

DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN HASIL PENELITIAN BB BIOGEN PERIODE 2006-2013

Transformasi genetik tanaman merupakan salah satu teknik rekayasa genetik tanaman untuk mengintroduksi gen atau bagian gen dari satu organisme (bisa dari tanaman itu sendiri) ke tanaman sehingga menghasilkan tanaman transgenik yang memiliki sifat yang baru seperti ketahanan terhadap cekaman biotik (hama dan penyakit) dan abiotik (kekeringan, salinitas, dan sebagainya). Proses transformasi genetik dapat dilakukan secara langsung seperti menggunakan penembakan partikel maupun tidak langsung menggunakan bantuan vektor *Agrobacterium tumefaciens*. Teknik yang terakhir ini lebih disukai karena menghasilkan pola integrasi yang sederhana dan tanaman transgenik yang diperoleh memiliki salinan tunggal dengan frekuensi yang lebih tinggi. Sistem transformasi menggunakan *A. tumefaciens* sering dikenal sebagai sistem vektor biner karena T-DNA dan gen-gen vir tidak perlu berada pada vektor yang sama.

Bagian T-DNA mengandung gen marka seleksi tanaman dan kaset ekspresi yang terdiri atas promotor, transgen (gen interes), dan terminator. Bagian inilah yang biasanya dimodifikasi dan direkayasa untuk merakit konstruk T-DNA yang digunakan untuk transformasi genetik. Konstruksi gen untuk transformasi tanaman dilakukan dengan teknik kloning gen yang melibatkan perancangan primer, amplifikasi gen target, pemotongan dengan enzim restriksi, ligase, transformasi ke bakteri *Escherichia coli* dan verifikasi plasmid rekombinan. Konstruk gen yang telah dirakit inilah yang digunakan sebagai vektor transformasi tanaman setelah dikombinasikan *A. tumefaciens*. Untuk memudahkan di dalam pemilihan konstruk gen yang akan digunakan dalam transformasi tanaman diperlukan deskripsi yang memberikan informasi tentang gen secara umum, fungsi gen baik secara molekuler atau fenotipik dan deskripsi lainnya seperti gen marka seleksi dan marka pelapor yang ada di dalam konstruk dan vektor biner yang digunakan.

Penamaan konstruk gen yang telah berhasil dirakit oleh BB Biogen selama periode 2006–2013 menggunakan nama Biogen diikuti oleh nomor konstruk gen yang merupakan urutan waktu dalam perakitannya, yaitu pBIOGEN-001 sampai pBIOGEN-017. Berdasarkan deskripsi konstruk gen yang telah disusun diharapkan akan mempermudah di dalam pemanfaatan konstruk gen tersebut untuk penelitian rekayasa genetik dengan tujuan yang diinginkan. Rekayasa genetik untuk menghasilkan tanaman tomat transgenik untuk ketahanan terhadap virus keriting daun dapat menggunakan konstruk gen seperti pBIOGEN-004. Sementara untuk perakitan tanaman transgenik agar mempunyai toleransi terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan dapat menggunakan konstruk gen pBIOGEN-002. Untuk perakitan tanaman transgenik dengan konstruk gen untuk tujuan yang lain dapat melihat secara lengkap informasi deskripsi konstruk gen yang dijelaskan dalam buku ini.



Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Jl. Ragunan 29, Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12540, Indonesia
Telp. (021) 7806202 Fax. (021) 7800644

Pertanian



9 786023 440474 >

DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN HASIL PENELITIAN BB BIOGEN PERIODE 2006-2013

DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN HASIL PENELITIAN BB BIOGEN PERIODE 2006-2013



Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

**DESKRIPSI KONSTRUK GEN
DALAM VEKTOR TRANSFORMASI
TANAMAN HASIL PENELITIAN
BB BIOGEN PERIODE 2006-2013**

DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN HASIL PENELITIAN BB BIOGEN PERIODE 2006-2013

Penyusun:

Tri Joko Santoso
Kurniawan Rudi Trijatmiko
Aniversari Apriana
Atmitri Sisharmini
Wening Enggarini
Aqwin Polosoro
Sutrisno
Karden Mulya



**IAARD
PRESS**

**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN
2015**

DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN
HASIL PENELITIAN BB BIOGEN PERIODE 2006-2013

Cetakan 2015

Hak cipta dilindungi undang-undang
© Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2015

Katalog dalam terbitan

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN

Deskripsi konstruk gen dalam vektor transformasi tanaman hasil
penelitian BB Biogen periode 2006-2013/Penyusun: Tri Joko Santoso
... [*et al.*].--Jakarta: IAARD Press, 2015.

viii, 55 hlm.: ill.; 29 cm

ISBN 978-602-344-047-4

1. Konstruk gen, Transformasi Tanaman, Deskripsi

I. Judul II. Santoso, Tri Joko

631.523

IAARD Press

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Jalan Ragunan No. 29, Pasarminggu, Jakarta 12540
Telp. +62 21 7806202, Faks.: +62 21 7800644

Alamat Redaksi:

Pusat Perpustakaan dan Penyebaran Teknologi Pertanian
Jalan Ir. H. Juanda No. 20, Bogor 16122
Telp. +62-251-8321746. Faks. +62-251-8326561
e-mail: iaardpress@litbang.pertanian.go.id

ANGGOTA IKAPI NO: 445/DKI/2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga Buku berjudul "Deskripsi Konstruk Gen dalam Vektor Transformasi Tanaman Hasil Penelitian BB Biogen Periode 2006–2013" telah dapat diselesaikan. Buku ini merupakan buku yang pertama disusun untuk memberikan informasi tentang konstruk gen yang telah berhasil dirakit oleh BB Biogen selama kurun waktu dari 2006 sampai 2013. Konstruk-konstruk gen tersebut sebagian telah digunakan untuk melakukan penelitian rekayasa genetika melalui transformasi tanaman untuk mempelajari fungsi gen dan mengembangkan galur tanaman pertanian dengan sifat tertentu seperti toleran terhadap cekaman biotik dan abiotik.

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) dan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) atas dukungan dan fasilitas untuk penyusunan buku ini. Tak lupa, ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada rekan-rekan peneliti dan semua pihak yang telah membantu tersusunnya buku ini.

Kami menyadari masih terdapat banyak kekurangan dan kelemahan dalam penyusunan buku ini. Hal ini tidak lepas dari keterbatasan ilmu dan pengetahuan yang kami miliki. Oleh karena itu, kami sangat berharap masukan dan kritik sehingga perbaikan akan terus dilakukan demi kesempurnaan buku ini. Semoga buku ini dapat memberikan informasi dan bermanfaat bagi pengguna baik peneliti, mahasiswa atau pihak-pihak lainnya.

Bogor, Juli 2015

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR	v
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	ix
PENGANTAR	1
DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN	7
1. KONSTRUK GEN pBIOGEN-001	7
2. KONSTRUK GEN pBIOGEN-002	9
3. KONSTRUK GEN pBIOGEN-003	11
4. KONSTRUK GEN pBIOGEN-004	13
5. KONSTRUK GEN pBIOGEN-005	15
6. KONSTRUK GEN pBIOGEN-006	17
7. KONSTRUK GEN pBIOGEN-007	19
8. KONSTRUK GEN pBIOGEN-008	22
9. KONSTRUK GEN pBIOGEN-009	23
10. KONSTRUK GEN pBIOGEN-010	26
11. KONSTRUK GEN pBIOGEN-011	28
12. KONSTRUK GEN pBIOGEN-012	30
13. KONSTRUK GEN pBIOGEN-013	32
14. KONSTRUK GEN pBIOGEN-014	34
15. KONSTRUK GEN pBIOGEN-015	36
16. KONSTRUK GEN pBIOGEN-016	38
17. KONSTRUK GEN pBIOGEN-017	40
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	45
1. Sekuen lengkap vektor kloning pCAMBIA-1301	45
2. Sekuen lengkap vektor kloning pC1300intA	51

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Urutan kerja perakitan vektor transformasi tanaman menggunakan metode kloning tradisional	3
Gambar 2. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsWRKY76</i>	8
Gambar 3. Diagram peranan gen <i>OsDREB1A</i> dalam mengatur ekspresi gen untuk merespons cekaman abiotik	10
Gambar 4. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsDREB1A</i>	10
Gambar 5. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsERF1</i>	12
Gambar 6. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>AV1</i>	14
Gambar 7. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>AtCO</i>	17
Gambar 8. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>GmNFR1α</i>	19
Gambar 9. Peta gen <i>dep1</i> pada kromosom 9 padi	20
Gambar 10. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>Osdep1</i>	20
Gambar 11. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsDEP1-tc</i>	23
Gambar 12. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsERA1</i>	25
Gambar 13. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsGS3</i>	27
Gambar 14. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsMADS18</i>	30
Gambar 15. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>BsCsp</i>	32
Gambar 16. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsWRKY47</i>	34
Gambar 17. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsCKX2</i>	35
Gambar 18. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>OsPPCK</i>	37
Gambar 19. Lintasan metabolisme nitrogen pada tanaman	39
Gambar 20. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>CsNit1-L</i>	39
Gambar 21. Diagram skematis kaset T-DNA gen <i>LcCSP</i>	41

PENGANTAR

Perakitan Vektor Transformasi Tanaman Menggunakan Metode Kloning Tradisional

Teknik transformasi gen tanaman dengan perantara *Agrobacterium tumefaciens* pada umumnya lebih disukai dibanding dengan teknik transfer DNA secara langsung. Teknik ini menghasilkan pola integrasi yang sederhana dan memungkinkan diperolehnya tanaman transgenik yang memiliki salinan tunggal dengan frekuensi yang lebih tinggi (Dai *et al.* 2001; Svitashhev & Somers 2001). Komponen-komponen genetik yang diperlukan untuk transformasi menggunakan *A. tumefaciens* adalah *transferred DNA* (T-DNA) yang mengandung sekuen-sekuen batas T-DNA (25 bp) sebagai target untuk eksisi dan elemen *enhancer* yang diperlukan untuk transfer DNA dengan efisiensi tinggi (Peralta, Hellmiss & Ream 1986), gen-gen *vir* (virulensi) yang produknya diperlukan *in trans* untuk transfer DNA, dan sejumlah kecil lokus pada genom *A. tumefaciens* (Gelvin 2003).

Sistem transformasi yang banyak digunakan sekarang dikenal sebagai sistem vektor biner karena T-DNA dan gen-gen *vir* tidak perlu berada pada vektor yang sama. Ini berarti bahwa T-DNA dapat diletakkan pada vektor *shuttle* kecil yang sesuai untuk kloning pada bakteri, sementara gen-gen *vir* berada pada plasmid "pembantu" kedua (Yuan *et al.* 2012). Strain-strain *A. tumefaciens* yang banyak digunakan untuk transformasi tanaman, seperti LBA4404, Agl-1, dan EHA105, merupakan strain hasil rekayasa yang mengandung plasmid pembantu dan beberapa gen pada genom yang diperlukan untuk transfer DNA.

Vektor transformasi tanaman (vektor *shuttle*) terdiri atas dua bagian, yaitu T-DNA dan tulang punggung plasmid (bagian plasmid di luar T-DNA). Tulang punggung plasmid mengandung elemen-elemen genetik yang diperlukan untuk fungsi-fungsi replikasi dan seleksi pada *Escherichia coli* dan *A. tumefaciens* (Komori *et al.* 2007). Bagian T-DNA mengandung gen marka seleksi tanaman dan kaset ekspresi yang terdiri atas promotor, situs untuk penyisipan transgen, dan terminator (Dafny-Yelin & Tzfira 2007).

Metode kloning tradisional adalah metode kloning yang menggunakan enzim endonuklease restriksi tipe II dan DNA ligase. Enzim restriksi tipe II merupakan enzim yang memotong DNA secara spesifik pada sekuen tertentu yang dikenalnya dan dapat menghasilkan ujung pemotongan tumpul (misalnya enzim *EcoRV*) atau kohesif (misalnya

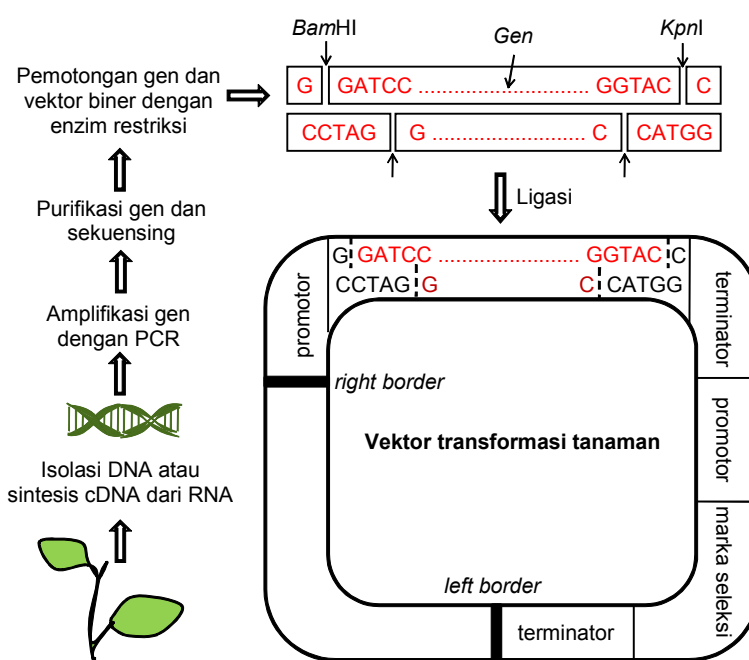
enzim *Bam*HI). Pemotongan oleh enzim restriksi dilakukan pada ikatan fosfodiester. Dua fragmen yang memiliki ujung-ujung kohesif yang kompatibel (misalnya keduanya dipotong dengan enzim *Bam*HI) dapat dengan mudah menyatu karena komplementasi antibasa (A-T dan G-C) pada utas yang berlawanan melalui ikatan hidrogen. DNA ligase selanjutnya menganalisis terbentuknya ikatan fosfodiester antara dua basa yang menjadi ujung pertemuan kedua fragmen (menyambung *nick*) sehingga terbentuk satu fragmen kontinu.

Di samping metode tradisional, beberapa tahun belakangan ini dikembangkan metode kloning berbasis sistem rekombinasi spesifik-situs, seperti sistem kloning Gateway[®] (Invitrogen), Creator[™] (Clontech), dan Univector oleh Stephen Elledge (Marsischky & LaBaer 2004). Teknik kloning lain menggunakan PCR untuk amplifikasi gen yang pada kedua ujung dari gen masing-masing ditambahkan 15–20 bp sekuen yang *overlap* dengan ujung-ujung plasmid vektor linier. Selanjutnya, campuran tiga enzim ditambahkan ke dalam reaksi, yaitu (1) enzim eksonuklease untuk membuang basa satu per satu pada salah satu utas dari ujung-ujung gen dan vektor sehingga sekuen yang *overlap* dari gen dan vektor akan menempel akibat komplementasi antibasa, (2) DNA polimerase untuk menambahkan basa-basa yang kosong pada dua fragmen yang menempel, dan (3) DNA ligase untuk menutup *nick* yang ada (Gibson *et al.* 2009). Berbagai kit komersial, seperti Gibson Assembly[®], In-Fusion[®], GeneArt[®], dan sebagainya, termasuk ke dalam kelompok ini. Perbedaan antarkit terletak pada penggunaan enzim ligase, proses rekombinasi, atau reparasi *in vivo* untuk menyambung fragmen gen ke plasmid vektor secara kovalen. Kemampuan untuk menyisipkan satu atau lebih fragmen DNA ke bagian manapun di dalam vektor plasmid tanpa bergantung pada keberadaan situs restriksi menjadikan teknologi ini menarik minat banyak peneliti.

Teknik yang lebih baru adalah metode kloning Golden Gate yang bertumpu pada penggunaan enzim restriksi tipe IIs (Engler, Kandzia & Marillonnet 2008). Berbeda dengan enzim restriksi tipe II yang memotong DNA tepat pada situs pengenalannya, enzim restriksi tipe IIs memotong DNA di luar situs pengenalannya yang menghasilkan ujung-ujung kohesif yang bisa terdiri atas nukleotida apa saja (Szybalski *et al.* 1991). Oleh karena itu, 256 jenis ujung kohesif yang berbeda dapat diciptakan menggunakan enzim restriksi tipe IIs yang menghasilkan ujung kohesif empat nukleotida. Dengan perencanaan yang tepat pada situs-situs pemotongan, dua fragmen yang dipotong dapat diligasikan untuk menghasilkan produk yang tidak lagi memiliki situs restriksi semula. Sifat ini sudah

dimanfaatkan untuk mengembangkan metode untuk menyambung secara efisien banyak fragmen sekaligus dalam satu reaksi ligasi (Engler, Kandzia & Marillonnet 2008).

Urutan kerja perakitan vektor transformasi tanaman dalam buku ini menggunakan metode kloning tradisional yang diilustrasikan pada Gambar 1. Pada tahap pertama harus ditentukan dulu apakah gen yang akan diekspresikan pada tanaman target akan diamplifikasi dengan PCR menggunakan cetakan DNA genom (mencakup ekson dan intron) atau cDNA (hanya ekson). Mengingat "*alternative splicing*" merupakan kejadian yang umum pada organisme eukariota, jika sudah diketahui "*splice variant*" yang mana yang bertanggung jawab terhadap fenotipe yang diinginkan, sebaiknya yang digunakan sebagai cetakan adalah cDNA. Dengan sekuensing dapat diketahui apakah ampikon yang diperoleh merupakan "*splice variant*" yang diinginkan atau bukan. Namun, jika belum tersedia informasi tentang "*splice variant*" yang mana yang bertanggung jawab terhadap fenotipe yang diinginkan, sebaiknya yang digunakan sebagai cetakan adalah DNA genom. Masih terdapatnya intron pada ampikon dari cetakan DNA genom barangkali menguntungkan, mengingat hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa intron



Gambar 1. Urutan kerja perakitan vektor transformasi tanaman menggunakan metode kloning tradisional.

menstimulasi ekspresi gen pada mamalia, nematoda, serangga, tanaman, dan jamur (Rose, 2008).

Desain primer untuk amplifikasi sekuen gen target dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak yang tersedia secara bebas, sebagai contoh adalah Primer3 Plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi/>). Untuk amplifikasi gen yang ideal, pasangan primer didesain supaya menghasilkan ampikon yang terdiri atas sekuen pengode protein (tepat mulai dari kodon awal sampai kodon akhir). Namun karena tidak semua wilayah dari sebuah gen menguntungkan untuk desain primer yang memenuhi syarat supaya amplifikasi berhasil, primer *forward* seringkali harus didesain ke bagian yang lebih hulu daripada kodon awal dan primer *reverse* didesain ke bagian yang lebih hilir daripada kodon akhir. Untuk kemudahan dalam kloning, pada ujung 5' dari setiap primer dapat ditambahkan situs restriksi yang berbeda, dengan syarat sekuen gen yang akan diamplifikasi tidak memiliki situs-situs restriksi tersebut. Perangkat lunak Webcutter 2.0 (<http://rna.lundberg.gu.se/cutter2/>) dapat digunakan untuk mengidentifikasi enzim-enzim restriksi yang memotong atau tidak memotong sekuen gen yang akan diamplifikasi.

