KPAPEGKHEFASSTYEAIKGSQCICKLIGSSDPFPMKL"

BASE COUNT 769 a 596 c 759 g 655 t

ORIGIN .

```

1 gatgaaatgg cgttccgggg catggcgtca gcggcgccac ggggttacgc ggagaccggt
61 ggcgagtcgg agggcggggc aggcagcccc gttcgtgttg actccgagga ctcttcggcc
121 cccaagcgca agtgcacag cctaacagc gacggcttcg atgtcaagcg ggagattttc
181 gtcccagcca agatgtcctc ctccgagagg aggcacatccc ggaagagggtt ccgcacagag
241 cttgattcgg tccggaatct cctcaagaag ccggagtttg ctgtccctgt ccctgtcaat
301 agagctcccg cgctctcgtc ctcggtgcc cctcgaggta agaagggaca gcgtggtaac
361 catgtggtcc gtggtgccaa gggcggtttc ttgcctacaa agccccgacc tgaggcttcc
421 acgggtgtga ctgaggatgc gatttttaag caatgcatg ctattctgaa aaagctgatg
481 actcagaaat gtagtaacat attcgactcc ccggttgatg ctgttaagct gaatattcca
541 gattattttc aaatcatcaa gaaaccgatg gatcttgaa ctatcaggaa taagcttgac
601 tctggttctt acacgagtcc atctgaattt gcagccgatg tacggctgac cttttcaaat
661 gcgatgactt acaatcctcg tgggcatgta gtgcatgatt atgccattca actaaacaag
721 atgtttgaat caagatggag gacaattgaa aagaagctgg cttccattgc cacagaggcg
781 cacgtcgagg ttgacagggc tgactcaaag aggaggaaga ctccccctgt ggactgcagt
841 gaggtgtcaa cagagtgtgt gaggccaaca gactctgtta gaccaacaga gtctgtaaag
901 ccaaaaatga cattcgagga gaaagaatca tttgggaact gtttggcatc tttgtctgag
961 gatccggagg taccttcaca catcattgat ttgttgacg aatgcattga caacaacaca
1021 gatcagcttg gtgatggaga gatagagatt gatatccatg ctgtcagtga tgacctacta
1081 ttcgagttga agaaacatgt tgacaagtat ttgcaagaga gagagcagag ccagcaggca
1141 aaatctgagc cttctgagaa tgaggctgct aatgtatctg gccttagcca ctctctaca
1201 aatccctgca aaggtggtga tccagttgag gaggatgtag atatttgcgg gaatgcatcc
1261 cctatatgta tagaaaaaga tgcacacaac aatcctaaca agtgtggtag cccaagtagt
1321 tccagcagtg actctggatc ttcttccagc gattctgagt cgggcagtga cagtgaaagc
1381 gaacaagaaa aaggtggtag cccaggaaag ccgaaggga gtaagagatc tgacaactg
1441 gtggagcaag aaaagagtga tgttataagt ccagtcgatg ccatccgtcc tgmtgatgat
1501 gtggagctcc gtgagcagga taacgagtca aagcctgcc cagagggtaa gcatgaattt
1561 gcaagcagta catatgaggc cattaagggg tctcagtgca ttaagctgat tggatcatct
1621 gatcctttcc ctatgaaact ttaggggaga attcaaaacc cgacaggcaa gtctccccag
1681 acaagctctt aagagcagcc ctcttagga gtcgttatgc tgatgtgatt gttaaggcac
1741 aggggattct cagccagggg ggagacaaac aggaggagct gaaaagctc cagaaggaag
1801 agaaagcaag gctgttggct gaagaaatg cagctatgga agctcgaaga gctgaagctg
1861 aagctgaagc caagcgtaaa cgggaccttg agaggagaa agctcggcag gccctgcagg
1921 agatggagag aacggtgga atcaatgaca acctccatct aaaggatttg gaaatgctg
1981 gaacggcaac cacagaacat attgtgagtt ctggtgatga gactagtctt gagcattccc
2041 aggatggcat gccagtttt ctctctggat caggcaatcc attggaacag ctgggactct
2101 tcatgaaagc agatgaggag gaagaggaag aagatcctag cagtgtcccc agcactaaag
2161 atgcagagga aggagagatc aactagtccc agtgcttgtg ggctagttgc tgaattagct
2221 gtgcatatgg tagacgtcc ttcttctgct ttccaaacta gctcgaacaa ggcctcaat
2281 tttgatgctg ctggatgctg taaattatgc gcctggagta tcgaggtaac ctgccctaca
2341 aatcatcata tgtgcttga ggacggcaca gccataatgg ccgcgacttg cgtactccg
2401 agctgtgtgc ggggtgatgt atgtagccat ctttgaagtg ccatggccag gccgaaggt
2461 gggtaagcaa tgagaggacc aaatggttct ttgcacatag tgaattagt atccaggtgc
2521 taaagctccc agcggcaaaa ggtgttgccc agcggcttat agatttttcg ttcgttctgt
2581 ctctagtttt cggtttgtcc aattgcttcc tgctgtaaat tcgaattttg atgtagtga
2641 ggaagcgata gttgtttgct gggcatatgg gcaaatagga aaaagcttct gctttcttg
2701 ttacagggg aaaaaaaga aaattcatgc gtcttttagc gcaatttgtt gtctcctgct
2761 aaaaaaaaa aaaaaaaaa

```

CloneName:RAP53

Size: 876 bp

Size: 795 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: GPX

Sequence Specification: *Oryza sativa* glutathione peroxidase

Protein: glutathione peroxidase

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/06/09

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS AY100689 795 bp mRNA linear PLN 09-JUN-2002
DEFINITION *Oryza sativa* glutathione peroxidase 1 (GPX1) mRNA, complete cds.
ACCESSION AY100689
VERSION AY100689.1 GI:21360379
SOURCE *Oryza sativa*
ORGANISM *Oryza sativa*
Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
Spermatophyta; Magnoliophyta; Liliopsida; Poales; Poaceae;
Ehrhartoideae; Oryzeae; *Oryza*.
REFERENCE 1 (bases 1 to 795)
AUTHORS Kang,S.-G. and Suh,H.-S.
TITLE Characterization of the glutathione peroxidase gene of rice
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 795)
AUTHORS Kang,S.-G. and Suh,H.-S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (30-APR-2002) Institute of Biotechnology, Yeungnam
University, Yeungnam Univeristy, Kyongsan 712-749, Korea
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..795
/organism="Oryza sativa"
/mol_type="mRNA"
/db_xref="taxon:4530"
gene 1..795
/gene="GPX1"
CDS 89..595
/gene="GPX1"
/codon_start=1
/product="glutathione peroxidase 1"
/protein_id="AAM47493.1"
/db_xref="GI:21360380"
/translation="MAAAPSATSVHDFTVKDASGKDVNLSTYKGVLLIVNVAQCGL
TNSNYTELSQLYEKYKVQGFELAFPCNQFGGQEPGSNEEIVQFACTRFKAEYPIFDK
VDVNGNNAAPLYKYLKSNKGGFLGDSIKWNFSKFLVDKEGRVVDVRYAPTTSPLSIEKD

IKKLLGSS"

BASE COUNT 199 a 209 c 179 g 208 t

ORIGIN

```

1 ttccatcggt cgtcctcgtc tccacgctac cgtttcgcaa ccaccgctt cctcctccgg
61 agaccgctcg gccgccgctc gtcacgcat gccgccgctc cgtccgcca cctccgtcca
121 cgacttcacc gtcaaggatg caagcggaaa agacgtgaac ctgagcacct acaaggggaa
181 ggttctctc atcgtaaacg tcgcatccca atgtggctta actaactcca actacactga
241 gctgagccag ctgtatgaga agtacaaggt ccaaggcttt gagatattgg ctttcccggtg
301 caatcagttt ggagggcagg aaccggctc caatgaggag attgtccagt ttgcttgac
361 tcgcttcaag gctgagtac ccatttttga caaggttgat gtcaacggta acaatgctgc
421 acccctgtac aagtatctga agtctaaca agtgggctt ttcggtgata gcatcaagtg
481 gaacttctcc aaattcttgg ttgacaagga ggtcgcgtg gtggatcgct atgcgccac
541 cacctcccct cttagtattg agaaggatat caagaagctg cttgggagct cttaaacctt
601 aaggtcggga tctgtagagc aacctgact tatgactgt attcagact gagagttgta
661 ttaataaatt ggtgacatgt acttcacagg ttgcatttgc actatactcc ttgcatcctg
721 aatctttatt gtactctgta cctgtatagt tttcatgtca ataaatttcc ttgctgtaaa
781 aaaaaaaaaa aaaaa

```

CloneName:RAP64

Size: 1244 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsRRM

Sequence Specification: Putative RNA binding protein [*Oryza sativa*]

Protein: RNA binding protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2003/03/12

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP64 OsRRM tmpseq_0 1244 bp linear 12-MAR-2003

DEFINITION RNA binding protein [*Oryza sativa*]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1244

CDS 473..778,284..778

/note="predicted coding region"

/translation="MMLRGGRLAGLASRMVGAKEPFSTEIFVSRLSFYTTTEELKNVFS

PFGAVEEARLVRDNTGRPKGFVVKYSSQADAEKAVKAMDGRIIRGRLLIFVEIAKE"

BASE COUNT 321 a 293 c 323 g 307 t

ORIGIN

```

1 ctgcttctt gccgccgctc ctatctttgc gccgccacca cggccatagc cgggggtcgc

```

```

61 agcgcgtgcc atccatcgca accggtggtt ctttccggtt ttgcttcttc ccggtgtgga
121 gggttccaac gttggaggag ttgagtcgga gtatcgaagg acttaaggta cgtggttacc
181 tggggtgtta caccaccacc tacgcggtcg accgccgcgc cgtcgcgcgc gccattccgc
241 ccacgcctac cgagctgccg ccgcctcacg tacgccaaca acgttgtcgg ccctatcccc
301 gtcagcccat agctccgtca aagacacgga gaaaagaaca aacacgagag agaagggggg
361 aaaagcagca acaacaagag gaggaggcgc cgcagccgag accccagttc cgattgatct
421 ccggttccca gatcggccag ggtttgaggc ggggggctct gtacttctgg agatgatgct
481 gcgaggtggg cggctggctg gcttggcctc tcggatggtt ggagccaagc ctttcagcac
541 ggagatattt gtgagcagc tatcatttta cacaacagag gaagaactta aaaatgtctt
601 ctcaccattt ggcgctgttg aggaagctcg attggtgaga gacaaccaa ctggaaggcc
661 aaagggattt ggttttgta aatattcttc tcaagcagac gcagagaaag ctgttaaggc
721 aatggatgga cggatcatac gtggaagact aatttttgtg gaaattgcaa aagaataaaa
781 ctgcataggg catagtctat caccatcgtt gctgaactgg agcagtttcc ctgccttaa
841 gcgtactcgt acatgactac atggctaate tggcttagtt ccaacaagc ctatgagcac
901 ttctcccggc ctgaatgcgt acttttgta cttctgttga gccaaagtatt ggtttgcgaa
961 caacattggt tgtttttaa agacaaagaa agctttcaa caggaaaatt gttgttgaa
1021 ggtaagttg aatttatgaa cccgagctgg aaggttatat atgcgtagaa tgctggatga
1081 cccatatacc cgcccctgct ccaactagcta gtgcttccac cgttttcttc tgtgtcatct
1141 ataaagcgat attgtttgaa tttgatctga aaagtattaa agccgttatg tatatccgat
1201 gaactggttt tggatggctt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa

```

CloneName:RAP65

Size: 1064 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsIPMDH

Sequence Specification: 3-isopropylmalate dehydratase, small subunit [*Oryza sativa*]

Protein: 3-isopropylmalate dehydratase, small subunit

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date:

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP65 tmpseq_0 1064 bp

12-SEP-2002

DEFINITION 3-isopropylmalate dehydratase, small subunit

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Unknown.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1064

CDS 20..793,11..793

/note="predicted coding region"

ORGANISM *Oryza sativa*

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..848

CDS 150..479,57..479

/note="predicted coding region"

/translation="MATFELYRRSTIGMCLTDTLDDMVSSGALSPELAIQVLVQFDKS

MTSALEHQVKSQVTVKGLHLYRFDNVWTFILTDALFKNEEITETINKVKIVACDSK

LLETKEE"

BASE COUNT 223 a 214 c 187 g 224 t

ORIGIN

```
1 ctcctccctt cccctggcct ccacggtat ataagcccca gatttcgaat tcctctctgc
61 ggctgcgctt tgctcctccc ctcaatcctc ctctccgctc tcgctctcag tctcagatca
121 ggaggaggat gatcgatatt cgatcatcga tggccacctt cgagctgtac cggaggtcca
181 ccacggtat gtgcctcacc gacacgctgg acgacatggt ctccagtggg gcgctcagcc
241 ccgagctcgc catccaagtc ctctgacagt ttgacaagtc catgactagc gctttggagc
301 atcaggtgaa gagcaaggtt actgtcaagg gccatctgca cacctacagg ttctgcgaca
361 atgtgtggac tttcatccta acagatgcaa tttcaagaa cgaagagatt acagagacaa
421 taaacaaggt gaagatcgtg gcctgcgatt ccaaattgct ggagactaaa gaagagtaat
481 ttgcggaaga gcccacacct cttctcttga tgctgcagac ctggcgacc tgaatatata
541 tcttgcattc gtttccctgg ctcttatcat gaattctgac agtttccatg gtaggagtac
601 tagagtatca tgttcatagt ttctgtctgc catccgcatc actcatggat cgatttctct
661 cttctctggt gagtgatgga ccgatttctc tcctctggtg ataataagaa gtgtgatgtg
721 tgacatgagt gtgctctgta cctaactcat ctctcgcca aggcagacct aacattgaa
781 ttctaaatct ttgaacagga ttttcaggat taaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa
841 aaaaaaaaa
```

CloneName:RAP70

Size: 698 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsACPII

Sequence Specification: Putative acyl carrier protein II (ACP II) [*Oryza sativa*]

Protein: acyl carrier protein II

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/11/27

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP70 OsACPII tmpseq_0 698 bp linear
27-NOV-2002

DEFINITION Putative acyl carrier protein II (ACP II) [*Oryza sativa*]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*

KIFLSWIIHINGPFTGLHICRYWAATTYWSLLMSLFTFVPAACVFGASKVNWQAVLSH
SIYCGSTSDVDYMISSAPAHGAVIGAWLGAWPMPDWERPWQEWPIISVTYGSVAGHLIG
MAISLALVVTHKRRGRAKAD"

BASE COUNT 288 a 361 c 313 g 389 t

ORIGIN

```
1 gccgcccca tcgatcccca tccatcccgc gagcgagcag agtcgccgta gctcgtcctg
61 ctgcttctc cgccgccgc gaccccatc catcccgcga gcgagcaggg tcgccgtcgc
121 tcgctctgtt gcttccgcc catccatcct ggatcatgcc actgcgagag gtcgctgaac
181 cgcaacctgg gaattgacct cccgacttgg cagggtgttg ctccactgcc acctattgac
241 tccccacagg tccccctgtc atgggagcag aggccacgca ggtcagcgcc tcaagcgag
301 tagcgggtcca tgctctgtgc ttcgctggga tcgtggcagc ccatcaattg tctggccgcg
361 gcatgctcgt ctccaatccc gectacgccc tccgectcct cgtggtcttc gaagcgctc
421 ttgctatcgc agtgttcagt ttgctccgtc gaaatcccaa gcgctgctcg tttcttaagg
481 cagctgcgag aggattgctt ggctcccca ttggtgcggt cctaaatgca tttggagcaa
541 ttgttcttgg tgcaccatt ggaatcaaaa tatttcttcc atggataata catatcaatg
601 gtcctttcac ggggttgcac atctgtaggt actgggcagc aacaacttat tggtcacttc
661 tcatgtcctt gttcacattt gttcctgcag catgctgatt tggagcatcc aaagtgaatt
721 ggcaggctgt gctctctcat tccatttatt gcggatcaac tgattcagtg gactacatga
781 tatctgcacc tgctcatgga gctgtaatag gagcatggct tgggtgcttg cctatgcctc
841 tcgactggga aagaccttgg caggaatggc caatctctgt tacttatggc tcagtcgctg
901 ggcatttgat tggaatggca atatcactgg ccctagtagt tactcataag agaagaggtc
961 gtgccaaagc tgactagcta gcctatggat gacaagtgcc ctgcttttt cctggccatc
1021 agtgattttt cccgatagtg tacaagtatt ctttttttgg gaccagagag ctttcatatt
1081 gaatataagg agtgatggct tacgatagga tcatccaagt tctacgttgt tgactcgctc
1141 atctggaacc ttttgcagct aaatccagat ttatgtcatt tagctttcat atattgaata
1201 taagcagtgga tggcttacga taggatcgtc cagcttctac tttgttgact ccttcagctc
1261 gaaccctttg cagctaacta ttaatatcat ttttattttg aattaacaag aattttccat
1321 gtagttttat agtaaaaaa aaaaaaaaaa a
```

CloneName:RAP76

Size: 632 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsRPS15 (Partial)

Sequence Specification: putative 40S ribosomal protein S15 [Oryza sativa]

Protein: putative 40S ribosomal protein S15

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/12/30

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP76 tmpseq_0 632 bp linear 30-DEC-2002

DEFINITION putative 40S ribosomal protein S15 [Oryza sativa]

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza sativa*.

Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..632
CDS 82..438,82..438
/note="predicted coding region"
/translation="MSTDDLVLQFPARARRRFQRLKRRKPMALIKLRKAKKDAPAGE
KPEPVRTHLRNMIIVPEMIGSIVGVYNGKTFNQVEIKPEMIGHYLAEFSISYKPKVKG
RPGIGATHSSRFIPLK"

BASE COUNT 169 a 171 c 156 g 136 t

ORIGIN

```
1 gtggccgcgg cgggagcgc gaagaagagg acgttccgca agtacagcta ccgcggcgtg
61 gacctcgacg cgctcctcga catgtccacc gacgacctcg tccagctctt ccccgcgcg
121 gcccgcagaa ggttccagag gggcctgaag aggaagccca tggcgctcat caagaagctc
181 cgcaaggcga aaaaggatgc acctgctggt gagaagccag agcctgtgag gaccacctc
241 aggaacatga tcattgtgcc tgagatgac ggaagcatcg tcggtgtcta caacggcaag
301 acctcaacc aggttgagat caagcctgag atgattggcc actacctcgc agagttctcc
361 atctcgtaca agccagtcaa gcacggtagg cctggatttg gtgctacca ctacctcag
421 tttatccctc tcaagtgaga gatcatctgc agctgtttgc gttccagta ttagcttga
481 gctgtcgaac aaggaaactc aaagtacttt attaatagcg tgtccaccga gcagccactt
541 tttgaacctt ggttaactct atgttatttc cccagatatt ttgaagttat atccaaacat
601 gttatttcta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa
```

CloneName:RAP77

Size: 949 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsBNASE

Sequence Specification: putative bifunctional nuclease [*Oryza sativa* (japonica cultivar-group)]

Protein: putative bifunctional nuclease

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/11/27

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1Dae-Dong, Gyeongsan Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP77 OsBNASE tmpseq_0 949 bp linear 27-NOV-2002
DEFINITION putative bifunctional nuclease [*Oryza sativa* (japonica cultivar-group)]
ACCESSION tmpseq_0
SOURCE Unknown.
ORGANISM *Oryza sativa*.
Unclassified.
FEATURES Location/Qualifiers


```

source      1..949
CDS         1..369,1..369
            /note="predicted coding region"
            /translation="MALAAPLLRLRLPLAAFVSVVSLTAAPRRAEAWGKQGHIIVCK
            IAEKYLSEKAAAAVEELLPEAGGELSTVCPWADEVRFHYYSRPLHYANTPQVCNFK
            YSRTSSLTSTILASNFLLLR"
BASE COUNT  245 a   213 c   191 g   300 t
ORIGIN
    1 atggcactcg cagcgectct gctccgctc cggtgctgc ctctcgccgc ctcgctctcc
    61 gtcgtctccc tcaccggcgc gcctcgccgt gcggaggcgt ggggcaagca gggccacatc
   121 atcgtctgca agatcgccga gaagtacctg tcggagaagg cggcggcggc ggtggaggag
   181 ctgctgccgg agtcggccgg cggggagctg tcgacgggtg gcccggtggc cgacgaggtg
   241 cgattccact actactggtc tcgtcctctc cactacgcca acacccccc aagtctgcaac
   301 ttcaagtact cacgtacgtc ttcactcacc tccacaatct tagcttcaaa ttttcttctt
   361 ttaagataac gacttaatta tagctgcaaa tgaacgctgc atttacagaa taaaaattga
   421 tcgttcaaag cgagcttaat tgcgcgccat tggttgcaaa ccaggctgag cgagagaacg
   481 ctttgcggtt ttcttttttt ctctgttcaa aacaattaat tagcacttcc tccatttcat
   541 aatgtaagac tttctagcat tgctcatatt tatataaatg ttaatgaata tatatatata
   601 tatatatata tatatatata tatatatata tatatatata tatatatata
   661 tgtatagatt tactaatatc tatataaatg ttagcaatac taaaaaattt tacaatatga
   721 aacggatgga gtagtagcag taacgttttt gggtttttct tgagtgtaga gtggctctgc
   781 ccttctcgct ctgttaggag ttatgtttag ccgccgtagt agtttaatta gccttccttg
   841 cttcaatfff tgttttgctt tttctcctt cccttgcat aagccggtct ggtgattacg
   901 ttgtgtaata aaaacttttt ttcttcttat aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

CloneName:RAP80

Size: 807 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: RAP80 unknown

Sequence Specification: unknown protein

Protein: unknown protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/12/30

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

```

LOCUS   RAP80   tmpseq_0               807 bp           linear           30-DEC-2002
DEFINITION   No definition line found.
ACCESSION   tmpseq_0
SOURCE      Unknown.
ORGANISM    Oryza sativa.
            Unclassified.
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..807

```

CDS 129..488,15..488
 /note="predicted coding region"
 /translation="MALQRSDVSIIVSWLCSQVDLHELCRMNPIPLNQGVLALFQQLA
 CDIVNDTPRKLEWMTAVAVVAISPTDPMIAVHVRPIFEQVYGVLNHQRSRSLPASSSEAT
 NIRLIMHVINSVLLTYK"

BASE COUNT 216 a 183 c 190 g 218 t

ORIGIN

```

1 ataatacaag tgttctgcag cctagtaatg gaccagtggc tagtctccct gaggtcgatg
61 ctccactgga tcctgttaag gagctaagca gactgatatc tgagcgcaa tttgatgaag
121 catttacaat ggctcttcaa agaagtgatg tctccatagt gtcttgctg tgctctcagg
181 tcgatctgca cgagttatgc agaatgaacc ccattcctct caaccaaggg gtctgttgg
241 ccctttcca gcaactagca tgtgacatcg tcaatgacac gccagaaaag cttgagtggg
301 tgaeggctgt tgctgttgca atcagtccaa cagatcctat gatcgctgtg catgtgaggc
361 cgatattcga gcaggtctat ggcgttttga accaccaacg gtcactgcca gcaagcagtt
421 cctcgggaag gaccaacatc cgtttgatca tgcacgtaat caactcggtg ctgctgacct
481 acaagtgata accatcttca gtacgctgct ctctctctca gtactgctg taagtttggg
541 caacattctt gcaatccctg tacagataaa atttgaaaa gcgaagtaa ccgataaaaag
601 ttgtggtgat ggtggtgata cattgtggct gacaagccaa ggaccactag tcattagcat
661 ggtgggcatc tgggtgaaat tggtcggttg tgttccagcc cgtactgagc tgacattttt
721 catgtgggtc tgtcatcttg aacatggtat tcagcgcatg cagaatatag ctctgtactg
781 ttaacctcaa aaaaaaaaaa aaaaaaa

```

CloneName:RAP82

Size: 1269 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: Unknown

Sequence Specification: Unknown protein [Oryza sativa]

Protein: Unknown protien

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar)

Sequencing Date: 2003/3/30

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP82 tmpseq_0 1269 bp linear 30-MAR-2003

DEFINITION No definition line found.

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM Oryza sativa.
 Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1269

CDS 150..575,66..575
 /note="predicted coding region"
 /translation="MVMPKVVRWPEAGDAAAIAAHFEAISGISGVVGAITYTHIPIIA

PKSNVASYNNRRHTERNQKTSYSMTVQCVVDSTGAFDRTCFAFLARGPTPDEEVARES
RRCXLHRGVXRPDPGPGVGGRRRELXRSWTGCSCPTPTRT"

BASE COUNT 262 a 411 c 349 g 244 t 3 others

ORIGIN

```
1 gcgcccgcac cccggtgcgc aagcgcgctc ccgtctgcgt ctggcgccct gccacggggg
61 agcccctgag gctggtgtcc aagcgccttc gcctcgggat ctccacctgc cacaagctcg
121 tgctcgaggt ctgcgccgcg ctcaaggcca tggatgatgc caagtggtg cgctggcccc
181 aggcggcgca cgcggcgccc atcgcgcgca acttcgaggc catctccggg atctccggcg
241 tegtggcgca gatctacacc accacatcc ccatcatcgc gcccaagtcc aacgtcgctc
301 cctactacaa cgcgccccac acggagcgca accagaagac ctctactcc atgaccgtcc
361 agtgcgctgt cgactccacc ggcgccttcg accgaacgtg tgcattcggg ctggccccgg
421 gtccaactcc cgacgaggag gtggctcgag aaagtcggcg ctgtancctg caccgcggcg
481 ttccccggcc tgatccaggg ccagtgggtg gtcggcgcg ggagcttnc cgctcatgga
541 ctggatgctc gtgccctaca ccaccagaa cctgacgtgg gcgcagcaca tgctcaacga
601 gaaggtcgcc gccgtgcgcy gcgtggcgcy cgacgcgttc gagcgctca agcgcgggtg
661 gggctgcctc cagaagcgca ccgaggtgaa gctgctcgac ctccccacc tgctcggcgc
721 ctgctgcgtc ctccacaaca tctgcgagcy cagcggcgac gccgtcgtc acgccgacga
781 ctgcgccttc gacctcttcg acgacgacat ggtcgcgag aacgccgtcc gctcctccgc
841 cgccgcgag gcccgcgag ccacgcccc caacctctc cacagcggcg gcggcgcatc
901 cttctctgta tcaagcatca tgcgcttct tggtcgac aacagcgata ccaaacaac
961 caacaaaat aaaaaagaaa aacaagattc agtttttagg tgtataggag gagcttctcc
1021 atttttgtc ggaaatggag cagtgaacag ttttcgctt tatcgtcagg agggacagga
1081 aagttcagag tcctagtagt ctcaaagtaa cattagttc ttggttgat ttctgattga
1141 tttggttctt ttagatcttg agagattgtt tttcatggg ttgtaataa ttgcctgcat
1201 aatcttgat cccccagatt atcaattaat caaacctgaa aaagaaaatc aaaaaaaaa
1261 aaaaaaaaa
```

CloneName:RAP94

Size: 1059 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsRPS4

Sequence Specification: 40S ribosomal protein S4(Oryza sativa)

Protein: 40S ribosomal protein S4

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date:

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang, Min Kyeong Kim, Hak Soo Suh,

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP94 OsRPS4 tmpseq_0 1059 bp linear 28-DEC-2002
DEFINITION 40S ribosomal protein S4 (Oryza sativa)
ACCESSION tmpseq_0
SOURCE Unknown.
ORGANISM Oryza sativa
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..1059
 CDS 60..857,60..857
 /note="predicted coding region"
 /translation="MARGLKKHLKRLNAPKHWMLDKLGGAFAPKPSGPHKSRECLPL
 ILIIRNRLKYALTYREVISILMQRHVLVDGKVRTDKTYPAGFMDVISIPKTGENYRLL
 YDTKGRFRLQSVKDEDAKFKLCKVRSVQFGQKIPYLNTYDGRITIRYPDPIIKANDTI
 KIDLETNKIVDFIKFDVGNVVMVTGGRNTGRVGVIKNREKHKGSFETIHVEDALGHQF
 ATRLGNVFTIGKGNKPWVSLPKGKGIKLSIIEEQRKRDAQAANA"

BASE COUNT 270 a 265 c 277 g 247 t

ORIGIN

```

1 gaggacgaag cagcaggcgg cggcggcaga gcacggcgac ctagcccgac ctgcgaacca
61 tggcaagggg tttgaagaag catctgaaga ggctcaatgc gccaagcat tggatgctcg
121 acaagcttgg tggagctttt gcccccaagc catcttctgg tcctcacaag tccaggggat
181 gcctgcctct gatcctcatt atcaggaaca ggctcaagta tgctctgaca taccgtgagg
241 ttattttctat cctcatgcag cgccatgtct tggttgatgg caaggtcagg actgacaaga
301 cctaccgcagc tggtttcatg gatgtcattt ccatcccaa gactggtgag aactacaggc
361 ttctgtacga caccaaggga cgtttccgcc ttcagtctgt caaggatgag gatgctaagt
421 tcaagctttg caaggttcgg tctgtgcagt ttggccagaa gggaatcccc tacctgaaca
481 cctatgatgg tcgcaccatc cgctaccctg acccgatcat caaggcaaac gacacaatca
541 agatcgatct ggagaccaac aagattgtcg acttcatcaa gtttgatggt ggcaatgttg
601 tcatggtgac tggaggaagg aacacaggcc gtggtggtgt gatcaagaac agggagaagc
661 ataaaggcag cttcgagacc atccacgttg aggatgccct gggccaccaa ttcgccacc
721 gtctgggcaa tgtgttcacc attggcaagg gcaacaagcc ttgggtgagc ctgcccaagg
781 gcaagggcat caagctcagc atcatcgagg agcaaaggaa gcgggatgct gccgccagg
841 ctgctgcaa cgcttaaaat ctgctgctgc gtctgcctgg agttttgcta tagcgagtgg
901 tttgcaagga tatagaacta tetgccccag actatccttt tttgagctct tttgcctaat
961 gttatgttga tcaattcgcg aactcatggt tgctgctagc tgtaatgcga ctgtttgctt
1021 tatttaagc gccttttaag aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

CloneName:RAP100

Size: 1084 bp

Vector: pBluescript SK (-); 4 days after pollination cDNA library Uni-ZAP XR

Identifier: OsVATE

Sequence Specification: Vacuolar ATP synthase subunit E (V-ATPase E subunit)
 (Vacuolar proton pump E subunit).

Protein: Vacuolar ATP synthase subunit E (V-ATPase E subunit)

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Sequencing Date: 2002/09/12

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP100 (OsVATE) tmpseq_0 1084 bp

12-SEP-2002

DEFINITION Vacuolar ATP synthase subunit E (V-ATPase E subunit) (Vacuolar proton pump E subunit).

ACCESSION tmpseq_0

SOURCE Unknown.

ORGANISM *Oryza saiva*
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers

source	1..1084
CDS	124..816,124..816

/note="predicted coding region"

/translation="MNDADVAKQIQMVRFIRQEAEEKASEISVSAEEEFNIEKLQLV
EAEKKIRQEYERKEKQVEVRKKIEYSMLNASRIKVLQAQDDLNSMKEDATKQLLR
VSHNHHEYKNLLKELVVQGLLRLKEPAVLLRCRKEDHHHVESVLHSAKNEYASKAEVH
HPEILVDHDVYLPSPSSHDSHERFCSSGGVVLASRDGKIVCENTLDARLEVVFRKKLP
EIRKLLFGQVTA"

BASE COUNT 308 a 254 c 264 g 258 t

ORIGIN

```

1 gtggactcct ctctcctccc cttcctccc ctccccgcg cgcggtggtg gttcgccgga
61 gcgcagcagc agcagcagca aaaggccgcg agggccgcg tcgggatccc cgccgccgcc
121 aagatgaacg acgccgatgt cgccaagcag atccagcaga tggtgcggtt catccgccag
181 gaggccgagg agaaggccag cgagatctcc gtctccgccg aggaggagt caatattgag
241 aagcttcaac ttggtgaagc tgagaaaaag aagatcaggc aagaatatga acggaaagag
301 aagcaagtcg aagttagaaa gaaaattgag tactctatgc agctgaatgc ttctcgcatc
361 aaagtgtctc aagctcagga tgatttggtt aattccatga aagaggatgc tacaagcaa
421 ctctgcgtg tcagccacaa ccaccatgaa tacaagaacc tttgaaaga actcgtcgtt
481 cagggtttgc ttcggttgaa agagccagcg gtacttctcc gttgcgcaa agaagaccat
541 catcatgtgg aatctgtact gcattcagca aagaatgaat atgcgtcaaa agcagaagtt
601 catcaccag agatacttgt tgaccacgat gtgtacctac cgccttctcc aagctctcat
661 gattcccatg agaggttttg ctctggagggt gttgtgctgg cttctcgaga tggaaagatt
721 gtgtgtgaga acacacttga tgccaggctg gaagttgtct tccgcaagaa attaccggag
781 atccggaagc ttcttttgg tcaggtgacg gcataatctg tgcagtgaat ttcagctgcg
841 gtatagctgc ttccatgtaa ttagctgcag gttcgaacct gcagctgcaa ggaatttcac
901 ctgtttgcgc caaattgatt gtttaaagta ttcacccgct atgtaaaaca ctacctattt
961 gttcattatt atcgccgagc accaactatt cgcacgcttg tttgctcaga ggtataataa
1021 taataataaa ggacggtcaa acgttcatt gctgtgtaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1081 aaaa

```

CloneName:RAP1

Size: 1731 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsPGM

Sequence Specification: putative phosphoglucomutase

Protein: putative phosphoglucomutase [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Complete Sequencing Date: 2004/3/11

