



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0048433  
(43) 공개일자 2021년05월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12N 15/82* (2006.01) *C12N 9/10* (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
*C12N 15/8273* (2013.01)  
*C12N 9/104* (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2020-0138193  
(22) 출원일자 2020년10월23일  
심사청구일자 2020년10월23일  
(30) 우선권주장  
1020190132421 2019년10월23일 대한민국(KR)

(71) 출원인  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
김우택  
서울시 마포구 마포대로 195, 410동 704호(마포 래미안-푸르지오 아파트)  
유성관  
경기도 시흥시 은계남로 12, 1305동 2902호(은행동, 시흥은계 호반 씨밋플레이스)  
(74) 대리인  
특허법인이름리온  
(뒷면에 계속)

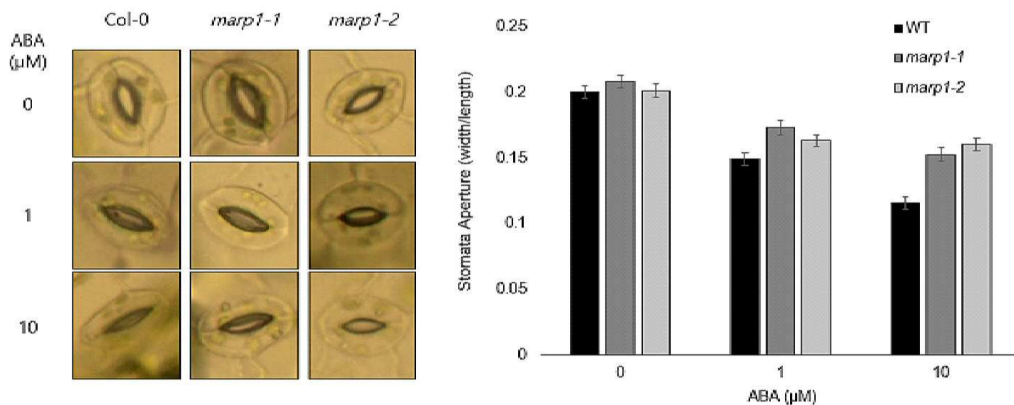
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 기공 조절을 통한 식물 건조 스트레스 내성에 관한 신규 유전자 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 기공 조절을 통한 식물 건조 스트레스 내성에 관한 신규 유전자(MARP1)에 관한 것이다. 상기 유전자는 식물 세포 내 미체소관과 결합하는 특성이 있으며 기공 내 미체소관을 조절함으로써 기공 움직임을 제어할 수 있다. 이에 따라 식물의 건조 스트레스 내성에 영향을 줄 수 있다. 또한 MARP1은 E3 ligase로서, 해당 유전자의 기능이 상실된 식물체의 경우 기공이 닫히는 다양한 조건에서 기공의 닫힘이 정상적으로 이루어지지 않는 특성을 나타내는 바, 이를 통해, MARP1 유전자의 기능을 조절함으로써 식물의 건조 스트레스 내성의 변화를 줄 수 있다.

대표도 - 도9



(52) CPC특허분류

**C12Y 203/02** (2013.01)

(72) 발명자

**김중흠**

서울특별시 서대문구 연희로 377, 201동 201호(홍은동, 현대아파트)

**조나현**

전라북도 무주군 안성면 별묘길 32-11

**오태린**

경기도 부천시 소사로78번길 81, 101동 103호(소사본동, 두산, 삼성아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711089844

과제번호 2017R1A2B2006750

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)(13111015015512001234301)

연구과제명 애기장대의 환경스트레스에 의한 단백질 이상 스트레스(proteotoxics stress) 대응

조절 메커니즘 연구

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교

연구기간 2017.03.01 ~ 2020.02.29

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

서열번호 1의 염기서열로 이루어진, 식물체의 건조 스트레스 저항성 MARP1 유전자.

#### 청구항 2

제1 항에 있어서,

상기 유전자는 애기장대(*Arabidopsis thaliana*) 유래인, MARP1 유전자.

#### 청구항 3

제1 항의 유전자를 포함하는 재조합 벡터.

#### 청구항 4

제3 항의 재조합 벡터에 의해 형질전환된 식물 세포.

#### 청구항 5

서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되며, 식물체 내의 미세소관과 결합하는, MARP1 단백질.

#### 청구항 6

제5 항에 있어서,

미세소관과 결합하여 기공의 개폐를 조절하는, MARP1 단백질.

#### 청구항 7

제5 항 또는 제6 항의 단백질을 포함하는, 식물체의 건조 스트레스 저항 유도용 조성물.

#### 청구항 8

제5 항 또는 제6 항의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현이 촉진되어 건조 스트레스 저항성이 유도된 형질전환 식물체.

#### 청구항 9

제8 항에 있어서,

상기 식물체는 식량 작물류, 채소 작물류, 특용 작물류, 과수류, 화훼류 및 사료 작물류로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 건조 스트레스 저항성이 유도된 형질전환 식물체.

#### 청구항 10

제8 항 또는 제9 항의 식물체의 형질전환된 종자.

#### 청구항 11

a) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계;

b) 상기 a) 단계에서 제조된 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제조하는 단계; 및

c) 상기 b) 단계에서 제조된 식물 형질전환세포로 식물체를 제조하는 단계를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법.

#### 청구항 12

애기장대 유래의 MARP1 단백질을 암호화하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 MARP1 유전자를 과발현시키는 것을 특징으로 하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 촉진하는 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

- [0001] 본 발명은 기공 조절을 통한 식물 건조 스트레스 내성에 관한 신규 유전자 및 이의 용도에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 신규 유전자 MARP1를 이용한 식물체의 건조 스트레스에 대한 저항성 증진용 조성물, 상기 유전자로 형질전환된 형질전환 식물 세포, 형질전환 식물체 등에 관한 것이다.

