

벼 Recombinant Inbred 유전집단을 이용한 분자유전자지도 작성 III. 벼 AFLP(amplified fragment length polymorphism) marker의 지도작성

농업과학기술원 조용구, 은무영, 코넬대 SR McCouch, 키진사 M. Zabeau

Construction of Molecular Map of Rice with Recombinant Inbred Population by Restriction Fragment Length Polymorphisms(RFLP) III. Mapping AFLP Markers on MG Framemap

Agricultural Science and Technology Institute Yong Gu Cho, Moo Young Eun,
Cornell University, USA SR McCouch
KeyGene, Netherland Marc Zabeau

실험목적

벼 genomic DNA 를 두 종의 제한효소로 절단한 후 그로부터 유래하는 수 많은 DNA 단편의 다형성을 이용하여 다형성을 나타낸 단편들을 지도작성함으로써 유전자지도의 고밀도화를 촉진하고 농업형질과 연관된 DNA marker들을 선별하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

- o 유전분석집단 : 밀양23호/기호벼 유래 F11 recombinant inbred 유전분리 집단 164계통.
- o DNA 추출 : F11 종자 100립을 파종하여 3 주후 지상부 전체를 절단하여 DNA 추출.
- o AFLP 분석법 : Selective restriction fragment amplification 방법 이용
(Marc Zabeau and Peter Vos 1993, Cho 등 1996)
- o 연관분석 및 유전자지도작성 : MG Framemap에 Mapmaker v2.0 (Lander 등 1987)을 이용하여 염색체 위치 결정

결과요약

핵 DNA를 제한효소로 절단하고 그 절단된 단편 DNA의 다형성을 조사하는 방법으로는 RFLP와 AFLP 기술이 있다. RFLP 기술은 제한효소로 핵 DNA를 절단하여 생기는 DNA 단편의 다형성을 genomic DNA 또는 cDNA 클론을 탐침으로 이용하여 Southern analysis 에 의하여 분석하는 기술인데 반하여 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 기술은 두 종의 제한효소를 사용하여 핵 DNA를 절단하고 이때 생긴 DNA 단편의 양 끝에 두가지 제한효소 특이 adapter를 부착하고 adapter specific primer 를 이용하여 genomic DNA를 증폭한 후 denaturing polyacrylamide gel에서 다형성을 분석하는 기술로서 한 gel에서 다수의 마커에 대한 mapping data를 동시에 얻을 수 있는 장점을 가지고 있다. 본 연구는 밀양23호(M), 기호벼(G)를 교배하여 얻은 F2 종자를 single seed descent 방법으로 F6 까지 육성 후 계통재배를 통하여 육성한 F11 MG RI 유전집단 164 계통을 이용하여 벼 분자유전자지도의 고밀도화를 촉진하고자 수행하였다. 양친 및 MG RI 집단의 genomic DNA를 EcoRI, MseI, PstI, TaqI 등 제한효소로 절단하고 그들 특이 primer 조합을 가지고 amplicon을 PCR로 증폭하여 mapping data를 조사한 후 "Mapmaker" 프로그램을 이용하여 지도작성한 결과 150 개의 마커를 MG framemap 에 지도 작성하였다.

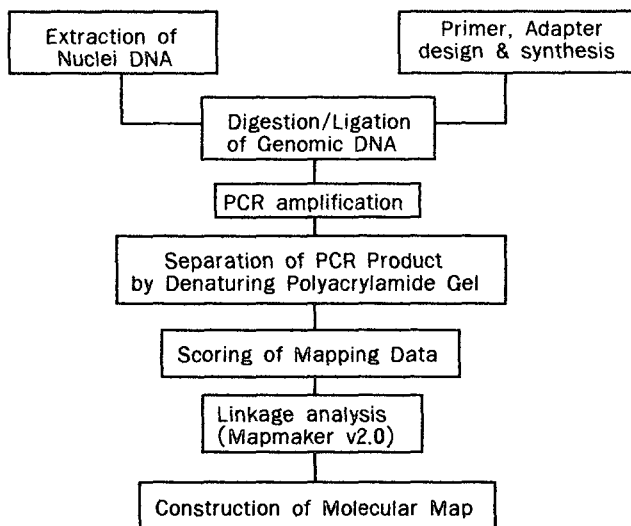


Fig. 1. Strategy of molecular mapping of AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) markers in rice by PCR technique.

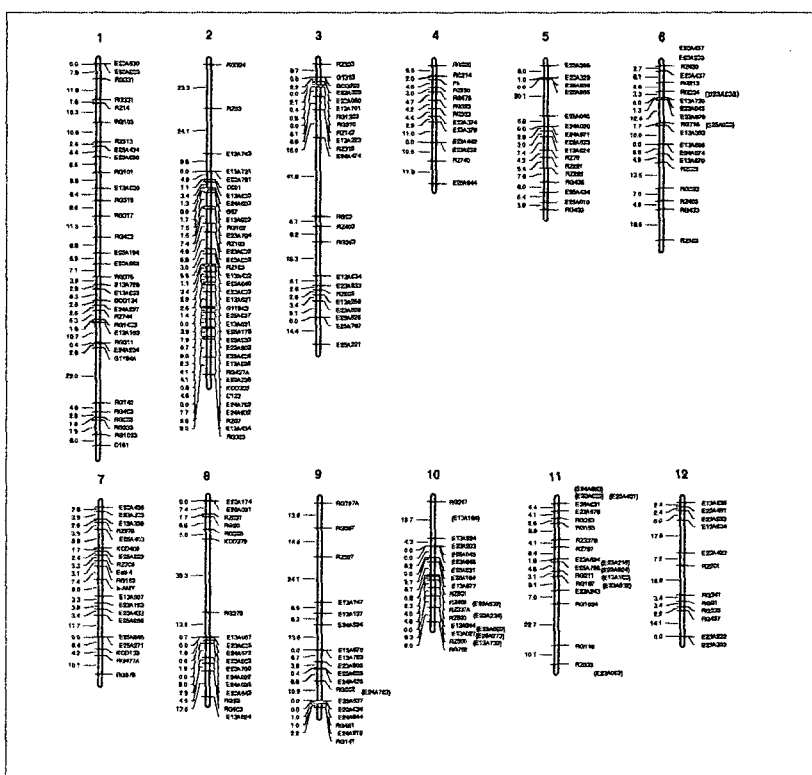


Fig. 2. Molecular map of rice using MG recombinant inbred population derived from the cross, Milyang 23 /Gihobyeo