

벼 Recombinant Inbred 유전집단을 이용한 분자유전자지도 작성

I. 벼 RFLP Framemap 작성

농업과학기술원 조용구, 김영우, 이명철, 강미란, 석순종, 은무영

Construction of Molecular Map of Rice with Recombinant Inbred Population by Restriction Fragment Length Polymorphisms(RFLP)

I. Construction of RFLP Framemap

Agricultural Science and Technology Institute Yong Gu Cho, Young Woo Kim, Myong Cheol Lee, Mi Ran Kang, Soon Jong Suk, Moo Young Eun

실험목적

벼 12 개 염색체에 걸쳐서 DNA 염기 약 300 kb (1 cM) 마다 한 개 이상의 DNA marker를 가지는 고밀도 유전자 지도를 작성하기 위하여 벼 genomic DNA 및 cDNA 클론을 가지고 RFLP 기술을 활용하여 벼 표준유전자 지도를 작성하고자 수행하였다.

재료 및 방법

- o 유전분석집단 : 밀양23호/기호벼 유래 F11 recombinant inbred 유전분리 집단 164계통.
- o DNA marker : RG 및 RZ 클론 (Causse 등 1994), C 및 G 클론 (Kurata 등 1994)
- o RFLP 분석 : McCouch 등 (1988) 방법을 변형하여 분석.
- o 연관분석 및 유전자지도작성 - Mapmaker version 2.0 (Lander 등 1987)

결과요약

벼의 연관군지도는 지금까지 형태적 돌연변이체들을 가지고 작성하여 왔으며 여기에 동위효소 marker들이 지도작성에 이용되었다. 최근에는 RFLP, RAPD, AFLP, microsatellite등 DNA marker들의 개발이 활발히 이루어지고 있어서 DNA marker를 이용하여 고밀도 유전자지도 작성이 가능하며 이를 이용하여 최근까지 어려웠던 계놈의 실체를 이해하기 위하여 고밀도 유전자지도를 기본틀로 하여 계놈과 관련된 각종 정보를 종합화하는 연구가 절실하다. 본 연구는 밀양23호(M), 기호벼(G)간의 교배로부터 육성된 F11 MG RIL 유전집단 164 계통을 이용하여 이루어졌는데 밀양23호와 기호벼간의 제한효소별 RFLP의 출현율(%)은 표1과 같이 122개의 marker중 80 퍼센트가 RFLP를 보였는데 ScaI, EcoRV, EcoRI등이 31-33%를 나타내었고 Hind III, Dra I, Xba I등이 20-25%의 RFLP를 보였다. 조사된 RFLP 제한효소를 이용하여 RIL에서의 밴드분리를 조사하여 Mapmaker V 2.0 프로그램을 사용하여 Framemap을 작성하였다. 총 215개 마커를 조사하여 137개 마커를 Framemap에 지도작성하였으며(그림 1) 총 map unit은 1293 cM이었다. 벼 유전자지도의 고밀도화 및 종합화를 위하여 이 Framemap에 동위효소, 형태적 특성, RAPD, 새로운 cDNA, microsatellite, AFLP등 각종 marker들의 염색체상의 위치를 종합한 유전자지도를 작성하고 여기에 YAC 클론, BAC 클론등의 contig map을 통합하여 종합정보 유전자지도를 작성하고 있다.

Table 1. % polymorphism between Milyang 23 and Gihobyeo for eight restriction enzymes

Restriction Enzyme	Recognition site	Polymorphism (%)
EcoRV	GATATC	31.1
XbaI	TCTAGA	20.5
DraI	TTTAAA	24.2
EcoRI	GAATTTC	31.1
HindIII	AAGCTT	25.0
BamHI	GGATCC	17.4
PstI	CTGCAG	13.6
ScaI	AGTACT	33.3

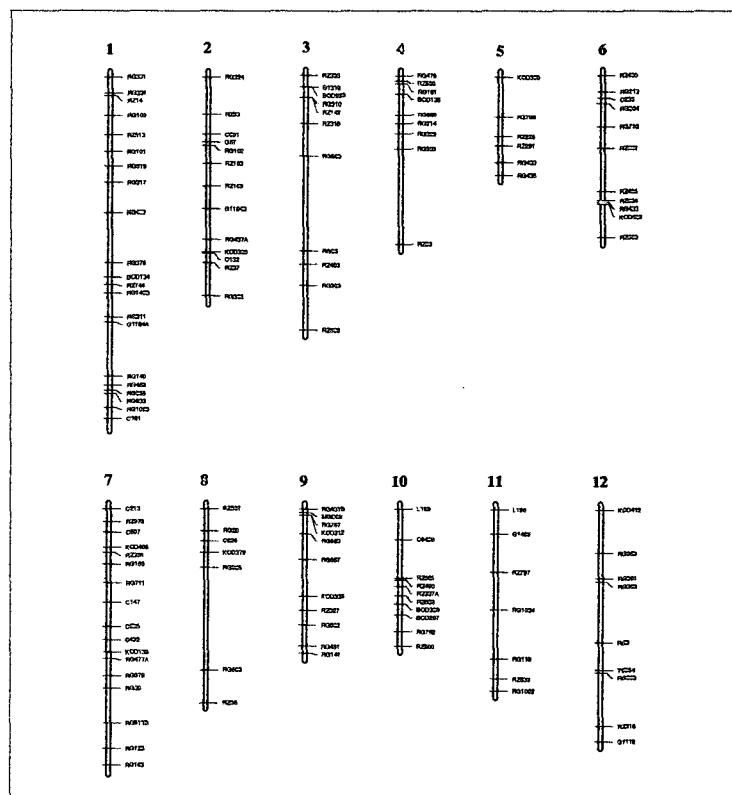


Fig. 1. Molecular framemap of rice using F11 MG recombinant inbred population derived from the cross, Milyang 23 /Gihobyeo