### 배경 기술

- [0002] 산업화로 인한 온실 가스 증가와 산림 파괴로 인해 지구의 평균기온이 상승하면서 이상 기후 현상이 점차 심화되고 있다. 이로 인해 작물들의 생산량이 감소하고 있고, 이는 곧 식량문제로 이어질 가능성이 큰 상황에 놓여 있다 (Wang et al., 2001). E3 ligase는 ubiquitin이라는 생명체 내에 잘 보존되어 있는 단백질을 특정 기질에 부착함으로써 Proteasome system을 통해 단백질의 분해를 유도하는 단백질이다 (Kraft et al., 2005; Stone et al., 2005). 이러한 E3 ligase는 건조 스트레스 상황에서 유전자 조절, 전사 인자 조절 및 기공 기능 조절 등의 다양한 역할을 통해 건조 스트레스 내성 기작에 작용할 것으로 예상되어 모델 식물인 애기장대의 E3 ligase와 건조 스트레스와의 상관 관계에 대한 일련의 연구들이 출판된 바 있다 (Ryu et al., 2010; Cho et al., 2011).

- [0003] 본 발명자들은 애기장대의 새로운 스트레스 관련 RING-type E3 ligase인 MARP1(Microtubule Associated RING Protein 1)를 선별하여 유전자/단백질의 특성 조사 및 기능상실 생명체에 대한 생리 연구를 수행하였다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

- [0004] 본 발명은 기공 조절을 통한 식물 건조 스트레스 내성에 관한 신규 유전자 (MARP1)를 제공하는 것이다.
- [0005] 본 발명의 목적은 식물체의 건조 스트레스 저항성 증진용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0006] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 유전자로 형질전환된 건조 스트레스 저항성이 증진된 식물 세포 및 식물체를 제공하는 것이다.
- [0007] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 유전자를 식물 세포에 도입시키는 단계를 포함하는 식물체의 건조 스트레스 저항성 증진 방법을 제공하는 것이다.

#### 과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명은 상술한 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 서열번호 1의 염기서열로 이루어진, 식물체의 건조 스트레스 저항성 MARP1 유전자를 제공한다.
- [0009] 본 발명에 따르면, 상기 유전자는 애기장대(Arabidopsis thaliana)로부터 유래할 수 있다.
- [0010] 본 발명은 다른 실시예에 따르면, 상기 MARP1 유전자를 포함하는 재조합 벡터가 제공된다.
- [0011] 본 발명은 또한, 서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되며 식물체 내의 미세소관과 결합하는 MARP1 단백질을 제공한다. 상기 MARP1 단백질은 미세소관과 결합하여 기공의 개폐를 조절할 수 있다. MARP1 단백질이 존재하는 식물체의 경우, 건조 스트레스 상태에 놓일 때 기공을 닫는 등의 건조 스트레스에 대한 저항 반응을 나타낼 수 있다.
- [0012] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 MARP1 단백질 또는 MARP1 유전자 재조합 벡터를 포함하는, 식물체의 건조 스트레스 저항 유도용 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 통상의 방법으로 식물체에 처리될 수 있다. 상기 조성물의 처리에 따라 식물체 내 MARP1 단백질 또는 MARP1유전자의 발현이 촉진될 수 있으며 이는 식물체의 기공 개폐를 조절하여 건조 스트레스에 대한 저항성을 향상시킬 수 있다.
- [0013] 본 발명은 또한, 상기 MARP1 단백질을 코딩하는 유전자의 발현이 촉진되어 건조 스트레스 저항성이 유도된 형질

전환 식물체를 제공한다. 본 발명에 따르면, 상기 식물체에는 식량 작물류, 채소 작물류, 특용 작물류, 과수류, 화훼류 및 사료 작물류가 포함될 수 있다. 또한, 상기 식물체의 형질전환된 종자가 본 발명에 따라 제공된다.

[0014] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, a) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; b) 상기 a) 단계에서 제조된 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제조하는 단계; 및 c) 상기 b) 단계에서 제조된 식물 형질전환세포로 식물체를 제조하는 단계를 포함하는 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법이 제공된다.

[0015] 또한, 본 발명은 애기장대 유래의 MARP1 단백질을 암호화하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 MARP1 유전자를 과발현시키는 것을 특징으로 하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 촉진하는 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0016] 본 발명은 기공 조절을 통한 식물 가뭄 스트레스 내성에 관한 신규 유전자 (MARP1)를 제공한다. 상기 유전자는 식물 세포 내 미세소관과 결합하는 특성이 있으며 기공 내 미세소관을 조절함으로써 기공 움직임을 제어할 수 있다. 이에 따라 식물의 가뭄 스트레스 내성에 영향을 줄 수 있다. 또한 MARP1은 E3 ligase로서, 해당 유전자의 기능이 상실된 식물체의 경우 기공이 닫히는 다양한 조건에서 기공의 닫힘이 정상적으로 이루어지지 않는 특성을 나타내는 바, 이를 통해, MARP1 유전자의 기능을 조절함으로써 식물의 가뭄 스트레스 내성의 변화를 줄 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 MARP1의 CDS 모식도이다.

도 2는 MARP1의 CDS 서열이다

도 3은 MARP1의 아미노산 서열이다.

도 4는 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)의 기능상실 여부 확인한 결과를 나타내는 것이다.

도 5는 MARP1 및 UBC10에 대한 RT-PCR 결과이다.

도 6은 식물 내 미세소관 표지자인 TUB6 단백질과의 Co-localization을 분석한 결과를 나타내는 것이다.

도 7은 식물 원형질체를 이용한 Immunoprecipitation 실험 결과를 나타내는 것이다.

도 8은 MARP1 기능상실 식물체(marp1-2)의 기공 공변세포 내 미세소관의 움직임을 확인한 결과를 나타내는 것이다.

도 9는 야생종 (WT) 및 MARP1 기능상실 식물체(marp1-1, marp1-2)에 대해 건조 스트레스 신호전달 매개체인 식물 호르몬인 ABA를 처리한 결과를 분석한 것이다.

도 10은 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)의 건조 스트레스 민감성을 테스트한 결과를 나타내는 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 본 발명의 목적, 특징, 장점은 이하의 실시예를 통하여 쉽게 이해될 것이다. 본 발명은 여기서 설명하는 실시예에 한정되지 않고, 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 여기서 소개되는 실시예는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다. 따라서 이하의 실시예에 의해 본 발명이 제한되어서는 안 된다.

