

석사학위논문

온주밀감 미숙과실의 cDNA 라이브러리  
제작 및 유전자 발현양상 분석



제주대학교 대학원

농 화 학 과

김 대 운

2003년 7월

# 온주밀감 미숙과실의 cDNA 라이브러리 제작 및 유전자 발현양상 분석

지도교수 류 기 중

김 대 운

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2003년 7월

김대운의 농학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 \_\_\_\_\_(인)

위 원 \_\_\_\_\_(인)

위 원 \_\_\_\_\_(인)

제주대학교 대학원

2003년 7월

Construction of a cDNA Library from Young Fruits of  
Satsuma Mandarin and Analysis of  
Gene Expression Profiles

Dae-Woon Kim

(Supervised by professor Key-Zung Riu)



A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement  
for the degree of Master of Science

2003. 7.

Department of Agricultural Chemistry  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

# 목 차

## Abstract

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| I. 서 론 .....                  | 1  |
| II. 재료 및 방법 .....             | 3  |
| 1. 식물재료 .....                 | 3  |
| 2. cDNA 라이브러리 제작 .....        | 4  |
| 3. 염기서열 결정 및 unigene 분석 ..... | 6  |
| 4. 유전자 기능 추정 .....            | 8  |
| III. 결과 및 고찰 .....            | 10 |
| 1. 유전자 라이브러리의 개요 .....        | 10 |
| 2. Unigene의 종류 .....          | 11 |
| 3. 유전자들의 기능 .....             | 12 |
| 4. 생리기능 카테고리별 유전자 분포 .....    | 28 |
| 5. 주요발현유전자 .....              | 36 |
| IV. 요약 .....                  | 46 |
| V. 참고문헌 .....                 | 48 |

## List of tables

|   |    |
|---|----|
| Table 1. Summary of 2350 clones in cDNA library of immature fruits of satsuma mandarin .....            | 10 |
| Table 2. Levels of homology of 377 putative function unigenes matched to GenBank protein database ..... | 13 |
| Table 3. Functions of 291 singletons matched to GenBank protein database ·                              | 14 |
| Table 4. Functions of 86 contigs matched to GenBank protein database .....                              | 25 |
| Table 5. Distribution of singletons in the categories of known plant gene in GenBank entries .....      | 31 |
| Table 6. Distribution of contigs in the categories of known plant gene in GenBank entries .....         | 34 |

## List of figures

|  |    |
|--|----|
| Figure 1. Plant materials used for cDNA library construction .....   | 3  |
| Figure 2. Overall procedure to construct full length cDNA library .....  | 5  |
| Figure 3. The structure of pCR4-TOPO vector map .....  | 6  |
| Figure 4. CAP3 tool for clustering of cDNA clones to determine unigene .....   | 7  |
| Figure 5. BLASTX tool for searching similarity sequence of unigenes to<br>GenBank protein database .....   | 8  |
| Figure 6. An example of similarity search of a unigene sequence by BLASTX ..   | 9  |
| Figure 7. Results of clustering the 2350 clones with CAP3 program .....  | 11 |
| Figure 8. Distribution of singletons, contigs and whole unigenes classified by<br>BLASTX program of NCBI .....   | 13 |
| Figure 9. Taxonomic distribution of singletons matched to various organisms ·  | 29 |
| Figure 10. The frequency of 294 unigenes in each functional category of<br>known plant gene in GenBank entries .....   | 30 |
| Figure 11. Multialignment of amino acid sequence of chitinase and<br>4 type putative chitinase using GeneDoc program .....   | 38 |
| Figure 12. Multialignment of amino acid sequence of citrus 2 type miraculin and<br>7 type putative miraculin using GeneDoc program .....   | 40 |
| Figure 13. Multialignment of amino acid sequence of citrus lectin and<br>3 type putative lectin using GeneDoc program .....  | 42 |
| Figure 14. Multialignment of amino acid sequence of plant chlorophyll A/B binding protein<br>and putative chlorophyll A/B binding protein using GeneDoc program .....                                | 44 |
| Figure 15. Multialignment of amino acid sequence of plant Ribulose bisphosphate<br>carboxylase small chain and putative Ribulose bisphosphate carboxylase<br>small chain using GeneDoc program ..... | 45 |

## Abstract

A cDNA library of 'Nichinan 1 Gou' satsuma mandarin (*C. unshiu* Marc.) was constructed from young fruits and the profiles of expressed genes were analyzed. The total mRNA was isolated from whole fruits including peel and pulp 30 days after flowering. The full length cDNA library was prepared from mature mRNAs with both 5'cap and polyA tail, and total 2350 cDNA clones were obtained. The partial sequences of these clones were determined by an automatic DNA sequencer, and the average length of readable sequence of the cDNAs was 360 base pair.

The result of cluster analysis of these partial sequences with CAP3 sequence assembly program showed that 662 clones were found to be singletons, and the other 1688 clones were clustered into 145 contigs. Therefore the number of unigene with unique sequence was 807. According to the homology search with BLASTX against NCBI database, the 377 unigenes were highly homologous to known genes and functions of the other 430 unigenes were unknown. Among the unknown 430 unigenes, 159 unigenes had homology with some peptides in NCBI database, however the functions of the peptides were unknown. The other 271 unigenes had no homology with any other peptide in NCBI database, therefore these seemed to be novel genes expressed in young fruits of satsuma mandarin.

The functions of 294 unigenes among the 377 known genes were reported in plants, while the other 83 unigenes had no matches to plant genes in GenBank entries. When these known unigenes classified into 14 functional categories of *Arabidopsis thaliana* as defined by MIPS Ortholog Database, the numbers of unigenes related to "protein synthesis", "metabolism", "energy", "cell rescue, defense, cell death and ageing", "transcription", "protein destination", "cellular organization", "cellular communication/signal transduction", "transport facilitation", "development", "cell growth, cell division and DNA synthesis", "cellular biogenesis", "cellular

transport and transport mechanisms", "unclassified proteins" were 42, 35, 29, 23, 18, 17, 15, 12, 10, 7, 5, 5, 5, and 71, respectively.

The frequency of gene expression was analyzed on the basis of the number of cDNA clone belong to each unigene. The most abundant class of genes expressed in young fruits of satsuma mandarin was chitinase that is similar to two chitinase genes in GenBank. The 171 clones of cDNA were homologous to two known chitinase genes, which were categorized into 5 types according to the difference of their base sequences. Miraculin and lectin were the other two highly expressed genes. The 152 clones of cDNA were homologous to two classes of miraculins, which were categorized into 7 types, and 99 cDNA clones were homologous to one class of lectin gene, which were further categorized into 3 types. These three kinds of highly expressed genes, chitinases, miraculins and lectin, seemed to play important roles in early developmental stage of citrus fruits.



**Key words:** *Citrus unshiu*, young fruit, cDNA library, gene expression profile, singleton, contig, unigene, chitinase, lectin, miraculin



## I. 서론

우리나라 감귤(satsuma mandarin (*C. unshiu*))의 99% 이상이 제주에서 재배되고 있으며, 그 중 98%가 온주밀감(溫州蜜柑)이 차지하고 있어 국내 감귤농업은 온주밀감 재배가 전부라고 할 수 있다. 감귤은 제주도 농업에서 가장 큰 비중을 차지하는 작물로서 연간 조수입이 약 5000억원 규모로 경제적으로 매우 중요한 작물일 뿐만 아니라 약리활성을 가진 물질이 많아 의약이나 기능성 식품의 자원식물로서도 가치가 크다. 그러나 최근 관광산업과 더불어 제주도의 소득창출의 기반을 이루고 있었던 감귤산업은 90년대에 들어 농산물 수입이 개방되면서 큰 타격을 받고 있고, 재배면적의 확대에 따른 과잉생산, 오렌지 및 농축액의 수입에 따른 수요의 격감 등으로 인한 감귤 가격의 불안정으로 지금 기로에 서 있다고 볼 수 있다. 이러한 감귤의 가격 불안정을 막고 소비를 원활히 하기 위해서는 적정생산이 무엇보다 중요하겠지만 그에 못지않게 소비자 기호에 맞는 감귤을 생산하는 것이 필요하기 때문에, 감귤의 품질향상을 위한 신품종 개발 및 감귤에 함유되어 있는 약리활성 또는 기능성 물질을 이용한 바이오산업 활성화가 요구되고 있다.

제주에서 재배되고 있는 감귤은 대부분 일본에서 도입된 품종들이며 품종개량은 아조변이를 선발하여 접목하는 방법을 주로 이용하여 왔으나, 최근 분자생물학적 신품종 개발 기술이 급속도로 발전함에 따라 감귤의 신품종개발 또한 분자생물학적 기법을 이용하려는 연구들이 많이 진행되고 있다. 특히 내충성, 내병성, 내한성 및 당도 증진 관련 유전자들을 이용하여 제주 환경에서 재배하기 용이하고 고품질의 과실을 생산할 수 있음은 물론 생산비용도 절감할 수 있는 신품종을 개발하려는 시도가 많이 이루어지고 있다. 또한 감귤의 약리활성 또는 기능성 물질을 대량생산하기 위하여 대사제어 등의 생물 공학적 기법을 이용하려는 연구도 많이 진행되고 있는데 그러기 위해서는 감귤의 유전자 정보를 알아내는 것이 무엇보다도 중요하다(최, 2002).

현재 감귤에 대한 분자유전학적 연구 현황을 보면, 오렌지 유전자는 주로 미국에서 연구 개발되고 있고 온주밀감 유전자는 일본에서 연구 개발되고 있다. 2002년 7월까지 GenBank에 등록된 감귤 유전자는 오렌지가 2500개, 온주밀감이 1300개 규모인데 이들

대부분은 부분유전자에 관한정보이고 완전유전자는 오렌지가 30개, 온주밀감이 40개 규모에 지나지 않아 감귤유전자 전체에 관한 연구는 아직 시작단계에 있다고 볼 수 있다. 온주밀감의 성숙과실에서 발현되는 유전자의 EST(Expressed Sequence Tag) 정보는 이미 일본 연구자들에 의해 분석되어 있어서 과실 성숙기의 유전자에 대한 정보는 어느 정도 알려져 있다(Takaya 등 1998). 그러나 과실 분화 및 성숙과정에서 유전자의 생리적인 기능이나 발현양상을 분석하기 위해서는 분화 및 성숙과정의 과실에 대한 유전자의 정보 또한 필요하다고 할 수 있다.

최근에는 자동염기서열분석장치를 이용하여 단시간 내에 대량의 유전자 분석이 가능해짐에 따라 주요 동·식물의 특정 기관이나 성장 단계별 EST분석이 성행하고 있다. 이 EST는 일반적으로 poly (A)<sup>+</sup> RNA로부터 얻어진 150 bp 이상의 cDNA 단편 염기서열을 일컬으며, 'single-pass sequence reads' 방식으로 얻어진 각 클론에 대한 부분염기서열은 대개 300~500 bp 정도로 짧다(Adams 등 1991), (Boguski 등 1993), (Dirk와 Skinner, 2001). 이러한 EST는 발현된 유전자의 exon 부위만을 포함하기 때문에 게놈 염기서열의 주석, 발생 단계별 또는 특정 조직에 관련된 유전자의 선별 및 분석에 효과적으로 이용된다(Adams 등 1991), (Uchimiya 등 1992), (Boguski 등 1993), (Park 등 1993), (Joseph 등 2000).

EST 또는 기타 부분유전자는 분자유종이나 유용물질의 생산에 직접 이용할 수 없으며 부분유전자 정보를 이용하여 다시 전체유전자를 클로닝하여 사용해야 한다는 단점이 있다. 그러므로 최근에는 식물에서 발현되는 mRNA 중 5'-cap과 polyA tail을 가진 mature mRNA만을 선택적으로 선별하고 cDNA를 합성하여 유전자를 클로닝하는 방법이 많이 이용되고 있다. 이 방법은 full length cDNA를 얻을 수 있기 때문에 이 cDNA를 직접 분자유종, 분자생물학, 분자유전학 관련 분야의 연구에 활용할 수 있다는 장점이 있다.

본 연구는 감귤의 분자생물학적 연구의 기초 자료를 제공할 목적으로 온주밀감 미숙 과실의 full length mRNA로부터 cDNA를 합성하여 라이브러리를 구축하였으며 각 클론에 대한 부분염기서열을 토대로 유전자의 기능을 추정하였고 과실 분화에 관련된 유전자들의 발현양상을 분석하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물재료

cDNA library 제작에 사용된 온주밀감 미숙과실은 흥진조생의 아조변이인 일남1호 (Nichin 1 Gou' satsuma mandarin (*C. unshiu* Marc.))에서 만개 후 한달이 지난 것을 채취하였으며, 이 때 과실의 크기는 직경 약 10 mm 이었다(Figure 1B). 채취한 과실은 즉시 액체질소로 급속냉동한 후 -80℃에 보관하며 사용하였다.



A



B

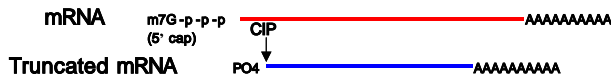
Figure 1. Plant materials used for cDNA library construction. (A) Mature fruits of Nichin 1 Gou' satsuma mandarin (*C. unshiu* Marc.). (B) Young fruits used as a gene source which collected 30 days after flowering.

## 2. cDNA 라이브러리 제작

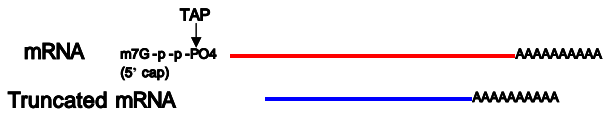
cDNA 라이브러리는 Figure 2에서 보는 것과 같은 방법으로 제작하였다. 먼저 과실에서 분리된 전체 mRNA에 calf intestine phosphatase(CIP)를 처리하여 완전전사체가 아닌 것들로부터 인산기를 제거하고 tobacco acid pyrophosphatase(TAP)를 이용하여 5'-cap과 polyA tail을 가진 mature mRNA의 cap 구조를 제거하였다. RNA ligase를 이용하여 oligomer를 5' 말단에 붙여준 후 역전사하여 full length cDNA를 합성하고 이를 PCR로 증폭하였다. 이러한 과정을 거침으로써 mature mRNA로부터 full length cDNA를 선택적으로 합성하였다. PCR은 denaturation을 94℃에서 30초간, annealing을 65℃에서 30초간, extension을 68℃에서 1분간으로 하여 총 30 cycle을 수행하였다. PCR 산물을 pCR4-TOPO(Invitrogen) 벡터(Figure 3)에 ligation 시켜 대장균 TOP10(Invitrogen)에 형질전환 시킨 후 배양하여 클론을 획득하였다.



1. Treat with CIP to remove the 5' phosphate



2. Treat with tobacco acid ptyrophosphatase (TAP) to remove the 5' cap



3. Ligate the RNA oligo to the 5' end of mRNA



4. Reverse-transcribe the ligated mRNA using oligo dT(N)36 primer



5. Amplify using 5' end and 3' end primer

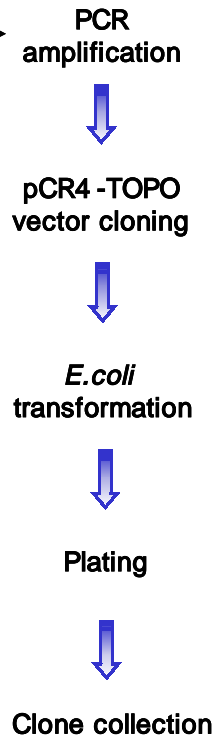


Figure 2. Overall procedure to construct full length cDNA library.



Figure 3. The structure of pCR4-TOPO vector map.

### 3. 염기서열 결정 및 unigene 분석

온주밀감 미숙과실의 mature mRNA에서 얻어진 full length cDNA 클론 각각의 염기서열은 자동 대량 염기서열분석시스템(ABI PRISM 3700 DNA Analyzer)을 이용하여 ‘single-pass sequence reads’ 방식으로 분석하였다. 유전자들은 universal primer를 이용하여 PCR로 증폭하였으며, 이 과정에서 서로 다른 형광물질이 부착된 4종류의 염기 중 하나가 증폭산물의 말단 결합 되도록 하였고, 반응산물을 capillary 컬럼이 장착된 자동 대량 염기서열분석시스템에 loading하여 길이에 따라 분리하였다. 분리된 반응산물들을 레이저로 감지한 후 각각의 신호를 염기서열 데이터로 변환하여 각 cDNA 클론의 염기서열을 분석하였으며 분석되어진 염기서열 중 high quality 서열을 트리밍

과 벡터 염기서열 제거과정을 거쳐 선발하여 클론의 부분염기서열정보로 수집하였다.

부분염기서열 정보를 토대로 전체 클론을 CAP3 Sequence Assembly Program (<http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3>) (Figure 4)을 이용하여 그룹화 한 후 고유염기서열을 가진 유전자(unigene)를 분석하였다(Huang과 Madan, 1999).

CAP3 프로그램은 그룹화를 수행하여 염기서열들을 모은 후 각 cluster내의 서열들을 consensus서열로 배열하게 된다. 그 결과, 그룹화 된 유전자들은 consensus서열로 contig (contiguous)를 형성하고 그룹화 되지 않은 유전자들은 single sequence로 singleton을 형성한다. 따라서 분석하고자 하는 염기서열들을 FASTA 형식으로 변환한 후 Figure 4 에서와 같이 입력하고 “SUBMIT”단추를 누른 후 contigs, single sequences, assembly details에 대한 자료를 얻었으며, 유전자의 일부분이 결정된 이들 서열끼리의 최소 중복 되는 관계를 가지는 서열을 한 cluster로 묶음으로 해서 동일 유전자를 동정하여 unigene 을 선발하였다.

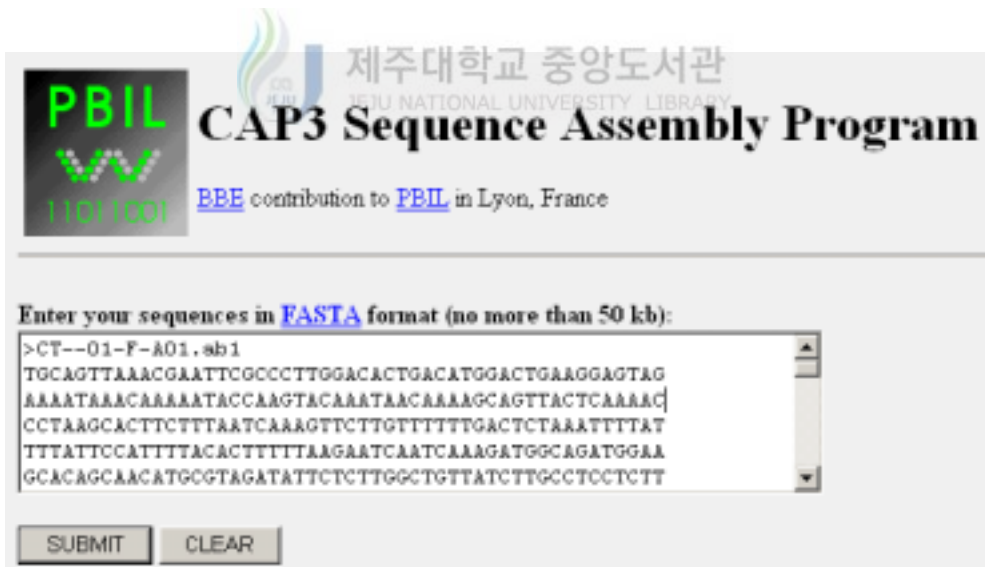


Figure 4. CAP3 tool for clustering of cDNA clones to determine unigene.

