



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월03일
(11) 등록번호 10-2680459
(24) 등록일자 2024년06월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01H 5/08 (2018.01) A01H 1/02 (2006.01)
A01H 1/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A01H 5/08 (2022.05)
A01H 1/02 (2024.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7033277
- (22) 출원일자(국제) 2016년05월10일
심사청구일자 2021년04월16일
- (85) 번역문제출일자 2017년11월17일
- (65) 공개번호 10-2018-0013887
- (43) 공개일자 2018년02월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/031586
- (87) 국제공개번호 WO 2016/191090
국제공개일자 2016년12월01일
- (30) 우선권주장
62/167,788 2015년05월28일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020140087031 A

- (73) 특허권자
세미니스 베저터블 시즈 인코포레이티드
미국 캘리포니아 옥스나드 카미노 델 솔 2700 (우 : 93030-7967)
- (72) 발명자
드로스트, 데렉, 알.
미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노스 린드버그 불러바드 800
그레이엄, 일레인
미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노스 린드버그 불러바드 800
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 유진오

(54) 발명의 명칭 개선된 내병성을 갖는 토마토 식물

(57) 요약

본 발명은 레베일룰라 타우리카(Lt)에 대한 내성을 나타내고 원치 않는 오렌지색 과실 외과피 컬러와 같은 연관 드래그(linkage drag)와 관련된 형질이 결핍된 토마토 식물을 제공한다. 이러한 식물은 S. 칠렌세로부터의 내병성과 관련된 신규한 유전자입턴 게놈 영역을 포함할 수 있다. 특정 양상에서, 내병성 표현형을 갖는 식물 또는 생식질을 생산, 육종, 식별, 및 선택하기 위한 신규한 다형성 마커를 포함하는 조성물, 및 방법이 제공된다.

대표도

	CrtI-E 유전자에 위치한 마커				p_M_PMLT_Lv-Iq				LV	색상 라군
	NL0231620	NSLYC009407170	NSLYC009406370	NL0235137	NL0235199	NL0235118	NL0244887	NL0244884		
	15.5	17.25	17.28	18.6	23.4	24	26.8	33.5		
	2,107,164	2,263,185	2,266,440	2,379,860	2,803,705	2,860,477	3,106,864	3,690,072		
계조함제										
RO01	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	54.9292095
RO02	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	54.2024677
RO03	AG	TT	GG	--	GG	GATC/GATC	**	--	S	53.9260236
RO04	AA	TT	GG	TT	GG	GATC/GATC	**	AA	S	53.7199139
RO05	AG	TT	GG	TT	GG	GATC/GATC	**	AA	S	53.2899633
RO06	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	53.174723
RO07	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	52.0407924
RO08	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	51.4033527
RO09	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	50.9030074
RO10	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	50.5795909
RO11	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	49.8420244
RO12	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	49.1502259
RO13	AG	TT	GG	--	GG	GATC/GATC	**	AA	S	49.0501985
RO14	AA	CC	AA	GG	AG	GATC/GATC	TT	GG	S	48.7783387
RO15	AA	CC	AA	GG	AA	GATC/GATC	TT	GG	S	48.357895
RO16	AA	CC	AA	GG	AA	--	TT	GG	S	48.2923333
RO17	AG	--	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S	48.2313385

도 1b에서 계속됨

(52) CPC특허분류

A01H 1/04 (2024.01)

Y10S 47/01 (2013.01)

(72) 발명자

그릿, 알버트

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노스 린드버그
불러바드 800

후그스트라텐, 야코부스

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노스 린드버그
불러바드 800

페드로니, 스테파니

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노스 린드버그
불러바드 800

명세서

청구범위

청구항 1

염색체 12 상에서 솔라눔 칠렌세(*Solanum chilense*)로부터의 재조합 유전자이입(recombinant introgression)을 포함하는 재배 토마토 식물 변종(cultivated tomato plant variety)의 토마토 식물로서, 상기 재조합 유전자이입은 제1 대립유전자가 결핍된 식물에 비해 레베일롤라 타우리카(*Leveillula taurica; Lt*)에 대한 개선된 내성을 부여하는 제1 대립유전자를 포함하며, 상기 재조합 유전자이입은 상기 제1 대립유전자에 유전적으로 연결된 솔라눔 칠렌세(*Solanum chilense*)로부터의 제2 대립유전자가 결핍되며, 제2 대립유전자는 존재하는 경우에, 상기 재조합 유전자이입에서 오렌지색 과실 외과피(orange fruit exocarp)를 부여하며, 상기 재조합 유전자 이입은 NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887로 이루어진 군으로부터 선택되는 마커를 포함하는, 토마토 식물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 식물은 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 솔라눔 칠렌세 공여체 DNA를 포함하는, 토마토 식물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 식물은 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 솔라눔 칠렌세 공여체 DNA를 포함하는, 토마토 식물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 식물은 염색체 12 상에서 대략 2.55 Mbp 내지 3.09 Mbp; 2.42 Mbp 내지 3.03 Mbp; 2.42 Mbp 내지 3.18 Mbp; 2.85 Mbp 내지 3.09 Mbp; 2.85 Mbp 내지 3.19 Mbp; 2.91 Mbp 내지 2.99 Mbp; 또는 2.93 Mbp 내지 5.47 Mbp 사이에 솔라눔 칠렌세 공여체 DNA를 포함하는, 토마토 식물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 식물은 염색체 12 상에서 대략: 2.85 Mbp 내지 3.09 Mbp; 2.85 Mbp 내지 3.19 Mbp; 또는 2.91 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 솔라눔 칠렌세 공여체 DNA를 포함하는, 토마토 식물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제2 대립유전자는 Crt1-E를 엔코딩하는 게놈 영역에 위치되어 있는, 토마토 식물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 식물은 NL0235137 및 NL0244887이 측면에 있는 게놈 분절 내에 S. 칠렌세 공여체 DNA를 포함하는, 토마토 식물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 식물은 유전자좌 NL0235199 및 유전자좌 NL0235118에서 솔라눔 칠렌세 대립유전자를 포함하고, 유전자좌 NL0235137 및 유전자좌 NL0244887에서 솔라눔 칠렌세 대립유전자가 결핍된, 토마토 식물.

청구항 9

제1항의 식물의 식물 부분(plant part).

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 식물 부분은 세포, 종자, 뿌리, 줄기, 잎, 과실, 꽃, 또는 화분인, 식물 부분.

청구항 11

레베일롤라 타우리카(*Lt*)에 대한 개선된 내성을 가지고 오렌지색 과실 외과피 컬러가 결핍된 토마토 식물을 생산하는 방법으로서,

a) 제1항의 토마토 식물을, 그 자체와 또는 상이한 유전자형의 제2 토마토 식물과 교배하여 하나 이상의 자손 식물(progeny plant)을 생산하는 단계; 및

b) 상기 재조합 유전자입을 포함하는 자손 식물을 선택하는 단계를 포함하며,

여기서 상기 자손 식물을 선택하는 단계는 마커-보조 선별(MAS; marker-assisted selection)을 포함하고, 상기 MAS는

(i) 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서; 또는

(ii) NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자좌에서

적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 자손 식물을 선택하는 단계는 (1) 상기 제1 대립유전자에 유전적으로 연결된 유전자좌에 솔라늄 칠렌세 대립유전자를 포함하고/거나 재배 토마토 식물 변종에서의 상응하는 유전자좌에 존재하는 대립유전자가 결핍되어 있고, (2) 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 상기 제2 대립유전자에 유전적으로 연결된 유전자좌에 솔라늄 칠렌세 대립유전자가 결핍되고/거나 재배 토마토 식물 변종으로부터의 상응하는 유전자좌에 존재하는 대립유전자를 포함하는, 자손 식물을 식별하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 마커-보조 선별(MAS)은 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 자손 식물은 F2 내지 F6 자손 식물인, 방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 자손 식물을 생산하는 단계가 역교배(backcrossing)를 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 역교배가 역교배의 2 내지 7 세대를 포함하는, 방법.

청구항 17

레베일롤라 타우리카(*Lt*)에 대한 개선된 내성을 나타내는 토마토 식물을 수득하는 방법으로서,

(a) 레베일롤라 타우리카(*Lt*)에 대한 내성을 부여하고 상기 식물에서 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 솔라늄 칠렌세로부터의 제2 대립유전자에 유전적으로 연결된 제1 대립유전자에 대해 이형접합성인 토마토 식물을 수득하는 단계;

(b) 상기 식물의 자손을 수득하는 단계; 및

(c) 상기 자손이 레베일롤라 타우리카(*Lt*)에 대한 내성을 부여하는 상기 제1 대립유전자를 포함하지만, 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 상기 제2 대립유전자를 포함하지 않도록, 재조합이 일어나는 적어도 제1 자손 식물을 선택하는 단계를 포함하되,

상기 제1 자손 식물을 선택하는 단계는

(i) 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서; 또는

(ii) NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자좌에서

적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 제1 자손을 선택하는 단계는 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 자손 식물은 F2 내지 F6 자손 식물인, 방법.

청구항 20

제17항에 있어서, 상기 자손 식물을 수득하는 단계가 역교배를 포함하는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 역교배가 역교배의 2 내지 7 세대를 포함하는, 방법.

청구항 22

제17항의 방법에 의해 생산된 식물.

청구항 23

세포, 종자, 뿌리, 줄기, 잎, 과실, 꽃, 및 화분으로 이루어진 군으로부터 선택된, 제22항의 식물의 부분.

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2015년 5월 28일자로 출원된, 미국 가출원 제62/167,788호의 이익을 주장하며, 본 명세서에 이의 전문이 참고로 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 농업 분야에 관한 것으로서, 보다 상세하게는, 내병성 및 개선된 과실 품질(fruit quality)을 나타내는 토마토 식물을 생산하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

[0005] **서열 목록의 도입**

[0006] Microsoft Windows 운영 체제에서 측정하는 경우에 34.5 킬로바이트이고 2016년 5월 6일에 생성된, 파일명 "SEMBO20WO_ST25"로 포함된, 서열 목록은 본원과 함께 전자적으로 제출되고, 본 명세서에 참고로 포함된다.

배경 기술

[0007] 내병성(disease resistance)은 농업에서, 특히, 식용 작물의 생산을 위해 중요한 형질(trait)이다. 내병성 대립 유전자가 야생 토마토 계통(uncultivated tomato line)에서 동정되었지만, 이러한 대립유전자를 재배 계통(cultivated line)에 도입하려는 노력은 내성 대립유전자와 함께 유해 형질의 도입에 의해 방해받는다. 식물 육종 방법에서 마커-보조 선별(marker-assisted selection: MAS)의 이용은 고려되는 형질과 연관된 유전적 마커(genetic marker)를 기초로 하여 식물을 선택하는 것을 가능하게 만든다. 그러나, 형질과 관련된 유전자가 특정 분석되었더라도, 식물에서 목적하는 형질을 식별하거나 추적하기 위한 정밀 마커는 자주 사용될 수 없다. 이러한 어려움은 다유전자성 또는 양적 유전, 및 종종 목적하는 표현형의 발현의 근간을 이루는 유전적 백그라운드 의 불완전한 이해와 같은 인자에 의해 더욱 복잡하게 된다. 이에 따라, MAS에서 사용하기 위한 정확하고 유효한 마커의 부재 하에서, 특정 내병성 표현형을 나타내는 신규한 식물 계통을 생산하는 것은 실현 가능하지 않을 수 있다.

발명의 내용

[0008] 일 양상에서, 본 발명은 염색체 12 상에서 솔라눔 칠렌세(*Solanum chilense*)로부터의 재조합 유전자이입(recombinant introgression)을 포함하는 재배 토마토 식물 변종(cultivated tomato plant variety)의 토마토 식물로서, 상기 재조합 유전자이입은 제1 대립유전자가 결핍된 식물에 비해 레베일룰라 타우리카(*Leveillula taurica*; *Lt*)에 대한 개선된 내성을 부여하는 제1 대립유전자를 포함하고, 상기 재조합 유전자이입은 상기 제1 대립유전자에 유전적으로 연결된 솔라눔 칠렌세로부터의 제2 대립유전자가 결핍되고, 제2 대립유전자는 존재하는 경우에, 상기 재조합 유전자이입에서 오렌지색 과실 외과피(orange fruit exocarp)를 부여하는, 토마토 식물을 제공한다. 일 구현예에서, 솔라눔 칠렌세로부터의 재조합 유전자이입은 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 위치된다. 다른 구현예에서, 솔라눔 칠렌세로부터의 재조합 유전자이입은 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치된다. 추가 구현예에서, 솔라눔 칠렌세로부터의 재조합 유전자이입은 염색체 12 상에서 대략 2.55 Mbp 내지 3.09 Mbp; 2.42 Mbp 내지 3.03 Mbp; 2.42 Mbp 내지 3.18 Mbp; 2.85 Mbp 내지 3.09 Mbp; 2.85 Mbp 내지 3.19 Mbp; 2.91 Mbp 내지 2.99 Mbp; 또는 2.93 Mbp 내지 5.47 Mbp 사이에 위치된다. 다른 추가 구현예에서, 솔라눔 칠렌세로부터의 재조합 유전자이입은 염색체 12 상에서 대략 2.85 Mbp 내지 3.09 Mbp; 2.85 Mbp 내지 3.19 Mbp; 또는 2.91 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치된다. 다른 구현예에서, 제2 대립유전자는 *Crt1-B*를 엔코딩하는 게놈 영역에 위치된다. 다른 구현예에서, 식물은 NL0235137 및 NL0244887이 측면에 있는 게놈 분절 내에 *S. 칠렌세* 공여체 DNA를 포함한다. 다른 구현예에서, 식물은 유전자좌 NL0235199 및 유전자좌 NL0235118에서 솔라눔 칠렌세 대립유전자를 포함하고, 유전자좌 NL0235137 및 유전자좌 NL0244887에서 솔라눔 칠렌세 대립유전자가 결핍되어 있다. 다른 구현예에서, 본 발명은 이러한 식물의 식물 부분(plant part)을 제공하거나, 식물 부분은 세포, 종자, 뿌리, 줄기, 잎, 과실, 꽃, 또는 화분이다.

[0009] 다른 양상에서, 본 발명은 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대한 개선된 내성을 가지고 오렌지색 과실 외과피 컬러가 결핍된 토마토 식물을 생산하는 방법으로서, a) 청구항 제1항의 토마토 식물을 그 자체와 또는 상이한 유전자형의 제2 토마토 식물과 함께 교배하여 하나 이상의 자손 식물(progeny plant)을 생산하는 단계; 및 b) 상기 재조합 유전자이입을 포함하는 자손 식물을 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 상기 자손 식물을 선택하는 단계는 (1) 상기 제1 대립유전자에 유전적으로 연결된 유전자좌에 솔라눔 칠렌세 대립유전자를 포함하고/거나 재배 토마토 식물 변종에서의 상응하는 유전자좌에 존재하는 대립유전자가 결핍되어 있고 (2) 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 상기 제2 대립유전자에 유전적으로 연결된 유전자좌에 솔라눔 칠렌세 대립유전자가 결핍되고/거나 재배 토마토 식물 변종으로부터의 상응하는 유전자좌에 존재하는 대립유전자를 포함하는, 자손 식물을 식별하는 것을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 자손 식물을 선택하는 단계는 마커-보조 선별(MAS)을 포함한다. 다른 구현예에서, 마커-보조 선별(MAS)은 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하거나, 마커-보조 선별(MAS)은 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하거나, 마커-보조 선별(MAS)은 NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함한다. 다른 구현예에서, 자손 식물은 F2 내지 F6 자손 식물이다. 다른 추가 구현예에서, 자손 식물을 생산하는 단계는 역교배(backcrossing), 예를 들어, 역교배의 2 내지 7 세대를 포함한다.

