



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0107114
(43) 공개일자 2009년10월13일

(51) Int. Cl.

C12N 15/29 (2006.01) *C12N 15/10* (2006.01)

C12N 15/09 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0032442

(22) 출원일자 2008년04월08일

심사청구일자 2008년04월08일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 가좌동 900

(72) 발명자

이상열

경남 진주시 망경동 한보아파트 106동 1806호

이중로

경남 진주시 주약동 200-2번지

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김동완

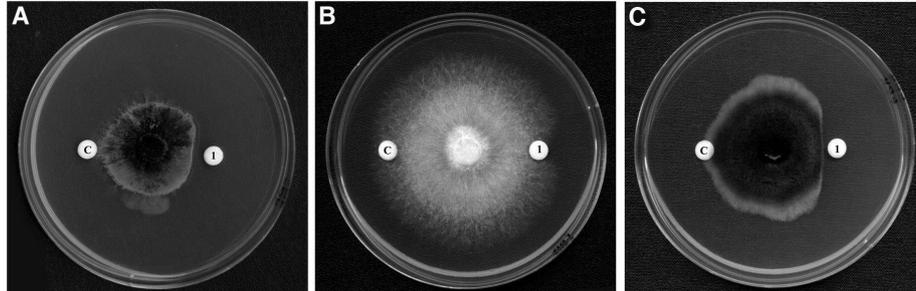
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 아라비돕시스 탈리아나에서 분리된 항진균성 단백질 A t D a b b 1

(57) 요약

본 발명은 아라비돕시스 탈리아나에서 분리된 항진균성 단백질 AtDabb1에 관한 것으로 더욱 상세하게는 콜렉토틀리키움 코코데스(*Collectotrichum coccodes*), 푸사리움 옥시포룸(*Fusarium oxysporum*), 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*), 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*), 트리코데르마 비리데(*Trichoderma viride*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 트리코스포론 베이겔리(*Trichosporon beigellii*) 등의 식물 병원성 진균의 세포 성장을 저해하는 아라비돕시스 탈리아나에서 분리된 항진균성 단백질 AtDabb1에 관한 것이다.

대표도



(72) 발명자

강재숙

경남 진주시 상봉서동 1068-7번지

정지현

경남 진주시 상대동 741-8번지

장호희

경남 사천시 사천읍 선인리 대경 파미르 102동 20
2호

김의연

경남 진주시 신안동 신안주공 2차 아파트 203동
203호

박진호

경남 사천시 벌리동 주공아파트 206동 1402호

이영미

경남 진주시 지수면 청원리 491

김선영

경남 진주시 가좌동 가좌2 주공아파트 213동 1205
호

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호: 1(GenBank 수납 번호 NP_175547)의 아미노산 서열을 지닌 아라비돕시스 탈리아나(*Arabidopsis thaliana*)에서 분리된 항진균 단백질 AtDabb1

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 항진균 단백질 AtDabb1은 콜렉토티리키움 코코데스, 푸사리움 옥시포룸, 푸사리움 솔라니, 트리코데르마 하르지아눔, 트리코데르마 비리데, 칸디다 알비칸스 및 트리코스포론 베이겔리 등의 식물 병원성 진균의 세포 성장을 저해함을 특징으로 하는 항진균 단백질 AtDabb1

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 항진균 단백질 AtDabb1은 진균 세포의 내부 세포막 구성요소와 상호작용하여 진균성 병원균의 사멸을 유발시킴을 특징으로 하는 항진균 단백질 AtDabb1