Untuk menghindari terjadinya mutasi pada ampikon, proses amplifikasi gen dengan PCR sebaiknya menggunakan enzim DNA polimerase yang memiliki aktivitas *proof-reading* (*high-fidelity*). Ampikon yang dihasilkan akan memiliki ujung tumpul sehingga perlu penambahan dATP di ujung 3' ampikon supaya bisa disisipkan ke dalam vektor kloning linier yang memiliki *overhang* T pada ujung 3'-nya. Sebagai alternatif, ampikon dengan ujung tumpul dapat disisipkan langsung ke dalam vektor kloning linier yang khusus untuk ampikon ujung tumpul, tetapi harganya lebih mahal dibanding dengan vektor kloning yang memiliki *overhang* T pada ujung 3'-nya. Plasmid rekombinan hasil ligasi selanjutnya ditransformasikan ke dalam sel kompeten *E. coli*, kemudian sel-sel transforman diseleksi dengan antibiotik yang sesuai. Koloni-koloni tunggal bakteri yang terbentuk ditumbuhkan pada media cair dengan antibiotik yang sesuai, berikutnya plasmid diisolasi dengan menggunakan kit. Hasil isolasi disuspensikan menggunakan air dan dikonfirmasi kebenarannya dengan sekuensing dan pemotongan dengan enzim restriksi yang sesuai.

Untuk menyisipkan gen pada situs kloning di antara promotor dan terminator pada vektor transformasi tanaman, baik gen maupun vektor dipotong dengan dua enzim restriksi yang berbeda, misalnya *Bam*HI dan *Kpn*I. Ujung fragmen gen hasil pemotongan dengan enzim *Bam*HI akan menyatu dengan ujung fragmen vektor transformasi tanaman hasil pe-

motongan dengan enzim *Bam*HI melalui komplementasi antarbasa pada utas yang berlawanan, demikian juga halnya untuk ujung-ujung fragmen hasil pemotongan dengan enzim *Kpn*I. Selanjutnya, *nick* antara dua basa yang menjadi ujung-ujung pertemuan kedua fragmen disambung dengan menggunakan enzim DNA ligase. Transformasi plasmid rekombinan ke *E. coli* dan konfirmasi kebenarannya dilakukan seperti yang diuraikan sebelumnya. Antibiotik yang digunakan untuk seleksi sel transforman harus disesuaikan dengan gen marka seleksi bakteri yang dimiliki oleh vektor transformasi tanaman yang digunakan.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN DALAM VEKTOR TRANSFORMASI TANAMAN

1. KONSTRUK GEN pBIOGEN-001

Nama konstruk	:	pBIOGEN-001
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-WRKY76</i> (<i>OsWRKY76</i>)

DESKRIPSI UMUM

Gen *OsWRKY76* merupakan suatu faktor transkripsi yang produk proteinnya terlibat dalam regulasi jalur respons pertahanan tanaman. Terdapat sekitar 109 gen yang termasuk ke dalam famili OsWRKY. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *OsWRKY76* mengalami peningkatan ekspresi setelah tanaman padi tahan diinokulasi dengan cendawan *Magnaporthe grisea* (Ryu *et al.* 2006). Gen *OsWRKY76* terletak pada segmen kromosom 9 padi yang sebelumnya diidentifikasi terkait dengan ketahanan biotik berspektrum luas (Wisser *et al.* 2005).

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

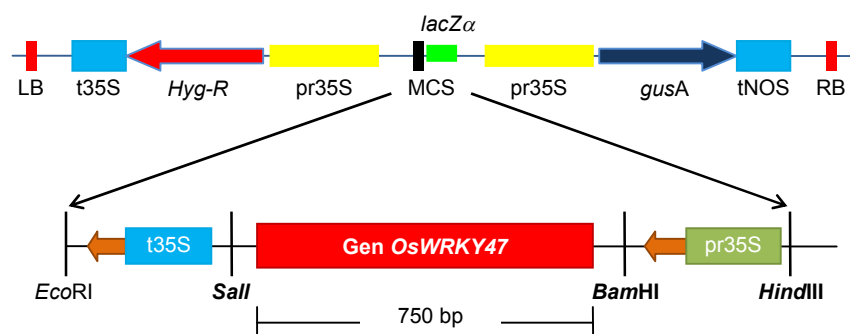
Ketahanan tanaman terhadap suatu patogen secara molekuler melibatkan interaksi antara produk gen *Avr* (*avirulence gene*) dari patogen dan produk gen *R* (*resistance gene*) dari tanaman. Produk gen *Avr* menjadi protein elisitor yang berinteraksi secara fisik dengan protein reseptor kinase (NBS-LRR) yang merupakan produk gen *R*. Protein reseptor kinase yang diaktifkan melalui interaksi ini dapat mengaktifkan protein-protein lain melalui mekanisme fosforilasi, di antaranya gen faktor transkripsi *OsWRKY76*. Faktor transkripsi selanjutnya akan mengaktifkan ekspresi gen-gen yang terlibat langsung dalam sistem pertahanan (proteksi) tanaman, seperti kinase dan glukonase.

b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsWRKY76* secara fenotipik berfungsi memberikan atau meningkatkan ketahanan terhadap cekaman biotik, di antaranya penyakit blas dan hawar daun bakteri (HDB).

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-001
Nama gen	: <i>OsWRKY76</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Nipponbare
Fungsi gen	: Meningkatkan ekspresi gen-gen terhadap cekaman biotik
Nama lengkap Vektor biner	: pCAMBIA1301-pr35S- <i>OsWRKY76</i> -t35S pCAMBIA-1301 Akses bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S- <i>OsWRKY76</i> (genomic)-t35S
Metode kloning	: <i>Multi-point ligation</i> dengan <i>HindIII</i> -pr35S- <i>BamHI</i> , <i>BamHI</i> - <i>OsWRKY76</i> - <i>Sall</i> , <i>Sall</i> -t35S- <i>EcoRI</i> , dan <i>HindIII</i> -pCAMBIA1301- <i>EcoRI</i> dalam satu reaksi
Perancang vektor	: Kurniawan Rudi Trijasmiko
Perakit vektor	: Kurniawan Rudi Trijasmiko dan Aniversari Apriana
Penanggung jawab proyek	: APBN Overekspresi 2006/Kurniawan Rudi Trijasmiko
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Oktober 2006
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 2. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsWRKY76*.

2. KONSTRUK GEN pBIOGEN-002

Nama konstruk	:	pBIOGEN-002
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-dehydration responsive element binding 1A (OsDREB1A)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *Oryza sativa-dehydration responsive element binding 1A (OsDREB1A)* yang diisolasi pertama kali dari tanaman *Arabidopsis thaliana* memiliki fungsi utama dalam meningkatkan toleransi terhadap suhu rendah. Gen ini juga memiliki peran penting sebagai faktor transkripsi dalam mengatur respons tanaman dan menginduksi gen-gen target yang berperan dalam peningkatan toleransi terhadap cekaman abiotik. Produk gen (protein) DREB1A akan menempel pada daerah yang disebut *dehydration responsive element (DRE)*.

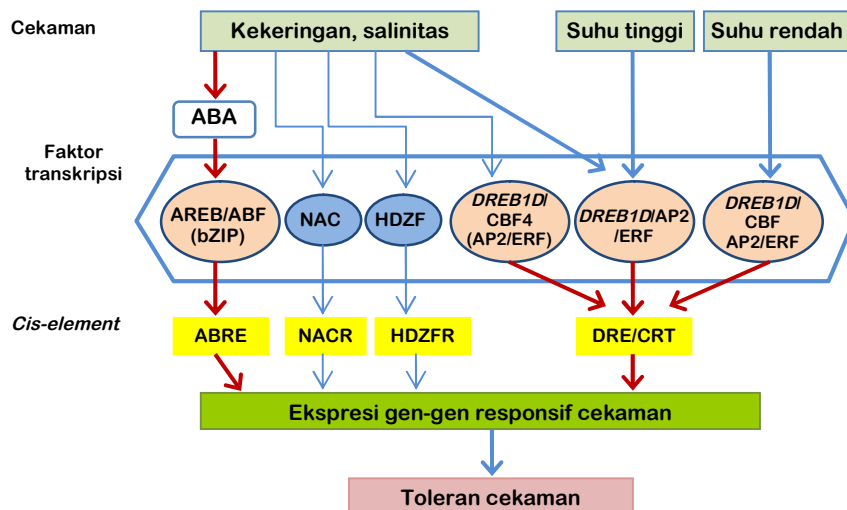
FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

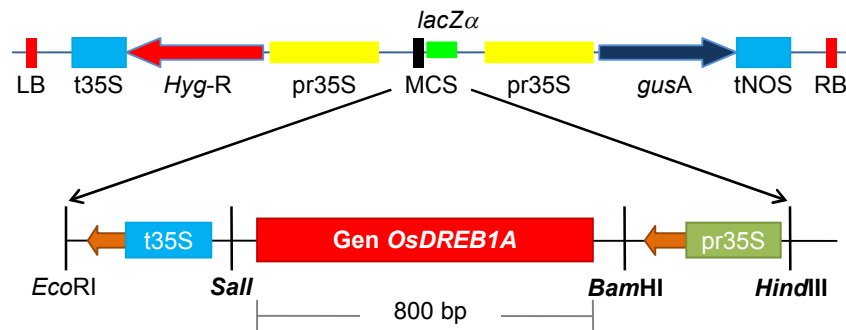
Pengaktifan sistem regulasi transkripsi *OsDREB1A* berbeda dengan *DREB1A* pada *Arabidopsis*. Pengaktifan sistem regulasi transkripsi (regulon) *OsDREB1A* pada padi tidak hanya diinduksi oleh cekaman suhu rendah, tetapi juga oleh cekaman salinitas tinggi dan kekeringan, sedangkan ekspresi *DREB1A* pada *Arabidopsis* hanya diinduksi oleh cekaman suhu rendah. Protein DREB1A akan menempel pada daerah DRE yang mempunyai sekuen inti A/GCCGAC dan telah diidentifikasi sebagai elemen *cis-acting* yang terdapat pada daerah promotor gen-gen target dan berperan mengatur ekspresi gen dalam merespons cekaman abiotik (Fujita, Shinozaki & Shinozaki 2007) (Gambar 3).

b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsDREB1A* secara fenotipik berfungsi memberikan atau meningkatkan toleransi terhadap cekaman abiotik, di antaranya cekaman kekeringan, suhu tinggi, salinitas, dan suhu rendah.



Gambar 3. Diagram peranan gen *OsDREB1A* dalam mengatur ekspresi gen untuk merespons cekaman abiotik.



Gambar 4. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsDREB1A*.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-002
Nama gen	: <i>OsDREB1A</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i>
	Tipe molekul: DNA genomik
	Kultivar: Nipponbare
Fungsi gen	: Toleransi terhadap cekaman abiotik
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S- <i>OsDREB1A</i> -t35S
Vektor biner	: pCAMBIA-1301
	Aksesi bank gen: AF234297.1

Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S-OsDREB1A-t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>BamHI</i> - OsWRKY76- <i>SaI</i> pada plasmid pBIOGEN-001 dengan <i>BamHI</i> - OsDREB1A- <i>SaI</i>
Perancang vektor	: Kurniawan Rudi Trijatmiko
Perakit vektor	: Kurniawan Rudi Trijatmiko dan Nana Sugma Mulyana
Penanggung jawab proyek	: APBN <i>Microarray</i> Kekeringan 2008/ Muhamad Yunus
Penyimpanan plasmid	: <i>Freezer</i> -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Juni 2008
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain

3. KONSTRUK GEN pBIOGEN-003

Nama konstruk	: pBIOGEN-003
Nama gen	: <i>Oryza sativa-ethylene responsive factor 1</i> (<i>OsERF1</i>)

DESKRIPSI UMUM

Gen *ethylene responsive factors* (*ERFs*) merupakan regulator transkripsi penting yang terlibat dalam respons tanaman terhadap cekaman abiotik dan biotik. Famili gen *ERF* merupakan sebuah famili gen yang besar dari faktor transkripsi dan bagian dari superfamili AP2/ERF yang juga meliputi famili AP2 dan RAV. Domain ERF diidentifikasi pertama kali sebagai sebuah motif konservatif pada empat protein DNA-binding dari tembakau (*Nicotiana tabacum*), yaitu protein *ethylene responsive elemen binding* (EREBP) 1, 2, 3, dan 4.

Gen *OsERF1* merupakan faktor transkripsi yang telah dipelajari berfungsi dalam regulasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman, serta toleransi terhadap salinitas (Hu *et al.* 2008; Zhang *et al.* 2004). Overekspresi gen *ERF1* tomat pada tanaman padi telah terbukti me-

regulasi gen-gen yang responsif terhadap cekaman dan meningkatkan toleransi terhadap kekeringan dan salinitas tinggi (Gao *et al.* 2008).

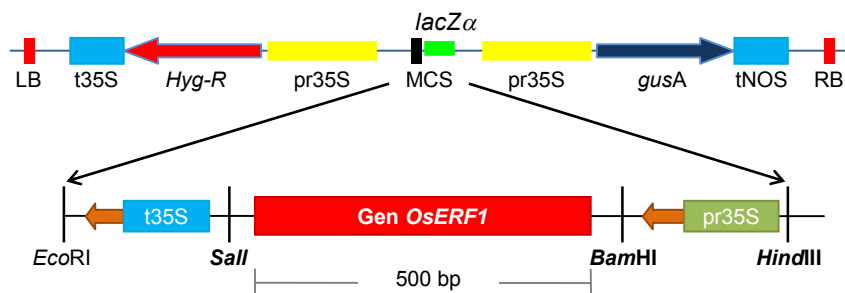
FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Domain ERF tersusun oleh α -helix dan β -sheet yang berinteraksi dengan DNA target. Protein ERF menempel pada *cis-acting element* AGCCGCC (*GCC box*) sebagai sekuen inti gen-gen yang berkaitan dengan respons ketahanan. Dengan demikian, protein yang diekspresikan oleh gen *ERF* akan menginduksi gen-gen lain yang sangat penting untuk sistem pertahanan tanaman terhadap cekaman abiotik, seperti kekeringan dan salinitas, serta cekaman biotik, seperti serangan patogen cendawan. Jadi, secara molekuler, gen *ERF* mungkin terlibat dalam banyak lintasan transduksi signal untuk stres (*multiple stress signal transduction pathways*).

b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsERF1* secara fenotipik berfungsi memberikan atau meningkatkan toleransi terhadap cekaman abiotik, seperti kekeringan dan salinitas. Selain itu, gen *OsERF1* juga berperan penting dalam meningkatkan sistem pertahanan tanaman terhadap cekaman biotik, seperti serangan patogen cendawan.



Gambar 5. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsERF1*.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-003
Nama gen	: <i>OsERF1</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> ssp. <i>japonica</i> Tipe molekul: DNA genomik Kultivar: Nipponbare
Fungsi gen	: Regulasi gen-gen biotik dan abiotik
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S-OsERF1-t35S
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301 Akses bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S-OsERF1(genomic)-t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Bam</i> HI-OsDREB1A- <i>Sa</i> I pada plasmid pBIOGEN-001 dengan fragmen <i>Bam</i> HI-OsERF1- <i>Sa</i> I
Perancang vektor	: Kurniawan Rudi Trijatmiko
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso dan Kurniawan Rudi Trijatmiko
Proyek/Penangguna	: APBN Overekspresi 2006/Kurniawan Rudi Trijatmiko
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Oktober 2006
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain

4. KONSTRUKSI GEN pBIOGEN-004

Nama konstruk	:	pBIOGEN-004
Nama gen	:	<i>AV1</i> atau <i>Coat protein-Tomato leaf curl virus (CP-TLCV)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen penyandi protein selubung virus (*AV1*) atau *CP-TLCV* diisolasi dari anggota genus *Begomovirus* dari famili *Geminivirus* untuk memperoleh resistensi nonkonvensional terhadap virus-virus yang menginfeksi tanaman dikotil, terutama famili *Solanaceae*. Berdasarkan hasil

beberapa penelitian, gen ini terbukti efektif mengendalikan infeksi *Geminivirus* pada tanaman (Raj *et al.* 2005; Sinisterra *et al.* 1999).

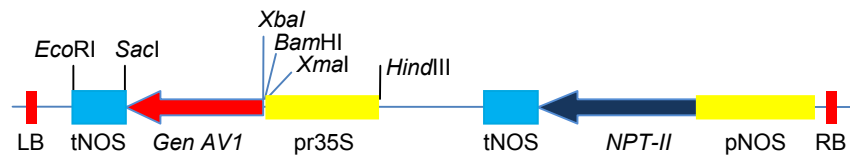
FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Gen *AV1* atau *CP-TLCV* menyandikan protein selubung (*coat protein*) dan terletak pada utas *viral-sense* dari *monopartite Begomovirus*, termasuk *Tomato (yellow) leaf curl virus* (Harrison 1985). Produksi protein selubung diregulasi oleh gen *AC2*. Protein selubung mempunyai beberapa fungsi dan merupakan dasar dari metode serologi untuk deteksi dan identifikasi *Begomovirus*.

b. Fungsi Fenotipik

Gen *AV1* atau *CP-TLCV* secara fenotipik berfungsi memberikan atau meningkatkan ketahanan terhadap serangan penyakit keriting daun pada tanaman tomat dan cabai atau tanaman *Solanaceae* lainnya yang disebabkan oleh infeksi *Begomovirus*.