[0019] 본 발명자들은 애기장대의 새로운 스트레스 관련 RING-type E3 ligase인 MARP1(Microtubule Associated RING Protein 1)를 선별하여 유전자/단백질의 특성 조사 및 기능상실 생명체에 대한 생리 연구를 수행하였다.

[0020] 본 발명은 기공 내 미세소관을 조절함으로써 기공 움직임을 제어하여 식물의 건조 스트레스 내성에 관련된 유전자 및 그 기능이 상실된 식물체에 대한 것이다. 이 유전자 (MARP1)는 식물 세포 내 미세소관과 결합하는 특성을 보였다. MARP1은 E3 ligase로서, 해당 유전자의 기능이 상실된 식물체의 경우 기공이 닫히는 다양한 조건에서 기공의 닫힘이 정상적으로 이루어지지 않는 특성을 보였다. 이를 통해, MARP1 유전자의 기능을 조절함으로써 식

물의 건조 스트레스 내성의 변화를 줄 수 있다.

- [0021] 본 발명은 앞서 살펴본 바와 같이, 기공 조절을 통한 식물 건조 스트레스 내성에 관한 신규 유전자 (MARP1) 및 상기 유전자를 포함하는 식물체의 건조 스트레스에 대한 저항성 유도용 조성물을 제공한다.
- [0022] 본 발명은 또한, 서열번호 2의 아미노산 서열로 구성되는 MARP1 단백질을 제공한다. 본 발명의 일 실시예에 따르면 상기 MARP1 단백질은 식물체 내에서 미세소관과 결합할 수 있다. MARP1 단백질은, 식물체 내 미세소관과 결합한 후, 기공의 개폐를 조절할 수 있다.
- [0023] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, MARP1 단백질을 코딩하는 유전자의 발현이 촉진되어 건조 스트레스 저항성이 유도된 형질전환 식물체 및 이의 종자가 제공된다.
- [0024] 본 명세서에서, 용어 "식물체(또는 식물)"는 성숙한 식물뿐만 아니라 성숙한 식물로 발육할 수 있는 식물 세포, 식물 조직, 식물 세포 또는 조직으로부터 유래된 캘러스 및 식물의 종자 등을 모두 포함하는 의미로서 이해된다.
- [0025] 본 발명에서 형질전환의 대상이 되는 식물체는 벼, 밀, 보리, 옥수수, 콩, 감자, 밀, 팥, 귀리 및 수수를 포함하는 식량 작물류; 애기장대, 배추, 무, 고추, 딸기, 토마토, 수박, 오이, 양배추, 참외, 호박, 파, 양파 및 당근을 포함하는 채소 작물류; 인삼, 담배, 목화, 참깨, 사탕수수, 사탕무, 들깨, 땅콩 및 유채를 포함하는 특용 작물류; 사과나무, 배나무, 대추나무, 복숭아, 양다래, 포도, 감귤, 감, 자두, 살구 및 바나나를 포함하는 과수류; 장미, 글라디올러스, 거베라, 카네이션, 국화, 백합 및 튜립을 포함하는 화훼류; 및 라이그라스, 레드 클로버, 오차드그라스, 알파알파, 톨페스큐 및 페레니얼라이그라스를 포함하는 사료 작물류를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명에서 형질전환의 대상이 되는 식물체는 채소 작물류 또는 특용 작물류이다. 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 따르면 본 발명에서 형질전환의 대상이 되는 식물체는 애기장대이다.
- [0026] 본 발명은 또한, MARP1 유전자를 포함하는 재조합 벡터 및 이를 이용한 건조 스트레스 저항성 형질전환 식물체의 제조방법을 제공한다.
- [0027] 본 명세서에서 용어 "재조합"은 세포가 이종의 핵산을 복제하거나, 상기 핵산을 발현하거나 또는 펩티드, 이종의 펩티드 또는 이종의 핵산에 의해 암호화된 단백질을 발현하는 세포를 지칭하는 것이다. 재조합 세포는 상기 세포의 천연 형태에서는 발견되지 않는 유전자 또는 유전자 절편을, 센스 또는 안티센스 형태 중 하나로 발현할 수 있다. 또한 재조합 세포는 천연 상태의 세포에서 발견되는 유전자를 발현할 수 있으며, 그러나 상기 유전자는 변형된 것으로서 인위적인 수단에 의해 세포 내 재도입된 것이다.
- [0028] 본 명세서에서 용어 "벡터"는 세포 내로 전달하는 DNA 단편(들), 핵산 분자를 지칭할 때 사용된다. 벡터는 DNA를 복제시키고, 숙주세포에서 독립적으로 재생산될 수 있다. 용어 "전달체"는 흔히 "벡터"와 호환하여 사용된다. 용어 "발현 벡터"는 목적한 코딩 서열과, 특정 숙주 생물에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열을 발현하는데 필수적인 적정 핵산 서열을 포함하는 재조합 DNA 분자를 의미한다. 진핵세포에서 이용 가능한 프로모터, 인핸서, 종결신호 및 폴리아데닐레이션 신호는 공지되어 있다.
- [0029] 본 발명의 형질전환 식물세포 및 형질전환 식물체를 제조하기 위하여 당업계에 일반적으로 공지된 방법에 따라 실시될 수 있다. 본 발명은, 외래성 폴리뉴클레오티드를 플라스미드나 바이러스 등과 같은 벡터 등의 운반체에 삽입하여 식물을 형질전환시킬 수 있고, 아그로박테리움 박테리아를 매개체로 사용할 수 있으며, 직접 외래성 폴리뉴클레오티드를 식물 세포 내로 도입시켜 식물을 형질전환시킬 수 있다. 예를 들어, T-DNA 부위를 포함하지 않는 벡터를 이용하는 경우에는 전기천공법(electroporation), 입자충격법(microparticle bombardment), 폴리에틸렌 글리콜침전법(polyethylene glycol-mediated uptake)을 이용할 수 있다. 일반적으로 식물을 형질전환시키는 데 있어 많이 사용되는 것이 외래성 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 아그로박테리움 투메페이스언스(Agrobacterium tumefaciens)로 식물 세포나 종자 등을 감염시키는 방법이다.
- [0030] 본 발명에서 MARP1 유전자 또는 이를 포함하는 식물발현용 재조합 벡터를 식물세포에 도입하는 방법은 당업계에 공지된 다양한 방법으로 실시될 수 있다.
- [0031] 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 건조 스트레스 저항성 식물체의 제조방법은, a) 서열번호 1의 염기서열로 구성되는 유전자를 포함하는 벡터를 제조하는 단계; b) 상기 a) 단계에서 제조된 벡터로 형질전환된 식물 형질전환세포를 제조하는 단계; 및 c) 상기 b) 단계에서 제조된 식물 형질전환세포로 식물체를 제조하는 단계를 포함할 수 있다.