[0010] 다른 양상에서, 본 발명은 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대한 개선된 내성을 나타내는 토마토 식물을 수득하는 방법으로서, (a) 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대한 내성을 부여하고 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 솔라눔 칠렌세로부터의 제2 대립유전자에 식물 내에서 유전적으로 연결된 제1 대립유전자에 대해 이형접합성인 토마토 식물을 수득하는 단계; (b) 식물의 자손을 수득하는 단계; 및 (c) 자손이 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대한 내성

을 부여하는 상기 제1 대립유전자를 포함하지만, 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 상기 제2 대립유전자를 포함하지 않도록, 재조합이 일어나는 적어도 제1 자손 식물을 선택하는 단계를 포함하고, 상기 제1 자손 식물을 선택하는 단계는 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 상기 제1 자손을 선택하는 단계는 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치한 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 제1 자손을 선택하는 단계는 NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함한다. 추가 구현예에서, 자손 식물은 F2 내지 F6 자손 식물이다. 다른 추가 구현예에서, 상기 자손 식물을 수득하는 단계는 역교배, 예를 들어, 역교배의 2 내지 7 세대를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 이러한 방법에 의해 생산된 식물을 제공한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 세포, 종자, 뿌리, 줄기, 잎, 과실, 꽃, 및 화분으로 이루어진 군으로부터 선택된, 이러한 식물의 부분을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 여러 유전적 마커 위치에서의 재조합 근교계(recombinant inbred line: RIL)의 유전자형을 도시한 것이다. 표는 가장 오른쪽 컬럼에 도시된 바와 같이 과실 컬러에 의해 분류되는데, 이는 a^*b^* 색상 각(hue angle)에 의해 측정된 경우에 과실 컬러의 최소 제곱 평균(least-squared mean: LSM) 추정치를 도시한 것이다. FIR-16-2138/FDR-15-2031 잡종(hybrid)과 더욱 유사한 과실 컬러 표현형을 나타내는 식물 계통은 컬럼의 상단에 도시되어 있으며, FIR-16-2063/FDR-15-2031 잡종과 더욱 유사한 표현형을 나타내는 식물 계통은 하단에 도시되어 있다. 컬럼 "LV"는 식물 계통이 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대해 내성적(R)이거나 감수성(S)을 나타내는지의 여부를 명시한다.

도 2는 6개의 재조합 근교계를 도시한 것으로서, 여기서, *Lt*에 대한 내성은 유지되었으며, 과실 컬러 유전자 *TL*에 의해 야기된 바람직하지 않은 오렌지색 과실 외과피 컬러가 제거되었다.

도 3은 *Lt* 내성을 위한 신규한 근동질유전자 계통(near isogenic line: NIL)을 생산하기 위한 분자 육종 전략을 도시한 것이다. 도면에 주어진 마커는 가상적인 것이다.

도 4는 여러 유전자 마커 위치에서 FIR-16-2063/FIR-16-2138의 이중 재조합 자손의 유전자형을 도시한 것이다. S. 칠렌세 유전자이입으로부터 유지된 DNA 분절은 음영처리된 진한 회색이며, 수용체 DNA 분절은 음영처리된 밝은 회색이다. 계통 R1 내지 R7은 내성 NIL이며, S1 및 S2는 감수성을 나타내며, S01 및 S02는 감수성을 나타내고 오렌지색 표현형을 가지며, S는 FIR-16-2063/FDR-15-2031이며, R은 FIR-16-2138/FDR-15-2031이다.

도 5는 FIR-16-2063/FIR-16-2138의 이중 재조합 자손에 대한 서열 캡처 데이터(sequence capture data)를 도시한 것이다. NIL 캡처 데이터 내에서 검출된 eSNP는 이의 대립유전자 기원에 따라 착색된다: R 모체 (FIR-16-2138) 대립유전자는 음영처리된 검정색이며, S 모체 (FIR-16-2063) 대립유전자는 음영처리된 회색이다.

도 6은 본 발명에 의해 제공된 최소 효능 유전자이입에서의 주석이 달린 유전자를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 레베일룰라 타우리카(*Leveillula taurica: Lt*)는 토마토에서 백분병균(powdery mildew)을 야기시켜 토마토 작물에서 심각한 수율 손실을 야기시키는 식물 진균 병원균이다. 여러 야생 토마토 종은 *Lt*에 대한 내성을 나타내는 것으로 알려져 있으며, *Lt* 내성 대립유전자를 이러한 종에서 재배 토마토 계통으로 유전자이입시키기 위한 집중적인 노력이 이루어지고 있다. 그러나, 야생 종으로부터의 유전자이입된 *Lt* 내성 대립유전자가 요망되지 않는 작물학적 형질에 의해 동반되기 때문에 이러한 노력은 방해 받고 있다. 이에 따라, 토마토 식물에서의 *Lt*로 인한 수율 손실은 중요한 문제로 남아 있다.

[0013] 첫째로, 본 발명은 야생 종으로부터의 유전자이입과 통상적으로 관련된 유해 형질 없이 *Lt*에 대한 높은 수준의 내성을 나타내는 식물을 야기시키는, 재배 토마토 계통에 솔라눔 칠렌세로부터의 내병성 대립유전자의 신규한 유전자이입을 제공한다. 이에 따라, 본 발명은 당해 분야에서 상당한 진보를 나타낸다. 식물 육종 동안 유전자이입된 대립유전자를 추적하기 위한 신규한, 정밀 마커를 추가로 제공함으로써, 본 발명은 임의의 목적하는 토마토 유전자형에 내병성의 유전자이입을 가능하게 한다.

[0014] *Lt*에 대한 내성은 보편적으로, S. 칠렌세로부터의 토마토 염색체 12 상에서 유전자좌의 유전자이입을 통해 수득된다. 그러나, 이러한 유전자이입은 지금까지 오렌지색 과실 외과피 컬러를 포함하는 허용되지 않는 형질을 나

타내었다. 이러한 유전자이입을 포함하는 식물에서 오렌지색 과실 컬러의 발생률(incidence) 또는 강도(severity)를 감소시키려는 노력은 다양한 토마토 계통에 대하여 내성과 유전자형을 정확하게 연관성을 나타내는 현존하는 마커 및 검정의 결핍으로 인해 부분적으로 성공적이지 못하였다.

[0015] 재배 토마토 계통으로의 *S. 칠렌세*로부터의 내성 대립유전자의 성공적인 유전자이입에 대한 많은 장애에도 불구하고, 본 발명자는 놀랍게도, 종래에 유전자이입과 관련된 유해 형질 없이 *Lt*에 대한 내성을 부여하는 *S. 칠렌세*로부터의 신규한 유전자이입을 생산할 수 있었다. 본 발명은 토마토 염색체 12 상에서 신규한 QTL, 뿐만 아니라, 이러한 신규한 QTL과 관련된 핵산 서열 및 유전적 마커를 추가로 식별하며, 이는 요망되지 않는 오렌지색 과실 외과피 컬러 없이 *Lt*에 대한 내성을 부여한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 *Lt*에 대한 개선된 내성과 관련된 제1 유전자좌에 공여체 *S. 칠렌세* DNA, 및 오렌지색 과실 외과피 컬러와 관련된 제2 유전자좌에 수용체 식물 변종으로부터의 DNA를 포함하는 식물을 제공한다. 추가 구현예에서, 본 발명은 염색체 12 상에서 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp, 또는 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이의 염색체 영역에서 공여체 *S. 칠렌세* DNA를 포함하는 식물을 제공한다.

[0016] 본 발명은 *Lt* 내성 및 또한 허용 가능한 과실 외과피 컬러를 나타내는 식물을 야기시키는, *Lt* 내성을 부여하는 염색체 12의 영역에서 신규한 재조합된 유전자이입을 포함하는 식물을 생산하기 위해 사용될 수 있는 신규한 형질-연관 마커를 추가로 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 표 1에 나타난 마커를 제공한다. 본 발명의 다른 구현예는 신규한 마커 NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887을 제공하는데, 이는 식물에서 *Lt* 내성과 유전학적으로 연관되는 것으로 나타난다. 표 1에서 마커에 대한 서열은 표 6에 제공되어 있다.

[0017] 다른 구현예에서, 본 발명은 본 명세서에 기술된 염색체 분절에 내 또는 이러한 염색체 분절에 유전적으로 연결된 마커에 바람직한 대립유전자를 갖는 식물을 선택하거나 육종시킴으로써 *Lt* 내성 및 목적하는 과실 외과피 컬러를 나타내는 식물을 생산하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자좌에서 적어도 하나의 대립유전자를 검출하는 것을 포함하는 식물을 선택하거나 육종시키는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 유전자좌 NL0235199 및 유전자좌 NL0235118에 *S. 칠렌세* DNA를 포함하고 유전자좌 NL0235137 및 유전자좌 NL0244887에 수용체 식물에서 비롯된 DNA를 포함하는 식물을 제공한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 NL0235137 및 NL0244887이 측면에 있는 계놈 분절 내에 *S. 칠렌세* 공여체 DNA를 포함하는 식물을 제공한다.

[0018] 본 발명에 의해 제공된 신규한 마커 및 검정은 식물 육종 동안 본 명세서에 제공된 계놈 영역의 정확한 식별 및 추적을 가능하게 하며, 이에 의해, 요망되지 않는 과실 컬러 없이 *Lt* 내성을 나타내는 식물의 생산을 가능하게 한다. 유전적으로 다양한 토마토 계통으로부터의 *Lt* 내성 대립유전자의 도입이 억제된 재조합을 야기시킬 수 있기 때문에, 마커-보조 선별(MAS)은 동반하는 요망되지 않는 과실 컬러 대립유전자 없이 재배 계통으로 *S. 칠렌세*로부터의 *Lt* 내성 대립유전자의 성공적인 도입을 위해 필수적이다. 본 발명은 이러한 내성을 관찰하기 위하여 많은 식물 개체군을 성숙시킬 필요성 없이 내병성과 관련된 유전자형을 검출하기 위한 개선되고 입증된 마커를 제공함으로써 MAS를 가능하게 한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 재조합 유전자이입이 결핍된 식물에 비해 개선된 *Lt* 내성을 부여하는 염색체 12 상에서 *S. 칠렌세*로부터의 재조합 유전자이입을 포함하는 식물을 제공한다. 재조합 유전자이입은 제2 대립유전자가 결핍된 식물과 비교하여 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하지 않는 상기 제1 대립유전자에 유전적으로 연결된 제2 대립유전자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 식물은 염색체 12 상에서 대략 2.42 Mbp 내지 3.19 Mbp 사이에 *S. 칠렌세* 공여체 DNA를 포함한다. 추가 구현예에서, 본 발명의 식물은 염색체 12 상에서 대략 2.93 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 *S. 칠렌세* 공여체 DNA를 포함한다.

[0019] **I. 토마토 식물에서 *Lt* 내성 및 목적하는 과실 외과피 컬러와 관련된 계놈 영역, 대립유전자, 및 다형체**

[0020] 본 발명은 식물 육종 동안 유전자이입을 추적하기 위한 다형성 핵산 및 관련 마커와 함께, 토마토 식물에서 내병성 및 개선된 과실 외과피 컬러와 관련된 하나 이상의 대립유전자의 신규한 유전자이입을 제공한다.

[0021] *Lt* 감염은 토마토 작물에서 수율 및 품질에 있어서의 심각한 감소를 초래할 수 있다. 이에 따라, *Lt* 내성의 효과적인 소스(source)를 식별하기 위한 집중적인 노력이 이루어져 왔다. 그러나, 야생 종으로부터의 이전에 공지된 유전자이입은 불충분한 내성 수준 또는 허용되지 않은 관련된 유해 형질로 인해, 사용 가능한 토마토 작물을 생산하지 못한다. 특히, *Lt* 내성 유전자의 이전에 공지된 유전자이입을 지닌 재배 토마토 계통은 과실에 요망되지 않는 오렌지 외과피 컬러를 나타낸다. 오렌지색 과실 외과피 컬러의 발생률을 감소시키려는 노력으로 선택적 육종에도 불구하고, 이러한 효과는 당해 분야에 여전히 일상적으로 관찰되고 있다. *Lt* 내성을 나타내는 야생 토마토 유형, 예를 들어, *S. 칠렌세*는 당해 분야에 공지되어 있고, 본 발명의 특정 구현예에 따라 사용될 수 있다.

[0022] 본 발명의 개선된 유전적 마커 및 검정을 이용하여, 본 출원인은 재배 계통에 유전자이입될 때 더 적은 불리한 형질들과 관련된 *S. 칠렌세*로부터의 신규한 *Lt* 내성 영역을 성공적으로 식별할 수 있었다. 특정 구현예에서, 본 발명은 *Lt* 내성을 부여하고 염색체 12 상에서 게놈 위치 2.44 Mbp 및 3.18 Mbp에 의해 정의된 요망되지 않는 오렌지색 과실 컬러 없는 *S. 칠렌세* 유전자이입을 제공한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 *Lt* 내성을 부여하고 게놈 위치 2.94 Mbp 및 2.99 Mbp에 의해 정의된 요망되지 않는 오렌지색 과실 컬러 없는 최소 효능 유전자이입을 제공한다. 본 발명은 염색체 12 상에서 대략 2.94 Mbp 내지 3.04 Mbp 사이에, 또는 대략 2.85 Mbp 내지 3.18 Mbp 사이에, 또는 대략 2.92 Mbp 내지 2.99 Mbp 사이에 위치한 *S. 칠렌세* 유전자이입을 포함하는 식물을 추가로 제공하는데, 이는 *Lt* 내성 및 허용 가능한 과실 외과피 컬러를 나타낸다.

[0023] 다른 구현예에서, 본 발명은 마커 NL0235137 및 NL0244887이 측면에 있는 게놈 분절 내에 *S. 칠렌세* 공여체 DNA를 포함하는 식물을 제공한다. 추가 구현예에서, 본 발명은 마커 NL0235199 및 NL0235118에 공여체 *S. 칠렌세* DNA를, 그리고 마커 NL0235137 및 NL0244887에 수용체 DNA를 포함하는 식물을 제공한다.

[0024] 본 발명은 재배 토마토 계통에 유전자이입될 때 *Lt* 내성과 관련되지만 오렌지색 과실 외과피 컬러와 관련되지 않은 염색체 12 상에서 대략 2.55 Mbp 내지 3.08 Mbp; 대략 2.44 Mbp 내지 3.03 Mbp; 대략 2.44 Mbp 내지 3.15 Mbp; 대략 2.94 Mbp 내지 3.04 Mbp; 대략 2.85 Mbp 내지 3.18 Mbp; 대략 2.92 Mbp 내지 2.99 Mbp; 또는 대략 2.94 Mbp 내지 4.99 Mbp 사이에 게놈 분절을 추가로 식별하고 제공한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 *Lt*에 대한 내성을 나타내는 식물을 제공하는데, 여기서, 이러한 식물에는 오렌지색 과실 외과피 컬러를 부여하는 리코펜 엽실론 시클라아제(lycopene epsilon cyclase)(Crt1-E) 대립유전자가 결핍되어 있다.

[0025] **II. 내병성과 관련된 게놈 영역의 유전자이입**

[0026] 마커-보조된 유전자이입은 제1 유전적 백그라운드(genetic background)로부터 제2 유전적 백그라운드로 하나 이상의 마커에 의해 규정된 염색체 영역의 전이를 수반한다. 유전자유입된 게놈 영역을 함유하는 교배의 자손(offspring)은 제1 유전적 백그라운드로부터의 목적하는 유전자이입된 게놈 영역의 특징적인 마커와 제2 유전적 백그라운드의 특징적인 연결된 및 연결되지 않은 마커들 모두의 조합에 의해 식별될 수 있다.

[0027] 본 발명은 재배 계통으로의 본 명세서에 기술된 *S. 칠렌세*로부터의 게놈 영역들 중 하나 이상의 유전자이입을 식별하고 추적하기 위한 신규한 정밀 마커를 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 표 1에 기술된 마커를 제공한다. 본 발명의 추가 구현예는 신규한 마커 NL0235199, NL0235118, NL0235137, 및 NL0244887을 제공하며, 이는 식물에서 *Lt* 내성과 유전적으로 연관되는 것으로 보인다.

[0028] 본 발명의 임의의 게놈 간격 내에 또는 이에 연결된 마커는 목적하는 유전적 백그라운드로의 내병성과 관련된 게놈 영역의 유전자이입을 포함하는 다양한 육종 노력에서 유용할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기술된 내병성과 관련된 마커의 40 cM, 20 cM, 15 cM, 10 cM, 5cM, 2 cM, 또는 1 cM 내의 마커는 내병성 표현형(disease tolerant phenotype)과 관련된 게놈 영역의 마커-보조 유전자이입을 위해 사용될 수 있다.

[0029] 나머지 게놈 서열 중 적어도 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, 또는 99%가 대립유전자가 *Lt* 내성 유전자이입을 위해 타겟화된 영역 외측의 반복되는 모체 유전자형과 매칭되는 마커를 지니는, 목적하는 표현형과 관련된 하나 이상의 유전자이입된 영역을 포함하는 토마토 식물이 또한 제공된다. 본 명세서에 제공된 게놈 영역 및 마커에 밀접하게 연결되거나 이러한 게놈 영역 및 마커에 인접하고 내병성 표현형과 관련된 유전자이입된 영역을 포함하는 토마토 식물이 또한 제공된다.