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

<1> 본 발명은 아라비돕시스 탈리아나에서 분리된 항진균성 단백질 AtDabb1에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 콜렉토티리키움 코코데스(*Collectotrichum coccodes*), 푸사리움 옥시포룸(*Fusarium oxysporum*), 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*), 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*), 트리코데르마 비리데(*Trichoderma viride*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 트리코스포론 베이겔리(*Trichosporon beigellii*) 등의 식물 병원성 진균의 세포 성장을 저해하는 아라비돕시스 탈리아나에서 분리된 항진균성 단백질 AtDabb1에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 동물과는 달리 식물은 잠재적인 병원균에 의한 위협시 잠복하거나 도피할 수 없는 고착 생물체이다. 식물은 물리적 장벽, 2차 대사산물 및 항균 단백질을 포함한 미리 형성된 방어 기작 및 유도 가능한 방어 기작 모두를 이용하여 병원균 감염에 저항한다.
- <3> 최근 연구는 다양한 종으로부터 항진균 단백질을 분리하는데 집중되어 있다. 이러한 항진균 단백질은 PR-1 단백질, β -글루카나제, 디펜신, 사이클로필린-유사 단백질 및 OsPex5p를 포함한다. 식물은 진균 침입으로부터 식물을 보호하는 다양한 항진균 단백질을 발현한다. 그러나 진균 감염에 의한 수확 작물의 손실을 유발하는 진균에 대한 항진균 단백질에 대한 연구는 거의 없다.
- <4> 본 발명은 아라비돕시스 잎을 선별하고, 2개의 스트레스 반응성 A/B 배럴 도메인(Dabb)을 지닌 AtDabb1로 명명된 신규한 항진균 단백질을 확인하였다. Dabb는 포플루스 발사미페라(*Populus balsamifera*)에서 엽 스트레스에 반응하여 발현이 증가됨이 보고된 단백질과 히드로게노필루스 터모루테오루스(*Hydrogenophilus thermoluteolus*) 유래 프럭토스 1,6-비스포스페이트 알돌라제의 C-말단에서 발견되었다. 그러나 이러한 단백질 도메인의 기능은 규명되어 있지 않다.
- <5> 병원균 공격에 대한 식물 방어 시스템은 신호 전달 경로의 중요한 네트워크를 형성한다. 신호전달 식물 호르몬인 살리실산(SA) 및 자스몬산(JA)은 병원균 공격에 대한 식물 방어 반응에 중요한 역할을 한다. 살리실산은 국소적 및 전체-후천적 저항성(SAR) 모두를 제공하는 신호전달 경로에 관여하고, 자스몬산은 많은 방어-관련 단백질의 발현을 유도한다.
- <6> 따라서 본 발명자들은 아라비돕시스 탈리아나에서 유래한 신규한 식물 방어 단백질 AtDabb1의 특징을 확인하였다. 상기 단백질이 다양한 식물 병원성 진균에 대한 유효한 저해 활성을 나타냄과 그의 전사체 수치는 병원균-관련 신호전달 분자 살리실산 및 자스몬산에 반응하여 증가됨을 확인하였으며, 항진균 단백질 AtDabb1을 분리함

으로서 본 발명을 완성하게 된 것이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<7> 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 아라비돕시스 탈리아나에서 유래한 신규한 식물 방어 단백질 AtDabb1의 특징을 측정하고, 상기 단백질이 다양한 식물 병원성 진균에 대한 유효한 저해 활성을 나타냄과 그의 전사체 수치는 병원균-관련 신호전달 분자 살리실산 및 자스몬산에 반응하여 증가됨을 측정함으로써 신규한 단백질 AtDabb1을 분리코자 한 것이다.

과제 해결수단

<8> 본 발명의 목적은 서열번호: 1(GenBank 수납 번호 NP_175547)의 아미노산 서열을 지닌 아라비돕시스 탈리아나 (*Arabidopsis thaliana*)에서 분리된 항진균 단백질 AtDabb1을 제공하는 것이다.

<9> 또한 상기 항진균 단백질 AtDabb1은 콜렉토티리키움 코코데스, 푸사리움 옥스포룸, 푸사리움 솔라니, 트리코데르마 하르지아눔, 트리코데르마 비리데, 칸디다 알비칸스 및 트리코스포론 베이젤리 등의 식물 병원성 진균의 세포 성장을 저해함을 특징으로 한다.