#### 4. 유전자 기능 추정

선발된 unigene에 대한 기능을 추정하기 위하여 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)의 BLASTX(Basic Local Region Alignment Search Tool) 프로그램을 이용하여 염기서열에 해당하는 단백질서열로 상동성을 조사하였다(진, 1995), (Joseph 등 2000), (Shabaan 등 2003). BLASTX 프로그램 사용 방법은 Figure 5와 같이 염기서열 입력창에 분석하고자 하는 염기서열을 FASTA 형식으로 변환한 후 입력하여 "BLAST!" 단추를 누른 다음 프로그램상의 확인창이 뜨면 "Format!" 단추를 누른 후 나타나는 결과창에서 상동성이 있는 것으로 나타난 유전자들의 정보 및 상동성 정도를 확인하였다.

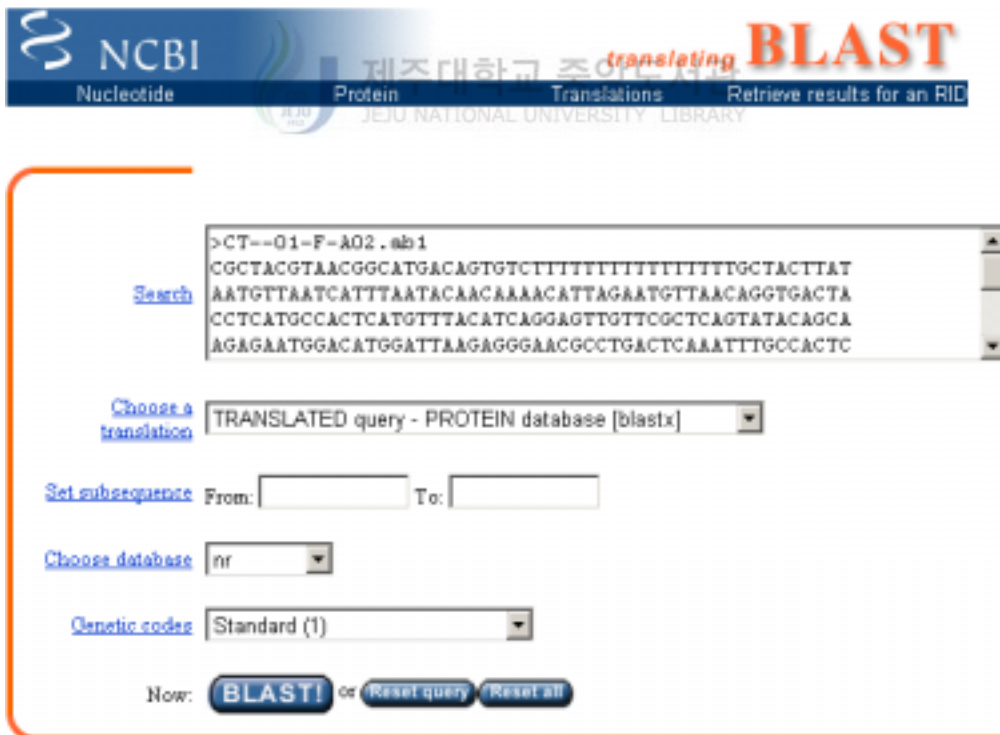


Figure 5. BLASTX tool for searching similarity sequence of unigenes to GenBank protein database.



검색 결과 상동성이 있는 것으로 확인된 유전자의 기능들(Figure 6) 중에서 가장 높은 상동성을 보이는 유전자의 기능을 그 유전자에 대한 기능으로 추정하였고, 추정된 기능을 알파벳순으로 나열하였으며, accession number, definition of putative homologue, organism, matching percent, matching length 및 E-value에 대한 정보들을 정리하였다(Dirk와 Skinner, 2001), (Lei 등 2001), (Dale 등 2002).

```

 >gi|15241766|ref|NP_201035.1| expressed protein [Arabidopsis thaliana]
gi|8809542|dbj|BAAS7193.1| gene_id:NM19.12-unknown protein [Arabidopsis thali
gi|21594704|gb|AA056035.1| unknown [Arabidopsis thaliana]
gi|25453014|db|EAC43583.1| unknown protein [Arabidopsis thaliana]
gi|28973049|gb|AA053849.1| unknown protein [Arabidopsis thaliana]
Length = 229

Score = 66.2 bits (160), Expect = 9e-11
Identities = 33/56 (58%), Positives = 38/56 (67%), Gaps = 1/56 (1%)
Frame = -3

Query: 396 GTGEDPGWHFFQDPTNPIGHSNGDNDLANNVLRLOINDQRFEDAEEEMEGENES-DH 232
      G +D W Q PT+ IGHSNGD L +L LOINDQRFEDAEEEM E+E+ DH
Sbjct: 174 GGDDDAEWQISQSPTSVI GHSNGDEGLNQPMLLELOINDQRFEDAEEEMVHESETKDH 229
  
```



Figure 6. An example of similarity search of a unigene sequence by BLASTX.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 유전자 라이브러리의 개요

은주밀감 미숙과실의 cDNA library를 제작하기 위하여 5'-cap과 polyA tail을 가진 mature mRNA로부터 cDNA를 선택적으로 합성한 후 벡터에 클로닝하여 얻은 전체 클론은 2350개 이었다. 각각의 클론에 대한 염기서열을 자동 대량 염기서열분석시스템으로 분석하여 얻어진 전체 클론의 평균 염기서열은 360 bp 이었으며, 전체 클론을 singleton과 contig로 분류하였을 때 평균 염기서열은 각각 416, 534 bp 이었다(Table 1).

분석되어진 2350개 클론의 평균 염기서열이 singleton과 contig의 평균 염기서열보다 작은 것은 unigene 선발시 대부분의 짧은 염기서열이 contig의 consensus서열로 그룹화 되어 배제되었기 때문이었다(Huang과 Madan, 1999).

상동성 조사에는 2350개 클론의 염기서열 중 singleton과 contig 즉, unigene 만을 사용하였기 때문에 몇몇 작은 염기서열의 클론을 제외하고는 전반적으로 NCBI의 BLASTX 프로그램으로 상동성을 조사하여 기능을 추정하기에 충분한 분석결과를 나타내었다(Dirk와 Skinner, 2001), (Franco 등 1995).

Table 1. Summary of 2350 clones in cDNA library of immature fruits of satsuma mandarin

(unit : base)

| Sequence length          | Average | Maximum | Minimum |
|--------------------------|---------|---------|---------|
| Total                    | 360     | 568     | 26      |
| 662 singleton of unigene | 416     | 554     | 26      |
| 145 contig of unigene    | 534     | 1095    | 88      |

## 2. Unigene의 종류

mRNA로부터 합성된 cDNA 클론의 수는 mRNA의 종류 뿐만 아니라 특정 유전자의 전사정도에 따라 달라지므로 발현되는 유전자의 종류를 알기 위해서는 고유한 염기서열을 가진 cDNA 클론의 unigene 수를 알아야 한다. 그러므로 전체 클론 2350개에 대한 부분염기서열을 CAP3 프로그램으로 clustering 하여 unigene을 선발하였다(Huang과 Madan, 1999). 그 결과, 662개는 singleton 이었고, 나머지 1668개는 145개의 contig를 형성하는 것으로 나타나 전체 클론 중 unigene은 807개로 확인되었다(Figure 7).

Singleton을 형성한 유전자들은 contig를 형성한 유전자에 비해 낮은 수준에서 전사된 유전자들이라고 할 수 있으며, 따라서 이들 유전자들은 온주밀감 미숙과실의 발육에 있어 기초적인 대사에 관여하는 유전자들이라 할 수 있는데 unigene의 약 82%가 여기에 포함되는 것으로 나타났다. 그러나 contig를 형성한 유전자들은 2개 이상의 클론들이 중복되어 클로닝 된 것들이기 때문에 singleton 보다 높은 수준으로 전사된 유전자들이라 할 수 있다(Joseph 등 2000). 그러므로 온주밀감 미숙과실의 unigene 중 약 18%에 해당하는 contig들은 온주밀감 미숙과실의 중요한 생리작용과 관련된 유전자들이라고 생각되었다.

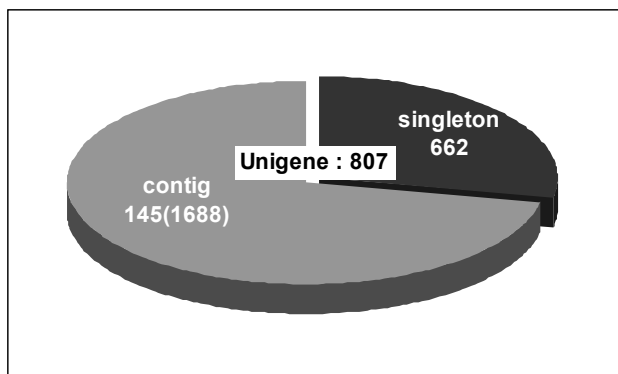


Figure 7. Results of clustering the 2350 clones with CAP3 program.

### 3. 유전자들의 기능

선발된 unigene 807개의 기능을 추정하기 위하여 NCBI의 BLASTX 프로그램을 이용하여 GenBank에 등록된 유전자들과의 상동성을 조사한 결과, 662개 singleton 중 291개와 145개 contig 중 86개가 GenBank에 등록된 기능이 알려진 유전자들과 상동성이 있는 것으로 조사되어 기능을 추정할 수 있었다. 그리고 singleton 중 137개와 contig 중 22개는 유전자는 등록되어 있으나 기능이 알려져 있지 않은 유전자들과 상동성이 있는 것으로 조사되었고, 그 외의 singleton 234개와 contig 37개는 아직까지 GenBank에 등록되지 않은 novel 유전자인 것으로 조사되었다(Joseph 등 2000). 따라서 807개의 unigene 중 기능이 추정되는 유전자는 377개, 현재까지 기능이 추정되지 않은 유전자와 상동성이 있는 것으로 나타난 것은 159개 그리고 GenBank에 등록된 유전자와는 전혀 상동성을 나타내지 않은 것은 271개 이었다(Figure 8).

기능이 추정된 singleton 291개와 contig 86개의 상동성 조사 결과는 각각 Table 3와 4에 나타내었다.

일반적으로 상동성 수준은 E-value로 평가하는데 그 기준은 연구자들마다 조금씩 다르다. 본 연구에서는 Table 2에 제시한 E-value를 기준으로 상동성 수준을 분석하였다. 그 결과, singleton은 약 70% 정도가 높은 상동성을 나타내는 반면 contig에서는 대부분 높은 상동성을 나타내는 것이 확인되었다.

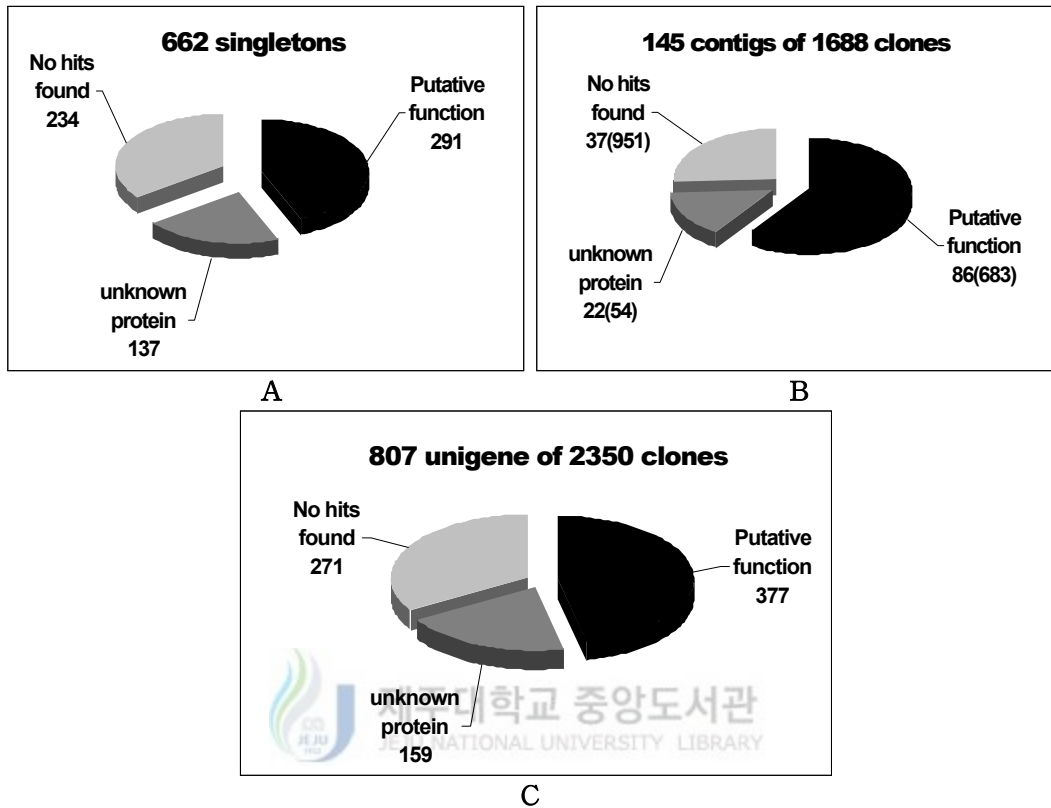


Figure 8. Distribution of singletons, contigs and whole unigenes classified by BLASTX program of NCBI. (A) Singletons (B) Contigs (C) Whole unigenes

Table 2. Levels of homology of 377 putative function unigenes matched to GenBank protein database

| Levels of homology                       | Singleton        |                 | Contig                             |                 | Total                               |                 |
|--|------------------|-----------------|------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------|
| Strong(E-value < $10^{-10}$ )            | 141 <sup>a</sup> | 49 <sup>b</sup> | 78 <sup>a</sup> (663) <sup>c</sup> | 91 <sup>b</sup> | 219 <sup>a</sup> (882) <sup>c</sup> | 58 <sup>b</sup> |
| Good(E-value : $10^{-10} \sim 10^{-5}$ ) | 59               | 20              | 5(13)                              | 6               | 64(77)                              | 17              |
| Similar(E-value > $10^{-5}$ )            | 91               | 31              | 3(7)                               | 3               | 94(101)                             | 25              |
| Total                                    | 291              | 100             | 86(683)                            | 100             | 377(1060)                           | 100             |

a : The number of unigene, b : Percentage, c : The number of clone.

Table 3. Functions of 291 singletons matched to GenBank protein database

Similarity to known plant gene in GenBank entries

| Clone            | Accession number | Definition of putative homologue  | Organism                | Matching (%) | Matching (Length) | E-Value    |
|------------------|------------------|---|-------------------------|--------------|-------------------|------------|
| CT--02-F-N04.ab1 | NP_197415        | Aluminium-induced protein - like  | Arabidopsis thaliana    | 44           | 45                | 0.00085726 |
| CT--02-F-E22.ab1 | T09552           | Annexin   | Medicago sativa         | 71           | 100               | 2.22E-33   |
| CT--03-F-I21.ab1 | BAA75306         | Anthocyanidin synthase  | Ipomoea batatas         | 38           | 119               | 4.68E-18   |
| CT--02-F-L10.ab1 | AAG50629         | AP2 domain containing protein RAP2.1  | Arabidopsis thaliana    | 72           | 50                | 7.43E-11   |
| CT--01-F-I01.ab1 | Q41000           | ATP synthase delta' chain, mitochondrial precursor                            | Pisum sativum           | 82           | 44                | 5.86E-12   |
| CT--04-F-N07.ab1 | NP_564761        | Auxin-induced protein, putative   | Arabidopsis thaliana    | 53           | 36                | 0.0272456  |
| CT--05-F-B04.ab1 | NP_564761        | Auxin-induced protein, putative   | Arabidopsis thaliana    | 47           | 58                | 6.85E-05   |
| CT--04-F-D13.ab1 | AAB71969         | Highly similar to auxin-induced protein                                       | Arabidopsis thaliana    | 38           | 58                | 0.00114426 |
| CT--02-F-P05.ab1 | NP_566239        | Auxin-regulated protein   | Arabidopsis thaliana    | 74           | 42                | 2.74E-10   |
| CT--04-F-A18.ab1 | NP_566319        | Auxin-regulated protein   | Arabidopsis thaliana    | 95           | 43                | 4.51E-17   |
| CT--04-F-G08.ab1 | NP_177904        | Avr9 elicitor response protein, putative                                      | Arabidopsis thaliana    | 38           | 52                | 0.0534988  |
| CT--07-F-A11.ab1 | CAA65637         | Basic peroxidase homologue  | Allium cepa             | 94           | 17                | 0.0928019  |
| CT--02-F-L06.ab1 | BAA82637         | Beta-tubulin  | Zinnia elegans          | 98           | 42                | 2.28E-18   |
| CT--03-F-O08.ab1 | NP_200632        | Bis(5'-adenosyl)-triphosphatase-like; also similar to fragile histidine triad | Arabidopsis thaliana    | 75           | 44                | 2.24E-12   |
| CT--05-F-C11.ab1 | NP_200632        | Bis(5'-adenosyl)-triphosphatase-like; also similar to fragile histidine triad | Arabidopsis thaliana    | 55           | 33                | 0.0416569  |
| CT--07-F-D21.ab1 | 2119166A         | Caffeic acid O-methyltransferase  | Stylosanthes humilis    | 50           | 34                | 0.0928019  |
| CT--03-F-M11.ab1 | Q43095           | Caffeoyl-CoA-methyltransferase  | Populus tremuloides     | 76           | 75                | 9.00E-25   |
| CT--02-F-C09.ab1 | NP_195131        | Caffeoyl-CoA O-methyltransferase - like protein                               | Arabidopsis thaliana    | 80           | 61                | 2.24E-21   |
| CT--02-F-A18.ab1 | P48976           | Calmodulin  | Malus x domestica       | 43           | 58                | 2.13E-06   |
| CT--01-F-C10.ab1 | NP_200991        | Carbonyl reductase - like protein   | Arabidopsis thaliana    | 41           | 79                | 2.09E-08   |
| CT--02-F-G17.ab1 | AAD17935         | Catalase  | Brassica juncea         | 84           | 43                | 6.25E-16   |
| CT--05-F-K22.ab1 | 1DXMA            | Chain A, reduced form of the H protein from glycine decarboxylase complex     | Pisum sativum           | 67           | 129               | 3.00E-46   |
| CT--07-F-D11.ab1 | CAA11226         | Chalcone reductase  | Sesbania rostrata       | 56           | 111               | 1.09E-31   |
| CT--02-F-J24.ab1 | AAA33450         | Chaperonin 60   | Zea mays                | 61           | 44                | 3.40E-09   |
| CT--02-F-J08.ab1 | AAD54934         | Chitinase precursor   | Petroselinum crispum    | 61           | 41                | 3.85E-10   |
| CT--05-F-G06.ab1 | S06329           | Chlorophyll a/b-binding protein type I precursor (cab-6B)                     | Lycopersicon esculentum | 86           | 56                | 3.81E-20   |
| CT--01-F-L08.ab1 | S47480           | Chlorophyll a/b-binding protein type II, photosystem I                        | Lolium temulentum       | 89           | 85                | 9.19E-41   |

continued from previous page.