[0030] **III. 내병성 토마토 변종의 개발**

[0031] 대부분의 육종 목적을 위하여, 상업적 육종가들은 "재배되는," "재배 유형(cultivated type)" 또는 "엘리트(elite)"인 생식질(germplasm) 내에서 작업한다. 본 명세서에서 사용되는 "엘리트" 또는 "재배된" 변종은 우수한 작물학적 성능을 위한 육종 및 선택으로부터 야기되는 임의의 변종을 의미한다. 이러한 생식질은 원예학적 성능(horticultural performance)에 대해 평가될 때 일반적으로 잘 수행하기 때문에 육종하기 더 쉽다. 다수의 재배 토마토(*S. 리코페르시쿰(S. lycopersicum)* 또는 *L. 에스쿨렌툼(L. esculentum)*) 유형이 개발되었으며, 이는 작물학적으로 더 우수하고 상업적 재배를 위해 적절하다. 그러나, 재배 생식질의 성능 장점은 대립유전자 다양성의 결핍에 의해 상쇄될 수 있다. 육종가들은 일반적으로, 이러한 균형(tradeoff)을 수용하는데, 그 이유는 유전적으로 다양한 소스로 육종할 때 보다 재배되는 물질로 작업할 때 진행이 더 빠르기 때문이다.

[0032] 대조적으로, 재배 생식질이 비-재배 생식질(non-cultivated germplasm)과 교배될 때, 육종가는 비-재배 유형으로부터의 신규한 대립유전자에 접근할 수 있다. 그러나, 이러한 접근법(approach)은 다양한 계통들 간의 교배와

관련된 생식력 문제, 및 비-재배 모체로부터의 부정적인 연관 드래그로 인해 상당한 어려움을 나타낸다. 토마토 식물에서, S. 칠렌세와 같은 비-재배 유형은 내병성과 관련된 대립유전자를 제공할 수 있다. 그러나, 이러한 비-재배 유형은 특정의 유해 형질 또는 질병에 대한 취약성(vulnerability)과 같은 불량한 원에 품질을 가질 수 있다.

[0033] 연관 드래그 또는 낮은 유전력을 갖는 문제점을 피하면서 비-재배 계통으로부터의 목적하는 내성 유전자를 엘리트 재배 계통으로 유전자이입하는 공정은 길고 종종 고된 공정이다. 이에 따라, 야생 연관물로부터 유래된 대립유전자를 배치하는데 있어서의 성공은 표현형 스크린(phenotypic screen)을 대체하는 신뢰할 만한 마커 검정 및 유해 영향이 결여된 최소의 또는 절두된 유전자이입에 크게 의존적이다. 성공은 추가로, 내병성과 같은 양적 형질에 대한 유전적 획득량에 초점을 맞추도록 주요 속성에 대한 유전학을 단순화시킴으로써 정의된다. 또한, 비-재배 계통으로부터의 게놈 영역을 유전자이입하는 공정은 MAS에 대한 정밀 마커의 이용 가능성에 의해 크게 촉진될 수 있다.

[0034] 이에 따라, 당업자는, 본 발명에 의해 제공된 대립유전자, 다형체, 및 마커가 본 명세서에서 식별된 임의의 게놈 영역의 추적 및 임의의 유전적 백그라운드로의 도입을 가능하게 한다는 것을 이해할 것이다. 또한, 본 명세서에 기술된 내병성과 관련된 게놈 영역은 하나의 유전자형에서 다른 유전자형으로 유전자이입될 수 있고, MAS를 사용하여 추적될 수 있다. 이에 따라, 출원인의 내병성과 관련된 정밀 마커의 발견은 유익한 표현형을 갖는 토마토 식물의 개발을 촉진시킨다. 예를 들어, 종자는 내병성과 관련된 목적하는 게놈 영역을 포함하는 식물을 선택하기 위해 본 발명의 마커를 사용하여 유전자형 분석될 수 있다. 또한, MAS는 목적하는 유전자이입에 대해 동형접합성이거나 이형접합성인 식물의 식별을 가능하게 한다.

[0035] 종간 교배(inter-species cross)는 또한, 억제된 재조합 및 낮은 생식력 또는 번식력을 가진 식물을 야기시킬 수 있다. 예를 들어, 억제된 재조합은 토마토 선충 내성 유전자 *Mi*, 보리에서의 *Mla* 및 *Mlg* 유전자, 밀에서의 *Yr17* 및 *Lr20* 유전자, 포도덩굴에서의 *Run1* 유전자, 및 땅콩에서의 *Rma* 유전자에 대해 관찰되었다. 감수분열 재조합(meiotic recombination)은 유전적 백그라운드에 걸친 바람직한 대립유전자의 전이, 유해한 게놈 분절의 제거, 및 유전적으로 단단히 연결된 피라미드화 형질(pyramiding trait)을 가능하게 하기 때문에 전통적인 육종을 위해 필수적이다. 이에 따라, 정밀 마커의 부재 하에서, 억제된 재조합은 육종가로 하여금 자손 스크린을 위해 분리 개체군(segregating population)을 확장시키게 한다.

[0036] 큰 개체군의 표현형 평가는 시간-소비적이고, 자원 집약적이고, 모든 환경에서 재현 가능하지 않다. 마커-보조 선별은 실행 가능한 대안을 제공한다. SNP와 같은 독특한 다형체를 검출하도록 고안된 분자 검정은 다목적이다. 그러나, 이러한 것은 단일 검정에서 토마토 종 내에서 및 토마토 종 간에 대립유전자를 구별하지 못할 수 있다. 결실(deletion)과 같은 염색체의 구조적 재배열은 합성적으로 표지된 올리고뉴클레오타이드의 혼성화 및 연장을 손상시킨다. 복제 사건(duplication event)의 경우에, 단일 반응으로 다중 복사본(multiple copies)이 차이 없이 증폭된다. 이에 따라, 정밀하고 고도로 예측되는 마커의 개발 및 검증은 성공적인 MAS 육종 프로그램을 위해 필수적이다.

[0037] **IV. 분자 보조 육종 기술**

[0038] 본 발명의 실행에서 사용될 수 있는 유전적 마커는 제한 분절 길이 다형(restriction fragment length polymorphism: RFLP), 증폭된 분절 길이 다형(amplified fragment length polymorphism: AFLP), 단순 서열 반복부(simple sequence repeat: SSR), 단순 서열 길이 다형(simple sequence length polymorphism: SSLP), 단일 뉴클레오타이드 다형(single nucleotide polymorphism: SNP), 삽입/결실 다형(Indel), 가변 수 텐덤 반복부(variable number tandem repeat: VNTR), 및 랜덤 증폭된 다형 DNS(random amplified polymorphic DNA: RAPD), 이소자임(isozyme), 및 당업자에게 공지된 다른 마커를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 작물 식물에서의 마커 발견 및 개발은 마커-보조 육종 활성화에 대한 적용을 위한 초기 프레임워크(framework)를 제공한다[미국특허공개번호 제2005/0204780호, 제2005/0216545호, 제2005/0218305호, 및 제2006/00504538호]. 얻어진 "유전 지도(genetic map)"는 서로에 대하여 특정된 유전자좌(대립유전자가 식별될 수 있는 다형 핵산 마커 또는 임의의 다른 유전자좌)의 상대적 위치를 나타낸다.

[0039] 최소한 단일 뉴클레오타이드 변화를 포함하는 다형은 다양한 방식으로 검정될 수 있다. 예를 들어, 검출은 단일 가닥 입체 형태적 다형[Orita *et al.* (1989) *Genomics*, 8(2), 271-278], 변성 구배 겔 전기영동[Myers (1985) *EPO 0273085*], 또는 절단 분절 길이 다형[Life Technologies, Inc., 메틸랜드주 게이더스버그 소재]을 포함하는 전기영동 기술에 의해 이루어질 수 있지만, DNA 시퀀싱(sequencing)의 광범위한 이용 가능성은 종종 서열 증폭된 산물을 직접적으로 단순화하는 것을 더욱 용이하게 만든다. 일단 다형성 서열(polymorphic sequence) 차이

가 공지되면, 특이적 대립유전자의 PCR 증폭[PASA; Sommer, *et al.*, *Biotechniques* 12(1), 82-87, 1992], 또는 다중 특이적 대립유전자의 PCR 증폭[PAMSA; Dutton and Sommer, *Biotechniques*, 11(6), 700-7002, 1991]의 일부 버전을 통상적으로 포함하는, 자손 테스트(progeny testing)을 위한 신속한 검정이 고안될 수 있다.

[0040] 다형성 마커는 계통 또는 변종의 동일성 정도를 결정하기 위한 식물을 검정화하는 유용한 도구로서 역할을 한다 [미국특허번호 제6,207,367호]. 이러한 마커는 표현형과의 연관(association)을 결정하는 근거를 형성하고, 유전 획득량(genetic gain)을 유도하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 방법의 특정 구현예에서, 다형성 핵산은 토마토 식물에서 내병성과 관련된 유전자형을 검출하고 내병성과 관련된 유전자형을 갖는 토마토 식물을 식별하고, 내병성과 관련된 유전자형을 갖는 토마토 식물을 선택하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 방법의 특정 구현예에서, 다형성 핵산은 내병성과 관련된 유전자입된 유전자좌를 이의 계통 안에 포함하는 토마토 식물을 생산하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 다형성 핵산은 내병성과 관련된 유전자좌를 포함하는 자손 토마토 식물을 육종하기 위해 사용될 수 있다.

[0041] 유전적 마커는 "우성(dominant)" 또는 "공동우성(codominant)" 마커를 포함할 수 있다. "공동우성" 마커는 둘 이상의 대립유전자(이배수체 개체 당 2개)의 존재를 나타낸다. "우성" 마커는 오직 단일 대립유전자의 존재를 나타낸다. 마커는 바람직하게 공동우성 방식으로 유전되어, 이배수체 유전자좌에서 두 대립유전자 모두의 존재, 또는 삼배수체 또는 사배수체 유전자좌에서 다수의 대립유전자의 존재가 용이하게 검출 가능하고, 이러한 것이 환경적 변화가 없는, 즉, 이의 유전력이 1이게 한다. 마커 유전자형은 통상적으로, 이배수체 유기체에서 각 유전자좌에 두 개의 마커 대립유전자를 포함한다. 각 유전자좌의 마커 대립유전자 조성은 동형접합성 또는 이형접합성일 수 있다. 동형접합성은 한 유전자좌에서의 두 대립유전자 모두가 동일한 뉴클레오타이드 서열에 의해 특징되는 상태이다. 이형접합성은 한 유전자좌에서 대립유전자의 상이한 상태를 지칭한다.

[0042] 유전적 다형(즉, 유전자형 결정을 위한)의 존재 또는 부재를 결정하는 핵산-기반 분석은 식별, 선택, 유전자입, 등을 위한 육종 프로그램에서 이용될 수 있다. 유전적 다형의 분석을 위한 매우 다양한 유전적 마커가 이용 가능하고, 당업자에게 알려져 있다. 이러한 분석은 토마토 식물에서 내병성과 연관되거나 이와 관련된 유전적 마커를 포함하거나 이러한 유전적 마커에 연결된 유전자, 유전자의 부분, QTL, 대립유전자 또는 계통 영역을 선택하기 위해 사용될 수 있다.

[0043] 본 명세서에서 사용되는 핵산 분석 방법은 PCR-기반 검출 방법(예를 들어, TaqMan 검정), 마이크로어레이 방법, 질량 분석-기반 방법 및/또는 전체 계통 서열분석을 포함하는 핵산 서열분석 방법을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, DNA, RNA, 또는 cDNA의 샘플에서 다형성 부위의 검출은 핵산 증폭 방법의 이용을 통해 촉진될 수 있다. 이러한 방법은 상세하게, 다형성 부위에 걸쳐 있거나, 그러한 부위와 이의 원위 또는 근위 중 어느 하나에 위치된 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오타이드의 농도를 증가시킨다. 이러한 증폭된 분자는 겔 전기영동, 형광 검출 방법, 또는 다른 수단에 의해 용이하게 검출될 수 있다.

[0044] 이러한 증폭을 달성하는 하나의 방법은 다형체를 이의 이중 가닥 형태로 규정하는 근위 서열에 혼성화할 수 있는 프라이머 쌍을 사용하여, 폴리머라아제 연쇄 반응(PCR)을 이용한다[Mullis *et al.* 1986 Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263-273; 유럽특허 제50,424호; 유럽특허 제84,796호; 유럽특허 제258,017호; 유럽특허 제237,362호; 유럽특허 제201,184호; 미국특허 제4,683,202호; 미국특허 제4,582,788호; 및 미국특허 제4,683,194호]. 질량 분석을 기초로 하여 DNA를 유형결정하는 방법이 또한 사용될 수 있다. 이러한 방법은 미국특허 제6,613,509호 및 제6,503,710호, 및 이러한 문헌에서 확인되는 참조문헌에 기재되어 있다.

[0045] DNA 서열에서의 다형은 비제한적으로, 미국특허번호 제5,468,613호, 제5,217,863호; 제5,210,015호; 제5,876,930호; 제6,030,787호; 제6,004,744호; 제6,013,431호; 제5,595,890호; 제5,762,876호; 제5,945,283호; 제5,468,613호; 제6,090,558호; 제5,800,944호; 제5,616,464호; 제7,312,039호; 제7,238,476호; 제7,297,485호; 제7,282,355호; 제7,270,981호 및 제7,250,252호에 개시된 것을 포함하는 당해 분야에 널리 공지된 다양한 효과적인 방법에 의해 검출되거나 유형결정될 수 있으며, 이들 모두는 전문가 본 명세서에 참고로 포함된다. 그러나, 본 발명의 조성물 및 방법은 계통 DNA 샘플에서 다형을 유형분석하기 위한 임의의 다형 유형 분석 방법과 함께 사용될 수 있다. 사용되는 이러한 계통 DNA 샘플은 식물로부터 직접적으로 단리된 계통 DNA, 클론화된 계통 DNA, 또는 증폭된 계통 DNA를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.

[0046] 예를 들어, DNA 서열에서의 다형은 미국특허번호 제5,468,613호 및 제5,217,863호에 개시된 바와 같이 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드(ASO)에 대한 혼성화에 의해 검출될 수 있다. 미국특허번호 제5,468,613호에는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화가 개시되어 있는데, 여기에서, 핵산 서열에서 단일 또는 다중 뉴클레오타이드 변화는 뉴클레오타이드 변화를 함유하는 서열이 증폭되고 막 상에 스폿팅되고, 표지된 서열-특

이적 올리고뉴클레오타이드 프로브로 처리되는 공정에 의해 핵산에서 검출될 수 있다.