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP1 OsPGM tmpseq_0 1731 bp linear 11-MAR-2004
DEFINITION putative phosphoglucomutase [Oryza sativa]
ACCESSION tmpseq_0
SOURCE Unknown.
ORGANISM Unknown.
Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1731
CDS 1..180,1..180
/note="predicted coding region"
/translation="MPTSGALDRVADKLNVPFFEVPTGWKFFGNLMDAGKLSICGEES
FGTGS DHIREK DGIW"
BASE COUNT 521 a 301 c 352 g 557 t
ORIGIN

```
1 atgccaacga gtggtgctct tgatcgtgta gctgataaat tgaatgttcc gttctttgag
61 gtaccaacag gatggaatt ttttgaaac ctaatggatg caggtaaatt gtctatatgt
121 ggagagaaa gttttgggac aggatctgat cacatcaggg agaaggatgg catatggtaa
181 aatattgttt atacatggat gctttttcta ttagatatcc ttactgtcct agtatccagt
241 tgttgcctag aaatgcaaaa acagagataa gtgcatacaga attgctttct atgcatgctt
301 gatagtttgc actcttttct tgagaactgt ctgcatggaa actagtcaca ctcccgctaa
361 ctactgactt tcagggtctg tctagcttgg ctgtccatac ttgcacaccg gaacaaggat
421 aagaaggccg gggagagatt agtgtcagtg gaagatgtag ctagggaaca ctgggcaacc
481 tatggaagga atttcttctc cagatatgat tatgaggat tttatcttcc ataataaatt
541 tctgaaatga taatttatga gagtttatct tgcgtaccga ataaaatttc tggtaacatta
601 tttcaaccca gaaattccaa tgaatcacta atctgttact gtacaggagt gtgaatctga
661 gagtgcaaat aagatgatgg agcatcttag agatgtgatc gcaaaaagca agcctggaga
721 gaaatattgt tggttattat agaattgtgc ttgtatgttc cgtagtgatg atatgtatga
781 tggttaccag aaaggctaata gaattattga ccttatgatg taggaaacta tacccttcag
841 tttgccgatg atttcagtta cactgatccg gttggcgctc tctctctctc tctcccttga
901 acaccatgt gtgcgtgttt tgggtgatat gtcagtcatg gtgcgcaatt gaaatttaca
961 ttttccctaa atgttacagg tggatggtag cactgtatct aaacaagggc ttcgatttgt
1021 attcaccgat gtagctagga ttatcttccg cctttcggta cacagctatc actgatattt
1081 ttttctcctc tatcttgttg ttggatttgc tgcttctagg cgctcacttg tttgctcaaa
1141 cttccttctc ttcttaatgc tgagaagcat gaatctttca catattcact aaaagccact
1201 gattttgccc acttgtttta caatttagta ttttttctc ttatagggaa ccggatctgc
1261 tggagcaaca atccgtatat acattgagca attcagatct gatgcctcaa agcatgatct
1321 ggatgcacaa atagctttga agcctttaat agacctagct ctatctgttt caaagttgaa
1381 ggacttcact ggaagagata agcctactgt cataacataa acataccggg gacattagca
1441 atgttaccac ctgtgtatct ttttatttct ttgtttttat agccccttcc aaccgatgaa
1501 ccaataatgt aatcttaggc caagttttgt actgagttga tggcaaacctg tatcttggag
1561 gtacctttca ttgaacatag tatgcaggaa tgaataagct tttagagcaa tggatcatat
1621 ttcagaacaa actgtatctt gatgttctcg aatttatcga attcatcttg agggaaaaaaa
1681 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a
```

CloneName:RAP33

Size: 838bp

Vector: pBluescript SK (-)
 Identifier: OsCKA
 Sequence Specification: putative casein kinase
 Protein: putative casein kinase [*Oryza sativa*]
 Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)
 CFGC project number: CG1213
 Corresponding Author: Sang-Gu Kang
 Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh
 kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498
 Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP33 OsCKAtmpseq_0 838 bp linear 11-MAR-2004
 DEFINITION putative casein kinase I [*Oryza sativa*]
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE Unknown.
 ORGANISM Unknown.
 Unclassified.
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..838
 CDS 275..406,86..406
 /note="predicted coding region"
 /translation="MQLRHQSTGLETRSSLTKTARNVHDDPTLRTFFERLSISADRRK"
 BASE COUNT 276 a 183 c 164 g 215 t
 ORIGIN
 1 attctctggt acagtcgac catttgctag aagaactggc tctggttctg gccattacgg
 61 agagcacaca aagcacagaa atatattgga ttcattactt gcaccaaga cggctgttga
 121 tttagataaa agaaggccca catcatcatc tcgtaatggg agcacatcaa ggaaggctct
 181 tttgtcaagc agcagaccaa gttctggaga tcccattgat ccgaaccgca gtaacctaat
 241 tccaaccagc agtggcagca gtcgcccac aactatgcag aggcttcacc agtcaacag
 301 acttgagacc agtcctcgc ttaccaaaac tgcaagaaat gtccatgatg atcccacttt
 361 gaggaccttt gaacgccttt caatcagtgc tgacagaagg aaataatgct tcgaagagca
 421 aaagatgtga gttgctgctc cagtggaggac actggggatt ccttcacacg atgattaccg
 481 atcaacaagt aaaaaccatt ctgtgctaca gatgatgctg agatagctt aagagtgaag
 541 tttgcttact gaatcttggc gcaaaagaaa tggtaaaga aatcatttta cacgccattc
 601 agaagaacc ggaccagcaa ctgtgctggg ccaattaatg ctgatgttga tcaaatattt
 661 gtagaatgt tattcgaaat aaagcagttc attactagca aatatgtac tatcacgtag
 721 tatttccttt gtgcactgca actagaactt ctgccactct gccactatac tcttaagata
 781 atcaatatcc tttttgcct tagtgccctt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa

CloneName:RAP44

Size: 2438 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsSDCCP

Sequence Specification: Cu/Zn-superoxide dismutase copper chaperone precursor

Protein: Cu/Zn-superoxide dismutase copper chaperone precursor [*Glycine max*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

1681 gaatggaatc gaacaaaacc tttgttcacc tcaactggtg gtcaggtagg gggggccatt
1741 ccaactacttg cattcacttc attagatatt actcctagac ttgaaaaact gtggttgtgt
1801 ttagttccac gctaaaattg gaagtttgaa aaaattgaaa cgatgtgatg aaaaagtgg
1861 aaatttgtgt gtgtagaaaa gtttgatgtg acggaaaagt tggaatctaa acatggccta
1921 tatgacgatt ggcagcaaat taaagtcaca gcatttgttt tttttagtgt aagtgttatt
1981 gaagtatcgt gctatattta ttgaagtgtc ccatccttta gtaacaaagt gataactgga
2041 agaacatact tcaaagtctg tttttcccta attaagcact tgctttgccc tocaatgaaa
2101 gctggaaaat atcatatctt cttttaaag ttttcaagg tagtgctatt ttttagtaat
2161 ttcggtatgt gcctgatttt tetgaaacag cctcttggtg acctgggaac actagaagct
2221 ggagagaagg gtgaagccca attttcagct tcaaagaga aactgaaagt tgttgacttg
2281 attggccgct ctattgcgtt gtatgccact gaggacagat cagatcctgg cattgcagct
2341 gccgtgattg caagaagcgc tggggttggc gagaactaca agaagctgtg cacctgtgat
2401 ggtgtcacca tttgggagtc aaaaaaaaa aaaaaaaaa

CloneName:RAP6

Size: 4800 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsSPKG

Sequence Specification: OSKgamma mRNA for shaggy-related protein kinase gamm

Protein: *Oryza sativa* OSKgamma mRNA for shaggy-related protein kinase gamm

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

AGAGGAGGAGGCCGGCTAGCGAGCGAGCGAGAGAGAGGGGAGAAGAAGAGGTGGG
ACAGCCGGGAGATCCATCCCTGTGGAGAGGAGGGAGGAGGAAGGAGCGTTGGAGGAGGAGAGGTTGACCGATAGATCC
ATTGCGGATTTGAGTGTGATGCANAGCTGATCCCCATCGNTTAGCTTTTTATAAGANATGGGTTCACTAGGGGTTGCN
CCGTCTGG

328L

GATGTCGGGCTTGCAGGGACTTTGNCAAGGCAGGAGCTGACCCGACGAAGAG
CGAAGGCGCTATATCCGGGCTCTTTCTTGCTAGATCTATCGGTTATCCAAGTGCAGATGAAAGAAGAAAATGGAGAGAG
AGAGAGAGAGAGAGAGAGTTAATGTGCGACGTGATTACTGAGTCACCGACTTGGAGATGGATAAAAATATGGTGGTCCAA
ATTAAAATGTAAGTTAGCTATTGTGTAATGAAAATGGTTAAAGGATAACATTATATGAAAATTTGTAAGAATTTTTTA
GAATACATAGTATGGATTGTAATTTACTCCTTTTGTCCAAAAAACGAATGTAGAAGTGTGGCACATTTCTAGTACA
ACAAATCTGAACATATGCATGTCTAGATTCGTTTTACTAGGATGTGTACATCCAGTCCTAAGTTGGTTTTTTATGGGAC
GAAGGGAGTACTTTTTTTTTTCTAGCACA

M13F

TTTTTT
TTTTTTTTTTTTTAAAATTTTTATGATTAGTATTTTTATTGTTATTAGATGATAAACATGAATAATTTTTACGTGTG
ACTAATTTATTTTAAATTTTTTCATAAACTTTTCAAAGACGGACGGTCAAAGTTTTGACATTTATTTTAGGGCAAGCTAA
TATTTTAAAAGCTATTTCTTTATATAACTGGNGACCCACGTATCATCAATACTTAGGAAAAAATTTAAAAGATTGTGTCG

ACGACAAATTCCTCATACCACCTGCAACTGCTAACTGTCACTCTACGCACCGCCATCACCGCTCTTTCTCCATGAGCCAC
CATCGTTCCTCCCCTTTGCCTTACATGCACAGCCTTAACCTCTAGTAACCGACAAGTCTTTTTCTCCTCCCCTATCATGA
TGCACACTATTGTTATGGTTGCAATTGAGGTCGGAGATGTCGGGCTTGCAGGGACTTTGGAAGGCAGGAGCTGACCCGAC
GAAGAGCGAAGGCCTATATCCGGGCTCTTTCTTGTAGATCTATCGGTTATCCAAGTGTGAGATGAAAGAAGAAAATGG
AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGTAAATGTGCGACGTGATTACTGAGTACCCGGACTTGGAGATGGATAAAATATGGTGG
NCCAAATTAATGTAAGTTAGCTATTGTGTAATGAAAATGGTTAAGGATACATATATGAAATTTGTAGAATTTTAA

CloneName:RAP14

Size: 1550 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsRPL18a

Sequence Specification: putative ribosomal protein L18a

Protein: putative ribosomal protein L18a [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13F

GTCGACTGGTATTTCGATAANCTTGATATCGAATTCGCGGCCGCCAAAACAGGCTTCATATGGAT
AAGATTCATCTTAAGTTCTGAACTACNACTACACCATACTGGCAGATCTTACAGAACATGGAAGCGACTTGGATCACAT
AAACAAGTTTGGCCTTGAAGCTTTGAAGTTGTCTTCAGCTTTCTGGTAGGGGGCCCTGACCTTCCTGTACACCAGTGGGA
ACTTGATATCTGACTTGTGGAACCTGCTTANTGTTGTACAGCTTGCAGAGTTAAAGTGGACACNTATCAGTCTTGATGAT
CTGAATGCAAGGGAATCTGACACGGTGGCGGGAANCCATNTCAGTGTACATCTGCTCAACGGCACCATTTGAGGGTGG

CloneName:RAP62

Size: 2300bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsPPFP

Sequence Specification :phosphoinositide phosphatase family protein

Protein:phosphoinositide phosphatase family protein [*Arabidopsis thaliana*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Complete Sequencing Date: 2002/09/25

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

ACGGATCCGGG

GGGCCGGGCCACCGATCCAAACGTAACCGAGCGCGCACACACACGCCACGGCCTCGCCGCCGATGGCGACGGATGC
CGCCGACGAGGCGCCGCTGCTCGCCGAGGAGCCCCCGCCCGCGCCTGCAGCCGCGAGCTCGAGCTGCGGGAGTTC
GCGACCGCTACGTGATCCGCTCGGTGACGGCGGGCGCCCTCGCCGCTCTCCCGCTCCAACGGCTCCCTCCGCCCTC
TCCGCAGAGGAAGCGGCTGCGGGAAGCGATTGTAGGGTGTGCAAGATTTACGGAGTGGCTGGCGTGATCAGGTTGCTCGC
CGGAAGCTATGTACTTGTCACTTCTCAAAGGGACGCTGGTTCATATCAGGGATCCCCTGTTTACAATGTGAACTCGA
TGAAATCTTATGCTGCAACGAGGCTATAAAGCATTAACTGCACAAGAAAAAGGGATGAGGCATATTTTCATGTCTCTC
CTGAAAATCGCAGAACTACTCATGGGCTTTATTACTCTTATGACAGGGATTGACACTGAACTTGCAGAGGGCATCAA
GTTGCTGCTGGGCGGTACATAAGCCACTCTGAAACAGGCTGACCCACGTTTCGTGGGACAAAAATTTGCTAGAGGA
GTTATTGAAGCAAACCTGATGAATTATCATCC

M13F

NTTTTTNTTTTTTTTTTTTTTTTTGGGTCGTGTAAGCTACTCATTTAGAACATACATTTGCAGTT
TTGCATACTATCATCCAAGCAGTCAATTACTAATAGGAAGAAATCTGGCGTTACAGATTAACCTCAGTTTACAGGATCAG
AAGGCCAACTGCCGTTTATTACCTATTGAGAATGATTACCAACCATGTATCCATGGCTCATACAAGATCTACTGAGAAT
GTGTACTGAAAAAAGGAACCTGGGCTGCTTAATTTGAGGTGTTAGTCTACAGGGCAAGTTGGCTCTTATAGATGTAC
TACTTGCTGAGGTTCTTTTTCCGTTGAGTCTGAGAAGGATTACAAATTTAGGGGTGGGGTGGTTCATGTTAGTGCA
TTGGTATAAACAAAGAATTATATGAGACCACACAAACGAGGCTTAGAGCAAACTGCTTCCCATTGCTTTCACCAAGGC
TACCCTCCAGCCGTCAAACCCGCACAGATAATGGAGGTGATGAAGTGTGTGCATTCCGTCCAACTTGACTAAGAGTGA
ATGTGGTGGCAGTAATCCCACCAACTATGATTGCTGAAGCCACAGGGAAGATACGTTGCAGATTCAAATCCACCATTTG
AAAAGGAGAAGAGATGCCTTTGCTGACTGTATAGTACCCGCTGATAAGGTCTAGAGCATCTTGTCTCACTCCGTCATGAA
AATTAT

CloneName:RAP67

Size: 1000 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsRSC

Sequence Specification: putative component of a tRNA splicing complex

Protein:putative component of a tRNA splicing complex [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GATCATCGCTCATCATCACAAATCATCAACAGCTCAGTTCATCCGTGCCGT
GTTAATTTAGCTAGCTAGCAATCGAGCTCAGTTTTCTAATTAATTGCTAGCTCGATTGCTCGGTGATCTCTTCAATTC
GCCGGAGCTTGAATCAATCGAGAGATTAGAGTGTACGNGAGAGCTAGCGGGAGATCGTCGGCGCGGATGGTGAACACGG
CGGCGGNGCGCGGNGAAGGGCAGCAGGGGCAGCGGGCTGCCGCTGGCGTGCCTGAACCACATCAGCATCGTGTGCAGG
TCGTTGCAGGAGTCGCTCCCTTCTACACCGACGTGCTCGGCTTCTTCCCCGATCCGTCGCCCCGGATCCTTCGACTTCG
ACGGCGCATGGCTGTTAATTATGGGAATTGGTATCCATCTGCTTCAGNGCTGAAGANCCTGACAGCCTGCCAGGGAAAA
CAGAGATCCAATC

221U

ATCGTGTGCAGGTCGTTGCAGGAGTCGCTCACCTTCTACACCGACGTGCTCGGCTTCTTCCCCGTCGTCGCCCCG
GATCCTTCGACTTCGACGGCGCATGGCTGTTAATTATGGGATTGGTATCCATCTGCTTCAGGCTGAAGATCCTGACAGC

CTGCCAGGGAAAACAGAGATCAATCCTAAAGATAATCACATCTCCTTCCAGTGTGAGAGCATGGTGGCAGTGGAGCGGG
GCTGAAGGAGCTAGGCATCCCTTACATACAACGATGTGTGGAGGAAGGTGGCATCTATGTGGACCAAATCTTCTCCACG
ATCCCCGATGGCTTCATGATCGAGATCTGCAACTGCGACAACCTCCCCGTCGTCGCCCTCGGCGCCGACCAGCCGCTCGTC
ATGGCCGCCTGCCAAGAAGGGCCGCC

M13F

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTGCTTAATTTATTCTTTACTTATAACAAAGGGGATTACAT
TGCCCAACACCATAGTACTCATGTACAAACTCCCAGTGAGCCCAATCGCATAACCTGACAACCTGATCTAGCAAACCACAA
CCGTTTCATTGCATTTAGCGATGAAAGAGAGCTGACCACTAACCCACATACATGCTATTTAAGTGGACCAACCACCAACC
ACGTACTCCATCCTTGCTATAAAAAACAAACCTAGAATCAGATATGACATATTATAGTACTGTGAATCTGGACATATATA
TGTCTAGATTTCGTAGTATGAAGGTGTGTACATCCGATCCTAGATTGGTTTTTTTTACGAGAGAAGGGAGTAGTAAATAAC
CTATTTTGGTGAGTTTGTACATCAGCCTACTTGCATCCCTAATTGCATTGCAGCCACACAAGCATGTACACAATCTCTCC
TGCCTTTAGGCGCACGAAGATGTGT

CloneName:RAP71

Size: 1400 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsLGLP

Sequence Specification: lactoylglutathione lyase family protein / glyoxalase I family protein

Protein: lactoylglutathione lyase family protein / glyoxalase I family protein
[Arabidopsisthaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