Gambar 6. Diagram skematis kaset T-DNA gen *AV1*.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-004
Nama gen	: <i>AV1</i> atau <i>CP-TLCV</i>
Produk gen	: Protein selubung (<i>coat protein</i>)
Sumber gen	: Organisme: <i>Begomovirus</i> Tipe molekul: DNA genomik utas tunggal Tanaman Inang: Tomat Varian: <i>AV1-CP8</i> (Kaliurang, Daerah Istimewa Yogyakarta), <i>AV1-CP11</i> (Brastagi, Sumatera Utara) Asal: Brastagi dan Kaliurang
Fungsi gen	: Ketahanan terhadap penyakit keriting daun yang disebabkan oleh <i>Begomovirus</i> pada tomat atau <i>Solanaceae</i> lainnya
Nama lengkap Vektor biner	: pBI121-pr35S-AV1-tNOS pBI1212 Akses bank gen: -
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Kanamycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: pr35S-CP-AV1-tNOS
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>XbaI</i> -GUS- <i>SacI</i> pada plasmid pBI121 dengan <i>XbaI</i> -CP-AV1- <i>SacI</i>
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Penanggung jawab/ Proyek	: Muhammad Herman/ABSP-II 2006
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: -
Stok gliserol LBA4404	: -
Tanggal penyimpanan	: Oktober 2006
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain

5. KONSTRUKSI GEN pBIOGEN-005

Nama konstruk	: pBIOGEN-005
Nama gen	: <i>Arabidopsis thaliana-CONSTANS (AtCO)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *Arabidopsis thaliana*-CONSTANS (*AtCO*) diisolasi dari tanaman *A. thaliana* dan berperan dalam mengontrol fotoperiodisitas. Gen tersebut merupakan protein *zinc finger* dan berperan dalam mengarahkan pembungaan dalam kondisi hari panjang (Puterill *et al.* 1995). Overekspresi gen *AtCO* pada *Arabidopsis* terbukti dapat menginduksi pembungaan awal tanpa dipengaruhi oleh fotoperiodisitas (Onouchi *et al.* 2000). Homolog gen dari *Arabidopsis* ini terbukti berfungsi pada *Brassica napus* dan padi (Robert *et al.* 1998).

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Gen *AtCO* berperan dalam mengontrol fotoperiodisitas tanaman. Seperti diketahui, proses transisi meristem apikal dari pertumbuhan vegetatif ke reproduktif merupakan hal penting dalam siklus hidup tanaman. Waktu transisi tersebut akan berpengaruh terhadap waktu pembungaan. Beberapa studi genetik mengenai waktu pembungaan dan beberapa gen yang mengontrol fotoperiodisitas telah diidentifikasi dan diisolasi dari *Arabidopsis* dan salah satunya gen ini.

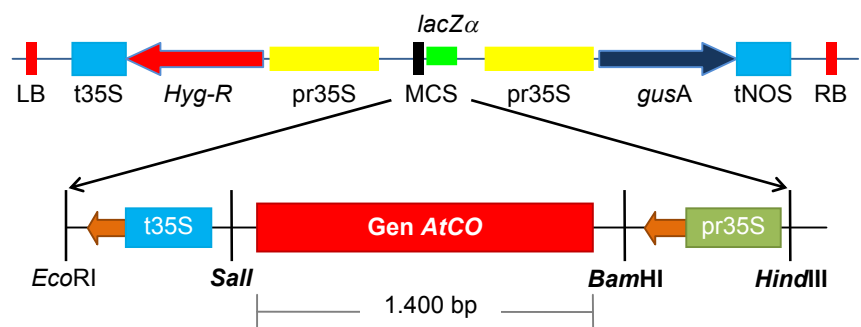
b. Fungsi Fenotipik

Gen *AtCO* secara fenotipik berfungsi meregulasi waktu pembungaan sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan tanaman dengan umur yang lebih pendek (tanaman berumur genjah).

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-005
Nama gen	: <i>AtCO</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Arabidopsis thaliana</i> Tipe molekul: DNA genomik Kultivar: Columbia
Fungsi gen	: Regulasi waktu pembungaan atau umur genjah
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S-AtCO-t35S
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301 Aksesi bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>

Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S-AtCO(genomic)-t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Bam</i> HI-OsDREB1A- <i>Sa</i> I pada plasmid pBIOGEN-001 dengan <i>Bam</i> HI-AtCO- <i>Sa</i> I
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penanggujawab	: SINTA 2009/Muhammad Herman
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: -
Stok gliserol LBA4404	: -
Tanggal penyimpanan	: Desember 2009
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 7. Diagram skematis kaset T-DNA gen *AtCO*.

6. KONSTRUK GEN pBIOGEN-006

Nama konstruk	: pBIOGEN-006
Nama gen	: <i>Glycine max-nodulation factor receptor 1α</i> (<i>GmNFR1α</i>)

DESKRIPSI UMUM

Gen *Glycine max-nodulation factor receptor 1α* (*GmNFR1α*) telah diisolasi dari tanaman kedelai dan diketahui berkaitan dengan nodulasi dan fiksasi nitrogen tanaman kedelai. Gen ini telah diklon dan dikarakterisasi secara molekuler. Penelitian overekspresi gen reseptor *GmNFR1α* dengan transformasi *hairy root* terbukti meningkatkan jumlah bintil akar, kandungan nitrogen tanaman, dan kemampuan membentuk bintil akar pada kondisi tanah masam (pH 4,7). Nodulasi

dan fiksasi nitrogen merupakan faktor penting dalam produktivitas tanaman kedelai. Interaksi simbiosis tanaman kedelai dengan bakteri *Rhizobium* membentuk bintil akar yang berperan dalam proses penambatan N dari biosfer.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Gen *GmNFR1 α* merupakan faktor nodulasi (*nod factors*) yang akan dideteksi oleh tanaman inang dan selanjutnya menginduksi perubahan tahap perkembangan tanaman yang diperlukan untuk masuknya *Rhizobium* ke dalam tanaman inang. Faktor nodulasi mampu menginisiasi respons simbiotik pada sel-sel epidermis, korteks, dan perisikel. Pada sel-sel epidermis, faktor nodulasi meningkatkan pertukaran ion, depolarisasi membran, dan penimbunan kalsium. Faktor nodulasi juga menginduksi ekspresi gen-gen nodulin awal.

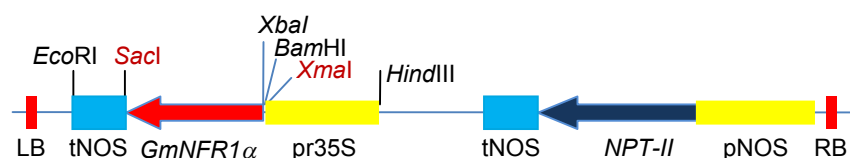
b. Fungsi Fenotipik

Gen *GmNFR1 α* secara fenotipik berfungsi meningkatkan proses nodulasi dan fiksasi nitrogen tanaman kedelai yang secara tidak langsung memberi peluang dalam peningkatan produktivitas tanaman kedelai.

Gen *GmNFR1 α* telah diteliti dapat meningkatkan secara nyata jumlah bintil akar dan pengikatan nitrogen pada kedelai. Gen ini juga dapat membentuk bintil akar dengan baik pada tanah masam dan tanah yang sedikit mengandung *Rhizobium* (kurang dari 100 sel bakteri per gram) (Sumunar 2008). Gen ini dapat digunakan untuk mengembangkan tanaman kedelai transgenik yang mampu membentuk bintil akar yang banyak dan hanya dapat bersimbiosis dengan *Rhizobium* unggul saja. Dengan demikian, pertumbuhan dan hasil kedelai lebih baik, serta dapat mengurangi pemakaian pupuk nitrogen (urea). Mengurangi penggunaan pupuk urea berlebih berarti menghemat biaya produksi dan mencegah polusi tanah dan air sehingga kelestarian lingkungan terjaga (Sumunar 2008).

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-006
Nama gen	: <i>GmNFR1α</i>
Produk gen	: Protein reseptor faktor nodulasi
Sumber gen	: Organisme: <i>Glycine max</i> L. Tipe molekul: cDNA (jaringan akar) Kultivar: Anjasmoro
Fungsi gen	: Efektivitas nodulasi atau pembentukan bintil akar
Nama lengkap	: pBI-pr35S-GmNFR1a-t35S
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pBI121
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Kanamycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: pr35S-GmNFR1a-t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Sma</i> I-GUS- <i>Sac</i> I pada plasmid pBI121 dengan <i>Sma</i> I-GmNFR1a- <i>Sac</i> I
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penangguna	: SINTA 2009/Muhammad Herman jawab
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5 α	: -
Stok gliserol LBA4404	: -
Tanggal penyimpanan	: Desember 2009
Patent	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 8. Diagram skematis kaset T-DNA gen *GmNFR1 α* .

7. KONSTRUK GEN pBIOGEN-007

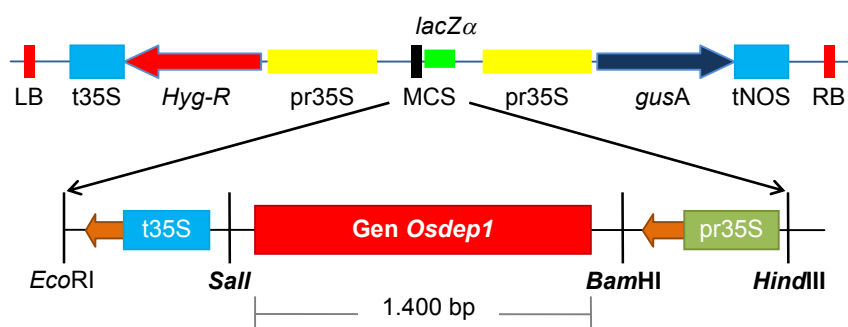
Nama konstruk	: pBIOGEN-007
Nama gen	: <i>Oryza sativa-dense erect panicle 1 (Osdep1)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *dense and erect panicle 1* (*dep1*) adalah gen yang terdapat dalam lokus *DEP1*. Pada tahun 2009, Huang *et al.* berhasil melakukan kloning gen *dep1* yang terdapat pada QTL kromosom 9 padi. Lokus *DEP1* merupakan lokus yang bertanggung jawab terhadap tiga karakter tanaman padi, yaitu kepadatan malai, jumlah bulir per malai, dan ketegakan malai. Gen *dep1* menyandikan sebuah protein domain menyerupai *phosphatidylethanolamine-binding protein* yang terpotong (*truncated*) (Piao *et al.* 2009). Gen tersebut dipetakan pada kromosom 9 padi, berada di antara marka RM3700 dan RM7424 (Gambar 9).



Gambar 9. Peta gen *dep1* pada kromosom 9 padi (Sumber: Huang *et al.* 2009).



Gambar 10. Diagram skematis kaset T-DNA gen *Osdep1*.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Alel dominan yang terdapat pada lokus *DEP1* merupakan mutasi *gain-of-function* yang menyebabkan pemotongan *phosphatidylethanolamine-binding protein-like domain protein*, suatu protein pengontrol pergantian morfologis antara pertumbuhan tunas dan struktur bunga pada tanaman. Efek alel dominan yang terdapat pada lokus *DEP1* (alel *dep1*) adalah mempertinggi aktivitas meristematik sehingga menyebabkan reduksi panjang internodus infloresensia dan peningkatan jumlah bulir per malai sehingga terjadi peningkatan hasil bulir padi (Huang *et al.* 2009).

b. Fungsi Fenotipik

Gen *Osdep1* secara fenotipik dapat berfungsi meningkatkan produktivitas tanaman padi sebagai akibat dari peningkatan jumlah bulir padi per malai. Seperti dijelaskan bahwa gen *Osdep1* mempunyai aktivitas yang berhubungan dengan sistem meristik tanaman sehingga menyebabkan pengurangan panjang internodus infloresensia, dan peningkatan jumlah bulir per malai sehingga terjadi peningkatan hasil bulir padi.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-007
Nama gen	: <i>Osdep1</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Inpari-1
Fungsi gen	: Produktivitas tinggi
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S-Osdep1-t35S
Orientasi	: <i>Antisense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301 Akses bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S-Osdep1-t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Bam</i> HI-OsDREB1A- <i>Sa</i> I pada plasmid pBIOGEN-001 dengan <i>Bam</i> HI-Osdep1- <i>Sa</i> I
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penanggun jawab	: RIPP 2010/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: <i>Freezer</i> -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2010
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain

8. KONSTRUK GEN pBIOGEN-008

Nama konstruk	:	pBIOGEN-008
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-Dense Erect Panicle 1-truncated (OsDEP1-tc)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *OsDEP1-tc* merupakan varian dari gen *Osdep1* yang terdapat dalam lokus *DEP1*. Gen ini mempunyai sekuen basa yang tidak utuh, namun terpotong di basa 625.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Gen *OsDEP1-tc* menyandikan *phosphatidylethanolamine-binding protein-like domain protein*, suatu protein pengontrol pergantian morfologis antara pertumbuhan tunas dan struktur bunga pada tanaman. Efek protein *DEP1* yang tidak utuh diharapkan akan mempunyai fungsi yang sama dengan gen *Osdep1*, yaitu mempertinggi aktivitas merismatik sehingga menyebabkan reduksi panjang internodus infloresensia dan peningkatan jumlah bulir per malai sehingga terjadi peningkatan hasil bulir padi.

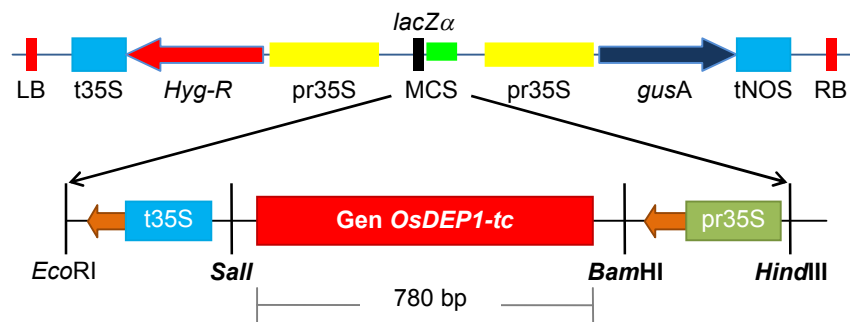
b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsDEP1-tc* secara fenotipik berfungsi sama dengan *Osdep1*, yaitu meningkatkan produktivitas tanaman padi sebagai akibat dari peningkatan jumlah bulir padi per malai. Gen *Osdep1* dan *OsDEP1-tc* diharapkan memiliki aktivitas yang berhubungan dengan sistem merismatik tanaman sehingga menyebabkan pengurangan panjang internodus infloresensia dan peningkatan jumlah bulir per malai sehingga terjadi peningkatan hasil bulir padi.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	:	pBIOGEN-008
Nama gen	:	<i>OsDEP1-tc</i>
Produk gen	:	Protein faktor transkripsi yang tidak utuh
Sumber gen	:	Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Inpari-1

Fungsi gen	: Produktivitas tinggi
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S-Osdep1-tc-t35S
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301
	Akresi bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S-Osdep1-tc-t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Bam</i> HI-OsDREB1A- <i>Sal</i> I pada plasmid pBIOGEN-001 dengan <i>Bam</i> HI-Osdep1-tc- <i>Sal</i> I
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penanggu	: RIPP 2010/Tri Joko Santoso
jawab	
Penyimpanan plasmid	: <i>Freezer</i> -20°C di Lab BM3
Stok gliserol DH5α	: <i>Freezer</i> -80°C di Lab Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: <i>Freezer</i> -80°C di Lab Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2010
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 11. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsDEP1-tc*.

9. KONSTRUK GEN pBIOGEN-009

Nama konstruk	: pBIOGEN-009
Nama gen	: <i>Oryza sativa-Enhanced Response to ABA1 (OsERA1)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *Oryza sativa-Enhanced Response to ABA1 (OsERA1)* adalah salah satu gen pada tanaman yang diketahui dapat meningkatkan dan menurunkan respons terhadap fitohormon, terutama asam absisat (*abscisic acid/ABA*). Gen ini diisolasi pertama kali dari tanaman model *A. thaliana*. Mutan *era1* diidentifikasi berdasarkan adanya peningkatan dormansi biji dan kadar asam absisat yang sangat sedikit. Pada mutan *era1* terjadi peningkatan toleransi terhadap cekaman kekeringan melalui pengurangan intensitas pembukaan stomata dan berkurangnya tingkat layu selama terjadi cekaman kekeringan (Ziegeholfer *et al.* 2000).

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

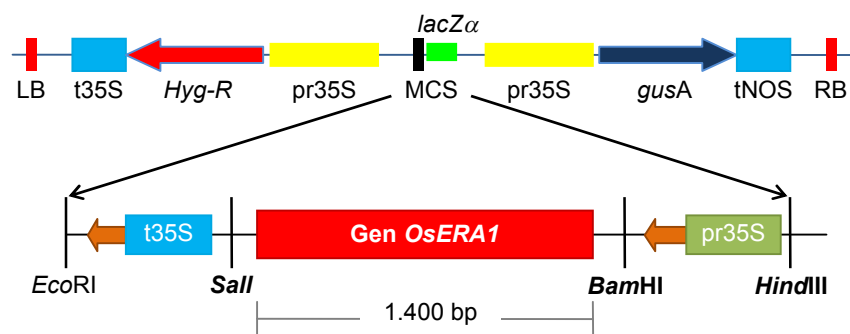
Gen *OsERA1* merupakan gen yang berperan dalam peningkatan sensitivitas sel penjaga pada stomata terhadap asam absisat. Gen *OsERA1* mengode subunit β enzim farnesiltransferase. Farnesiltransferase merupakan enzim yang berperan dalam respons tanaman terhadap hormon asam absisat (Wang *et al.* 2005). Respons asam absisat pada tanaman saat terjadi cekaman kekeringan akan berlangsung secara cepat sehingga dapat menyebabkan terjadinya penutupan stomata. Stomata pada tanaman umumnya terletak di bagian epidermis daun. Stomata merupakan pori-pori yang dapat membuka dan menutup di antara sepasang sel khusus yang disebut sebagai sel penjaga. Hormon asam absisat akan meningkatkan sinyal *cascade* pada sel penjaga sehingga menghasilkan penutupan stomata dengan menghambat pembukaannya. Oleh karena itu, kemampuan tanaman dalam merespons asam absisat merupakan target penting dalam peningkatan kemampuan tanaman pertanian yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsERA1* secara fenotipik dapat berfungsi dalam peningkatan toleransi terhadap cekaman kekeringan melalui pengurangan intensitas pembukaan stomata dan berkurangnya tingkat layu selama terjadi cekaman kekeringan.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-009
Nama gen	: <i>OsERA1</i>
Produk gen	: Protein regulator
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Inpari-1
Fungsi gen	: Toleransi terhadap cekaman kekeringan
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S- <i>OsERA1</i> -t35S
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301 Akses bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S- <i>OsERA1</i> -t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Bam</i> HI- <i>OsDREB1A-Sal</i> I pada plasmid pBIOGEN-001 dengan <i>Bam</i> HI- <i>OsERA1-Sal</i> I
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penangguna	: RPTP 2010/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2010
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 12. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsERA1*.