|                  |           |  |                                |     |     |            |
|------------------|-----------|--|--------------------------------|-----|-----|------------|
| CT--07-F-F02.ab1 | P27494    | Chlorophyll a/b-binding protein 36, chloroplastprecursor       | Nicotiana tabacum              | 63  | 52  | 8.09E-11   |
| CT--02-F-C24.ab1 | P12062    | Chlorophyll a/b-binding protein 37, chloroplast precursor      | Petunia sp.                    | 93  | 73  | 2.52E-35   |
| CT--06-F-L04.ab1 | T02877    | Probable chlorophyll a/b-binding protein                       | Oryza sativa                   | 59  | 61  | 5.48E-13   |
| CT--02-F-N15.ab1 | CAC84491  | Putative chlorophyll a/b-binding protein type 4                | Pinus pinaster                 | 87  | 82  | 3.11E-38   |
| CT--02-F-G20.ab1 | P29357    | Chloroplast envelope membrane 70 kd heat shock-related protein | Spinacia oleracea              | 82  | 45  | 7.19E-06   |
| CT--02-F-C04.ab1 | 0812296A  | Chloroplast ribosomal protein                                  | Spinacia oleracea              | 68  | 34  | 6.63E-05   |
| CT--07-F-K07.ab1 | NP_200902 | Cleavage stimulation factor 50K chain                          | Arabidopsis thaliana           | 85  | 27  | 3.18E-05   |
| CT--05-F-P12.ab1 | AAK83035  | CTA (short chain alcohol dehydrogenase)                        | Cucumis sativus                | 49  | 49  | 0.00013517 |
| CT--01-F-J23.ab1 | AAF64480  | Cysteine protease inhibitor                                    | Ipomoea batatas                | 77  | 31  | 7.72E-23   |
| CT--06-F-K03.ab1 | NP_565512 | Cysteine proteinase  | Arabidopsis thaliana           | 88  | 73  | 2.72E-35   |
| CT--05-F-H17.ab1 | AAK73138  | Cytochrome B5  | Oryza sativa                   | 53  | 19  | 1.72E-26   |
| CT--06-F-G23.ab1 | AAG44132  | Cytochrome P450  | Pisum sativum                  | 59  | 66  | 3.75E-17   |
| CT--02-F-P12.ab1 | NP_200507 | Cytokinin oxidase  | Arabidopsis thaliana           | 49  | 112 | 4.89E-27   |
| CT--03-F-B20.ab1 | AAK70908  | Cytoplasmic ribosomal protein L18                              | Oryza sativa                   | 100 | 15  | 0.0949927  |
| CT--02-F-G12.ab1 | AAG24945  | Dehydroascorbate reductase                                     | Spinacia oleracea              | 55  | 83  | 7.36E-21   |
| CT--02-F-M03.ab1 | NP_175085 | Delta-aminolevulinic acid dehydratase (Alad), putative         | Arabidopsis thaliana           | 75  | 91  | 2.81E-32   |
| CT--03-F-K18.ab1 | P42553    | DNA-binding protein S1FA                                       | Oryza sativa                   | 68  | 74  | 0.0143173  |
| CT--02-F-B17.ab1 | AAF91282  | DNA-binding protein p24  | Solanum tuberosum              | 60  | 52  | 2.64E-14   |
| CT--06-F-M02.ab1 | NP_181718 | Putative DNA binding protein                                   | Arabidopsis thaliana           | 45  | 60  | 2.83E-07   |
| CT--03-F-O04.ab1 | T01643    | DnaJ protein homolog ZMDJ1                                     | Zea mays                       | 55  | 64  | 1.71E-09   |
| CT--01-F-H05.ab1 | AAF42981  | Elongation factor 1 alpha                                      | Zea mays                       | 98  | 129 | 1.00E-68   |
| CT--01-F-B21.ab1 | AAD27590  | Elongation factor 1 alpha 1                                    | Lilium longiflorum             | 100 | 29  | 3.23E-09   |
| CT--05-F-O06.ab1 | AAD56019  | Elongation factor 1 alpha 2                                    | Lilium longiflorum             | 90  | 21  | 8.03E-23   |
| CT--04-F-B13.ab1 | NP_568375 | Elongation factor 1B alpha-subunit                             | Brassica juncea                | 83  | 72  | 2.29E-28   |
| CT--03-F-O11.ab1 | NP_196772 | Elongation factor 1B alpha-subunit                             | Arabidopsis thaliana           | 83  | 69  | 3.44E-25   |
| CT--03-F-M23.ab1 | P08252    | Endochitinase A precursor (CHN-A)                              | Nicotiana tabacum              | 44  | 39  | 7.40E-28   |
| CT--02-F-D16.ab1 | CAA62847  | Endoxyloglucan transferase                                     | Hordeum vulgare subsp. Vulgare | 79  | 122 | 3.00E-58   |
| CT--01-F-P09.ab1 | CAA62847  | Endoxyloglucan transferase                                     | Hordeum vulgare subsp. vulgare | 74  | 81  | 2.93E-34   |
| CT--05-F-M12.ab1 | AAM12985  | Enolase (2-phospho-D-glycerate hydroylase)                     | Arabidopsis thaliana           | 81  | 98  | 4.20E-38   |
| CT--03-F-H24.ab1 | AAA33708  | Ethylene-forming enzyme  | Petunia x hybrida              | 96  | 23  | 3.04E-23   |

continued from previous page.

|                  |           |   |                                       |     |     |            |
|------------------|-----------|---|---------------------------------------|-----|-----|------------|
| CT--02-F-I05.ab1 | NP_191721 | Exonuclease RRP41   | Arabidopsis thaliana                  | 80  | 25  | 0.00113106 |
| CT--06-F-H02.ab1 | BAB01698  | Extensin protein-like   | Arabidopsis thaliana                  | 38  | 58  | 0.0159729  |
| CT--01-F-F03.ab1 | AAL35979  | Extensin protein-like   | Cucumis sativus                       | 73  | 22  | 0.00403855 |
| CT--03-F-D18.ab1 | NP_564150 | F-box protein family  | Arabidopsis thaliana                  | 79  | 77  | 1.72E-31   |
| CT--01-F-E20.ab1 | JX0082    | Ferredoxin  | Raphanus sativus                      | 82  | 28  | 2.91E-07   |
| CT--07-F-A23.ab1 | NP_196845 | FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase                                       | Arabidopsis thaliana                  | 93  | 15  | 1.06E-23   |
| CT--07-F-F13.ab1 | Q40284    | Flavonol 3-O-glucosyltransferase 1(UDP-glucose flavonoid 3-O-glucosyltransferase 1) | Manihot esculenta                     | 47  | 116 | 9.23E-16   |
| CT--01-F-I16.ab1 | P17784    | Fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme                                 | Oryza sativa                          | 78  | 50  | 7.24E-16   |
| CT--03-F-H21.ab1 | Q40671    | G2/mitotic-specific cyclin 2 (B-like cyclin)  | Oryza sativa                          | 60  | 92  | 4.14E-26   |
| CT--07-F-E10.ab1 | NP_188312 | GATA zinc finger protein  | Arabidopsis thaliana                  | 69  | 36  | 0.0002248  |
| CT--07-F-E12.ab1 | NP_188312 | GATA zinc finger protein  | Arabidopsis thaliana                  | 69  | 36  | 0.00034078 |
| CT--01-F-J14.ab1 | BAB82463  | Geranylgeranyl pyrophosphate synthase   | Gentiana lutea                        | 50  | 46  | 0.00039464 |
| CT--07-F-O06.ab1 | P46689    | Gibberellin-regulated protein 1 precursor   | Arabidopsis thaliana                  | 65  | 62  | 5.79E-20   |
| CT--04-F-E10.ab1 | BAB88935  | Glucosyltransferase NTGT2   | Nicotiana tabacum                     | 37  | 100 | 7.57E-12   |
| CT--05-F-I20.ab1 | P26517    | Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, cytosolic                                 | Hordeum vulgare                       | 83  | 126 | 1.00E-56   |
| CT--02-F-H10.ab1 | NP_176896 | Glyoxalase I, putative (lactoylglutathione lyase); protein                          | Arabidopsis thaliana                  | 69  | 35  | 9.39E-09   |
| CT--02-F-O21.ab1 | NP_197501 | GTP binding nuclear protein RAN-1   | Arabidopsis thaliana                  | 99  | 128 | 5.00E-74   |
| CT--06-F-P02.ab1 | P41918    | GTP binding nuclear protein RAN-A1  | Nicotiana tabacum                     | 100 | 36  | 0.00098084 |
| CT--06-F-C22.ab1 | CAC24475  | GTP binding protein   | Cichorium intybus x Cichorium endivia | 92  | 73  | 1.29E-32   |
| CT--06-F-N04.ab1 | CAC10213  | GTP binding protein   | Cicer arietinum                       | 83  | 18  | 0.065829   |
| CT--05-F-A24.ab1 | NP_190377 | Heat shock protein-like protein   | Arabidopsis thaliana                  | 49  | 49  | 5.03E-09   |
| CT--07-F-I24.ab1 | O65759    | Histone H2A   | Cicer arietinum                       | 93  | 76  | 8.11E-23   |
| CT--07-F-N15.ab1 | AAA56904  | Homeobox protein  | Arabidopsis thaliana                  | 46  | 114 | 9.73E-12   |
| CT--04-F-B04.ab1 | NP_195493 | Homeobox protein HAT22  | Brassica juncea                       | 39  | 127 | 2.28E-08   |
| CT--05-F-K11.ab1 | AAG22540  | Homocysteine S-methyltransferase-4  | Zea mays                              | 61  | 28  | 0.0001532  |
| CT--01-F-L21.ab1 | NP_181838 | 3-Isopropylmalate dehydratase, small subunit  | Arabidopsis thaliana                  | 83  | 29  | 1.30E-05   |
| CT--06-F-B17.ab1 | AAK37825  | Laccase   | Pinus taeda                           | 80  | 83  | 1.65E-37   |
| CT--02-F-M20.ab1 | T08071    | L-ascorbate peroxidase  | Brassica juncea                       | 92  | 63  | 8.35E-17   |
| CT--02-F-F06.ab1 | T09283    | Late embryonic abundant protein EMB3  | Picea glauca                          | 44  | 55  | 0.0160846  |



continued from previous page.

|                  |           |  |  |    |     |            |
|------------------|-----------|--|--|----|-----|------------|
| CT--04-F-F12.ab1 | NP_181196 | Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative           | Arabidopsis thaliana                   | 76 | 29  | 2.26E-06   |
| CT--01-F-M03.ab1 | AAD28769  | Lhcb2 protein (type II LHC II antenna protein)                       | Arabidopsis thaliana                   | 75 | 137 | 1.00E-51   |
| CT--04-F-N10.ab1 | NP_175137 | Light-harvesting complex protein                                     | Arabidopsis thaliana                   | 40 | 110 | 2.69E-09   |
| CT--06-F-I19.ab1 | AAB07487  | Lipid transfer protein 2   | Lycopersicon pennellii                 | 63 | 56  | 6.51E-13   |
| CT--04-F-I23.ab1 | CAA67022  | LMW heat shock protein   | Arabidopsis thaliana                   | 43 | 80  | 1.76E-14   |
| CT--01-F-N04.ab1 | T06543    | MADS box protein - MADS-box transcription factor                     | Pisum sativum                          | 88 | 144 | 5.00E-66   |
| CT--02-F-M10.ab1 | AAC83170  | MADS box protein 2   | Malus x domestica                      | 55 | 29  | 0.00253247 |
| CT--01-F-F11.ab1 | P42754    | Mannitol dehydrogenase   | Petroselinum crispum                   | 54 | 68  | 1.28E-11   |
| CT--04-F-O16.ab1 | AAB88276  | Metallothionein-like protein   | Prunus armeniaca                       | 59 | 39  | 0.00074651 |
| CT--01-F-D14.ab1 | AAF65155  | 2C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase                 | Catharanthus roseus                    | 88 | 26  | 4.11E-06   |
| CT--06-F-A01.ab1 | P49387    | Mitochondrial ribosomal protein S14                                  | Brassica napus                         | 63 | 94  | 3.68E-27   |
| CT--02-F-M07.ab1 | NP_198160 | Mitogen activated protein kinase - like                              | Arabidopsis thaliana                   | 36 | 85  | 1.13E-05   |
| CT--04-F-M03.ab1 | S52385    | NADH dehydrogenase (ubiquinone) chain TYKY.2 precursor               | Solanum tuberosum                      | 94 | 17  | 0.0667705  |
| CT--02-F-G03.ab1 | Q03461    | Nonspecific lipid-transfer protein 2 precursor                       | Nicotiana tabacum                      | 65 | 40  | 1.09E-07   |
| CT--04-F-A14.ab1 | Q42615    | Nonspecific lipid-transfer protein 3 precursor                       | Brassica napus                         | 66 | 38  | 5.25E-07   |
| CT--05-F-E11.ab1 | AAB34895  | 6.1 kda nuclear-encoded photosystem II reaction center subunit       | Spinacia oleracea                      | 89 | 18  | 0.0686874  |
| CT--04-F-E21.ab1 | NP_568587 | N-hydroxycinnamoyl/benzoyltransferase -like protein                  | Arabidopsis thaliana                   | 34 | 138 | 2.17E-15   |
| CT--07-F-N19.ab1 | NP_177667 | Ornithine carbamoyltransferase precursor                             | Arabidopsis thaliana                   | 49 | 84  | 1.94E-11   |
| CT--04-F-E23.ab1 | AAB66888  | 2-Oxoglutarate/malate translocator                                   | Oryza sativa                           | 84 | 37  | 5.99E-12   |
| CT--02-F-B05.ab1 | CAC41364  | 3-Oxyacyl-[acyl carrier protein] reductase                           | Brassica napus                         | 75 | 32  | 9.26E-07   |
| CT--01-F-A15.ab1 | O49080    | Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplast precursor            | Fritillaria agrestis                   | 75 | 97  | 4.52E-35   |
| CT--07-F-M23.ab1 | AAF98368  | Patatin-like protein 1   | Nicotiana tabacum                      | 54 | 59  | 4.83E-11   |
| CT--07-F-B01.ab1 | CAA66036  | Peroxidase   | Populus balsamifera subsp. trichocarpa | 53 | 36  | 0.0549691  |
| CT--05-F-D11.ab1 | AAK15505  | Phosphate-induced protein 1-like protein                             | Pennisetum ciliare                     | 44 | 84  | 1.38E-05   |
| CT--07-F-I22.ab1 | P37216    | Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase 2, chloroplast precursor | Lycopersicon esculentum                | 88 | 32  | 2.02E-09   |
| CT--04-F-G18.ab1 | Q42961    | Phosphoglycerate kinase, chloroplast precursor                       | Nicotiana tabacum                      | 60 | 15  | 2.03E-40   |
| CT--02-F-P09.ab1 | S31163    | Phosphoprotein phosphatase 2A-alpha catalytic chain                  | Arabidopsis thaliana                   | 95 | 118 | 1.00E-60   |
| CT--02-F-O22.ab1 | P42051    | Photosystem I reaction center subunit X                              | Cucumis sativus                        | 82 | 11  | 0.00654374 |
| CT--07-F-C05.ab1 | Q40070    | Photosystem II 10 kDa polypeptide, chloroplast precursor             | Hordeum vulgare                        | 81 | 67  | 3.39E-20   |

continued from previous page.

|                  |           |   |                         |     |     |            |
|------------------|-----------|---|-------------------------|-----|-----|------------|
| CT--02-F-O06.ab1 | CAD28673  | Phytohemagglutinin  | Phaseolus vulgaris      | 47  | 30  | 5.17E-07   |
| CT--06-F-G17.ab1 | AAB65787  | Plasma membrane intrinsic protein   | Arabidopsis thaliana    | 90  | 63  | 1.84E-28   |
| CT--04-F-L14.ab1 | NP_171668 | Plasma membrane intrinsic protein 1c, putative  | Arabidopsis thaliana    | 91  | 35  | 4.65E-14   |
| CT--07-F-B18.ab1 | BAB40143  | Plasma membrane intrinsic protein 2-2   | Pyrus communis          | 55  | 51  | 3.11E-06   |
| CT--04-F-J16.ab1 | S34285    | Polyubiquitin   | Lycopersicon esculentum | 100 | 76  | 5.66E-36   |
| CT--04-F-G15.ab1 | AAC49562  | PRH26 (similar to microbial PAPS reductase; similar to Thioredoxin-type protein family) | Arabidopsis thaliana    | 73  | 45  | 5.05E-12   |
| CT--01-F-G24.ab1 | G71438    | Probable Clp proteinase   | Arabidopsis thaliana    | 63  | 27  | 0.0544056  |
| CT--06-F-P04.ab1 | CAD10376  | Profilin  | Capsicum annuum         | 86  | 44  | 1.62E-16   |
| CT--03-F-I23.ab1 | BAB08607  | Proline-rich protein APG-like   | Arabidopsis thaliana    | 46  | 101 | 1.02E-19   |
| CT--06-F-E03.ab1 | S57271    | 14-3-3 Protein homolog BLT3   | Lycopersicon esculentum | 78  | 18  | 4.29E-14   |
| CT--02-F-N05.ab1 | CAA72362  | Protein kinase CK2, alpha subunit   | Zea mays                | 64  | 25  | 0.0831063  |
| CT--02-F-O19.ab1 | T50783    | Protein phosphatase 2C-like protein   | Arabidopsis thaliana    | 40  | 47  | 0.00607503 |
| CT--04-F-I24.ab1 | NP_182234 | Putative alcohol dehydrogenase  | Arabidopsis thaliana    | 46  | 104 | 2.47E-22   |
| CT--03-F-I08.ab1 | CAC43326  | Putative beta5 proteasome subunit   | Nicotiana tabacum       | 94  | 16  | 0.0123156  |
| CT--02-F-C22.ab1 | NP_187719 | Putative disease resistance protein   | Arabidopsis thaliana    | 41  | 56  | 0.00626622 |
| CT--03-F-J08.ab1 | AAL26574  | Putative fructokinase I   | Oryza sativa            | 65  | 96  | 1.40E-30   |
| CT--04-F-H06.ab1 | AAL26574  | Putative fructokinase I   | Oryza sativa            | 60  | 106 | 1.73E-32   |
| CT--02-F-P10.ab1 | CAB61841  | Putative gamma tonoplast intrinsic protein  | Sporobolus stapfianus   | 45  | 55  | 9.58E-07   |
| CT--02-F-E02.ab1 | AAK98534  | Putative glutathione S-transferase OsGSTT1  | Oryza sativa            | 38  | 50  | 6.91E-05   |
| CT--03-F-C09.ab1 | AAF71798  | Similar to glutathione S-transferase  | Arabidopsis thaliana    | 55  | 62  | 1.02E-13   |
| CT--01-F-L10.ab1 | AAK52546  | Putative NADPH-dependent oxidoreductase   | Oryza sativa            | 56  | 73  | 8.83E-17   |
| CT--06-F-G11.ab1 | NP_180906 | Putative NAM (no apical meristem) protein   | Arabidopsis thaliana    | 43  | 75  | 0.00013579 |
| CT--01-F-O17.ab1 | NP_174009 | Putative NAM (no apical meristem) protein   | Arabidopsis thaliana    | 52  | 111 | 6.81E-27   |
| CT--01-F-H24.ab1 | NP_565905 | Putative phospholipase  | Arabidopsis thaliana    | 38  | 89  | 2.65E-09   |
| CT--06-F-B05.ab1 | NP_187420 | Putative P-protein: chorismate mutase, prephenate dehydratase                           | Arabidopsis thaliana    | 64  | 33  | 0.00075917 |
| CT--03-F-H15.ab1 | CAB56294  | Putative protein translation factor   | Pheum pratense          | 91  | 91  | 2.84E-43   |
| CT--01-F-O06.ab1 | AAL83632  | Putative Ran binding protein  | Oryza sativa            | 76  | 29  | 0.00217202 |
| CT--03-F-B09.ab1 | NP_179509 | Putative receptor-like protein kinase   | Arabidopsis thaliana    | 38  | 42  | 0.0626907  |
| CT--01-F-A12.ab1 | AAK63884  | Putative thaumatin-like protein   | Oryza sativa            | 53  | 120 | 1.12E-31   |
| CT--01-F-L22.ab1 | BAB63833  | Putative tonoplast membrane integral protein  | Oryza sativa            | 77  | 87  | 8.88E-35   |
| CT--02-F-B06.ab1 | NP_566041 | Putative transketolase precursor  | Arabidopsis thaliana    | 76  | 37  | 1.95E-09   |

continued from previous page.

