

배추 유묘의 글루코시놀레이트 합성 기작에 미치는 LED 혼합광의 효과

문정현 · 정미정 · 이수인 · 이준구 · 황현승 · 유재웅 · 김용록 · 박세원 · 김진아

Effect of LED mixed light conditions on the glucosinolate pathway in *brassica rapa*

Junghyun Moon · Mi Jeong Jeong · Soo In Lee · Jun Gu Lee · Hyunseung Hwang · Jaewoong Yu · Yong-Rok Kim · Se Won Park · Jin A Kim

Received: 9 June 2015 / Revised: 15 July 2015 / Accepted: 5 August 2015
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract In the agricultural industries, LEDs are used as supplementary, as well as main lighting sources in closed cultivation systems. In cultivation using artificial light sources, various light qualities have been tried to supplement fluorescent lamps to promote plant growth and metabolism. Microarray analysis of *Brassica rapa* seedlings under blue and fluorescent mixed with blue light conditions identified changes in three genes of the glucosinolate pathway. This attracted attention as functional materials highly expressed 3.6–4.6 fold under latter condition. We selected four more

genes of the glucosinolate pathway from the Brassica database and tested their expression changes under fluorescent light mixed with red, green, and blue, respectively. Some genes increased expression under red and blue mixed conditions. The Bra026058, Bra015379, and Bra021429; the orthologous genes of CYP79F1, ST5a, and FMOGS-OX1 in *Arabidopsis*, are highly expressed in *Brassica rapa* under fluorescent mixed with blue light conditions. Further, Bra029355, Bra034180, Bra024634, and Bra022448; the orthologous genes of MAM1, AOP3, UGT74B1, and BCAT4 in *Arabidopsis*, are highly expressed in *Brassica rapa* under fluorescent mixed with red light conditions. The various light conditions had unique effects on the varieties of Brassica, resulting in differences in glucosinolate synthesis. However, in some varieties, glucosinolate synthesis increased under mixed blue light conditions. These results will help to construct artificial light facilities, which increase functional crops production.

J. Moon · M. J. Jeong · S. I. Lee · J. A. Kim (✉)
농촌진흥청 국립농업과학원 생물소재공학과
(Functional Biomaterial Division, National Academy of
Agricultural Science, Rural Development Administration,
Suwon, 441-707, Republic of Korea)
e-mail: jakim72@korea.kr

J. G. Lee
전북대학교 농업생명과학대학
(Department of Horticulture, Chonbuk National University,
Jeonju 561-756, Korea)

H. Hwang
서울대학교 식물생산과학부
(Department of Plant Science, College of Agriculture and Life
Sciences, Seoul National University, San 56-1, Sillim-dong,
Gwanak-gu, Seoul, 151-744 Korea)

J. Yu · S. W. Park (✉)
건국대학교 분자생명공학과
(Department of Molecular Biotechnology, Konkuk University,
Seoul 143-701, Korea)
e-mail: swpark@konkuk.ac.kr

Y. R. Kim
연세대학교 이과대학 화학과
(Department of Chemistry, Yonsei University, Shinchon-Dong
134, Seodaemun-Gu, Seoul 120 749, Republic of Korea)

Keywords Blue light, *Brassica rapa*, Glucosinolate, LED, Microarray

서론

광은 식물에게 있어 일차적인 에너지원으로 대부분의 식물 발달 단계를 조절하고 광합성 효율을 유지하는 역할을 한다(Hangarter 1997). 태양광은 식물재배에 있어서 최적의 조건이지만 일일 중 또는 일년 중 끊임없이 변하고 다양한 파장을 가지고 있기 때문에 식물의 광합성 작용에 사용되는 파장은 많지 않다(Lund et al. 2007). 조사된

광은 광질 별로 특히 수용체의 광화학적 반응에 의해 조절되며 식물의 발육에 서로 다른 역할을 한다(Butler et al. 1964)는 것이 밝혀진 이후 식물의 생육에 특정 파장의 광이 어떤 영향을 미치는 지에 대한 연구가 계속되어 왔다. 광 파장과 작물의 생육과의 관계에 대한 오랜 연구 결과 적색광은 식물체의 광합성에 영향을 미치고 청색광은 형태학적으로 식물체의 건전한 생장에 필수 요소임이 밝혀졌다(Okamoto et al. 1996). 또한 애기장대에 청색광을 조사하였을 때 하배축의 신장을 억제하고 자엽 확장을 유발하며, 적색광은 하배축 신장과 자엽 확장을 촉진한다는 보고가 있었다(Whitelam and Halliday 2007).

