

논벼에서 분자표식자 RM3412를 리용하여 염건딜성유전자를 검정하기 위한 연구

리형근, 리영조, 김명호, 김정혁

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《오늘 세포공학, 유전자공학과 같은 첨단과학기술이 빠른 속도로 발전하고있는 조건에서 이러한 과학기술의 성과를 농업과학연구사업에 적용하면 종자문제를 해결하는데서 비약을 일으킬수 있습니다.》(《김정일선집》 증보판 제22권 166페이지)

간석지를 개간하여 농경지를 늘이고 간석지조건에서도 안전한 수확을 거둘수 있는 농작물들을 육성하기 위한 연구가 광범히 진행되고있는데 특히 염건딜성논벼에 대한 연구는 분자적수준에서 여러가지 생물공학기술을 리용하여 널리 진행되고있다.

우리는 단순반복배렬(SSR)표식자기술로 다른 나라에서 수집한 염건딜성논벼품종들과 우리 나라의 벼품종들에서 염건딜성유전자를 검정하기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

실험재료로는 국제벼연구소로부터 구입한 논벼품종들인 《IR 64》, 《POKKALI》, 《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》, 《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》, 《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》, 《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》들과 우리 나라의 논벼품종들인 《평도 11》호와 《평도 20》호(대조)를 리용하였다.

시약 DNA추출시약(QuickExtract™ Plant DNA Extraction Solution, 《Illumina》), PCR시약(REDTaq ReadyMix, 《SIGMA》), 100bp 분자량표식자인 DL-2000, 8% 폴리아크릴아미드겔을 리용하였다.

기구로는 극동기(-30℃), 항온수욕조, PCR장치, 《DYCZ-24B》형 폴리아크릴아미드겔수직전기영동장치, 겔화상처리장치, 전자천평, 마이크로피펫, 1.5mL 에펜도프관 등을 리용하였다.

실험방법 각이한 염농도조건에서 논벼의 생육특성에 대한 조사를 진행하였으며 논벼의 염건딜성유전자검정에 SSR표식자인 RM3412(상류배렬: 5'-TGATGGATCTCTGAGGTGTAAA GAGC-3', 하류배렬: 5'-TGCACTAATCTTTCTGCCACAGC-3')를 리용하였다.

DNA추출은 20일 자란 논벼식물체의 어린 잎을 3~5mm로 잘라 1.5mL 에펜도프관에 넣고 DNA추출용액을 100μL를 첨가한 후 65℃에서 6min, 98℃에서 2min동안 방치하고 -20℃의 극동기에 보관하였다가 리용하였다.[1, 2] PCR용액의 총량은 25μL였으며 온도와 시간은 선행방법[1]에 준하여 설정하였다.

PCR를 진행하고 98V, 37mA에서 1.5h동안 8% 폴리아크릴아미드겔전기영동을 진행하

였다. 전기영동후 겔을 에티디움브로미드로 20min동안 염색하고 겔화상처리장치에서 증폭된 DNA토막을 검출하였다.

검출된 DNA증폭토막들의 크기는 분자량표식자(DL-2000)와 프로그램 GeneScope V1.76을 리용하여 측정하였다.

결과 및 논의

1) 각이한 염농도에서 논벼의 생육특성

논벼가 자랄수 있는 염농도를 결정한 실험결과는 표 1과 같다.

표 1. 각이한 염농도에서 30일동안 논벼품종들의 자라기특성

품종	대조	0.20%	0.25%	0.30%	특성
《평도 11》호	○	△	×	×	감수성
《평도 20》호	○	△	×	×	"
《IR 64》	○	△	×	×	"
《POKKALI》	○	○	○	△	견딜성
《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》	○	○	○	△	"
《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》	○	○	○	△	"
《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》	○	○	○	△	"
《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》	○	○	○	△	"

○ 잘 자람, △ 잘 자라지 못함, × 죽음

표 1에서 보는바와 같이 감수성품종들은 0.20%에서 잘 자라지 못하였고 0.25%에서는 죽었다. 그러나 견딜성품종들은 0.25%에서는 잘 자랐지만 0.30%에서는 잘 자라지 못하였다.

각이한 염농도조건에서 자란 논벼의 키를 측정한 결과는 표 2와 같다.

표 2에서 보는바와 같이 0.25%의 염농도에서 감수성품종들은 키자라기가 매우 억제되었지만 견딜성품종들은 대조와 차이가 심하지 않았다. 이것은 견딜성품종들이 감수성품종들과는 달리 염견딜성유전자를 가지고있다는것을 보여준다.

표 2. 각이한 염농도에서 14일동안 자란 논벼의 키크기특성(cm)

품종	대조	0.20%	0.25%
《평도 11》호	7.2	6.3	2.8
《평도 20》호	7.0	5.1	3.4
《IR 64》	8.4	6.4	3.2
《POKKALI》	7.3	6.8	6.5
《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》	6.5	6.6	6.9
《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》	6.2	5.8	5.6
《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》	8.4	6.8	6.2
《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》	7.2	6.9	6.6

2) 분자표식자에 의한 염견딜성유전자의 검정

염견딜성을 가진 논벼의 1번 물들체에는 *SKC1*이라는 염견딜성유전자가 있어 논벼가 일정한 농도의 염농도조건에서도 생존할수 있게 한다. 이 유전자 *SKC1*은 논벼에서 염견딜성의 40.1%를 지배[3]한다.