<10> 또한 상기 항진균 단백질 AtDabb1은 진균 세포의 내부 세포막 구성요소와 상호작용하여 진균성 병원균의 사멸을 유발시킴을 특징으로 한다.

효과

<11> 본 발명의 효과는 아라비돕시스 탈리아나에서 유래한 신규한 식물 방어 단백질 AtDabb1의 특징을 측정하고, 상기 단백질이 다양한 식물 병원성 진균에 대한 유효한 저해 활성을 나타냄과 그의 전사체 수치는 병원균-관련 신호전달 분자 살리실산 및 자스몬산에 반응하여 증가됨을 측정함으로써 신규한 항진균 단백질 AtDabb1을 제공하는 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<12> 식물 항진균 단백질이 친화성 크로마토그래피 및 겔 여과법으로 구성된 공정을 이용하여 아라비돕시스 잎으로부터 정제되었다. 본 발명은 MALDI-TOF/MS 분석을 이용하여 정제된 단백질의 아미노산 서열을 측정하였고 상기 서열이 GenBank 내 기능이 잘 밝혀져 있지 않은 가상의 아라비돕시스 단백질(수납 번호 NP_175547)과 일치함을 발견하였다.

<13> 본 발명자들은 상기 단백질을 AtDabb1으로 명명하였다. *AtDabb1* 유전자를 암호화하는 cDNA가 아라비돕시스 잎 cDNA 라이브러리에서 클론된 후 재조합 단백질이 *E. coli*에서 발현되고 다양한 병원성 진균 균주의 세포 성장을 확실하게 저해하는 것으로 나타났다. *AtDabb1* 유전자의 mRNA 발현은 살리실산 및 자스몬산을 포함한 병원균-관련 신호전달 분자에 의해 유도되었다. 이들 결과는 *AtDabb1*가 다양한 병원성 진균에 대해 유도되는 식물 방어 기작에 기여함을 나타낸다.

<14> 이하 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

<15> 신규한 항진균 단백질을 분리하고 그의 항진균 활성을 분석하기 위해 본 발명은 친화성 크로마토그래피 및 FPLC 겔 여과 크로마토그래피를 이용하여 아라비돕시스 잎으로부터 단백질을 선별하였다.

<16> 본 발명에서 크로마토그래피로 분리된 주요 단백질 분획을 이용하여 콜렉토티리키움 코코데스(*Collectotrichum coccodes*), 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*) 및 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*)을 포함한 3개의 병원성 진균 균주에 대한 항진균 활성 분석을 수행하였다(도 1).

<17> 본 발명의 분리된 단백질이 진균 세포 상에 명백한 저해 효과를 발휘하고 진균 주위에 초승달-형상의 저해 구역을 생성함을 발견하였다. 이들 데이터는 정제 단백질이 항진균 특성을 보유함을 나타내었다. MALDI-TOF/MS 분석을 이용하여 본 발명은 정제 단백질의 아미노산 서열이 GenBank에 등록된 가상의 아라비돕시스 단백질(수납 번호 NP_175547)과 동일함을 측정하였다(도 2A).

<18> 상기 단백질이 진균성 병원균의 성장을 저해할 수 있는지 여부를 측정하기 위해 아라비돕시스 잎 cDNA 라이브러리 유래 상기의 단백질을 암호화하는 전체 길이의 cDNA를 클론하기 위해 PCR을 이용하였다. 본 발명은 N- 및

C-말단 단백질 서열에 대해 특이적인 PCR 프라이머를 이용함으로써 단백질의 cDNA를 획득하고, 그 생성물을 *AtDabb1*로 표시하였다(도 2B). *AtDabb1* cDNA는 노던 블롯 실험에 프로브로 사용되었다.