- [0032] 당업자는 공지된 적절한 조건 하에서 형질전환된 식물 세포나 종자를 배양 또는 재배하여 식물로 발육시킬 수 있다. 식물 원형질 또는 다양한 익스플란트(explant)로부터 식물체의 발달 또는 재분화시키는 방법은 당업계에 잘 알려져있다. 아그로박테리움에 의해 도입된 외래 유전자를 포함하는 식물체의 발달 또는 재분화는 당업계에 공지된 방법에 따라 달성될 수 있다.
- [0033] 또한, 형질전환된 식물세포의 선별은 형질전환 배양물을 선택제(예: 대사 억제제, 항생제 및 제초제)에 노출시켜 실시될 수 있다. 형질전환되고 선택제 내성을 부여하는 표지 유전자를 안정되게 포함하고 있는 식물세포는 상기한 배양물에서 성장하고 분할한다. 예시적인 표지는, 하이그로마이신 포스포트랜스퍼라아제 유전자, 글리코 포스페이트 내성 유전자 및 네오마이신 포스포트랜스퍼라아제(nptII) 시스템을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명에 따라 형질전환된 식물체는 당업계에 공지된 방법에 의해 형질전환 여부가 확인된다. 예를 들어, 형질전환된 식물체의 조직으로부터 얻은 DNA 시료를 이용하여, PCR을 실시하면 형질전환 식물체의 게놈에 삽입된 외래 유전자가 규명될 수 있다. 택일적으로, 노던 또는 서던 블롯팅을 실시하여 형질전환 여부를 확인할 수 있다.
- [0035] 본 발명은 또한, 애기장대 유래의 MARP1 단백질을 암호화하는 유전자를 포함하는 재조합 벡터로 식물세포를 형질전환시켜 MARP1 유전자를 과발현시키는 것을 특징으로 하는 식물체의 건조 스트레스 저항성을 촉진하는 방법을 제공한다.
- [0037] <실시예 1>
- [0038] 1-1. MARP1 기능 상실 식물체의 제조
- [0039] 본 발명에 따른 MARP1 유전자와 식물체의 건조 스트레스 저항성의 상관관계를 확인하기 위하여, MARP1 기능상실 식물체를 제조하였다. 도 4는 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)의 기능상실 여부 확인한 결과를 나타낸 것이다. Genotyping PCR 결과 homozygous 한 T-DNA의 삽입을 확인하였다.
- [0040] 도 5는 MARP1 및 UBC10에 대한 RT-PCR 결과이다. 도 5를 참조하면 RT-PCR 결과 marp1-1, marp1-2에서 MARP1의 mRNA가 검출되지 않음을 알 수 있다. 도 5에서, UBC10은 동량 시료에 대한 대조군으로 사용되었다.
- [0042] 1-2. MARP1 단백질과 미세소관의 연관성 확인
- [0043] 본 발명에 따른 MARP1 단백질이 미세소관과 연관되어 있음을 확인하기 위해, 각 단백질의 담배 엽육 세포에서의 발현을 확인하였다.
- [0044] 도 6은 식물 내 미세소관 표지자인 TUB6 단백질과의 Colocalization을 분석한 결과를 나타내는 것이다. 도 6에서 나타내는 바와 같이, mRFP로 표지한 MARP1 단백질을 담배 엽육 세포에서 발현 시 TUB6로 표지되는 미세소관과 정확히 일치하는 발현 양상을 보이므로 MARP1의 세포 내 위치는 미세소관임을 증명할 수 있다.
- [0045] 또한, 도 7은 식물 원형질체를 이용한 Immunoprecipitation 실험 결과를 나타내는 것이다. 도 7에서 나타내는 바와 같이, 식물 원형질체를 이용한 Immunoprecipitation 실험을 통해 식물체 내에서 MARP1 단백질이 실제로 미세소관 구성 단백질인 TUB6와 상호작용하고 있음을 증명하였으므로 MARP1는 식물체 내에서 미세소관과 결합하는 단백질임을 알 수 있다.
- [0047] 1-3. MARP1 유전자의 존부에 따른 기공의 변화
- [0048] 건조 스트레스가 발생하였을 때, 기공을 조절하는 것은 건조 스트레스 저항성을 향상시킬 수 있다. 본 발명자들은, MARP1 유전자의 존부에 따라 기공 조절여부가 달라지는지 여부를 확인하기 위해, MARP1 유전자가 존재하는 야생종과 실시예 1-1. 에 따라 제조된 MARP1 유전자 상실 식물체에 ABA를 처리한 후, 기공의 변화를 확인하였다.
- [0049] 도 8은 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-2)의 기공 공변세포 내 미세 소관의 움직임을 확인한 결과를 나타내는 것이다. 도 8에서 나타내는 바와 같이, MARP1 기능상실 식물체 (marp1-2)의 기공 공변세포 내 미세소관의 움직임을 볼 수 있다. 야생종 (col-0)의 기공 미세소관은 건조 스트레스 반응을 유도하는 식물 호르몬인 ABA 처리 시

빠르게 부서지며 기공이 닫히는 표현형을 보이지만, MARP1 기능상실 식물체의 경우 같은 ABA 처리 조건에서도 미세소관이 유지되어 기공이 닫히지 않는 표현형을 보였다.