- [0047] 타겟 핵산 서열은 또한, 예를 들어, 미국특허번호 제5,800,944호에 개시된 바와 같은 프로브 결합 방법에 의해 검출될 수 있는데, 여기서, 고려되는 서열은 증폭되고 프로브에 혼성화되고, 이후에, 결합되어 프로브의 표지된 부분을 검출한다.
- [0048] 마이크로어레이(microarray)는 또한, 다형 검출을 위해 사용될 수 있으며, 여기서, 한 포인트에서의 타겟 서열에서의 차이가 부분적 프로브 혼성화를 야기시키도록, 올리고뉴클레오타이드 프로브 세트는 단일 서열을 나타내기 위하여 중첩 방식으로 어셈블리된다[Borevitz *et al.*, *Genome Res.* 13:513-523, 2003]; Cui *et al.*, *Bioinformatics* 21:3852-3858, 2005]. 임의의 하나의 마이크로어레이 상에서, 유전자 및/또는 비코딩 영역을 나타낼 수 있는 복수의 타겟 서열이 존재할 것으로 예상되는데, 여기서, 각 타겟 서열은 단일 프로브 보다는 일련의 중첩 올리고뉴클레오타이드에 의해 나타난다. 이러한 플랫폼(platform)은 복수의 다형의 고처리량 스크리닝을 제공한다. 마이크로어레이-기반 방법에 의한 타겟 서열의 유형 결정은 미국특허번호 제6,799,122호; 제6,913,879호; 및 제6,996,476호에 개시되어 있다.
- [0049] SNP 및 Indel을 검출하는 다른 방법은 단일 염기 확장(single base extension: SBE) 방법을 포함한다. SBE 방법의 예는 미국특허번호 제6,004,744호; 제6,013,431호; 제5,595,890호; 제5,762,876호; 및 제5,945,283호에 개시된 것을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0050] 다형을 검출하는 다른 방법에서, SNP 및 Indel은 미국특허번호 제5,210,015호; 제5,876,930호; 및 제6,030,787호에 개시된 방법에 의해 검출될 수 있으며, 여기서, 5' 형광 리포터 염료(fluorescent reporter dye) 및 3' 켄처 염료(quencher dye)를 갖는 올리고뉴클레오타이드 프로브는 프로브의 5' 단부 및 3' 단부에 공유적으로 연결된다. 프로브가 무손상(intact)일 때, 켄처 염료에 리포터 염료의 근접(proximity)은 예를 들어, 포스터(Forster)-타입 에너지 전달에 의해, 리포터 염료 형광의 억제를 초래한다. PCR 동안, 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머는 다형의 측면에 있는 타겟 DNA의 특이적 서열에 혼성화하며, 혼성화 프로브는 증폭된 PCR 산물 내에 다형-함유 서열에 혼성화된다. 후속 PCR 사이클에서, 5'→3' 엑소뉴클레아제 활성을 갖는 DNA 폴리머라아제는 프로브를 절단하고, 켄처 염료로부터 리포터 염료를 분리시켜, 리포터의 형광 증가를 초래한다.
- [0051] 다른 구현예에서, 고려되는 유전자좌 또는 유전자좌들은 핵산 서열분석 기술을 이용하여 직접 서열분석될 수 있다. 핵산 서열분석을 위한 방법은 당해 분야에 공지되어 있고, 454 라이프 사이언시스사(Life Sciences)(코네티컷주 브렌포드 소재), 에이전트코트 바이오사이언시스사(Agencourt Bioscience)(매사추세츠주 베벌리 소재), 어플라이드 바이오시스템즈사(Applied Biosystems)(캘리포니아주 포스터 시티 소재), LI-COR 바이오사이언시스사(LI-COR Biosciences)(네브래스카주 링컨 소재), 님블젠 시스템즈사(NimbleGen Systems)(위스콘신주 매디슨 소재), 일루미나사(Illumina)(캘리포니아주 샌디에이고 소재), 및 비지젠 바이오테크놀로지스사(VisiGen Biotechnologies)(텍사스주 휴스턴 소재)에 의해 제공된 기술들을 포함한다. 이러한 핵산 서열분석 기술은 병렬 비드 어레이, 결합에 의한 서열분석, 모세관 전기영동, 전자 마이크로칩, "바이오칩"(biochip), 마이크로어레이, 병렬 마이크로칩, 및 단일-분자 어레이와 같은 형태를 포함한다.
- [0052] **정의**
- [0053] 하기 정의는 본 발명의 더 잘 규정하고 본 발명의 실행에서 당업자를 안내하기 위하여 제공된다. 달리 주지하지 않는 한, 용어들은 관련 분야의 당업자에 의해 통상적인 어법에 따라 이해되어야 한다.
- [0054] 본 명세서에서 사용되는 용어 "식물"은 식물 세포, 식물 원형질체(protoplast), 토마토 식물이 재생될 수 있는 조직 배양물의 식물 세포, 식물 캘리(calli), 식물 무리(clump), 및 식물 또는 식물의 부분들, 예를 들어, 화분, 꽃, 종자, 잎, 줄기, 등에서 고유한 식물 세포를 포함한다.
- [0055] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개체군(population)"은 공통적인 부계 파생을 공유하는, 유전적으로 이종성인 식물의 집합(collection)을 의미한다.
- [0056] 본 명세서에서 사용되는 용어 "변종(variety)" 및 "품종(cultivar)"은 이의 유전적 혈통 및 성능에 의해 동일한 종 내의 다른 변종으로부터 식별될 수 있는 유사한 식물의 그룹을 의미한다.
- [0057] 본 명세서에서 사용되는 "대립유전자(allele)"는 염색체 상의 제공된 유전자좌에서 게놈 서열의 둘 이상의 대체 형태들 중 하나를 지칭한다.
- [0058] "정량적 형질 유전자좌(quantitative trait locus: QTL)"는 표현형의 발현성에 영향을 미치는 적어도 제1 대립

유전자를 엔코딩하는 염색체 위치이다.

- [0059] 본 명세서에서 사용되는 "마커(marker)"는 유기체들 간에 구별하는데 사용될 수 있는 검출 가능한 특징을 의미한다. 이러한 특징의 예는 유전적 마커, 생화학적 마커, 대사물질, 형태학적 특징 및 작물학적 특징을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0060] 본 명세서에서 사용되는 용어 "표현형"은 유전자 발현에 의해 영향을 받을 수 있는 세포 또는 유기체의 검출 가능한 특징을 의미한다.
- [0061] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유전자형"은 식물의 특이적 대립유전자 구성을 의미한다.
- [0062] 본 명세서에서 사용되는 "엘리트(elite)" 또는 "재배(cultivated)" 변종은 육종 및 우수한 작물학적 성능을 위한 선택으로부터 야기되는 임의의 변종을 의미한다. "엘리트 식물(elite plant)"은 엘리트 변종에 속하는 식물을 지칭한다. 다수의 엘리트 변종은 입수 가능하고, 토마토 육종의 분야의 숙련자에게 알려져 있다. "엘리트 개체군(elite population)"은 토마토와 같은, 제공된 작물 종의 작물학적으로 우수한 유전자형의 측면에서 현 기술 수준을 나타내기 위해 사용될 수 있는 엘리트 개체 또는 변종의 모음(assortment)이다. 유사하게, "엘리트 생식질" 또는 생식질의 엘리트 균주는 작물학적으로 우수한 생식질이다.
- [0063] 본 명세서에서 사용되는 "재조합 유전자이입"은 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대한 내성을 부여하는 솔라눔 칠렌세로부터의 게놈 유전자이입을 지칭하며, 여기서, 유전자이입은 오렌지색 과실 외과피를 부여하는 내성 형질에 유전학적으로 연결되는 대립유전자를 제거하기 위해 감수분열 조합된다. 일 구현예에서, 오렌지색 과실 외과피가 결핍된 본 발명의 식물은 대략 45.2의 LSM 색상 각(hue angle)을 가질 수 있다. 다른 구현예에서, 오렌지색 과실 외과피가 결여된 본 발명의 식물은 대략 44.8969 ± 0.34424의 LSM 색상 각을 가질 수 있다. 또 다른 구현예에서, 오렌지색 과실 외과피가 결여된 본 발명의 식물은 46.963 ± 0.39518의 LSM 색상 각을 가질 수 있다. 다른 구현예에서, 이러한 식물은 대략 47.35 미만, 또는 대략 48.1 미만의 LSM 색상 각을 가질 수 있다. 또 다른 구현예에서, 이러한 식물은 43.0 내지 48.1의 LSM 색상 각을 가질 수 있다.
- [0064] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유전자이입된(introgressed)"은 유전적 유전자좌를 참조로 하여 사용될 때, 예를 들어, 역교배를 통해, 신규한 유전적 백그라운드에도 도입된 유전적 유전자좌를 지칭한다. 유전적 유전자좌의 유전자이입은 식물 육종 방법을 통해 및/또는 분자 유전 방법에 의해 달성될 수 있다. 이러한 분자 유전 방법은 동종 재조합, 비-동종 재조합, 부위-특이적 재조합, 및/또는 유전자좌 치환 또는 유전자좌 전환을 제공하는 게놈 개질을 제공하는 다양한 식물 형질변환 기술 및/또는 방법을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0065] 본 명세서에서 사용되는 용어 "연결된" 또는 "유전적으로 연결된"은 핵산 마커 및/또는 게놈 영역의 문맥에서 사용될 때, 마커 및/또는 게놈 영역이 감수분열에서 함께 분리하는 경향이 있도록 마커 및/또는 게놈 영역이 동일한 연쇄군(linkage group) 또는 염색체 상에 위치됨을 의미한다.
- [0066] 염색체 12 상에서 솔라눔 칠렌세로부터의 재조합 유전자이입을 포함하는 재배 토마토 식물 변종의 토마토 식물로서, 여기서, 상기 재조합 유전자이입은 제1 대립유전자가 결핍된 식물에 비해 개선된 레베일룰라 타우리카(*Lt*)에 대한 내성을 부여하는 제1 대립유전자를 포함하며, 상기 재조합 유전자이입은 상기 제1 대립유전자에 유전학적으로 연결된 솔라눔 칠렌세로부터의 제2 대립유전자가 결핍되어 있으며, 제2 대립유전자는 상기 재조합 유전자이입에 존재하는 경우에, 오렌지색 과실 외과피를 부여할 것이다.
- [0067] 본 명세서에서 사용되는 "내성 유전자좌"는 질병에 대한 내성 또는 저항(tolerance)과 관련된 유전자좌를 의미한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 내성 유전자좌는 일 구현예에서, *Lt*에 대한 내성 또는 감수성(susceptibility)을 조절할 수 있다.
- [0068] 본 명세서에서 사용되는 "내성 대립유전자"는 질병에 대한 내성 또는 저항과 관련된 핵산 서열을 의미한다.
- [0069] 본 명세서에서 사용되는 질병 상태에 대한 식물에서의 "내성" 또는 "개선된 내성"은 식물이 비-내성 또는 덜 내성인 식물에 비해 질병 부담(disease burden)을 더 많이 감소시킬 수 있는 표시(indication)이다. 내성은 "내성" 식물이 유사한 질병 상태에서 성장된 상이한(덜 내성인) 식물(예를 들어, 상이한 식물 변종)과 비교하여 질병 부담을 더 많이 감소시킬 수 있음을 나타내는 상대어(relative term)이다. 당업자는 질병에 대한 식물 내성이 광범위하게 다양하고 더 내성이거나 덜-내성인 표현형의 스펙트럼을 나타낼 수 있음을 인지할 것이다. 그러나, 단순 관찰에 의해, 당업자는 일반적으로, 질병 상태 하에서 상이한 식물, 식물 변종, 또는 식물 계열의 상대적 내성을 결정할 수 있고, 더욱이, "내성"의 표현형적 단계적 차이(phenotypic gradation)를 또한 인지할 것이다.

[0070] 당업자는 질병 상태에 대한 식물 내성이 광범위하게 다양하고 더 내성이거나 덜-내성인 표현형의 스펙트럼을 나타낼 수 있음을 인지할 것이다. 그러나, 단순 관찰에 의해, 당업자는 일반적으로, 질병 상태 하에서 상이한 식물, 식물 변종, 또는 식물 계열의 상대적 내성을 결정할 수 있고, 더욱이, "내성"의 표현형적 단계적 차이를 또한 인지할 것이다.

[0071] 용어 "약"은 하나의 값이 그 값을 결정하기 위해 이용되는 디바이스 또는 방법에 대한 오차의 표준 편차를 포함한다는 것을 나타내기 위해 사용된다. 청구범위에서 용어 "또는"의 사용은 본 개시내용이 유일한 대안 및 "및/또는"을 지칭하는 정의를 지지하더라도, 유일한 대안을 지칭하거나 대안이 상호 배타적인 것으로 달리 명확하게 명시하지 않는 한 "및/또는"을 의미하기 위해 사용된다. 청구범위에서 단어 "포함하는" 또는 다른 개방 언어와 함께 사용할 때, 단수형은 상세하게 주지하지 않는 한, "하나 이상"을 나타낸다. 용어 "포함하다," "갖다" "및" "포함하다"는 개방형 연결 동사이다. "포함하다," "포함하는," "갖다," "갖는," "포함하다" 및 "포함하는"과 같은 이러한 동사들 중 하나 이상의 임의의 형태 또는 시제는 또한 개방형이다. 예를 들어, 하나 이상의 단계를 "포함하거나," "갖거나," "포함하는" 임의의 방법은 단지 그러한 하나 이상의 단계만을 가지는 것으로 한정되지 않고, 또한, 다른 나열되지 않은 단계를 포함한다. 유사하게, 하나 이상의 형질을 "포함하거나," "갖거나," "포함하는" 임의의 식물은 단지 그러한 하나 이상의 형질만을 가지는 것으로 한정되지 않고, 또한 다른 나열되지 않은 형질을 포함한다.

[0072] **실시예**

[0073] **실시예 1**

[0074] ***Lt* 내성을 갖는 재조합 토마토 계통의 식별**

[0075] 계통 FIR-16-2063(*Lt* 감수성, 과실 컬러 유전자 델타 네가티브), FIR-16-2063/FDR-15-2031 상업적 잡종의 모체, 및 FIR-16-2138(*Lt* 내성, 델타 포지티브) 사이에 교배가 이루어졌다. FIR-16-2138에서 *Lt* 내성 대립유전자의 유전자입은 야생 토마토 중 솔라눔 칠렌세로부터의 큰 유전자입으로부터 유래되었다. *Lt* 감수성 모체 FIR-16-2063은 유전자입을 가지지 않는다.

[0076] 얻어진 전환된 잡종 토마토 자손은 *Lt*에 대한 내성을 나타내었다(FIR-16-2138/FDR-15-2031). 그러나, 이러한 계통은 허용되지 않는 오렌지색 과실 외과피 컬러를 나타낸다는 것으로 발견되었는데, 이는 *S.* 칠렌세로부터의 *Lt* 유전자입과 관련이 있는 것이다. 원치 않는 오렌지 컬러를 지니는 과실의 발생률의 감소와 함께 *Lt* 내성을 유지하는 재조합체의 식별을 위해 표 1에 나타난 분자 마커를 개발하였다. 이러한 마커에 관한 서열은 표 6에 제공되어 있다. 추가 연구는, 오렌지색 과실 컬러 유전자 델타와 *Lt* 내성 간의 시스-연관(cis-linkage)으로 인해 매우 높은 빈도로 열리는 과실 컬러가 내성과 공동-분리된다는 것을 결정하였다.

표 1

Lt 내성 QTL 을 추적하는데 유용한 토마토 염색체 12 상의 분자 마커. 유전자좌 p_M_PMLT_Lv-WS 는 공여체 FIR-193-90760 으로의 육종으로부터 유래된 *Lt* 내성을 추적하는데 유용하다. 유전자좌 p_M_PMLT_Lv-La 는 계통 '라우리카(Laurica)' 로의 육종으로부터 유래된 *Lt* 내성을 추적하는데 유용하다.

마커	물리적 위치	유전적 위치	정보를 얻은 유전자좌
NL0235137	2,379,680	18.5	
NL0235199	2,803,705	23.4	
NL0235118	2,860,477	24	p_M_PMLT_Lv-La
NL0244887	3,106,864	26.8	

[0077]

[0078] **실시예 2**

[0079] **맵핑 개체군**

[0080] 분리되는 F2 개체군을 획득하기 위해 FIR-16-2063/FIR-16-2138의 교배로부터 얻어진 F1 개체군을 자기생식시켰다(self). 이후에, F2 개체군을 *Lt* QTL 둘레의 20 cM 영역을 가로질러 분자 마커로 스크리닝하였다(표 1). 왼쪽 가장자리 상의 물리적 위치 2,000,964(유전적 위치 14.3), 또는 오른쪽 가장자리 상의 물리적 위치 3,983,080(유전적 위치 36.2)과 20 cM *Lt* QTL 타겟 영역이 측면에 있는 마커 간의 재조합을 갖기 위해 23개의 식물을 관

찰하였다. F3 종자를 수득하기 위해 이러한 식물을 온실에서 심었다.

[0081] F3 세대에서, 재조합체 F2:3 패밀리(family)로부터의 다수 식물을 스크리닝하여 고정된 1차 중단점(breakpoint) 및 타겟 간격의 반대 측면 상에 2차 분리 재조합 사건을 갖는 개체들을 식별하였으며, 초기 공여체 FIR-16-2138에 비해 감소된 유전자입 크기를 갖는 식물을 식별하였다. 후속 자기생식 세대(selfing generation)를 사용하여 모든 중단점을 고정시키고 종자를 증가시켰다.

[0082] **실시예 3**

[0083] **맵핑 개체군에서 Lt 내성 및 오렌지색 과실 컬러의 평가**

[0084] 각 재조합 근교계에 대한 시험체로서 FDR-15-2031을 사용하여 검정 교배 잡종(testcross hybrid)을 생산하였다. 과실 상에 4개의 포인트에서의 과실 컬러를 측정하여, Konica-Minolta 색도계(colorimeter)를 이용한 복제된 필드 시험에서 과실 컬러에 대해(적도: 2회 측정; 과정부(blossom end): 1회 측정; 줄기 단부: 1회 측정) 그리고 Lt에 대한 내성(병리 및 필드 검정)에 대해 이러한 검정 교배 잡종을 평가하였다. 식물을 필드 시험에서 60" 베드 간격을 갖는 무작위화된 완전 블록 디자인(randomized complete block design)으로 성장시켰다. 필드 시험을 위해 식물 간에 15인치 간격을 둔(플롯 사이가 4 ft임), 플롯당 4개의 식물을 성장시켰다. 과실 컬러 측정 이전에, 하루에 3 내지 4개의 복제물이 태그화된, 브레이크 스테이지(breaker stage)에서 각 플롯에 15 내지 18개의 과실을 태그화함으로써 과실 성숙도를 일반화하였다. 태그화된 과실을 7일 후에 수확하였으며, 그러한 시점에, 이러한 것을 색도계로 바로 분석하였다.