- <19> 살리실산(SA) 또는 자스몬산(JA) 처리된 아라비도시스 현탁 세포로 본 발명 유전자의 병원균-관련 발현을 조사하였다(도 3). 과산화수소(H₂O₂), 에틸렌 및 산화질소(NO)뿐만 아니라 이들 신호 분자는 병원균-반응 유전자의 전사 활성화에 관여한다. 이러한 유전자는 식물 내 유도된 방어 기작에 중요한 것으로 판단된다.
- <20> 도 3에 나타난 바와 같이 *AtDabb1* 전사체 수치는 살리실산에 의해 처리 1시간 이내에 현저히 유도되었으나 3시간 후 신속하게 소실되었다. 세포가 자스몬산으로 처리된 경우 *AtDabb1* 전사체 수치는 실질적으로 증가되었고 24시간 동안 높은 수치로 유지되었다(도 3). 이들 결과는 *AtDabb1* 유전자-생성물이 다양한 스트레스 및 병원성 손상에 대한 유도된 방어 기작에 중요한 역할을 함을 나타낸다.
- <21> 재조합 *AtDabb1* 단백질의 항진균 활성을 더욱 검증하기 위해 *AtDabb1* 서열의 오픈 리딩 프레임이 pGEX 발현 벡터를 이용하여 *E. coli* 내에서 발현되었다. 온전한 재조합 단백질이 글루타티온-아گار로스 겔럼을 이용한 친화성 크로마토그래피 및 트롬빈 처리에 의해 정제되었다. 정제 단백질은 13% 겔 상에서 SDS-PAGE에 의해 분석되었고 약 23.5 kDa의 단일 단백질 밴드가 검출되었다(도 2B).
- <22> 단백질 정제 후 본 발명은 아스페르길루스 플라부스(*Aspergillus flavus*), 아스페르길루스 아와모리(*Aspergillus awamori*), 콜렉토티리키움 코코데스(*Collectotrichum coccodes*), 푸사리움 옥시포룸(*Fusarium oxysporum*), 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*), 트리코데르마 하르시아눔(*Trichoderma harzianum*), 트리코데르마 비리데(*Trichoderma viride*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 트리코스포론 베이젤리(*Trichosporon beigellii*)를 포함한 인간 및 식물 병원성 진균의 세포 성장 저해를 조사하였다.
- <23> 표 1에 나타난 바와 같이 본 발명은 상기 단백질이 시험된 대부분의 균주 상에 저해 효과를 나타내나 아스페르길루스 플라부스 및 아스페르길루스 아와모리의 세포 성장은 약하게 저해함을 관찰하였다.

표 1

다양한 사상 진균 균주에 대한 재조합 *AtDabb1* 단백질의 저해 효과

진균 세포	IC ₅₀ ^a (¥M)
아스페르길루스 플라부스	>160
아스페르길루스 아와모리	>160
보트리티스 시네레아	10
콜렉토티리키움 코코데스	20
푸사리움 옥시포룸	10
푸사리움 솔라니	10
트리코데르마 하르시아눔	10
트리코데르마 비리데	10-20
칸디다 알비칸스	40
트리코스포론 베이젤리	80

- <24> ^a 진균 세포 성장의 50%저해 농도
- <25> 또한 본 발명은 인간 적혈구 세포를 이용함으로써 포유류 세포에 대한 단백질의 세포독성 효과를 측정하였다. 양성 대조군 멜리틴의 용혈 활성과 비교시 *AtDabb1*은 인간 RBC에 대해 용혈 활성을 나타내지 않았다. 따라서 이들 결과는 *AtDabb1* 단백질이 용혈 활성이 없고 현저한 항진균 특성을 지님을 나타낸다.
- <26> 진균 세포 내 *AtDabb1*의 세포 분포를 조사하기 위해 상기 단백질을 로다민으로 표지하여 칸디다 알비칸스 및 푸사리움 솔라니 진균과 배양시켰다. 형광물질은 공초점 현미경으로 모니터링되었다. 본 발명은 로다민-표지된 *AtDabb1*이 칸디다 알비칸스(도 4A) 및 푸사리움 솔라니(도 4B)의 세포질 내에 축적됨을 발견하였다. 이러한 결과를 기반으로 본 발명은 *AtDabb1*이 진균 세포의 내부 세포막 구성요소와 상호작용하고, 상기 상호작용이 진균성 병원균의 사멸을 유발하는 것으로 판단된다.
- <27> 환경 스트레스 및 병원균 공격이 농작물 수확량을 감소시키는 작용을 하나 *AtDabb1*와 같은 항진균 단백질에 의해 유도되는 진균 세포 상의 성장 저해 효과가 농작물 감소를 보상할 수 있음을 나타낸다.