10. KONSTRUK GEN pBIOGEN-010

Nama konstruk	:	pBIOGEN-010
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-grain size 3 (OsGS3)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *Oryza sativa-grain size 3 (OsGS3)* pada padi merupakan QTL utama untuk karakter ukuran biji yang diidentifikasi pada kromosom 3. Fan *et al.* (2006) telah mengidentifikasi gen-gen kandidat *GS3*. Dengan analisis sekuen, ditemukan mutasi *nonsense* pada ekson kedua *GS3* putatif dari varietas-varietas bulir panjang dibanding dengan varietas-varietas bulir pendek. Mutasi ini menyebabkan pemotongan 178 asam amino (aa) pada ujung C (*carboxyl-terminus*) protein *GS3* yang mengindikasikan bahwa mutasi ini mempunyai peranan penting terhadap variasi ukuran bulir padi.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Protein *GS3* diprediksi mempunyai empat domain, yaitu (1) *phosphatidylethanolamine-binding protein (PEBP)-like domain* dengan ukuran 54 aa pada ujung N (*amino-terminus*), (2) *transmembrane domain* pada aa 97–117, (3) domain kaya sistein dari superfamili *tumor necrosis factor receptor (TNFR)/famili nerve growth factor receptor (NGFR)* pada aa 116–155, dan (4) faktor tipe C von Willebrand (*VWFC*) dengan panjang 60–80 aa pada ujung C. Namun, domain *PEBP* tidak ditemukan lagi pada sekuen *GS3*, sementara domain-domain yang lain masih ada. Analisis perbandingan sekuen menunjukkan adanya mutasi *nonsense* pada varietas bulir panjang pada ekson kedua gen *GS3*. Mutasi ini menyebabkan pemotongan 178 aa pada ujung C yang mengindikasikan bahwa gen *GS3* berfungsi sebagai regulator negatif untuk ukuran bulir.

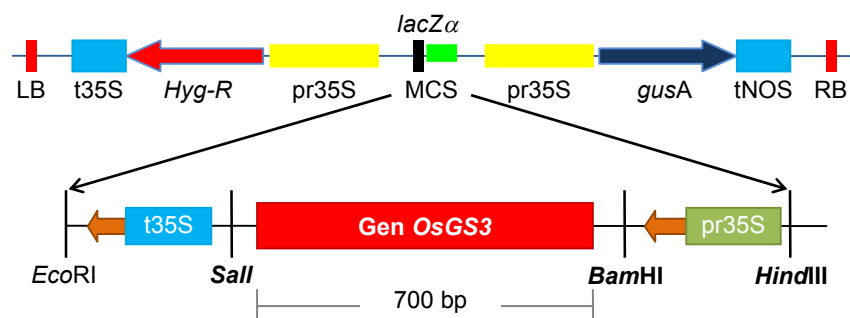
b. Fungsi Fenotipik

Gen *Os-GS3* merupakan gen yang berperan untuk meningkatkan produktivitas dan salah satunya sebagai pengendali ukuran bulir gabah. Ukuran bulir merupakan salah satu faktor penentu utama bobot biji. Selain itu, jumlah malai per tanaman dan jumlah butir

padi per malai juga dapat digunakan sebagai faktor penentu utama dari ukuran butir.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-010
Nama gen	: <i>OsGS3</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Nipponbare
Fungsi gen	: Produktivitas tinggi
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S- <i>OsGS3</i> -t35S
Orientasi	: <i>Antisense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301 Aksesi bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S- <i>OsGS3</i> -t35S
Metode kloning	: Penggantian fragmen <i>Bam</i> HI- <i>OsDREB1A-Sal</i> I pada plasmid pBIOGEN-001 dengan <i>Sal</i> I- <i>OsGS3-Bam</i> HI
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penangguna	: RPTP 2010/Tri Joko Santoso
jawab	
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Lab BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Lab Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: Freezer -80°C di Lab Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2010
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 13. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsGS3*.

11. KONSTRUK GEN pBIOGEN-011

Nama konstruk	:	pBIOGEN-011
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-MAD18 (OsMAD18)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *OsMAD18* merupakan anggota famili faktor transkripsi *MADS box* yang berfungsi mengatur perkembangan bunga dan dikarakterisasi oleh struktur modular tipikal. Faktor transkripsi *MADS box* merupakan domain *DNA-binding* yang sangat konservatif, terletak pada ujung N. Pada padi, empat gen *MADS box*, yaitu *OsMADS20*, *OsMADS14*, *OsMADS15*, dan *OsMADS18*, mempunyai homologi sekuen yang tinggi dengan gen *AP1*. Pembungkaman gen *OsMADS18* menggunakan pendekatan *RNA interference* tidak menghasilkan perubahan fenotipik. Hal ini menunjukkan bahwa redundansi genetik mampu menggantikan fungsi gen *OsMADS18*. Analisis gen *OsMADS18* pada *Arabidopsis* menunjukkan bahwa terdapat beberapa gen lain dari *AP1* yang mampu berinteraksi dengan *OSMADS18*. Hal ini menggambarkan bahwa *OsMADS18* ketika dioverekspresikan pada *Arabidopsis* mampu bergabung dengan protein *AP1* lain.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Gen *OsMADS18* diekspresikan secara luas di semua jaringan tanaman. Overekspresi gen *OsMADS18* pada padi mengindikasikan bahwa gen ini berperan dalam percepatan program diferensiasi meristem tunas vegetatif. Gen *OsMADS18* merupakan anggota dari *MADS box* yang berperan dalam perkembangan tanaman, seperti mengontrol transisi dari pertumbuhan vegetatif ke pertumbuhan reproduktif, penentuan identitas organ bunga, dan regulasi pemasakan buah. Dari analisis fungsi gen, diketahui bahwa gen ini diekspresikan pada padi dengan level akumulasi transkrip yang tinggi pada meristem. Overekspresi gen *OsMADS18* pada padi menginduksi pembungaan awal dan percepatan pembentukan meristem tunas aksilar.

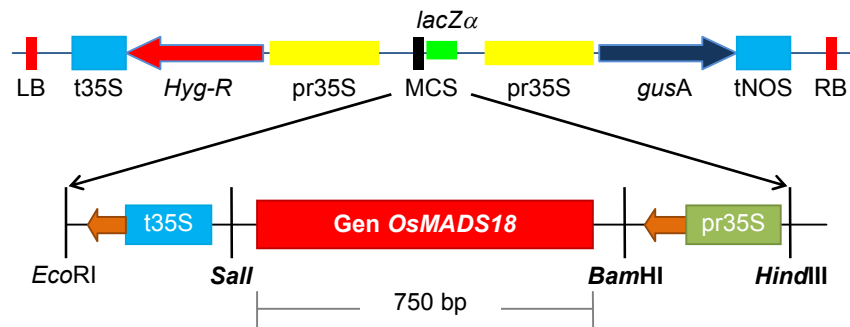
b. Fungsi Fenotipik

Ekspresi gen *OsMADS18* akan menghasilkan protein yang berperan penting dalam menginduksi diferensiasi meristem tunas vegetatif

dan pembungaan awal. Berdasarkan fungsi tersebut, pemanfaatan gen ini untuk pengembangan varietas tanaman dengan umur lebih genjah sangat mungkin untuk dilakukan.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-011
Nama gen	: <i>OsMADS18</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Nipponbare
Fungsi gen	: Waktu pembungaan (umur genjah)
Nama lengkap	: pCAMBIA1301-pr35S-OsMADS18-t35S
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1301 Aksesi bank gen: AF234297.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: <i>GUS</i>
Kaset ekspresi	: pr35S-OsMADS18-t35S
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>Bam</i> HI-OsMADS18- <i>Sal</i> I di antara pro35S-BamHI-SalI-t35S pada plasmid pCAMBIA-1301
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso
Proyek/Penanggung jawab	: RPTP 2010/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: <i>Freezer</i> -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2010
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 14. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsMADS18*.

12. KONSTRUK GEN pBIOGEN-012

Nama konstruk	:	pBIOGEN-012
Nama gen	:	<i>Bacillus subtilis-cold shock protein (BsCsp)</i>

DESKRIPSI UMUM

Adaptasi memerlukan pemulihan yang cepat pada pertumbuhan dan pemeliharaan fungsi seluler setelah cekaman. Penelitian sistem-sistem model, seperti pada tanaman dan bakteri, menunjukkan kesamaan yang luas dalam mekanisme respons terhadap cekaman di antara organisme-organisme yang berbeda. *Cold shock protein* (Csp) adalah sekelompok kecil protein yang terakumulasi secara cepat selama terjadi kejutan dingin. Salah satu contohnya adalah CspA dari *E. coli* yang mengandung *cold shock domain* (CSD) prototipik yang terdiri atas 65–70 aa dan sudah ditemukan pada bakteri, arkea, dan eukariota, termasuk tanaman.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

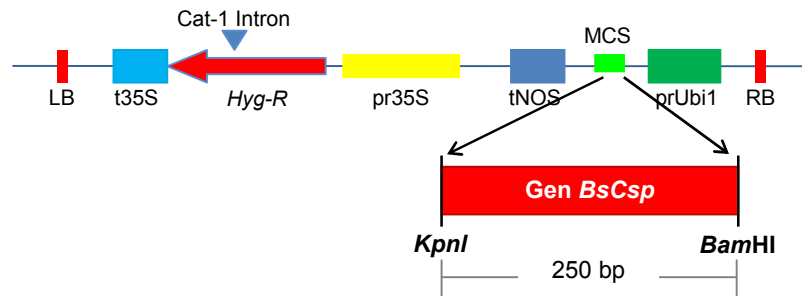
Csp pada *Bacillus subtilis* berfungsi sebagai *RNA chaperone*, yaitu protein yang menempel pada RNA dan mampu mempertahankan RNA tetap dalam struktur lipatan yang benar, meskipun dalam kondisi cekaman lingkungan sehingga tetap bisa diakses untuk menjalankan fungsi-fungsi biologisnya (Castiglioni *et al.* 2008).

b. Fungsi Fenotipik

Gen *BsCsp* diekspresikan untuk memperbaiki toleransi terhadap suhu dingin pada *Arabidopsis*, toleransi terhadap kekeringan pada jagung, dan toleransi terhadap suhu dingin, panas, dan kekeringan pada padi (Castiglioni *et al.* 2008). Jagung transgenik toleran kekeringan yang mengekspresikan gen *BsCsp* sudah dikomersialkan oleh Monsanto dengan kode event MON-8746Ø-4 dengan nama dagang Genuity® DroughtGard™.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-012
Nama gen	: <i>BsCsp</i>
Produk gen	: <i>Cold shock protein</i>
Sumber gen	: Organisme: <i>Bacillus subtilis</i> Tipe molekul: DNA genomik
Fungsi gen	: Toleransi terhadap kekeringan
Nama lengkap	: pCAMBIA1300int-prUbi1-BsCsp-tNOS
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1300intA Akses bank gen: AF294976.1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: prUbi1-BsCsp-tNOS
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>Bam</i> HI-BsCsp- <i>Kpn</i> I di antara prUbi1- <i>Bam</i> HI— <i>Kpn</i> I-tNOS pada plasmid pCAMBIA-1300int-prUbi1-tNOS (dari Emmanuel Guiderdoni, CIRAD, Perancis)
Perancang vektor	: Kurniawan Rudi Trijatmiko
Perakit vektor	: Dewi Praptiwi dan Zainati Fakhriana
Proyek/Penangggung jawab	: APBN Kloning Gen 2012/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: <i>Freezer</i> -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Februari 2012
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 15. Diagram skematis kaset T-DNA gen *BsCsp*.

13. KONSTRUK GEN pBIOGEN-013

Nama konstruk	:	pBIOGEN-013
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-WRKY47</i> (<i>OsWRKY47</i>)

DESKRIPSI UMUM

Gen WRKY berfungsi sebagai aktivator transkripsi dan represor, serta terlibat dalam sejumlah lintasan fisiologis dan perkembangan tanaman. Famili gen ini ditentukan oleh keberadaan sekuen aa pada ujung N dari sekuen pengode yang mengandung satu atau lebih motif aa (WRKY). Sebanyak 81 gen WRKY telah diidentifikasi pada genom padi, 5 gen di antaranya mengode *splicing isoform*.

Telah diketahui bahwa perubahan yang diinduksi oleh lingkungan pada ekspresi gen diatur oleh faktor transkripsi. Salah satu kelompok faktor transkripsi spesifik tanaman adalah famili WRKY, yaitu faktor transkripsi yang mengandung domain WRKY yang sangat konservatif.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

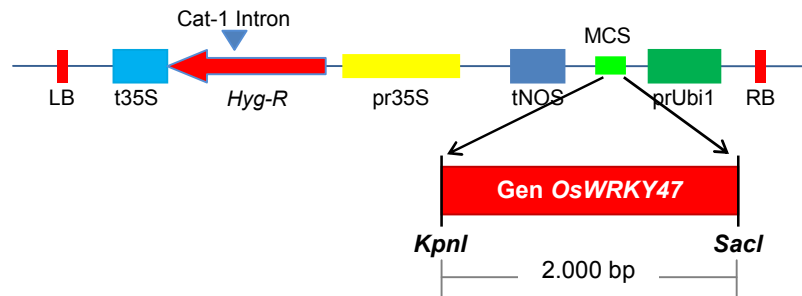
Gen *OsWRKY47* merupakan faktor transkripsi yang berinteraksi secara selektif dan nonkovalen dengan sekuen DNA spesifik untuk memodulasi proses transkripsi. Faktor transkripsi tersebut kemungkinan berinteraksi secara selektif dengan sebuah protein atau makromolekul kompleks yang terlibat dalam regulasi proses fisiologis, termasuk pertahanan biotik dan abiotik, senesen (umur tanaman), serta perkembangan trikoma.

b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsWRKY47* mempunyai homologi dengan gen-gen yang terkait dengan pengaturan umur berbunga tanaman sehingga diduga berperan dalam mekanisme pembungaan. Gen ini dapat digunakan untuk merakit tanaman yang berumur genjah.

DESKRIPSI KONSTRUK GEN

ID vektor	: pBIOGEN-013
Nama gen	: <i>OsWRKY47</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: DNA genomik Kultivar: Nipponbare
Fungsi gen	: Gen kandidat terkait umur genjah
Nama lengkap	: pCAMBIA1300-prUbi1-OsWRKY47-tNOS
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1300-Ubi1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: prUbi1-OsWRKY47-tNOS
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>SacI</i> - <i>OsWRKY47</i> - <i>KpnI</i> di antara prUbi1- <i>SacI</i> - <i>KpnI</i> -tNOS pada plasmid pCAMBIA-1300int-prUbi1-tNOS (dari Emmanuel Guiderdoni, CIRAD, Perancis)
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Dewi Praptiwi dan Zainati Fakhрина
Proyek/Penanggujawab	: APBN Kloning Gen 2012/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: <i>Freezer</i> -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: <i>Freezer</i> -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2012
Paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 16. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsWRKY47*.

14. KONSTRUK GEN pBIOGEN-014

Nama konstruk	:	pBIOGEN-014
Nama gen	:	<i>Oryza sativa-CKX2 (OsCKX2)</i>

DESKRIPSI UMUM

Gen *CKX2* secara preferensial diekspresikan pada meristem infloresen, bunga, daun, dan daun bendera. Ekspresi gen ini meningkatkan jumlah bulir padi. Gen *CKX2* diketahui mempunyai peranan penting dalam meregulasi level sitokinin pada sistem vaskular dari perkembangan daun bendera.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

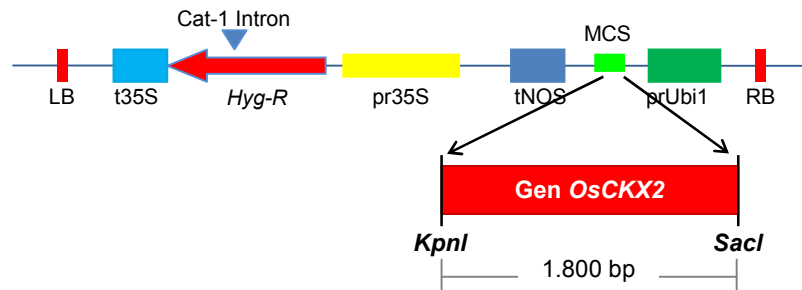
Gen *OsCKX2* mengekspresikan sebuah enzim yang mendegradasi akumulasi fitohormon sitokinin. Pengurangan ekspresi gen *OsCKX2* menyebabkan akumulasi sitokinin pada meristem infloresen dan meningkatkan jumlah organ-organ reproduktif, serta menghasilkan peningkatan hasil biji.

b. Fungsi Fenotipik

Fungsi fenotipik gen *OsCKX2* adalah untuk meningkatkan produktivitas melalui peningkatan jumlah bulir atau biji pada tanaman padi. Gen ini bisa dimanfaatkan untuk perakitan tanaman transgenik dengan produktivitas lebih tinggi.

DESKRIPSI VEKTOR TRANSFORMASI

ID vektor	: pBIOGEN-014
Nama gen	: <i>OsCKX2</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: cDNA Kultivar: Ciherang
Nama lengkap	: pCAMBIA1300int-prUbi1-OsCKX2-tNOS
Orientasi	: <i>Sense/antisense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1300int-Ubi1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: prUbi1-OsCKX2-tNOS
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>XmaI</i> - <i>OsCKX2</i> - <i>KpnI</i> di antara prUbi1- <i>XmaI</i> — <i>KpnI</i> -tNOS pada plasmid pCAMBIA-1300int-prUbi1-tNOS (dari Emmanuel Guiderdoni, CIRAD, Perancis)
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Dewi Praptiwi dan Zainati Fakhрина
Proyek/Penanggujawab	: APBN Kloning Gen 2012/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2012
Paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 17. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsCKX2*.

15. KONSTRUK GEN pBIOGEN-015

Nama konstruk	:	pBIOGEN-015
Nama gen	:	<i>Oryza sativa</i> -PPCK (OsPPCK)

DESKRIPSI UMUM

Gen *PPCK* akan menghasilkan PEPC yang merupakan enzim sitosolik pada sel tanaman yang mengatalis karboksilasi PEP menjadi oksaloasetat dan Pi. Enzim tersebut mempunyai peranan penting dalam proses fotosintesis pada CO primer, fiksasi C, dan daun CAM. Di samping itu, PEPC mempunyai sejumlah fungsi anaplerotik, nonfotosintesis pada C, termasuk pengeluaran oksaloasetat untuk siklus asam sitrat dan biosintesis asam amino, provisi C, asam dikarbositat pada fiksasi N oleh bintil akar tanaman legum.