CloneName:RAP72

Size: 1400bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsGB200

Sequence Specification: putative gibberelin 20-oxidase

Protein:putative gibberelin 20-oxidase [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GAGGCGTGGCAGAGGCACGGCTTCTTCCT
GGTGGTTAACACGGCATCGAGCGCGCTGCTGGAGGAGGCGCACCGGTGCATGGACGCCTTCTTCACGCTGCCGCTGG
GGGAGAAGCAGCGGGCGCAGCGCGCGCGGGGAGAGCTGCGGCTACGCCAGCAGCTTCACGGGGCGCTTCGCGTCCAAG
CTGCCGTGGAAGGAGACGCTGTCGTTCCGGTACTCATCGGCTGGAGATGAAGAGGGCGAGGAGGGCGTGGGTGAGTACCT
GGTGCAGAACTCGGGCGGAGCACGGGCGGGCGCTGGGCGAGGTGTACTCGCGCTACTGCCACGAGATGAGCCGCCTGT
CGCTGGAGCTGATGGAGGTGCTCGGGGAGAGCCTGGGCATCGTCGGAGACCGGCGCCACTACTTCCGGCGATTCTTCCAG
CGCAACGACTCCATCATGCGCTCAACTACTACCCGGCTGCCAGAGCCACTCGACACGCTGGGCACCGGTCCGCACTG
CGACCCACCTCGCTCACCATCTCCACCAGGACCACGTCGGCGGCCTGGANGTGTGGGCGGAAGGGC

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTTAGAAATAATCAATATATTTTCNACATATGTATTACATCTA
TATATAATATAATATCGTACGACCAACAATAGTCGACATGCATGTATATATAGATCATAGATGGGTACGTGCAAACCAA
TGATATATGGAATTAACAGGCCGGCCGGGATAGATTAGATAGATAGATCTAATTAAGCAAAGCATGCATGTAGGAGTA
GCTAGGAACTGAAATAATCGCCAGATATATATCTAAGCCGGAAGTAGTAATTAATTAATTAATGATGATCGATCG
ATGCTAATGGTATAGTAGTGTAAAGATGGATGGATGGATAGATAATAGGAGTATATAGCTAGGACTAGGAGCTAGGAGTAT
ATTGTTGGTTGCAGGTGACGATGATGATTAAGCCAGTCGGAGAAAGCCCTGAAGCGTGCAGCATGTCCGGCCTGTAGTGGCG
CTGCGTGAAGTCCAGCAGCGCCCGCCACGTGAAGTCCGGGTACACCCCTGGGTGGTGGTTCGTCGACCAGCTCCTCCGGCG
GGCGCACCCGTTGCCATCTCCGGGCAGAGGAAGAAGCCAGCGAGCGGCGAGGGCGCGCTGCTGTTGACGACCGCCCGG
TGCAGGCAGCTGCGGTACTGGCGTTGGAGAGGCCATGAAGGTGTCCCGACGTTGACGCAC

CloneName:RAP75

Size: 2000 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsAFRH

Sequence Specification: putative ATP-dependent RNA helicase

Protein:putative ATP-dependent RNA helicase [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

AGGATGTTGACATTTATAAGGAATATGGAATTACAGCGTTGCAACTAGGCAATCCC
TTGAAGCTTGGTCGGCTACCGAACTAAATTTGAGCCTTGTGAAGGTACAATTGAGTACATCTGTCGTCATGAAGGAGAA
GGTGCAATCCTTGTGTTCCCTTACTGGTTGGGATGAAATTTGAAACTTTTGGATAAGATTAAGGGGAATAATCTCCTTGG
AAATTCGAATAGATTCCTGGTTATTCACCTCCATGGTTCATGCCCACTGTCAATCAGCGTGAAATTTTGGATAGACCAC
CAGCCAATATGAGGAAAATGTTTTGGCAACAAATATTGCAGAAAGCAGTATTACAATAGATGATGTTGTCTATGTAATT
GATTGTGGCAAAACAAAGGAAACAAGTTATGATGCCTTAAATAAGCTTGCATGCCTTCTACCATCATGGATATCAAAGC
TTCTGCCCATCAGAGGCGAGGTCTGTCAGGACGTGTTACGCTGGTGTGCTATANGCCTGTATCCTAAAGTCATTTAT
GATGCGATGCCACAGTTTCAGTTACCTGAAATTTTAGGACTCCTTTGCAAGAGCTCTGTCTTACTATCAAAGCTTACAG
CTTGGAAGTGTANCTCTTTCTAACCAANGGACTGC

M13F

TTTTTTTTTTTT

TTTTTTTTAAAAAGCAACTTGCTCCCGGAAAAATCACAAAAATAAGGGGTCAACTCTAACAGCAAACGAAATTGAAGGG
AGTATACAAAAGCACTCCCTGGTATAGCTGTTATTTTAGTTCTAAAACCTGCTATATGGAACCGGTATAGATAGCATCTAG
TGGTGAACGTTTTGGCTGTGCAGCAGTTCTACTGTGCCGCCACAACGCCTTTTCCTTCAGAAAAATATGTCAAGTGCAGG
CTCCTCGATCTTCTCTGGAGGAGTTGTCCAATTCACCTCTTAATCTCTGGATCAACTCTATGATACGCCCTGGTGCAG
AGAAATGAAGATACCCCCAAGCATCTCAATGCCTTCTCCAGTTTTGCTCTCACTGAGAGAACCCAAAGAGGAGAAGA
GCATAGTCGAAATGTTTGTGAATCCCTGACATAGATGCTAGCAGTTTTAACCTTCTCGCTATAAACAGATAAGGCAA
TGGGAATTGGTGAATCCCGCATTGACTGATGATGGATGGATATCCACTTGCACACATCTTGGTGTAAAAATGCTGTCC
TCTTGCTCGTCTTTTGCCTGAACGACATTTGGGTAAAGCCAGCACATAGGACAGCACATACCATCTCCAGATCCTTT
CCATAANA

CloneName:RAP81

Size: 2200 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsARGP

Sequence Specification: uxin-regulated GH3 protein,

Protein:uxin-regulated GH3 protein, putative[*Arabidopsis thaliana*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GTACCT

CCGCCGCTTCTNNGCGGGCGCCGCGGCGACGACGACGACGCTGCGAGACGCATTCAAGAGGGCGGTCCCGTGTCCGGCT
ACGAGGATGTCAAGCCGTACGTCGACCGCGTCCGCGTCCGCGGGCGAGCCCTCTCTGCCCTCTCTGTCCGACCCCATC
ACCTGCCTCAGCAGGAGCTCCGGCAGCTCCGGCGGGCAGCAGAAGCTGTTGCCGTCCACCGCGGAGGAGCTCGACAGGAA
GGTATTCTTCTATGCTGTCCAGGCGCTCGTGAGGAACATGAGCTTGACACCCGATCATGGTGAAGACGACNACNGCGGTG
GTGGCGAGGGAATGTACCTCATGTTCCGCTTCCACGGTGACCGGACATTGTCTGGCCTGCACATCCAGTCTGTCTAACT
ACCTACTACCACANAGACAGT

T7

NTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGGTTGAAACTTGGACTTGAGAACACAGTCAAT
CAGTAAATTCGAGGTAACCTTATAAACCTCGGAGCAAGGGTTGTGTCTACAGTTACGCCAAAGGCTATGTGGAAGGAGC
AGTACAGAAAGTTCTTTCTGAATTTACAAGAAAACACGAAATGATACTCTGAGACCAAATTCAGACTGAAAAAGGACGT
GCCAAGATGGAGATGAGTGGATCATCCTTCTCCAGTGCACGAATTGCAATGCTGCGCCACTTATTCGTGATCAGGACTGA
ACTTTTCATAAGGAACATGCCCTCTCTGTACCGAGACGCCAACCGAACAGGAGTACAATTATTATCTCCTCTCAAAT
TCGGCTGAACGACAGCTGGGAGTTGCTTGGCTGAAAAACCTTCTACAACCCTTCTCCTCAATACCATCATCGCTCTTT
CGACCGAATGGCTGTCGGAGTTTTGTATTGACTCGCTGATGTCCCTCTAGACACAAAGAAGTCCATCAGAGCATCAAACG
CACCATGGCTAAGAATCCTTATCTCGAGCGCACTGATTGAGCCAGGTGCCAATTTTGGGTACATTTTCATCGAAGTGG
TCTTCCACTGCCAAGCAACACTTCTCCATGGCAGTTTGGTGCATGTCAATGGCAACATTGCTATCACAGGTATTGGTCAG
CTCCAGAAAAGGATATAGTGGCCAGGCAAGNGGATATGTCTGCATATGCAGNGCNTACCACAAGCATGT

CloneName:RAP83

Size: 1600 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsNTR

Sequence Specification: nucleotide translocator

Protein:nucleotide translocator

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GTGCAGGTTGTTTTCTGAAGATGGCTGAC

GATTTGGGCCCTCCACTGTGCTCCAGAAGATACATGGGCAGTCCATGATGTTTCAGCAAGATCTCACCTTATTCTTTGAT
GAAGAATCCCGCACTCTACAATGCCAACACTTCTTACAGTGTGCCTCTGAAGTCATACAATGGGATGGATGGGAACAATG
GGTTCTCATCTGTACATCTGTATCCCGAGTCTTTGCTTCTGCCCAAGGAGAAAGGTCTTTCTGGGTTTATGATTGAC
TTCATGATGGGTGGAGTTTCAGCTGCTGTCTCCAAGACTGCTGCTGCCCATGAGCGAATCAAGCTTCTCATTCAAAA
CCAGGATGAAATGATCAAGAGTGGTAGGCTCTCTCACCATACAAAGGTATTGCGGACTGCTTTGGCCGCACAATTAAGG
ATGAAGTGTGATTGCACTGTGGAGAGGGAACACTGCTAATGTCATCCGTTACTTTCTACCCAGGCCCTGAACTTTGCC
TTCAAAGACCATTTCAGCGCATGTTCAACTTTAAAAAGGACAAGGATGGTTACTGGAAGTGGTTGCTGGAAACCTGGC
TTCTGGANGAGCTGCTGGGGCTGCTCTCCCTCTTTGGGAATCTCTGGATATGCTCGACTCGTCTGGCTATGATGCAAGCT
GCAA

M13F

TTTTTTTTTTTTTTTT

TTTTTGATGNTTTCAACTAGGAAAACCTCGTCTTGCTCGATCCCCCAACAAAAAGGCATAAGCATCTGCCACCGATTTA
CACACTCAGAAACCTCACCTGACGCCTAATAACATGTAACGGNGTCCATACGTTAAATTTATTTAAACGCAACAGCATC
CGAAAGCACCTAATATGTCCATAGTTCCTCCACTGCTTATCATCATCATCTAGTCTTAGCCACCACCAGAACCGTACTTCT
TACCAAAGACGACCACCTGCAGCTTGTATATCCAGCAAGCACACCAGCACCAGCAACAGCAGCAGAAATGTTAGCACCA
GCGCCCTTGAAGAGTGACTTCGCACCCTCCTTCGCAACAATCTGCTTGAACGCATCCAAGGAGCTGTTGACTTGACAGC
CTCACCAGATGTATCATCATCCGACGACGAACAGTGTGATTGGGTATGAAGCAAGGCCAGCACCATGGTAATGCCCC
AACCAAGTAAGAAGCTGGCAAGGAAGTTATCCTGAAGTTGCCAACAAAGAACTGGCTTGAGAGAATCATACATTCCA
AAGTACAGCCCACGATAGACAATGATACCAACACAGGAGATGTTGAATCCACGGNACAGACCAGCAATACCATCAGACGC
ANGGGTCTTGCGGGAAACATCAACAAGTCCATTGAATTGCCTC

CloneName:RAP85

Size: 2100 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsCPN

Sequence Specification: chaperonin

Protein:chaperonin [*Arabidopsis thaliana*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

CACCTCAGATCTCCATCTCCCCGCCACCA
AATCCCCCGAAACCGCGAGCTCCTCGCCATGGCGTCCATGATGCAACCGCAGATCATCCTGCTGAAGGAGGGGACGGAC
ACGTCGCAGGGGCGCGCAGGTGGTGAGCAACATCAACCGTGCACGGTGGTGGCGGACACGGTGCACACCACGCTGGG
GCCACGCGGCATGGACAAGCTCATCCACGACGACAAGGGCGGCACCACCATCTCCAACGACGGCGCCACCATCATGCGCC
TCCTCGACATCATCCACCCCGCCCAAGATCCTCGTCGACATCGCCCAAGTCCCAGGACTCCGAGGTTGGTGTGAACT
ACCACAGTGGTGCTTCTGCTGCTGAGTTCCTGAAAGAAGCAAAACCTTACATTGAGGACGGAGTACATCCGCATAGTCT
AATTCGCAGTTATAGGACTGCTGGCCATTTGGCAATTGAAAAGGTCAAAGACTTGGCCACTAGCATTGAAGGGAAAAGCC
TTGAGGAAAAGAAGGAATTGCTAGCCAAGTGTGCTGCAACAACACTCTCATCAAAGTTGATAGGTGGCGAGAAAANAATTT
TTTGCATCTATGG

T7

TTTTTTNTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTANCAAGNAACCATCACAA
AAATATTTGCCATGTTTTACGAATCTGACAAGCACAATTGGAAATACATCGAGCAGGGCATGCATGTAGCGTCACGAAA
AACTTCGATAAAGAGCANACTGCAAATAACCTACTCCTAAATTTAAACCACACGAGCGACGAAGCTAAACAACGNGNG
TANATGATTACCGCTCCTCATGCCCTTCCACCACGGCCCCGCATCGCTCCTCCGCCACGNCAGCCATCGCGCTAGC
AGCCGCATCACCTTGGCCTTTCAACTTGGGATTTTTAACTGTCTCATCCACGCTGANAATAAGGNAAGCAGCTTTCAG
TTGCAGCATTTATAGCATTGATCTTCAACAGCAGGTTCCAGACAAAGTTAGCAAAGGAATCAGCAATTCNCCAGNG
TTGATGTCCACACAAAATTAGCACCTTNCANATGCATGTTCTGTGCGAGCTTATTGAGTACATCAGTTGCATCAA
TCCAGCATTGTACAAAGTTGTCTTGAATAACCTCGAGGGCTTTAGCAAATGAGTTTACGAAGAATTGAGACTTCCAG
CTATGGTACGTGCATGCTGTCTGAGGACTTGCTTATTTCCATATCAATAGCACCACCAGGTACAACTGGTGAGTTC
TTAAGACTCTTCTAACAATCATGATGGCATCGGGGAGGCTCCTTTCTGCTTCTCGATGAACTGATC

CloneName:RAP86

Size: 1300 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsPGPAP

Sequence Specification:

Protein:region of the predicted gene picA protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

AACAAGCTCAAGTACACGCGTGGGTACCT
GATCGAGGTGATGCACTCGGACACGGTGGTGATATCGAACGTGACGCTGGTGAACCTCGCCGGCGTGGAAACATCCACCCGG
TGACAGCAGCAACATCGTGGTGCAGGGGTGACGATCCTGGCACCAGCAGCTCGCCAACACCAGCGGCATCAACCCG
GACTCGTGCTCCACGTCCGCATCGAGGACTGCTACATCGTGTCCGGCGACGACTGCGTGGCGATCAAGTCCGGGTGGGA

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GCGATAGCGGGTAGATCCAGATCCGGCGG
GGCGGGATCATATACACCCCGCGCGATGGCGGGCGCGGTGTGCGCGCTGTTCCCTTGGACATCAAGGGCCGCGTCTC
GTCTGGCGGACTACCGCGGCGACGTCTCCGCCCTCAGGCTGAGCGCTTCTCACCAAGCTCCTCGACAAGGAGGGCGA
CTCGGAGGCGCACTCGCCGGTGGTCTACGACGATGCCGGGGTCACTACATGTTTATCCAGCACAAACGTTCTCTAC
TAACCGCCTCCCGCCAGAAGTGAACCGCCGCGCAGCATCCTCCTTCTCCTCCACCGCGTCGTTGATGTGTTCAAGCACTAT
TTCGAAGAGTTGGAGGAAGAGTCGCTGAGGGATAACTTTGTCTGTTGTATGAGTTGCTTGATGAAATGATGGATTTTGG
GTACCCACAATACCGGAGGCGAAAATCTTAAGTGAATTCATTAAGACGGATGCGTACAGGATGGAGGTATCACAGAGGC
CACCTATGGCAGTGACAAATGCCGTGTATGGCGGAGTGGGGTATTCCGGTACAGAAAGAATGAAGTGTCTTGGATGTT
GTGGAGAGTGTAAACATTCTTGTAAACAGCAATGGGCAGATTGTGAGATCANATGTTGTTGGGGCACTGAA

CloneName:RAP89

Size: 2500 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsNRT1-5

Sequence Specification: putative nitrate transporter NRT1-5

Protein:putative nitrate transporter NRT1-5 [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13