|                  |           |   |                       |    |     |            |
|------------------|-----------|---|-----------------------|----|-----|------------|
| CT--07-F-J05.ab1 | NP_191551 | Rab GDP dissociation inhibitor                                  | Arabidopsis thaliana  | 79 | 52  | 3.00E-52   |
| CT--04-F-C08.ab1 | CAA98160  | RAB1C (GTP-binding protein)                                     | Lotus japonicus       | 84 | 67  | 1.04E-25   |
| CT--07-F-G16.ab1 | T49039    | Response regulator-like protein                                 | Arabidopsis thaliana  | 64 | 42  | 9.72E-09   |
| CT--05-F-C09.ab1 | CAA77237  | Reversibly glycosylated polypeptide                             | Triticum aestivum     | 81 | 32  | 5.82E-09   |
| CT--07-F-E24.ab1 | JQ2244    | Ribosomal protein L10.e, cytosolic                              | Arabidopsis thaliana  | 70 | 81  | 6.94E-26   |
| CT--07-F-P21.ab1 | NP_196512 | Ribosomal protein S15-like                                      | Arabidopsis thaliana  | 96 | 67  | 6.95E-32   |
| CT--04-F-D22.ab1 | JQ0939    | Ribosomal protein S3a   | Catharanthus roseus   | 93 | 55  | 3.12E-22   |
| CT--03-F-K13.ab1 | AAG02240  | Ribosomal protein s6 RPS6-2                                     | Zea mays              | 83 | 60  | 1.01E-10   |
| CT--05-F-O01.ab1 | P46300    | 40S Ribosomal protein S4  | Solanum tuberosum     | 89 | 75  | 2.42E-34   |
| CT--03-F-E06.ab1 | P35266    | 60S ribosomal protein L17-1                                     | Hordeum vulgare       | 93 | 30  | 9.97E-10   |
| CT--03-F-N04.ab1 | AAK92638  | Putative 40S Ribosomal protein                                  | Oryza sativa          | 50 | 116 | 1.83E-26   |
| CT--05-F-C12.ab1 | NP_174754 | Putative 60S ribosomal protein (fragment)                       | Arabidopsis thaliana  | 76 | 42  | 5.62E-07   |
| CT--05-F-I09.ab1 | AAF02470  | Putative 60S ribosomal protein L13a                             | Picea abies           | 75 | 24  | 0.0354649  |
| CT--02-F-P20.ab1 | BAB63895  | Putative 60S ribosomal protein L23A                             | Oryza sativa          | 91 | 69  | 1.91E-19   |
| CT--01-F-K23.ab1 | AAB86513  | Putative ribosomal protein S4                                   | Arabidopsis thaliana  | 85 | 61  | 8.45E-25   |
| CT--05-F-F14.ab1 | AAC78103  | Rieske Fe-S precursor protein                                   | Oryza sativa          | 67 | 132 | 6.47E-42   |
| CT--03-F-G10.ab1 | AAC35787  | S-adenosyl-methionine cycloartenol-C24-methyltransferase        | Nicotiana tabacum     | 76 | 37  | 2.34E-09   |
| CT--02-F-A02.ab1 | AAF06347  | SCUTL2 (thaumatin-like protein)                                 | Vitis vinifera        | 43 | 72  | 7.13E-13   |
| CT--02-F-G19.ab1 | AAF06347  | SCUTL2 (thaumatin-like protein)                                 | Vitis vinifera        | 45 | 73  | 1.86E-14   |
| CT--04-F-C14.ab1 | BAB16317  | Secretory peroxidase  | Avicennia marina      | 85 | 101 | 5.00E-46   |
| CT--04-F-G06.ab1 | CAA56913  | Serine O-acetyltransferase                                      | Arabidopsis thaliana  | 74 | 99  | 1.98E-36   |
| CT--07-F-L24.ab1 | NP_200394 | Serine/threonine-specific kinase like protein                   | Arabidopsis thaliana  | 30 | 46  | 1.60E-05   |
| CT--01-F-F17.ab1 | AAG41892  | Sesquiterpene synthase 2  | Lycopersicon hirsutum | 53 | 105 | 3.75E-24   |
| CT--02-F-I12.ab1 | AAF69549  | Similar to mitochondrial NAD-dependent malate dehydrogenase emb | Arabidopsis thaliana  | 58 | 38  | 0.00034078 |
| CT--05-F-A11.ab1 | NP_181934 | Similar to late embryogenesis abundant proteins                 | Arabidopsis thaliana  | 89 | 27  | 2.79E-06   |
| CT--02-F-H02.ab1 | A47557    | S-like ribonuclease RNS2  | Arabidopsis thaliana  | 56 | 34  | 0.00488481 |
| CT--05-F-E12.ab1 | NP_194260 | SRG1-like protein   | Arabidopsis thaliana  | 38 | 45  | 0.0215799  |
| CT--04-F-H24.ab1 | NP_190710 | Strictosidine synthase-related; protein                         | Arabidopsis thaliana  | 27 | 97  | 0.0734244  |
| CT--03-F-M08.ab1 | T48553    | Subtilisin-like proteinase homolog F14F18.110                   | Arabidopsis thaliana  | 35 | 99  | 8.13E-08   |
| CT--04-F-D03.ab1 | P28756    | Superoxide dismutase [Cu-Zn] 1                                  | Oryza sativa          | 87 | 82  | 1.09E-29   |
| CT--02-F-H21.ab1 | P21276    | Superoxide dismutase [Fe], chloroplast precursor                | Arabidopsis thaliana  | 78 | 40  | 3.23E-12   |
| CT--04-F-J11.ab1 | NP_190998 | Synaptobrevin-like protein                                      | Arabidopsis thaliana  | 58 | 92  | 7.66E-28   |
| CT--04-F-L02.ab1 | AAL62392  | Putative synaptobrevin  | Arabidopsis thaliana  | 60 | 48  | 0.0126318  |

continued from previous page.

|                  |           |   |                               |     |     |            |
|------------------|-----------|---|-------------------------------|-----|-----|------------|
| CT--07-F-F21.ab1 | BAB86895  | Syringolide-induced protein   | Glycine max                   | 36  | 56  | 6.32E-07   |
| CT--01-F-O10.ab1 | AAF24589  | T19E23.15(similar to 60S ribosomal protein L21)   | Arabidopsis thaliana          | 86  | 28  | 5.26E-05   |
| CT--07-F-L22.ab1 | BAA06461  | TED3 (vascular cell-specific gene)  | Zinnia elegans                | 37  | 70  | 0.00621631 |
| CT--01-F-M24.ab1 | Q41739    | Thiazole biosynthetic enzyme 1-2, chloroplast precursor                                     | Zea mays                      | 91  | 33  | 1.73E-10   |
| CT--01-F-N23.ab1 | AAF03749  | TIM17(component of the mitochondrial inner membrane pre-protein translocase)                | Arabidopsis thaliana          | 70  | 30  | 0.00129494 |
| CT--06-F-O21.ab1 | CAB77551  | Toc34-2 protein(a component of the protein translocon at the outer envelope of chloroplast) | Zea mays                      | 43  | 63  | 1.38E-05   |
| CT--01-F-D04.ab1 | AAF75773  | Transcription factor CMB  | Cucumis sativus               | 60  | 40  | 1.22E-07   |
| CT--04-F-O02.ab1 | NP_177078 | Transcription factor CRC  | Arabidopsis thaliana          | 32  | 139 | 7.32E-14   |
| CT--01-F-F19.ab1 | S52021    | Translation initiation factor   | Nicotiana tabacum             | 93  | 41  | 2.43E-15   |
| CT--03-F-H12.ab1 | P48493    | Triosephosphate isomerase, cytosolic  | Lactuca sativa                | 77  | 79  | 1.52E-28   |
| CT--05-F-C23.ab1 | P48497    | Triosephosphate isomerase, cytosolic  | Stellaria longipes            | 89  | 18  | 0.0673982  |
| CT--01-F-F21.ab1 | Q02245    | Tubulin alpha-5 chain   | Zea mays                      | 100 | 25  | 2.99E-07   |
| CT--04-F-E12.ab1 | NP_563945 | Tumor suppressor, putative  | Arabidopsis thaliana          | 75  | 61  | 3.20E-22   |
| CT--01-F-G14.ab1 | AAB88617  | Ubiquitin conjugating enzyme  | Zea mays                      | 94  | 50  | 1.22E-21   |
| CT--07-F-E14.ab1 | T05515    | Ubiquitin-activating enzyme homolog   | Arabidopsis thaliana          | 52  | 31  | 0.00228219 |
| CT--04-F-L03.ab1 | AAK82529  | Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kd   | Arabidopsis thaliana          | 90  | 146 | 2.00E-74   |
| CT--06-F-J12.ab1 | NP_568004 | Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kd   | Arabidopsis thaliana          | 78  | 23  | 0.00180543 |
| CT--07-F-D23.ab1 | P25868    | Ubiquitin-conjugating enzyme E2-20 kDa  | Triticum aestivum             | 80  | 51  | 7.43E-17   |
| CT--01-F-O11.ab1 | AAD51109  | Ubiquitin-conjugating enzyme UBC2   | Mesembryanthemum crystallinum | 97  | 95  | 7.00E-51   |
| CT--06-F-E04.ab1 | BAA92988  | Unnamed protein product~Similar to Zea mays acidic ribosomal protein                        | Oryza sativa                  | 62  | 99  | 1.87E-10   |
| CT--01-F-C14.ab1 | Q39437    | Vacuolar ATP synthase 16 kDa proteolipid subunit  | Beta vulgaris                 | 100 | 28  | 3.52E-07   |
| CT--03-F-N24.ab1 | Q43434    | Vacuolar ATP synthase 16 kDa proteolipid subunit  | Gossypium hirsutum            | 95  | 101 | 5.67E-27   |
| CT--03-F-L05.ab1 | AAK01292  | Vacuolar ATPase subunit c   | Avicennia marina              | 98  | 65  | 8.93E-21   |
| CT--03-F-P13.ab1 | NP_194325 | V-ATPase G-subunit like protein   | Arabidopsis thaliana          | 45  | 55  | 4.06E-06   |
| CT--02-F-L08.ab1 | NP_568454 | Vegetative storage protein Vsp2   | Arabidopsis thaliana          | 48  | 61  | 1.15E-09   |
| CT--04-F-L11.ab1 | AAD56652  | Voltage-dependent anion channel protein 1b  | Zea mays                      | 80  | 71  | 2.27E-26   |
| CT--03-F-F04.ab1 | NP_568859 | Xyloglucan endotransglycosylase   | Arabidopsis thaliana          | 59  | 98  | 9.22E-26   |
| CT--01-F-O21.ab1 | NP_196891 | Xyloglucan endotransglycosylase   | Arabidopsis thaliana          | 47  | 95  | 3.44E-18   |
| CT--02-F-N14.ab1 | BAA33203  | Zinc finger protein   | Oryza sativa                  | 42  | 90  | 2.78E-10   |

**Similarity to known genes of other organisms in GenBank entries except plant**

| Clone            | Accession number | Definition of putative homologue   | Organism                          | Matching (%) | Matching (Length) | E-Value    |
|------------------|------------------|--|-----------------------------------|--------------|-------------------|------------|
| CT--01-F-A20.ab1 | NP_060624        | ASF1 anti-silencing function 1 homolog B   | Homo sapiens(M)                   | 73           | 11                | 4.35E-16   |
| CT--04-F-G01.ab1 | P53396           | ATP-citrate (pro-S-)-lyase (Citrate cleavage enzyme)   | Homo sapiens(M)                   | 42           | 120               | 9.70E-17   |
| CT--03-F-C22.ab1 | NP_113273        | ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit   | nucleomorph Guillardia theta (O)  | 45           | 38                | 0.028845   |
| CT--05-F-O11.ab1 | NP_045839        | ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit   | chloroplast Chlorella vulgaris(O) | 68           | 19                | 1.72E-06   |
| CT--03-F-H16.ab1 | AAL77025         | Bicoid   | Drosophila melanogaster(I)        | 50           | 32                | 0.0928019  |
| CT--04-F-L04.ab1 | NP_511133        | Cacophony CG1522-PA  | Drosophila melanogaster(I)        | 50           | 32                | 0.0416569  |
| CT--02-F-F15.ab1 | O86017           | 10 kDa chaperonin  | Mycobacterium avium(O)            | 46           | 71                | 9.55E-11   |
| CT--06-F-B24.ab1 | AAF54141         | CG3027 gene product  | Drosophila melanogaster(I)        | 50           | 105               | 4.01E-21   |
| CT--04-F-H04.ab1 | AAF56959         | CG7808 gene product  | Drosophila melanogaster(I)        | 68           | 53                | 2.33E-15   |
| CT--05-F-P20.ab1 | XP_081632        | CG7891(G-alpha)  | Drosophila melanogaster(I)        | 65           | 74                | 4.95E-24   |
| CT--06-F-D04.ab1 | Q28104           | Coatmer epsilon subunit(epsilon-coat protein)  | Bos taurus(M)                     | 43           | 99                | 1.09E-10   |
| CT--02-F-L22.ab1 | AAH20803         | Developmentally regulated GTP binding protein 1  | Homo sapiens(M)                   | 71           | 28                | 2.28E-05   |
| CT--07-F-O15.ab1 | P36957           | Dihydroliipoamide succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial precursor | Homo sapiens(M)                   | 83           | 41                | 1.43E-12   |
| CT--01-F-H18.ab1 | NP_002687        | DNA directed RNA polymerase II polypeptide G   | Homo sapiens(M)                   | 30           | 116               | 1.04E-06   |
| CT--03-F-O24.ab1 | NP_063678        | dUTP pyrophosphatase   | Vaccinia virus(O)                 | 59           | 29                | 0.0163833  |
| CT--07-F-M24.ab1 | P33948           | ER lumen protein retaining receptor  | Plasmodium falciparum(O)          | 49           | 47                | 0.051605   |
| CT--05-F-F12.ab1 | NP_524728        | Eukaryotic initiation factor 1A  | Drosophila melanogaster(I)        | 79           | 47                | 1.37E-14   |
| CT--06-F-D22.ab1 | NP_036293        | F-box and leucine-rich repeat protein 5, isoform 1; F-box protein FBL5   | Homo sapiens(M)                   | 27           | 84                | 0.00038874 |
| CT--04-F-N24.ab1 | NP_524364        | FK506-binding protein 1  | Drosophila melanogaster(I)        | 40           | 86                | 3.24E-07   |
| CT--02-F-F23.ab1 | NP_004823        | Glutathione-S-transferase like   | Homo sapiens(M)                   | 36           | 109               | 7.43E-11   |
| CT--03-F-L18.ab1 | PWBOE            | H+ -transporting ATP synthase, epsilon chain precursor   | Bos taurus(M)                     | 51           | 35                | 0.00075917 |
| CT--05-F-A15.ab1 | NP_009466        | Homology to E. coli L14 and rat L23; Rpl23ap(cytosolic large ribosomal subunit)                                  | Saccharomyces cerevisiae(O)       | 79           | 33                | 7.32E-10   |
| CT--03-F-K12.ab1 | CAA70574         | Huntingtin interacting protein   | Homo sapiens(M)                   | 34           | 87                | 2.19E-05   |

continued from previous page.

|                  |           |   |  |    |     |            |
|------------------|-----------|---|--|----|-----|------------|
| CT--01-F-O14.ab1 | NP_454834 | (3R)-Hydroxymyristol acyl carrier protein dehydrase                             | Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi(O) | 42 | 57  | 1.38E-07   |
| CT--06-F-N15.ab1 | AAL46972  | Inhibitor of apoptosis protein 1-like protein                                   | Ochlerotatus triseriatus(I)                          | 46 | 46  | 6.64E-05   |
| CT--06-F-I20.ab1 | NP_075552 | Interferon gamma inducible protein 30; lysosomal thiol reductase IP30 precursor | Mus musculus(M)                                      | 40 | 42  | 0.00071338 |
| CT--01-F-I17.ab1 | AAG53590  | 7-Keto-8-amino-pelargonic acid synthetase                                       | uncultured bacterium pCosAS1(O)                      | 41 | 96  | 3.46E-09   |
| CT--06-F-B04.ab1 | AAD34210  | LIM domain interacting RING finger protein                                      | Gallus gallus(A)                                     | 43 | 53  | 4.02E-08   |
| CT--04-F-L22.ab1 | NP_010237 | Niemann Pick Type C Gene corresponding to complementation group 2               | Saccharomyces cerevisiae(O)                          | 25 | 103 | 0.00075917 |
| CT--04-F-K21.ab1 | NP_499556 | Nitrilase and fragile histidine triad fusion protein NitPhiT 1                  | Caenorhabditis elegans(N)                            | 54 | 109 | 5.06E-28   |
| CT--01-F-G23.ab1 | Q05885    | N-terminal acetyltransferase complex ARD1 subunit homolog                       | Leishmania donovani(O)                               | 61 | 36  | 0.00017185 |
| CT--02-F-L12.ab1 | NP_441457 | Pentose-5-phosphate-3-epimerase   | Synechocystis sp. PCC6803(O)                         | 67 | 66  | 1.29E-19   |
| CT--07-F-E02.ab1 | AAC47174  | PFMPC (Mitochondrial phosphate carrier)   | Plasmodium falciparum (O)                            | 51 | 49  | 4.19E-08   |
| CT--07-F-P22.ab1 | NP_079672 | 6-Phosphogluconolactonase   | Mus musculus(M)                                      | 30 | 70  | 3.18E-09   |
| CT--03-F-I01.ab1 | NP_036220 | 6-Phosphogluconolactonase   | Homo sapiens(M)                                      | 35 | 74  | 1.05E-07   |
| CT--07-F-D12.ab1 | P14224    | Photosystem I reaction center subunit V, chloroplast precursor                  | Chlamydomonas reinhardtii(O)                         | 54 | 28  | 0.00265988 |
| CT--04-F-F17.ab1 | NP_034728 | Potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 2        | Mus musculus(M)                                      | 47 | 75  | 6.85E-12   |
| CT--01-F-G12.ab1 | NP_502933 | Predicted CDS, putative plasma membrane protein family member                   | Caenorhabditis elegans(N)                            | 32 | 69  | 0.0371207  |
| CT--03-F-P04.ab1 | CAB97806  | Probable mRNA cleavage factor i 25 Kd subunit                                   | Leishmania major(O)                                  | 32 | 71  | 0.0186989  |
| CT--01-F-L15.ab1 | NP_215324 | purM(probable 5'-phosphoribosyl-5-aminoimidazole synthetase)                    | Mycobacterium tuberculosis H37Rv(O)                  | 56 | 27  | 0.0183145  |
| CT--07-F-A08.ab1 | NP_461925 | Putative aldo/keto reductase  | Salmonella typhimurium LT2(O)                        | 40 | 68  | 6.27E-08   |
| CT--02-F-O23.ab1 | CAB69802  | Putative cell wall hydrolase  | Bacillus cereus                                      | 39 | 54  | 0.0534988  |
| CT--04-F-G04.ab1 | AAB50849  | Putative Rab5-interacting protein   | Homo sapiens(M)                                      | 41 | 46  | 0.0111451  |
| CT--01-F-A02.ab1 | NP_490877 | Q/N-rich domain Prion like protein PQN-88                                       | Caenorhabditis elegans(N)                            | 30 | 84  | 0.00991388 |
| CT--06-F-L18.ab1 | NP_504590 | Receptor Mediated Endocytosis 1 isoform 1, required for endocytic recycling     | Caenorhabditis elegans(N)                            | 45 | 64  | 1.37E-09   |
| CT--02-F-F20.ab1 | NP_010186 | Regulatory Particle Non-ATPase  | Saccharomyces cerevisiae (O)                         | 52 | 86  | 4.26E-19   |

continued from previous page.