[0050] 도 9는 야생종 (WT) 및 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)에 대해 건조 스트레스 신호전달 매개체인 식물 호르몬인 ABA를 처리한 결과를 분석한 것이다. 도 9에서 나타내는 바와 같이, 건조 스트레스 신호전달 매개체인 식물 호르몬인 ABA를 처리하였을 때, 야생종 (WT)의 경우 기공이 닫힘으로써 (Aperture가 감소함) 수분 증발을 막아 건조 스트레스에 저항성을 나타내려 하지만 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)의 경우 같은 조건의 ABA 처리 시에도 기공이 닫히지 않는 것으로 확인되었다.

[0052] <실시예 2> MARP1 유전자 존부에 따른 건조 스트레스 민감성의 차이 확인

[0054] 본 발명의 MARP1 유전자와 식물체의 건조 스트레스 민감성을 확인하기 위해, 야생종 (WT) 및 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)를 동량의 토양이 포함된 화분에 같은 조건으로 2주간 키운 뒤 물을 주지 않고 2주 동안 방치한 후 다시 3일간 물을 주어 건조 스트레스에 대한 생존율을 측정하였다.

[0055] 도 10은 MARP1 기능상실 식물체 (marp1-1, marp1-2)의 건조 스트레스 민감성을 테스트한 결과이다. 야생종의 경우 75%의 개체가 다시 물을 주었을 때 살아났으나, MARP1 기능상실 식물체들의 경우 11-25%의 낮은 생존성을 보였다. 종합적으로, MARP1 기능상실 식물체의 경우 건조 및 이에 파생되는 ABA 호르몬 매개 작용에서 필수적인 미세소관 분해를 통한 기공 닫힘이 제대로 일어나지 않아 건조 스트레스에 더 민감한 표현형을 보인다고 결론지을 수 있다.

[0057] 즉, 본 발명은 식물의 미세소관을 조절함으로써 기공 기능을 조절하여 식물의 건조 스트레스 내성에 관여하고 있는 유전자인 MARP1의 발명 및 그 기능상실 식물체의 표현형에 관한 것이다. 해당 유전자의 경우 미세소관을 통한 기공 조절이라는 특징적인 기능을 보유하고 있으므로, 차후 기공조절을 통한 건조 내성이 증대된 식물을 제작하는데 주요한 기여를 할 수 있다.

[0059] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

[0060] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

## 도면

### 도면1





## 도면2

> MARP1 CDS - 1578bp

```
ATGGATGGATGTGCTGGTAAACGATCTGTTGACCGGTTGGTTGTGCCTCGGAAAGCCAGTGGTCTTACCCTGCGTGAGAATATGAACAAGA
CAGATGGTAAGAATGTTCTTTCTGCAGCCGAGTTGGTTGTAAGTCAAGGTAAGTCTTACCAAGAGATCTCGGATTGGCTCTACGGATAAC
AATACAAAAGTTGGTCTGCCTCCGGTCCATCTACCTTAAATAGAAAGGAAATTTGTTGGGAGCTCATCTCGTACTCCTGGTGGATTGGATAC
TTGAGAAAGCCAGCCAAAGTTACTGCAAGAAGACAGCCGTCATCTAGTTTAGACACTGAATCTTCGGAAACGAGTTGTATTGATGATGATCC
AGCTGCAACAGAGCCACACTTCCACGCCAAAAGACTAAAGAGTCAACATCAATGTTTCATCCTCAAAGCGCTGTCTCTAGAGAAGTTGTAA
TAACAAAGGCAGGAAGCTCAAGTAGAGGAAACCAGCAGAAATAGTCATCCAAAGTCTGAATTGGGTACCCGCGATGCTCTGACGGGTCCTTC
TGTTTCTACATCTTCTGGTAACAGTGAGCACAAGTAAAGAGGCGGTTTGAAGTAGGCATAGATTGAGGAACCTTGAGCTGCAATTTCTGTCTG
ATGTTCTTCCAATACTCAAAGTCAAGCAACAAAAATCAGTGTGACTAAAAAGAAAACGCTGATGGAGAGAGCAGCTTATCTAGCAAAAGGTA
GTAAGACTAGTGTGTTGGTTCCAAAGGTAAGGAATCAAATTTCTTCTCATGGCAATGGCGTCACAGTTTCTGATAACAGAAGAAATCGAGTAG
TACCAAGTATTAGGACAGCAGTACTGTTGTTTCAAATGGTTGTAGGAGAGCTGTTATTTTGGTAGATCAGAGCGACTTGGAGCTACTGCA
TCCTCTGCTACTTCTCGAGAAATGCCTCATCTACAAACACCAACCGATCCCAATCCTTCTCTTTTCGTTTGTCCATCAAATATATACAGTAGTA
CTGGACGCGTACATAGCAATATGCCTGGTAGCCCCACGGAAGCTGACCCCTTCAAGCTCTTTGGTGAACCGGGATGGTTTGAAGTCACTACAA
CATGAATTGGAATTGCAGAGGTATTGTTGGCCCTCGAAAGGATTGAACATGATGAAGAGCTTACATATGAGCAACTGGCTTCTATAGAGACCA
ATCTATTCTCAAGTGGTATGTTTCAGATTCTATGATCAGCATAGAGATATGAGGCTTGACATCGATAACATGTCATATGAGGAGTTACTAGCTTT
GGGGGATAAAATGGGTACAGTGAGCAGCTCTAAGCGAAGAAGCACTCTCAAGAAGCCTTAAGCAAAGCATTTATCAGGAGACAGATGAA
ACCGGTTCCATCTCTCTGTATAAGGATGATGATCAAGTGCAGTATTTGCCAGGAAGAGTATGTTGATGGAGATGAATTAGGGACTATTCCA
TGTCACATATGTACCATGTGAGCTGTGTACAACAATGGCTGCGGATGAAGAATTGGTGCCCAATCTGCAAAACCTCTGCGGAAGAAGAGAA
GTCGATTAG
```