- <28> 이하 실시예를 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이러한 실시예들로 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- <29> 재료
- <30> 아라비돕시스 잎이 신규한 항진균 단백질을 분리하는데 이용되었다. 멸균된 아라비돕시스 종자는 4℃에서 48 시간 동안 수화되었고, 모종은 22℃로 유지되는 생장실에서 성장되었다. 4-주령 아라비돕시스 모종은 항진균 단백질의 분리를 위해 이용되었다. J.R. Lee et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 359 (2007) 941-946 및 S.-C. Park et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 362 (2007) 562-567에 기술된 절차를 이용하여 유전자 발현을 조사하기 위해 전체 RNA가 신호전달 분자인 1 mM 살리실산(SA) 및 200 μM 자스몬산(JA)으로 처리 후 아라비돕시스 현탁 배양액에서 추출되었다.
- <31> (실시예 1) 아라비돕시스 잎 유래 항진균 단백질의 정제
- <32> 추출 완충액 A(25 mM Tris-HCl 완충액, pH 6.5, 1 mM DTT 및 1 mM EDTA 함유)를 이용하여 아라비돕시스 잎이 분쇄, 원심분리되고 초미세여과되었다. 상층액은 Affi-겔 블루 겔 컬럼(1.5×8 cm)에 적가되었고 흡수된 단백질은 점진적인 농도 구배의 100, 300, 500 및 1000 mM NaCl로 용출되었다. 완충액 B(25 mM Tris-HCl 완충액, pH 7.2, 1 mM DTT 및 1 mM EDTA 함유)로 투석 후 단백질은 Superdex 75 HR 10/30 컬럼 상에서 FPLC 겔 여과 크로마토그래피가 수행되었다.
- <33> 각각의 단계에서 수득된 분획은 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*)를 이용하여 항진균 분석되었다. 단백질 순도는 13% SDS-PAGE 겔 상에서 단일 밴드로 존재 확인되었고 단백질은 표준 프로토콜에 따라 수행된 MALDITOF/MS에 의해 확인되었다.
- <34> (실시예 2) *E. coli* 내 AtDabb1 유전자 클로닝 및 단백질 발현
- <35> AtDabb1 유전자는 PCR에 의해 아라비돕시스 잎 cDNA 라이브러리에서 클로닝되었고, 노던 블롯 (Northern blot) 분석용 cDNA 프로브의 제조를 위해 이용되었다. 서열이 검증된 후 컨스트럭트는 pGEX-2T 변형 벡터 내로 서브클론되었고 *E. coli* 내로 형질전환되었다. 글루타티온 S-전이효소(GST)-태그된 AtDabb1 단백질은 GSH-아가로스 컬럼을 이용하여 정제되었고, 단백질의 GST-부분은 트롬빈 처리에 의해 절단되었다. 정제된 단백질은 25 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.2)으로 투석되고 생화학적 분석에 이용되었다.
- <36> (실시예 3) 노던 블롯 (Northern blot) 분석
- <37> 전체 RNA는 J.R. Lee et al., Mol. Cells. 23 (2007) 161-169에서 기술된 바와 같이 1 mM 살리실산(SA) 및 200 μM 자스몬산(JA)로 0, 1, 3, 6, 12 및 24시간 동안 처리된 아라비돕시스 배양 현탁 세포로부터 추출되었다. 20 μg의 전체 RNA의 함량은 1.2% 포름알데하이드 아가로스 겔 상에서 분리되었고 나일론 멤브레인(Amersham)으로 옮겨졌다. 블롯은 [α -³²P]ATP-표지된 AtDabb1 cDNA 프로브로 혼성화되었다.
- <38> (실시예 4) 항진균 활성 분석
- <39> 정제된 AtDabb1의 항진균 활성을 확인하기 위해 본 발명은 방사상 성장 저해 분석을 수행하였다. 다양한 진균 세포 단편이 감자-텍스트로스-아가(PDA) 플레이트의 중심에 놓이고 28℃에서 60시간 동안 성장되었다. 이후 멸균된 종이 디스크가 진균 단편과 적당하게 떨어진 거리에 위치하고, 25 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.2) 내의 일정한 단백질이 디스크위에 떨어뜨려졌다. 중심 디스크로부터의 균사체 성장이 AtDabb1의 항진균 활성에 의해 저해될 때까지 플레이트는 28℃에서 72시간 동안 배양되었다. 다양한 진균성 병원균에 대한 진균 세포 성장의 저해 농도를 측정하기 위해 PDA 플레이트 상에서 성장된 10-일령 배양액 유래의 진균 포자가 0.08% Triton X-100으로 수집되었고 PD 배지 내 10⁴ 포자/ml 현탁액 80 μl가 96-웰 미량역가판 내에 위치하였다.
- <40> 항진균 활성을 측정하기 위해, 하기 진균 균주가 한국생명공학연구원(KCTC) 또는 농업생명공학연구원(KACC)에서 수득되었다: 아스페르길루스 플라부스(*Aspergillus flavus*)(KCTC 6905), 아스페르길루스 아와모리(*Aspergillus awamori*)(KCTC 6915), 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*)(KACC 40573), 콜렉토티리쿰 코코데스(*Collectotrichum coccodes*)(KACC 40803), 푸사리움 옥스포룸(*Fusarium oxysporum*)(KCTC 16909), 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*)(KCTC 6326), 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*)(KCTC 6043), 트리코데르마 비리데(*Trichoderma viride*)(KCTC 6047), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)(KCTC 7270) 및 트리코스포론 베이겔리(*Trichosporon beigellii*)(KCTC 7707).