|                  |           |  |                                      |    |     |            |
|------------------|-----------|--|--------------------------------------|----|-----|------------|
| CT--07-F-B16.ab1 | NP_000980 | Ribosomal protein L30; 60S ribosomal protein L30   | Homo sapiens(M)                      | 74 | 98  | 6.82E-39   |
| CT--02-F-N09.ab1 | AAF78063  | Ribosomal protein S29  | Culex pipiens quinquefasciatus (I)   | 63 | 54  | 4.95E-15   |
| CT--07-F-P01.ab1 | O07828    | 30S ribosomal protein S9   | Prochlorococcus marinus(O)           | 52 | 62  | 1.75E-08   |
| CT--01-F-N06.ab1 | P79891    | 40S ribosomal protein S3   | Ambystoma mexicanum (R)              | 90 | 126 | 1.00E-56   |
| CT--04-F-P16.ab1 | P47836    | 40S ribosomal protein S4   | Gallus gallus(A)                     | 63 | 57  | 2.00E-48   |
| CT--04-F-A05.ab1 | P25904    | 50S ribosomal protein L9   | Synechococcus elongatus(O)           | 50 | 28  | 0.0698716  |
| CT--03-F-A19.ab1 | NP_597327 | 60S ribosomal protein L12  | Encephalitozoon cuniculi(O)          | 58 | 45  | 2.61E-09   |
| CT--02-F-C23.ab1 | Q9USX4    | 60S ribosomal protein L33-A (L37A)   | Schizosaccharomyces pombe (O)        | 53 | 94  | 3.87E-24   |
| CT--04-F-D01.ab1 | NP_595300 | 60s ribosomal protein l38  | Schizosaccharomyces pombe (O)        | 58 | 74  | 7.31E-17   |
| CT--02-F-P18.ab1 | Q00477    | 60S ribosomal protein L44 P  | Candida maltosa(O)                   | 78 | 104 | 1.21E-43   |
| CT--04-F-M06.ab1 | XP_015530 | Similar to ribosomal protein L32   | Homo sapiens(M)                      | 77 | 13  | 5.19E-21   |
| CT--03-F-L20.ab1 | AAH10919  | Similar to ribosomal protein L35   | Homo sapiens(M)                      | 62 | 77  | 8.16E-22   |
| CT--04-F-M02.ab1 | XP_085213 | Similar to ribosomal protein L9; 60S ribosomal protein L9  | Homo sapiens(M)                      | 81 | 47  | 3.16E-14   |
| CT--06-F-B02.ab1 | XP_091159 | Similar to 60S ribosomal protein L6 (TAX-responsive enhancer element binding protein 107), (Neoplasm-related protein C140) | Homo sapiens(M)                      | 48 | 40  | 7.91E-05   |
| CT--07-F-L02.ab1 | BAB22143  | Unnamed protein product (putative ribosomal protein S24 )  | Mus musculus(M)                      | 66 | 32  | 0.00041429 |
| CT--07-F-L04.ab1 | BAB26046  | Unnamed protein product (putative ribosomal protein S25 )  | Mus musculus(M)                      | 72 | 65  | 3.34E-20   |
| CT--06-F-C04.ab1 | BAB25746  | Unnamed protein product(ribosomal protein L37 homolog )  | Mus musculus(M)                      | 72 | 82  | 1.76E-29   |
| CT--06-F-N10.ab1 | AAH06893  | RIKEN cDNA 3930401K13 gene   | Mus musculus(M)                      | 57 | 49  | 0.0193199  |
| CT--04-F-L06.ab1 | AAK40110  | RNA polymerase   | mitochondrion Pleurotus ostreatus(O) | 33 | 72  | 0.0416569  |
| CT--01-F-B12.ab1 | XP_031404 | Signal peptidase complex (18kD)  | Homo sapiens(M)                      | 49 | 59  | 5.63E-11   |
| CT--03-F-P16.ab1 | NP_466124 | Similar to ABC transporter (ATP-binding protein)   | Listeria monocytogenes EGD-e(O)      | 41 | 106 | 3.52E-09   |
| CT--04-F-G22.ab1 | AAH24923  | Similar to chromosome 11 open reading frame 10 (Mammary tumor metastatized to lung)  | Mus musculus(M)                      | 53 | 36  | 0.00848778 |
| CT--02-F-E23.ab1 | XP_015334 | Similar to heat shock 70kD protein binding protein; progesterone receptor  | Homo sapiens(M)                      | 56 | 39  | 7.74E-07   |
| CT--04-F-H21.ab1 | XP_064564 | Similar to mucin   | Homo sapiens(M)                      | 27 | 106 | 0.0416569  |
| CT--01-F-P14.ab1 | NP_003087 | Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide G  | Homo sapiens(M)                      | 67 | 24  | 0.0420883  |

continued from previous page.

|                  |           |  |                                  |    |     |            |
|------------------|-----------|--|----------------------------------|----|-----|------------|
| CT--03-F-N11.ab1 | NP_003087 | Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide G  | Homo sapiens(M)                  | 73 | 22  | 0.0913038  |
| CT--06-F-H23.ab1 | NP_213737 | Sulfate adenylyltransferase                    | Aquifex aeolicus (O)             | 67 | 21  | 0.0240145  |
| CT--01-F-C23.ab1 | P87068    | Symbiosis-related protein                      | Laccaria bicolor(O)              | 77 | 111 | 4.20E-45   |
| CT--04-F-J21.ab1 | XP_079022 | Thioredoxin                                    | Drosophila melanogaster(I)       | 44 | 36  | 0.0537676  |
| CT--05-F-P10.ab1 | AAL41024  | Tropomyosin                                    | Trichinella pseudospiralis (N)   | 26 | 76  | 0.00731049 |
| CT--03-F-E07.ab1 | Q60180    | Tryptophan synthase alpha chain                | Methanocaldococcus jannaschii(O) | 50 | 42  | 0.0130112  |
| CT--07-F-F05.ab1 | NP_588256 | Ubiquitin conjugating enzyme                   | Schizosaccharomyces pombe (O)    | 57 | 44  | 6.07E-05   |
| CT--03-F-J16.ab1 | CAA82846  | Ubiquitin-ribosomal protein fusion protein     | Gallus gallus (A)                | 91 | 34  | 1.03E-13   |
| CT--06-F-I22.ab1 | CAB89630  | Probable putative ubiquitin-conjugating enzyme | Leishmania major(O)              | 49 | 71  | 3.63E-14   |
| CT--01-F-M11.ab1 | NP_596465 | Probable ubiquitin-conjugating enzyme e2       | Schizosaccharomyces pombe (O)    | 67 | 140 | 4.00E-49   |
| CT--06-F-A16.ab1 | AAF45418  | Yip6 gene product [alt 1]                      | Drosophila melanogaster(I)       | 47 | 17  | 5.03E-42   |
| CT--07-F-A10.ab1 | NP_011577 | Zn-finger protein, transcriptional regulator   | Saccharomyces cerevisiae(O)      | 34 | 53  | 0.00038018 |



Table 4. Functions of 86 contigs matched to GenBank protein database

| Clone     | Accession number | Definition of putative homologue                      | Organism                       | Matching (%) | Macthing (Length) | E-Value    | NO. of clone |
|-----------|------------------|---|--------------------------------|--------------|-------------------|------------|--------------|
| Contig57  | NP_568915        | Actin depolymerizing factor 3                         | Arabidopsis thaliana           | 93           | 42                | 1.9E-14    | 3            |
| Contig77  | AAC12797         | Adenosine triphosphatase; c-subunit of V-ATPase       | Vigna radiata                  | 100          | 35                | 8.03E-04   | 2            |
| Contig7   | AAF65512         | ADP-ribosylation factor (21-kDa GTP-binding proteins) | Capsicum annuum                | 99           | 114               | 1.10E-95   | 6            |
| Contig108 | NP_201307        | Annexin   | Arabidopsis thaliana           | 79           | 75                | 3.86E-28   | 5            |
| Contig38  | BAB84008         | Ascorbate peroxidase                                  | Brassica oleracea              | 93           | 46                | 4.41E-09   | 4            |
| Contig143 | AAD48913         | Caffeate O-methyltransferase                          | Liquidambar styraciflua        | 59           | 49                | 4.7647E-10 | 3            |
| Contig39  | AAA86982         | Caffeic acid O-methyl transferase                     | Chrysosplenium americanum      | 50           | 94                | 2.23E-21   | 4            |
| Contig49  | AAK25752         | Calmodulin  | Castanea sativa                | 100          | 84                | 2.87E-41   | 2            |
| Contig92  | Q9XJ57           | Chalcone synthase                                     | Citrus sinensis                | 100          | 88                | 1.03E-36   | 8            |
| Contig35  | Q9XJ57           | Chalcone synthase 2                                   | Citrus sinensis                | 97           | 145               | 4.1609E-75 | 2            |
| Contig46  | T10106           | Chitinase   | Citrus sinensis                | 95           | 105               | 8.4439E-56 | 131          |
| Contig53  | T10106           | Chitinase   | Citrus sinensis                | 96           | 112               | 5.65E-60   | 23           |
| Contig73  | T10106           | Chitinase   | Citrus sinensis                | 88           | 128               | 5.17E-63   | 13           |
| Contig85  | T10106           | Chitinase   | Citrus sinensis                | 90           | 166               | 1.7481E-77 | 3            |
| Contig133 | AAA80593         | Chlorophyll a/b binding protein                       | Solanum tuberosum              | 100          | 79                | 7.222E-41  | 6            |
| Contig79  | AAC15992         | Chlorophyll a/b binding protein                       | Oryza sativa                   | 97           | 37                | 2.19E-22   | 3            |
| Contig23  | AAD27882         | Chlorophyll a/b binding protein CP24 precursor        | Vigna radiata                  | 91           | 100               | 9.33E-51   | 2            |
| Contig10  | P12469           | Chlorophyll a/b binding protein precursor             | Nicotiana glauca               | 68           | 97                | 1.02E-29   | 2            |
| Contig105 | AAD21625         | Putative chlorophyll a/b binding protein              | Phalaenopsis sp. 'KCbutterfly' | 97           | 79                | 1.73E-57   | 16           |
| Contig116 | BAB09970         | Contains similarity to chalcone-flavonone isomerase   | Arabidopsis thaliana           | 67           | 89                | 1.11E-24   | 4            |
| Contig140 | AAM77651         | Cp10-like protein                                     | Gossypium hirsutum             | 64           | 109               | 4.7512E-25 | 2            |
| Contig106 | BAA83471         | Csf-3   | Cucumis sativus                | 92           | 25                | 5.89E-07   | 2            |
| Contig8   | CAC80550         | Cyclophilin   | Ricinus communis               | 94           | 159               | 1.25E-77   | 8            |
| Contig47  | NP_188923        | Early light-induced protein                           | Arabidopsis thaliana           | 83           | 89                | 2.99E-37   | 2            |
| Contig100 | BAB12722         | Gamma tonoplast intrinsic protein                     | Pyrus communis                 | 86           | 140               | 2.01E-52   | 3            |
| Contig70  | AAL04507         | Glutaredoxin  | Tilia platyphyllos             | 78           | 107               | 3.80E-44   | 2            |
| Contig95  | JQ1287           | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase              | Arabidopsis thaliana           | 95           | 65                | 4.44E-29   | 5            |
| Contig83  | BAA92155         | Glycine-rich protein                                  | Citrus unshiu                  | 100          | 31                | 2.30E-10   | 2            |
| Contig124 | AAM15999         | Glycine-rich RNA binding protein                      | Zea mays                       | 75           | 51                | 4.06E-27   | 9            |

continued from previous page.

|           |           |   |                                     |     |     |            |    |
|-----------|-----------|---|-------------------------------------|-----|-----|------------|----|
| Contig18  | AAF64525  | Histone H1 variant  | Lycopersicon chilense               | 70  | 87  | 1.71E-28   | 2  |
| Contig86  | AAG38522  | Lectin-related protein precursor  | Citrus x paradisi                   | 100 | 155 | 8.78E-85   | 11 |
| Contig88  | AAG38522  | Lectin-related protein precursor  | Citrus x paradisi                   | 87  | 62  | 1.11E-24   | 50 |
| Contig123 | AAG38522  | Lectin-related protein precursor  | Citrus x paradisi                   | 87  | 62  | 1.0505E-24 | 38 |
| Contig54  | AAG38517  | Miraculin-like protein  | Citrus x paradisi                   | 100 | 229 | 7.91E-129  | 23 |
| Contig134 | AAG38517  | Miraculin-like protein  | Citrus x paradisi                   | 96  | 110 | 3.87E-61   | 54 |
| Contig36  | AAG38518  | Miraculin-like protein 2  | Citrus x paradisi                   | 96  | 98  | 3.38E-56   | 4  |
| Contig74  | AAG38518  | Miraculin-like protein 2  | Citrus x paradisi                   | 46  | 219 | 4.40E-40   | 12 |
| Contig20  | AAG38518  | Miraculin-like protein 2  | Citrus x paradisi                   | 99  | 97  | 4.61E-50   | 12 |
| Contig31  | AAG38518  | Miraculin-like protein 2  | Citrus x paradisi                   | 100 | 236 | 7.141E-124 | 43 |
| Contig72  | AAG38518  | Miraculin-like protein 2  | Citrus x paradisi                   | 63  | 81  | 3.06E-47   | 4  |
| Contig81  | P42055    | 34 kDa outer mitochondrial membrane protein porin (Voltage-dependent anion-selective channel protein) | Solanum tuberosum                   | 85  | 154 | 2.84E-73   | 2  |
| Contig122 | BAA06335  | Peroxidase  | Populus kitakamiensis               | 71  | 56  | 5.30E-16   | 2  |
| Contig128 | AAL32688  | Plasma membrane intrinsic protein 1C (transmembrane protein B)  | Arabidopsis thaliana                | 93  | 60  | 3.36E-53   | 2  |
| Contig63  | AAD29676  | Plasma membrane MIP protein   | Zea mays                            | 88  | 136 | 1.2976E-63 | 2  |
| Contig43  | AAB68045  | Polyubiquitin   | Fragaria x ananassa                 | 97  | 38  | 1.31E-16   | 2  |
| Contig59  | NP_567244 | Predicted NADH dehydrogenase 24 kD subunit  | Arabidopsis thaliana                | 84  | 116 | 9.49E-51   | 2  |
| Contig1   | Q06652    | Probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase  | Citrus sinensis                     | 95  | 42  | 8.64E-25   | 2  |
| Contig80  | AAF71817  | Putative aquaporin PIP1-1   | Vitis berlandieri x Vitis rupestris | 92  | 53  | 7.4477E-24 | 5  |
| Contig68  | AAL67601  | Putative cinnamoyl-CoA reductase  | Oryza sativa                        | 54  | 69  | 4.5287E-12 | 2  |
| Contig103 | AAM66110  | Putative inorganic pyrophosphatase  | Arabidopsis thaliana                | 86  | 81  | 1.56E-34   | 2  |
| Contig78  | BAA95845  | Putative low temperature and salt responsive protein  | Oryza sativa                        | 81  | 57  | 3.54E-21   | 3  |
| Contig102 | AAK96474  | Putative photosystem I subunit III precursor  | Arabidopsis thaliana                | 88  | 67  | 1.5493E-29 | 2  |
| Contig29  | BAB64099  | Putative photosystem II subunit (22KDa) precursor   | Oryza sativa                        | 85  | 53  | 4.443E-21  | 2  |
| Contig136 | BAB33422  | Putative senescence-associated protein  | Pisum sativum                       | 77  | 73  | 9.37E-37   | 2  |
| Contig115 | AAL82519  | Putative transmembrane protein  | Oryza sativa                        | 73  | 99  | 8.29E-39   | 2  |
| Contig52  | AAG27431  | QM-like protein (tumor suppressor protein)  | Elaeis guineensis                   | 77  | 56  | 3.37E-20   | 2  |
| Contig4   | AAF34767  | 60S acidic ribosomal protein PO   | Euphorbia esula                     | 86  | 44  | 1.81E-16   | 5  |

continued from previous page.

|           |           |   |                                |    |     |            |    |
|-----------|-----------|---|--------------------------------|----|-----|------------|----|
| Contig14  | NP_187531 | Putative 60S acidic ribosomal protein P0                            | Arabidopsis thaliana           | 81 | 95  | 2.31E-38   | 2  |
| Contig62  | AAL09401  | Ribosomal protein   | Petunia x hybrida              | 87 | 52  | 3.86E-13   | 3  |
| Contig113 | CAC20221  | Ribosomal protein L2  | Glycine max                    | 97 | 39  | 9.64E-25   | 6  |
| Contig37  | BAB86520  | Ribosomal protein L28-like  | Oryza sativa                   | 76 | 144 | 3.0232E-57 | 3  |
| Contig56  | NP_197516 | Ribosomal protein L7Ae-like   | Arabidopsis thaliana           | 94 | 128 | 1.0209E-52 | 3  |
| Contig25  | AAL49933  | Ribosomal protein S4-like   | Arabidopsis thaliana           | 87 | 47  | 1.81E-19   | 3  |
| Contig44  | NP_191670 | Ribosomal protein S27   | Arabidopsis thaliana           | 94 | 81  | 1.14E-34   | 3  |
| Contig21  | CAA10101  | Ribosomal protein S28   | Prunus persica                 | 96 | 51  | 7.6337E-21 | 4  |
| Contig135 | CAC27136  | 40S ribosomal protein S2  | Picea abies                    | 78 | 74  | 4.2664E-27 | 4  |
| Contig129 | O24111    | 40S ribosomal protein S5  | Nicotiana glauca               | 88 | 119 | 2.4226E-48 | 4  |
| Contig19  | Q08069    | 40S ribosomal protein S8  | Zea mays                       | 92 | 71  | 1.61E-31   | 3  |
| Contig65  | Q9XHS0    | 40S ribosomal protein S12   | Hordeum vulgare subsp. vulgare | 87 | 52  | 7.75E-22   | 2  |
| Contig94  | AAF34799  | 40S ribosomal protein S16   | Euphorbia esula                | 94 | 90  | 2.42E-43   | 2  |
| Contig15  | NP_191088 | 60S ribosomal protein L23A  | Arabidopsis thaliana           | 83 | 99  | 1.38E-38   | 2  |
| Contig34  | NP_175640 | 60S ribosomal protein L37   | Arabidopsis thaliana           | 93 | 67  | 1.3327E-32 | 2  |
| Contig67  | Q96499    | 60S ribosomal protein L44   | Gossypium hirsutum             | 99 | 101 | 1.43E-55   | 2  |
| Contig144 | BAB93221  | Putative 60S ribosomal protein L36                                  | Oryza sativa                   | 79 | 110 | 5.4721E-45 | 3  |
| Contig130 | AAC77930  | Similar to ribosomal protein L32                                    | Medicago sativa                | 97 | 29  | 1.10E-07   | 2  |
| Contig60  | Q40250    | Ribulose biphosphate carboxylase small chain, chloroplast precursor | Lactuca sativa                 | 76 | 177 | 3.80E-80   | 20 |
| Contig26  | AAK71233  | S-adenosylmethionine synthetase                                     | Brassica juncea                | 97 | 63  | 1.42E-30   | 2  |
| Contig119 | AAF80615  | Similar to HMG(high-mobility-group) protein                         | Arabidopsis thaliana           | 71 | 115 | 4.34E-37   | 12 |
| Contig45  | AAD34458  | Skp1(suppressor of kinetochore protein )                            | Medicago sativa                | 85 | 156 | 7.18E-65   | 2  |
| Contig76  | AAB51394  | Tonoplast intrinsic protein bobTIP26-2                              | Brassica oleracea var.botrytis | 85 | 85  | 1.7616E-39 | 9  |
| Contig66  | Q9ZSW9    | Translationally controlled tumor protein homolog (TCTP)             | Hevea brasiliensis             | 93 | 168 | 3.47E-74   | 3  |
| Contig22  | S28420    | Ubiquitin /ribosomal protein CEP52                                  | Nicotiana glauca               | 99 | 128 | 3.26E-68   | 2  |
| Contig121 | CAA71132  | Ubiquitin extension protein   | Solanum tuberosum              | 98 | 88  | 9.15E-31   | 2  |
| Contig50  | O65781    | UDP-glucose 4-epimerase GEPI48 (Galactowaldenase)                   | Cyamopsis tetragonoloba        | 91 | 67  | 3.63E-31   | 2  |
| Contig17  | NP_564405 | Zinc-finger protein, putative                                       | Arabidopsis thaliana           | 82 | 22  | 1.58E-03   | 2  |
| Contig75  | AAF76226  | 14-3-3 Protein(tyrosine and tryptophan hydroxylases)                | Populus x canescens            | 83 | 23  | 8.96E-02   | 3  |

#### 4. 생리기능 카테고리별 유전자 분포

같은 기능을 하는 유전자일지라도 생물 중에 따라 작용하는 생리적인 기능은 조금씩 다르기 때문에 식물이 아닌 다른 생물의 유전자와 상동성을 보여 추정된 기능을 식물의 functional category 범주로 분류한다는 것은 문제가 있는 것으로 판단되었다. 따라서 original source가 식물인 유전자와 상동성을 보인 것들에 대해서만 생리적인 기능을 추정하기 위하여 상동성을 나타낸 GenBank 유전자들의 original source를 생물종별로 분류하였다. 그 결과, 기능이 추정된 291개 singleton과 상동성이 있는 것으로 조사된 GenBank 유전자의 original source는 70% 이상이 식물인 것으로 조사 되었으며 (Figure 9), 기능이 추정된 86개 contig와 상동성이 있는 것으로 조사된 GenBank 유전자의 original source는 모두 식물인 것으로 조사되었다. 따라서 식물 유전자와 상동성을 보인 singleton 208개와 contig 86개의 생리적인 기능을 분석하였다.