자연의 기후에 영향을 받지 않고 작물을 안정적으로 재배하기 위해 이용되는 다양한 시설 내에서의 식물의 생리는 피복재를 통해 투과되는 광량, 광질 및 광조사 시간 등에 의해 영향을 받는다(Klein 1979). 식물이 필요로 하는 광을 인공조명장치로 대체하기도 하는데 태양광을 대신하여 식물에 유용한 광질과 광도를 조사할 수 있도록 고압나트륨등, 메탈헬라이드등, 형광등, LED등 등 다양한 인공광원을 개발하여 왔다(Kim 2010). 특히 LED등은 무 수은으로 환경친화적이고 경량이며, 전력 절감이 탁월하고 수명이 길면서도 구동회로가 간단하다는 것과 함께 특정 광질을 쉽게 만들 수 있는 장점이 있다(Hwang et al. 2004). 또한 LED 전등의 발광 파장을 식물 엽록소의 흡수 피크와 거의 일치시킬 수 있어 광합성에 유리하고, 낮은 전압으로 작동할 수 있다(Kim 2010). 재배목적에 따라 맞춤형 광질로 특정한 광질을 이용할 수 있다는 장점을 이용하여 엽채류 재배에 LED 광원을 이용하는 사례가 늘어나고 있지만 식물의 발아와 성장 그리고 기능성 물질의 함유량과의 관계를 규명하고 이를 조절해 채소의 품질을 향상시키는 조사기술에 관한 연구는 아직 미비하다(An et al. 2011; Cho et al. 2008; Choi et al. 2014).

배추(Chinese cabbage)는 국내에서 소비량이 가장 많은 채소이며, 제늄 서열 분석이 완료(Wang et al. 2011)되어 생리실험 뿐 아니라 이를 분자 수준으로 검정할 수 있는 매우 유용한 작물이며 모델 식물인 애기장대와 비교제늄 연구를 통해 다양한 관련 유전자를 동정할 수 있다(Kim et al. 2012). 또한 유채, 브로콜리, 갓, 등 새싹채소로 각광받고 있는 작물(Lee et al. 2007)과 같은 속(Kim et al. 2012; Nagaharu 1935)에 속하여 제늄의 일부를 공유하고 있으므로 배추 연구를 다른 십자화과에 적용하는 것이 가능하다. 또한 배추는 민간과 한방에서 화상 및 감기의 치료, 갈증해소, 소화촉진 등의 효능을 가지는 것으로 전해지고 있으며, 근래에 들어서는 생리활성효과 연구에 대한 관심이 증가하고 있다(Cha et al. 2000). 특히 십자화과 채소(Cruciferous vegetable)의 생리활성 성분 중 하나인 글루코시놀레이트(glucosinolate)는 2차 대사산물들 중 하나로서 병충해나 질병 등에 대한 식물의 생체 방어반응

에 관여한다(Redovniković et al. 2008). 또한 글루코시놀레이트는 강력한 항암작용을 하며 종자와 새싹에 다량 함유되어 있는 것으로 보고되어 있다(Lund et al. 2001; Faulkner et al. 1998).

본 연구에서는 LED의 광질에 반응하는 배추 초기 유묘의 글루코시놀레이트 합성 기작과 연관된 유전자 발현 변화를 추적하였다. 청색광을 배추 유묘에 조사하였을 때 2차 대사산물 생산에 관여하는 유전자들의 발현이 변화하였다는 이전의 연구(Kim et al. 2013; Mun et al. 2014) 결과를 적용하여 청색광을 보광함으로써 배추 유묘의 품질을 변화시킬 수 있는지 알아보기 위한 실험을 수행하였다. 유묘의 재배에 이용되는 광 환경은 단일광 보다는 자연광이나 형광등에 다양한 광질을 보광(Kim 2010)하는 경우가 많다. 본 실험에서는 엽록소(chlorophyll)의 두 가지 흡수 파장인 청색광과 적색광을 혼합한 조건에서 반응하는 글루코시놀레이트 합성 유전자의 발현 변화를 관찰하였다. 이러한 연구는 특정 파장영역의 선택이 가능한 LED를 적절히 이용할 수 있는 조건을 규명함으로써 작물의 수량증대와 품질향상에 광원을 효과적으로 이용할 수 있는 기초자료가 될 수 있으며, 다양한 배추속 작물의 재배에도 적용 가능할 것으로 사료된다.

재료 및 방법

식물재료

배추 추지부(*B.rapa* ssp. *pekinensis* cv. *Chiifu*) hi종자를 18시간 동안 물에 침지시킨 후 원예용 상토에 파종하고 유묘의 생장은 형광등(오슬람 삼파장 전구, FPL36EX-D, ㈜오슬람코리아, 한국)과 LED 전구가 장착된 성장상을 이용하였다. 성장상의 온도는 23°C로 유지하였고 16시간 동안은 광을 조사하고 8시간 동안은 암 상태가 되도록 시간을 설정하여 광을 조사하였다. 글루코시놀레이트 분석에 이용된 Tsao Huang Pa (IT no. 221747) 와 BP79 (IT no. 221766) 아종은 국립농업과학원 유전자원센터에서 분양 받은 종자를 이용하였으며 파종 및 생육은 지부와 같은 방법으로 수행하였다.

