

청도라지와 백도라지의 SCAR 마커 개발

작물과학원, ¹경북대학교

박준근*, 방경환, 김동휘, 김정숙, 김태수, 박희운, 이상철¹

Development of SCAR marker for discriminating between violet flowered lines and white flowered lines in Chinese bellflower (*Platycodon grandiflorum*)

Nation Institute of Crop Science, ¹Kyungpook National University
Chun-Geon Park*, Kyong-Hwan Bang, Dong-Hwi Kim, Jung Sook Sung,
Tae-Soo Kim, Hee-Woon Park and Sang-Chul Lee¹

실험목적

식물학적 특성으로는 잎의 모양, 꽃의 색깔 및 꽃의 크기 등으로 길경의 지상부 생육부위의 구별이 가능하지만, 청도라지와 백도라지의 주 이용부위인 뿌리를 이들 특성을 이용하여 구분하는 것은 불가능한 일임. 따라서 본 연구에서는 RAPD clone으로부터 청도라지와 백도라지를 구분할 수 있는 이들의 특이적인 SCAR 마커를 개발하고, 이를 차후 육종의 기반자료로 활용코자 실험을 수행하였음.

재료 및 방법

○ 실험재료

2005년 9월경에 작물과학원 인삼약초과 약용작물 시험포장에서 재배중인 청도라지와 백도라지의 순수 계통을 대상으로 각각 6 samples 씩을 사용.

○ 실험방법

- DNA 추출 및 양정검 : CTAB 방법으로 DNA 추출하였고, Nano Drop En-1000 기기를 이용하여 DNA의 양을 정하여, 각 DNA는 10 ng/μl로 희석하여 PCR시 이용.
- SCAR primer 제작 : 다형성을 나타내는 임의 프라이머들을 선발하여, 청도라지와 백도라지 특이적인 DNA 밴드를 cloning하고 염기서열 분석을 통해 새로운 프라이머 제작.
- SCAR primer 적용 : 제작된 SCAR 프라이머를 이용하여 PCR 수행 후, 청도라지와 백도라지 구분 여부 확인.

결과 및 고찰

- 청도라지와 백도라지를 구분할 수 있는 RAPD based primers를 선발하고자 PCR을 수행한 결과, 총 24개의 primer를 사용하여 밴드가 분명하고 다형성 밴드가 관찰되는 OPC08 등 6개의 primer들을 선발.
- 청도라지와 백도라지 특이적인 DNA 밴드들을 대상으로 cloning과 sequencing을 거쳐 두 개의 특이적인 SCAR primer를 제작하였는데, 청도라지와 백도라지 특이적인 DNA fragment의 염기서열은 각각 850bp (*PgR1*)와 863bp (*PgR2*)의 염기로 구성.
- RAPD clone으로부터 개발된 청도라지와 백도라지 특이적인 *SPgR2*를 이용하여 PCR 한 결과, 청도라지에서는 약 500bp 크기에서 두 개의 특이적인 밴드가 형성되었으며, 백도라지의 경우 한 개의 특이적인 밴드만 관찰되어 청도라지와 백도라지를 구분할 수 있었음.

주저자 연락처 : 박준근

E-mail : pcg@rda.go.kr

Tel : 031-290-6821

Table 1. Characteristics of two SCAR markers used for discrimination of violet flowered lines and white flowered lines in Chines bellflower.

Markers	Size of markers (bp)	SCAR primer sequences	Annealing Tm. (°C)	Size of amplified fragments (bp)	Specificity	SCAR markers
<i>PgR1</i> † (RAPD marker)	850	Forward primer 5' ATCCCTAAATTGC -TACTACCATAG 3' Reverse primer 5' TGTTCAAATGTT -ATATGAATAGGG 3'	55	684	N	N ‡
<i>PgR2</i> (RAPD marker)	863	Forward primer 5' GAGGAGTATTTT -GTCAGATAAGGT 3' Reverse primer 5' TAGGTGAATTAG -AGCTGTATGTGT 3'	55	493	co-dominant type	<i>SPgR2</i>

† *PgR* stands for *P*: *Platycodon*, *g*: *grandiflorum*, *R*: RAPD

‡ *SPgR* stands for *S*: SCAR marker, *P*: *Platycodon*, *g*: *grandiflorum*, *R*: RAPD

* N: no result

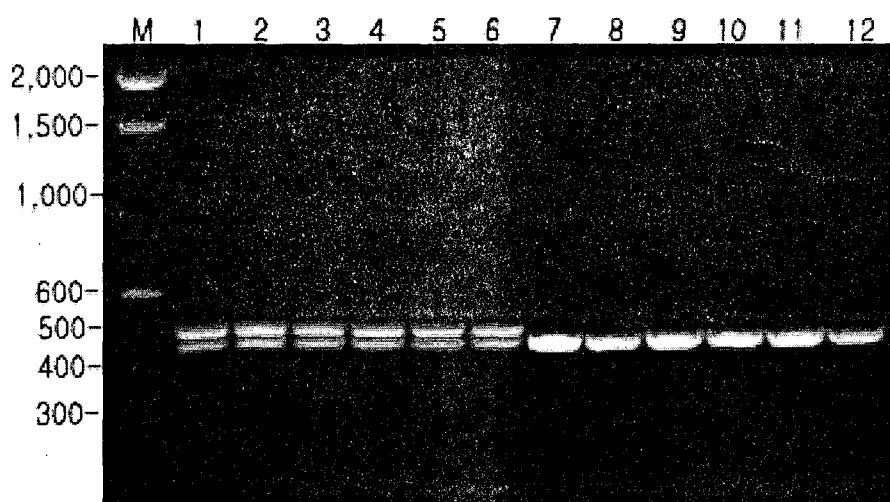


Fig. 1. PCR products of Chines bellflower plant DNA using *SPgR2* primer. 0.5 kb SCAR markers were detected in violet flowered lines and white flowered lines, respectively. Lane M, 1kb DNA ladder; lanes 1-6, violet flowered lines; lanes 7-12, white flowered lines.