생리적인 기능 분석은 *Arabidopsis thaliana* 유전자를 14개의 functional category로 분류한 MIPs(Munich Information Centre for Protein Sequences) Ortholog Database와 비교하였고(Mewes 등 1997, 2002), (Trail 등 2003), 유전자의 기능에 대한 생리작용이 확실하게 알려진 것들은 functional category별로 분류하였으며, 그 외의 것들은 unclassified protein으로 하였다. 그 결과, 단백질합성, 대사, 에너지, 세포방어, 전사, 단백질행선지, 세포조직화, 신호전달, 수송기구, 기관분화, 세포분열성장, 세포발생, 세포수송, 기타에 관련된 unigene의 수는 각각 42, 35, 29, 23, 18, 17, 15, 12, 10, 7, 5, 5, 5, 71개였다(Figure 10).

식물유전자와 상동성이 있는 208개 singleton 중에서 생리적인 기능을 추정할 수 있었던 유전자는 물질대사 관련 유전자가 27개로 가장 많았고 단백질합성, 에너지대사 관련 유전자 순으로 나타났으며 47개 유전자는 현재까지 생리적인 기능이 잘 밝혀지지 않은 단백질(unclassified protein)의 합성에 관여하는 것으로 나타나 생리적인 기능을 추정할 수 없었다(Table 5). 따라서 지금까지 생리기능이 밝혀진 유전자들을 기준으로 볼 때, 온주밀감 미숙과실에서 기본적인 수준으로 전사된 singleton들은 물질대사, 단백질합성 및 에너지대사와 같은 식물의 기초대사에 많이 관여하는 것으로 판단되었다.

기능이 알려진 식물유전자와 상동성이 있는 것으로 추정된 86개 contig 중에서 생리

적인 기능을 추정할 수 있었던 유전자는 단백질합성과 관련된 것이 20개로 가장 많았고 에너지대사, 방어기작 관련 유전자 순으로 나타났으며 22개 유전자는 현재까지 생리적인 기능이 잘 밝혀지지 않은 단백질의 합성에 관여하는 것으로 나타나 생리적인 기능을 추정할 수 없었다(Table 6). 따라서 지금까지 생리기능이 밝혀진 유전자들을 기준으로 볼 때, contig들 역시 식물의 기초대사와 관련된 것들이 많이 분포하고 있는 것을 확인할 수 있었으며 세포방어기작과 관련된 유전자들의 분포도 높은 것을 확인할 수 있었다.

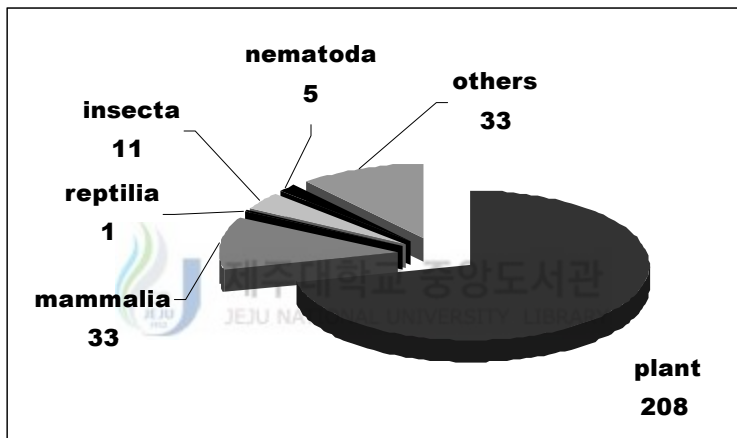


Figure 9. Taxonomic distribution of singletons matched to various organisms.

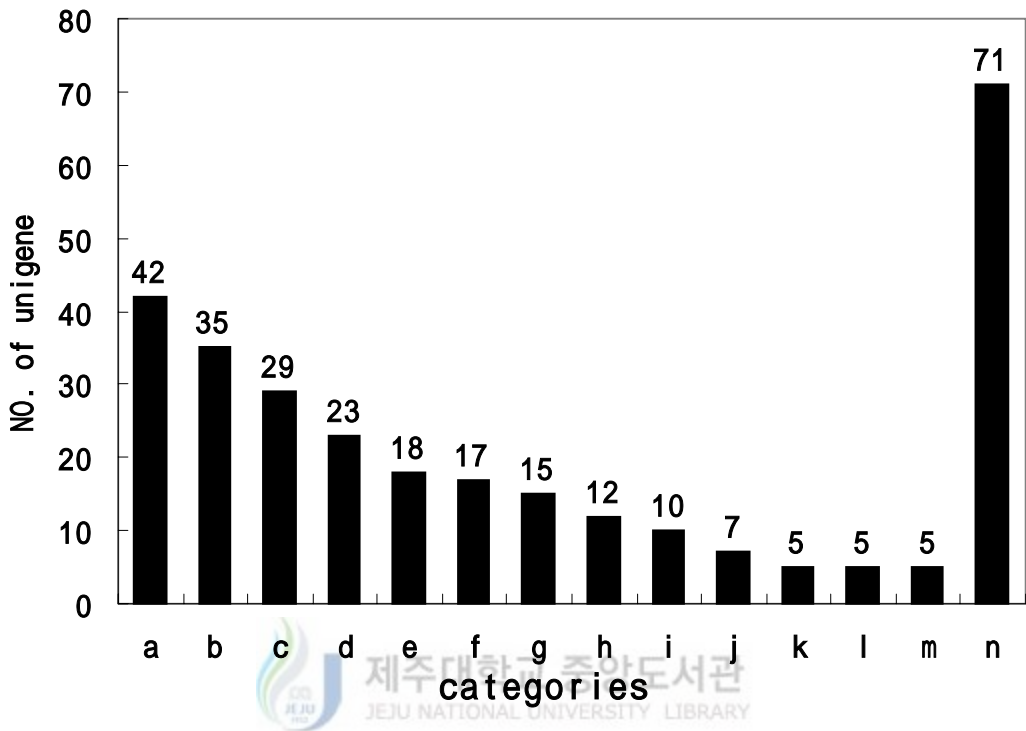


Figure 10. The frequency of 294 unigenes in each functional category of known plant gene in GenBank entries.

(a; protein synthesis, b; metabolism, c; energy, d; cell rescue, defense, cell death and ageing, e; transcription, f; protein destination, g; cellular organization, h; cellular communication/signal transduction, i; transport facilitation, j; development, k; cell growth, cell division and DNA synthesis, l; cellular biogenesis, m; cellular transport and transport mechanisms, n; unclassified proteins)

**Table 5. Distribution of singletons in the categories of known plant gene in GenBank entries**

|  |  |
|--|--|
| <b>CELL GROWTH, CELL DIVISION AND DNA SYNTHESIS(4)*</b>        |  |
| GTP binding nuclear protein RAN-1 (2)**                        | Profilin   |
| Putative Ran binding protein                                   |  |
| <b>CELL RESCUE, DEFENSE, CELL DEATH AND AGEING(15)*</b>        |  |
| Avr9 elicitor response protein, putative                       | Basic peroxidase homologue                                 |
| Catalase   | Chitinase precursor  |
| Chloroplast envelope membrane 70 kd heat shock-related protein | DnaJ protein homolog ZMDJ1                                 |
| Heat shock protein-like protein                                | LMW heat shock protein                                     |
| Metallothionein-like protein                                   | Peroxidase   |
| Putative disease resistance protein                            | Putative thaumatin-like protein                            |
| SCUTL2 (thaumatin-like protein) (2)**                          | Secretory peroxidase                                       |
| <b>CELLULAR BIOGENESIS(5)*</b>                                 |  |
| Caffeoyl-CoA-methyltransferase                                 | Caffeoyl-CoA O-methyltransferase - like protein            |
| CTA (short chain alcohol dehydrogenase)                        | Putative alcohol dehydrogenase                             |
| Reversibly glycosylated polypeptide                            |  |
| <b>CELLULAR COMMUNICATION/SIGNAL TRANSDUCTION(11)*</b>         |  |
| Calmodulin   | Gibberellin-regulated protein 1 precursor                  |
| GTP binding protein  | Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative |
| Mitogen activated protein kinase - like                        | Phosphoprotein phosphatase 2A-alpha catalytic chain        |
| Protein phosphatase 2C-like protein                            | Rab GDP dissociation inhibitor                             |
| RAB1C (GTP-binding protein)                                    | Response regulator-like protein                            |
| Serine/threonine-specific kinase like protein                  |  |
| <b>CELLULAR ORGANIZATION(13)*</b>                              |  |
| Annexin  |  |
| Extensin protein-like (2)**                                    | Beta-tubulin   |
| Plasma membrane intrinsic protein                              | Histone H2A  |
| Plasma membrane intrinsic protein 2-2                          | Plasma membrane intrinsic protein 1c, putative             |
| Synaptobrevin-like protein (2)**                               | Putative gamma tonoplast intrinsic protein                 |
| Voltage-dependent anion channel protein 1b                     | Tubulin alpha-5 chain                                      |
| <b>CELLULAR TRANSPORT AND TRANSPORT MECHANISMS(1)*</b>         |  |
| 2-Oxoglutarate/malate translocator                             |  |
| <b>DEVELOPMENT(4)*</b>   |  |
| Auxin-regulated protein (2)**                                  | Late embryonic abundant protein EMB3                       |
| Similar to late embryogenesis abundant proteins                |  |

continued from previous page.

**ENERGY(20)\***

Chlorophyll a/b-binding protein type I precursor (cab-6B)  
Chlorophyll a/b-binding protein 36, chloroplast precursor  
Probable chlorophyll a/b-binding protein  
Ferredoxin  
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, cytosolic  
Light-harvesting complex protein  
6.1 kda nuclear-encoded photosystem II reaction center subunit  
Phosphoglycerate kinase, chloroplast precursor  
Putative transketolase precursor  
Triosephosphate isomerase, cytosolic (2)\*\*

Chlorophyll a/b-binding protein type II, photosystem I  
Chlorophyll a/b-binding protein 37, chloroplast precursor  
Putative chlorophyll a/b-binding protein type 4  
Fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme  
Lhcb2 protein (type II LHC II antenna protein)  
NADH dehydrogenase (ubiquinone) chain TYKY.2 precursor  
Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplast precursor  
Photosystem II 10 kDa polypeptide, chloroplast precursor  
Similar to mitochondrial NAD-dependent malate dehydrogenase emb

**METABOLISM(27)\***

Anthocyanidin synthase  
Carbonyl reductase - like protein  
Cytochrome B5  
Cytokinin oxidase  
Enolase (2-phospho-D-glycerate hydrolyase)  
Flavonol 3-O-glucosyltransferase 1(UDP-glucose flavonoid 3-O-glucosyltransferase1)  
Glucosyltransferase NTGT2  
3-Isopropylmalate dehydratase, small subunit  
3-Oxyacyl-[acyl carrier protein] reductase  
Putative fructokinase 1 (2)\*\*  
S-adenosyl-methionine cycloartenol-C24-methyltransferase  
Strictosidine synthase-related; protein

Caffeic acid O-methyltransferase  
Chalcone reductase  
Cytochrome P450  
Endoxyloglucan transferase (2)\*\*  
FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase  
Geranylgeranyl pyrophosphate synthase  
Homocysteine S-methyltransferase-4  
Laccase  
N-ydroxycinnamoyl/benzoyltransferase -like protein  
Putative phospholipase  
Serine O-acetyltransferase  
Xyloglucan endotransglycosylase (2)\*\*

**PROTEIN DESTINATION(14)\***

Chaperonin 60  
Cysteine proteinase  
Polyubiquitin  
Subtilisin-like proteinase homolog F14F18.110  
Ubiquitin conjugating enzyme  
Ubiquitin-conjugating enzyme E2-20 kDa  
Vegetative storage protein Vsp2

Cysteine protease inhibitor  
Patatin-like protein 1  
Putative beta5 proteasome subunit  
Ubiquitin-activating enzyme homolog  
Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kd (2)\*\*  
Ubiquitin-conjugating enzyme UBC2

**PROTEIN SYNTHESIS(22)\***

Chloroplast ribosomal Protein  
Elongation factor 1 alpha  
Elongation factor 1 alpha 2  
Mitochondrial ribosomal protein S14  
Ribosomal protein S15-like  
Ribosomal protein s6 RPS6-2  
60S ribosomal protein L17-1  
Putative 60S ribosomal protein (fragment)  
Putative 60S ribosomal protein L23A  
T19E23.15(similar to 60S ribosomal protein L21)

Cytoplasmic ribosomal protein L18  
Elongation factor 1 alpha 1  
Elongation factor 1B alpha-subunit (2)\*\*  
Ribosomal protein L10.e, cytosolic  
Ribosomal protein S3a  
40S Ribosomal protein S4  
Putative 40S Ribosomal protein  
Putative 60S ribosomal protein L13a  
Putative ribosomal protein S4  
Translation initiation factor



continued from previous page.

Unnamed protein product-Similar to Zea mays acidic ribosomal protein

#### TRANSCRIPTION(16)\*

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| AP2 domain containing protein RAP2.1 | Cleavage stimulation factor 50K chain            |
| DNA-binding protein S1FA             | DNA-binding protein p24                          |
| Putative DNA binding protein         | Exonuclease RRP41                                |
| GATA zinc finger protein (2)**       | Homeobox protein                                 |
| Homeobox protein HAT22               | MADS box protein - MADS-box transcription factor |
| MADS box protein 2                   | Putative protein translation factor              |
| Transcription factor CMB             | Transcription factor CRC                         |
| Zinc finger protein                  |  |

#### TRANSPORT FACILITATION(7)\*

|  |  |
|--|--|
| Lipid transfer protein 2                       | Nonspecific lipid-transfer protein 2 precursor         |
| Nonspecific lipid-transfer protein 3 precursor | Vacuolar ATP synthase 16 kDa proteolipid subunit (2)** |
| Vacuolar ATPase subunit c                      | V-ATPase G-subunit like protein                        |

#### UNCLASSIFIED PROTEINS(49)\*

|  |   |
|--|---|
| 14-3-3 Protein homolog BLT3  | 2C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase                                    |
| Aluminium-induced protein - like   | ATP synthase delta' chain, mitochondrial precursor                                      |
| Auxin-induced protein, putative (2)**  | Highly similar to auxin-induced protein   |
| Bis(5'-adenosyl)-triphosphatase-like; also similar to fragile histidine triad (2)**          | Chain A, reduced form of the H protein from glycine decarboxylase complex               |
| Dehydroascorbate reductase   | Delta-aminolevulinic acid dehydratase (Alad), putative                                  |
| Endochitinase A precursor (CHN-A)  | Ethylene-forming enzyme   |
| F-box protein family   | G2/mitotic-specific cyclin 2 (B-like cyclin)  |
| Glyoxalase I, putative (lactoylglutathione lyase); protein                                   | GTP binding protein   |
| L-ascorbate peroxidase   | Mannitol dehydrogenase  |
| Ornithine carbamoyltransferase precursor   | Phosphate-induced protein 1-like protein  |
| Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase 2, chloroplast precursor                         | Photosystem I reaction center subunit X   |
| Phytohemagglutinin   | PRH26 (similar to microbial PAPS reductase; similar to Thioredoxin-type protein family) |
| Probable Clp proteinase  | Proline-rich protein APG-like   |
| Protein kinase CK2, alpha subunit  | Putative glutathione S-transferase OsGSTT1  |
| Similar to glutathione S-transferase   | Putative NADPH-dependent oxidoreductase   |
| Putative NAM (no apical meristem) protein (2)**  | Putative P-protein: chorismate mutase, prephenate dehydratase                           |
| Putative receptor-like protein kinase  | Putative tonoplast membrane integral protein  |
| Rieske Fe-S precursor protein  | Sesquiterpene synthase 2  |
| S-like ribonuclease RNS2   | SRG1-like protein   |
| Superoxide dismutase [Cu-Zn] 1   | Superoxide dismutase [Fe], chloroplast precursor  |
| Syringolide-induced protein  | TED3 (vascular cell-specific gene)  |
| Thiazole biosynthetic enzyme 1-2, chloroplast precursor                                      | TIM17(component of the mitochondrial inner membrane pre-protein translocase)            |
| Toc34-2 protein (a component of the protein translocon at the outer envelope of chloroplast) | Tumor suppressor, putative  |

()\* : The number of singleton belong to each category.

()\*\* : The number of singleton.

Table 6. Distribution of contigs in the categories of known plant gene in GenBank entries

|  |   |
|--|---|
| <b>CELL GROWTH, CELL DIVISION AND DNA SYNTHESIS(1<sup>*</sup>, 2<sup>**</sup>)</b>             |   |
| Skp1(suppressor of kinetochore protein) (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                    |   |
| <b>CELL RESCUE, DEFENSE, CELL DEATH AND AGEING(8<sup>*</sup>, 179<sup>**</sup>)</b>            |   |
| Chitinase (4 <sup>*</sup> , 170 <sup>**</sup> )  | Peroxidase (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )  |
| Probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> ) | Putative low temperature and salt responsive protein (1 <sup>*</sup> , 3 <sup>**</sup> )                  |
| Putative senescence-associated protein (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                     |   |
| <b>CELLULAR BIOGENESIS(3<sup>*</sup>, 7<sup>**</sup>)</b>                                      |   |
| Actin depolymerizing factor 3 (1 <sup>*</sup> , 3 <sup>**</sup> )                              | Glycine-rich protein (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )  |
| UDP-glucose 4-epimerase GEPI48 (Galactowaldenase) (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )          |   |
| <b>CELLULAR COMMUNICATION/SIGNAL TRANSDUCTION(1<sup>*</sup>, 2<sup>**</sup>)</b>               |   |
| Calmodulin (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )   |   |
| <b>CELLULAR ORGANIZATION(2<sup>*</sup>, 7<sup>**</sup>)</b>                                    |   |
| Annexin (1 <sup>*</sup> , 5 <sup>**</sup> )  | Plasma membrane intrinsic protein 1C (transmembrane proteinB) (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )         |
| <b>CELLULAR TRANSPORT AND TRANSPORT MECHANISMS(4<sup>*</sup>, 23<sup>**</sup>)</b>             |   |
| ADP-ribosylation factor (21-kDa GTP-binding proteins) (1 <sup>*</sup> , 6 <sup>**</sup> )      | Gamma tonoplast intrinsic protein (1 <sup>*</sup> , 3 <sup>**</sup> )                                     |
| Putative aquaporin PIP1-1 (1 <sup>*</sup> , 5 <sup>**</sup> )                                  | Tonoplast intrinsic protein bobTIP26-2 (1 <sup>*</sup> , 9 <sup>**</sup> )                                |
| <b>ENERGY(9<sup>*</sup>, 55<sup>**</sup>)</b>  |   |
| Chlorophyll a/b binding protein (2 <sup>*</sup> , 9 <sup>**</sup> )                            | Chlorophyll a/b binding protein CP24 precursor (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                        |
| Chlorophyll a/b binding protein precursor (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                  | Putative chlorophyll a/b binding protein (1 <sup>*</sup> , 16 <sup>**</sup> )                             |
| Predicted NADH dehydrogenase 24 kD subunit (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                 | Putative photosystem I subunit III precursor (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                          |
| Putative photosystem II subunit (22KDa) precursor (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )          | Ribulose bisphosphate carboxylase small chain, chloroplast precursor (1 <sup>*</sup> , 20 <sup>**</sup> ) |
| <b>METABOLISM(8<sup>*</sup>, 27<sup>**</sup>)</b>  |   |
| Caffeic acid O-methyl transferase (1 <sup>*</sup> , 4 <sup>**</sup> )                          | Chalcone synthase (1 <sup>*</sup> , 8 <sup>**</sup> )   |
| Chalcone synthase 2 (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )  | Glutaredoxin (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )  |
| Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (1 <sup>*</sup> , 5 <sup>**</sup> )                   | Putative cinnamoyl-CoA reductase (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                                      |
| Putative inorganic pyrophosphatase (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                         | S-adenosylmethionine synthetase (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                                       |
| <b>PROTEIN DESTINATION(3<sup>*</sup>, 12<sup>**</sup>)</b>                                     |   |
| Cyclophilin (1 <sup>*</sup> , 8 <sup>**</sup> )  | Polyubiquitin (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )   |
| Ubiquitin extension protein (1 <sup>*</sup> , 2 <sup>**</sup> )                                |   |

continued from previous page.