광 처리

청색광에 의해 발현 변화하는 유전자의 전사체 분석을 위한 실험의 광 조사 조건은 형광등(FL: Fluorescent)과 청색단독광(B: Blue) 그리고 형광등에 청색광(FLB: Fluorescent + Blue)을 혼합한 세가지 조건을 이용하였다. 16시간 일장의 형광등 조건에서 4일간 자란 유묘는 2일간의 암 배양 후 각 광 조사 조건에 24시간 동안 둔 후 자엽을 비롯한

지상부를 수확하였다. 각각의 광도는 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 하였는데, 형광등과 청색광 혼합 조건은 각각의 광도를 $75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 맞추어 총 광도가 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 가 되도록 조절하였다. 다양한 혼합광 조건에 의해 변화하는 배추 유묘의 글루코시놀레이트 관련 유전자 발현 분석 실험에는 형광등(FL)과 형광등에 적색광(FLR: Fluorescent + Red), 녹색광(FLG: Fluorescent + Green), 청색광(FLB)을 섞은 혼합광을 이용하였으며 각각의 광도는 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 하였다. 광원이 장착된 생육상은 광도와 일장 및 온도를 제어할 수 있는 장비(HB-302S, 한백과학, Korea)를 이용하였으며 흡수 및 형광 스펙트럼은 각각 U-2900와 F-4500 (Hitachi, Japan)을 이용하여 측정하였다(Fig. 1). 유묘는 생육 단계를 달리하여 광을 조사하였는데 7일묘와 14일묘는 각각 처음 4일, 11일간 16시간 일장의 형광등 조건에서 생육시키고 2일간의 암배양 후 24일간 동안 각각의 광 조사 조건에 두고 유묘를 수확하였다. 글루코시놀레이트 분석을 위한 실험에 이용된 광 조건은 각각 FL, FLR, 그리고 FLB로 혼합광 조건 실험과 동일하게 키운 7일 유묘를 수확하여 분석하였다.

마이크로어레이 분석

형광등(FL: Fluorescent)과 청색 단독광(B: Blue) 그리고 형광등에 청색광(FLB: Fluorescent + Blue)을 혼합한 세 가지 조건에 24시간 노출된 '지부(*B.rapa* ssp. *pekinensis* cv. *Chifu*)' 유묘는 지상부를 채취하였다. 각각의 식물체를 2개씩 채취하여 2반복 실험을 수행할 수 있도록 액체질소에 얼려 막자 사발을 이용해 마쇄하였고, RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출한 총 RNA 샘플은 NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)를 이용하여 260 nm와 280 nm에서 정량하였다. 총 RNA로부터 cDNA를 합성하기 위해 RevertAidTMiderrMA, ienti Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Lithuania)를 사용하였다. MinElute Reaction Cleanup Kit (Qiagen, Germany)를 사용하여 cDNA를 정제하고 1 μg 의 cDNA에 30 μL 의 Cy3-9mer primers (Sigma-Aldrich, USA)를 넣고 98°C에서 10분간 열처리하여 Cy3 표지된 DNA를 합성하였다. 10 μL 의 50X dNTP mix (각 10 mM)와 2 μL 의 Klenow fragment (50U primers) (Sigma-Aldrich, USA)를 넣고 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 후, 표지된 DNA를 isopropanol로 침전시켜 13 μL 의 물로 녹였다. Spectrophotometer로 농도를 측정하여 10 mg의 DNA만을 마이크로어레이 혼성화에 이용하였다. 각 샘플에 혼성화 완충액(NimbleGen, USA)을 넣고 마이크로어레이와 함께 42°C에서 16-18시간 동안 MAUI chamber (Biomicro, USA) 내에서 혼성화 반응을 진행하였다. Wash I, II, III (NimbleGen, USA)로 세척하여 남아있는 Cy3를 제거하고

건조시킨 후, GenePix scanner 4000B (Axon, USA)로 Cy3 신호를 스캔하였다. 분석에 사용된 마이크로어레이는 NimbleGen Inc (<http://www.nimblegen.com/>)에서 제작되었으며 혼성화 반응과 데이터 분석은 GGBIO (<http://www.ggbio.com>)에서 수행되었다. 혼성화 반응 수행 후 NimbleScan (NimbleGen, USA) 프로그램으로 이미지 신호를 분석하였다. 데이터의 정규화 및 분석은 cubic spline normalization와 Robust Multi-Chip Analysis (RMA)를 이용하였다(Irizarry et al. 2003; Workman et al. 2002). 다중분석(Smyth 2004) 수행 후 P Value가 0.05 이하인 값을 취하고 다른 광 조건에서의 데이터와 비교하여 2배 이상 발현 증가 혹은 2배 이하 발현 감소한 유전자만을 선별하여 Acuity 3.1 (Axon Instruments)로 통계분석 수행하였다. *Arabidopsis thaliana* TAIR9 (<http://www.arabidopsis.org/>)를 기반으로 하여 배추 유전자와 match된 유전자 수는 총 18,725개이며, GOMINER (Ashburner et al. 2000; Zeeberg et al. 2003) (<http://www.geneontology.org>, <http://discover.nci.nih.gov/gominer/>)로 유의한 GO (Gene ontology) term을 분석하였는데 GO term과 expression mode (Under, Over, Change)에 따라 각 유전자를 분류하였다. One-sided Fisher의 유의성 검정방법으로 P Value를 계산하였고, 100개를 무작위로 취해서 False discovery rate (FDR) 값이 0.05 미만인 GO term을 추출하였고, 이를 생물학적 과정(biological processes), 분자 기능(molecular function), 그리고 세포 요소(cellular component) 세 가지로 분류하였다. FL 조건과 비교하여 FLB에서 발현이 증가 또는 감소하는 유전자에 대해서는 AgriGO (Zhou et al. 2003; <http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO/index.php>)를 이용하여 추가 분석을 수행하였다.