Telah diketahui bahwa fosfoenol piruvat karboksinase pada daun C dan CAM diregulasi oleh fosforilasi protein *reversible* dan proses tersebut pada gilirannya akan dikontrol oleh protein kinase *serine/threonine*. Aktivitas PEPC-kinase diregulasi meningkat atau menurun melalui ritme sirkadian endogenus daripada oleh sinyal cahaya. Oleh karena itu, enzim kinase daun CAM menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi selama malam hari daripada siang hari.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

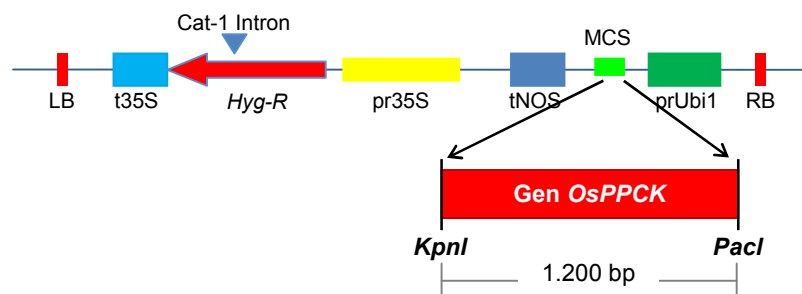
Gen *OsPPCK* secara molekuler berfungsi pada banyak proses, seperti pengikatan ATP, aktivitas kinase, aktivitas kinase protein, aktivitas kinase protein *serine/threonine*, dan aktivitas transferase.

b. Fungsi Fenotipik

Gen *OsPPCK* diketahui termasuk ke dalam gen-gen yang diinduksi secara khusus oleh cekaman kekeringan. Salah satu fungsi fenotipik dari gen ini diduga adalah menginduksi toleransi terhadap stres kekeringan. Oleh karena itu, gen ini dapat dimanfaatkan untuk perakitan tanaman transgenik toleran kekeringan.

DESKRIPSI VEKTOR TRANSFORMASI

ID vektor	: pBIOGEN-015
Nama gen	: <i>OsPPCK</i>
Produk gen	: Protein faktor transkripsi
Sumber gen	: Organisme: <i>Oryza sativa</i> Tipe molekul: DNA genomik Kultivar: Cabacu
Nama lengkap	: pCAMBIA1300int-prUbi1-OsPPCK-tNOS
Orientasi	: <i>Sense</i>
Vektor biner	: pCAMBIA-1300int-Ubi1
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: prUbi1-OsPPCK-tNOS
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>PacI</i> - <i>OsPPCK</i> - <i>KpnI</i> di antara prUbi1- <i>PacI</i> - <i>KpnI</i> -tNOS pada plasmid pCAMBIA-1300int-prUbi1-tNOS (dari Emmanuel Guiderdoni, CIRAD, Perancis)
Perancang vektor	: Tri Joko Santoso
Perakit vektor	: Tri Joko Santoso dan Mira B. sitepu
Proyek/Penangguna jawab	: APBN Kloning Gen 2012/Tri Joko Santoso
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Stok gliserol LBA4404	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2012
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 18. Diagram skematis kaset T-DNA gen *OsPPCK*.

16. KONSTRUK GEN pBIOGEN-016

Nama konstruk	:	pBIOGEN-016
Nama gen	:	<i>Cucumis sativus-nitrite transporter 1-L</i> (<i>CsNitr1-L</i>)

DESKRIPSI UMUM

Gen *CsNitr1-L* merupakan transporter nitrit yang diisolasi dari tanaman mentimun (*Cucumis sativus*) dan berfungsi mempercepat transportasi nitrit menuju kloroplas (Sugiura *et al.* 2007). Menurut Sustiprijatno *et al.* (2006), gen *CsNitr1-L* termasuk ke dalam kelompok gen proton-dependen oligopeptide transporter (POT). Proses transfer nitrit yang berada di dalam sitoplasma ke dalam kloroplas/plastida ini sangat penting karena di dalam kloroplas/plastida terjadi reduksi nitrit menjadi amonium oleh enzim nitrit reduktase yang selanjutnya akan terkorporasi ke dalam *carbon skeleton* melalui proses glutamin sintetase-glutamat sintetase. Peningkatan kemampuan transport nitrit ini dipercaya akan meningkatkan serapan tanaman terhadap N melalui jalur nitrat.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

Gen *CsNitr1-L* merupakan transporter nitrit yang berfungsi mempercepat transportasi nitrit menuju kloroplas.

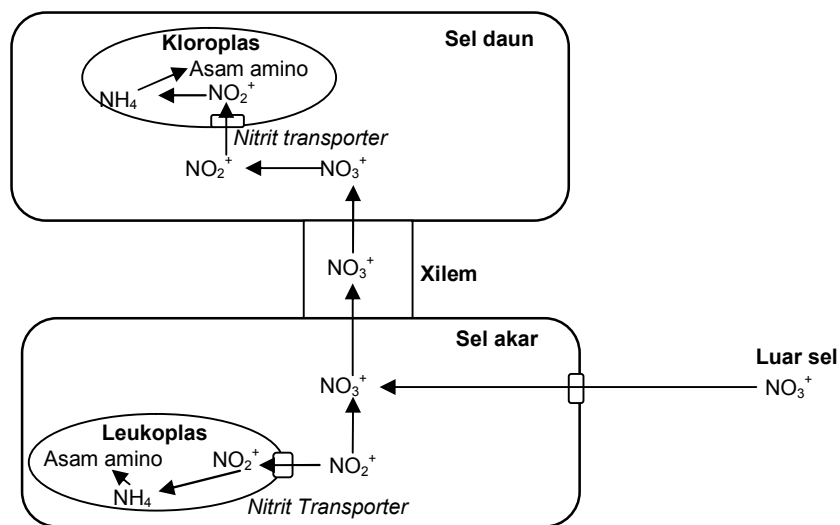
b. Fungsi Fenotipik

Eksresi gen *CsNitr1-L* dapat meningkatkan kemampuan transport nitrit sehingga akan meningkatkan serapan tanaman terhadap N melalui jalur nitrat. Peningkatan serapan N dapat meningkatkan efisiensi tanaman dalam memanfaatkan pupuk nitrogen.

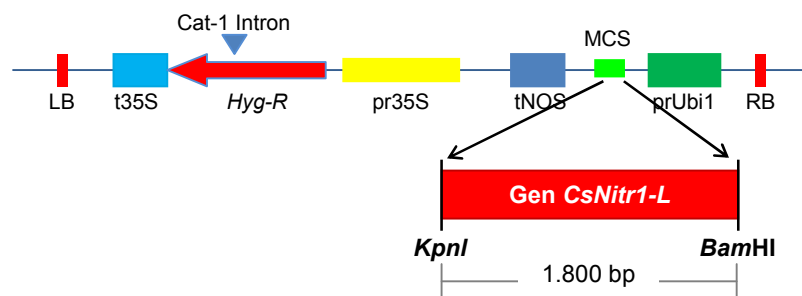
DESKRIPSI VEKTOR TRANSFORMASI

ID vektor	:	pBIOGEN-016
Nama gen	:	<i>CsNit1-L</i>
Sumber gen	:	<i>Cucumis sativus</i>
Nama lengkap	:	pCAMBIA1300-prUbi1-....-tNOS
Orientasi	:	<i>Sense</i>
Vektor biner	:	pCAMBIA 1300
Marka seleksi bakteri	:	<i>Kanamycin-R</i>

Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor tanaman	: -
Kaset ekspresi	: prUbi-CsNitr1-L-tNos
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>CsNitr1-L</i> ke dalam plasmid pCambia 1300 di antara situs restriksi <i>Bam</i> HI dan <i>Xma</i> I
Perancang vektor	: Kurniawan Rudi Trijatmiko
Perakit vektor	: Wening Enggarini, Rizky Ammar, Nuraini, dan Aqwin Polosoro
Proyek/Penanggung jawab	: APBN 2013/Wening Enggarini
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Informasi paten	: Belum dipatenkan



Gambar 19. Lintasan metabolisme nitrogen pada tanaman.



Gambar 20. Diagram skematis kaset T-DNA gen *CsNitr1-L*.

17. KONSTRUK GEN pBIOGEN-017

Nama konstruk	:	pBIOGEN-017
Nama gen	:	<i>LcCsp</i>

DESKRIPSI UMUM

Adaptasi memerlukan pemulihan yang cepat pada pertumbuhan dan pemeliharaan fungsi seluler setelah cekaman. Penelitian sistem-sistem model, seperti tanaman dan bakteri, menunjukkan kesamaan yang luas pada mekanisme respons terhadap cekaman di antara organisme-organisme yang berbeda. Csp adalah sekelompok kecil protein yang terakumulasi secara cepat selama terjadi kejutan dingin. Salah satu contohnya adalah CspA dari *E. coli*, yang mengandung CSD prototipik yang terdiri atas 65–70 aa dan sudah ditemukan pada bakteri, arkea, dan eukariota, termasuk tanaman.

FUNGSI GEN

a. Fungsi Molekuler

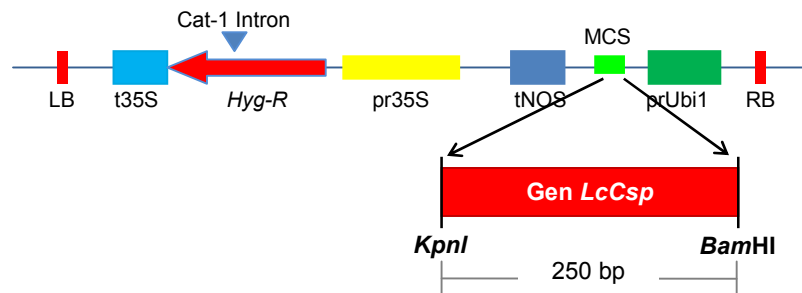
Csp pada *Lactobacillus casei* mempunyai fungsi yang sama dengan BsCsp, sebagai *RNA chaperone*, yaitu protein yang menempel pada RNA dan mampu mempertahankan RNA tetap dalam struktur lipatan yang benar, meskipun dalam kondisi cekaman lingkungan, sehingga tetap bisa diakses untuk menjalankan fungsi-fungsi biologisnya (Castiglioni *et al.* 2008).

b. Fungsi Fenotipik

Gen *LsCsp* diekspresikan untuk memperbaiki toleransi terhadap suhu dingin pada *Arabidopsis*, toleransi terhadap kekeringan pada jagung, dan toleransi terhadap suhu dingin, panas, dan kekeringan pada padi (Castiglioni *et al.* 2008). Jagung transgenik toleran kekeringan yang mengekspresikan gen *BsCsp* sudah dikomersialkan oleh Monsanto dengan kode event MON-8746Ø-4 dengan nama dagang Genuity® DroughtGard™.

DESKRIPSI VEKTOR TRANSFORMASI

ID vektor	: pBIOGEN-017
Nama gen	: <i>LcCSP</i>
Sumber gen	: <i>Lactobacillus casei</i>
Nama lengkap	: pCAMBIA1300-prUbi-....-tNOS
Orientasi	: Sense
Vektor biner	: pCAMBIA 1300
Marka seleksi bakteri	: <i>Kanamycin-R</i>
Marka seleksi tanaman	: <i>Hygromycin-R</i>
Gen pelapor	: -
Kaset ekspresi	: prUbi-LcCSP-L-tNos
Metode kloning	: Ligasi fragmen <i>LcCSP</i> ke dalam plasmid pCambia 1300 di antara situs restriksi <i>Bam</i> HI dan <i>Kpn</i> I
Perancang vektor	: Kurniawan Rudi Trijatmiko
Perakit vektor	: Aqwin Polosoro dan Dina Sriyulita
Proyek/Penanggu	: APBN 2013/Diani Damayanti
jawab	
Penyimpanan plasmid	: Freezer -20°C di Laboratorium BM3
Stok gliserol DH5α	: Freezer -80°C di Laboratorium Terpadu
Tanggal penyimpanan	: Desember 2013
Informasi paten	: Sudah dipatenkan oleh pihak lain



Gambar 21. Diagram skematis kaset T-DNA gen *LcCSP*.

DAFTAR PUSTAKA

- Castiglioni, P. *et al.* 2008. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions. *Plant Physiology*, 147(2), pp. 446–455.
- Dafny-Yelin, M. & Tzfira, T. 2007. Delivery of multiple transgenes to plant cells. *Plant Physiology*, 145(4), pp. 1118–1128.
- Dai, S. *et al.* 2001. Comparative analysis of transgenic rice plants obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation and particle bombardment. *Molecular Breeding*, 7(1), pp. 25–33.
- Engler, C., Kandzia, R. & Marillonnet S. 2008. A one pot, one step, precision cloning method with high throughput capability. *PLoS ONE*, 3(11):e3647. doi:10.1371/journal.pone.0003647.
- Fan C., Y. Xing, H. Mao, T. Lu, B. Han, C. Xu, X. Li, and Q. Zhang. 2006. GS3, a major QTL for length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembran protein. *Theor Appl Genet* 122:1164–1171.
- Fujita, Y., Shinozaki, K.Y. & Shinozaki, K. 2007. Improving drought and salt stress tolerance in plants by gene transfer. *4th Biomass-Asia Workshop*, Malaysia. 17 pp.
- Gao, S. *et al.* 2008. Expression of *TERF1* in rice regulates expression of stress-responsive genes and enhances tolerance to drought and high-salinity. *Plant Cell Reports*, 27(11), pp. 1787–1795.
- Gelvin, S.B. 2003. *Agrobacterium*-mediated plant transformation: The biology behind the “gene-jockeying” tool. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 67(1), pp. 16–37.
- Gibson, D.G. *et al.* 2009. Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nature Methods*, 6(5), pp. 343–345.
- Good, A.G., Shrawat, A.K. & Muench, D.G. 2004. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? *Trends in Plant Science*, 9(12), pp. 597–605.
- Harrison, B.D. 1985. Advances in *Geminivirus* research. *Annual Review of Phytopathology*, 23, pp. 55–82.
- Hu, H. *et al.* 2008. Characterization of transcription factor gene *SNAC2* conferring cold and salt tolerance in rice. *Plant Molecular Biology*, 67(1–2), pp. 169–181.
- Huang, X. *et al.* 2009. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nature genetics*, 41(4), pp. 494–497.
- Komori, T. *et al.* 2007. Current status of binary vectors and superbinary vectors. *Plant Physiology*, 145, pp. 1155–1160.
- Marsischky, G. & LaBaer, J. 2004. Many paths to many clones: A comparative look at high-throughput cloning methods. *Genome Research*, 14, pp. 2020–2028.

- Onouchi, H. *et al.* 2000. Mutagenesis of plants overexpressing *CONSTANS* demonstrates novel interactions among *Arabidopsis* flowering-time genes. *The Plant Cell*, 12(6), pp. 885–900.
- Peralta, E.G., Hellmiss, R. & Ream, W. 1986. Overdrive, a T-DNA transmission enhancer on the *A. tumefaciens* tumour-inducing plasmid. *The EMBO Journal*, 5(6), pp. 1137–1142.
- Piao, R. *et al.* 2009. Map-based cloning of the *ERECT PANICLE 3* gene in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(8), pp. 1497–1506.
- Raj, SK., Singh R., Pandey, S.K., and Singh B.P. 2005. Agrobacterium-mediated tomato transformation and regeneration of transgenic lines expressing Tomato leaf curl virus coat protein gene for resistance against TLCV infection, *Current Sci* 88(10):1674-1679.
- Robert, L.S. *et al.* 1998. Conserved structure and function of the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS* in *Brassica napus*. *Plant Molecular Biology*, 37(5), pp. 763–772.
- Rose, A.B. 2008. Intron-mediated regulation of gene expression. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 326, pp. 277–290.
- Ryu, H.S. *et al.* 2006. A comprehensive expression analysis of the *WRKY* gene superfamily in rice plants during defense response. *Plant Cell Reports*, 25(8), pp. 836–847.
- Santoso, T.J. *et al.* 2011. Konstruksi kandidat gen *AV1 Begomovirus* pada pBI121 dan introduksinya ke dalam tembakau menggunakan vektor *Agrobacterium tumefaciens*. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), hlm. 9–18.
- Sinisterra, X.H. *et al.* 1999. Tobacco plants transformed with a modified coat protein of *Tomato mottle Begomovirus* show resistance to virus infection. *Phytopathology*, 89(8), 701–706.
- Sugiura, M., Georgescu, M.N. & Takahashi, M. 2007. A nitrite transporter associated with nitrite uptake by higher plant chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 48(7), pp. 1022–1035.
- Sumunar, A.I. 2008. Gen nodulasi pada kedelai berhasil diisolasi dan dipatenkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 30(2), hlm. 6–7.
- Sustiprijatno *et al.* 2006. Improvement of nitrate-and nitrite-dependent growth of rice by the introduction of a constitutively expressing chloroplastic nitrite transporter. *Plant Biotechnology*, 23, pp. 47–54.
- Svitashev, S.K. & Somers, D.A. 2001. Genomic interspersions determine the size and complexity of transgene loci in transgenic plants produced by microprojectile bombardment. *Genome*, 44, 691–697.
- Szybalski, W. *et al.* 1991. Class-IIS restriction enzymes — a review. *Gene*, 109(1), p. 169.
- Wang, Y. *et al.* 2005. Molecular tailoring of farnesylation for plant drought tolerance and yield protection. *Plant Journal*, 43(3), pp. 413–424.

- Wisser, R.J. *et al.* 2005. Identification and characterization of regions of the rice genome associated with broad-spectrum, quantitative disease resistance. *Genetics*, 169(4), pp. 2277–2293.
- Yuan, D. *et al.* 2012. 'Crop plants transformation methods' in *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology* ed. R.A. Meyers, Springer, New York, pp. 2583–2615.
- Zhang, H. *et al.* 2004. The ethylene-, jasmonate-, abscisic acid- and NaCl-responsive tomato transcription factor *JERF1* modulates expression of GCC box-containing genes and salt tolerance in tobacco. *Planta*, 220(2), pp. 262–270.
- Ziegelhoffer, E.C., L.J. Medrano, & E.M. Meyerowitz. 2000. Cloning of the Arabidopsis WIGGUM gene identifies a role for farnesylation in meristem development. *PNAS*. 97(13):7633–7638.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuen lengkap vektor kloning pCAMBIA-1301.