<41> (실시예 5) 공초점 레이저 주사 현미경

<42> 로다민-표지된 AtDabb1의 세포 분포는 공초점 레이저 주사 현미경으로 분석되었다. 칸디다 알비칸스 및 푸사리움 솔라니 세포(10^4 분생자/ml)는 폴리-L-리신-코팅된 글래스 슬라이드 상에 고정되었고, 세포는 PBS 완충액으로 세척되었다. 로다민-표지된 AtDabb1로 배양된 후 결합되지 않은 단백질을 제거하기 위해 진균 세포는 PBS 완충액으로 세척되었다. AtDabb1의 세포내 위치는 Zeiss(Gottingen, 독일) 레이저 주사 현미경(LSM 510 META)으로 조사되었다. 이미지는 512-나 512-픽셀 포맷으로 디지털로 기록되었다.

도면의 간단한 설명

<43> 도 1은 다양한 진균에 대한 재조합 AtDabb1 단백질의 항진균 활성을 나타낸 것이다. 재조합 AtDabb1은 콜렉토 트리키움 코코테스(A), 트리코테르마 하르지아눔(B) 및 푸사리움 솔라니(C)로의 방사상 성장 저해 시험이 수행되었다. 100 μ g의 AtDabb1 단백질이 종이 디스크-1 위에 적가되었다. 종이 디스크-C는 음성 대조군으로서 25 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.2)로 적가되었다.

