

몇가지 벼벼품종들에서 대립변이특이프라이머에 의한 *OsGn1a*와 *OsSPIKE*의 누클레오티드다형판정

김일룡, 허명식

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《우리 나라의 기후풍토조건에서 수확고가 높으면서도 비료를 적게 요구하고 생육기일이 짧으며 가물과 비바람, 병충해를 비롯한 여러가지 피해에 잘 견디는 품종을 얻어내야 합니다.》

오늘 세계적으로 벼에서 수확고와 직접 관련되는 대립유전자들을 QTL분석을 통하여 확정하고 그것의 SNP들을 판정하는 방법으로 해당한 벼벼품종에서 매 대립유전자의 활성발현상태를 알아내고있다.

*OsGn1a*는 시토키닌옥시다제/데히드로게나제2(*OsCKX2*)를 암호화하고있는데 이삭당 알수를 결정하는 역할을 한다.[1] *OsGn1a*의 기능이 결실되면 이삭당 알수가 많아지고 수확고가 올라가는것으로 나타난다. *OsSPIKE*는 아직 기능이 명백히 밝혀지지 않은 식물에만 특이적인 단백질인 NAL1을 암호화하고있는데 기능이 결실되면 이삭당 알수를 늘여 수확고증수에 기여하는것으로 알려졌다.[2, 3]

우리는 이 대립유전자들이 고발현상태로 있을 때의 특징적인 SNP를 검출하기 위한 대립변이특이프라이머들을 리용하여 우리 나라에서 재배하는 벼벼품종들에서 해당 SNP들을 판정하기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

재료로는 우리 나라에서 재배되고있는 벼벼품종들인 《평양 49》호, 《평양 51》호, 《평양 53》호, 《서해 8》호, 《평북 17》호, 《평도 20》호, 《울벼 23》호를 리용하였다.

*OsGn1a*는 어느 한 벼벼품종에서 기원된 대립유전자로서 수확고증수에 기여하는것으로 알려져있다.[1, 2] 이 대립유전자에 특징적인 누클레오티드다형은 프로모터의 G/A SNP(*Gn1a*-17SNP)와 3'UTR부근의 70bp indel(*Gn1a*-indel3), 5'UTR부근의 16bp indel(*Gn1a*-indel1)인데 이를 검출하기 위한 프라이머들은 다음과 같다.

Gn1a-17SNP-OPF: 5'-TCGCAGGCACTGCACTTCA-3'
Gn1a-17SNP-OPR: 5'-GCCACCCCTAGGTTTGATTCC-3'
Gn1a-17SNP-AF: 5'-CATACCTAGCGTTCTATGCTGA-3'
Gn1a-17SNP-GR: 5'-GGAAGATAAAGAAATTTACATACC-3'
Gn1a-indel3-F: 5'-GATCTAGATGCTCCAAAGTCC-3'
Gn1a-indel3-R: 5'-CTGTACGTACGTGCACGTAG-3'
Gn1a-indel1-F: 5'-GCCACCTTGTCCCTTCTACA-3'
Gn1a-indel1-R: 5'-TGCCATCCTGACCTGCTCT-3'

*OsSPIKE*대립유전자는 Nipponbare계통에서 기원된 대립유전자로서 수확고증수에 기여하는것으로 알려졌다는데 이 대립유전자에 특징적인 누클레오티드다형은 세번째 엑손의 G/A

SNP(SPIKE-01SNP)와 다섯번째 엑손의 G/A SNP(SPIKE-03SNP), 프로모터의 20bp indel (SPIKE-indel3)인데 그것을 검출하기 위한 프라이머들은 다음과 같다.

SPIKE-01SNP-GF: 5'-GGTTGGTTTCCTCACTAAACG-3'
 SPIKE-01SNP-AF: 5'-GGTTGGTTTCCTCACTAAACA-3'
 SPIKE-01SNP-R: 5'-ATGGGAAGTAGGAAGCAGGA-3'
 SPIKE-03SNP-F: 5'-CTACTCGACCGTCTGGAAC-3'
 SPIKE-03SNP-GR: 5'-TGGCTCGAAGATCTCTTCTAC-3'
 SPIKE-03SNP-AR: 5'-TGGCTCGAAGATCTCTTCTAT-3'
 SPIKE-indel3-F: 5'-GGAGAGACATGGACGGCT-3'
 SPIKE-indel3-R: 5'-TGGTGGCGATCATGCTGC-3'

결과 및 논의

*OsGn1a*의 누클레오타이드다형판정 *OsGn1a*의 누클레오타이드다형을 판정하기 위한 *Gn1a*-17 SNP(G/A), *Gn1a*-indel3, *Gn1a*-indel1 PCR산물의 아가로스겔전기영동상은 그림 1-3과 같다.