Akses bank gen: AF234297.1

FASTA Graphics

Go to:

```

LOCUS       AF234297 11849 bp DNA circular SYN 24-APR-2000
DEFINITION  Binary vector pCAMBIA-1301, complete sequence.
ACCESSION   AF234297
VERSION     AF234297.1 GI:7638068
KEYWORDS    .
SOURCE      Binary vector pCAMBIA-1301
ORGANISM    Binary vector pCAMBIA-1301, other sequences; artificial sequences; vectors.
REFERENCE   1 (sites)
AUTHORS     Hajdukiewicz, P., Svab, Z. and Maliga, P.
TITLE       The small, versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation
JOURNAL     Plant Mol. Biol. 25 (6), 989-994 (1994)
PUBMED      7919218
REFERENCE   2 (bases 1 to 11849)
AUTHORS     Roberts, C., Rajagopal, S., Smith, L.M., Nguyen, T.A., Yang, W., Nugrohu, S., Ravi, K.S.,
            Vijayachandra, K., Harcourt, R.L., Dransfield, L., Desamero, N., Slamet, I., Hajdukiewicz,
            P., Svab, Z., Maliga, P., Mayer, J.E., Keese, P.K., Kilian, A. and Jefferson, R.A.
TITLE       A comprehensive set of modular vectors for advanced manipulations and efficient
            transformation of plants
JOURNAL     Unpublished
REMARK      Full description of constructs
REFERENCE   3 (bases 1 to 11849)
AUTHORS     Roberts, C., Rajagopal, S., Smith, L.M., Nguyen, T.A., Yang, W., Nugrohu, S., Ravi, K.S.,
            Vijayachandra, K., Harcourt, R.L., Dransfield, L., Desamero, N., Slamet, I., Hajdukiewicz,
            P., Svab, Z., Maliga, P., Mayer, J.E., Keese, P.K., Kilian, A. and Jefferson, R.A.
TITLE       Direct Submission
JOURNAL     Submitted (15-FEB-2000) CAMBIA, Clunies Ross St, Black Mountain/GPO Box 3200,
            Canberra, ACT 2601, Australia
FEATURES    Location/Qualifiers
             source
               1..11849
               /organism="Binary vector pCAMBIA-1301" /mol_type="other DNA"
               /db_xref="taxon:118389"
CDS         join(11844..11849,1..9,200..2047) /codon_start=1 /product="GUSA, hexaHis tagged"
             /protein_id="AAF65342.1" /db_xref="GI:7638072" /translation=
             "MVDLRNRRLVRPVETPTREIKKLDGLWAFSLDRENCGIDQRWWE
             SALQESRAIAVPGSFNDQFADADIRNYAGNVVYQREVFIPKGWAGQRIVLRFDAVTHY
             GKVVVNNQEVMEHQGGYTPFEADVTPYVIAGKSVRITVCVNNELNWWQTIPPGMVTIDE
             NGKKKQSYFHDFFNYAGIHRVSMLYTTPNTWVDDITVTHVAQDCNHSVDWQVVANG
             DVSVELRDADQQVVATGQGTSGTLQVNPVHLWQPGEGYLYELEVAKSQTESDIYPLR
             VGIRSVAVKGQQLINHKPFYFTGFRHEDADLRGKGFNDVLMVHDHALMDWIGANSY
             RTSHYPYAEEMLDWADEHGIVIDEATAAVGFQLSLGIGFEAGNKPKEYSEEA VNGET
             QQAHLQAIKELIARDKNHPSVVMWSIANEPDTRPQGAREYFAPLAEATRKLDPTRPIT
             CVNVMFCDAHTDTISDLFDVLCNRYYGWYVQSGDLETAEKVLEKELLAWQEKLHQPI
             IITEYGVDTLAGLHSMYTDMSWEEYQCAWLDMYHRVFDVRSVAVGEQVWNFADFATSQ
             GILRVGGNKKGIFTRDRKPKSAFLQKRWGMNFGKPKQGGKQASHHHHHHV"
misc_feature 1028..1987
             /note="Glycosyl hydrolases family 2, TIM barrel domain; Region: Glyco_hydro_2_C;
             pfam02836" /db_xref="CDD:251563"
misc_feature 233..748
             /note="Glycosyl hydrolases family 2, sugar binding domain; Region: Glyco_hydro_2_N;
             pfam02837" /db_xref="CDD:251564"
misc_feature 758..1024
             /note="Glycosyl hydrolases family 2; Region: Glyco_hydro_2; pfam00703"
             /db_xref="CDD:250069"

```

misc_feature 215..2008
 /note="beta-D-glucuronidase; Provisional; Region: PRK10150" /db_xref="CDD:236657"
 exon 9..11844
 /note="synthetic first gus exon (modular)"
 intron 10..199
 /note="Castorbean catalase intron; modified"
 exon 200..2047
 /note="second gusA exon, His6"
 misc_feature 2079..2331
 /note="nos (nopaline synthase) 3'UTR (polyA signal)"
 misc_feature 2369..2394
 /note="right border T-DNA repeat"
 misc_feature complement(3435..4435)
 /note="STA region from pVS1 plasmid"
 rep_origin complement(5028..6028)
 /note="pVS1-REP; replication origin from pVS1"
 misc_feature complement(6438..6698)
 /note="bom site from pBR322"
 rep_origin complement(6838..7118)
 /note="pBR322 origin of replication"
 CDS complement(7409..8203)
 /note="aadA (kanamycin resistance) gene amplified from pIG121Hm" /codon_start=1
 /product="aminoglycoside phosphotransferase" /protein_id="AAF65340.1"
 /db_xref="GI:7638070"
 /translation="MAKMRISPELKKLIEKYRCVKDTEGMSPAKVYKLVGENENLYLK
 MTDSRYKGTTYDVEREKDMLWLEGLPVPKVLHFERHDGWSNLLMSEADGVLCSSEEY
 EDEQSPEKIIELYAECIRLFHSIDISDCPYTNSLDSRLAELDYLLNNDLADVDCENWE
 EDTPFKDPRELYDFLKTEKPEEELVFSHGDLGDSNIFVKDGVSGFIDLGRSGRADKW
 YDIAFCVRSIREDIGEEQYVELFFDLLGIKPDWEKIKYILLDELFI"
 misc_feature complement(7412..8155)
 /note="Aminoglycoside 3'-phosphotransferase (APH). The APH subfamily is part of a
 larger superfamily that includes the catalytic domains of other kinases, such as the typical
 serine/threonine/tyrosine protein kinases (PKs), RIO kinases, actin-fragmin...; Region:
 APH; cd05150" /db_xref="CDD:240171"
 misc_feature complement(7433..8137)
 /note="Phosphotransferase enzyme family; Region: APH; pfam01636"
 /db_xref="CDD:250760"
 misc_feature complement(order(7412..7414,7418..7423,7514..7516,7523..7528,7580..7585,
 7613..7615,7619..7624,7634..7636,7724..7732,7739..7741,7913..7915,7925..7936,
 7982..7984, 8072..8074,8078..8080,8111..8113,8123..8134,8138..8140)) /note="active
 site" /db_xref="CDD:240171"
 misc_feature complement(order(7580..7585,7613..7615,7619..7624,7913..7915,7925..7936,
 8072..8074,8078..8080,8111..8113, 8123..8128,8138..8140)) /note="ATP binding site
 [chemical binding]; other site" /db_xref="CDD:240171"
 misc_feature complement(order(7412..7414,7418..7423,7514..7516,7523..7528,7634..7636,
 7724..7732)) /note="antibiotic binding site [chemical binding]; other site"
 /db_xref="CDD:240171"
 misc_feature 8628..8653
 /note="left border repeat from C58 T-DNA"
 misc_feature 8720..8928
 /note="CaMV 3'UTR (polyA signal)"
 CDS complement(8944..9969)
 /note="hptII (hygromycin resistance) gene" /codon_start=1 /product="hygromycin
 phosphotransferase" /protein_id="AAF65341.1" /db_xref="GI:7638071"
 /translation="MKKPELTATSVEKFLIEKFDSDLMQLSEGEESRAFSFDVGGGR
 GYVLRVNSCADGFYKDRYVYRHFASAALPIPEVLIDIGEFSESLTYCISRRAGQVTLQD
 LPETELPAVLQPVAEAMDAIAAADLSQTSFGFGPGQIGQYTTWRDFICAIADPHVY
 HWQTVMDDTVSAQALDEMLWAEDCPEVRHLVHADFGSNNVLTNDNGRITAVIDWS
 EAMFGDSQYEVANIFFWRPWLACMEQQTRYFERRHPELAGSPRLRAYMLRIGLDQLYQ
 SLVDGNFDDAAWAQGRCDIVRSGAGTVGRTQIARRSAAVWTDGCEVLADSGNRRPS
 TRPRAKK"
 misc_feature complement(9256..9891)

/note="Aminoglycoside 3'-phosphotransferase (APH) and Choline Kinase (ChoK) family. The APH/ChoK family is part of a larger superfamily that includes the catalytic domains of other kinases, such as the typical serine/threonine/tyrosine protein kinases (PKs)...; Region: APH_ChoK_like; cd05120" /db_xref="CDD:240159"

misc_feature complement(9175..9900)
/note="Phosphotransferase enzyme family; Region: APH; pfam01636"
/db_xref="CDD:250760"

misc_feature complement(order(9265..9267,9322..9327,9355..9357,9361..9366,9376..9378,9685..9696,9745..9747,9823..9825, 9829..9831,9862..9864,9874..9876)) /note="active site" /db_xref="CDD:240159"

misc_feature complement(order(9322..9327,9355..9357,9361..9366,9376..9378,9685..9696,9745..9747,9823..9825,9829..9831, 9862..9864)) /note="ATP binding site [chemical binding]; other site" /db_xref="CDD:240159"

misc_feature complement(order(9265..9267,9376..9378,9874..9876))
/note="substrate binding site [chemical binding]; other site" /db_xref="CDD:240159"

promotor complement(10005..10785) /note="CaMV35S2; CaMV 35S promotor, duplicated"

promotor 10933..10987
/note="PlacZ; lacZ promotor"

CDS 11015..11248
/codon_start=1 /product="LacZ alpha fragment" /protein_id="AAF65339.1"
/db_xref="GI:7638069"
/translation="MTMITNSSVPGDPLESTCRHASLALAVLQRRDWENPGVTQLN
RLAAHPPFASWRNSEEARTDRPSQQLRSLNGEC"

misc_feature <11030..11095
/note="B domain; Region: IgG_binding_B; pfam01378" /db_xref="CDD:144825"

misc_feature 11029..11085
/note="pUC18 MCS; polylinker"

promotor 11299..11836
/note="CaMV35S; 35S promotor from CaMV"

ORIGIN

1	gatctgaggg	taaatttcta	gtttttctcc	ttcattttct	tggttaggac	ccttttctct
61	ttttattttt	ttgagctttg	atctttcttt	aaactgatct	attttttaat	tgattgggta
121	tggtgtaa	attacatagc	ttaactgat	aatctgatta	ctttatttcg	tgtgtctatg
181	atgatgatga	tagttacaga	accgacgact	cgtccgtcct	gtagaaaccc	caacccgtga
241	aatcaaaaaa	ctcgacggcc	tgtgggcatt	cagctcggat	cgcgaaaact	gtggaattga
301	tcagcgttgg	tggaagagcg	cggtacaaga	aagccgggca	attgctgtgc	caggcagttt
361	taacgatcag	ttcgccgatg	cagatattcg	taattatcgc	ggcaacgtct	ggatcacgag
421	cgaagctttt	ataccgaaag	gttgggcagg	ccagcgtatc	gtgctgcgtt	tcgatgcggt
481	cactcattac	ggcaaagtgt	gggtcaataa	tcaggaagtg	atggagcatc	agggcggcta
541	tacgccattt	gaagccgatg	tcacgccgta	tgattattgcc	gggaaaagtg	tacgtatcac
601	cgtttgtgtg	aacaacgaac	tgaaactgca	gactatcccg	ccgggaatgg	tgattaccga
661	cgaaaaacg	aagaaaaagc	agtccttact	ccatgatctt	tttaactatg	ccggaatcca
721	tcgcagcgta	atgctctaca	ccacgccgaa	cacctgggtg	gacgatatca	ccgtggtgac
781	gcatgtcgcg	caagactgta	accacgcgtc	tggtgactgg	caggtggtgg	ccaatggtga
841	tgtagcgtt	gaactgcgtg	atgcggatca	acaggtggtt	gcaactggac	aaggcactag
901	cgggactttg	caagtgtgtg	atccgcacct	ctggcaaccg	ggtgaagggt	atctctatga
961	actcgaagtc	acagccaaaa	gccagacaga	gtctgataac	tacccgcttc	gcgtcggcat
1021	ccggtcagtg	gcagtgaagg	gccaacagtt	cctgattaac	cacaaaccgt	tctactttac
1081	tggcttttgt	cgatcatgag	atgcggactt	acgtggcaaa	ggattcgcata	acgtgctgat
1141	ggtgcacgac	cacgcattaa	tggactggat	tggggccaac	tcctaccgta	cctcgcatta
1201	cccttacgct	gaagagatgc	tcgactgggc	agatgaacat	ggcatcgtgg	tgattgatga
1261	aactgctgct	gtcggctttc	agctgtcttt	aggcattggt	ttcgaagcgg	gcaacaagcc
1321	gaaagaactg	tacagcgaag	aggcagtcaa	cggggaaact	cagcaagcgc	acttacaggc
1381	gattaaagag	ctgatagcgc	gtgacaaaaa	ccaccgaagc	gtggtgatgt	ggagattatg
1441	caacgaaccg	gatacccgct	cgcaagggtc	acgggaatat	ttcgcgccac	tggcgaagc
1501	aacgcgtaaa	ctcgaccgga	cgctgccgat	cacctgcgtc	aatgtaattg	tctgcgacgc
1561	tcacaccgat	accatcagcg	atctctttga	tgtgtctgtc	ctgaaccgtt	attacggatg
1621	gtatgtccaa	agcggcgatt	tggaacgcgc	agagaaggta	ctgaaaaaag	aactctcgcc

1681	ctggcaggag	aaactgcatc	agccgattat	catcaccgaa	tacggcgtgg	atacgttagc
1741	cgggctgcac	tcaatgtaca	ccgacatgtg	gagtgaagag	tatcagtgtg	catggctgga
1801	tatgtatcac	cgcgctcttg	atcgcgctag	cgccgctgct	ggtgaacagg	tatggaattt
1861	cgccgatttt	gcgaacctgc	aaggcatatt	gcgcgttggc	ggtaacaaga	aagggatctt
1921	cactcgcgac	cgcaaaccga	agtcggcggc	ttttctgctg	caaaaacgct	ggactggcat
1981	gaacttcggt	gaaaaaccgc	agcaggagg	caaaacagct	agccaccacc	accaccacca
2041	cgtgtgaatt	acaggtgacc	agctcgaatt	tccccgatcg	ttcaaacatt	tggcaataaa
2101	gtttcttaag	attgaatcct	gttgccggtc	ttgcgatgat	tatcatataa	tttctgttga
2161	attacgttaa	gcatgtaata	attaacatgt	aatgcacgac	gttatttatg	agatggggtt
2221	ttatgattag	agtccccgaa	ttatacattt	aatacgcgat	agaaaacaaa	atatagcgcg
2281	caaactagga	taaattatcg	cgcgcggtgt	catctatgtt	actagatcgg	gaattaaact
2341	atcagtgttt	gacaggatat	attggcgggt	aaacctaaga	gaaaagagcg	tttattagaa
2401	taacggatat	ttaaaagggc	gtgaaaaggt	ttatccgttc	gtccatttgt	atgtgcatgc
2461	caaccacagg	gttccccctg	ggatcaaagt	actttgatcc	aacccctccg	ctgctatagt
2521	gcagtcggct	tctgacgttc	agtgcagccg	tcttctgaaa	acgacatgtc	gcacaagtcc
2581	taagtacgc	gacaggctgc	cgccctgccc	ttttctggc	gttttctgt	cgcggtttt
2641	agtcgcataa	agtagaatac	ttgcgactag	aaccggagac	attacgcat	gaacaagagc
2701	gcccgcgctg	gcctgctggg	ctatgcccgc	gtcagcaccg	acgaccagga	cttgaccaac
2761	caacgggccc	aactgcacgc	ggccggctgc	accaagctgt	tttccgagaa	gatcaccggc
2821	accaggcgcg	accgcccggg	gctggccagg	atgcttgacc	acctacgccc	tggcgacgtt
2881	gtgacagtga	ccaggctaga	ccgctggccc	cgacgacccc	gcgacctact	ggacattgcc
2941	aggcgcatcc	aggaggccgg	cgcgggcctg	cgtagcctgg	cagagccgtg	ggccgacacc
3001	accacgcccg	ccgcccgcac	gggtttgacc	gtgttcgccc	gcattgcccga	gttcgagcgt
3061	tccctaatac	tcgaccgcac	ccggagcggg	cgcgaggccg	ccaaggcccg	aggcgtgaag
3121	tttggcccc	gccctaccct	caccccgcca	cagatcgcg	acgcccgcga	gctgatcgac
3181	caggaaggcc	gcaccgtgaa	agaggcggt	gcactgctg	gcgtgcatcg	ctcgaccctg
3241	taccgcgac	ttgagcgac	cgaggaaagt	acgcccaccg	aggccaggcg	cgcggtgccc
3301	ttccgtgagg	acgcattgac	cgaggccgac	gccctggcgg	ccgccgagaa	tgaacgcaa
3361	gaggaacaag	catgaaaccg	caccaggacg	gccaggacga	accgttttcc	attaccgaag
3421	agatcgaggc	ggagatgac	gcggccgggt	acgtgttcga	gccgcccgcg	cacgtctcaa
3481	ccgtgcggct	gcatgaaatc	ctggccgggt	tgtctgatgc	caagtggcg	gcctggccgg
3541	ccagcttggc	cgctgaagaa	accgagcgcc	gccgtctaaa	aaggtgatgt	gtattttagt
3601	aaaacagctt	gcgtcatgcg	gtcgtgctg	atatgatgcg	atgagtaaat	aaacaaatac
3661	gcaaggggaa	cgcatgaagg	ttatcgctgt	acttaaccag	aaaggcgggt	caggcaagac
3721	gaccatcgca	acccatctag	cccgcgccct	gcaactcgcc	ggggccgatg	ttctgttagt
3781	cgattccgat	cccaggggca	gtgcccgcga	ttgggcccgc	gtgcgggaag	atcaaccgct
3841	aaccgttgct	ggcatcgacc	gcccgcacgat	tgaccgcgac	gtgaaggcca	tcggccggcg
3901	cgacttcgta	gtgatcgacg	gagcgcccca	ggcggcggac	ttggctgtgt	ccgcgatcaa
3961	ggcagccgac	ttcgtgctga	ttccggtgca	gccaagccct	tacgacatat	gggccaccgc
4021	cgacctggtg	gagctgggta	agcagcgcat	tgagggtcacg	gatggaaggc	tacaagcggc
4081	ctttgtcgtg	tcgcgggcga	tcaaaggcac	gcgcatcggc	ggtgagggtg	ccgaggcgct
4141	ggccgggtac	gagctgcccc	ttcttgagtc	ccgtatcacg	cagcgcgtga	gctaccagg
4201	cactgccgcc	gccggcacaa	ccgttcttga	atcagaaccc	gagggcgacg	ctgcccgcga
4261	ggtccaggcg	ctggccgctg	aaattaaatc	aaaactcatt	tgagttaatg	aggtaaagag
4321	aaaatgagca	aaagcacaaa	cacgcctaagt	gccggccgtc	cgagcgacac	cagcagcaag
4381	gctgcaacgt	tggccagcct	ggcagacacg	ccagccatga	agcgggtcaa	ctttcagttg
4441	ccggcgagg	atcacacca	gctgaagatg	tacgcggtac	gccaaggcaa	gaccattacc
4501	gagctgctat	ctgaatacat	cgcgacgcta	ccagagtaaa	tgagcaaatg	aataaatgag
4561	tagatgaatt	ttagcggcta	aaggaggcgg	catggaaaat	caagaacaac	caggcaccga
4621	cgccgtggaa	tgccccatgt	gtggagggaac	gggcggttgg	ccaggcgtaa	gcggctgggt
4681	tgtctgccgg	ccctgcaatg	gcactggaac	cccaagccc	gaggaatcgg	cgtgacggtc
4741	gcaaaccatc	cgggccggta	caaatcggcg	cggcgctggg	tgatgacctg	gtggagaagt
4801	tgaaggccgc	gcaggccgcc	cagcggaac	gcatcgaggc	agaagcacgc	cccgtgtaat
4861	cgtgcaagc	ggccgctgat	cgaatccgca	aagaatccc	gcaaccgccc	gcagccggtg
4921	cgccgtcgat	taggaagccg	cccaagggcg	acgagcaacc	agatttttcc	gttccgatgc
4981	tctatgacgt	gggcacccgc	gatagtcgca	gcatcatgga	cgtagccgtt	ttccgtctgt
5041	cgaagcgtga	ccgacgagct	ggcgaggtga	tccgctacga	gcttccagac	gggcacgtag