## 도면3

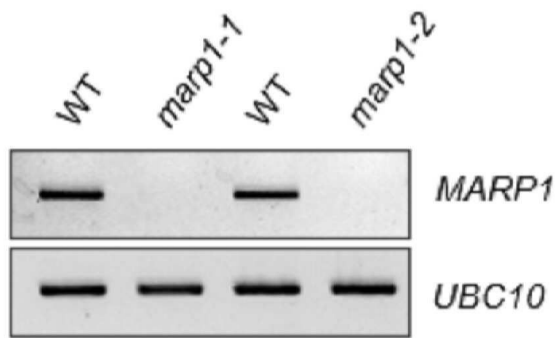
> MARP1 Protein sequence (57.08 kDa)

```
MDCCAGKRSVDRLVVPRKASGLTLRENMNKTDGKNVPFCRVVGCTAKVTSTKRSRIGSTDNNTKVGLFPVPSTLNKKEIVGSSSRITFGFGYLR
KPAKVTAARRQPSSSLDTESSETSCIHDDPAATEPTLPRQKTKRVINVHPQSAVSREVVITKAGSSSRGTSRISHPKSELGTRDALTGPSVSTSSGN
SEHTVRGGLSRHRLRNLSCNSVSDVLPNTNSATKISVTKKNADGESLSKSGSKTSVLVPKYRNQISSHGNVTVSDNRRNRVVPVSIRESSTV
VSNRCRRAGYVGRSERLGATASATSQRQMPHPTTPTDPNFSLSFCPSNIYSTGRVHSHMFGSFTADPSSSLVNRDGLSHYNNMGIAEVLAL
ERIEHDEELTYEQLASIEINLFSGIMFRFYDQHRDVRDLIDNMSYEELLALGDKMGTVSTALSEALSRLKQSIYGETDETGSISLYKDDDIKCSIC
QEEYVDGDELGTIPCQHMYHVSCVQQWLRMKNWCPICKTSAEEEKSI
```