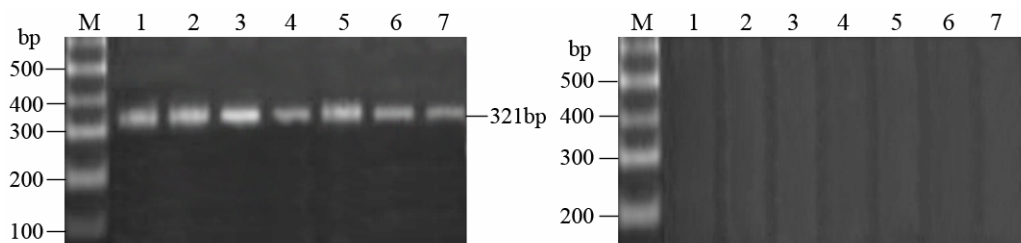


그림 1. *Gn1a*-17SNP(G/A)검출을 위한 PCR산물의 아가로스겔전기영동상
 M은 분자크기표식자(Real Band 50bp DNA Ladder), 1-《평양 49》호, 2-《평양 51》호, 3-《평양 53》호, 4-《서해 8》호, 5-《평북 17》호, 6-《평도 20》호, 7-《울버 23》호

그림 1에서 보는바와 같이 실험에 이용된 모든 벼품종들에서 *Gn1a*-17SNP는 G로 되어있다.

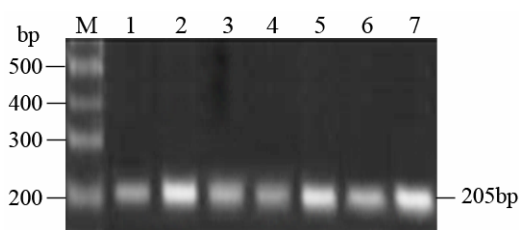


그림 2. *Gn1a*-indel3검출을 위한 PCR산물의 아가로스겔전기영동상

M은 분자크기표식자(Real Band 50bp DNA Ladder), 1-《평양 49》호, 2-《평양 51》호, 3-《평양 53》호, 4-《서해 8》호, 5-《평북 17》호, 6-《평도 20》호, 7-《울버 23》호

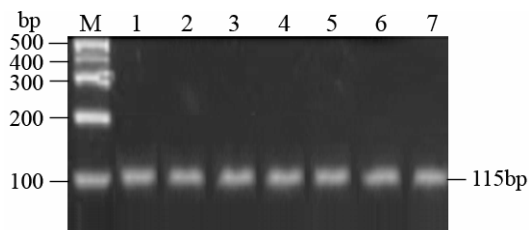


그림 3. *Gn1a*-indel1검출을 위한 PCR산물의 아가로스겔전기영동상

M은 분자크기표식자(Real Band 50bp DNA Ladder), 1-《평양 49》호, 2-《평양 51》호, 3-《평양 53》호, 4-《서해 8》호, 5-《평북 17》호, 6-《평도 20》호, 7-《울버 23》호

그림 2에서 보는바와 같이 *Gn1a*-indel3은 실험에 이용한 모든 벼품종들에 없었다. *Gn1a*-indel3이 있는 경우 PCR산물이 275bp에서 나타나야 한다.

그림 3에서 보는바와 같이 *Gn1a*-indel1은 실험에 이용한 모든 벼품종들에 없었다. *Gn1a*-indel1이 있는 경우 PCR산물이 99bp에서 나타나야 한다.

이상의 결과들로부터 알수 있는것처럼 실험에 리용한 우리 나라의 재배벼품종들에는 수확고증수에 기여하는 *OsGn1a*대립유전자에 특징적인 누클레오티드다형들이 없었다.

*OsSPIKE*의 누클레오티드다형판정 *OsSPIKE*의 누클레오티드다형을 판정하기 위한 SPIKE-01SNP(G/A), SPIKE-03SNP(G/A), SPIKE-indel3 PCR산물의 아가로스겔전기영동상은 그림 4-6과 같다.

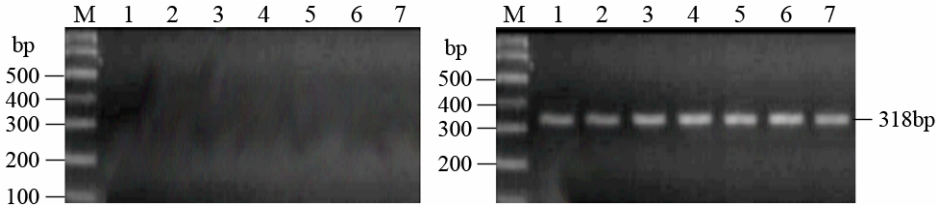


그림 4. SPIKE-01SNP(G/A)검출을 위한 PCR산물의 아가로스겔전기영동상
M은 분자크기표식자(Real Band 50bp DNA Ladder), 1-《평양 49》호, 2-《평양 51》호, 3-《평양 53》호, 4-《서해 8》호, 5-《평북 17》호, 6-《평도 20》호, 7-《울벼 23》호

그림 4에서 보는바와 같이 모든 품종들에서 SPIKE-01SNP가 A로 되어있었다.

