

RNA 서열분석법을 활용한 벼 낱알의 피틴산 연관 유전자 바이오마커 발굴

김상현¹, 김진호¹, 임선영², 김영관¹, 홍영진², 조원배², 김수경¹, 장원철¹, 이동진^{2*}

¹충청남도 천안시 동남구 안서동 단국대학교 자연과학대학 화학과

²충청남도 천안시 동남구 안서동 단국대학교 생명자원과학대학 식량생명공학과

[서론]

피틴산(Phytic acid, PA)은 곡류, 두류 및 채소 등에 존재하는 항영양학적 성분으로서 구조상 chelation 활성을 지니고 있다. 섭취 시 체내에서 필수 미네랄(Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} 등) 성분을 흡착하여 불용성의 복합체를 형성하여 필수 미네랄의 이용성 및 단백질 흡수 저하 등의 항영양학적 작용이 이루어진다. 따라서 체내 영양소 섭취 효율을 높이기 위해 작물의 항영양학적 성분을 줄이는 것이 중요하다. 그러므로 항영양작용을 갖는 피틴산을 검출하기 위한 방법의 개발이 필요하다. 본 연구는 차세대염기서열분석기법(Next-generation sequencing, NGS)을 이용하여 벼의 항영양인자 중 피틴산의 발현과 연관성이 있는 유전자를 확인하고 유전자 마커 발굴 및 검출법을 제시하고자 한다.

[재료 및 방법]

본 연구에는 GM벼(익산483)를 포함한 21종의 재배품종(금오, 큰섬, 낙동, 남평, 다산, 동안삼광, 설향찰, 소비, 안다, 안미, 영안, 오대, 운광, 칠보, 하이아미, 한아름, 화성, 화영, IR50, IR64, IR72, IR102)을 사용하였다. 이는 충청남도 천안시 단국대학교 실습포장에 전개하여 수확한 후, 현미상태로 도정하여 사용하였다. 시료의 피틴산 함량은 효소면역측정법(Enzyme immune-assay, EIA) 중 ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) 방법을 이용하여 측정하였다. 측정된 결과값을 이용하여 피틴산 함량에 따라 높은 함량의 시료 2종(설향찰, 오대), 낮은 함량의 시료 2종(IR64, 한아름), 총 4종의 벼 시료를 선별하였다. 선별된 4종의 시료를 차세대염기서열분석기법 중 RNA 서열분석(RNA-sequencing) 방법을 이용하여 FPKM (Fragments Per Kilobase of exon per Million) 값을 측정하였다.

[결과 및 고찰]

본 연구의 결과로 총 5개 유전자; *INO1* (Os03g0192700), *ITPK1* (Os10g0103800), *ITPK2* (Os03g0230500), *ITPK3* (Os03g0726200), *ITPK6* (Os09g0518700)에서 2개 그룹의 FPKM 값의 차이를 확인하였다. 각 시료의 FPKM을 유전자에 따라 정리하면 *INO1* ([그룹 A: 오대, 236.54; 설향찰, 170.03], [그룹 B: 한아름, 343.63; IR64, 403.99]), *ITPK1* ([그룹 A: 오대, 20.97; 설향찰, 22.16], [그룹 B: 한아름, 8.01; IR64, 11.04]), *ITPK2* ([그룹 A: 오대, 19.20; 설향찰, 20.46], [그룹 B: 한아름, 6.07; IR64, 11.40]), *ITPK3* ([그룹 A: 오대, 26.11; 설향찰, 11.64], [그룹 B: 한아름, 69.36; IR64, 49.04]), *ITPK6* ([그룹 A: 오대, 24.40; 설향찰, 27.29], [그룹 B: 한아름, 12.15; IR64, 12.37])로 피틴산 함량이 낮은 그룹 B에서 *INO1*와 *ITPK3*의 발현이 그룹 A에 비하여 상대적으로 높은 것을 확인하였다. 본 연구에서 선별한 유전자들의 FPKM을 비교하여, 기존의 ELISA 방법으로 측정된 결과와 동일한 경향성을 보임을 확인하였다. 추후의 연구에는 Sanger 서열분석(Sanger sequencing) 기법을 통해 선별된 유전자의 돌연변이 유/무를 확인하고, 실시간 중합효소연쇄반응(Real-time PCR) 기법을 이용하여 선별된 유전자의 발현량을 4종의 벼 시료를 포함한 21종의 시료를 대상으로 분석할 필요가 있다.

[사서]

본 연구는 농촌진흥청 어젠다 사업(과제번호: PJ0137012018)의 지원에 의해 수행되었다.

*주저자: Tel. 010-7302-6585, E-mail. sanghyune9@gmail.com