이로부터 염견딜성논벼를 육성할 때 이 유전자를 동정하기 위하여 분자표식자기술을 리용한다. 그중에서도 SSR표식자들이 많이 리용되는데 그중의 한가지 종류인 RM3412표식자는 염견딜성유전자인 *SKC1*과 밀접히 연관되어있으므로 이 유전자의 검정에 많이 리용된다. RM3412는 논벼의 1번 염색체에서 11.6Mb의 위치에 존재하며 225~260bp의 데핵산(DNA)띠를 나타낸다.[4-6]

이로부터 RM3412를 검정하기 위한 분자표식자실험을 진행하였는데 RM3412표식자에 의한 8% 폴리아크릴아미드겔전기영동결과는 그림과 같다.

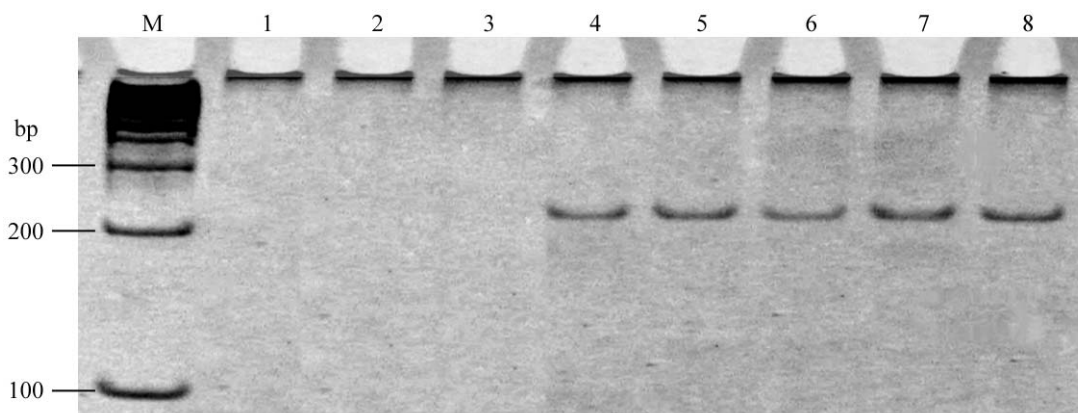


그림 1. RM3412표식자에 의한 8% 폴리아크릴아미드겔전기영동상
M은 DL-2000 DNA분자량표식자, 1-《평도 11》호, 2-《평도 20》호, 3-《IR 64》,
4-《POKKALI》, 5-《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》, 6-《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》,
7-《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》, 8-《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》

그림에서 보는바와 같이 1-3번까지는 230bp의 DNA증폭띠가 나타나지 않았다. 그러나 4-8번까지는 모두 230bp띠가 정확히 나타났다. 이것은 《평도 11》호, 《평도 20》호, 《IR 64》는 *SKC1*유전자를 가지고있지 않으며 《POKKALI》, 《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》, 《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》, 《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》, 《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》은 모두 *SKC1*유전자를 가지고있다는것을 보여준다.

《평도 11》호와 《평도 20》호는 조선행벼로서 감수성을 나타내는 대조품종으로 리용하였으며 《IR 64》는 전형적인 인디아품종으로서 역시 감수성대조로 리용하였다.

《POKKALI》는 인디아형품종으로서 염건딜성을 가진 전형적인 품종으로 알려졌으며 《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》, 《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》, 《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》, 《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》품종들은 국제벼연구소에서 불리한 환경에 대한 견딜성을 가지며 높은 소출을 내도록 하기 위하여 개발된 품종들이다.

실험결과를 통하여 SSR표식자 RM3412는 논벼에서 염건딜성유전자 *SKC1*을 동정하는데 리용할수 있는 분자표식자이며 국제벼연구소로부터 구입한 품종들은 모두 염건딜성유전자 *SKC1*을 가진 염건딜성논벼품종들이라는것을 보여준다.

맺 는 말

염건딜성품종 《POKKALI》, 《HHZ 10-SAL3-LI1-LI1》, 《HHZ 6-SAL16-LI1-LI1》, 《HHZ 17-Y16-Y3-SAL1》, 《HHZ 9-SAL9-Y3-SUB1》들은 0.25%의 염농도조건에서도 생존할수 있다.

SSR표식자 RM3412는 논벼에서 염건딜성유전자 *SKC1*을 동정하는데 리용할수 있는 분자표식자로서 230bp의 DNA증폭띠를 가진다.

참 고 문 헌

- [1] 리형근; PCR기술과 그 응용, 김일성종합대학출판사, 20~122, 주체102(2013).
- [2] Quick Extract™ Plant DNA Extraction Solution, <http://www.epibio.com/item.asp?id=512>
- [3] Ren Zhong Hai; Mapping, Cloning and Functional Analysis of SKC1, a QTL Related to Salt Tolerance of Rice, PhD thesis, 1~60, 2005, <http://www.dissertationtopic.net/doc/1602681>
- [4] G. Mohammadi-Nejad et al.; African Journal of Biotechnology, 7, 6, 730, 2008.
- [5] Gao Ji Ping; Mechanism of SKC1, a Rice Quantitative Trait Locus for Salt Tolerance, and Analysis of Expression Pattern of OsHKT Genes, PhD Thesis, 7~90, 2007.
- [6] M. J. Thomson et al.; QTL Mapping and Marker-assisted Backcrossing for Improved Salinity Tolerance in Rice, International Rice Research Institute, 1, 2010.

주체104(2015)년 2월 5일 원고접수

Study on the Salt Tolerant Gene Detection in Rice using Molecular Marker RM3412

Ri Hyong Gun, Ri Yong Jo, Kim Myong Ho and Kim Jong Hyok

SKC1 of salt tolerant gene is located on 1st chromosome of rice and it has 40.1% of the total phenotypic variance.

Salt tolerant rice can be survival in the salt condition of 0.25% concentration.

RM3412 is the useful molecular marker for salt tolerant rice and reveals 230bp of DNA fragment.

Key words: salt tolerant rice, *SKC1*, molecular marker, RM3412