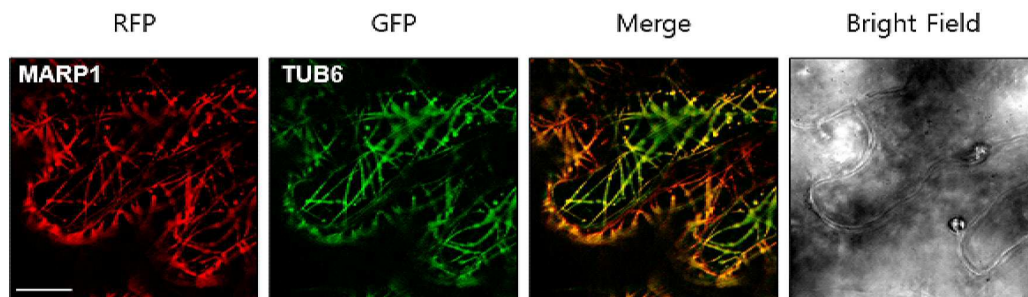
## 도면4



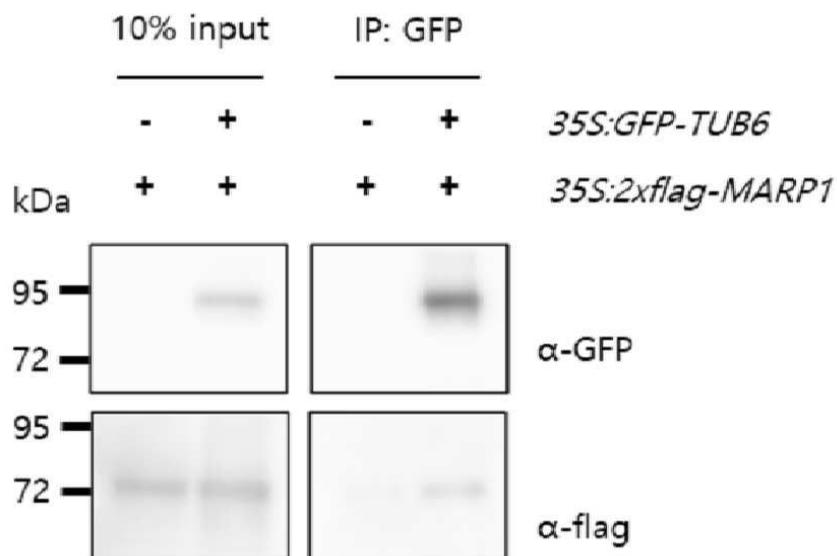
도면5



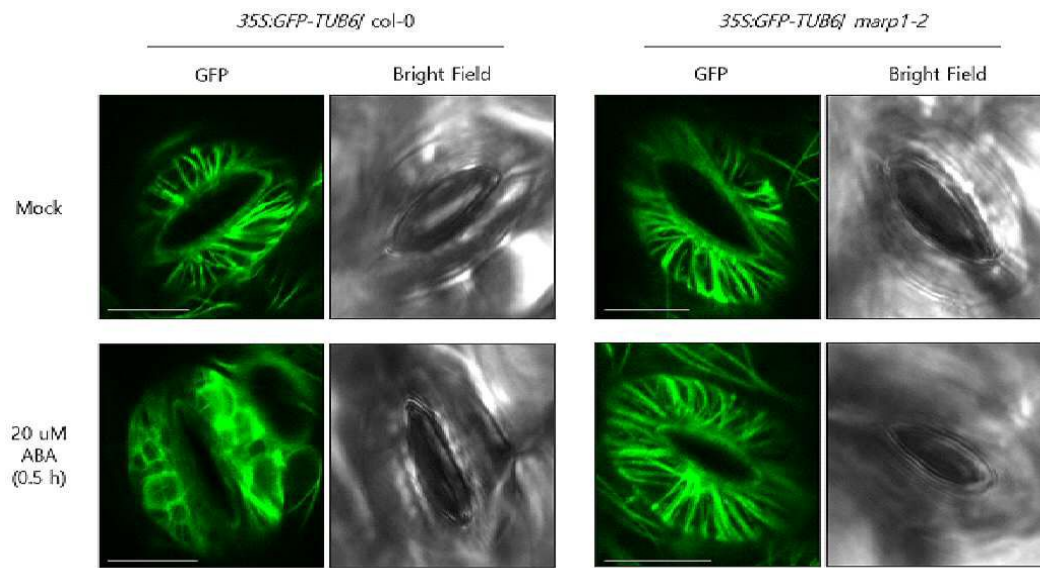
도면6



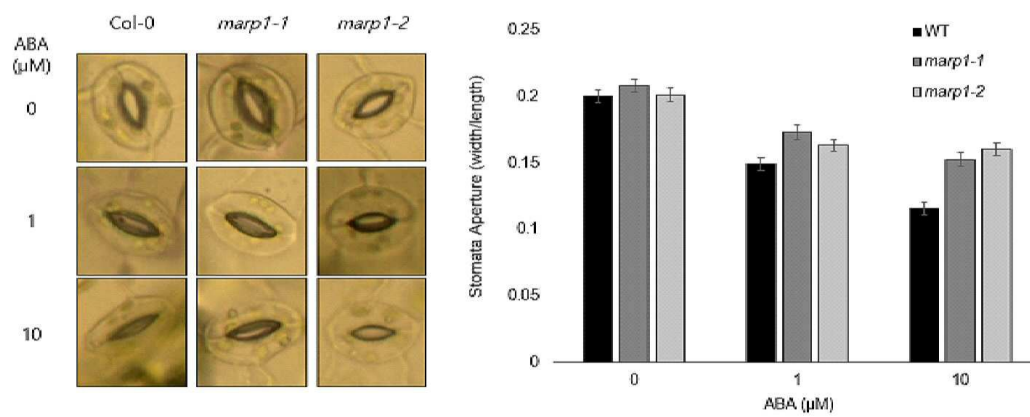
도면7



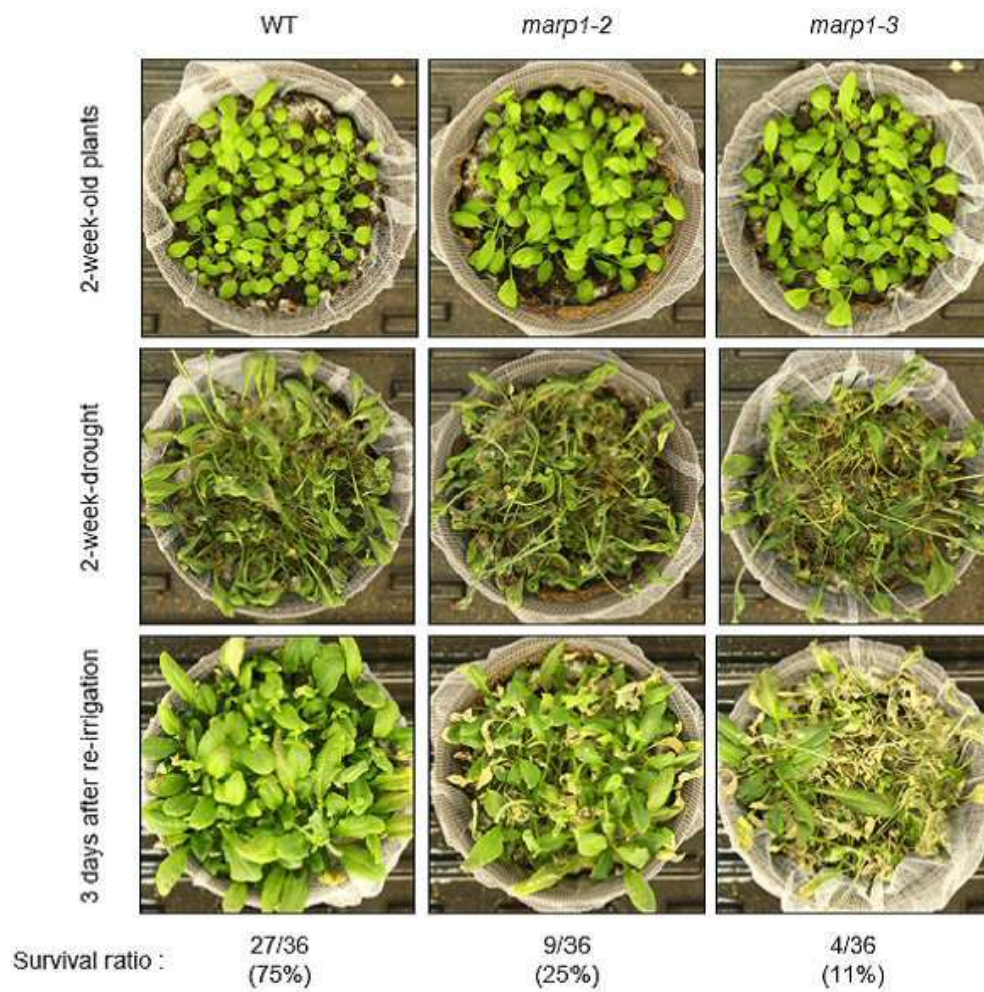
도면8



도면9



도면10



## 서열 목록

- <110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> NOVEL GENES FOR PLANT DROUGHT STRESS TOLERANCE THROUGH PORE  
REGULATION AND USE THEREOF
- <130> 1068337
- <150> KR 10-2019-0132421
- <151> 2019-10-23
- <160> 2
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 1578
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> MARP1