CTGTCTCCTCCCCGCGTCGGTCGCTTCGC
TTCTACTGGAGGAGAGCAGAGGTGGTGGTGGTGGAGAGAGGATGCGCGGCGCGGGCGGGCGGGCGGGCGGGCGGAG
GAGGCCGGCCAGAAGCTGAAGAGCATGGACGTCGACAAGCTGGAGAACGGCGGCGACAAGCCCGCCCTCAAGTACCACGG
CTGGAGGGCCATGCCCTTCATCATAGGGAACGAGACGTTTCGAGAAGCTGGGGACGCTGGGGACGTCGGCGAACCTGCTGG
TGACCTGACGCAGGTGTTCCACATGCGGAGCGTGGACGCGGCGACGCTGCTCAACGGCCTCAACGGCACCCAGCCCTC
GCCCCATCATCGGCGCCTTCTCTCCGACGCCCTACCTCGGCCGCTACCTCGCCCTCGCCATCGCCTCCGTCGCTCCCT
CATCGGCATGTTCTTGCTGACGATGACGGCCGCGCGGACGGGCTGCACCCGGCGGAGTGGGGGTGGGGANACGTGCT
CNAAGGCGACGTCGGGGCAGTTCGCG

T7

NTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTACTAGGATTGAAGATTCATTATCTTTGAATTTAA
CCACTTACAAGAAACCAACCCCTTTGTTTCTTTCTTCTTCTTCTCACCCTAATCCTATAGATTTTATAATTCAAG
ACACCACAGATACAAAATAACAAGAGAGAAATGATGAGGAGAGAAAAAACCAGCTAAAAGCACTCCACCAATTAAT
TATCTGCCATTGACATAATTAATTAACCCCAACGAACAACTTCACTTCACTTGCATCTCAGTTGGCGGCTGCCCC
TTGAACCTGTACCCTTGGCGCAGATCATGAAGTANATGATGTTGAAGATGCCGATGCCGCGATCATCCAGTANAAGAG
GTCGAGCCTCCCTTGTGAGGTCTGCGCCAGCCAGTTGCTCCCGCGCGGGTGGTCCGGTGCACGATGGTGACGAGGA
ACCCACTGAGGTAGTTCACCGCCAGGTTGCAGAAGGCGAGCGCGCGGCGCACGCTCCGCATGTGCTCCGGGATCTCC
TTGTAGTAGAACTCGATCTGGCTGATGAGGTTGAACCCCTCCGAGAGCCCCAGCACCATGAGCTGCGGCACCATCCACAG

Sequence Specification: tuber-specific and sucrose-responsive element binding
Protein:tuber-specific and sucrose-responsive element binding factor[Solanum tuberosum]
Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)
CFG project number: CG1213
Corresponding Author: Sang-Gu Kang
Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh
kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498
Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

T3

GAGGTCGGGGAAG

TCGTGCCGGCTGCGGTGGTGC AACAGCTCAGCCCCGGGGTGCACCGCCGCCCTTCACCCCGACGAGGACGCGCTCAT
CGTCCGCCCCACGCCAAGTACGGCAACAAGTGGGCCACCATCGCGCGCCTCCTCGACGGCCGACCGACAACCTCCGTCA
AAA

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGTAACAAAAGGATGGAANTGGAGTAATTGATGAACTAAC

CAACAGCAACAAGTTTGTGTTTGGAGTTGAAATGAAAAGGCTTTGCAATGTAATGCAATGCAACAAC TACAAGAAGATG
AATCAAGATTAGAGATCTATGATCGGTTGATCAATCAATCCTGACCGTTGGATGGGCGGCCGTCGGGCCCTTCCGGCCG
ACGCCGCCGGCGTTGCCCGTCTGTGCCCCATCGCCGCGGAGGATGCCACCAGCGAGTACACCACGCTCACCTGCCGCTG
CACCTCCTCGGTGATCATCTGCCGCATCATCGCCATCAGCCACGGGTCTGCTCCATCCTCGCCTTCTCCCTCGCCACGG
CCTCCTCCTCCGCGCGCCCGCCGACGCCCGCCGACCCGTTGGAGGCTGAGATGGCGGGCGGCGGCCCGCCGGCGGG
CTGAGCGACAGCGACGTAGGCGGGTGGGCGGCGGAGCCCGGTCTCCACGCCGGTGGGCGGCCACGCACAGCCTCTT
GGCCGGGGCGGCGGCCGGAAGCACAGGGACACCAGCGACGCCCGCCGNGACNACTGCNCAGGA

CloneName:RAP93

Size: 1800 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsGPR

Sequence Specification: glutelin precursor

Protein:glutelin precursor [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

T3

TAGCCATGGCAACT

ATTGCATTTCTCGATTTTCTATATGCTTTTGTGTCCTTCTCCTTTGCCATGGTTCTATGGCTC NNATATTTAGTCTAGG
CATAAATCCATGGCAAAATCCTCGACAAGGGGTTCTAGGGAGTGTAGGTTTGATAGGCTCCAAGCGTTTGGCCGCTTA
GGAAAGTGAGGCATGAAGCTGGGGTTACAGAGTACTTTGATGAGAAGAATGAGCAGTTCAGTGACCGGTACATTAGTA
ATTCGTGCGATTATGAGCCTCAGGGCTTCTTTTACCTCGATACTCCAACACTCCTGGCCTAGTATATATCATCCAAGG

GA CTGGTGTACTGGGATTGACCTTTCTGGTTGCCAGCAACTTACAAAAGCAATTTAGGCATTTTGGTCTTGAAGGAG
GAAGCCAAAGGCAAGGAAAAAATTAAGAGATGAAAACCAAAGATCCACCAATTTAGGCAAGGAGATGTTGTTGCACTT
CCTTCTGGFATAACAC

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTAAATGAAGGCAATTCTTTTTTATTAACTTACACATACGACAA
AATACAAAACCTCCACAAAGCTTTATGCATGTGGCTTTATTTTTTAGTATATAATGCCTTGGGTTTAAATCACCTCTTGAG
TCTCACTTTCGTTTGGATTGAGTACTCTGGTGGATTTTTGTGTTGATATCTAGGAGTGAAAGCACCATCTCTTCT
CCCCATTATTCTTCAAGCTACGAGCTTCTGCCTTGAGATGCGATATGCATTAGCTATCACATCCACAGGCATTGCACG
GAGAAGTGAAGTTCTCCCCGCGATGTGGTTTACCATGGCATTGGGTTTGTCTTAAACGCGATAAATTGAAATCCTTCAA
GCTCTGCTTCTTACATAACCACATAATTTGTGGTATAATTAGTAATTGCCCTGGACGAAGAACCATTAAATACAGCC
TTTCCATGGTTGCTAACAACTGAACTCGAGCACGCCCTGAATTGTATACACCAAACCTGTGAGCATTAAATTTCCAGAA
TGGTGAGAGAATAGCATTCTGGTATAGATTTACTCTTGTAGCACTCATTGGACAAGGTTAAAAATGGAGAAGCTTCTGGC
TATTGAGATTTGTAATCCTTCCAGCACGAGGGTTGNNAGTATCANCATGATTAGGGTTTCTATGTTTACCTTGCCCAATT

CloneName:RAP98

Size: 1400 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsACPPS

Sequence Specification: ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit

Protein:ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit[*Arabidopsis thaliana*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

CTCGAGCTCGCACGGCTGCCGCCGCGAG
CTCCGCCCCGCCCATGGCGTCCGCCTCCCTGTGCTCCGCCTCCCCACGCCCTCCACTGCACCTTCTCCGGGGCCTCC
TCTCGTTCCTCTCCCTGCCTCCGACCTTGCTCCGCCAGGCGGGGTGGCGCGGGCGTCTCCGCGTGGTGGCGG
GGCGCGCTCGGGGGGAGCCCCGAACCGCTCTTCAACCCGAGGGCCGACCCGTTCTGTCCACCCTCGCCGCCCTCGC
CGGAGGAGCTCCAGGCTGCGCGGCAGGTGGCGGGCGCCGCGGCGACGACCACCTGCCGTTCTCGAGATCTTCCAGAAC
GCCAAGCTCATGGCCTCGCCCGCGCAGGTGGAACGATCTAGCAGTTCTTAÇAGCCAGCACAGGCCTAGAAGGCTCCCC
TGACTTGCCATCATTGCTTCTCATGGCCGAATTGTTTACATTGGCATGCCGTTGGTGCCAGCAGTTACAGAGCTTGTG
TTGCCCAATTNAATA

T7

TTTTTTTTTCTTTTTTTTTTGGAGGGAGTAGAGCCTNCNCAGATTGCAACTGTTATTA
TTATAAGCCGAAGCTGTAGGTGCACTGGGTGATGGGTCAACACCAGAGAATCAAGCATAAAGAAAAGTGAACATGTGGATG
ATCGAGAATTACAGCAGCCACAGTATCCAGAAGTCCATAACATCAGGATATAACGACCAATGTTATCTCTCGGACACCA
TCCTGTTGCTGTGATAATGTTTGGACCTCAGTTGATACCGCTCAAGNNTACTAACAATGTGTAACCTACAAACTA
TATACCAGCAATGCTACCAAACTGACGTGGAATGATGCGAGGAATATCAATTGCTCCAGAAAATGCATAACCTTGC
TAGCTCTGATTACAGACATCATGCAGAGTACCTTGATGGTTCTGCTTTAATCTAGCTTATCAGTAAATAAGAAGCTTGGCT
GAGCTTTTACCACCTATAATGAACAGCGGAGGGTATTCTTGTGGATGACAGCTGCTTTCACATCCCAACTTAACCG
CCTAATCTAATTTAAATTTCAATGTACAACATCACATAATATCAGGGCGTCTGACTCCAGCAACTTTGTCCCATTCCTC

TGGGGGAGANCATGTCAGCCATGGTACTTCTCTTGGACCACGCCNAANGGATCTTGNCNATGACACCAAACCTCTTTGCC
TTCAAGGAATCCATA

CloneName:RAP99

Size: 1600 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsKLP

Sequence Specification: kinase-like protein

Protein:kinase-like protein[Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

T3

CCCCGGCCTAGGGTTTC

GCCCTCTTCAGATCCGGCTTCTTCAGATCTGGCGCCCGGGCACATGACACCGACGGTCTCNTGGAGTTTGGGCAGCAGA
GGCAGATTAAGCGGGGTACGATGAAATGGCGTTCGGGGCATGGCGTCAGCGGCCACGGGGTTACGCGGAGACCGTT
GGCGAGTCGGAGGGCGCGGCAGGCAGCCCCGTTTCGTGTTGACTCCGAGGACTCTTCGGCCCCAAGCGCAAGTGCATCAG
CCTAAACAGCGACGGCTTCGATGTCAAGCGGGAGATTTTCGTCCCAGCCAAGATGTCCTCCTCCGAGAGGAGGCATCTCC
GGAAGAGGTTCCGCACAGAGCTTGATTGGTCCGGAATCTCCTCAAGAAGCCGGAGTTTGCTGTCCCTGTCCCTGTCAAT
AGAGCTCCCGCTCTCGTCTCGGCTGCCCTCGAGGTAAGAAGGGACAGCGTGGTAACCATGTGGTCCGTGGTGCCAA
GGGGCGTTTCTTGCCTACAAGCCCCGACCTGANGCTTCCACGGGTGTTGACTGAGGATGCGATTTTTAAGCAATGCGAT
GCTA

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTTGCTATTCTGAAGATAAGATAAGATTGTTGCAAATTAGCACA

AGGGTAAATTGCAGGATGGTATCTGCTTGTTCGTCAGTTAACGATATGAATAACAGTAACCCAGTTAAAGTTTCTATA
ATACTGATAATCTAGTCCCCAGAAGATCAAAGAAAGAGGGAATATTGTTGAATGCATGAGCATGCATACTGACTAGTGG
GCATCTAATGGTACAGATGCACCTACAGTGAAGTATAATTGTGCGTACTTCTTGTTCAGTGCCTCGTTAGCTAAACTCAA
CTAAACATCTACTCAAAGTAATTAGCTTCAAGCTTAAACGTCACAGAAGTTAATATAATGAAATACACAAGTGTTTGAA
GTAACCAGATCATTCTTGCAAAAACATATTTGTTTACAAGGACATATATCATACTAAAGAGAGTATGTAAGCACAGAGGA
GCACAGACCGCTGGAAGAAGATCCAGAGTCACTGCTGGAACACTTGGGCTACCCACTTGTTAGGATTGTTGTGTGCAT
CTTTTTCTATCAATATAGGGATGCATTCGCCAAATATCTACATCCTCCTCAACTGGATCACCACCTGCAGAGAAAAAG
AAGTTGTAAGACTGTGATGTTGCATAAAACTAAGCATTAGCNAAGGACCAGGGAAAAAANCCTTGCAGGGATTTGTA
NAGGAGTGGCTAAG

CloneName:RAP101

Size: 1600 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsATS5a

Sequence Specification: 26S proteasome regulatory particle triple-A ATPase subunit5a

Protein:26S proteasome regulatory particle triple-A ATPase subunit5a [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

T3

ATGACGTCATCCG

GCGCTCCCCCGCCGGCGGCGATGGCCGTGGACGACGCGGAGGACGACCAGCTCGCCTCCATGTCCACGGAGGACATCGTC
CGTGCCCTCCCGCTACTCGACAACGAGATCCGCGTCTCAAGGATGAGCTGCAGCGGACCAACTGGAGCTGGAATCGTT
CAAGGAGAAGATTAAGGAGAACCAGGAGAAGATTAAGCTCAACAAGCAGCTTCCCTACCTCGTCGGCAACATCGTTGAGA
TTCTGGAAATGAACCTGAGGATGAAGCTGAGGAGGATGGTCTAATATTGATTAGACTCACAAAGGAAAGGAAAATGT
GTTGTTCTGAAGACTTCCACAAGACAACTATATTCCTTCTCTGTGGTTGGGCTAGTTGACCCTGATAAACTCAAGCCTGG
TGATTTGGTTGGAGTAAACAAAGACAGCTACCTTATACTGGACACACTGCCATCAGAGTATGATTCACGAGTAAAGGCAA
TGGAGGTGGATGAAAAACCACAGAGGACTACAATGATATTGGAGGTCTTGAAAAGCAGATTCAAGAGCTTGTGGAGGCA
ATTGTTTTGCCAATGACACACAAAGATCGGTTCCAAAAGTTGGGCATTGCCCCCAAAGGAGTTCTTTTGTATGGACC
ACCTGGAAGTGGGAAGA

CloneName:RAP105

Size: 2800 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsGAM

Sequence Specification: utative glutamine amidotransferase/cyclase

Protein:utative glutamine amidotransferase/cyclase [*Oryza sativa*]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

T3

CCCCCATAAC

TGCCACAAGGGCCGCCGCCGCCGGGAGCGATGGCCGCCGCCACCTCCATCAACGCCGTCCTGCTCCGCTGGTCCGG
CCGAAGCGGAGGAGCCAGCGCCGCCGCCGCTTACGGTCCGGTGCAGCGCTCCGGCGACGCTAGCACCGTGACGCTGCT
GGACTACGGCCGGGCAACGTGCGCAGCGTGCCTAATGCCATCCGCCACCTCGGCTTCGGCATCCGGCAGCTGCGCAGCC
CGGAGGACATCTCGCCGCCGACCGCCTCGTCTTCCCGGGGTCGGCGCCTTCGGCTCANCCATGGACGT

T7

TTTTTTTTTTCNTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCCTTTAAACANAANA
TTTCAAACAATTTNTTACGAAATGTCNTTCCAATCCATGGCCTATGAATTACCATCTTATCCCAAATAAAACACCCA
ACTGNTACAAAGCCCTGATTTATTTCCCAATANATCAAAGGATTTCCATCTACACTCTGACCTCCAGCCAGCATCTA
CCANATGCTCTTCACTGNTGAAATCGGAACCTCTTCCGATGGAAAATGCCAGCAGCAAGGGCAGCAAAANCATTTGT

TTCTCAAANACCTCAAAAAAATGTTTCGACAGTACCAGCACCCTGNTTGCATGACAGGGATAGTCACAGCATCTGACAC
CATTTTACCAAATCTATGNCAAATCCGCAGCCCTGGCCATCACAATCAATGNAATTAANAAGTATTTCTCCAGCACCCA
ATTCTTAACTGNTTTGGCTAGTTCATATGCNCCTATAGGACGGGTGTACGCCCCACCCTTACCTGGAAAAAGANATAAA
CAACACTTGTGGAAACAAAAGAGCAATCTTATTAAGGACAGCATGCCNCAGTANATTATGCCAGCATAAAGTCATTAA
TGTTGCCTAAAAGG

CloneName:RAP106

Size: 1000 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsDE1AS

Sequence Specification: pyruvate dehydrogenase E1 component alpha subunit, chloroplast
Protein:pyruvate dehydrogenase E1 component alpha subunit, chloroplast[Arabidopsis
thaliana]Organism: *Oryza Sativa*L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

ACGACGACGACGACGACGGCGACGGCGGAG

GAGTAGAGACAGAGAGATGGCCGCGGTCCTCCTTACCAGCCGCGCAAGTCTTGGCGCCGGTGTCCGCGAGATCCG
CCGGGGACTACAAGCCGCGCTCCCGCTCCCGGCTCCGCTCCCTCAGGCCCGGGAGGAAGCCCGCGCCCCGCTCCGC
ACCGCGCTCGCCGTCTCCTCCGACGTGCTCCCGGGAACAAGCCGCCCCCGCGCCGCCCCACTCCGCTGTACGCG
GGAAGAGGCTTTGGAGCTGTACGAGGACATGGTCTTGGCCGTATTTTCGAGGATATGTGCGCGCAAATGTACTACCGTG
GCAAGATGTTTGGTTTTGTCCATTTATAACAATGGGCAAGAAGCTGTCTCCACTGGCTTCATCAAGCTGCTCAACCAAGCT
GACTGTGTTGTACGACATACCGTGACCACGTCCATGCCATCCAAGGGTGTCCCTGCACGTTCTGTTCATGGCTGAGCT
TTTCGGTAAGGCCACTGGCTGCTGCCGTGGACAAGGTGGTCTATGCACATGTTCTCTGAACCCCAACCTCCTTGGAG
GNTTTCCTTATCGGAGAGGGCATCCCTGNTGCTACTGGNGTGCCTTTGCTGCTAATACCCCATGAGGTGCTCAGCNG
TCTACCCCTGATGG

