

## 몇가지 누른갓(*Brassica napus* L.)품종들의 씨앗에서 GDSL리파제형 기름산합성억제유전자족 유전자들의 전사수준에서 발현분석

박 화 성

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《모든 과학자, 기술자들이 과학기술발전의 추세에 맞게 첨단과학과 기초과학발전에 힘을 넣어 나라의 과학기술을 세계적수준에 올려세우도록 하여야 합니다.》(《김정일선집》증보판 제20권 62페이지)

GDSL형리파제(EC3.1.1.3)는 일종의 물작용분해효소(hydrolyser)인데 GDSL형리파제족의 종자기름산합성억제(SFAR)유전자들은 종자기름함량조절에서 중요한 작용을 한다.[2, 4]

논문에서는 몇가지 누른갓품종들에서 종기름함량과 기름산성분들을 분석[1]한데 기초하여 반정량PCR(RT-PCR)방법으로 GDSL형리파제족의 기름산합성억제유전자들의 발현정도를 분석한 연구결과에 대하여 논의하였다.

### 재료와 방법

재료로는 몇가지 누른갓(*Brassica napus* L.)품종 《봄유채 1》호, 《봄유채 417》호와 계통들인 <4-17>과 <253>을 리용하였다.

시료채취 누른갓식물체에서 종자기름함량이 제일 높아지는 시기인 꽃가루받이후 16일(이하 16DAP로 표기, DAP는 Days After Pollination의 약어)의 미성숙씨앗과 40DAP성숙종자를 취하여 -70℃ 냉동기(《Haier》)에 보관하였다.

RNA분리와 cDNA합성 -70℃에서 얼군 씨앗시료들을 리용하여 리엠티디(트리졸)법으로 RNA를 분리하였다. 분리한 RNA의 순도와 농도는 자외선분광광도계(《UV-2450 Shimdin》)를 리용하여 흡수파장 260, 280nm에서 측정하여 결정하였다. 또한 아가로즈겔전기영동을 진행하여 RNA의 순도를 평가하였다. 두오리cDNAs는 cDNA합성시약키트(M-MLV RTase cDNA Synthesis Kit, 《Takara》)를 리용하여 합성하였다.

GDSL형리파제족의 기름산합성억제유전자들의 프라이머설계 최근에 애기장대에서 GDSL형리파제족의 종자기름산합성억제(SFAR)유전자들인 *SFAR1-SFAR5*의 발현에 대한 연구[2]는 진행되었지만 누른갓에서는 아직까지 연구된것이 없으므로 애기장대의 염기배열을 리용하여 유채계놈자료기지(*Brassica* Genome Gateway: BGG)(<http://www.brassica.bbsrc.ac.uk/>), GENOSCOPE(<http://www.genoscope.cns.fr/colza-ggb/cgi-bin/geneView>)들에서 상동성검색을 진행하였다. 상동성이 제일 높은 콘티그배열을 리용하여 프라이머를 설계하였다. 대조유전자로서 식물체의 모든 조직에서 같은 량으로 발현되는 *BnACTIN7*을 리용하였다.

기름산합성억제유전자무리들의 유전자발현검증에 리용된 프라이머배열과 PCR조건은 표와 같다.

표. GDSL리파제형SFAR유전자무리들의 유전자발현에 리용된 프라이머배열과 PCR조건

유체유전자 (EST)	프라이머 이름	프라이머배열(5'–3')	PCR산물의 크기/bp	PCR조건(아닐링 온도, 순환수)
<i>BnACTIN7</i> (AF1111812)	BnACTIN7-1	TGGTTGGGATGGGTCAAAAAGA	400	55°C, 30
	BnACTIN7-2	CGGAGGATAGCGTGAGGAAGAG		
<i>BnSFAR1</i> (BnaC04g18090D)	BnSFAR1-1	CCGTATTTGGATTTCATTAG	107	48°C, 28
	BnSFAR1-2	GAGAAGGGAGAAACAGAGG		
<i>BnSFAR2</i> (BnaA04g18220D)	BnSFAR2-1	ATCTCCCAAACCACGAAG	270	48°C, 28
	BnSFAR2-2	TGTCTCCCACGATACTCT		
<i>BnSFAR3</i> (BnaA05g34360D)	BnSFAR3-1	CGAATCTTGACGACCCTT	208	51°C, 28
	BnSFAR3-2	CCACAACACGCAGAACTA		
<i>BnSFAR4</i> (BnaA06g18900D)	BnSFAR4-1	CCTATCCACCATCTCCTCC	313	52°C, 28
	BnSFAR4-2	GTTGACGCCGTAAGTATCC		
<i>BnSFAR5</i> (BnaA03g43830D)	BnSFAR5-1	GACGGGACGACTTGTGAC	168	52°C, 27
	BnSFAR5-2	CCCATAGCGAGAAGGATT		