유전자 발현 분석

추출한 총 RNA 5 μg 으로 cDNA EcoDryTM Premix (Oligo dT) (Clontech Laboratories, Inc., Takara Bio company, USA)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. cDNA 합성을 위해서 42°C, 60분 반응 후 70°C에서 10분간 반응을 정지시켰다. 일차 합성된 cDNA를 주형으로 하여 primer를 이용하여 Prime Taq DNA pol. (GeNet Bio, Korea)로 PCR 반응을 수행하였다(BIOER thermal cycler: Bioer Technology Co., Ltd., China). PCR조건은 pre-denaturation는 95°C에서 5분, 95°C에서 30초 denaturation, 프라이머의 GC content에 따라 58°C 또는 60°C에서 30초 annealing, 72°C 1분의 extension 과정을 25~36회 반복하여 진행한 후 72°C 10분간 final extension 후에 종료하였다. 반응이 끝난 후 1% agarose gel (SeaKem® GTG® Agarose, Lonza, USA)에 전기영동하고 ethidium bromide (EtBr)로 염색하였다.

프라이머 제작

글루코시놀레이트 합성 유전자를 특이적으로 증폭하기 위한 프라이머는 배추 제놈 EST 데이터베이스와 NCBI 유전자 정보를 통해 얻은 염기서열을 primer3 program (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0>)을 이용하여 제작하였다(Table 4).

유전자 발현 정량 분석

전기영동을 통해 발현변화를 확인한 유전자의 정량 분석 (Quantitative PCR analysis)을 수행하였다. 3반복으로 진행하였으며 Forward primer/Reverse primer는 각각 3 pmol, 50X ROX dye는 0.4 μ l, DEPC-distilled water 3.6 μ l, 10 μ l AccuPower® 2X GreenStar qPCR Master Mix (Bioneer, Korea)를 첨가하여 총 반응 부피를 20 μ l로 하고, BIO-RAD Real-time thermal cycler (CFX)를 사용하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR조건은 95°C에서 10분 pre-denaturation 시킨 후, 95°C 10초, 55°C 10초, 72°C 30초 반응을 39회 반복하고 72°C에서 10초간 반응시킨 후 종료하였다.

글루코시놀레이트 함량 분석

마쇄한 시료 0.1 g을 15 ml conical tube에 취하여 80°C로

끓인 75% methanol 2 ml을 가한 다음 약하게 혼합하여 항온수조(80°C)에서 60분 추출 후 2,000 rpm, 10°C, 10분간 원심 분리하였다. 원심분리 후 상층 액을 회수하여 2 ml e-tube에 옮기고, 추출액 전체를 DEAE column에 흘린 후, sulfatase 200 μ l를 처리한 후 밀봉하여 상온조건에서 하룻밤 동안 방치한 후, column에 3차 증류수 0.5 ml로 3회 녹여 2 ml e-tube에 담은 뒤 분석 전에 0.2 μ m syringe filter로 여과하여 분석하였다. Sephadex-A-25 powder를 적당량 시약 병에 덜어 1차 증류수로 2번 세척 및 침전시키고 약 10분 후에 증류수를 따라내고 남은 slurry에 0.1 M sodium acetate (pH 4.0) 100 ml을 혼합하였다. 24시간 경과 후 ACQUITY Ultra performance liquid chromatography (UPLC) H-Class System (Waters, USA)를 이용하여 UPLC 분석을 수행하였다.

결과 및 고찰

청색광 혼합광 조건에 반응하는 유전자 발현 변화

실험을 수행한 성장상의 광조건은 적, 청, 녹색광의 균일한 파장을 조사할 수 있으며(Fig. 1A), 적색광은 625 nm, 녹색광은 524 nm, 청색광은 455 nm의 파장을 안정적으로