5101	aggtttccgc	agggccgccc	ggcatggcca	gtgtgtggga	ttacgacctg	gtactgatgg
5161	cggtttccca	tctaaccgaa	tccatgaacc	gataccggga	aggggaaggga	gacaagcccc
5221	gccgcgtgtt	ccgtccacac	gttcgagacg	tactcaagtt	ctgccggcga	gccgatggcg
5281	gaaagcagaa	agacgacctg	gtagaaacct	gcattcggtt	aaacaccacg	cacgttgcca
5341	tgacgctac	gaagaaggcc	aagaacggcc	gcctgggtac	ggatccgag	ggtagaacct
5401	tgattagccg	ctacaagatc	gtaaaagacg	aaaccgggag	gccggagatc	atcgagatcg
5461	agctagctga	ttgatgtac	cgcgagatca	cagaaggcaa	gaacccggac	gtgctgacgg
5521	ttacccccga	ttactttttg	atcgatcccc	gcatcgcccg	ttttctctac	cgctggcac
5581	gccgcgccc	aggcaaggca	gaagccagat	ggttgttcaa	gacgatctac	gaacgcagtg
5641	gcagcgcccg	agagtccaag	aagtctgtt	tcaccgtgcg	caagctgac	gggtcaaatg
5701	acctgccgga	gtacgatttg	aaggaggagg	cggggcaggc	tgccccgac	ctagtcatgc
5761	gtaccgcaa	cctgatcgag	ggcgaaagcat	ccgccgggtc	ctaagtacg	gagcagatgc
5821	tagggcaaat	tgccctagca	ggggaaaaag	gtcgaaaaag	tctctttcct	gtggatagca
5881	cgtacattgg	gaacccaaag	ccgtacattg	ggaaccggaa	cccgtacatt	gggaacccaa
5941	agccgtacat	tggaaccgg	tcacacatgt	aagtgactga	tataaaagag	aaaaaaggcg
6001	atttttccgc	ctaaaactct	ttaaaactta	ttaaaactct	taaaaccg	ctggcctgtg
6061	cataactgtc	tgccagcgc	acagccgaag	agctgcaaaa	agcgctacc	cttcggctgc
6121	tgcgctccct	acgccccg	gcttcgctc	ggcctatcgc	ggccgctggc	cgctcaaaaa
6181	tggtggcct	acggccaggc	aatctaccag	ggcgccgaca	agccgcgccg	tcgccactcg
6241	accgccggcg	cccacatcaa	ggcaccctgc	ctcgcgctt	tcggtgatga	cggtgaaaac
6301	ctctgacaca	tgacgtccc	ggagacggtc	acagctgtc	tgtaaggcga	tgccgggagc
6361	agacaagccc	gtcagggcgc	gtcagcggt	gttgccgggt	gtcggggcgc	agccatgacc
6421	cagtcacgta	gcgatacgcg	aggtataact	ggcttaacta	tgcgcatca	gagcagattg
6481	tactgagagt	gcacatcatg	cggtgtgaaa	taccgcacag	atgcgtaagg	agaaaatacc
6541	gcatcagcgc	ctctccgct	tctcgtcta	ctgactcgt	gcgctcggtc	gttcggtcgc
6601	ggcgagcggt	atcagctcac	tcaaaggcgc	taatacgggt	atccacagaa	tcaggggata
6661	agcgaggaaa	gaacatgtga	gcaaaaggcc	agcaaaaggc	caggaaccgt	aaaaaggccg
6721	cggtgctggc	gtttttccat	aggctccgcc	cccctgacga	gcatcacaaa	aatcgacgct
6781	caagtcagag	gtggcgaaac	ccgacaggac	tataaagata	ccaggcggtt	ccccctggaa
6841	gctccctcgt	gcgctctcct	gttcgacccc	tgccgcttac	cggtacatcg	tccgcctttc
6901	tcccttcggg	aagcgtggcg	ctttctcata	gctcacgctg	taggtatctc	agttcggtgt
6961	aggctgctcg	ctccaagctg	ggctgtgtgc	acgaaccccc	cgttcagccc	gaccgtcgcg
7021	ccttatccgg	taactatcgt	cttgagtcca	acccggttaag	acacgactta	tcgccactgg
7081	cagcagccac	tggtaacagg	attagcagag	cgaggatgtg	aggcggtgct	acagagttct
7141	tgaagtgggtg	gcctaactac	ggctacacta	gaaggacagt	atttggtatc	tgcgctctgc
7201	tgaagccagt	taccttcgga	aaaagagttg	gtagctcttg	atccggcaaa	caaaccaccg
7261	ctggtagcgg	tggttttttt	gtttgcaagc	agcagattac	gcgcaaaaaa	aaaggatctc
7321	aagaagatcc	tttgatcttt	tctacggggt	ctgacgtcta	gtggaacgaa	aactcacggt
7381	aagggtatctt	ggatcatgat	tctaggtact	aaaacaattc	atccagtaaa	atataatatt
7441	ttatcttctc	ccaatcaggc	ttgatcccca	gtaagtcaaa	aaatagctcg	acatactgtt
7501	cttccccgat	atcctccctg	atcgaccgga	cgcaagaagg	aatgtcatac	cactgtcccg
7561	ccctgccgct	tctcccaaga	tcaataaagc	cacttacttt	gcatctttc	acaaagatgt
7621	tgctgtctcc	caggctgccg	tggaaaaaga	caagttcctc	ttcgggcttt	tccgtcttta
7681	aaaaatcata	cagctcgcg	ggatctttaa	atggagtgct	ttctcccag	ttttcgcaat
7741	ccacatcggc	cagatcggtta	ttcagtaagt	aatccaattc	ggctaagcgg	ctgtctaagc
7801	tattcgata	gggacaatcc	gatatgtcga	tgagtgaaaa	gagcctgatg	cactccgcac
7861	acagctcgat	aatcttttca	gggcttgg	catcttcata	ctctccgag	caaaggacgc
7921	catcgccctc	actcatgagc	agattgctcc	agccatcatg	ccgttcaaag	tgacggacct
7981	ttggaacagg	cagcttctc	tccagccata	gcatcatgct	ctttcccg	tccacatcat
8041	aggtgggtccc	tttataccgg	ctgtccgtca	tttttaata	taggttttca	ttttctccca
8101	ccagcttata	taccttagca	ggagacattc	ctccgtatc	ttttacgcag	cggtattttt
8161	cgatcagttt	tttcaattcc	ggatgatattc	tcattttagc	catttattat	ttcttctctc
8221	ttttctacag	tatttaaaga	tacccaaga	agctaattat	aacaagacga	actccaattc
8281	actgttcctt	gcattctaaa	accttaaata	ccagaaaaa	gcttttcaa	agttgttttc
8341	aaagtggcg	tataacatag	tatcgacgga	gccgattttg	aaaccgcggt	gatcacaggc
8401	agcaacgctc	tgctcatcgtt	acaatcaaca	tgctaccctc	cgcgagatca	tccgtgtttc
8461	aaaccgggca	gcttagttgc	cgttctccg	aatagcatcg	gtaacatgag	caaagtctgc

8521	cgcttacaa	cggtctccc	gctgacgcg	tcccggactg	atgggctgcc	tgtatcgagt
8581	ggtgattttg	tgccgagctg	ccggtcgggg	agctgtggc	tggtggtgg	caggatatat
8641	tgtggtgtaa	acaaattgac	gcttagacaa	cttaataaca	cattgcggac	gtttttaatg
8701	tactgaatta	acgcgaatt	aattcgggg	atctggattt	tagtactgga	ttttggtttt
8761	aggaattaga	aattttattg	atagaagtat	tttacaata	caaatacata	ctaagggttt
8821	cttatatgct	caacacatga	gcgaaaccc	ataggaaacc	taattccctt	atctgggaac
8881	tactcacaca	ttattatgga	gaaactcgag	ctgtcgatc	gacagatccg	gtcggcatct
8941	actctatttc	tttgccctcg	gacgagtgt	ggggcgctcg	tttccactat	cggcgagtac
9001	ttctacacag	ccatcggtcc	agacggccgc	gcttctgctg	gcgattgtg	tacgcccgac
9061	agtcccggct	ccggatcgga	cgattgcgtc	gcatcgaccc	tgcgcccaag	ctgcatcatc
9121	gaaattgccg	tcaaccaagc	tctgatagag	ttggtcaaga	ccaatgcgga	gcatatacgc
9181	ccggagtcgt	ggcgatcctg	caagctccgg	atgcctccgc	tcgaagtagc	gcgtctgctg
9241	ctccatacaa	gcccaaccacg	gcctccagaa	gaagatgttg	gcgacctcgt	attgggaatc
9301	cccgaacatc	gcctcgctcc	agtcaatgac	cgctgttatg	cggccattgt	ccgtcaggac
9361	attgttgag	ccgaaatccg	cgtgcacgag	gtgccggact	tcggggcagt	cctcgccca
9421	aagcatcagc	tcatcgagag	cctgcgcgac	ggacgcactg	acggtgtcgt	ccatcacagt
9481	ttgccagtga	tacacatggg	gatcagcaat	cgcgcatatg	aaatcacgcc	atgtagtga
9541	ttgaccgatt	ccttgcggtc	cgaatgggcc	gaacccgctc	gtctggctaa	gatcgccgc
9601	agcgatcgca	tccatagcct	ccgcgaccgg	ttgtagaaca	gcgggcagtt	cggttcagg
9661	caggtcttgc	aacgtgacac	cctgtgcacg	gcgggagatg	caataggta	ggctctcgt
9721	aaactcccca	atgtcaagca	cttcgggaat	cgggagcgcg	gccgatgcaa	agtgccgata
9781	aacataacga	ctttgtaga	aaccatcggc	gcagctattt	acccgcagga	catatccacg
9841	ccctcctaca	tcgaagctga	aagcacgaga	ttcttcgccc	tccgagagct	gcatacagtc
9901	ggagacgctg	tcgaactttt	cgatcagaaa	cttctcgaca	gacgtcgcgg	tgagttcagg
9961	cttttcata	tctcattgcc	ccccgggac	tgcgaaagct	cgagagagat	agattgttag
10021	agagagactg	gtgatttcag	cggtctctct	ccaaatgaaa	tgaacttcct	tatatagagg
10081	aaggctctgc	gaaggatagt	gggattgtgc	gtcatccctt	acgtcagtgg	agatatcaca
10141	tcaatccact	tgctttgaag	acgtgttg	aacgtctct	ttttcacga	tgctctcgt
10201	gggtgggggt	ccatctttg	gacctgtc	ggcagaggca	tctgaacga	tagcctttcc
10261	tttatcgcaa	tgatggcatt	tgtaggtgcc	accttcttt	tctactgtcc	ttttgatgaa
10321	gtgacagata	gctgggcaat	ggaatccgag	gaggtttccc	gatattaccc	tttgtgaaa
10381	agttctcaata	gccctttggt	cttctgagac	tgatatcttg	atattcttgg	agtagacgag
10441	agtgtcgtgc	tccaccatgt	tatcacatca	atccacttgc	tttgaagacg	tggttgaac
10501	gtcttctttt	tccacgatgc	tcctcgtggg	tgggggtcca	tctttgggac	cactgtcggc
10561	agaggcatct	tgaacgatag	cctttcctt	atcgcaatga	tggcatttgt	aggtgccacc
10621	ttccttttct	actgtcctt	tgatgaagtg	acagatagct	gggcaatgga	atccgaggag
10681	gtttcccgat	attaccctt	gttgaaaagt	ctcaatagcc	ctttggtctt	ctgagactgt
10741	atctttgata	ttcttgaggt	agacgagagt	gtcgtgctcc	accatgttgg	caagctgctc
10801	tagccaatac	gcaaaccgcc	tctcccgcg	cgttggccga	ttcattaatg	cagctggcac
10861	gacaggtttc	ccgactggaa	agcgggcagt	gagcgcaacg	caattaatgt	gagttagctc
10921	actcattagg	caccccaggc	tttacactt	atgcttccgg	ctcgtatgtt	gtgtggaatt
10981	gtgagcggat	aacaatttca	cacaggaaac	agctatgacc	atgattacga	attcgagctc
11041	ggtacccggg	gatcctctag	agtcgacctg	caggcatgca	agcttggcac	tgccgctcgt
11101	tttacaacgt	cgtagctggg	aaaaccctgg	cgttacccaa	ctaatcgcc	ttgcagcaca
11161	tccccctttc	gccagctggc	gtaatagcga	agaggccgcg	accgatcgcc	cttccaaca
11221	gttgcgcagc	ctgaatggcg	aatgctagag	cagcttgagc	ttggatcaga	ttgtcgtttc
11281	ccgccttcag	tttagcttca	tgaggtcaaa	gattcaaata	gaggacctaa	cagaactcgc
11341	cgtaaagact	ggcgaacagt	tcatacagag	tctcttacga	ctcaatgaca	agaagaaaat
11401	cttcgtcaac	atggtggagc	acgacacact	tgtctactcc	aaaaatatca	aagatacagt
11461	ctcagaagac	caaagggcaa	ttgagacttt	tcaacaaagg	gtaatatccg	gaaacctcct
11521	cggtattccat	tgcccagcta	tctgtcactt	tattgtgaag	atagtggaaa	aggaaggtgg
11581	ctcctacaaa	tgccatcatt	gcgataaagg	aaaggccatc	gttgaagatg	cctctgccga
11641	cagtgggtccc	aaagatggac	cccaccac	gaggagcatc	gtggaaaaag	aagacgttcc
11701	aaccacgtct	tcaaagcaag	tggttgatg	tgatatctcc	actgacgtaa	gggatgacgc
11761	acaatcccac	tatccttcgc	aagacccttc	ctctatataa	ggaagtcat	ttcatttga
11821	gagaacacgg	gggactcttg	accatggta			

//

Lampiran 2. Sekuen lengkap vektor kloning pC1300intA.

Akses bank gen: AF294976.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS AF294976 9148 bp DNA circular SYN 24-MAY-2002
DEFINITION Cloning vector pC1300intA, complete sequence.
ACCESSION AF294976
VERSION AF294976.1 GI:11559657
KEYWORDS .
SOURCE Cloning vector pC1300intA
ORGANISM Cloning vector pC1300intA
other sequences; artificial sequences; vectors.
REFERENCE 1 (bases 1 to 9148)
AUTHORS Ouwerkerk, P.B.F.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (11-AUG-2000) Dept. of Molecular Cell Biology, Institute for Molecular Plant Sciences, Wassenaarseweg 64, Leiden 2333 AL, Netherlands
FEATURES
source 1..9148
/organism="Cloning vector pC1300intA" /mol_type="genomic DNA" /db_xref="taxon:142849" /note="derived from Binary vector pCambia-1300 presented in GenBank Accession Number AF234296"
misc feature 1..9148
/note="presense of the catalase-1 intron in the hptII gene confers higher resistance towards hygromycin in transgenic rice and allows an easier killing of *Agrobacterium tumefaciens* during regeneration of transgenic plants; alternative for pC1300intA is pC1300intB (Genbank Accession Number AF294977) or pC1300intC (Genbank Accession Number AF294978); cloning source for the Cat-1 intron was binary vector pWBVec8 (Wang et al. 1998, Acta Horticultur. 461:401-407)"
misc feature 299..324
/note="right border repeat from C58 T-DNA"
misc feature 6558..6583
/note="left border repeat from C58 T-DNA"
3'UTR complement(6650..6858)
/note="CaMV (polyA signal)"
gene complement(6874..8089)
/gene="hptII"
CDS complement(join(6874..7566,7757..8089))
/gene="hptII" /note="hygromycin resistance" /codon_start=1 /transl_table=11
/product="hygromycin phosphotransferase" /protein_id="AAG38025.1"
/db_xref="GI:11559658"
/translation="MKKPELTATSVEKFLIEKFDSVSDLMQLSEGEESRAFSFDVGGR
GYVLRVNSCADGFYKDRYVYRHFASAAALPIPEVLIDIGFSESLTYCISRRRAQGVTLQD
LPETELPAVLQPVAEAMDAIAADLSQTSFGFGPFGPQGIGQYTTWRDFICAIDPHVY
HWQTVMDDTVSASVAQALDEMLWAEDCPEVRHLVHADFGSNNVLTNDRITAVIDWS
EAMFGDSQYEVANIFFWRPWLACMEQQTRYFERRHPELAGSPRLRAYMLRIGLDQLYQ
SLVDGNFDDAAWAQGRCDIVRSAGAGTVGRTQIARRSAAVWTDGCVEVLADSGNRRPS
TRPRAKK"
misc feature complement(join(7186..7566,7757..8011))
/gene="hptII" /note="Aminoglycoside 3'-phosphotransferase (APH) and Choline Kinase (ChoK) family. The APH/ChoK family is part of a larger superfamily that includes the catalytic domains of other kinases, such as the typical serine/threonine/tyrosine protein kinases (PKs)...; Region: APH_ChoK_like; cd05120" /db_xref="CDD:240159"
misc feature complement(join(7105..7566,7757..8020))
/gene="hptII" /note="Phosphotransferase enzyme family; Region: APH; pfam01636"
/db_xref="CDD:250760"
misc feature complement(order(7195..7197,7252..7257,7285..7287,7291..7296,7306..7308,7805..7816,7865..7867,7943..7945, 7949..7951,7982..7984,7994..7996)) /gene="hptII"
/note="active site" /db_xref="CDD:240159"

misc feature complement(order(7252..7257,7285..7287,7291..7296,7306..7308,7805..7816,
7865..7867,7943..7945,7949..7951, 7982..7984)) /gene="hptII" /note="ATP binding site
[chemical binding]; other site" /db_xref="CDD:240159"
misc feature complement(order(7195..7197,7306..7308,7994..7996))
/gene="hptII" /note="substrate binding site [chemical binding]; other site"
/db_xref="CDD:240159"
exon complement(6874..7566)
/gene="hptII" /number=2
intron complement(7567..7756)
/gene="hptII" /note="derived from Ricinus communis catalase-1 intron presented in
Genbank Accession Number D21161" /number=1
exon complement(7757..8089)
/gene="hptII" /number=1
promotor complement(8125..8905)
/note="CaMV35S; 35S promotor from CaMV"