CloneName:RAP108

Size: 1800 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsBTR

Sequence Specification: beta-tubulin R1623

Protein:beta-tubulin R1623 - rice

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986 Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

TCGATCTCTCGCTCGCTCGCCGCCGATCGGATCGCG
TGGTTGGATCATCACAACCTCTGCAAAGATGAGAGAGATCCTGCACATCCAAGGCGGGCAATGTGGCAACCAGATCGGTGC
CAAATTCGCGGAGGTGGTGTGTGATGAGCATGGCATTGACCCCTACCGGGCGGTACACAGGCAACTCAGATCTGCAGTTGG
AGCGTGTCAATGTGTACTACAATGAGGCCCTCTGCGGTGCTTTGTGCCTCGTGCTGTCTCATGGACCTTGAGCCCTGGT
ACTATGGACAGTGTCCGCACTGGACCCCTATGGCCAGATCTTCCGCCCTGACAACCTTTGTGTTCCGGGCAATCTGGTGCTGG
TAACAACCTGGGCCAAGGGACACTACACTGAGGGTGCCGAGCTAATTGATTCTGTTTTAGATGTTGTGAGGAAGGAGGCTG
AGAACTGTGACTGCCTGCAAGGATTCCAAGTATGCCACTCTCTTGGTGGTGGTACTGGATCTGGTATGGGTACACTTTTG
ATATCAAAGATCAGGGAGGAGTACCCTGACCGCATGATGCTGACATTCTCAGTTTTCCCTCACAAAAGTATCTGATACT
GTGG

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAACGCGGAAAGGTAAAATTCTCCGAAATATCAACAATCGCAGACC
AGCATCAAGTAATACAGTACCCAAAAAGGTTCCCATAGCACAGACGAAAAACAAAGCGAAGACATAGGAAGCGGGCGGT
GGCGTACGAGGCGGTAATACGGTGATAATGTAAGACGGAAACACCAAGCACACAAAACCTGCCCTAGAACCACCAAGCA
AAAGCCACCTTACATGTCGTCAGCCTCCTGCTGCTCCTCGTCTCGTACTCGCCCTCCTCATCGGCGGTGGCATCCTGGT
ACTGCTGGTACTCAGAGACAAGGTCGTTTCATGTTGCTCTCTGCCCTCGGTGAACTCCATCTCGTCCATGCCTTCGCCAGTG
TACCAGTGAAGAAAGCCCTTCTCCTGAACATAGCAGTGAAGTCTCGCTCACCCCTCCGGAACATCTCCTGGATGGATGT
TGAGTTGCCAATGAAGGTCGATGCCATGGAGAGGCTCTCGGTGGAATGTCACAGACACTGGACTTCACATTGTTGGGGA
TCCACTCGACGAAGTAGGATGAGTTCTTGTCTGGACATTGATCATCTGCTCATCAACCTCCTTGGTGCATCTTTCCA
CGGAAACATGGCAGANGCGGTGAGGTAACGGCCATGGCGAGGATCAGCAGCGCACATCATGTTCTTGGCATCCACATCT
GCTGTGTGAGCTCAGGAACAGTANGGCACGGTACTGCTGGGACCAGTGATGTCAGCGGGCGATCCGACNTGAAAA

CloneName:RAP128

Size: 2000 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsDAZA1

Sequence Specification : putative DAZ associated protein 1

Protein: putative DAZ associated protein 1 [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

CACCGGCTCACTCCCCGGCTCG
CCATCCGACAGCCACCAAGTGTGTTGAGCTTGCTCCTCCAGCAGCAGCAGCAGCAGAACGAGAGCCAGAGGGCGGGCAGC
GGCGGCGCTGATGCTAGGCGGCGACGAGGCGCACAAGTTTCATGGGGCGGGCCGGCTGGAGCGCGCCGACTTCGCGAGCA
TGATGAACCCCGGCTCGCGCCAGATTTACCTCACCTTCCCGCGGATAGCACCTTCCGCGAGGAGGACGTCTCCAACCTAC
TTCAGCATCTACGGCCCCGTCCACGACGTTCCGATCCCGTACCAGCAGAAGCGCATGTTCCGGTTCGTCACCTTCGTCTA
CCCGGAGACGGTGAAGCTGATTCGCGCAAGGGCAACCCGCACTTCATCTGCGACGCCCCGCTGCTCGTCAAGCCATACA
AGGGAGAAGGGCAAGTCCCCGACAAGTACAGGAAGCAGCACCAGCCGGGCGAGAGGGTGGACTTCTCCAGCTGCACTAC
TCCAACCTGGACTCGATGCCAGAGACCCCTTCGACATGCACCAGCTCGGTGCGAGAATGCTGCAGCACTCCACAGCGCGAA
TGAAATGCTGCTGAGGAG

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

AAAAAAGTCGAGGAGGCG

GCAGCAGGCGGGCGGAGCGAGCGAGCGGAGGAGGAGGAGGAGCAGAGAATGTCGGCGCTGCAGAGCTGGCGCAAGGCGT
ACGGCGCGCTCAAGGACACCACCACCGTCAGCCTCGCCAATCTCAACTCCGACTTCAAGGATCTGGATGTGGCGATTGTG
AAGGCCACGAACCAGTCGAGTGCCCGCCCAAGGAGCGCCACCTGCGAAAGATTGCAGCGGCGACGTCCATCGGTAGGCC
TCGGCGGATGTGCGCTACTGCATCCATGCTCTTGTCTGTCGCTCGCCAAGACCCGGAATTGGATTGTTGCACTGAAGA
CACTTGTGGTGATCCACAGGCTTCTCCGGGATGGTGATCCTACATTCCGTGAAGAGTTTCTTACTTTCACACAAAGAGTG
CGGATTTTGAATTATCAAACTTCAAGGATGACTCCACCCTGTTGCTTGGGACTATNCTTCATGGGTTGCTACATACGG
TTTGTTTTTGGAGGAAANACTGGAATGCTTCAGGGTCTTAAAGTACGATATTGAAGCTGANCSTTTGTC

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAACTGAAAATATCTTTAGTTACAAAAGTATATATACTC

TGGTAGCTATCACCAGTTTTACGACCTTTTTTTTTTGACATGTAATATGAATCAGAGAAAATAAATTTCTTTACAAGGA
GAATCGTCCAGACAGCCGCGCTCACAATGGTGAAAAAAAAAAAAACAATACTACTGCACAGGAGGTTTACAGGCTT
GAATACAAAAAATCAAGATCGCCAAAGCGGCCACACAGCCCAAGAGAAGCCAATACAAAGTATGTATACCATTGCGACAT
CTGCAAAATCTCACTTCTGAATATGCAATATGCAACTCAATANACTTGAATTGCACTGCCCAAGTGCCCATCTCGTGTGT
TAACTGTGACCCTACAAAAGTTGGGCGGTTCCAACCGGTTGGCTTGCAGGCTGCATCCCATTTGATGCTGGGAAAGGGCC
GAACCCAGCATCGAGGAAGGGTTGGGTGCCTGAGCAATGCCTGCATGCTGCGGCTGTAGTGGTGGCCGAGGGATTTG
GCTGCATCATCATAGGCATCTGCTGGGGCTGCTGAGTCATGCTAGCCATTTGAAGTATGTTGGGGGAGCTACTTGATT
GACATAGCGAAAGGATCACTCGCCATGAAAGGGTTGGGGGAGCTGAACCATACAGCTGCTGCTGCTGCATCTGCTGCCT
GTAGGTTCCCC

CloneName:RAP147

Size: 3500 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsMLP

Sequence Specification: metallothionein-like protein

Protein:metallothionein-like protein

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

T7

TTTTTNTTTTTTTTTTTTTTTGGGATGAAAGCAGAGGTAGATTATATTAAGAAGC

CTGGCACGCATGAGGAGATGGAGCAGGAGTACATGATGAGATCACCATGATGATAGATGATCCATCCAAGCTAGCTAGGG
 ATCCATCCAACATTGATCGACACACGCACACACTGACAACGACGACGACGGTTTTATTTAGGCGTCAGAGCAAAGGCAA
 GGCTGCCTACATATAAGCTGGGTTACTAATGCAAGCAAATTAAGGCCTCGATCAAAGCTCTGATCGACAGTAGCAGCATC
 CATAAGATAAATCCTCATGCAGCCGGGCGACGACGACGATAGATTGAGTTGAGGAGCAGCAGGAGCAGCCGCTGCAGCT
 GGTGCCACACTTGCAGGTGTTGCAGCCGACGACGACGGCTTCTCGCCGCTCTCCACCGCCATCTCCATTCTCCAGAGCTCG
 CCTTGTGGATGGAGCAGCAGGACGAAGGTCTTGGTGGTGGCTGNGGCCTCCACATCANGGAACATCTTGCATCCGCCG
 CANCCNCCGCCACTGGCANCCNCTGCCGACGCCANNTGCCGCCCANCAANACATCTTCTTCTTCTTGGGAGGGCG

CloneName:RAP13

Size: 798 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: unknown protein

Protein: unknown protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Complete Sequencing Date: 2004/2/24

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS	RAP13	Unknown	806 bp	linear	24-FEB-2004
DEFINITION	: <i>Oryza Sativa</i> L. (Japonica cultivar group).				
ACCESSION	tmpseq_0				
SOURCE	Unknown.				
ORGANISM	Unknown.				
	Unclassified.				
FEATURES	Location/Qualifiers				
source	1..806				
CDS	267..578,213..578				
	/note="predicted coding region"				
	/translation="MSDSALKDLNLAQCWDFTCDFEIDYGSEERASIVYKTLAVDKEL QPDKVKREMSVSGGKLVVHFEAVEARFLRASFSFAVDLTVLVTKLVEEYGISKEGEGS I"				
BASE COUNT	189 a	207 c	204 g	206 t	
ORIGIN					

```

1 ggcaccaggt tccgacgcga gtaattcctc cccacgggcg gcgactaggg cggctagggt
61 tcgtcgggcg ccgccgtgcc ggagatcgcc tctcgcgcc gacacccgga tctccgccg
121 cgcgggtcgc cccaggttat ccgctcccg cagtcacat cccgtcttct ccgccagtcg
181 cctcacgccc ggctggacg ccccggaatc cattgtcggg ctcgccccgc cgactgccgt
241 tgacgccact ggctgaaggt gtgaatatgt cggacagtgc gttgaaagat ctgaatctag
301 ctcagtgtcg ggacttcacc tgtgactttg aaattgatta tggatccgag gaacgcgcat
361 ccatagttta caaacgcta gctggtgata aggagttgca acctgacaag gtaaagaggg
421 agatgtctgt tctcgggtgg aagctcgtcg tgcacttga agctgtagag gctcgggtcc
481 tgcgagcadc gttcagcgcg ttcgtcgatc ttacagtact ggttaccaag cttggtgaag

```

541 aatatggcat cagcaaggaa ggagaaggca gtatctagct agttttactc ccctgtatct
 601 tagaaaaatg ttttacaaca cttttgagca ttcataacctt cttttatata atattatgtg
 661 tgttcttcgt ttcttaggcc agaaatctac aagatagaag cagctgttgt aattccagat
 721 ttcttgaatc ttggatggg atttgcctct caagagtaac tctgaacata cttggttggg
 781 atagtaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa

CloneName:RAP20

Size: 535 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: hypothetical protein

Protein: hypothetical protein [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

Complete Sequencing Date: 2002/09/25

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP20 unknown 535 bp linear 24-FEB-2004
 DEFINITION hypothetical protein [Oryza sativa]
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE Unknown.
 ORGANISM Unknown.
 Unclassified.
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..535
 CDS 237..380,12..380
 /note="predicted coding region"
 /translation="MKLLKVPKAPKEFDILAVPLTKAAFRTLKRSQGLPEEWLQYLAR
 PSP"
 BASE COUNT 177 a 116 c 121 g 121 t
 ORIGIN

1 gggttccaga gctgctgcag gttgtaaagc gaagaagagt taagcacagc cttagccgta
 61 aaaacattct ttacagggat ggatttactt gccagtattg ttcttctggt gataacctaa
 121 cgattgatca tgtcattccg actgcacgtg gcggaaaatg ggaatgggaa aatctgggtg
 181 ctgcatgctc aagatgcaac tccaggaagg gccagaagac agtggagcaa gcaaactga
 241 agctactcaa ggtccccaag ggcgcaaagg aatttgacat tcttgacgta cccttgacaa
 301 aagctgcatt caggacgctc aagaggagcc aagggttgcc tgaagaatgg ctgcaatact
 361 tggccaggcc atctccatga acaccagctc cagaaattag tggccatctg tcaatgtata
 421 tatattaact aggtatttct tcagcccaag attcacctgt gcgcatcaga aactctgtac
 481 atgcctgact cagtaaaaaa aaacaagatt ctgactaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

CloneName:RAP116

Size: 1469 bp

Vector: pBluescript SK (-)
 Identifier: unknown
 Sequence Specification:
 Protein: unknown
 Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)
 Complete Sequencing Date: 2004/3/11
 CFGC project number: CG1213
 Corresponding Author: Sang-Gu Kang
 Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh
kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498
 Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
 Kyeongbook, 712-749, Korea

LOCUS RAP116 unknown tmpseq_0 1649 bp linear 11-MAR-2004
 DEFINITION unknown
 ACCESSION tmpseq_0
 SOURCE Unknown.
 ORGANISM Unknown.
 Unclassified.

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..1649
 CDS 66..506,66..506
 /note="predicted coding region"
 /translation="MGSAVCAGAGVLGAPDPRRRLRGRGRARRLPPAAVHFGRGRGDV
 PNLHDVVASATPEPTAPGRIWKPATQRRAPACRSSPSASTGFPSDVAALSSSSRPPRR
 FFPICSTQATTTTRSRLSLHRSSPDSGWRTFAGCSNSSPQKYQS"

BASE COUNT 397 a 417 c 372 g 463 t

ORIGIN
 1 gcaccggcgg cggcggcctc gaccgccgat cgccgacgcc ccgcgccgcc tcctcgcctca
 61 tcaggatggg ctcgccggtg tgtgccggtg ccggcgtgct cggtgcccca gaccgcgcac
 121 gtcgccttcg aggccgagga cgcgctcgac gacttctctc gccggcagtc cactttggtc
 181 gcggtcggcg cgacgtcccc aacctccatg acgtcgtcgc ctcggctact ccggagccca
 241 ctgcccctgg ccggatttgg aagccageta cacaacgacg gccgcgggcc tgccgttctt
 301 gcgccctggc ctccaccggc ttcccttcg acgtcggcgc cttgagctcc tcctcacgcc
 361 ctccccgccg gcccttcccg atctgctcca cccaagccac cacgacgacc agatccagga
 421 agtctctcca tcgctctagt cctgacagtg gctggaggac cccggccggt tgcagcaatt
 481 catccccgca aaaatatcaa agttgacatc gtcagcctcc tcatttggat aagtaagccc
 541 cttcttcacc ctgatttgtg cgctaattgct gatcttaatc ggtgaatggt tgtgttgcca
 601 ggaatttgtg aatcaggatg ttccatctaa tttggttttg ctcgggttgt caaatgctca
 661 atggatatgt acctgcgcat gggcatcagg ttggtgtgct tcgcatgtgg ggggttgatt
 721 tactcagcca ggggtgggctc tctctgtatc cctcaaacac taagataact gatgttcttt
 781 tcctctttct cgccattccc ttgcatgcca tttttttgga acaggtcatc aaaaggttac
 841 aatgagaat gggagaatta tgtttactga taatgtgcat ttttatttac tgtgccttat
 901 tagttcattt ggcatggacg cccttacttt tgcatcagct caggcttagc aagaaagatt
 961 ctcatcctgt ttttaattgt gaccatgaa tgattaatct tgatcccca cctcaagca
 1021 actctgttgc ttttcgcttg cgagaacgca gttctgtaat ctagcttaac tcagaccgat
 1081 tccttatttt attgataatc tcatctattt gtcagtgtgag taatttaagt ggcgcttaaa
 1141 caacaatgaa acaattgtcc agatgtggtt ggaacaaaac catatccact tgccgtcaaa

1201 aaaaaagaaa agaaaaataa gtgcaaattt gttatttctt gttcttcgta tggtaaaga
1261 tggctcttct cgtatggctg aagatggctt tgtttctcac tatgaattat tcttgtgctt
1321 gcagatggat gatactctga caactggaag catcaggagt acacagggga aaagagacgt
1381 ttagcagagg cttcacttgc ctacaactgt gagaggatat agaagactaa aggattaca
1441 gattacagat gaaaagagaa acggccaatg aatcagttct acatgtagaa agctgtagat
1501 agctttaatt agtgagacaa ttgtgtgaac ttcagttttt ttttgccatt gcacctttt
1561 ttttaaatgt accgttgagc tgtaacttcg atgattttat caatataat aaaaatagtt
1621 atgttcatat aaaaaaaaa aaaaaaaaa