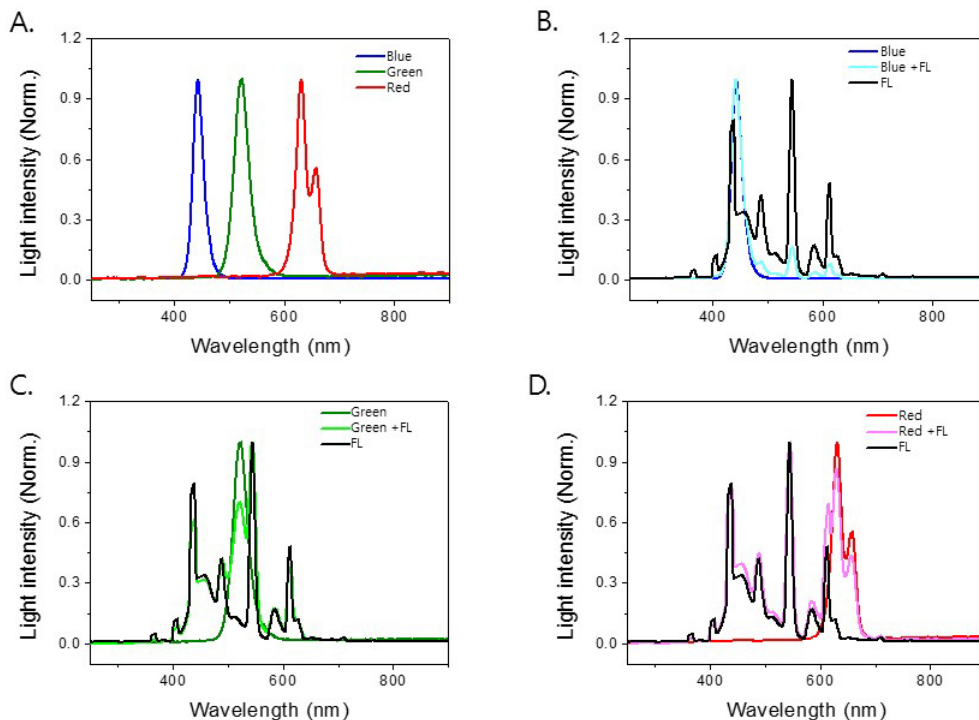


Fig. 1 Spectral distribution and intensity of LED chambers. LED bulbs in chambers irradiated sharp peaks of Blue, Green, and Red light (A). Each peak point at 455, 524, and 625nm. Fluorescent light (FL) was mixed half and half with each blue (B), green (C), and red (D) LED, respectively. Each color line reflected the light source bulb, blue, green, and red. Black line indicates fluorescent light. Sky-blue, light green, and pink indicate spectral distributions under mixed conditions with blue, green, and red, respectively

구현할 수 있고, 형광등을 조사하면서 적, 청, 녹색광을 동시에 조사할 수 있는 장비를 이용하였다(Fig. 1B, C, and D). 4일간 동일한 형광등 조건에서 자란 유묘는 광조건에서 유도되었던 물질변화 및 유전자 발현 효과를 배제하고자(Huseby et al. 2013) 2일간 암배양한 후 형광등 조건(FL: Fluorescent lamp)과 형광등에 청색광을 혼합한 조건(FLB: Fluorescent lamp +Blue), 그리고 청색 단일광(B: Blue) 조건에 24시간 동안 노출시켜 총 7일된 유묘의 마이크로어레이 분석을 수행하였다. 형광등 조건을 기준으로 형광등과 청색광을 혼합하여 처리한(청색 혼합광)조건과 청색 단일광 조건에서의 유전자 발현 분석 데이터를 계층군집화하여 분석한 결과, 청색 단일광을 조사한 경우 형광등 조건과 비교해 유전자 발현의 변화가 매우 크게 나타났으나 청색 혼합광 조건에서는 발현 변화한 유전자의 수가 크게 줄었다(Fig. 2). 청색 단일광 조건에서 발현이 2배 이상 증가한 유전자 수는 배추 제논 유전자 4,553개 중 1,513개이고 발현이 억제된 유전자의 수는

1,789개였으나 형광등에 청색광을 혼합하여 조사한 유묘 내에서 발현이 증가한 유전자의 수는 12개, 억제된 유전자는 10개로 줄었다(Table 1). GO 분석을 수행한 결과, 청색 단일광 조건에서는 1,295개와 1,598개의 유전자들이 각각 발현 증가 및 감소하였고 혼합광 조건에서는 각각 11개와 8개의 유전자가 각각 발현 증가 및 감소하였다(Table 2). 형광등과 청색광 혼합 조건에서 발현 변화를 보인 유전자들의 GO term을 분석한 후 FDR 값이 0.05이하인 GO term을 추출한 결과 십자화과에 다량 함유되어 있다고 알려진(Kim 2004) 글루코시놀레이트 합성 기작에 관여하는 유전자가 19개 유전자 중 3개 있음을 확인하였다(Table 3). 마이크로어레이 데이터베이스의 염기서열 번호(SEC ID)로 Bra026058, Bra029355, Bra034180 유전자는 각각 글루코시놀레이트 합성에 관여하는 유전자 AT1G16410 (CYP79F1), AT5G23010 (MAM1), AT4G03050 (AOP3) 유전자로 확인되었다(Table 4). 이들 유전자는 청색 단일광에서는 발현이 감소되었으나(각각 -3.3, -5.3, -6.4배) 청색과 형광등 혼합 조건에서는 각각 4.4, 4.6, 3.6 배 발현이 증가하였다(그림 3A). 식물은 기질의 산화를 저해하거나 지연시켜 노화를 방지하는 항산화제(Halliwell 1997)나 암의 발생을 억제하는 항암 물질의 천연 자원이다(Osawa et al. 1992). 이들 식물화학물질들(phytochemicals)