\* 괄호안의 수자는 국제유전자은행번호임

RT-PCR분석 선행방법[3]에 기초하여 RT-PCR산물은 1.2% 아가로스겔전기영동을 진행하여 비교하였다.

## 결과 및 론의

### 1) GDSL리파제형BnSFARs유전자들에서 cDNA증폭단편의 크기

누른갓종자의 성숙과정에 기름산합성을 억제하는데 관계하는 *BnSFAR*로부터 RT-PCR분석을 위한 프라이머를 설계한 다음 누른갓계통 <253>의 40DAP씨앗시료를 가지고 RT-PCR를 진행하여 프라이머설계의 정확성을 확인하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 누른갓계통 <253>의 씨앗에서 분리한 RNA를 리용하여 프라이머의 분자크기를 확인한 결과 대조유전자 *BnACTIN7*은 400bp, *BnSFAR1*은 107bp, *BnSFAR2*는 208bp, *BnSFAR3*은 270bp, *BnSFAR4*는 313bp, *BnSFAR5*는 168bp였다. 이러한 연구결과는 기름산합성억제에 참가하는 유전자들의 프라이머가 정확히 설계되었다는것을 보여준다.

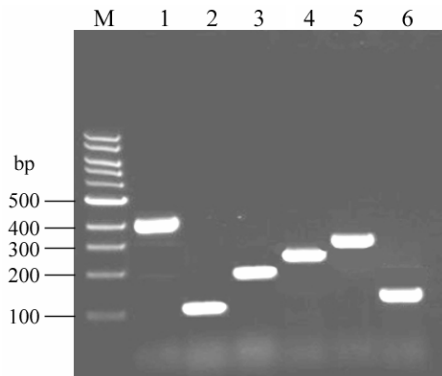


그림 1. RT-PCR에 의한  
프라이머 확인

M은 1kb DNA분자크기표식자  
(《TAKARA》), 1-*BnACTIN7*(400bp),  
2-*BnSFAR1*(107bp), 3-*nSFAR2*(208bp),  
4-*BnSFAR3*(270bp), 5-*BnSFAR4*(313bp),  
6-*BnSFAR5*(168bp)

## 2) GDSL리파제형*BnSFAR*무리들의 RT-PCR분석

총기름함량이 낮은 누른갯품종(《봄유채 1》호, 《봄유채 417》호)과 높은 누른갯계통(《4-17》, 《253》)의 16DAP와 40DAP씨앗에서 GDSL리파제형*BnSFAR*족 유전자들에 대한 RT-PCR 분석을 진행하였다.(그림 2)

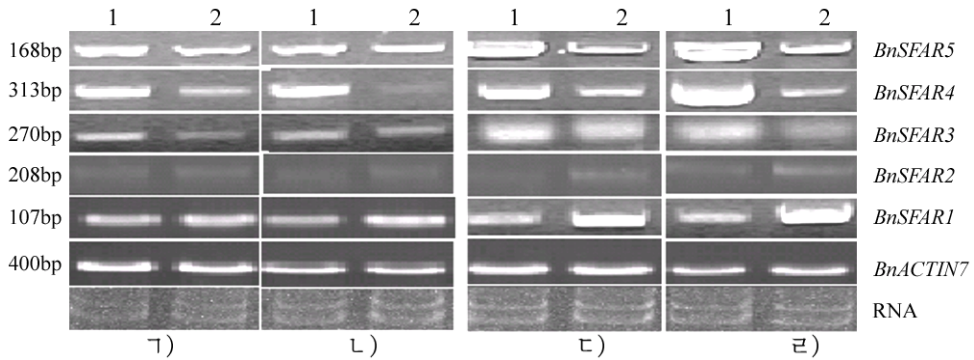


그림 2. *BnSFAR*족 유전자들의 RT-PCR 전기영동상

가) 《봄유채 1》호, 나) 《봄유채 417》호, 다) 《4-17》, 라) 《253》; 1-16DAP, 2-40DAP

그림 2에서 보는바와 같이 기름함량이 높거나 낮은 누른갯품종들에서 *BnSFAR*족의 *BnSFAR1*, *BnSFAR4*와 *BnSFAR5*의 발현은 16DAP와 40DAP의 씨앗에서 차이났다.