CloneName:RAP2

Size: 1454 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: unknown

Protein:ibophorin II (RPN2) family protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GATTGAGTCATTATCATTCTTTGGAAAAC
AATAGGGTATTTGTTCTCTGGTCCCTTTCACCTTCCCTTCCAAAGTATTTTCGCTGACCTCCAAAGACCAGCTTAAGGTTGA
AGTCACCACAGTATTTGGATCTGCTGCACCTCCTCTCAGAGTGAATCTGTACAAAGTGCTGGGCTCTGACTCTAAGGTCA
TCACTACTGAAACCAAGGAACCTCAGTTGACCTTGATAACAATGTTTCATTACCTGGATATTGCTCCATTGAAAATAGAT
GTTGGGAAGTACTCGCTTGTGTTTGGAGATTTCTCTTCAGGAACAAGAACATGAACTATTTATGCTACTGGAGGGACAAA
TACTGAGGCGATCTTGTACAGGATTGATCAAAGTTGATAAGGCAGAAATCGGAATTTCTGATAATGATGCTGGGACTG
TGGAGTCTGTTCAAAGATAGATCTGCAGAAAGATACTAGTGTCTCTTCTGCAAACCATCTGCAGAAGTTGCGGTTA
TCTTTTCAACTGAGTACACCACTCGGGAGGACATTTAAACCTCACCAGGGGTTTCTCAAGTTAAAGCATGATGAAAGCA
AGGTTGAGCATTATTGGTTGTACCAGGCTCTGCANGCAGNTTAAATTGNTCTANANTTCTTGGTTGGGGAAAATCTACT
ACTTTCTG

M13F

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTGCAGAATAAGATATTATTAATCTATCATCAAACATACGTCTATTGAGAACACATCAGGGCATCATCATAAGAA
GGNGAGGNCCTACATTCTAGCTCCAGTATTCTTAACCCCCACAAAACCTGAAATCGACTCGTCCCTCGTAACTCGAAGTTG
CTCAAGAAAAATGGTCAGAAATCAAAGCGAAGGNGCTAAAATAAGGAACCTAAGCAACTTGTGACGCTTGAATAATTTG
TGATTCGGAATACTCCTCTTTGGATCGTCTCTCAAGCAGTCTTCTGTTTCGCTGACGTGGAGGAAAGGTAAGATAGAGC
CCTATGGCCACAAAACAAAGGAAGACCAAGGAAGCTGAGGTAATTCAGGGTTGTGAAAAGATCCAGCTTAATCCANA
ANAGAACCTAGAGCAGCAGCACTGCTCCAATTCAGCATGGAAGAGTGAAGCAATGCTGCGGGTGTGGCAAGGACGGG
AAGTTCTCAAGTTACCCCGAGACGCATAAGCCCAATCAAGAACCAACAATAGGCAGAAGCGTGAGGCCCGTAAACGC
AAATGAGAGTTCTTGGTGGCCCTTCTCTGGTGAACGGAATATGTGCGATATTTCTTCTCNGACCAATTTTGAAGAA
TGGATCNACAGCTGGGCCGGAGGCTTTGGGCTTTTTCTGGGGCC

CloneName:RAP9

Size: 2000 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: hypothetical protein

Protein: hypothetical protein [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

T7

```
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAACNGGGAGTGCTGGTTGGATTAAGAAATGCAATNTACTCCCTCGGNTCCACATTAATAAAACGT
TCTGGGTTTGTGCAGTTTGATCGTTTGGTTTACAGCTAATAAGCTGAAAATAACTTAATCAGCAATAAAAGATAATTTAAGGGTA
TTTATATATATATATATATATATATGTCCTTANCAATTAATAAACGGAAATGCTAAATACCGGTATCCCGTTGGACTCGGTCGAGACGGG
ACATGTTCTTTTCAGGGATCACCAGATATCATANCACCAGGTATNTGAGTACATCCCAGGCCGGGCCACTTACATTTGATAGCTT
TCATAGGTCATAGACTGCCCTCGTAGACCAACACATGTCTTTTCTGTACACTTTGTCCCTACTCGTAGTCTCCACCAACAACAGAT
TCTTCACGTCCCCATTCTCTCATTCCCTTTTTTTCATCCATGCCATATTGTAACACATGTCTTTTNTGCACACTTTGTGTCCTC
GTATGCACCCGGGAAGAATTTCCCGGTCCGGTCACCCATCCCAAATGNNTTCANGCCAAAGCCGCTTCCCATCCCAAATTTGGTCAG
GCCNAGCACCGCTTAACCTGGAGTTTTTTGGGAGATTGGCTTTCCGGAAAAAATTGCAACTTATTGGATATGAGTATTCTATT
AAATCCCTATTAAGCCCTAGNCCGGGATGGTTACNCCCTCNCCG
```

CloneName:RAP17

Size: 1300 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: hypothetical protein

Protein: unknown protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

```
GCGAGGACGACGAGCGGGCGGACGGATCTGC
GGCGCGCGGGGGCGGGGGCCACCATGTCTGCCGTAGTGTGTGGGAAGAGGTCCCTCCATCTTCGGCGAC
GAGCTCATCCCTTCCCTCCCTCCCTCCCATCCCTCCCAACCACCACCACCACCCGCAAGCGCTCCCGCTGCTCCCC
GGCCCCGCGCCTTCGACGAGGCGACTCACCGCCGGGAGGCGCTCCTGCACCATCTCCTCTCCCTCTTCCCCACATGGATC
CCCAGTTACTTGAAAGAGCTCTTGAGGCATCTGGAGATGATATAGATTCTGTATAAAGAGTTGAACGAGCTGTGCCTG
```


GAATCGGCTGCGGTAGGTGATTCCAATAGCGTCCTGCCAGCCGCTCTTAAGTTATCGGCTGAAGGTGTTGTTAATAATGG
ACATTTGGATGTGCTCACTGAAAACCCACATGCTACAGAAAACCTTTCAGACAAATCATCATGGTTCTGANTGGGTTGAGC
TATTTGTTAAA

257U

CTTGCCTTTCTCCATTTTGAGGATCGTTGCTTGTATGATTTGGACGTAAGGGTGAATAGTCTAAGTGTCTAACCACAC
CATGAGCAATAGGTCAACCCTTGCATCATATGATATCTTGGTATGATTGAGTATAAGACTATGAGAGGGAATATTGCC
TCAAGATCTGTTAAAAGACATCAGGAGGAAACGCCAGGCATAGAATTGTTCTGCTGAGCTTGCTTCAGATGCACTCTA
AGTGCATAATTATTTATCTCAAGAGTTTTTATCTGTTCTGATACTGAAAACAGTTGTTTCAGGCTATGAACCTCCTG
AGTCTCTCGTCAAACTCTTTTTGACGTTTATGTTGGATAGCAACCGCCCTCTTCAGAACAGCGTTCTCTCTCAGATATA
TTGCCAGTTGCTCCTTCAGGAATCCATTTTCTTGGGGCAAATATGGNACTGGCTTCAGTTCCNGNCTTCGC

M13F

TTTTTTTTTTTTTTTTTTGG

ATAAAAATATTGATATAAAATTTTTAAAAGTACGGAACAATGGAACCTTTCATCTGATAAGCATTCTTTTATCGGAATAAA
TATATCAGTGGATACGTACGATACAATGAACAGATCCTCTCATGCTTTGTATAAATGTATTACATGCTACTACAATACA
GTGAACAGGTCCTTTCATACTTTGAATTACATGCTACAATACATCTCACCTACTTTACATACAATCAATGGTCTGAGAN
AAGGGTCAAGCACTCAAGCTTCTGGTGCACACATTAATCTACACCTCAATTGATGCTTCACCGTTGCTTGCCTTTCTCC
ATTTTGAGGATCGTTGCTTGTATGATTTGGACGTAAGGGTGAATAGTCTAAGTGTCTAACCACACCATGAGCAATAGG
TCAACCCCTTGCATCATATGATATCTTGGTATGATTGAGTATAAGACTATGAGAGGGAATATTGCCCTCAAGATCTGTTA
AAAGACATCAGGAGGAAACGCCAGGCATAGAATTGTTCTGCTGAGCTTGCTTCAGATGCACTCTAAGTGCATAATTAT
TTATCTCAAGAGTTTTTATCTGTTCTGATACTGAAAACAGTTGTTTCAGGCTATGAACCTCCTGAGTCTCTCG

CloneName:RAP25

Size: 1600 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: unknown

Protein:unknown [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GCGCAACGCCAGCATCGCCAGCGCGCCTGC
GCCAGCTCGACGTGTTGACTCCGTCAACATCACGCTCGACGCCGGCCACCAGAGCTGCCCGGCACCACCAACGTCGTC
GTCGAGGTCGTCGAGGCCCAACCCTATCACGGGGAGTGCGGGAGTATACTCCAAGCCTGAGGCAAGATCTTGGTCACT
TGAAGGCTCGGTTAAGTTGAAGAACCTGTTTGGCTATGGTGACATCTGGGATGCTTCAGGTGCATACAGTTGGGATCAGA
CATCTGAGGTTGGCATTGGAGTGTCCCTGCCAAGATTTAAATCAATATCAACACCCTTGATGGCTCGGGCGTCATTGTGCG
TCCAAGATTGGCTGAAATTTCTTCTTACAAGGAGCGCCTGCTTGGCCTTTCATTTGGTTTGATTTCAACCATGCAACA
TGATTTGCTTATAATCTTACATGGCGTACCTTAACCTGATCCATCACAAAGTCTCATCGAAGTCCATAAGGAGGCAATTAG
GGCACAATCTTCTCTGCGTTGAAATATACATACA

CloneName:RAP26

Size: 3800 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: hypothetical protein

Protein: hypothetical protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

CTCAGACAGTGTGCAGCATTAGGAGGGAGAA
GCAGAAGAAGAGAAGCCCTACCAACCTAATCCTTGACTGCTCTCCAGGCACAAACGCTTCCATTGCCACCTCTCGTTTT
CTTCCTCTCTCTCACGGACCCTGTGTTGGTCGGTTANNACNTGNTTTTCTCGAGCCTGTCCGTCCTGATTCTCGAACA
AGAGGTTGGCAACTGCGAGAGAAGTTGTTGCCGGAGTGTGGTTCGTCTGTCCGTGGATTCTTTGGTTGGTGTTCCTCGT
CTGGTGGTGGTGGTGGTGGATCGGCCATGTTTCGTGAGGAGCTTGTGGAGAAGGCCCTCAAGAAGCATCGCATCGGA
GGTATCAGCGGCCCTCCGCCCGAGGACGTGAGCCCGCGGCTGGCGTTCCACTACGGCGTCCCCGCCGACGCCGCGCTCCT
CGCCTACGACCCCGCCCTCCACGTCCTCGCCGTCGCCACCAGGAATGGGCANATCAAGCTGTTTCGGCCGCGACAACA

M13F

TTTTTTTTT
TTTTTTTTTTGGGAAAGAAATTCACCAGTAAATCTTGCTGTGATTCTCAATCATTATTTACAACAGAATTATTTTCATG
CGGTAGAAGAACTGCACTGAATGAACAGGAACACTCAAACTGAGAGGGGAAGGTACATGTATGTGCCATTCTACGATG
TGGCCCTTCGTTCTTTGTGTTTCGCAGAGTCTTTTGGCATTGCCGAGAAGGATTGAGCACCGTTGGCCATATCTCCA
GCGCGAATATTAATGCCCTCCAACCTTTTTATATCTCTTGCAGCTTGTCCCAATCATTFTTGGTAGGCTAGTGGGGTC
ATCATTTGTGTCATATCCATATTTTCATCTTTATCTGGTCAACTTGACTGACTGATGTGTCTCTTCAGGTTTTCTATTC
CTGAATTCACCTTTCTTCTGTCCTGGGCTTCACTTTTCTTTAGGCTTTGGAATCCCTTGCTGATTTTTCTGTTTGCTT
AGACCTGGGAAGTGTGGTCTTTTCTGCTTTTGCAGGTTATCATCAATGTTGATATCATCTATATCTAGTTCAATGTTCTC
GTCATCTTTTATTGAACTGTTCCTCTTCTCAGATACTGGAGCAAATTAGCACATGAAATATTGAAGACNGCTCTTC

CloneName:RAP30

Size: 2800 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification:

Protein:

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

```
CCCACCTGCGACTACATCGTTCAACGATCGCGCGTGAATCTAAACGTGGAGCTACAGCGCAACAACCAAGGTACAAAAGAT
AATCTACATGTGCAATATTAGTCGTAATCAAATTTCCATATCATTACGCGTTTCATAATTACTACTGCCTTAAAAATATCC
CTAGTCACATAATATTCCTGGATTTACTTTAAATTGCTTGAATTACTTAATTATTATTATCATTGCCAATTAATATCCCT
GATAAACAGCAGTATTATCATCCCTAGAAGTGCATCTCACATATTGACTCAAGTTGGATTAAAGTTACGCTTGGTAATTG
GTTAAGAGCAGCTGGAATACTACGCAATTGTTCTAACGAATATCTAGTACTTGCTTTGTATACTTAAATATATCCATAA
GTCGGTGTAGTGGTAATATTTGCTTCCGAGATTATGTGCTCAGCTATACTCCGAACTGTCAACTATCAGTTTGGAAAGTAT
GTTATGTTGGTCAAATACTATTATGATGTTTCCAGCATACGATTGGAGAACTCTTGCTCCAATTTAAGTGAAATAAGCTCT
TGTTCTTGCCAGAAATTTACAGCGCTCTCGCGCTTAATATCAAACCTA
```

CloneName:RAP42

Size: 1600 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: unknown protein

Protein:unknown protein [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

AGCAAACCA

```
GCTTTTTATTCCAACAATCTTCTAAGGTTGGATTCTCTCACTCTCGAATCCTTCGTACAGTTGTTTCAGCATGCTTGCTCG
CGGTATCCGTCTCTTGTACCATGCAGTAATGCATGGACTGCTTTGTCCAGAAAAATACAAGCATTAAAAACAAGCAGAAG
CAATCCAAAAAGGTACATCCAAAAAAGGCTTTTGTGATCTTTGGTGGTGACACTTCTGAGCGGCAAGTCTCTCTTATG
AGTGGCACAAATGCTGGCTTAATTTGCAAGGTTTTGATGATCTTGACGTGACACCTTGTTTGCTTACATCTGGAAATGG
TTATTTCTTCTTCCACAACCAAAATATGAATGGAATTTACCGTGATGATGGACATTGCCATATTCGTTAGTGCTACGAC
ATACCATTGAAGAAGTTAATGCCGCATGTATTGAGGCAATTGATCCAGAACGGATGGAATTAACATCCCCTTTACGTGAC
CAAGTAATGAATGAACCTTGACAGTTCATTAAGCAAAATATGATTGTTTTGCGGGCTTTGAACATTGCCGATANACAACCT
ATCAAATACTCTCTTCAACAATGGATCAATCATGTTAAGGAAGCTCAAGCCGTANTGTTTATAGCAGTGCATGGTGGTAT
TGNAANATGGTACTATC
```

348U

```
TGCCATATTCGTTAGTGCTCCGACATACCATTGNAAGAAGTTAATGCCGCNTGTATTGAGGCAATT
GATCCAGAACGGATGGAATTAACATCCCCTTTACGTGACCAAGTAATGAATGAACCTGGACAGTCATTAAGCAAATATGA
TTGGTTTGCGGGCTTTGACATTGCCGATAAGCAACCTATCAAATACTCTCTTCAACAATGGATCAATCATGTTAAGGAAG
CTCAAGCCGTAGTGTATTATAGCAGTGCATGGTGGTATTGGAGAAGATGGTACTATTCAATCGCTGTTGGGATCTGCAGGA
GTTCTTTACACAGGGCTTGACAAATAGCTTCTAGGACATGCATGGAACAAAGTTGCAACTTCACCTGCCGTTAGCCATC
TGGCTAGCTATGGAGTTCCACCCATACCAAAGGATCTGTAGANCAACNCANGAGATACTAANAGTCGNCTCCCTGACC
NATATCTGGAATGACCTGAAAACC
```


Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GTTTCTTGCTCCTTTAGCTTTTCATGTTT

ATCTGCCTGGACATTCCGGTATGCTAGCCATGTGCGCCGAATCGGATGACGATACATTGTTGATACTTGATGGTGAAGAA
GTAAAGCTCTGCGGTTTATGTCACATATTAGATGGTTATTTTGTGAGTGCAGTGAATCATGTGGCATTGCAAGGATA
CGATGTGAAAGCAATTCGGAGATAAGGGGATATGGTGAATGGTGATACCTAACTGAGGATTAGTTCATCTTCATACTCT
ATCAGATGATTTGGCCAGTGGAAATTTTGGCCAGTGAATATGGTTTACTTCTCTAAATGTAGGATCAGGAATTAAGGTGGT
TTATGGGTTATTGAGACAAAATATCTCATGATACAGTTTTATTTTTTGGAGGAAGAGAGGTTCCCTCTCCCATTTTCATT
AACGAAATGCAGATGACAAAGTCTTTTACAGGCCTAGTCTGACTAGAAATGACATTCTTATTTCCGTCGTCAGCAGCAG
TTATTGTTTCTTGGGCTTGGTTGACAGTTGAGATTATATGCATCCTCGATGGGGNATGACCCACAATCCAGAATTCAGTG
CACCTTTNGGTACATTATATGTTTCATATTAATAATATAGTTCTAGTGTGCAGGAAATTTGTTTTTACACGTTATG
ATTATAGAGCTAC

