

DNA marker의 지도작성과 그 농업적 이용

발표자 : 조 옹 구

소 속 : 농업과학기술원 세포유전과

20세기초 멘델 유전법칙의 재발견이 이루어지면서 유전학자들은 세포에서 유전자의 위치, 화학적 조성 및 그들의 작용양식등에 관한 연구를 하기 시작하였고 그 이후 많은 작물에서 유전적 특성을 구명하고 단순 유전형질의 유전분석을 실시하여 유전자지도를 작성하여 왔다. 이와같은 형태적 돌연변이 표지인자를 기초로한 관행연관군지도들은 식물육종과 유전학 발전에 공헌한 바 크다.

1923년 Sax는 유전양식의 해석이 용이한 주등유전자들을 이용하여 그들과 연관되어 있는 농업적으로 유용한 미등유전자들을 선발함으로써 보다 쉽게 육종 목표를 달성할 수 있다고 제안하였다. 그러나 지금까지 알려진 대부분의 형태적 표지인자들은 열악형질들이고 동일 유전집단에서 연관분석이 어렵고 그 수가 제한적이므로 실제 육종에의 이용성은 낮았다.

형태적 표지인자의 농업적 이용에 한계를 느낀 연구자들은 등위효소 및 단백질 특성을 주요 농업형질과 연관시켜 기내선발 표지인자로 이용하려는 시도를 하였다. 그러나 등위효소도 이용가능한 표지유전자의 수가 제한적이기 때문에 작물육종에 이용이 부진한 실정이다. 실제로 계능의 조성을 살펴보면 종에 따라 다르지만 전체 계능 중에서 약 10 - 20 퍼센트가 이들의 발현에 관여하는 소위 coding region이고 나머지 부위가 non-coding region으로서 repetitive DNA로 구성되어 있다. 따라서 상대적으로 비율이 작은 coding region으로 부터 발현된 형태적 표지인자의 이용율이 낮을 수 밖에 없다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 최근에는 모든 식물에서 제한효소단편장다형현상 (Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP)을 이용하여 핵 DNA단편을 직접 이용할 수 있는 RFLP표지인자의 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 고등생물의 유전분야에서 RFLP의 이용가능성에 대하여는 1980년 Bostein등에 의하여 인체유전자지도작성에 처음으로 검토되었는데 현재까지 옥수수, 토마토, 벼, 밀, 보리, 귀리, 대두, 상치, 유채속, 가지과 작물 등에서 고밀도 분자유전자지도가 작성되고 있고 이를 기초로 유전정보 데이터베이스 구축은 물론 유전, 육종적 이용을 위한 다각적인 검토가 이루어지고 있다.

식물에는 수 많은 DNA의 변이가 존재하고 있는데 이들 DNA sequence의 자연적 변이체를 탐색하는 방법 중 한 가지는 DNA를 직접 sequence해서 분석하는 방법이 있는데 이 방법은 매우 어려운 일이며 시간이 많이 걸린다. 다른 한 방법으로는 제한효소를 이용하여 DNA를 보다 큰 덩어리로 절단하여 작은 DNA probe를 이용하여 DNA의 다형성을 탐색하는 소위 RFLP 기술을 이용하여 효과적으로 분석할 수 있다. RFLP 기술을 이용하면 DNA의 다형성을 매우 효과적으로 탐색할 수 있으며 유전자지도작성이 가능한데, 지도작성을 위한 구비조건으로서는

DNA의 변이를 탐색할 probe가 있어야 하며, 다형성을 분석할 적당한 유전분리집단이 있어야 한다. RFLP 기술을 수행하는 일반적인 단계로는 첫째, DNA probe를 만들어야 하고, 둘째, 유전 분리집단을 육성하고, 셋째, probe를 이용하여 양친의 polymorphism을 조사하고, 넷째, 다형성이 밝혀진 제한효소를 이용하여 분리집단에서 각 개체의 genotype을 결정하여, 다섯째, χ^2 -test에 의하여 연관관계를 분석하여 [이 단계에서 Mapmaker program (Lander 등, 1987)을 활용하여 multiple test에 의한 다수의 표지인자 배열순서 결정 가능] 유전자지도를 작성하는 과정으로 이루어진다.

지금까지 분자유전자지도의 작성은 주로 genomic DNA와 cDNA를 표지인자로 하여 이루어져 왔으나 최근에는 보다 많은 표지인자를 확보하기 위하여 non-coding region의 DNA를 marker로서 이용하는 방안이 시도되고 있다. 앞서 언급한 바와 같이 non-coding region은 macrosatellite, minisatellite, microsatellite 등과 같은 repetitive DNA로 구성되어 있는데 이들은 대개 tandem repeat로 채워져 있고 repeat unit이 다양하여 높은 다형성을 보임으로 이를 이용하여 인체, 쥐, 아라비도시스, 옥수수, 콩, 포도, Brassica, 벼 등에서 지도작성이 시도되고 있다.

식물의 외부 형태적 조사만으로는 필요한 유전정보를 얻는 것이 극히 제한적이다. 그러나 DNA marker를 이용하면 식물의 DNA에 존재하는 수 많은 변이를 분석함으로써 유전자지도를 작성하고 이를 기초로 하여 중요한 농업형질들의 염색체위치를 결정할 수 있다. 일단 중요 형질과 밀접히 연관된 표지인자가 밝혀지면 이를 이용하여 여교잡육종시 선발표지인자로 활용할 수 있고 야생종으로부터 유용한 유전자를 도입할때 도입유전자를 쉽게 확인하여 선발할 수 있으며 양적유전형질의 분석에도 매우 효과적으로 이용할 수 있다. 또한 특정 형질과 밀접히 연관된 표지인자를 이용하여 소위 "map-based gene cloning" 기술에 의하여 유전자를 분리하여 우량 품종개발을 위한 형질전환에 이용할 수 있다. 한편 RFLP 기술을 이용하여 식물의 비교유전자지도를 작성함으로써 유사성분석이나 진화학적분석을 시도하고 있으며 fingerprinting에 의한 유전자원 탐색에도 매우 효과적으로 이용되고 있다.

현재에는 RFLP 기술, microsatellite mapping, AFLP 기술, DNA sequencing 기술, YAC과 BAC contig mapping 및 유전자 클로닝 기술을 복합적으로 이용하는 "Genome 연구"가 진행되고 있어서 식물의 계보를 보다 깊이 이해할 수 있는 많은 정보가 밝혀지고 있으며 이를 이용한 새로운 형태의 육종이 시도될 것으로 기대한다.