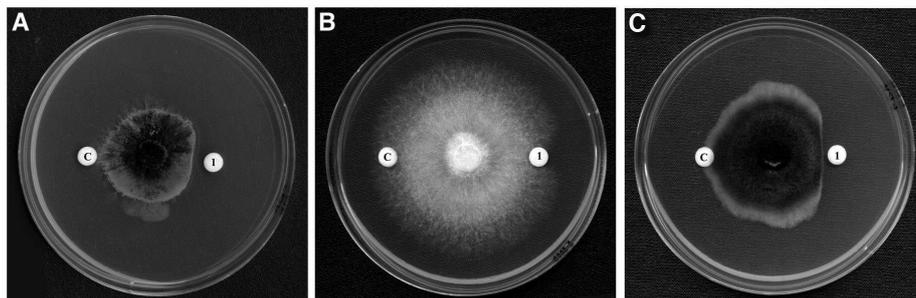
<44> 도 2는 박테리아에서 발견된 AtDabb1의 추정 아미노산 서열 및 SDS-PAGE를 나타낸 것이다. 도 2(A)는 MALDI-TOF/MS 분석에 의해 규명된 단백질 아미노산 서열이 아라비돕시스 가상의 단백질(GenBank 수납 번호 NP_175547)과 동일함을 나타낸다. 도 2(B)는 13% SDS-PAGE로 분석된 후 쿠마시 블루로 염색된 박테리아로 부터 발견된 AtDabb1을 나타낸다. MW는 단백질 크기 표시자를 나타낸다.

<45> 도 3은 다양한 화학물질 스트레스 신호로 처리된 아라비돕시스 현탁 세포 내 AtDabb1 mRNA의 발현 수치를 나타낸 것이다. 전체 RNA는 1 mM 실리실산(SA) 또는 200 μ M 자스몬산(JA)으로 0, 1, 3, 6, 12 및 24시간 동안 처리된 후 아라비돕시스 현탁 세포로부터 추출되었다. RNA는 260 및 280 nm의 파장에서 분광광도계로 정량화되었다. 리보솜 RNA의 에티뎀 브로마이드 염색은 동일한 함량의 RNA가 각 레인에 적가되었음을 확인시켰다. 20 μ g의 전체 RNA는 1.2% 포름알데하이드 아가로스 겔 상에서 분리되고 나일론 멤브레인(Amersham)으로 옮겨졌다. [α - 32 P]ATP-표지된 AtDabb1 cDNA가 프로브로 사용되었다.

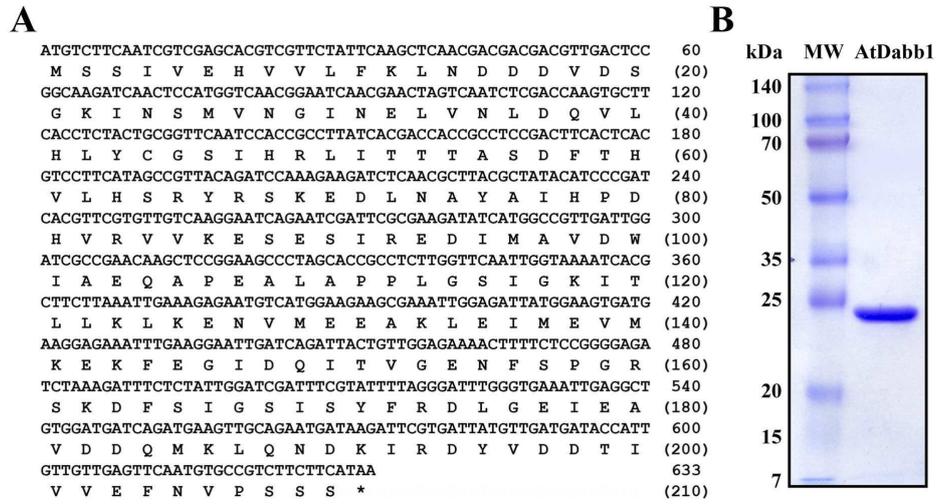
<46> 도 4는 로다민-표지된 AtDabb1과 배양된 진균의 공초점 레이저 현미경 사진이다. 칸디다 알비칸스(A) 및 푸사리움 솔라니(B)의 균사는 20 μ M의 로다민-표지된 AtDabb1과 20분간 배양되었다. 진균 세포의 광학 이미지는 패널 1에 나타나 있고 동일한 세포의 형광 이미지는 패널 2에 나타나 있다. 두 패널의 병합 이미지는 패널 3에 나타나 있다.