**PROTEIN SYNTHESIS(20<sup>\*</sup>, 60<sup>\*\*</sup>)**

60S acidic ribosomal protein PO (1<sup>\*</sup>, 5<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein L28-like (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein S4-like (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein S28 (1<sup>\*</sup>, 4<sup>\*\*</sup>)  
40S ribosomal protein S5 (1<sup>\*</sup>, 4<sup>\*\*</sup>)  
40S ribosomal protein S12 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
60S ribosomal protein L23A (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
60S ribosomal protein L44 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Similar to ribosomal protein L32 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)

Putative 60S acidic ribosomal protein PO (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein L2 (1<sup>\*</sup>, 6<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein L7Ae-like (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
Ribosomal protein S27 (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
40S ribosomal protein S2 (1<sup>\*</sup>, 4<sup>\*\*</sup>)  
40S ribosomal protein S8 (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
40S ribosomal protein S16 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
60S ribosomal protein L37 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Putative 60S ribosomal protein L36 (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
Ubiquitin /ribosomal protein CEP52 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)

**TRANSCRIPTION(2<sup>\*</sup>, 4<sup>\*\*</sup>)**

Histone H1 variant (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)

Zinc-finger protein, putative (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)

**TRANSPORT FACILITATION(3<sup>\*</sup>, 6<sup>\*\*</sup>)**

Adenosine triphosphatase; c-subunit of V-ATPase (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Putative transmembrane protein (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)

34 kDa outer mitochondrial membrane protein porin  
(Voltage-dependent anion-selective channel protein) (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)

**UNCLASSIFIED PROTEINS(22<sup>\*</sup>, 299<sup>\*\*</sup>)**

Ascorbate peroxidase (1<sup>\*</sup>, 4<sup>\*\*</sup>)  
Contains similarity to chalcone-flavonone isomerase (1<sup>\*</sup>, 4<sup>\*\*</sup>)  
Csf-3 (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Glycine-rich RNA binding protein (1<sup>\*</sup>, 9<sup>\*\*</sup>)  
Miraculin-like protein (2<sup>\*</sup>, 77<sup>\*\*</sup>)  
Plasma membrane MIP protein (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Similar to HMG(high-mobility-group) protein (1<sup>\*</sup>, 12<sup>\*\*</sup>)  
14-3-3 Protein(tyrosine and tryptophan hydroxylases)  
(1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)

Caffeate O-methyltransferase (1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)  
Cp10-like protein (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Early light-induced protein (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Lectin-related protein precursor (3<sup>\*</sup>, 99<sup>\*\*</sup>)  
Miraculin-like protein 2 (5<sup>\*</sup>, 75<sup>\*\*</sup>)  
QM-like protein (tumor supressor protein) (1<sup>\*</sup>, 2<sup>\*\*</sup>)  
Translationally controlled tumor protein homolog (TCTP)  
(1<sup>\*</sup>, 3<sup>\*\*</sup>)

\* : The number of contig.

\*\* : The number of cDNA clone.

## 5. 주요발현유전자

기능이 추정된 86개 contig들이 중복 되어 클로닝 된 것은 전사수준에서 발현이 높은 데서 기인한 것으로 온주밀감 미숙과실의 발육과정에 중요한 역할을 하는 유전자들로 판단되었다. 따라서 contig 유전자들의 cDNA 클론 수를 기준으로 전사수준에서 발현양상을 분석하였다(Joseph 등 2000), (Colette 등 2002). 그 결과 chitinase 관련 유전자가 가장 발현빈도가 높은 것을 확인할 수 있었으며, 그 다음은 miraculin, lectin, chlorophyll A/B binding protein, ribulose biphosphate carboxylase 관련 유전자순으로 나타났다. 그 외의 contig들은 singleton 보다 발현이 높은 것을 확인할 수는 있었으나 특별히 높은 발현양상을 나타내지는 않았다(Table 6).

### Chitinase 관련 유전자

온주밀감 미숙과실에서 가장 발현빈도가 높은 것은 chitinase 합성 관련 유전자였으며, 171개의 클론이 5가지 염기서열 유형으로 클로닝 되어 2가지 종류의 chitinase와 고도의 상동성을 보였다(Table 6).

기능이 추정된 contig 중 *C. sinensis*에서 chitinase 유전자로 알려진 T10106(Accession NO.)과 상동성이 있는 것으로 조사되어 chitinase 합성과 관련이 있는 것으로 판단된 유전자는 contig 46, 53, 73과 85 네 가지 유형으로 나타났다. 그 중 contig 46은 131개의 클론이 중복 클로닝 된 것으로 가장 높은 발현양상을 보였고, 다른 세 가지들도 각각 23, 13, 3개의 클론이 중복 클리닝 되어 발현이 높은 것으로 판단되었다(Table 4). 이러한 4가지 유형의 contig 외에 하나의 singleton(CT02FJ08.ab1)도 chitinase 합성 관련 유전자와 상동성을 보여 온주밀감 미숙과실의 발육과정에서 발현되는 chitinase 합성 관련 유전자는 모두 5가지 유형으로 확인되었다.

Contig를 형성하여 발현이 높은 것으로 확인된 4가지 chitinase 합성 관련 유전자를 GenBank에 등록되어 있는 감귤류의 chitinase 유전자(T10106)와 비교하고 서로간의 상동성을 구체적으로 확인하기 위하여 contig들의 부분염기서열에 해당하는 아미노산서열과 T10106의 아미노산서열을 multialignment 하였으며 multialignment에는 Dialign2

와 GeneDoc 프로그램을 이용하였다. 그 결과, contig 73의 부분염기서열은 T10106 유전자의 ORF(open reading frame) 중 N 말단 쪽 아미노산서열과 상동성을 나타내는 것으로 확인되었고, 그 외 contig 46, 53, 85는 ORF 중 C 말단 쪽 아미노산서열과 상동성을 나타내는 것으로 확인되었다. 또한 4가지의 contig들은 모두 T10106과 고도의 상동성을 보여 chitinase 합성에 관여할 가능성이 높은 것으로 판단되었다(Figure 12).

식물에서 합성되는 chitinase는 chitin을 함유하고 있는 해충을 분해함으로써 식물체를 해충으로부터 보호하는 세포방어기작에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 (Bol 등 1990), (Bowels, 1990). 이와 같이 chitinase 합성 관련 유전자가 온주밀감 미숙 과실의 발육과정에서 높은 발현양상을 보이는 것은 해충에 대한 저항성 생리작용이 다른 어떤 대사보다도 왕성하게 일어나고 있기 때문으로 판단되었다.



```

      *           20           *           40           *
gi7435356 : MRLIGSLILFSLVLSFVLGGSAQNCGSGVVYGERDTGHGTDGGELGKIIISREMFDDL : 58
C73       : MRLIGSLILFSLVLSFVLGGSAQNCGSGVVYGERDTGHGTDGGELGKIIISREMFDDL : 58
C46       : ----- : -
C53       : ----- : -
C85       : ----- : -
      MRLIGSLILFSLVLSFVLGGSAQNCGSGVVYGERDTGHGTDGGELGKIIISREMFDDL

      60           *           80           *           100          *
gi7435356 : EYRNDARCPCARGFYTYDAFIEAAQAFPGFGNSGNETMRKREIAAFFAQTGHETTGGWP : 116
C73       : EYRNDARCPCARGFYTYDAFIEAAQAFPGFGNSGNETMRKREIAAFFAQTGHETTGGWP : 116
C46       : ----- : -
C53       : ----- : -
C85       : ----- : -
      EYRNDARCPCARGFYTYDAFIEAAQAFPGFGNSGNETMRKREIAAFFAQTGHETTGGWP

      120          *           140          *           160          *
gi7435356 : DAPGGEYAWGYCFIIEVSPFSDYCDPNYPCRGKYYGRGPIQLSWNYNYLRCGEGGLGL : 173
C73       : DAPGGEYAWGYCIROVSPASSDYCYPCPCP : 149
C46       : ----- : -
C53       : ----- : -
C85       : ----- : -
      DAPGGEYAWGYC5IR2VSPASSDYCDPNCPCPGKYYGRGPIQLSWNYNYLRCGEGGLGL

      180          *           200          *           220          *
gi7435356 : GEELLNPDLLATDPVLSFKSAIWFWMTAQPPKPSCHEVIIDEWKPSANDVNAGRLPG : 231
C73       : ----- : -
C46       : -----PVLSFKSAIWFWMTAQPPKPSCHEVIIDEWKPSANDVNAGRLPG : 44
C53       : -----MTAQPPKPSCHEVIIDEWKPSANDVNAGRLPG : 32
C85       : -----MTAQPPKPSCHEVIIDEWKPSANDVNAGRLPG : 32
      GEELLNPDLLATDPVLSFKSAIWFWMTAQPPKPSCHEVIIDEWKPSANDVNAGRLPG

      240          *           260          *           280          *
gi7435356 : YGLTTNIINGGIECGGGNAAVRNRIGFFTFCGKFGIQPGDSLDCYNQRPYGLNLMA : 289
C73       : ----- : -
C46       : YGLTTNIINGGIECGYVGNDAVRNRIGFFTFCGKFGIQPGDNLDCSNQRPYGLNLMA : 102
C53       : YGLTTNIINGGIECGYVGNDAVRNRIGFFTFCGKFGIQPGDNLDCSNQRPYGLNLMA : 90
C85       : YGLTTNIINGGIECGHGGNAAVRNRIGFFSTFCGKFGIQPGDNLDCYHQPFGLLMA : 90
      YGLTTNIINGGIECGYGGNAAVRNRIGFF3TFCGKFGIQPGDNLDCSNQRP5GLNLMA

gi7435356 : QSM- : 292
C73       : ---- : -
C46       : QSMS : 106
C53       : QSMS : 94
C85       : RSMS : 94
           QSMS

```

**Figure 11. Multialignment of amino acid sequence of chitinase and 4 type putative chitinase using GeneDoc program.**

gi 7435356 - chitinase ; *C. sinensis*

C46 - contig 46, C53 - contig 53, C73 - contig 73, C85 - contig 85.

## Miraculin 관련 유전자

유전자 발현빈도가 두 번째로 높게 확인된 것은 miraculin 유전자였으며, 152개의 클론이 7가지 염기서열 유형으로 클로닝 되어 2가지 종류의 miraculin 유전자와 고도의 상동성을 보였다(Table 6).

Miraculin과 고도의 상동성을 보인 것은 모두 contig 이었는데 그 중 contig 134는 54개의 클론이 중복 클로닝 된 것으로 확인되어 가장 높은 발현양상을 보였으며, 그 외 contig 31, 54, 74, 20, 36, 72에서도 각각 43, 23, 12, 12, 4, 4개의 클론이 중복 클로닝 된 것으로 확인되어 발현이 높은 것으로 판단되었다.

이러한 7가지 유형의 유전자는 지금까지 감귤류에서 알려진 세 가지 종류의 miraculin 유전자 중 두 가지(Accession NO. AAG38517, AAG38518)와 상동성이 있는 것으로 확인되었다(Table 4). 그래서 기존에 알려진 두 가지 유전자와 contig들을 동시에 비교하고 상동성을 구체적으로 확인하기 위하여 contig들의 부분염기서열에 해당하는 아미노산서열을 AAG38517와 AAG38518의 아미노산서열과 multialignment하였다. 그 결과, 모든 contig들이 AAG38517와 AAG38518과 고도의 상동성이 있는 것으로 확인되어 miraculin 유전자일 가능성이 높은 것으로 생각되었다. 특히 contig 31, 54, 74는 기존에 알려진 유전자의 전체 ORF와 상동성이 있는 것으로 확인되어 miraculin 유전자일 가능성이 아주 높은 것으로 확인되었다(Figure 13).

이와 같이 감귤과실의 발육과정에 miraculin 관련 유전자가 높은 발현양상을 보이는 것은 miraculin이 과실발육에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었는데, miraculin은 서부아프리카의 딸기(*Richadella dulcifica*)류에서 처음 얻어진 당단백질로서 과실의 신맛을 단맛으로 변화시켜주는 기능을 하는 것으로 잘 알려져 있다(Noriko 등 1990). 따라서 miraculin 관련 유전자들이 기능이 추정된 contig들 중 두 번째로 높은 발현양상을 보이는 것으로 보아 온주밀감 미숙과실의 발육과정에서 당대사가 활발히 일어나는 것으로 생각되었다. 특히 지금까지 알려진 miraculin 관련 유전자들이 과실의 flavedo에서 선발된 것이어서 이들 유전자 또한 온주밀감 미숙과실 과피의 flavedo에서도 발현되고 있는 것으로 판단되었으며, 과피형성 또는 과육발육에 필요한 당대사에 중요한 역할을 하는 것으로 추정되었다.





## Lectin 관련 유전자

유전자 발현빈도가 세 번째로 높게 확인된 것은 lectin 이었으며, 99개의 클론이 3가지 염기서열 유형으로 클로닝 되어 한 가지 종류의 lectin과 고도의 상동성을 보였다 (Table 6).

지금까지 GenBank에 등록된 lectin 합성 관련 유전자 중 감귤류에서 클로닝 된 것은 한 종류가 있으며, 이 유전자는 자몽의 flavedo에서 클로닝 된 AAG38522 (Accession NO.) 인데 contig 86, 88과 123은 모두 이 유전자와 고도의 상동성을 보였다. 그 중 contig 88은 50개의 클론이 중복 클로닝 된 것으로 확인되어 발현이 가장 높은 것을 알 수 있었으며, 그 외 contig 86, 123도 각각 11, 38개의 클론이 중복 클로닝 된 것으로 확인되어 미숙과실 발육시 발현이 높은 것으로 판단되었다(Table 4).

이 세 가지의 contig와 AAG38522의 유전자를 동시에 비교하고 상동성을 구체적으로 확인하기 위하여 contig의 부분염기서열에 해당하는 아미노산서열과 AAG38522의 아미노산서열을 multialignment하여 본 결과, contig 88의 부분염기서열은 AAG38522 유전자의 ORF 중 N 말단 쪽 아미노산서열과 고도의 상동성이 있는 것을 확인할 수 있었고, 그 외 contig 86, 123은 ORF 중 C 말단 쪽 아미노산서열과 고도의 상동성이 있는 것을 확인할 수 있었다(Figure 13). 따라서 이 세 가지 유전자들은 미숙과실 과피의 flavedo에서 발현되어 lectin 합성에 관여할 가능성이 높은 것으로 추정되었다.

Lectin은 면역 증강 효과, 항암 효과 등이 있는 약리활성물질로 잘 알려져 있으나 아직까지 식물에서는 정확한 생리기능이 확인되지 않았다. 그러므로 이와 관련된 유전자들을 Table 6에서는 'unclassified protein'으로 분류되었지만, 식물에서 합성되는 lectin은 곤충에 독성을 나타낸다는 보고들이 있어 식물의 해충방어기작에 중요한 역할을 하는 것으로 추정되고 있다(Ming 등 2002). 따라서 이와 관련된 유전자들의 발현빈도가 높은 것은 온주밀감 미숙과실의 발육과정에서 chitinase 합성 관련 유전자들과 함께 해충 방어기작에 중요한 역할을 하고 있기 때문으로 판단되었다.

```

          *           20           *           40           *
gi11596188 : MIFLLLLSVFLRGASSSILSEDTPIISFSFSPFAKDCDNKTLICYGAIES : 50
C86         : MIFLLLLSVFLRGASSSILSEDTPIISFSFSPFAKDCDNKTLICYGAIES : 50
C88         : ----- : 1
C123        : ----- : 1
          60           *           80           *           100
gi11596188 : SGALSITPGPPPNNLPIRKVGRVLYGKPLSLQRSFIDTTITIKISRQNYT : 100
C86         : SGALSITPGPPPNNLPIRKVGRVLYGKPLSLQRSFIDTTITIKISRQNYT : 100
C88         : ----- : -
C123        : ----- : -
          120          *           140          *
gi11596188 : DRAGDGMTFIFASDKNGPSAKGVGEYLGLOSSPGDKFPPLAVELDTCLNK : 150
C86         : DRAGDGMTFIFASDKNGPSAKGVGEYLGLOSSPGDKFPPLAVELDTCLNK : 150
C88         : ----- : 3
C123        : ----- : 3
          160          *           180          *           200
gi11596188 : NLNDPDDNHIGIDINGIESNPVNSLLDVDLKSGRAIQVRIYYNPDFGQLS : 200
C86         : NLNDP----- : 155
C88         : ----- : -
C123        : ----- : -
          220          *           240          *
gi11596188 : IYAAYSGETLVKVIIEKPINLSDIIPTPVYVGFTAATGDFLESHEVINWTF : 250
C86         : ----- : -
C88         : ----- : 37
C123        : ----- : 37
          260
gi11596188 : NSFPVPPSLKEKNLVMPI : 268
C86         : ----- : -
C88         : NSFPVPPSLKEKNLVMPI : 55
C123        : NSFPVPPSLKEKNLVMPI : 55
          NSFPVPPSLKEKNLVMPI

```

Figure 13. Multialignment of amino acid sequence of citrus lectin and 3 type putative lectin using GeneDoc program.

gi 11596188 - lectin ; *Citrus x paradisi*

C86 - contig 86, C88 - contig 88, C123 - contig 123.

## Chlorophyll A/B binding protein 관련 유전자

앞에서 언급한 세 가지 유전자들 외에 유전자의 발현빈도가 높게 확인된 것 중 하나는 chlorophyll A/B binding protein 관련 유전자이었다. 기능이 추정된 contig 중 chlorophyll A/B binding protein과 관련이 있는 유전자는 16개의 클론이 중복 클로닝 되어 가장 발현이 높은 것으로 판단되는 contig 105를 비롯하여 각각 6, 3, 2, 2개의 클론이 중복 클로닝 된 contig 133, 79, 23, 10이 확인되었으며, 29개의 클론이 5가지 염기서열 유형으로 클로닝 되어 5가지 종류의 chlorophyll A/B binding protein 관련 유전자와 상동성이 있는 것으로 나타났다(Table 6).

또한 Table 5의 singleton들 중에도 chlorophyll A/B binding protein 관련 유전자와 상동성이 있는 유전자들이 6가지 유형으로 존재하는 것이 확인되어 온주밀감 미숙과실의 발육과정에는 다양한 형태의 유전자들이 엽록소 형성에 관여하는 것으로 생각되었다.