ORIGIN

1	gaattcgagc	tcggtaccgc	gggatcctct	agagtcgacc	tgcaggcatg	caagcttggc
61	actggccgtc	gttttacaac	gtcgtgactg	ggaaaaccct	ggcgttacc	aacttaacg
121	ccttgagca	catccccctt	tcgccagctg	gcgtaatagc	gaagaggccc	gcaccgatcg
181	ccctcccaa	cagttcgca	gcctgaatgg	cgaatgctag	agcagctga	gcttgatca
241	gattgtcgtt	tccgccttc	agtttaaact	atcagtgttt	gacaggatat	attggcgggt
301	aaacctaaga	gaaaagagcg	tttattagaa	taacggatat	ttaaaaggcg	gtgaaaagggt
361	ttatccgttc	gtccatttgt	atgtgcatgc	caaccacagg	gttcccctcg	ggatcaaagt
421	actttgatcc	aaccctccg	ctgctatagt	gcagtcggct	tctgacgttc	agtcgagccg
481	tcttctgaaa	acgacatgct	gcacaagtcc	taagtacgc	gacaggctgc	cgccctgccc
541	ttttcctggc	gttttctgt	cgctgtttt	agtcgcataa	agtagaatac	ttgcgactag
601	aaccggagac	attacgccat	gaacaagagc	gccgcccgtg	gcctgctggg	ctatgcccg
661	gtcagcaccg	acgaccagga	cttgaccaac	caacggggcg	aactgcacgc	ggccggctgc
721	accaagctgt	tttccgagaa	gatcacccgc	accaggcgcg	accgcccga	gctggccagg
781	atgcttgacc	acctacgccc	tggcgacgtt	gtgacagtga	ccaggctaga	ccgctggcc
841	cgcagcacc	gcgacctact	ggacattgcc	gagcgcatcc	aggaggccgg	cgcgggcctg
901	cgtagcctgg	cagagcgtg	ggccgacacc	accacgccc	ccggccgcat	gggtgtgacc
961	gtgttcgccc	gcattgccga	gttcgagcgt	tccctaata	tcgaccgcac	ccggagcggg
1021	cgcgaggccg	ccaaggccc	aggcgtgaag	tttgcccc	gccctacct	caccgccgca
1081	cagatcgcg	acgcccgcga	gctgatcgac	cagggaaggcc	gcaccgtgaa	agaggcggt
1141	gcactgcttg	gcgtgcatcg	ctcgaccctg	taccgcgcac	ttgagcgag	cgaggagtg
1201	acgcccaccg	aggccaggcg	gcgcggtg	ttccgtgagg	accgattgac	cgaggccgac
1261	gccctggcgg	ccgcccagaa	tgaacgcaa	gaggaacaag	catgaaaccg	caccaggacg
1321	gccaggacga	accgtttt	attaccgaag	agatcgaggc	ggagatgatc	gcggccgggt
1381	acgtgttca	gccgcccgcg	cacgtctcaa	ccgtgcggct	gcatgaaatc	ctggccggtt
1441	tgtctgatgc	caagctggcg	gcctggccgg	ccagctggc	cgctgaagaa	accgagcgcc
1501	ccgctctaaa	aaggtgatgt	gtatttgagt	aaaacagctt	gcgtcatg	gtcgtcgtgt
1561	atatgatgcg	atgagtaaat	aaacaatac	gcaaggggaa	cgcatgaagg	ttatcgtgt
1621	acttaaccag	aaaggcggt	caggcaagac	gaccatcgca	acctatctag	cccgcgcct
1681	gcaactcgcc	ggggccgatg	ttctgttagt	cgattccgat	ccccagggca	gtgcccgcga
1741	ttggcgccg	gtgcgggaag	atcaaccgct	aaccgttgtc	ggcatcgacc	gcccgcagat
1801	tgaccgcgac	gtgaaggcca	tcggccgcg	cgacttcgta	gtgatcgacg	gagcgcccca
1861	ggcgccggac	ttggctgtgt	ccgcgatcaa	ggcagccgac	ttcgtgctga	ttccggtgca
1921	gccaagccct	tacgacatat	gggccaccgc	cgactcggtg	gagctggtta	agcagcgcat
1981	tgaggtaacg	gatggaaggc	tacaagcggc	ctttgtcgtg	tcgcccgcga	tcaaaggcac
2041	gcgcacggc	ggtgaggttg	ccgagcgct	ggcccgggtac	gagctgccc	ttcttgatc
2101	ccgtatcacg	cagcgcgta	gctaccagg	cactgccgc	gcccgcacaa	ccgttcttga
2161	atcagaaccc	gagggcgacg	ctgcccgcga	ggtccaggcg	ctggccgctg	aaattaaatc
2221	aaaactcatt	tgagttaatg	aggtaagag	aaaatgagca	aaagcaca	cacgctaagt
2281	gccggccgtc	cgagcgacg	cagcagcaag	gctgcaacgt	tgccagcct	ggcagacacg
2341	ccagccatga	agcgggtcaa	ctttcagttg	ccggcgagg	atcacaccaa	gctgaagatg
2401	tacgcgttac	gccaaggcaa	gaccattacc	gagctgctat	ctgaatacat	cgcgagcta
2461	ccagagtaaa	tgagcaaatg	aataaatgag	tagatgaatt	ttagcggcta	aaggaggcgg
2521	catggaat	caagaacaac	caggcaccga	cgccgtggaa	tgcccatgt	gtggagggaac
2581	ggcggttg	ccaggcgtaa	gcggctgggt	tgtctgccg	ccctgcaatg	gcactggaac
2641	cccaagccc	gaggaatcgg	cgtagcgtg	gcaaaccatc	cgcccggta	caaatcgccg
2701	cgcgctggg	tgatgacctg	gtggagaagt	tgaaggccgc	gcaggccg	cagcggaac
2761	gcatcgaggc	agaagcacgc	cccgtgaat	cgtaggaagc	ggccgctgat	cgaatccgca
2821	aagaatccc	gcaaccgccc	gcagccggtg	cgccgtcgat	taggaagccg	cccaaggcgg
2881	acgagcaacc	agattttt	gttccgatgc	tctatgacgt	gggcacccgc	gatagtcgca
2941	gcatcatgga	cgtagccgtt	ttccgtctgt	cgaagcgtga	ccgacgagct	ggcgaggtga
3001	tccgctacga	gcttcagac	gggcacgtag	aggtttccgc	aggccggcc	ggcatggcca
3061	gtgtgtggga	ttacgacctg	gtactgatgg	cggtttccca	tctaaccgaa	tccatgaacc
3121	gataccggga	agggaaggga	gacaagccc	gccgctgtt	ccgtccacac	gttgcggacg
3181	tactcaagtt	ctgcccgcga	gccgatggcg	gaaagcagaa	agacgacctg	gtgaaacct

3241	gcattcggtt	aaacaccacg	cacgttgcca	tgcagcgta	gaagaaggcc	aagaacggcc
3301	gctgtgtgac	ggatccgag	ggtgaagcct	tgattagccg	ctacaagatc	gtaaagagcg
3361	aaaccgggcg	gccggagtac	atcgagatcg	agctagctga	ttgatgttac	cgcgagatca
3421	cagaaggcaa	gaacccggac	gtgctgacgg	ttcaccgccga	ttactttttg	atcgatcccc
3481	gcatcgccg	ttttctctac	cgctggcac	gccgcgccgc	aggcaaggca	gaagccagat
3541	ggtgttcaa	gacgatctac	gaacgcagtg	gcagcgccgg	agagttcaag	aagttctgtt
3601	tcaccgtgcg	caagctgatc	gggtcaaatg	acctgccgga	gtacgatttg	aaggaggagg
3661	cgggcgaggc	tggcccgatc	ctagtcatgc	gctaccgcaa	cctgatcgag	ggcgaagcat
3721	ccgccggttc	ctaattgtacg	gagcagatgc	tagggcaaat	tgccctagca	gggaaaaaag
3781	gtcgaagg	tctctttcct	gtgtagca	cgtacattgg	gaacccaaag	ccgtacattg
3841	ggaaccggaa	cccgtacatt	gggaacccaa	agccgtacat	tggaaccgg	tcacacatgt
3901	aagtgtactga	tataaaagag	aaaaaaggcg	atttttccgc	ctaaaactct	ttaaaactta
3961	ttaaaactct	taaaaccgcg	ctggcctgtg	cataactgtc	tgccagcgcg	acagccgaag
4021	agctgcaaaa	agcgcttacc	cttcggtcgc	tgcgctccct	acgccccgcc	gcttcgctgc
4081	ggcctatcgc	ggccgctggc	cgctcaaaaa	tggtctgcct	acggccaggc	aatctaccag
4141	ggcgcgagaca	agccgcgccg	tcgccaactcg	accgcggcg	cccacatcaa	ggcaccctgc
4201	ctcgcgctt	tcggtgatga	cggtgaaaac	ctctgacaca	tcagctccc	ggagacggtc
4261	acagctgtgc	tgtaagcgga	tgccgggagc	agacaagccc	gtcaggggcg	gtcagcggtg
4321	gttggcggtt	gtcggggccc	agccatgacc	cagtcacgta	gcgatagcgg	agtgatatac
4381	ggcttaacta	tgcgcatca	gagcagattg	tactgagagt	gcacatatg	cggtgtgaaa
4441	taccgcacag	atgcgtaagg	agaaaatacc	gcatcaggcg	ctctccgct	tcctcgctca
4501	ctgactcgct	gcgctcggtc	gttcggctgc	ggcgagcggt	atcagctcac	tcaagggcg
4561	taatacggtt	atccacagaa	tcaggggata	acgcaggaaa	gaacatgtga	gcaaaaggcc
4621	agcaaaaggc	caggaaaccgt	aaaaaggccg	cgltgtctgc	gtttttccat	aggctccgcc
4681	cccctgacga	gcatcaca	aatcgacgct	caagtcagag	gtggcgaaac	ccgacaggac
4741	tataagata	ccaggcggtt	ccccctggaa	gctccctcgt	gcgctctcct	gttccgaccc
4801	tgccgcttac	cggtatcctg	tccgcctttc	tcccttcggg	aagcgtggcg	ctttctcata
4861	gctcagctg	taggtatctc	agttcggtgt	aggctgttgc	ctccaagctg	ggctgtgtgc
4921	acgaaccccc	cgltcagccc	gaccgctcgc	ccttatccgg	taactatcgt	cttgagtcca
4981	acccggtaag	acacgactta	tcgccactgg	cagcagccac	tggtaacagg	attagcagag
5041	cgaggatgtg	aggcggtgct	acagagttct	tgaagtgggtg	gcctaactac	ggctacacta
5101	gaaggacagt	atttggtatc	tgcgctctgc	tgaagccagt	taccttcgga	aaaagagttg
5161	gtagctcttg	atccggcaaa	caaaccacgc	ctggtagcgg	tggtttttt	gtttgcaagc
5221	agcagattac	gcgcagaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	ttgatcttt	tctacggggt
5281	ctgacgctca	gtggaacgaa	aactcacgtt	aagggatttt	ggctatgcat	ttaggtact
5341	aaaacaattc	atccagtaaa	atataatatt	ttattttctc	ccaatcaggc	ttgatcccca
5401	gtaagtcaaa	aaatagctcg	acatactgtt	cttccccgat	atcctccctg	atcgaccgga
5461	cgcagaaggc	aatgtcatac	cactgttccg	ccctgcgct	tctccaaga	tcaataaagc
5521	cacttacttt	gccatctttc	acaaagatgt	tgctgtctcc	caggtcgccg	tgggaaaaga
5581	caagttcttc	ttcgggcttt	tccgtcttta	aaaaatcata	cagctcgcg	ggatctttaa
5641	atggagtgtc	ttctcccag	ttttcgcaat	ccacatcggc	cagatcgta	ttcagtaagt
5701	aatccaattc	ggctaagcgg	ctgtctaagc	tattcgtata	gggacaatcc	gatatgtcga
5761	tgagtgaaa	gagcctgatg	cactccgcat	acagctcgat	aatcttttca	gggctttgtt
5821	catcttcata	ctctccgag	caaaggacgc	catcggcctc	actcatgagc	agattgtctc
5881	agccatcatg	ccgttcaaag	tgaggacact	ttggaacagg	cagcttctct	tccagccata
5941	gcatcatgtc	ctttcccgt	tccacatcat	agggtgtccc	tttataccgg	ctgtccgtca
6001	ttttaaata	taggttttca	ttttctcca	ccagcttata	taccttagca	ggagacattc
6061	cttccgtatc	ttttacgcag	cggtattttt	cgatcagttt	tttcaattcc	ggtgatattc
6121	tcattttagc	catttattat	ttctctctc	ttttctacag	tatttaaaga	tacccaaga
6181	agctaattat	aacaagacga	actccaattc	actgttctct	gcattctaaa	acctaaata
6241	ccagaaaaca	gcttttcaa	agttgttttc	aaagttggcg	tataacatag	tatcgacgga
6301	gccgattttg	aaaccgcggt	gatcacaggc	agcaacgctc	tgtcatcgtt	acaatcaaca
6361	tgctaccctc	cgcgagatca	tccgtgtttc	aaaccgggca	gcttagtgtc	cgttcttcgg
6421	aatagcatcg	gtaacatgag	caaagctctgc	cgcttaca	cggtctccc	gctgacggcg
6481	tcccgactcg	atgggctgcc	tgatcgagt	gggtattttg	tcggagctg	ccggctgggg
6541	agctgtggc	tggtcggtgg	caggatatat	tgtgtgtaa	acaaattgac	gcttagacaa

```

6601 cttaataaca cattgcggac gttttaatg tactgaatta acgccgaatt aattcggggg
6661 atctggattt tagtactgga ttttggttt aggaattaga aattttattg atagaagtat
6721 tttacaata caaatacata ctaagggttt cttatatgct caacacatga gcgaaacctt
6781 ataggaaccc taattccctt atctgggaac tactcacaca ttattatgga gaaactcgag
6841 cttgtcgatc gacagatccg gtcggcatct actctatttc ttgccctcg gacgagtgtc
6901 gggggtcgcg tttccactat cggcgagtac ttctacacag ccatcgttcc agacggccgc
6961 gcttctgcgg gcgatttggt tacgcccagc agtcccggct ccggatcgga cgatgctgtc
7021 gcatcgaccc tgcgccaag ctgcatcatc gaaattgccg tcaaccaagc tctgatagag
7081 ttggtcaaga ccaatgcgga gcatatacgc ccggagtcgt ggcgatcctg caagctccgg
7141 atgcctccgc tcgaagtagc gcgtctgctg ctccatacaa gccaaccacg gctccagaa
7201 gaagatgttg gcgacctgt attgggaatc cccgaacatc gcctcgctcc agtcaatgac
7261 cgctgttatg cggccattgt ccgtcaggac attgttgag ccgaaatccg cgtgcacgag
7321 gtgcggcagt tcggggcagt cctcgccca aagcatcagc tcatcgagag cctgcgcgac
7381 ggacgcactg acggtgtcgt ccatcacagt ttgccagtga gatcagcaat
7441 cgcgcatatg aaatcacgcc atgtagtgtg ttgaccgatt ccttgcggtc cgaatggggc
7501 gaaccgctc gtctggttaa gatcgccgc agcgatcgca tccatggcct ccgcgaccgg
7561 ctgcagttat catcatcatc atagacacac gaaataaagt aatcagatta tcagttaaag
7621 ctatgtaata ttacaccaa aaccaatcaa gatcagttta aagaaagatc aagaaagatc
7681 aaagctcaaa aaaataaaaa gagaaaaggg tcctaaccac gaaaatgaag gagaaaaact
7741 agaaatttac ctgcagaaca gcgggcagtt cggtttcagg caggcttctg aacgtgacac
7801 cctgtgcacg gcgggagatg caataggta ggctctcgct aaactccca atgtcaagca
7861 ctccggaat cgggagcgcg gccgatgcaa agtgccgata aacataacga tctttgtaga
7921 aacctcggc gcagctattt acccgcagga catatccacg cctcctaca tcgaagctga
7981 aagcacgaga ttcttcgcc tccgagagct gcatcaggtc ccctcctac tcgaactttt
8041 cgatcagaaa cttctcgaca gacgtcgcg tgagttcagg cttttcata tctcattgcc
8101 cccccgatc tgcgaaagct cgagagagat agattttag agagagactg gtgatttcag
8161 cgtgtcctct ccaaatgaaa tgaacttct tatatagagg aaggcttgc gaaggatag
8221 gggattgtgc gtcattcctt acgtcagtgg agatatcaca tcaatccact tgctttgaag
8281 acgtggttgg aacgtcttct tttccacga tgctcctcgt ggggtggggg ccatcttgg
8341 gacctgtc ttcgtcttct tctgaacga tagccttcc ttatcgcaa catcttgg
8401 tgtagtgcc accttcttt tctactgtcc tttgatgaa gtgacagata tgatggcatt
8461 ggaatccgag gaggtttccc gatattacc tttgtgaaa agtctcaata gctgggcaat
8521 cttctgagac tgtatcttgg atattcttg agtagacgag agtgtcgtgc gcccttgg
8581 tatcacatca atccacttgc tttgaagac tggttggaac agtgtcgtgc tccaccatgt
8641 tcctcgtggg tgggggtcca ccttgggac cactgtcggc agaggcatct tccacgatg
8701 ccttctctt atcgcaatga tggcatttgt aggtgccacc ttcttttct tgaacgatg
8761 tgatgaagt acagatagct gggcaatgga atccgaggag actgtcctt actgtcctt
8821 gttgaaaagt ctcaatagcc ctttgtctt ctgagactgt attaccctt attaccctt
8881 agacgagat gtcgtgtcc accatgttgg caagctgtc atcttgata ttcttgagt
8941 tctccccg cgltggccga ttcattaatg cagctgtcac tagccaatac gcaaacccg
9001 agcgggcagt gagcgcaac gagttagctc gagaggtttc gacaggtttc ccgactggaa
9061 tttacactt atgcttccg caattaatgt actcattagg caccacaggc caccacaggc
9121 cacaggaaac agctatgacc ctcgtatgt atgttggaatt gtgagcgat aacaattca
//

```