M13F

TTTTTTTTTT

TTTTTTTTTGTATGCCAATGCAGGTAGCAATGTCTGCCACAAACCTACAGCATTGATTAGAAAGCATTTACAGTGCACA
CATATTTACAAGTACGGGGAAGGAAGAACGCCAAAGATTTTTGGCAGTCTGATTTAACCCCTCCCTCACAAAGGGAATCTG
CATCTAGAGAGTTTGTTCATCACAGATCAGCTCATAACGACGACATTCTCGAATCCATTCTCCTTGATCAGATCAGTGA
ATTGGTTCAGGTAGCTCACAAAGCCACCTAGCGATTGATCAGCTCATCACCTTTTTGGCGAGTGGTTCCATAGAAATCC
GATGAGATAGCAAGTTATGTTTCTCATTTTCGCCTGCCTCCTCTTTGAGTAGCATATGGATGTGCTGCGCGTTCTCTTG
TAACTTGTTGGCCAGTTCACATGCATCGGTTTGGCTTTTCTGCCCCTCGTTGTTGCTCCCGTTTTCGCAGACTTCTAGAC
AAACATAACACAAAACGGTGTATCAAAAGATGTCAGGTGACTTGGAGGAAACATAAATAAACTGAACTAGCTAGCTGA
TAGTATGAAACAGAATTACACATGTAGCTAAGCATAGTATGGTGTCTTGTACACTCAATGAAGATAAAAGGGTCTTAGAG
CAAACATAATACCCCTATTATATCGTAAACAAGGAANACATTGTACAAAGCCAAATTTATG

CloneName:RAP78

Size: 2800bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: OsMCFP

Sequence Specification: mitotic checkpoint family protein

Protein:mitotic checkpoint family protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GTCGTTACCCATTCCAGCCTTCCCCTCT

CACCTFCCCAATCTCCCTGCGGTAGAACCTTAGAGGAACCTTCTAGAACCCCGAGCCCCCCCCCCCCCGCGGCCCC

GGCGAAGCCAGCGAGATGATTCTCCGGACTCCACCGCAGCGGAAGCGGGCGGGGACTCCGACGTCGACGCCGCCCGCGC
CACCGCCACCACCCGGAGCCCGTTCCGACCGCCGCTCGTGCTCTACGACCGGCCACCGCCCTCGTACCCGCTGGCG
TCCCGGGGAGCCCATGGATGACATGGTCTGCACGTACCCTGCCGTGATGGTGAATCAGAATTTATGGTGGCATTG
GACTGTCAGAGAAGCAAGTTTCCAGGAGTATCGAGCCACACTTGTATGATATGGAGGAACGATTATCCAAGAGTGAGGATGA
GAGGGCAACATGCCAGGACAACTGAATTTATGTCGAGCAAGAATTGGCAGCAACAAAAGGTCGGGAAAGTGAATGCAAG
AGCGATTATTAAGGAGGTGGGTGACTTTTCAGGAACGCTACTGTGATCNAATCCAGAAGATAGGGGAACTTTGAGAC
GCCAGCTGAAAAAAGANATTG

M13F

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAGAAAACCAATTCTGGTTTGCGGTAATTAACAATTCACATGGCTCAGTTACATATGATAGTTCGCTACAGTTTACAAAA
GCTCATGCTTCAGTCCAGGCCACAGTACAAGTAACGCTCGCATTCATATATACTTTGTCAAAAATCATAACAGAGGTGAA
TCCATGTGAGTATGTGACAGCCCGGCATCAACTCTCTACTCATGTCCAATTAGTAACACGCCGTGCTCCTCAGCTTGCTA
TATCTAGGAGCTTGCTCGACCACGGTCCAGGGTGCACACAACATAACAATTTGGACATCTCCAGTTACTACGAGAAGAAA
ATCCAACAATATGAATTCCTACTGAACTTTTATCTTCAACAGATACTTCTTTTGTGAAGATTCCATTGTCAGGTTAGC
TGTGAAGCCGGGATAGAATTCATCTNTCGTATGAAAATATCTACCTGCTGAGCAATTCATGTTGAGAAGTGTAGTCAT
TGACCACAATATTGGTGTCTCCAGATTCGTAGTCAAACCAAGCTTCTCATCATCACTTTGGGCGTAACAGAATGCAGAA
TAAACGTGTTACAGGGATCCCATTTGACTGTTGCTGATCATTATCATCACTATCTTATAACCAAGAGCGAGCAAGCC
TTTCGGAACACTGAAATCCNCCTGCAATANGCCTTATATNTTCTTACGTTTCTTAGGGTGCATTTGATTT

CloneName:RAP79

Size: 1300 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: unknown protein

Protein: unknown protein [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang, Hak Soo Suh

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

AAGGAAGCTAGGGTTAGCTAGCTGTGCAT

GGAGGAGCCTGGCCCTGAGGAAGAGAAGGAGGAGGAGGCGCGCTTCGACTTCCGAGTGGATCGGCCCGGACACCT
CCGCCGCGTTTTTACCTTCCCTAGACCACCCGCTGATCTGCCCGCGCCTCCGCCGTCTCCCGTTCCCTGGCGCCGATT
GTTGTTCCGAATGGCTTCAGCAAGATCCAATGCCCTGCGCCTTTGCCCTGAAGCTTCAAACCTTACCCGTATTATTACCAA
ACAAGCCATTGCCCTCTGCTTCTGAGTCGGATGCGGAGCACCAGCACAGGGCGTACATGCATCTCAGCTATGCCCTTCTCT
TGGATGACCCCGAGGACTGCATCATCCGCTGCATCGGTGCCCTCCACCACCGACAATTTCCCTGAGGAGACCATACAAAAC
ACCTTGTGCCACCGATTGGGTGGCCATGATGAGGCCCTTATTGGTCCAGCGCCGGCCACTTCGATCTGCTGTGCC
CGAATGCCTTTTTACAGGCTTCGCTCCGATCTATGCTTCAACAAATCAACATACAGCCATTTCAGAGGTGAGCCCA
CCCATCCTCCTTCTTTTACTCCTCTTGCTAAATACTAGNATNACCTGTCTCTTGCACCNGCTTTCTTCCAG

338U

AGACCATACAAAACACCTTGTGCCACCGATTGGGTGGCCATGATGAGGCCCTTATTGGTCCAGCGCCGGC
CACTTCGATCTGTGTGCCGAATGCCCTTTTTACAGGCTTCGCTCCGATCTATGCCCTTCAACAAATCAACATACA

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

CloneName:RAP97

Size: 1500 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: hypothetical protein

Protein: hypothetical protein [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFGC project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

T3

CCACACCATGCC

TCTCCTCGCCCGCGCCACCGCCGCGCCACGCGCCGCGCCGCTCCGCGCCTCCGGCTCCGACCCGCCCGCCGAGCAG
CAGCAGCAGCAGGTCAACCTCTCCGTCCTCCGCTTACCCCTCGGGATTCCCGGGCTGGACGAGTCGTACCTCCCGCGGTG
GATAGGCTCGGCTTCGGCGCCCTCGTGCTCCTCAACCACCTCCTCTCCCGTCGCCCACCCCGCGCAGCTCAGGTCGG
AGGCACTCGGGCTGTGCTGGCCGCTTCTCGGCGACTCTGCCGTACCTCGGGAGGTTCTAGAGGGTGTGGTGTCTGCT
GAACGTGTGCCCTTGCCCTGAGGGGAGCAGGCAGGTGTTGCCATGTCTGATAGCCTGTCAGCAGCACAGAAGGAGGACAT
GGCGTGGGCTTCGTACGTCCTGCTGCGGAACACAAACACCACATCTGTCCCTCATATCAATTGGCAATCAGTTGTGCATAC
GAGGATATTGGGATCCGCTGAAGATATTTCAAATATGCCATGATTGAGTGGTTCAAAAGTCAGATGCAGGAAGCTGGN
AATTGTTGATTTGAGGGAGGATTTGTACTTCCCTACCTTTTCTGACACTCAGCTTGGGAAGCTTCTCCANAGGGGATT

384L

CATGTTATGCATAGATAGGATGTTTCACTTACCAACAACGTATAGATCTTAACAACATCACCTTAATGTAATT
GACTGATTAATAAAAGCTTCCATTATCTACCCAAAAAATCTGAACAAGATGTTCTCAGGATATGGAACATATGGAAGCAT
AAAGATATCTTCTGGATCACATATATTTGTATATGTTGATTTTACTTTACACACCAAAGTTGGTGAACTATTTTACA
CTACTGCTCAGNAATCAGAATTTCCATAGNATTTGTACAAGTCAGTCAAATTTACTAGGAACCTAATACAGGCTCTAAAG
GATACATTTTGTCAATAGTTTATTGCATAGGCCTAATATTGGATAGGTGGCTACAACGGNTGNTTCAAAATAAATGATTG
CAAAATTTCAAGNTTCATATAGNCTGAAAAAGAAAAAATAAAT

T7

TTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTAAAGCAGTCAGTGAAAAGGCGAAAAAATGACACGCTTAT
CATAATTGCCTTTTCCCAAACCTTTTACAGTATGAGTCAATTTAATTGCTTGAGACATTTAAAGCGTCAGGAATAGGCA
TTGCTTTCCATAAAGATTAATATGCTCTACTTGCACATGCCAGTATATGGGGTTAGCTTCTGACACCTCACTAACTAAT
GACACGTCATCCATCTTACCAGAAAAATCTTCATCCTTGTGCGTACTCTAGTAATTCACATTGATTAACCAATCTTCC
TTGCATCTATAACAGGACAGCTGCATTCAACAGTTGCGAACAAATTTGTCTCTTGCAAACGATGCCAAACATTATTTACA
CATCGCAACAGTTGTAACAAATGAAGCATTACAGGAGGCTTTCACAACTACATGTTATGCATAGATAGGATGTTTCAGAT
TTTAACTTACCAACAACGTATAGATCTTAAACAACATCACCTTAATGTAATTGACTGATTAATAAAAGCTTCCATTATCTA
CCAAAAAATCTGAACAAGATGTTCTCAGGATATGGAACATGGAAGCATAAAGATATCTTCTTGATCACATATATTT

GTATATGTTGATTTACTTTACACACCAAAGTTTGGTGAACCTATTTTACTACTGCTCANAATCAGAATTTCCATAG
ATTTGTACAAGTCAGTCAATTTNCTAGGAACCTAATACAGGCTCTAAAGGATACATTTNGCNATAGTTTATGCATAGGCC
TAAATGGA

CloneName:RAP120

Size: 2500 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: hypothetical protein

Protein: hypothetical protein [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan,
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

CTGGCCCCGGCCGGAGCGTCGTCTCGTCC
CCCTCCCCCGCCAGATCGCCCGACCGCCGTTGCCCTCCCTCCCCACTGCCCGCTCCAGCTCTGATCCAGCAGG
CGGCGGCGGCGGCGGAGGAGAGGCAGCAGCAATGGCGACGTCCAAGAAGGATCCTCCGAGCAGGGACAGGGCTGCCA
GGATGTCGCCAACCCTCAAGCGATCGTCAGGCATTGAGGCCTCCTCTGCCCGGNTATGGCCCGGAGGGCCCGGTCG
GTCCCAGACTCGCCGGACCGCAAGTTTGGCGGCGGCGGCGGCACCAGCGGCGCTCCGGCTCCCCGGAACGTTTACA
GGCCGTCGCTGTCTGCCGCTGGCCGGTCCACCCTCGGCACGGTCTGTGTCCGGCAGC

T7

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGCTAAGAAAATCTCCCATCTGAGATCTCATCTGAG
TGATATTTAGCTCATGAGTTATTACAAGCATGTCTAGTACTTATTCATGCACGGATTAGATCAGATCAGATTACACCATG
CGCAAAGCCAAATCACTCTTCTCCCGCTCAACACCATGCATGTTTCGATCATGCACCGATCGCGACGAACTCACGCCAT
GTAGCGGCGTCTGTCGCCCGCTGCCACTTAGGATATCTTGCTGCAGTCGGTGGCGGCGCCGACGGGATGGCGAGT
CCGAGCTTGCAGAGCCCGGAGG

CloneName:RAP138

Size: 4500 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: unnamed protein product

Protein: unnamed protein product [Oryza sativa]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan

CGCCTCCGGAGCCGACGCTGCCGCTGCGGCGGTTGCTCCCCCGTCCGCTCGTCTTCTCAGGAGGAACCGCTTTTAATG
GTGTTGTAGAAGAGCTGAAGAAAGTGACGACTCGAGTTGCACATGTTCTTCCCTGTTTCCGATGATGGTGGAGCACAGCT
GAGATTGTGCGAGTGCTTGGTGGACCTGCTGTGGGTGACATTAGATCAAGATGCTTGAGATTGTCTGATGAAAGCACTTC
AGAAGCCCTTTCTGTTCCGGACATTGCTTGGGCACCGTTTGGCTCTTGATCCTTCAGAAGCAAAGCTTGAGTGGTAGCAAT
TAGTCTGTCTATTGCATATCAAAACTCACCTTTGTTTCATTCAAACTGGATCAAGTAACTGGCTGATGTTTTTATGTATG
AAACAAGATGTGTGATGTGTTAGGTTGTGTACTTGACAGGTACCAGATTGTAGAAGGAGAGCACGCTTGTGGGATGGT
GTCTCACAGCCATACAGAGAAACAATACGTGCCTTTTTAGTCTACTTCCATAATGAGATACTTCGACGGTCAGCTGAAAT
GTTTTGCTTCACCAATGGCAGGTGATTCTTTTAAGCATNGGNANTTCTTTTTGCTGGGGCACGCATATCTTCCAGTC
TCTGGATGCTGCGATTTTTTGTCTCACGNGTGTC

CloneName:RAP145

Size: 2550 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: putative unknown protein

Protein: putative unknown protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang-Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Adress: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

GGCACGAGCCTCGCACCGCCTATCTCTACCG
CGCGCCCTCCGCCCCGCGGGCCCTTTGCCCTCCGATGTCGAAGACTCGGACGATTGCAATGCCGGAGACGGCGCCGGCGA
GGCCCTCAGGAAGAGCCGCAACGACCTGAAACGGGAGGCTCGTCGCGCCGTGCACTGGGGTATGGACCTCGCTAAGTTCT
CCCCTCCCAGATCAAGCGCATCCTCAGGGCTGCGTCGCTAGATCGCGAGGTGTTGACGCTCTCATGCTCGTGAAGAGA
TTTGATCAGATGTGCGGGAAGGAAAAGGAGGCAGTTCAACTATATCGGAAGACTTCTGCGTGGTGCACAACCCGAATT
GATGGACACTCTAATCCAGTATTGGAAGGATGGCGATGATAACAGGTTACTTGCATTAATGAGTGAATAACATTCTTGA
TGGAAGATGAGGAAATAGAGGACTTGCCCTTGAATGAAGAAGAGGGTGACAAAGAGCATATTGAAATGTCAGATAGATGG
TTTGAGGGCCTCCTTTCCAAAGACATTTTCAGTTACTAATGAAATTTATGCGATACATAATGTTGAGTTTGCATCGTCAGGA
ACTGCGGAAGCTCGTGAGGACAGTCCACATGGTCCAAGATNATATAGAAAATGAACNTGAAGAGGATCTACATG

CloneName:RAP146

Size: 2550 bp

Vector: pBluescript SK (-)

Identifier: unknown

Sequence Specification: putative unknown protein

Protein: putative unknown protein [Arabidopsis thaliana]

Organism: *Oryza Sativa* L. (Japonica cultivar group)

CFG project number: CG1213

Corresponding Author: Sang-Gu Kang

Authors: Sang Gu Kang

kangsg@yumail.ac.kr Tel: 82-53-810-2986; Fax: 82-53-816-8498

Address: Institute of Biotechnology, Yeungnam University, 214-1 Dae-Dong, Gyeongsan
Kyeongbook, 712-749, Korea

M13R

CCTCGCACCGCCTATCTCT

ACCGCGCGCCCTCCGCCCCGCGGGCCCTTTGCCCTCCGATGTCGAAGACTCGGACGATTCGAATGCCGGAGACGGCGCCG
GCGAGGCCCTCAGGAAGAGCCGCAACGACCTGAAACGGGAGGCTCGTCGCGCCGTGCAGTGGGGTATGGACCTCGCTAAG
TTCTCCCTCCCAGATCAAGCGCATCCTCAGGGCTGCGCTAGATCGCGAGGTGTTTCGACGCTCTCATGCTCGTGAA
GAGATTTGGATCAGATGTGCGGGAAGGAAAAGGAGGCAGTTCAACTATATCGGAAGACTTCTGCGTGGTGCACAACCCG
AATTGATGGACACTCTAATCCAGTATTCGAAGGATGGCGATGATAACAGGTTACTTGCATTAATGAGTAAAATACATTC
TTGATGGAAGATGAGGAAATAGAGGACTTGCCTTGCAATGAAGAAGAGGGTGACAAAGAGCATATTGAAATTGCAGATAG
ATGGTTTGAGGGCCTCCTTTCCAAAGACATTTTCAGTTACTAATGAAATTTATGCGATACATAATGNTGAGTTTGATCGTC
AGGAACTGCGGAAGCTCGTGAGGACAGTCCACATGGTCCAGATAATATAGAAATGNACATGAAG