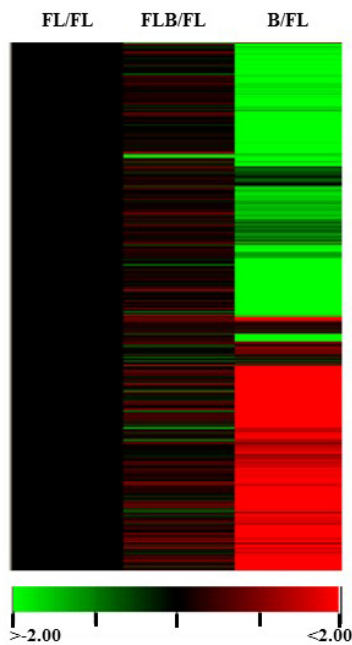


Fig. 2 Overview of light-regulated genome expression by cluster display: Hierarchical clustering analysis was performed with genes up or down regulated twofold above by light condition in each light quality. Genes with a P Value below 0.05 were collected. For hierarchical clustering analysis, we used average log₂ ratios. The color scales are shown below. Positive numbers represent gene up-regulation (red color) and negative numbers represent gene down-regulation (green color). Expressed genes in 7 day old seedlings of *B. rapa*, after 24 hour treatment with light conditions of: fluorescent light (FL), fluorescent + blue light (FLB) and blue light alone (B) were compared to fluorescent light (FL). FL/FL, continuous fluorescent light versus fluorescent light; FLB/FL, continuous fluorescent + blue light versus fluorescent light; B/FL, continuous blue light versus fluorescent light

Table 1 Light regulated Gene expression changes: Summary showed up-regulated and down-regulated gene expression, beyond twofold, by each light condition (P Value < 0.05). Expressed genes in 7 day old seedlings of *B. rapa*, after 24 hours of light condition treatment, (continuous fluorescent light (FL), blue (B), and fluorescent + blue light (FLB)) for 24 hours were compared to fluorescent light (FL)

Sample set	Up regulation	Down regulation	Total significant genes
B/FL ^z	1,513	1,789	3,302
FLB/FL ^y	12	10	22

^zblue light versus fluorescent light(FL).

^yblue light + fluorescent light versus fluorescent light(FL).

Table 2 GO analysis of genes significantly regulated by light conditions. The number of *B. rapa* genes which have orthologs in Arabidopsis TAIR9 were calculated. With a False Discovery Rate < 0.05, Gominer categorized each gene according to mode of gene expression, either up- or down- regulated

Sample set	Up regulation	Down regulation	Total significant genes
B/FL ^z	1,295	1,598	2,893
FLB/FL ^y	11	8	19

^zblue light versus fluorescent light (FL).

^yblue light + fluorescent light versus fluorescent light (FL).

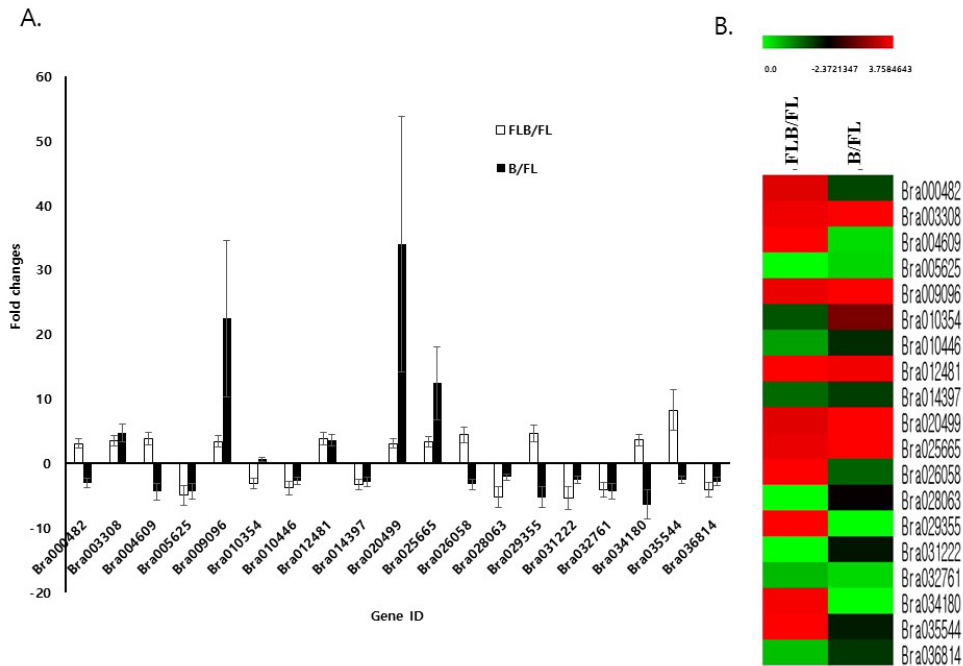


Fig. 3 Gene expression in *B. rapa* seedlings under blue light mixed conditions. We screened the gene change under Fluorescent + blue light (FLB) conditions compared with Fluorescent light (FL) conditions. Genes changes in response to FLB/FL are shown in the graph with those in response to B/FL (blue light (B) compared with fluorescent light (FL)) (A). White and black indicate FLB/FL and B/FL, respectively. Error bars were calculated by two replicates in microarray data. Hierarchical clustering analysis was performed with genes up or down regulated by both light conditions, FLB and B (B). Genes with a P Value below 0.05 were collected. For hierarchical clustering analysis, we used average log₂ ratios. The color scales are shown at the top. Positive numbers represent up-regulation (red color) and negative numbers represent down-regulation (green color). We clustered the data using KMC analysis of MeV4.8 (MultiExperiment Viewer : <http://www.tm4.org/mev.html>) program