[0085] 플롯 당 8개의 과실을 사용하여, 과실 컬러에 대한 $L^*a^*b^*$ 색도계 값을 기록하였다. $L^*a^*b^*$ 스코어를 사용하여 a^*b^* 축에 대한 색상 각을 계산하고, 이러한 타입의 데이터에 대한 표준 변환식에 따라, 그 후에, L^* 의 변화가 전체 데이터세트에 대하여 모든 측정 간에 < 10%인 것으로 결정되었다. 색상 각을 하기 식에 따라 계산하였다: $\text{색상 각} = 1 - (\text{atan2}(b^*, a^*)) = \text{atan2}(a^*, b^*)$. 라디안(Radian) 단위의 식의 결과를 이후에, 색상 각의 값에 대해 0 내지 90 범위에 이르도록 도(degree)로 변환시켰다. a^*b^* 색상 각을 사용하여 데이터-포인트 당 색상 각(per-data-point hue angle)을 계산하였으며, 이를 이후에, 과실에 대해 평균처리하였고, 이후에, 항목당(per-entry)(혈통(pedigree)) 기준으로 색상 각의 최소-제곱 평균(east-squared mean: LSM) 추정치의 계산을 위해 분산 분석(Analysis of Variance: ANOVA)으로 처리하였다. FIR-16-2138/FDR-15-2031 잡종과 유사한 과실 컬러 표현형(55.64의 LSM 색상 각)을 나타내는 식물 계통은 오렌지색인 것으로 여겨지며, FIR-16-2063/FDR-15-2031 잡종과 유사한 표현형(45.2의 LSM 색상 각)을 나타내는 식물 계통은 적색, 또는 비-오렌지색인 것으로 여겨진다.

[0086] 병리 내성 또는 감수성 분류를 병리 검정 내성 등급을 위해 온실에서 10개의 묘목, 및 필드 내성 등급을 위해 필드에서 5개의 식물의 기준으로 포물레이션하였다. 온실과 필드 검정 사이의 등급의 일치는 거의 100%였다. 병리 내성 등급을 검정하기 위해 사용되는 프로토콜은 표 2에 제공되어 있다.

표 2

병원체 내성을 스크리닝하기 위한 프로토콜

질병	백분병균
병원체	레베일롤라 타우리카
단리물	캘리포니아 단리물(California isolate)
재배	
농도	1 x 10 ⁴ 분생자/ml
정량화	혈구계를 이용하여 ml 당 분생자(canidia)의 수를 계수하고, RO 수로 회색시킴
숙주	토마토: 솔라눔 리코페르시쿰(<i>Solanum lycopersicum</i>) (이전에 리코페르시쿰 에스쿨렌툼(<i>Lycopersicon esculentum</i>))
대조군	높은 내성: 라우리카(Laurica) 감수성: HP 375 (LTS), VFN8
심는 방법	6-팩 플랫(6-pak flat)에 이중 시딩한다. 식물이 확장된 자엽 스테이지에 도달할 때 셀 당 1 개의 식물로 박편화한다(thin).
접종	
접종 시 식물의 연령/스테이지	3-4 본엽(true leaf) 스테이지, 20 일
접종 절차	스프레이 병을 이용하여, 모든 식물의 나뭇잎(foliage)을 균일하게 분무함.
평가	
등급/스코어 정의	이러한 스크린은 HR, IR, S, 또는 1, 5, 9 로 판독한다. HR (1): 포자 형성하지 않음 IR (5): 매우 적은 포자 형성 S (9): 접종된 잎의 전체 표면 상에 백색 포자 형성

[0087]

[0088]

도 1은 실험에서의 각 재조합 근교계의 마커 유전자형, 뿐만 아니라, 내성 스코어 및 색상 각의 LSM 추정치를 도시한 것이다. 옅은 회색으로 음영처리된 마커는 *Lt* 감수성 모체 계통 FIR-16-2063으로부터 유도된 것이며, 진한 회색으로 음영처리된 마커는 *Lt* 내성 모체 계통 FIR-16-2138로부터 유도된 것이다.

[0089]

도 2는 *Lt*에 대한 내성이 유지되었고 델타에 의해 야기된 바람직하지 않은 오렌지색 과실 외과피 컬러가 제거된 6개의 재조합 자식 계통을 도시한 것이다. 이러한 계통에서의 재조합 사건은 신규하고 육종을 위해 매우 유용한데, 왜냐하면, 이러한 것이 델타와 *Lt* 내성 QTL 간의 바람직하지 않은 시스-연관의 제거를 나타내기 때문이다. 옅은 회색으로 음영처리된 마커는 *Lt* 감수성 모체 계통 FIR-16-2063으로부터 유도되며, 진한 회색으로 음영처리된 마커는 *Lt* 내성 모체 계통 FIR-16-2138로부터 유도된다. 도 2에 도시된 바와 같이, SNP 마커 NL0235137과 NL0244887 간의 재조합 중단점을 갖는 개체를 식별하고, 유전자좌 NL0235199 및 NL0235118에서 *Lt* 내성 모체 계통 FIR-16-2138로부터 유도된 대립유전자 및 마커 NL0235137 및 NL0244887에서 *Lt* 감수성 모체 계통 FIR-16-2063으로부터 유도된 대립유전자를 선택함으로써 바람직하지 않은 외과피 컬러를 나타내지 않는 최소 효능 내성 유전자이입을 생성시켰다.

[0090]

실시에 4

[0091]

염색체 12 상의 *Lt* 유전자이입 내에 과실 외과피 컬러 유전자좌의 맵핑

[0092]

분자 마커를 사용하여, 이중 재조합 사건을 FIR-16-2063/FIR-16-2138의 교배에서 *Lt* 내성 QTL 간격을 가로질러 발생시켰으며, 이는 *Lt* 내성 유전자이입의 외측에 근 동질유전자 백그라운드(near isogenic background)를 갖는다. 각 이중 재조합체는 초기 '라우리카(Laurica)' 유전자이입의 독특한 분절을 지닌다. 초기 유전자이입 크기

는 ~15 cM이며, 이중 재조합체에서 유전자이입 크기는 ~3 내지 ~10 cM 범위이었다(도 3).

[0093] 이중-재조합 근 동질유전자 계통(NIL; near isogenic line)을 토마토 계통 FDR-15-2031에 대해 검정 교배하여 분석을 위한 잡종 표현형을 요약하였다. 이중-재조합체 유도된 잡종을 필드 시험에서 5 복제를 갖는 무작위화된 완전 블록 디자인에서 평가하였다. 성숙한 과실을 각 복제 내에서 브레이커 스테이지(breaker stage)에서 태그 화하고, Konica-Minolta 색도계로 7일 후에 컬러에 대해 분석하여 이의 컬러를 정량적으로 평가하였다. *Lt* 내성에 대한 표현형 데이터를 필드에서 시즌 마지막에 수집하였다. 수집된 데이터를 혼합식 모델 ANOVA로 분석하여, 색상 각으로 측정하는 경우에 과실 컬러의 최소-제공 평균 추정치를 계산하였다. 표 3은 FIR-16-2063/FDR-15-2031 내지 FIR-16-2138/FDR-15-2031 토마토 식물 간에 과실 컬러의 큰, 유전 가능한, 및 고도로 유의미한 차이를 지지하는 데이터를 나타낸다.

표 3

과실 컬러에 대한 통계학적 데이터.

잡종 토마토 계통		델타	P-값	하한	상한
FIR-16-2063/FDR-15-2031 (적색 과실 외과피 컬러)	FIR-16-2138/FDR-15-2031 (오렌지색 과실 외과피 컬러)	10.40	0.00	8.85	11.96

[0094]

[0095]

실시예 5

[0096]

최소 효능 유전자이입을 식별하기 위한 미세 맵핑

[0097]

형질 결합(trait association)을 과실 컬러에 대한 필드 데이터와 조합하여 새로이 식별된 분자 마커를 이용하여 평가하였다. 더 옅은 컬러를 갖는 NIL/오렌지색 과실은 *Crt1-E* 유전자 마커($F = 64.4, p < .0001$)에서 *Lt* 칠렌세 유전자이입 세그먼트에 대해 불균형적으로 풍부한 것으로 확인되었다. 도 4에 도시된 7개의 내성 NIL을 선택하였는데, 왜냐하면, 이러한 것은 감수성 잡종 FIR-16-2063/FDR-15-2031의 잡종 과실 컬러와 밀접하게 매칭되는 잡종 과실 컬러, 및 현 *Lt* 형질-연관 마커에 가까운 중단점을 나타내었기 때문이다(도 4). 이러한 NIL을 고해상도 맵핑을 위한 서열 캡처로 처리하였다(도 5). 서열 캡처는 차세대 기술로 타겟화된 서열분석을 수행하기 위한 방법이다. 맞춤형 타겟 디자인 서비스 및 시약은 Roche NimbleGen으로부터 입수 가능하다.

[0098]

고해상도 서열 캡처 데이터는 내성 NIL R6 내지 R7(표 4 및 표 5) 사이에 재조합 중단점의 미세 맵핑을 가능하게 하였다. *Lt* 내성을 부여하는 63.1 Kb(0.75 cM)의 최소 효능 간격(수평선으로 강조됨)은 현 형질-연결 인퍼늄 마커의 다운스트림에서 식별되었고, 게놈 위치 2,931,412 및 2,994,502에 의해 규정된다. *Lt* 내성 및 바람직하지 않은 오렌지색 과실 컬러의 결핍 둘 모두를 부여하는 최소 유전자이입은 NIL R6에서 관찰되었고, 게놈 위치 2,909,303 Mbp 및 2,994,502 Mbp에 의해 규정된다. 추가적인 효능 유전자이입 분절은 게놈 위치 2,421,661 및 3,196,154에 의해 규정되는 것으로 나타났다. 최소 효능 유전자이입 내에서, NIL를 가로질러 *Lt* 내성과 완전 연관 비평형(complete linkage disequilibrium)을 갖는 225 eSNP가 존재한다. 도 6은 최소 효능 유전자이입 내에서 이러한 eSNP 및 주석달린 유전자의 위치를 도시한 것이다. 이러한 SNP는 마커-보조 선별(MAS) 육종 프로그램에 대한 TaqMan 검정에서 사용될 수 있다. 이러한 육종 사건에서 오렌지색 과실 외과피 컬러가 없는 *Lt* 내성의 선택은 Q-NL0235118(p_M_PMLT_Lv-La)으로 가능하게 된다. 표 6은 기준 서열과 함께, 각 NIL에 대한 유전자형 및 왼쪽 및 오른쪽 측면 서열(+/- 150 bp)을 제공한다.

표 4

7 개의 내성 NIL 에 대한 유전자이입 중단점 간격.

재조합	물리적 위치	유전적 위치	RIL 대립유전자 타입	중단점 '타입'
R1	2,551,673	26.7	에스콜렌툼 (FIR-16-2063)	상단(top)
R1	2,551,723	26.7	칠렌세 (FIR-16-2138)	상단
R1	3,077,384	33.2	칠렌세 (FIR-16-2138)	하단(bottom)
R1	3,096,032	33.5	에스콜렌툼 (FIR-16-2063)	하단
R2	2,421,661	25.2	에스콜렌툼 (FIR-16-2063)	상단
R2	2,436,550	25.4	칠렌세 (FIR-16-2138)	상단
R2	3,025,938	32.5	칠렌세 (FIR-16-2138)	하단
R2	3,034,301	32.6	에스콜렌툼 (FIR-16-2063)	하단
R3	2,421,661	25.2	에스콜렌툼 (FIR-16-2063)	상단

[0099]

			칠렌세	
R3	2,436,561	25.4	(FIR-16-2138)	상단
			칠렌세	
R3	3,152,613	34.1	(FIR-16-2138)	하단
			에스콜렌툼	
R3	3,180,676	34.5	(FIR-16-2063)	하단
			에스콜렌툼	
R4	2,929,039	31.2	(FIR-16-2063)	상단
			칠렌세	
R4	2,929,067	31.2	(FIR-16-2138)	상단
			칠렌세	
R4	3,041,836	32.7	(FIR-16-2138)	하단
			에스콜렌툼	
R4	3,041,866	32.7	(FIR-16-2063)	하단
			에스콜렌툼	
R5	2,846,106	30.2	(FIR-16-2063)	상단
			칠렌세	
R5	2,851,881	30.2	(FIR-16-2138)	상단
			칠렌세	
R5	3,181,352	34.5	(FIR-16-2138)	하단
			에스콜렌툼	
R5	3,196,154	34.7	(FIR-16-2063)	하단
			에스콜렌툼	
R6	2,909,303	30.9	(FIR-16-2063)	상단

[0100]

			칠렌세	
R6	2,918,977	31.1	(FIR-16-2138)	상단
			칠렌세	
R6	2,994,248	32	(FIR-16-2138)	하단
			에스콜렌툼	
R6	2,994,502	32	(FIR-16-2063)	하단
			에스콜렌툼	
R7	2,931,412	31.2	(FIR-16-2063)	상단
			칠렌세	
R7	2,936,184	31.3	(FIR-16-2138)	상단

[0101]

표 5

기준 서열(술라눔 리코페르시룸_Heinz 1706_ITAG_V2.3)과 비교한 7개의 내성 NIL 에 대한 서열 캡처 데이터.

제조합체	위치	왼쪽 측면 서열		오른쪽 측면 서열	
		(서열번호)	유전자형	(서열번호)	
기준	2,551,673	1	[C/C]	53	
R1	2,551,673	2	[C/C]	54	
기준	2,551,723	3	[A/A]	55	
R1	2,551,723	4	[T/T]	56	
기준	3,077,384	5	[C/C]	57	
R1	3,077,384	6	[A/A]	58	
기준	3,096,032	7	[G/G]	59	
R1	3,096,032	8	[G/G]	60	
기준	2,421,661	9	[C/C]	61	
R2	2,421,661	10	[C/C]	62	
기준	2,436,550	11	[A/A]	63	
R2	2,436,550	12	[G/G]	64	
기준	3,025,938	13	[T/T]	65	
R2	3,025,938	14	[C/C]	66	
기준	3,034,301	15	[A/A]	67	
R2	3,034,301	16	[A/A]	68	
기준	2,421,661	17	[C/C]	69	
R3	2,421,661	18	[C/C]	70	

[0102]

기준	2,436,561	19	[g/g]	71	
R3	2,436,561	20	[A/A]	72	
기준	3,152,613	21	[A/A]	73	
R3	3,152,613	22	[G/G]	74	
기준	3,180,676	23	[C/C]	75	
R3	3,180,676	24	[C/C]	76	
기준	2,929,039	25	[T/T]	77	
R4	2,929,039	26	[T/T]	78	
기준	2,929,067	27	[G/G]	79	
R4	2,929,067	28	[A/A]	80	
기준	3,041,836	29	[A/A]	81	
R4	3,041,836	30	[G/G]	82	
기준	3,041,866	31	[T/T]	83	
R4	3,041,866	32	[T/T]	88	
기준	2,846,106	33	[A/A]	85	
R5	2,846,106	34	[A/A]	86	
기준	2,851,881	35	[A/A]	87	
R5	2,851,881	36	[T/T]	88	
기준	3,181,352	37	[G/G]	89	
R5	3,181,352	38	[C/C]	90	
기준	3,196,154	39	[A/A]	91	
R5	3,196,154	40	[A/A]	92	

[0103]

기준	2,909,303	41	[G/G]	93
R6	2,909,303	42	[G/G]	94
기준	2,918,977	43	[C/C]	95
R6	2,918,977	44	[T/T]	96
기준	2,994,248	45	[G/G]	97
R6	2,994,248	46	[A/A]	98
기준	2,994,502	47	[G/G]	99
R6	2,994,502	48	[G/G]	100
기준	2,931,412	49	[G/G]	101
R7	2,931,412	50	[G/G]	102
기준	2,936,184	51	[T/T]	103
R7	2,936,184	52	[C/C]	104

[0104]

표 6

토마토에서 Lt 내성 QIL 를 추적하기 위해 유용한 토마토 염색체 12 상에서의 분자 마커에 대한 서열.