도면

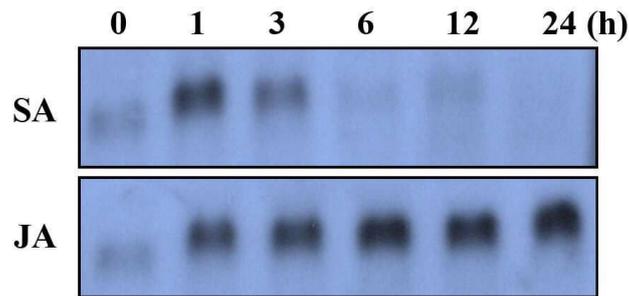
도면1



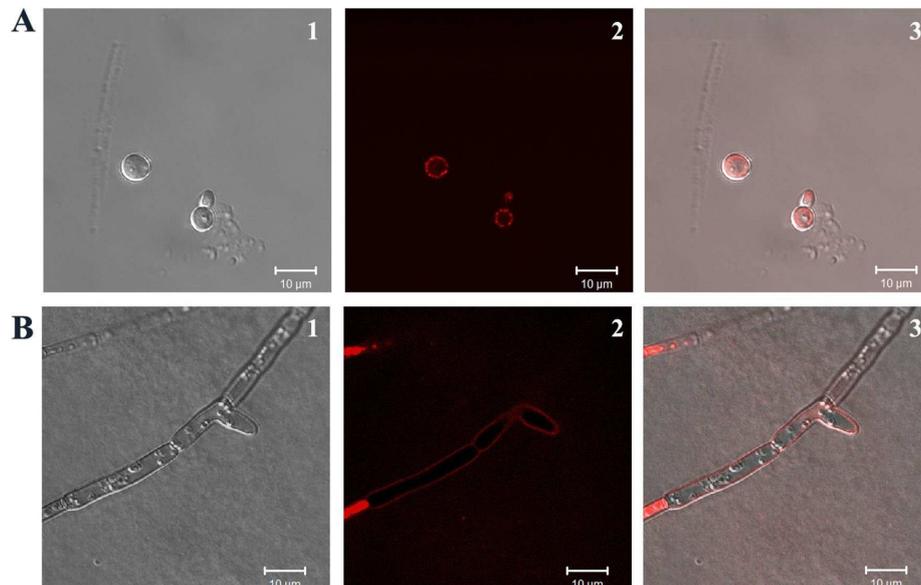
도면2



도면3



도면4



서열 목록

<110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY
 <120> Pathogen-responsive protein AtDabbl with an antifungal activity
 from Arabidopsis thaliana

<160> 1

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 210

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 1

Met Ser Ser Ile Val Glu His Val Val Leu Phe Lys Leu Asn Asp Asp
 1 5 10 15

Asp Val Asp Ser Gly Lys Ile Asn Ser Met Val Asn Gly Ile Asn Glu
 20 25 30

Leu Val Asn Leu Asp Gln Val Leu His Leu Tyr Cys Gly Ser Ile His
 35 40 45

Arg Leu Ile Thr Thr Thr Ala Ser Asp Phe Thr His Val Leu His Ser
 50 55 60

Arg Tyr Arg Ser Lys Glu Asp Leu Asn Ala Tyr Ala Ile His Pro Asp
 65 70 75 80

His Val Arg Val Val Lys Glu Ser Glu Ser Ile Arg Glu Asp Ile Met
 85 90 95

Ala Val Asp Trp Ile Ala Glu Gln Ala Pro Glu Ala Leu Ala Pro Pro
 100 105 110

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

Met Glu Glu Ala Lys Leu Glu Ile Met Glu Val Met Lys Glu Lys Phe
 130 135 140