Table 3 GO term enrichment analysis of genes regulated by light conditions in each light combination. GO term enrichments were calculated with AgriGO (Zhou et al., 2003; <http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO/index.php>). The 37,767 genes were used as total gene set in the AgriGO web-site for Arabidopsis. Analysis was performed to compare FL to FLB. AgriGO categorized each gene according to their GO terms, biological processes, cellular components, and molecular functions. We submitted 19 genes that were up-or down-regulated by FLB conditions compared to FL and collected GO terms with FDR less than 0.05

GO term	Ontology	Description	Number in input list	P Value	FDR
GO:0019758	P	glucosinolate biosynthetic process	3	1.40E-06	5.40E-05
GO:0016144	P	S-glycoside biosynthetic process	3	1.40E-06	5.40E-05
GO:0019761	P	glucosinolate biosynthetic process	3	1.40E-06	5.40E-05
GO:0019757	P	glucosinolate metabolic process	3	4.60E-06	8.80E-05
GO:0019760	P	glucosinolate metabolic process	3	4.60E-06	8.80E-05
GO:0016143	P	S-glycoside metabolic process	3	4.60E-06	8.80E-05
GO:0016138	P	glycoside biosynthetic process	3	9.30E-06	0.00015
GO:0016137	P	glycoside metabolic process	3	2.10E-05	0.0003
GO:0044272	P	sulfur compound biosynthetic process	3	2.80E-05	0.00035
GO:0034637	P	cellular carbohydrate biosynthetic process	3	9.70E-05	0.0011
GO:0006790	P	sulfur metabolic process	3	0.00018	0.0019
GO:0016051	P	carbohydrate biosynthetic process	4	0.00036	0.0034
GO:0005975	P	carbohydrate metabolic process	3	0.00082	0.0073
GO:0044262	P	cellular carbohydrate metabolic process	3	0.0012	0.0095
GO:0019748	P	secondary metabolic process	3	0.0018	0.014

Table 4 List of genes used in RT-PCR analysis. Putative genes related to the glucosinolate pathway were screened in the *B. rapa* gene chip database of GGBio (<http://www.ggbio.com/>)

SEQ_ID	<i>A.thaliana</i> homologue	Annotation	Forward primer 5'-3'
			Reverse primer 5'-3'
Bra026058	AT1G16410	“CYP79F1, BUS1, SPS1; CYP79F1 (CYTOCHROME P450 79F1); oxidoreductase, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen, NADH or NADPH as one donor, and incorporation of one atom of oxygen”	5'-TCGTCAAGATACCACCCTCG-3' 5'-ACGACACGAAACGCAATTCA-3'
Bra029355	AT5G23010	“MAM1, IMS3; MAM1 (METHYLTHIOALKYLMALATE SYNTHASE 1); 2-isopropylmalate synthase/methylthioalkylmalate synthase”	5'-CGAACAAGCTCCCAGACAAG-3' 5'-GGCGATGGTTTGGATGGTTT-3'
Bra022448	AT3G19710	BCAT4; branched-chain aminotransferase4	5'-CCGGGGAGAGGAACATTGTA-3' 5'-CACTTGAAAAGCACGACGA-3'
Bra024634	AT1G24100	UGT74B1; UDP-glucosyl transferase 74B1	5'-CGAATCCTTCAAGTCTCCACG-3' 5'-GAAGGACAGAGCAAACGGTG-3'
Bra015379	AT1G05000	STSa; Phosphotyrosine protein phosphatases superfamily	5'-CTGACAAGTTCACCACCACG-3' 5'-TTAGCCGGATCAGGAATCC-3'
Bra021429	AT3G02580	FMGSOX1/ STE1, DWF7, BUL1; sterol 1	5'-CCGCATTTCTCCAGACATG-3' 5'-AGCAGAGTGACCAAGGCAT-3'
Bra034180	AT4G03050	AOP3; 2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein	5'-AACTGCTACGCCCTGATTGT-3' 5'-TCATCAGTCGCAAACGGTAA-3'

의 조성은 식물의 품종과 재배 동안의 다양한 환경 요인에 따라 달라지는데 그 중 광은 매우 중요한 요인 중 하나이다(Kopsell and Kopsell 2008). 적상추의 이식 후 초기 유묘의 활착 동안 청색광을 조사하게 되면 생장이 좋아지고 카로티노이드와 같은 항산화물질이 증가한다(Johkan et al. 2010). 또한 Lee et al. (2010)은 보리 잎 추출물의 ABTS (diammonium salts) radical-scavenging 활성이 청색광 조사 조건에서 가장 높았음을 확인하여 항산화제의 합성에 청색광이 유리한 조건임을 증명하였다. 본 실험에서 청색광 단독 조건은 글루코시놀레이트 합성 유전자의 발현을 억제하였으나 식물의 재배에 널리 이용되고 있는 형광등에 청색광을 혼합한 조건은 합성 기작에 관여하는 유전자의 발현을 유도할 수 있음을 확인하였다.