마커명	위치	대립유전자	VIC 서열 (서열번호)	FAM 서열 (서열번호)	F 서열 (서열번호)	R 서열 (서열번호)	형질 유전자좌명
Q-NL0235118	31.1	GATC/****	105	109	113	117	p_M_PMLT_Lv-La
Q-NL0235137	25.21	G/T	106	110	114	118	
Q-NL0235199	30.39	G/A	107	111	115	119	
Q-NL0244887	34.69	T/*	108	112	116	120	

[0105]

[0106]

실시예 6

[0107]

목적하는 재조합체의 선택

[0108]

"오렌지색" 대 "적색"의 분류는 체크(check) FIR-16-2063/FDR-15-2031 및 FIR-16-2138/FDR-15-2031에 대해 중요한데, 왜냐하면, FIR-16-2138/FDR-15-2031이 허용되지 않는 오렌지색 과일 컬러에 대한 표준이며, FIR-16-2063/FDR-15-2031이 허용되는 적색 과일 컬러에 대한 표준이기 때문이다. FIR-16-2138/FDR-15-2031이 이러한 허용되지 않는 오렌지색 컬러를 나타내는 중요한 이유는 Lt 내성 유전자좌의 업스트림의 DeI 돌연변이 500 Kb의 가까운 연관성(close linkage)으로 인한 것이다. 본 출원의 도 1에 도시된 다양한 부류의 재조합체에 대한 평균 및 신뢰 구간을 계산함으로써, "오렌지색" 및 "적색"을 정량적으로 분류하는 것이 더욱 용이하게 된다. 표 7은 본 명세서에 기술된 바와 같이 2013 및 2014 필드 데이터로부터 계산된 평균 및 표준 오차를 제공한다.

[0109]

DeI 유전자좌에 S. 칠렌세 대립유전자를 계속 지니는 재조합체는 51.39343 ± .41802의 LSM 색상 각을 나타내는데, 이는 FIR-16-2138/FDR-15-2031 체크에 대해 계산된 수치를 밀접하게 반영한다. 대조적으로, 이러한 유전자좌에서 S. 칠렌세 대립유전자가 S. 에스쿨렌툼 대립유전자로 대체된 재조합체는 46.963 ± .39518의 LSM 색상 각을 나타내는데, 이는 FIR-16-2063/FDR-15-2031 체크에 대해 계산된 수치에 더욱 더 근접한 것이다. 이에 따라, 내성을 유지하고 DeI 유전자좌에서 S. 칠렌세 대립유전자를 제거한 임의의 재조합체, 특히 47.35 미만의 색상 각에 대한 LSM 추정치를 갖는 재조합체가 유용할 수 있다. 가장 유용한 재조합체 중 제3 그룹 및 본 출원의 주된 초점은 이중 재조합이 이러한 영역에 걸쳐 생성되어, 레베일라 타우리카에 대한 내성을 유지하면서, DeI 유전자좌에서 S. 칠렌세 대립유전자, 및 물리적 위치 3,690,072(유전적 위치 마커 33.5)의 다운스트림의 외부 S. 칠렌세 DNA를 제거하는 것이다. 44.8969 ± .34424의 색상 각에 대한 LSM 추정치는 FIR-16-2063/FDR-15-2031 체크에 대해 계산된 LSM 추정치 및 오차와 통계학적으로 상이하지 않은데, 이는 이러한 영역에서 S. 칠렌세 공여체 DNA로부터의 과일 컬러에 대한 모든 유해 효과가 제거되었다는 것을 명확하게 명시하고 레베일라 타우리카에 대한 내성이 계속 유지되면서 목적하는 "적색" 과일 컬러로 성공적으로 복귀한다는 강한 신뢰를 제공한다.

표 7

전술한 바와 같은 2013 및 2014 필드 데이터로부터 계산된 평균 및 표준 오차.

그룹에 따른 색상 각의 한 방향 Anova						
분산 분석						
소스	DF	제공의 합	평균 제공	F 비율	확률 > F	
Ctrl-E 유전자 그룹	4	46771.58	11692.9	315.2554	<.0001	
오차	4231	156928.77	37.1			
C. 총계	4235	203700.35				
한 방향 Anova 의 평균						
수준	수	평균	표준 오차	하한 95%	상한 95%	분류
FIR-16-2063/FDR-15-2031 체크	588	44.1528	0.25115	43.660	44.645	적색
FIR-16-2138/FDR-15-2031 (+Lr 전체 유전자이입) 체크	597	52.5087	0.24925	52.020	52.997	오렌지색
재조합체 w/ Del (Ctrl-E) 유전자 에서 칠렌세 대립유전자	849	51.9343	0.20901	51.525	52.344	오렌지색
재조합체 w/ Del (Ctrl-E) 유전자 에서 에스콜렌툼 대립유전자	950	46.9630	0.19759	46.576	47.350	적색
이중 재조합체 자손 – Ctrl-E 및 3,690,072 (유전적 위치 마커 33.5)의 다운스트림에서 에스콜렌툼 대립유전자	1252	44.8969	0.17212	44.559	45.234	적색

[0110]

[0111]

* * * * *

[0112]

본 명세서에 개시되고 청구된 모든 조성물 및/또는 방법은 본 개시내용에 비추어 과도한 실험 없이 이루어지고 실행될 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법이 바람직한 구현예의 측면에서 기술되었지만, 변형이 본 발명의 개념, 사상, 및 범위를 벗어나지 않으면서, 본 명세서에 기술된 조성물 및/또는 방법에 및/또는 본 발명에 기술된 단계들에 또는 본 발명에 기술된 방법의 단계들의 순서에서 적용될 수 있다는 것은 당업자에게 분명할 것이다. 보다 상세하게, 화학적으로 그리고 물리화학적으로 둘 모두와 관련된 특정 제제가, 동일한 유사한 결과가 달성되는 한, 본 명세서에 기술된 제제에 대해 대체될 수 있다는 것이 분명할 것이다. 당업자에게 분명한 이러한 모든 유사한 치환체 및 개질은 첨부된 청구범위에 의해 정의된 바와 같이 본 발명의 사상, 범위 및 개념 내에 있는 것으로 여겨진다.

도면

도면1a

	NI.0231620	NSI.YC009407170	NSI.YC009406370	NI.0235137	NI.0235199	p_M_PMLT_LV-10	NI.0244887	NI.0244884	
	15.5	17.25	17.28	18.6	23.4	24	26.8	33.5	
	2,107,164	2,263,185	2,266,440	2,379,860	2,803,705	2,860,477	3,106,864	3,690,072	LV
	CMT-E 유전체에 위치된 마커								
세포형에									
R001	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 54.9292095
R002	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 54.2024677
R003	AG	TT	GG	TT	GG	GATC/GATC	**	AA	S 53.9260236
R004	AA	TT	GG	TT	GG	GATC/GATC	**	AA	S 53.7199139
R005	AG	TT	GG	TT	GG	GATC/GATC	**	AA	S 53.2899633
R006	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 53.174723
R007	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 52.0407924
R008	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 51.4033527
R009	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R 50.9030074
R010	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 50.5795909
R011	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 49.8420244
R012	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 49.1502259
R013	AG	TT	GG	TT	GG	GATC/GATC	**	AA	S 49.0501985
R014	AA	CC	AA	GG	GG	GATC/GATC	**	GG	S 48.7783387
R015	AA	CC	AA	GG	AA	GATC/GATC	**	GG	S 48.357895
R016	AA	CC	AA	GG	AA	GATC/GATC	**	GG	S 48.2923333
R017	AG	TT	GG	TT	AA	GATC/GATC	**	AA	S 48.2313385

도 1b에서 계속됨

도면1b

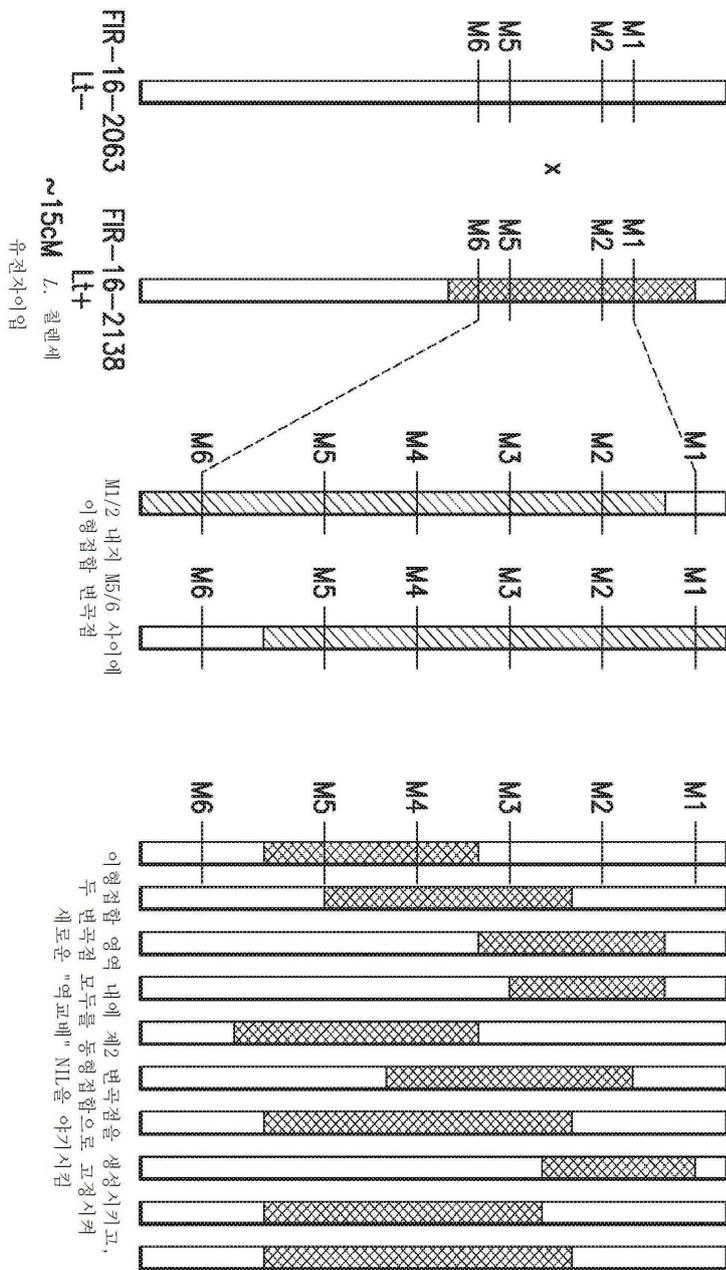
R018	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	48.1459354
R019	AA	CC	AA	GG	GAIC/GAIC	GAIC/GAIC	TT	GG	S	48.0703935
R020	AA	CC	AA	GG	AA	**	TT	GG	R	47.9479082
R021	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	47.9130622
R022	AA	CC	AA	GG	GAIC/GAIC	GAIC/GAIC	TT	GG	R	47.680627
R023	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	47.5287709
R024	AA	CC	AA	GG	AA	**	TT	GG	R	47.2158349
R025	AA	CC	AA	GG	GAIC/GAIC	GAIC/GAIC	**	AA	S	47.0558866
R026	AA	CC	AA	GG	GG	-	TT	GG	R	46.9384083
R027	AA	CC	AA	GG	AA	**	TT	AA	R	45.8529204
R028	AA	CC	AA	GG	GAIC/GAIC	GAIC/GAIC	T/*	AG	S	45.833683
R029	AA	CC	AA	GG	GAIC/GAIC	GAIC/GAIC	TT	GG	S	45.3795496
R030	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	45.3360357
R031	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	45.3273548
R032	AA	CC	AA	GG	GG	**	TT	AG	??	45.3211398
R033	AA	CC	AA	GG	AG	GAIC/GAIC	T/*	GG	S	45.0693063
R034	AA	CC	AA	GG	AA	**	TT	GG	R	44.9483616
R035	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	44.6267763
R036	AA	CC	AA	GG	AA	**	**	AA	R	44.4807048
R037	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	44.4200746
R038	AA	CC	AA	GG	GG	**	**	AA	R	44.0079671

도 1a로부터 계속됨

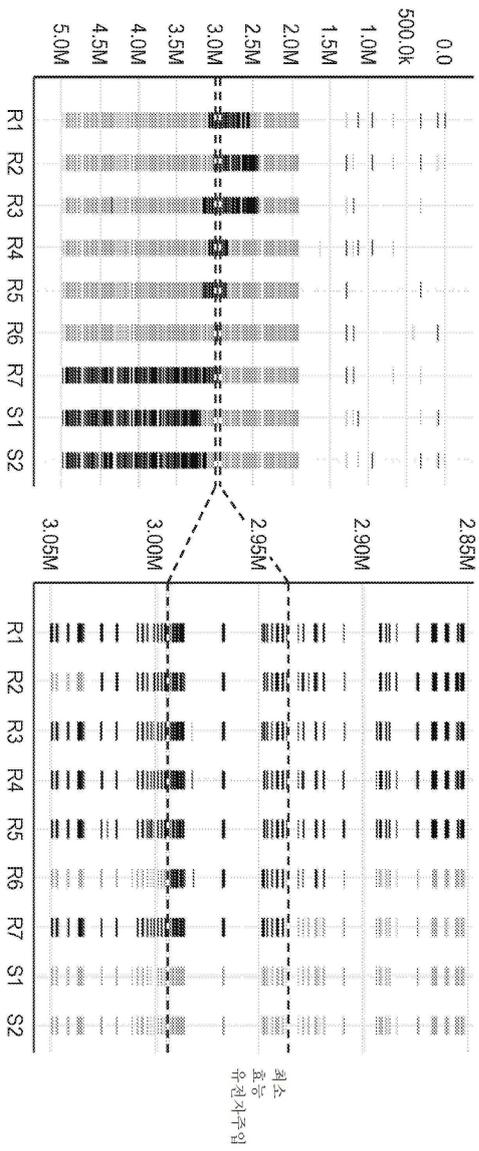
도면2

		C-1도 유권자에 위임된 마커				p_M_PMLT_Lv-10			
	NI.0231620	NSI.YC009407170	NSI.YC009406370	NI.0235137	NI.0235199	NI.0235118	NI.0244887	NI.0244884	
	15.5	17.25	17.28	18.6	23.4	24	26.8	33.5	
	2,107,164	2,263,185	2,266,440	2,379,860	2,803,705	2,860,477	3,106,864	3,690,072	LV
									예산 각도
계조항목									
R030	AA	CC	AA	CC	CC	**	**	AA	R
									45,3360357
R031	AA	CC	AA	CC	CC	**	**	AA	R
									45,3273548
R035	AA	CC	AA	CC	CC	**	**	AA	R
									44,626763
R036	AA	CC	AA	CC	AA	**	**	AA	R
									44,4807048
R037	AA	CC	AA	CC	CC	**	**	AA	R
									44,4200746
R038	AA	CC	AA	CC	CC	**	**	AA	R
									44,0079671

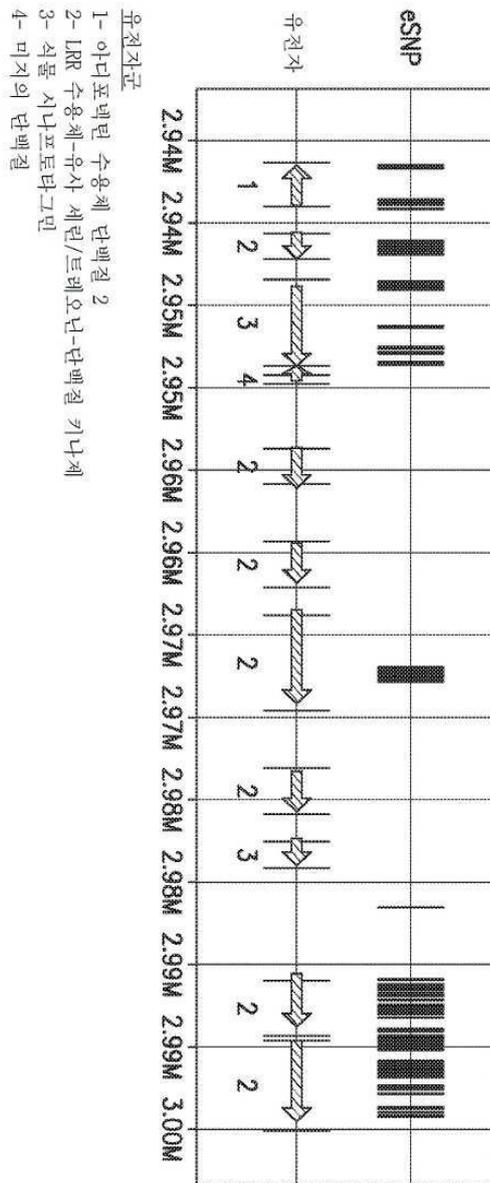
도면3



도면5



도면6



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Seminis Vegetable Seeds, Inc.