이 유전자들 중에서 가장 발현이 높은 contig 105는 GenBank에 등록되어 있는 chlorophyll A/B binding protein(Accession No. AAD21625)과 고도의 상동성을 보였으므로 multialignment를 통하여 아미노산서열 수준에서 두 유전자를 비교하여 보았다. 그 결과, contig 105의 부분염기서열에 해당하는 아미노산서열은 AAD21625의 유전자 ORF 중 C 말단 쪽 아미노산서열과 고도의 상동성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(Figure 14).

이와 같이 온주밀감 미숙과실에서 광합성기작에 중요한 역할을 하는 chlorophyll A/B binding proteins 관련 유전자가 다양한 형태로 발현되고 있고, 다소 발현양상이 높은 유전자들도 확인되는 것은 미숙과실에서도 광합성관련 에너지대사가 활발히 진행되고 있기 때문으로 판단되었다.

```

      *           20           *           40           *
gi4512125 : MAATAATMALSSPSFAGKAVKISPSNVLIFGEGRITMQDKTTSNRPRRTAG : 51
C105      : -----

      60           *           80           *           100
gi4512125 : KLRPATSSPWYGPDRVKYLGPFSGEPPSYLTGEFFPGDYGWDTAGLSADPET : 102
C105      : -----

      *           120           *           140           *
gi4512125 : FAKNRELEVIHSRWAMLGALGCIFPELLARNGVKFGEAVWFKAGSQIFSEG : 153
C105      : -----

      160           *           180           *           200
gi4512125 : GLDYLGPNPLIHAQSILAIWAVQVVLMGAVEGYRIAGGPLGEITDPLYPGN : 204
C105      : -----LYPGG : 5
              LYPG

      *           220           *           240           *
gi4512125 : SFDPLGLADDPEAF AELKVKE LKNR LAMFSMFGFFVQAI VTKGKPLENLA : 255
C105      : SFDPLGLADDPEAF AELKVKE IKNR LAMFSMFGFFVQAI VTKGKPLENLA : 56
              SFDPLGLADDPEAF AELKVKE 6KNR LAMFSMFGFFVQAI VTKGKPLENLA

      260           *
gi4512125 : DHLADPVN NNAWAYATNFVPGK : 277
C105      : DHLADPVN NNAWAYATNFVPGK : 78
              DHLADPVN NNAWAYATNFVPGK

```



Figure 14. Multialignment of amino acid sequence of plant chlorophyll A/B binding protein and putative chlorophyll A/B binding protein using GeneDoc program.

gi 4512125 - chlorophyll A/B binding protein ; *Phalaenopsis sp. 'KCbutterfly'*

C105 - contig 105.

```

      *           20           *           40           *
gi4512125 : MAATAATMALSSPSFAGKAVKISPSNVLIFGEGRITMQDKTTSNRPRRTAG : 51
C105      : -----

      60           *           80           *           100
gi4512125 : KLRPATSSPWYGPDRVKYLGPFSGEPPSYLTGEFFPGDYGWDTAGLSADPET : 102
C105      : -----

      *           120           *           140           *
gi4512125 : FAKNRELEVIHSRWAMLGALGCIFPELLARNGVKFGEAVWFKAGSQIFSEG : 153
C105      : -----

      160           *           180           *           200
gi4512125 : GLDYLGPNPLIHAQSILAIWAVQVVLMGAVEGYRIAGGPLGEITDPLYPGN : 204
C105      : -----LYPGG : 5
              LYPG

      *           220           *           240           *
gi4512125 : SFDPLGLADDPEAF AELKVKE LKNR LAMFSMFGFFVQAI VTKGKPLENLA : 255
C105      : SFDPLGLADDPEAF AELKVKE IKNR LAMFSMFGFFVQAI VTKGKPLENLA : 56
              SFDPLGLADDPEAF AELKVKE 6KNR LAMFSMFGFFVQAI VTKGKPLENLA

      260           *
gi4512125 : DHLADPVNNAWAYATNFVPGK : 277
C105      : DHLADPVNNAWAYATNFVPGK : 78
              DHLADPVNNAWAYATNFVPGK

```



Figure 14. Multialignment of amino acid sequence of plant chlorophyll A/B binding protein and putative chlorophyll A/B binding protein using GeneDoc program.

gi 4512125 - chlorophyll A/B binding protein ; *Phalaenopsis sp. 'KCbutterfly'*

C105 - contig 105.

### Ribulose biphosphate carboxylase 관련 유전자

기능이 추정된 contig 중 ribulose biphosphate carboxylase small chain과 관련이 있는 contig 60도 20개의 클론이 중복 클로닝 되어 발현이 높은 것을 알 수 있었다 (Table 6). Contig 6은 GenBank에 등록되어 있는 *Lactuca sativa*의 Q40250(Accession No.) 유전자와 고도의 상동성이 있는 것으로 확인되어 multialignment로 두 유전자의 아미노산서열을 비교하였다. 그 결과, contig 60의 부분염기서열에 해당하는 아미노산서열은 Q40250 유전자의 전체 ORF와 상동성을 나타내어 ribulose biphosphate carboxylase small chain 합성 유전자일 가능성이 아주 높은 것으로 판단되었다(Figure 15). 따라서 온주밀감 미숙과실의 발육과정에서 광합성과 pentose 산분해의 두 가지 반응에 관여하는 ribulose biphosphate carboxylase 관련 유전자가 다소 높은 발현을 나타내는 것으로 보아 이 유전자 역시 미숙과실에서의 광합성 관련 에너지대사에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었다.

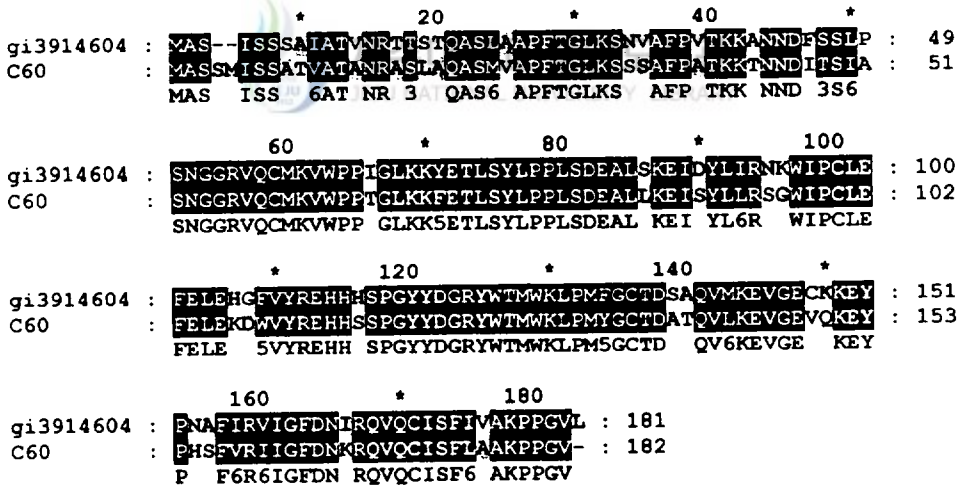


Figure 15. Multialignment of amino acid sequence of plant Ribulose biphosphate carboxylase small chain and putative Ribulose biphosphate carboxylase small chain using GeneDoc program.

gi 3914604 - ribulose biphosphate carboxylase small chain ; *Lactuca sativa*

C60 - contig 60.

## IV. 요약

온주밀감(*C. unshiu* Marc.) 과실의 유전자발현양상을 알아보고자 미숙과실의 유전자 라이브러리를 제작하고 염기서열을 결정된 다음 발현유전자의 종류와 발현빈도를 조사하였다. 유전자 라이브러리는 전체 mRNA 중에서 5'-cap과 polyA tail을 가진 mature mRNA로부터 full length cDNA를 합성하여 제작했는데, 이 방법으로 얻어진 cDNA 클론의 수는 모두 2350개였다. 이들 cDNA의 염기서열은 자동 염기서열 분석장치로 분석하였는데 해독 가능한 염기서열의 평균길이는 360 bp 이었다.

cDNA 2350개 클론의 부분염기서열을 CAP3 Sequence Assembly 프로그램을 이용하여 분석한 결과 1668개 클론은 145개의 contig를 이루었고, 나머지 662개 클론은 singleton으로 나타나 고유염기서열을 가진 유전자 즉, unigene의 수는 807개였다. NCBI의 BLASTX 프로그램을 이용하여 unigene들과 GenBank에 등록된 유전자들의 상동성을 분석한 결과, unigene 377개는 기능이 알려진 유전자들과 고도의 상동성을 보였고, 나머지 430개는 기능이 알려져 있지 않은 것들이었다. 기능을 모르는 430개 unigene 중에서 159개는 GenBank에 등록되어있으나 기능이 알려져 있지 않은 유전자와 상동성을 보였고 나머지 271개는 등록된 어떤 유전자와도 상동성을 보이지 않아 이들은 새로운 유전자일 가능성이 있었다.

기능이 알려진 377개의 unigene 중에서 294개는 식물에서 생리기능이 알려져 있는 것이었고 나머지 83개는 다른 생물에서는 기능이 알려져 있으나 식물에서는 기능이 알려져 있지 않은 것들이었다. 식물에서 생리기능이 알려진 unigene들을 MIPS Ortholog Database와 비교분석하여 *Arabidopsis thaliana*의 생리기능 14개 카테고리(functional category)별로 분류했을 때, 단백질합성, 대사, 에너지, 세포방어, 전사, 단백질행신지, 세포조직화, 신호전달, 수송기구, 기관분화, 세포분열성장, 세포발생, 세포수송, 기타에 관련된 unigene의 수는 각각 42, 35, 29, 23, 18, 17, 15, 12, 10, 7, 5, 5, 5, 5, 71개였다.

cDNA 클론 수를 기준으로 유전자 종류별 발현빈도를 분석한 결과 감귤미숙과실에서 가장 발현빈도가 높은 유전자는 chitinase이었으며 발현된 chitinase의 종류는 2가지였다. 이들 두 종류의 chitinase 유전자와 상동성을 보인 cDNA 클론 수는 모두 171개

였고 이들은 염기서열에 따라 5개 유형으로 분류되었다. 두 번째로 발현빈도가 높은 유전자는 miraculin이었으며 2 종류가 있었다. Miraculin과 상동성을 가진 cDNA 클론 수는 152개였고 이들은 염기서열에 따라 7개 유형으로 분류되었다. 세 번째로 발현빈도가 높은 것은 lectin 유전자로 한 가지 종류였으며 이에 해당하는 cDNA 클론 수는 99개였고 염기서열에 따라 3개 유형으로 분류되었다.

따라서 높은 발현양상을 보인 이들 세 종류의 유전자(chitinase, miraculin, lectin)들은 감귤 과실의 발육과정 초기에 중요한 역할을 할 것으로 추정되었다.





## V. 참고문헌

Adams, M. D., J. M. Kelley, J. D. Gocayne, M. Dubnick, M. H. Polymeropoulos, H. Xiao, C. R. Merrill, A. Wu, B. Olde, R. F. Moreno, A. R. Kerlavage, W. R. McCombie and J. C. Venter. 1991. Complementary DNA sequencing : expressed sequence tags and human genome project. *Science.*, 252, 1651~1656.

Adams, M. D., J. M. Kelley, J. D. Gocayne, M. Dubnick, A. R. Kerlavage, R. F. Moreno, T. R. Utterback, T. W. Nagle, C. Fields and J. C. Venter. 1992. Sequence identification of 2,375 human brain genes. *Nature.*, 355, 632~634.

Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers and D. J. Lipman. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* 215, 403~410.

Boguski, M. S., T. M. Lowe and C. M. Tolstoshev. 1993. dbEST-database for 'expressed sequence tags'. *Nature Genet.*, 4, 332~333.

Boguski, M. S., 1995. The turing point in genome research. *Trends Biochem. Sci.*, 20, 295~296.

Bol, J. F., H. J. Linthorst and B. J. Cornelissem. 1990. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Ann. Rev. Phytopathol.* 28, 133~138.

Bowles, D. J., 1990. Defense-related proteins in higher plants. *Ann. Rev. Biochem.* 59, 873~907.

Colette, J., C. Coutu, I. Roewer, D. W. Reed, L. E. Pelcher and P. S. Covello. 2002. Probing carotenoid biosynthesis in developing seed coats of *Bixa orellana* (Bixaceae) through expressed sequence tag analysis. *Plant Science.*, 163, 141~145.

Dirk, B. H. and D. Z. Skinner. 2001. Development of an expressed sequence tag(EST) library for *Medicago sativa*. *Plant Science.*, 161, 517~526.

Dennis, A. B., K. M. Ilene, J. L. David, O. James, A. R. Barbara and L. W. David. 2002. GenBank. *Nucleic Acids Res.*, 30(1) 17~20.

Dale, S., L. David, B. Peter and H. Robert. 2002. Isolation of genes involved in secondary metabolism from *Melaleuca alternifolia*(Cheel) using expressed sequence tags(ESTs). *Plant Science.*, 162, 9~15.

Ewing, B. and P. Green. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. II. Error probabilities. *Genome Res.*, 8, 186~194.

Feng, L., I. Holt, G. Pertea, S. Karamycheva, S. L. Salzberg and J. Quackenbush. 2000. An optimized protocol for analysis of EST sequences. *Nucleic Acids Research.*, 28(18) 3657~3665.

Franco, G. R., M. D. Adams, M. B. Soares, A. J. G. Simpson, J. C. Venter and S. D. J. Penta. 1995. Identification of new *Schistosoma mansoni* genes by the EST strategy using a directional cDNA library. *Gene.*, 152, 141~147.

Gomi, K., N. Itoh, H. Yamamoto and K. Akimitsu. 2002. Characterization and functional analysis of class I and II acidic chitinase cDNA from rough lemon. *J. Gen. Plant Pathol.*, 68, 191~199.

Huang, X. and A. Madan. 1999. CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Res.*, 9, 868~877.

Hillier, L. D., G. Lennon, M. Becker, M. F. Bonaldo, B. Chiapelli, S. Chissoe, N. Dietrich, T. DuBuque, A. Favello and W. Gish. 1996. Generation and analysis of 280,000 human expressed sequence tags. *Genome Res.*, 6, 807~828.

Joseph A. W., J. Todd, T. Newman, N. Focks, T. Girke, O. M. Ilarduya, J. G. Jaworski, J. B. Ohlrogge and C. Benning. 2000. A new set of Arabidopsis expressed sequence tags from developing seeds. The metabolic pathway from carbohydrates to seed oil. *Plant Physiol.*, 12(124) 1582~1594.

Lei Zhang., X. L. Ma, Q. Zhang, C. L. Ma, P. P. Wang, Y. F. Sun, Y. X. Zhao and H. Zhang. 2001. Expressed sequence tags from a NaCl-treated *Suaeda sala* cDNA library. *Gene.*, 267, 193~200.

Mewes, H. W., K. Albermann, K. Heumann, S. Liebl and F. Pfeiffer. 1997. MIPS: a database for protein sequences, homology data and yeast genome information. *Nucleic Acids Res.*, 25(1) 28~30.

Mewes, H. W., D. Frishman, U. Guldener, G. Mannhaupt, K. Mayer, M. Mokrejs, B. Morgenstern, M. Munsterkotter, S. Rudd and B. Weil. 2002. MIPS: a database for genomes and protein sequences. *Nucleic Acids Res.*, 30(1) 31~34.

Ming Wang., V. Trigueros, L. Paquereau, L. Chavant and D. Fournier. 2002. Proteins as active compounds involved in insecticidal activity of mushroom fruitbodies. *J. Econ. Entomol.* 95(3), 603~607.

Nairn, C. J., C. J. Hearn and R. T. Mayer. 1994. Identification and characterization of acidic hydrolases with chitinase and chitosanase activities from sweet orange callus tissue. *Plant Cell Physiol.*, 35(5) 811~820.

Nairn, C. J., R. P. Niedz, C. J. Hearn, W. F. Osswald and R. T. Mayer. 1997. cDNA cloning and expression of a class II acidic chitinase from sweet orange. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1351(1-2) 22~26.

Noriko T., H. Hitotsuya, H. Hanzawa, Y. Arata and Y. Kurihara. 1990. Structural study of asparagine-linked oligosaccharide moiety of taste-modifying protein, Miraculin. *The Journal of Biological Chemistry.* 265(14), 7793~7798.

Park, Y. S., J. M. Kwak, O. Y. Kwon, Y. S. Kim, D. S. Lee, M. J. Cho, H. H. Lee and H. G. Nam. 1993. Generation of expressed sequence tags of random root cDNA clones of *Brassica napus* by single-run partial sequencing. *Plant Physiol.*, 103, 359~370.

Philip, J. W. 2002. Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *J. Experimental Botany.*, 53(377) 1995~2000.

Shabaan, A. M., M. M. Mohamed, M. S. Abdallah, H. M. Ibrahim and A. M. Karim. 2003. Analysis of *Schistosoma mansoni* genes using the expressed sequence Tag approach. *Acta Biochim Pol.*, 50(1) 259~268.

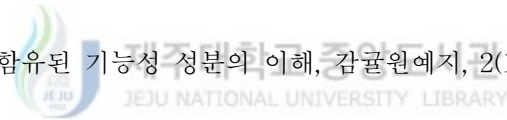
Takaya, M., M. Kita, S. Hisada, T. Endo-Inagaki and M. Omura. 1998. Characterization of gene repertoires at mature stage of citrus fruits through random sequencing and analysis of redundant metallothionein-like genes expressed during fruit development. *Gene.*, 211, 221~227.

Trail F., J. R. Xu, P. San Miguel, R. G. Halgren and H. C. Kistler. 2003. Analysis of expressed sequence tags from *Gibberella zeae*(anamorph *Fusarium graminearum*). *Fungal Genet Biol.*, 38(2) 187~197.

Uchimiya, H., S. Kidou, T. Shimazaki, S. Aotsuka, S. Takamatsu, R. Nishi, H. Hashimoto, Y. Matsubayashi, N. Kidou, M. Umeda and A. Kato. 1992. Random sequencing of cDNA libraries reveals a variety of expressed genes in cultured cells of rice(*Oryza sativa* L.). *The Plant J.*, 2, 1005~1009.

진정훈, 1995, 배추(*Brassica rapa*) 미성숙 꽃대의 cDNA 유전자 분리 및 염기서열 결정, 서울대학교 석사학위논문, 1~13.

최영훈, 2002, 감귤에 함유된 기능성 성분의 이해, 감귤원예지, 2(132) 61~67.



## 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 부족한 저를 아낌없는 지도와 사랑으로 이끌어주신 류기중 지도교수님께 마음 깊이 감사드립니다. 그리고 바쁘신 와중에도 시간을 내어 미흡한 논문을 다듬어 주신 이선주 교수님과 이효연 교수님께 진심으로 감사드립니다.

또한 많은 관심으로 지도와 충고를 해주신 유장걸 교수님, 고정삼 교수님, 현해남 교수님, 김찬식 교수님 그리고 송관정 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

이 논문이 이루어지기까지 항상 재촉하고 많은 조언을 해주고 원고 정리에 신경써주느라 고생하신 진성범 선배님, 부경환 선배님, 이도승 선배님, Pham chi hoa에게 감사드립니다. 그리고 가까이에서 많은 격려를 해주신 강태우 선배님, 고광섭 선배님과 대학원 여러 선배님들, 동기와 후배들, 학과 조교선생님과 후배들에게도 감사의 인사를 이렇게 글로 대신합니다.

강상헌 장장님을 비롯한 임한철 과장님과 여러 연구관, 연구사님들 그리고 제주농업시험장 전직원 여러분들에게 또한 감사하다는 말을 전합니다.

마지막으로 저를 낳아 주시고 오늘날까지 늘 사랑으로 지켜주셨던 부모님과 늘 큰 힘이 되어주는 가족들 그리고 나의 둘도 없는 친구들에게도 고마움을 전하며 이 논문을 바칩니다.