<400> 1

atggatggat gtgctggtaa acgatctgtt gaccggttgg ttgtgcctcg gaaagccagt	60
ggctcttacc tgcgtgagaa tatgaacaag acagatggta agaattgtcc ttcttcgcgc	120
cgagttgggt gtactgcaaa ggtaacttct accaagagat ctcggttgg ctctacggat	180
aacaatacaa aagttaggtc gcctccggtt ccatctacct taaatagaaa ggaaattgtt	240
gggagctcat ctcgctacc tggtaggttt ggatacttga gaaagccagc caaagtact	300
gcaagaagac agccgtcatc tagtttagac actgaatctt cggaacagag ttgtattcat	360
gatgatccag ctgcaacaga gcccacactt ccacgcaaaa agactaaaag agtcacaatc	420
aatgttcatc ctcaaagcgc tgtctctaga gaagttgtaa taacaaaggc aggaagctca	480
agtagaggaa ccagcagaat tagtcatcca aagtctgaat tgggtaccgc cgatgctctg	540
acgggtcctt ctgtttctac atcttctggt aacagtgagc acactgtaag aggcggtttg	600
agtaggcata gattgaggaa cttgagctgc aattctgtgt ctgatgttct tccaactaac	660
tcaaactcag caacaaaaat cagtgtgact aaaaagaaaa acgtgatgg agagagcagc	720
ttatctagca aaggtagtaa gactagtgtg ttggttccaa aggttaaggaa tcaaatttct	780
tctcatggca atggcgtcac agtttctgat aacagaagaa atcgagtagt accaagtatt	840
agggacagca gtactgttgt ttcaaatggt ttaggagag ctggttattt tggtagatca	900
gagcgacttg gagctactgc atcctctgct acttctcgac aaatgcctca tcctacaaca	960
ccaaccgatc ccaatccttc tctttcggtt tgtccatcaa atatatacag tagtactgga	1020
cgctacata gcaatatgcc tggtagcccc acggaagctg acccttcaag ctctttgggtg	1080
aaccgggatg gtttagtca ctacaacatg aatggaattg cagaggtatt gttggccctg	1140
gaaaggattg aacatgatga agagcttaca tatgagcaac tggcttctat agagaccaat	1200
ctatttctaa gtggtatgtt cagattctat gatcagcata gagatatgag gcttgacatc	1260
gataacatgt catatgagga gttactagct ttgggggata aaatgggtac agtgagcaca	1320
gctctaagcg aagaagcact ctcaagaagc ctaagcaaa gcatttatca ggagacagat	1380
gaaaccggtt ccatctctct gtataaggat gatgatatca agtgcagtat ttgccaggaa	1440
gagtatgttg atggagatga attaggact attccatgac aacatatgta ccatgtgagc	1500
tgtgtacaac aatggctgcg gatgaagaat tggtgcccaa tctgcaaaac ctctgcggaa	1560
gaagagaagt cgatttag	1578

<210> 2

<211> 525

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MARP1

<400> 2

Met Asp Gly Cys Ala Gly Lys Arg Ser Val Asp Arg Leu Val Val Pro

1 5 10 15

Arg Lys Ala Ser Gly Leu Thr Leu Arg Glu Asn Met Asn Lys Thr Asp

20 25 30

Gly Lys Asn Val Pro Phe Cys Ser Arg Val Gly Cys Thr Ala Lys Val

35 40 45

Thr Ser Thr Lys Arg Ser Arg Ile Gly Ser Thr Asp Asn Asn Thr Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Ser Ser Ser Arg Thr Pro Gly Gly Phe Gly Tyr Leu Arg Lys Pro

85 90 95

Ala Lys Val Thr Ala Arg Arg Gln Pro Ser Ser Ser Leu Asp Thr Glu

100 105 110

Ser Ser Glu Thr Ser Cys Ile His Asp Asp Pro Ala Ala Thr Glu Pro

115 120 125

Thr Leu Pro Arg Gln Lys Thr Lys Arg Val Thr Ile Asn Val His Pro

130 135 140

Gln Ser Ala Val Ser Arg Glu Val Val Ile Thr Lys Ala Gly Ser Ser

145 150 155 160

Ser Arg Gly Thr Ser Arg Ile Ser His Pro Lys Ser Glu Leu Gly Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Cys Asn Ser Val Ser Asp Val Leu Pro Thr Asn Ser Asn Ser Ala

210 215 220



Thr Lys Ile Ser Val Thr Lys Lys Lys Asn Ala Asp Gly Glu Ser Ser

225 230 235 240

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

245 250 255

Asn Gln Ile Ser Ser His Gly Asn Gly Val Thr Val Ser Asp Asn Arg

260 265 270

Arg Asn Arg Val Val Pro Ser Ile Arg Asp Ser Ser Thr Val Val Ser

275 280 285

Asn Gly Cys Arg Arg Ala Gly Tyr Phe Gly Arg Ser Glu Arg Leu Gly

290 295 300

Ala Thr Ala Ser Ser Ala Thr Ser Arg Gln Met Pro His Pro Thr Thr

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Ser Thr Gly Arg Val His Ser Asn Met Pro Gly Ser Pro Thr Glu

340 345 350

Ala Asp Pro Ser Ser Ser Leu Val Asn Arg Asp Gly Leu Ser His Tyr

355 360 365

Asn Met Asn Gly Ile Ala Glu Val Leu Leu Ala Leu Glu Arg Ile Glu

370 375 380

His Asp Glu Glu Leu Thr Tyr Glu Gln Leu Ala Ser Ile Glu Thr Asn

385 390 395 400

Leu Phe Ser Ser Gly Met Phe Arg Phe Tyr Asp Gln His Arg Asp Met

405 410 415

Arg Leu Asp Ile Asp Asn Met Ser Tyr Glu Glu Leu Leu Ala Leu Gly

420 425 430

Asp Lys Met Gly Thr Val Ser Thr Ala Leu Ser Glu Glu Ala Leu Ser

435 440 445

Arg Ser Leu Lys Gln Ser Ile Tyr Gln Glu Thr Asp Glu Thr Gly Ser

450 455 460

Ile Ser Leu Tyr Lys Asp Asp Ile Lys Cys Ser Ile Cys Gln Glu

465	470	475	480
Glu Tyr Val Asp Gly Asp Glu Leu Gly Thr Ile Pro Cys Gln His Met			
	485	490	495
Tyr His Val Ser Cys Val Gln Gln Trp Leu Arg Met Lys Asn Trp Cys			
500	505	510	
Pro Ile Cys Lys Thr Ser Ala Glu Glu Glu Lys Ser Ile			
515	520	525	