<120> Tomato Plants with Improved Disease Resistance

<130> SEMB:020W0

<150> 62/167,788

<151> 2015-05-28

<160> 120

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 1
 tgtcatgatt ttgaacatcg aggacgaatg atgaaattta cagtatcaag ataagtgttt 60
 gatacgatga aaaatctttc ttaataaata ttttatctga acaaggggct agaaaaatga 120
 tttctctcac gtacgaatga aaatcatttt 150

<210> 2
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 2
 tgtcatgatt ttgaacatcg aggacgaatg atgaaattta cagtatcaag ataagtgttt 60
 gatacgatga aaaatctttc ttaataaata ttttatctga acaaggggct agaaaaatga 120
 tttctctcac gtacgaatga aaatcatttt 150

<210> 3
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 3
 ataagtgttt gatacgatga aaaatctttc ttaataaata ttttatctga acaaggggct 60
 agaaaaatga tttctctcac gtacgaatga aaatcatttt ctttataact atcttaattt 120
 ttaaacttca tattaccact ccatataata 150

<210> 4
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 4
 ataagtgttt gatacgatga aaaatctttc ttaataaata ttttatctga acaaggggct 60
 agaaaaatga tttctctcac gtacgaatga aaatcatttt ctttataact atcttaattt 120
 ttaaacttca tattaccact ccatataata 150

<210> 5
 <211> 150

<212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 5
 tctgcaacaa ttgaccatat caaccaagaa aagatctttt atcttggtat caagtttcaa 60

 gttttgtata attgaaactt ttaatcaaca atgactatac agaagtatgt ttttgatatt 120
 aatggttatt tagtctccta ttttttatgc 150
 <210> 6
 <211> 152
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 6
 tctgcaacaa ttttgaccat atcaaccaag aaaagatctt ttatcttggt atcaagtttc 60
 aagttttgta taattgaaac ttttaatcaa caatgactat acagaagtat gtttttgata 120
 ttaatggtta tttagtctcc tttttttat gc 152
 <210> 7
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

 <400> 7
 tcgcatgga gagcctccga ttctagtgtt cctggaaaaa ctaacaaagc ctattaatga 60
 aatatgtgtt caactctcta caaaagcaaa aaagttagtc attgttcatg accttataat 120
 gagtgaacaa atattggaag taaatacatt 150
 <210> 8
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 8
 tcgcatgga gagcctccga ttctagtgtt cctggaaaaa ctaacaaagc ctattaatga 60
 aatatgtgtt caactctcta caaaagcaaa aaagttagtc attgttcatg accttataat 120
 gagtgaacaa atattggaag taaatacatt 150

 <210> 9
 <211> 150

<212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 9
 atcctggtag ctgtacaaca aaaggctctt agcaaaatta tcattttatc atctagaagc 60
 agtggtgaaa aagatttaga agcattgaag ctttcttcca cctcttctca aaagtcctct 120
 tggagggcca taaagatagt cgcattgaca 150
 <210> 10
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 10
 atcctggtag ctgtacaaca aaaggctctt agcaaaatta tcattttatc atctagaagc 60
 agtggtgaaa aagatttaga agcattgaag ctttcttcca cctcttctca aaagtcctct 120

 tggagggcca taaagatagt cgcattgaca 150
 <210> 11
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 11
 ttctttttct tgaagtataa aaagttttta aaatttcaaa aatatatata attaaagggt 60
 aaattaataa aattattatt tttatttata atttttttaa aaatatgtaa attgaaaaat 120
 agacaactaa tataaaacaa aaaatatatt 150
 <210> 12
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 12
 ttctttttct tgaagtataa aaagttttta aaatttcaaa aatatatata attaaagggt 60

 aaattaataa aattattatt tttatttata atttttttaa aaatatgtaa attgaaaaat 120
 agacaactaa tataaaacaa aaaatatatt 150
 <210> 13
 <211> 150
 <212> DNA

<213> Solanum lycopersicum
 <400> 13
 caacaaccaa ttatatgtga aatgtaaaaa tccaagtgtc aacctaaaga aaacgtccca 60
 acattgcaga gccacgactt tcgctaagag gattcaaaat ataacaaat agcacaaca 120
 aaccaagggg attattcatc atgtacaata 150
 <210> 14
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 14
 caacaaccaa ttatatgtga aatgtaaaaa tataagtgtc aacctaaaga aaacgtccca 60
 acattgcaga gccacgactt tcaccaagag gattcaaaat ataacaaat agcacaaca 120
 aaccaagggg attattcatc atgtactata 150
 <210> 15
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 15
 atgctctggg atactctctc tgtactttac atggtttgc ggtatacttt cttctgattt 60
 acttggcggt tttagcattt gactgttaaa gatctaagct tttcctgctt tgtgtgttgc 120
 ttactagtta aataatgatt attttaacac 150
 <210> 16
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 16
 atgctctggg atactctctc tgtactttac atggtttgc ggtatacttt cttctgattt 60
 acttggcggt tttagcattt gactgttaaa gatctaagct tttcctgctt tgtgtgttgc 120
 ttactagtta aataatgatt attttaacac 150
 <210> 17
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 17
atcctggtac ctgtacaaca aaaggctctt agcaaaaatta tcattttatc atctagaagc 60
agtggtgaaa aagatttaga agcattgaag ctttcttcca cctcttctca aaagtcctct 120

tggaggcca taaagatagt cgcatgaca 150

<210> 18
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 18
atcctggtac ctgtacaaca aaaggctctt agcaaaaatta tcattttatc atctagaagc 60
agtggtgaaa aagatttaga agcattgaag ctttcttcca cctcttctca aaagtcctct 120
tggaggcca taaagatagt cgcatgaca 150

<210> 19
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 19
gaagtataaa aagttttaa aatttcaaaa atatatataa ttaaaggta aattaataaa 60

attattattt ttatttataa ttttttaaaa aatatgtaa ttgaaaaata gacaactaat 120
ataaaacaaa aaatatatta atttacttaa 150

<210> 20
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 20
gaagtataaa aagttttaa aatttcaaaa atatatataa ttaaaggta aattaataaa 60
attattattt ttatttataa ttttttaaaa aatatgtaa ttgaaaaata gacaactaat 120
ataaaacaaa aaatatattg atttacttaa 150

<210> 21
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 21
aagcagagta gacgtacaac gtgtaccaa caagaatag agtcacaaac aaatatacca 60
gcaactgaag gtccaagagc aaccataata gcaccagtta atgttgccag atcaattatc 120
tgcataaatt caatcagtga atcaggggaa 150

<210> 22
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 22
aagcagagta cacgtacaac gtgtaccaa caagaatag agtcacaaac aaatatacca 60
gcaactgaag gtccaagagc aaccataata gcaccagtta atgttgccag atcaattatc 120
tgcataaatt caatcagtga atcaggggaa 150

<210> 23
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 23
aggtggatat acgttagtgc tgttgatgic atgaacacta ctcatTTtag aatgtcgatc 60
tttagaatca cttcaagtt tacctactat ggtaccacag tgaatacgat ctctaccaga 120
catgcatgaa taggataggg gtaataaatt 150

<210> 24
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 24
aggtggatat acgttagtgc tgttgatgic atgaacacta ctcatTTtag aatgtcgatc 60
tttagaatca cttcaagtt tacctactat ggtaccacag tgaatacgat ctctaccaga 120
catgcatgaa taggataggg gtaataaatt 150

<210> 25
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 25

tacgtttaaa aaaaatacaa atttcttata aagtctatcg acaattagct tttcgataac 60
aattctgata gacttttctt tgaaaatctc agttaatgtg aatgctcatt gaaaattcac 120
gttttttaaa tagctagtta attaacttaa 150
<210> 26
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 26
tacgtttaaa aaaaatacaa atttctwata aagtgtattg acaattagct tttcgataac 60
aattctgata gactcttcat tgaaaatctc agttaatgtg aatgctcatt gaaaattcac 120
gttttttaag tagctagtta attaacttaa 150
<210> 27
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 27
taaagtctat cgacaattag cttttcgata acaattctga tagacttttc ttgaaaatc 60
tcagttaatg tgaatgctca ttgaaaattc acgtttttta aatagctagt taattaactt 120
aatgtttgta taaaaaatat ttacattatc 150
<210> 28
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 28
taaagtgtat tgacaattag cttttcgata acaattctga tagactcttc attgaaaatc 60
tcagttaatg tgaatgctca ttgaaaattc acgtttttta agtagctagt taattaactt 120
aatgtttgta taaaaaatat ttacattatc 150
<210> 29
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 29
gagcaaaaca atataaataa tcttctctgt aattccctca acaagtacac accttattaa 60

catataatac ctaaagttag cagcttgggg aacaaacact aacatacaac aacatacccc 120
 gtgtaatccc acaagtcggg cctagagagg 150

<210> 30
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 30

gagcaaaaca atataaataa tcttctgtat aattccctca acaagaacac accttattaa 60
 catataatac ctacagttag cagcttgggg aacaaacact aacatacaac aacataccct 120
 gtgtaatcct acaagtcggg tctagggagg 150

<210> 31
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 31

aattccctca acaagtacac accttattaa catataatac ctaaagttag cagcttgggg 60
 aacaaacact aacatacaac aacatacccc gtgtaatccc acaagtcggg cctagagagg 120

atagtgtgta cgcaaaacct taacctacc 150

<210> 32
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 32

aattccctca acaagaacac accttattaa catataatac ctacagttag cagcttgggg 60
 aacaaacact aacatacaac aacataccct gtgtaatcct acaagtcggg tctagggagg 120
 gtagtgtgta cgcaaaacct taacctacc 150

<210> 33
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 33

ttacttttaa tacgagatat attacgctga atctcatatt ttaaggaggt ttattataa 60

attatgttac gtagataaat ataatgtatg actcagaatc tcgittgtaca taggctttct 120
ctttactaga atgatttaga ctataaatg 150
<210> 34
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 34
ttacttttaa tacgagatat attacgctga atctcatatt ttaaggaggt ttatttataa 60
attatgttac gtagataaat ataatgtatg actcagaatc tcgittgtaca taggctttct 120
ctttactaga atgatttaga ctataaatg 150
<210> 35
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 35
ctataaatgg tgaagaaaat cagttaactg ccagtttagg caagaaaaaa aaagattaaa 60
aaaaattgtg attaaaaaaa aaatttgtaa aaatgacacg tgtcataatc agatggattg 120
acaagtaatc ctagcccttg aaatctatta 150
<210> 36
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 36
ctataaatgg tgaagaaaat cagttaactg ccagtttagg caagaaaaaa aaagattaaa 60
aaaaattgtg attaaaaaaa aaatttgtaa aaatgacacg tgtcataatc agatggattg 120
acaagtaatc ctagcccttg aaatctatta 150
<210> 37
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 37
tcgtcacttt tattctgttt atgatgtaag aagaaacttt tggctctact aaacataagc 60
ttgcattgct gctagaacag aaagtcgaga tcatttttgt tctcctcaaaa gtagtaactc 120

cctcagtttc gatttgtttg ttttactttt 150
 <210> 38
 <211> 151
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 38
 tcgtcacttt tattctgttt atgatctaag aagaaacttt tggctctact aaacataagc 60
 ttgcatggc tgctagaaca gaaagtccag atcatttttg ttcttccaaa agtagtaact 120

ccctcagttt cgatttgttt gtgttacttt c 151
 <210> 39
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 39
 gattttttac gtacattctt tcaccttgta tccaacactt ctataatctt atataagaaa 60
 aaaaaaaaaatg acaaccaatt caaattactc accaacaataa attttcattt ccgctcaaaa 120
 ccttaatctt ttcaaaaatt tatacgacat 150
 <210> 40
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 40
 gattttttac gtacattctt tcaccttgta tccaacactt ctataatctt atataagaaa 60

aaaaaaaaatg acaaccaatt caaattactc accaacaataa attttcattt ccgctcaaaa 120
 ccttaatctt ttcaaaaatt tatacgacat 150
 <210> 41
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 41
 acaaatttga ttcgattcat tcgatgtttt ttaaaatagt tttttattgt gaataaaaat 60
 aaaatgagga caaatcaat atataagaca cttaaaagat ttaaaccat gttaagtgat 120
 gatgtgtctc gccataaaaa tgcgtaaac 150

<210> 42
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 42
 acaaatttga ttcgattcat tcgatgtttt ttaaaatagt tttttattgt gaataaaaat 60
 aaaatgagga caaatcaat atataagaca cttaaaagat ttaaaccat gttaagtgat 120
 gatgtgtctc gccataaaaa tgcgtaaaac 150

<210> 43
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 43
 tgcttgggcg tatctgctta acgctagata tgtggtcctc ctgctacact gtgggctatg 60
 tgttcataac cgggcagtat attgacagtg agtggaaaat tcacaggaaa atactcaata 120
 tcattatgga accatatcca gattctgaca 150

<210> 44
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 44
 tgcttgggcg tatctgctta acgctagata tgtggtcctc ctgctacact gtgggctatg 60
 tgttcataac cgggcagtat attgacagtg agtggaaaat tcacaggaaa atactcaata 120
 tcattatgga accatatcca gattctgaca 150

<210> 45
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 45
 tcttgtaaat ggtaatcgaat ttgaaggaac tgttccaatg tcattactca actgttttcg 60
 tttagaate tttgatgtgg gtaacaacgc tataaatgac acatttcag cttggtcgg 120
 aatgcttcaa gagctgcagg tccttatatt 150

<210> 46
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 46
 tcttgtaaat ggtaatcgat ttgaaggaac tgtccaatg tcattactca actgttttcg 60
 tttagaaatc ttgatgtgg gtaacaacgc tataaatgat acatttcag cttggctcgg 120
 aatgcttcaa gagctgcagg tccttatttt 150
 <210> 47
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 47
 ctgcaagact ttttgagaac ttcagtgcga tgattaaatt agatgacgga gacaaaggtg 60
 agatcaaata taiggaacaa ttgagtgaat attcgatgta tgaagattca gtgagtttgg 120
 tgatcaaagg ccatgatatt gagctagaaa 150
 <210> 48
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 48
 ctgcaagact ttttgagaac ttcagtgcga tgattaaatt agatgacgga gacaaaggtg 60
 agatcaaata taiggaacaa ttgagtgaat attcgatgta tgaagattca gtgagtttgg 120
 tgatcaaagg ccatgatatt gagctagaaa 150
 <210> 49
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 49
 ctattccaat aaggatattt gttagcaata acatgaatat aatcttcaac aattctttga 60
 attttatctc tagaaaaact tgtgatattt ggcaagtaaa tatattgaac aatatatgca 120
 atactaattg gtataaaaaa gacatgagct 150
 <210> 50

<211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 50
 ctattccaat aaggatattt gttagcaata acatgaatat aatcttcaac aattctttga 60
 attttatctc tagaaaaact tgtgatattt ggcaagtaaa tatattgaac aatatatgca 120
 atactaattg gtataaaaaa gacatgagct 150

<210> 51
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 51
 ctatggccca aattcactcc aaccatcact aattcaaagc ccaatataag tcagataatc 60
 gaagaaagtt aagttccact caaatatgat atggatatgt ttggttattt tggcacagga 120
 atacatagtt cgagcccaaa gtaatgagtt 150

<210> 52
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 52
 ctatggccca aattcactcc aaccatcact aattcaaagc ccaatataag tcagataatc 60
 gaagaaagtt aagttccact caaatatgat atgtatatgt ttagtttttt tggcacatga 120
 atacatagtt caagcccaaa gtaatgagtt 150

<210> 53
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 53
 tttataacta tcttaatttt taaacttcat attaccactc catataataa tttaatatc 60
 aacattttgt tttcaaatta tgctctaatt tttttttact actataatat atagtagtgt 120
 atatgttttt tcaggatctc ataatcaatc 150

<210> 54
 <211> 152

<212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 54
 ttataacta tcttaatttt taaacttcat attaccactc catataatat ttaaatattc 60

 aacattttga tttcaaatta tgctctaatt gtttttttya ctactataat atatagtagt 120
 gtatatgttt tttcaggatc tcataatcaa tc 152
 <210> 55
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 55
 ttaaatattc aacattttgt tttcaaatta tgctctaatt tttttttact actataatat 60
 atagtagtgt atatgttttt tcaggatctc ataatcaatc ttgtgattat tttggccatt 120
 tttgcaaaga gggtaaaaaat ggaagatcat 150
 <210> 56
 <211> 152
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