총기름함량이 낮으면서 에르카산함량이 높은 누른갯품종(《봄유채 1》호, 《봄유채 417》호)에서는 16DAP와 40DAP의 씨앗에서 *BnSFAR1*, *BnSFAR2*, *BnSFAR3*과 *BnSFAR5*발현에서의 차이가 없었고 16DAP와 40DAP의 씨앗에서 *BnSFAR4*의 발현은 이 두가지 누른갯품종에서 다같이 낮아졌다. 그러나 총기름함량이 높으면서 에르카산함량이 0%인 누른갯계통(《4-17》, 《253》)에서는 16DAP와 40DAP의 씨앗에서 *BnSFAR2*와 *BnSFAR3*발현에서만 차이가 없었고 *BnSFAR1*, *BnSFAR4*와 *BnSFAR5*에서는 16DAP와 40DAP의 씨앗에서 명백한 차이가 나타났다. 즉 16DAP와 40DAP의 씨앗을 대비하여보면 *BnSFAR1*의 발현은 현저히 높아지고 *BnSFAR4*와 *BnSFAR5*발현은 낮아졌다. 이러한 연구결과는 누른갯씨앗의 총기름함량을 높이고 기름산성분을 변화시키는데서 GDSL리파제형*BnSFAR*족 유전자무리가운데서 *BnSFAR1*과 *BnSFAR5*가 매우 중요한 역할을 한다는것을 보여준다.

## 맺 는 말

1) GDSL리파제형*BnSFAR*s유전자들에서 cDNA증폭단편의 크기를 보면 대조유전자 *BnACTIN7*은 400bp, *BnSFAR1*은 107bp, *BnSFAR2*는 208bp, *BnSFAR3*은 270bp, *BnSFAR4*는 313bp, *BnSFAR5*는 168bp이다.

2) 총기름함량이 낮으면서 에르카산함량이 높은 누른갯품종(《봄유채 1》호, 《봄유채 417》호)에서는 16DAP와 40DAP의 씨앗에서 *BnSFAR1*, *BnSFAR2*, *BnSFAR3*과 *BnSFAR5*발현에서의 차이가 없었고 *BnSFAR4*의 발현은 이 두가지 누른갯품종에서 다같이 낮아졌다.

3) 총기름함량이 높으면서 에르카산함량이 0%인 누른갯계통(《4-17》, 《253》)에서는 16DAP와 40DAP 씨앗에서 *BnSFAR1*의 발현은 현저히 높아지고 *BnSFAR4*와 *BnSFAR5*발현은 낮아졌다.

## 참 고 문 헌

- [1] 리금실 등; 농업연구원학보, **3**, 21, 주체107(2018).
- [2] M. X. Chen et al.; Plant Cell and Environment, **35**, 2155, 2012.
- [3] LEE et al.; WO98/44161, 1998.
- [4] M. Rossak et al.; Plant Mol. Biol., **46**, 717, 2001.

주체108(2019)년 1월 5일 원고접수

### **Expression Analysis in Transcription Level of Genes of GDSL-Lipase Type Fatty Acid Synthesis Reducer Gene Family in Seeds of Some Varieties of *Brassica napus***

*Pak Hak Song*

The result shows, *BnSFAR1*, *BnSFAR4* and *BnSFAR5* among five GDSL-type of seed fatty acid reducer(SFAR) genes play the important role in increasing the total seed oil content and changing the fatty acid composition.

*BnSFAR1* gene expression is up-regulated, *BnSFAR* and *BnSFAR5* gene expression is down-regulated in the oilseed rape lines '4-17' and '253' in which the total seed oil content is high and erucic acid content is low.

Key words: GDSL-lipase, RT-PCR, *Brassica napus*