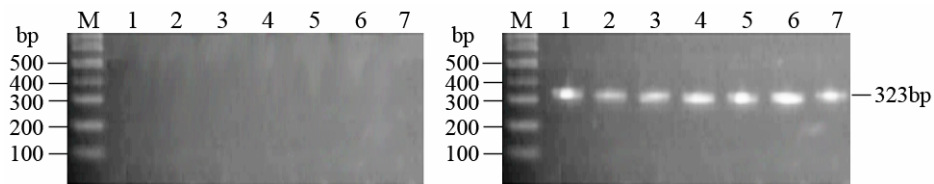


그림 5. SPIKE-03SNP(G/A)검출을 위한 PCR산물의 아가로스겔전기영동상
M은 분자크기표식자(Real Band 50bp DNA Ladder), 1-《평양 49》호, 2-《평양 51》호, 3-《평양 53》호, 4-《서해 8》호, 5-《평북 17》호, 6-《평도 20》호, 7-《울벼 23》호

그림 5에서 보는바와 같이 모든 품종들에서 SPIKE-03SNP가 A로 되어있었다.

그림 6에서 보는바와 같이 모든 벼품종들에 SPIKE-indel3이 없었다. SPIKE-indel3이 있는 경우 PCR산물은 151bp에서 나타나야 한다. 수확고증수에 기여하는 *OsSPIKE*의 누클레오티드다형은 불규칙적으로 분포되어있었다. 즉 SPIKE-01SNP와 SPIKE-03SNP는 수확고증수에 기여하는 A로 되어있었고 SPIKE-indel3은 없었다.

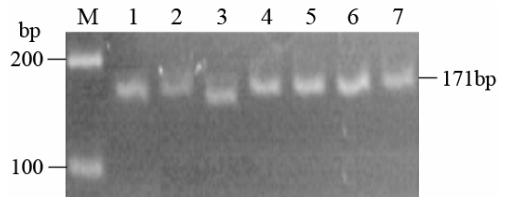


그림 6. SPIKE-indel3검출을 위한 PCR산물의 아가로스겔전기영동상
M은 분자크기표식자(Real Band 50bp DNA Ladder), 1-《평양 49》호, 2-《평양 51》호, 3-《평양 53》호, 4-《서해 8》호, 5-《평북 17》호, 6-《평도 20》호, 7-《울벼 23》호

맺 는 말

1) *OsGn1a*대립유전자의 누클레오티드다형들을 검출하기 위한 프라이머들을 리용하여 우리 나라에서 재배되고있는 몇가지 벼품종들에서 *Gn1a*-17SNP, *Gn1a*-indel3, *Gn1a*-indel1을 판정하였는데 *Gn1a*-17SNP, *Gn1a*-indel3, *Gn1a*-indel1이 모두 수확고증수에 기여하지 못하는 상태로 되어있다.

2) *OsSPIKE*대립유전자의 누클레오티드다형을 검출하기 위한 프라이머들을 리용하여 우리 나라에서 재배되고있는 몇가지 벼품종들에서 SPIKE-01SNP, SPIKE-03SNP, SPIKE-indel3을 판정하였는데 SPIKE-01SNP와 SPIKE-03SNP는 수확고증수에 기여하는 A로 되어있었고 SPIKE-indel3은 수확고증수에 기여하지 못하는 상태로 되어있다.

참 고 문 헌

- [1] M. Ashikari et al.; Science, 309, 741, 2005.
- [2] D. Fujita et al.; Proc. Natl. Acad. Sci., 110, 51, 20431, 2013.
- [3] J. Ramos et al.; Rice, 9, 12, 1, 2016.

주체109(2020)년 7월 5일 원고접수

Assessment of SNPs and Indels of *OsGn1a* and *OsSPIKE* by Allele Specific Primers in Some Rice Varieties

Kim Il Ryong, Ho Myong Sik

We assessed SNPs and indels of *OsGn1a* and *OsSPIKE* using allele specific primers of rice varieties cultivated in our country.

Nucleotide Polymorphisms of *OsGn1a* and SPIKE-indel3 could not contribute to the yield enhancement of rice and SNPs of *OsSPIKE* could do.

Keywords: rice, yield-related gene, allele-specific primer, *OsGn1a*, *OsSPIKE*, SNP