 <400> 56
 ttaaatattc aacattttga tttcaaatta tgctctaatt gtttttttya ctactataat 60
 atatagtagt gtatatgttt tttcaggatc tcataatcaa tcttgtgatt attttggcca 120
 tttttgcaaa gagggtaaaa atggaagatc at 152
 <210> 57
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 57
 atgatgaatt ccttgattct ataticataa tagttgtcgt ttggatcctt caaaaattcc 60
 tccaagttta tgggtcggat ccttcaaac gtatcatttt tgcagaatcc aagcaacata 120
 gcttaactat gtattatfff ttgccaatag 150

 <210> 58
 <211> 150

<212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 58
 atgatgaatt ccttgattct atactcataa tagttgtcgt tcggatcctt taaaaattcc 60
 tccaagttta tgtgtcggat ccttcaaacc gtatcatttt tgcagaatcc aaacaacata 120
 gcttaactat gtattatttt ttgccaatag 150
 <210> 59
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 59
 tcgaatgtca aaagttacat gttccataca ggatcgactt ttagcagata ttcattccatc 60
 aaacaaacga ttctgactt agttgatgat gacgatgatc acgtcaagtt tatcaaggaa 120

 atgcaggatg agtttccatt actggaggca 150
 <210> 60
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 60
 tcgaatgtca aaagttacat gttccataca ggatcgactt ttagcagata ttcattccatc 60
 aaacaaacga ttctgactt agttgatgat gacgatgatc acgtcaagtt tatcaaggaa 120
 atgcaggatg agtttccatt actggaggca 150
 <210> 61
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 61
 gacaaatccc tgctgcatat aatgattggt ttaaaaaaga caagaaaata ctgggattt 60

 ttattttttt ttgagaaggt tgggttttat tatttttagca ttggttattc ctcttaaggc 120
 cttccacttc tccaactgcc aaataattga 150
 <210> 62
 <211> 150
 <212> DNA

<213> Solanum lycopersicum
 <400> 62
 gacaaatccc tgctgcatat aatgattggt ttaaaaaaga caagaaaata ctgggattt 60
 ttattttttt ttgagaaggt tgggttttat ttttttagca ttggttattc ctcttaaggc 120
 cttccacttc tccaactgcc aaataattga 150
 <210> 63
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 63
 atttacttaa gagaagtatg caaattattt aaaagggaaa atcaatcaac ctttattgat 60
 tgttacttta aaatatatgc aaaatcaacc tttaaaagat aaaatcaacc aacctttatt 120
 aattaggaat aatttaataa attatatata 150
 <210> 64
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 64
 atttacttaa aagaagtacg cggattattt aaaagggaaa atcaatcaac ctttattgat 60
 tgttacttta aaatatatgc aaaatcaacc ttttaaagag aaaatcaacc aacctttatt 120
 aattaggaat aatttaataa attatatata 150
 <210> 65
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 65
 ataaacacac ataaaaatat aattttgatc ttatatatat accgtgtaat ttctaccaa 60
 tccttagctc cgcctttgag tcccgatact tccaacatta agaaataaat gagactctag 120
 ttttagacat taataactac tccattaac 150
 <210> 66
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 66
ataaacacac ataaaaatat aattttgatc ttatatatat accgtgcaat ttctaccaa 60
tccttagctc cgcccatgag tcccgatact tccaacatta aaaaataaat gagactctag 120

ttttagacat taataactac tcccattaac 150

<210> 67
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 67
ttaatatttc ctgatgataa ctttctaact acggaattaa tctatgccac aggtgcaacc 60
tcgttcctgt ttacggaata ccagtatgtt ggtgttttca tggttgcttt tgcattactg 120
atctttctat tcctcggttc tgttgagggt 150

<210> 68
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 68
ttaatatttc ctgatgataa ctttctaact acggaattaa tctatgccac aggtgcaacc 60

tcgttcctgt ttacggaata ccagtatgtt ggtgttttca tggttgcttt tgcattactg 120
atctttctat tcctcggttc tgttgagggt 150

<210> 69
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 69
gacaaatccc tgctgcatat aatgattggt taaaaaaga caagaaaata ctgggattt 60
ttattttttt ttgagaagggt tgggttttat tatttttagca ttggttattc ctcttaaggc 120
cttccacttc tccaactgcc aaataattga 150

<210> 70
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 70
gacaaatccc tgctgcatat aatgattggt ttaaaaaaga caagaaaata ctgggattt 60
ttatTTTTTT ttgagaaggt tgggttttat ttttttagca ttggttattc ctcttaaggc 120
cttccacttc tccaactgcc aaataattga 150

<210> 71
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 71
agaagtatgc aaattattta aaaggaaaa tcaatcaacc tttattgatt gttactttaa 60
aatatatgca aaatcaacct ttaaaagata aaatcaacca acctttatta attaggaata 120
atTTAATAAA ttatatatat cttttataaa 150

<210> 72
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 72
agaagtacgc ggattattta aaaggaaaa tcaatcaacc tttattgatt gttactttaa 60
aatatatgca aaatcaacct tTAAAGAGA aaatcaacca acctttatta attaggaata 120
atTTAATAAA ttatatatat cttttataaa 150

<210> 73
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 73
catacacatt gaagtgatcg atgaccgatg cataataaca atgttgaatt aataccttct 60
caacaccttg gttacaggca tatatcaaag catcagcaag tgtgagccta ccctcagcat 120
cagtattggt aacctcaatt gtcttaccat 150

<210> 74
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum

<400> 74

catacacatt gaagtgatcg atgaccgatg cataataaca acgttgaatt aataccttct 60
caacaccttg gttacaggca tatatcaaag catcagcaag tgtgagccta ccctcagcat 120
cagtattggt aacctcaatt gtcttaccat 150
<210> 75
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 75
catatgtaag atggcaatat taggcatttt ataatcaat atctaagtct actagtgct 60
tttctttcc accattttca ccccaaattt attcataaaa acttgatgca aattcttttc 120
tcaaacatcc ataagtcctt tgagattaca 150
<210> 76
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 76
catatgtaag atggcaatat taggcatttt ataatcaat atctaagtct actagtgct 60
tttctttcc accattttca ccccaaattt attcataaaa acttgatgca aattcttttc 120
tcaaacatcc ataagtcctt tgagattaca 150
<210> 77
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 77
gtttgtataa aaaatattta cattatcgat gcatataaga taaaatgata gggttttcat 60
ttagaccact agattttctt gagcatatga caaaaataca cattaaatag aatttgcctt 120
gtgttatgtg tttccatag gtaagaattt 150
<210> 78
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 78
gtttgtataa aaaatattta cattatcaat gcatataaga taaaatgata gggttttcat 60

ttagaccact agattttctt gagcatatga caaaaataca aattaaatag aatttgcctt 120
 gtgttatgtg tttccatag gtaagaattt 150

<210> 79

<211> 150

<212> DNA

<213> Solanum lycopersicum

<400> 79

atgcatataa gataaaatga tagggttttc atttagacca ctagattttc ttgagcatat 60
 gacaaaaata cacattaaat agaatttgc ttgtgttatg tgtttccata tggtaagaat 120
 tttgtggagg cttttgcaga tgcagtaaaa 150

<210> 80

<211> 150

<212> DNA

<213> Solanum lycopersicum

<400> 80

atgcatataa gataaaatga tagggttttc atttagacca ctagattttc ttgagcatat 60
 gacaaaaata caaattaaat agaatttgc ttgtgttatg tgtttccata tggtaagaat 120

tttgtggagg cttttgtaga tgcagtaaaa 150

<210> 81

<211> 150

<212> DNA

<213> Solanum lycopersicum

<400> 81

tagtgtgtac gcaaacctt aaccctacct cagaaggcag agaagaggct gtttccaata 60
 aactaaacc taatgcagca cagtaaattt cccaacttta actactctac aagcaagaat 120
 cgatgaaaat tgacacaaaa actgttcaaa 150

<210> 82

<211> 150

<212> DNA

<213> Solanum lycopersicum

<400> 82

tagtgtgtac gcaaacctt aaccctacct cagaaggcag agaagaggct gtttccaata 60

aactaaacc taatgcagca cagtaaattt cccaacttta acaactctac aagcaagaat 120
 cgatgaaatt tgacacaaaa actgttcaaa 150
 <210> 83
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 83
 cagaaggcag agaagaggct gtttccaata aactaaacc taatgcagca cagtaaattt 60
 cccaacttta actactctac aagcaagaat cgatgaaatt tgacacaaaa actgttcaaa 120
 caactacata agcagaaaa acagcaagaa 150
 <210> 84
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 84
 cagaaggcag agaagaggct gtttccaata aactaaacc taatgcagca cagtaaattt 60
 cccaacttta acaactctac aagcaagaat cgatgaaatt tgacacaaaa actgttcaaa 120
 caactacata agcagaaaa acagcaagaa 150
 <210> 85
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 85
 ttaatatgg tggataata tattgtcatc gatcaatcat gcaaatgca gttgatcga 60
 tctttttga ctcgtaagta attattttc ctatggagag agggacttca agttcttaca 120
 aagagttagt gtaaatagt ttatgtatga 150
 <210> 86
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 86
 ttaatatgg tggataata tattgtcatc gatcaatcat gcaaatgca gttgatcga 60
 tctttttga ctcgtaagta attattttc ctatggagag agggacttca agttcttaca 120

aagagttagt gtaaaatagt ttatgtatga 150
 <210> 87
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 87
 agaaaaaaaa acaaaattac attaaacagt aagcattaaa acaacaatct caacaatggt 60
 tttttttttt tttagtcaaa tttgcactaa attctttgta cttactaaca agattttggt 120

aaccaagaa aaaagtttga gtaaaaaaaaa 150
 <210> 88
 <211> 149
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 88
 agaaaaaaaa caaaattaca ttaaacagta agcattaaaa caacaatctc aacaatgttt 60
 tttttttttt ttwktywwwt ttkcactaaa ttctttgtac ttactaaca gattttgttt 120
 acccaagaaa aaagcttgag ttaagaaaa 149
 <210> 89
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 89
 tttatagttt gtttcaaaaa gaacgtctct tttttaaatt cttttggcaa ttctatactt 60

ctaactttca ctaacatat ttaagtataa attttgagg attc gatgta gaagcatttt 120
 tgtagagact gagcaacata ggtctgcccg 150
 <210> 90
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 90
 tttatagttt gtttcaaaaa gaacgtcget tttttaaatt cttttggcaa ttctataatt 60
 ctaactttca ctaacatat ttaagtataa attttgagg attc gatgta gaagcatttt 120
 tgtagagact gagcaacata ggtctgcccg 150

<210> 91
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 91
 tagcttttgc ctagtccccg acactcctat atgtaccaac ctcaaccagc cegagctggt 60
 caccaacca accgtttctc ctccaaattc aatTTTTTTT tctctctcac actcactata 120
 cttcactctc tttctctctc caaaactcca 150

<210> 92
 <211> 151
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <220><221> misc_feature
 <222> (150)..(150)
 <223> This nucleotide may be absent

<400> 92
 tagcttttgc ctagtccccg acactcctat atgtaccaac ctcaaccagc cegagctggt 60
 caccaacca accgtttctc ctccaaattc aatTTTTTTT tctctctcac actcactata 120

 cttcactctc tttctctctc caaaactcca a 151

<210> 93
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 93
 ccatatttat ctttgtcaag aacattgttc cccaatactg tttgagaaaa aaataagcac 60
 gaagatggat tcTTTTTaca tgacgtacat ggaaaaatac atatttggat tcctcttgag 120
 aattaatagt tgaagttagc tatctgattt 150

<210> 94
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 94

ccatatttat ctttgtcaag aacattgttc cccaatactg tttgagaaaa aaataagcac 60

gaagatggat tctttttaca tgacgtacat ggaaaaatac atatttggat tcctcttgag 120
aattaatagt tgaagttagc tatctgattt 150

<210> 95
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 95

ggctttcagc catgctgttg ctgcttgcct ttctgactgg agtatggaag gtaagttgtt 60
ttctgtcact attaatcaac cgttgggtga tgcttctgtt gataatctta gagctttact 120
atctgtgaag aaccctcttg tgctcaacgg 150

<210> 96
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 96

ggctttcagc catgctgttg ccgcttgcct ttctgactgg agtatggaag gtaagttgtt 60
ttctgtcact attaatcaac cgttgggtga tgctgctgtt gataatctta gagctttact 120
atctgtgaag aatcctcttg tgctcaacgg 150

<210> 97
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 97

aagtcgaaca agttccatgg acatttaagt agtaggaaga agttttactt tcccaagttg 60
cggatttttg atctctcttg taacaaattt agcggctcac tacctgcaag actttttgag 120
aacttcagtg cgatgattaa attagatgac 150

<210> 98
<211> 150
<212> DNA
<213> Solanum lycopersicum
<400> 98

aagtcgaaca agttccatgg acatttaagt agtaggaaga agttttactt tcccaagttg 60
 cggatttttg atctctcttg taacaaattt agcggctcac tacctgcaag actttttgag 120
 aacttcagtg cgatgattaa attagatgac 150
 <210> 99
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 99
 aatcaacact attatgacaa cgatagatct ctcaagcaac cattttgaag gtgtcattcc 60
 gaaatcacta aaggatctca gctcacttcg gttactcaat ttatcccgta acaatctcaa 120

 aggtgatatt ccaatcgaat tgggacaatt 150
 <210> 100
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 100
 aatcaacact attatgacaa cgatagatct ctcaagcaac cattttgaag gtgtcattcc 60
 gaaatcacta aaggatctca gctcacttcg gttactcaat ttatcccgta acaatctcaa 120
 aggtgatatt ccaatcgaat tgggacaatt 150
 <210> 101
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 101
 cattaggatg tgaagctaaa aaatgtctat ttttactttc catttcacca atgaaatgac 60

 cttcaattgc atatataattt ttcatgggic cattgtgtat cattgggtata tctccttctt 120
 tgtatgtcca cactttgaat ctctttaaca 150
 <210> 102
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 102
 cattaggatg tgaagctaaa aaatgtctat ttttactttc catttcacca atgaaatgac 60

cttcaattgc atatataatt ttcattgggc cattgtgtat cattgggata tctccttctt 120
 tgtatgtcca cactttgaat ctctttaaca 150
 <210> 103
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 103
 gattgatcac catagaactt gctctaaatc cgtctcagac tatacgtaac tctctgtaaa 60
 taacaagtta ttgttcctat atgtatcaaa catatatcac accattatcc ctctttctatc 120
 tattatgaca tccgaatcga gtcctgtatt 150
 <210> 104
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 104
 gattgatcac catagaactt gctctaaatc cgtctcagac tatacataac tcttcgtaaa 60
 taacaagtta ttgttcctat atgtatcaaa catatatcac atcattatcc ctctttctatc 120
 tattatgaca tccgaatcga gtcctgtatt 150

<210> 105
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 105
 ccaatgatcg ataaagc 17
 <210> 106
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

<400> 106
 tgattcacca actcatatag 20
 <210> 107
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Solanum lycopersicum
 <400> 107
 actgcagacg ttctta 16
 <210> 108
 <211> 19
 <212> DNA
 <
 213> Solanum lycopersicum
 <400> 108
 caattattgt tgtaaattt 19
 <210> 109
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 109
 caaccaatga taaagc 16
 <210> 110
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 110
 attcaccaac taatatag 18
 <210> 111
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 111

 ctgcagacat tctta 15
 <210> 112
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 112
 caattattgt tgaattt 18

<210> 113
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 113
 gtgtttaata actaagcacc cttcgttt 28
 <210> 114
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 114
 gggaaggatg tagaaactgg acttt 25

 <210> 115
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 115
 ttgtgtggct ataaatcat ctcaatgaga 30
 <210> 116
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 116
 ttgcttctga tattacaccg tccaa 25
 <210> 117
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 117
 tggctacact tgttccatct aggta 25
 <210> 118
 <211> 34
 <212> DNA
 <

213> Solanum lycopersicum
 <400> 118
 gtaagcaggt cattcttaac ttataactaat aaat 34
 <210> 119
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 119
 tctccattta tgtggcaciaa ttcca 25
 <210> 120
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum
 <400> 120
 agctaacagg ctgcaattaa cctt 24