다양한 혼합광 조건과 글루코시놀레이트 합성 유전자의 발현 변화

마이크로어레이 데이터를 분석하여 청색광 혼합 조건에서 발현이 현저히 증가하는 것으로 확인된 Bra026058, Bra029355, Bra034180 외에서도 글루코시놀레이트 합성 유전자의 배추 제늄 내 이중상동유전자를 마이크로어레이 데이터베이스에서 추출하였다(GGBio). Bra024634 (At1g24100; UGT74B1), Bra022448 (At3g19710; BCAT4),

Bra015379 (At1g74100; ST5a) 및 Bra021429 (AT1G65860; FMO_{GS-ox1}) 4개 유전자를 더 선발하여 다양한 혼합광 조건에서의 발현 변화를 함께 살펴 보았다. 광 조건은 형광등과 형광등에 LED 전구로 적색(FLR), 녹색(FLG), 청색(FLB)을 각각 혼합하여 처리하였고, 또한 광질의 효과가 유묘의 성장 단계에 따라 달라지는지의 여부를 조사하기 위해 각각 4일과 11일 동안 동일한 형광등 조건에서 자란 유묘를 2일간 암배양하여 4가지 광 조건에 24시간 노출시킨 후 유묘의 지상부 내 유전자 발현량을 분석하였다.

마이크로어레이 분석을 통해 형광등과 청색 혼합광 조건에서 발현이 4.4배 증가한 것으로 확인되었던 Bra026058는 7일 유묘에서는 FL 조건과 비교하여 발현량이 38배나 증가함을 보였는데 이는 FLR에서 4.8 및 FLG에서 7.8배 발현이 증가한 것과 비교하여 현저히 큰 차이를 보였다. 그러나 14일된 유묘에서는 광조건 간에 유전자 발현 차이를 보이지 않았다(Fig. 4 and Fig. 5A). 또한 Bra029355와 Bra034180 두 유전자는 7일 유묘에서 FLB 조건에서의 발현량 보다 FLR 조건에서 발현량이 더 많았다(Fig. 4, Figs. 5B and 5C). 특히 Bra029355는 FL 조건보다 6배, FLB 조건과 비교하여 4배의 발현 증가를 보였다. 데이터베이스에서 따로 선발하였던 Bra022448과 Bra024634는 각각 7일과 14일 유묘에서 6.5배, 1.2배 FLR 조건에 반응하여 발현량이 증가하였으며(Fig. 4, Fig. 5D and 5E), Bra015379와

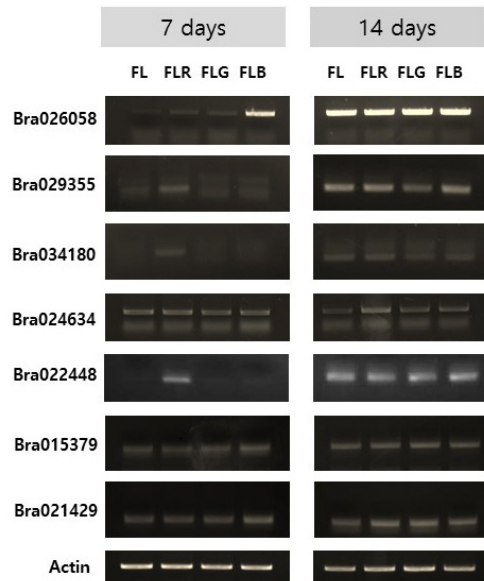


Fig. 4 RT-PCR analysis of genes expressed in *Brassica rapa* under different light conditions: Genes (listed in Table 4) were analyzed by reverse-transcript (RT) PCR. RT-PCR products for up-regulated genes in *Brassica rapa* under four light conditions: fluorescent light (FL), fluorescent + red light (FLR), fluorescent + green light (FLG), fluorescent + blue light (FLB) were loaded in 1% agarose gel and electrophoresis carried out

Bra021429는 각각 7일 유묘에서 1.3배과 14일 유묘에서 1.4배 FLB 조건에 반응하여 발현량이 더 많았다(Fig. 4, Figs. 5F and 5G). 애기장대 CYP79F와 MAM1 유전자는 암 상태에서는 발현이 줄었다가 광에 노출이 되면 직접적으로 발현이 증가하는 유전자이다(Huseby et al. 2013). CYP79F1와 MAM1 유전자의 이중상동서열인 Bra026058와 Bra029355 역시 2일간의 암배양 후 광에 노출되면서 발현이 증가하였으며 각각 FLB와 FLR 조건에서 발현이 증가한 것으로 보아 각각의 유전자에 영향을 주는 광질이 서로 다를 수 있음을 보여 주었다. 알리페틱 글루코시놀레이트의 초기 단계에서 사슬연장(chain elongation)의 촉매 효소인 MAM1과 산화를 통해 핵심구조(core structure)를 형성하는 P450 효소 중 하나인 CYP79F1 유전자(Zang et al. 2009)의 상동 유전자가 각각 다른 광 조건에 의해 발현이 유도되었다는 본 연구의 결과는 청색광과 적색광을 적절히 보광하여 배추 유묘 내 글루코시놀레이트 합성을 촉진시킬 수 있음을 보여주었다. 녹색광을 혼합한 조건인 FLG에서는 다른 광 조건과 비교하여 특이적인 변화를 보이지 않았다. 이전의 결과를 보면 고압나트륨램프(HPS)에 LED 광을 보광하여 비타민 C, 페놀화합물, 카로티노이드와 같은 항산화물질의 합성을 촉진함으로써 새

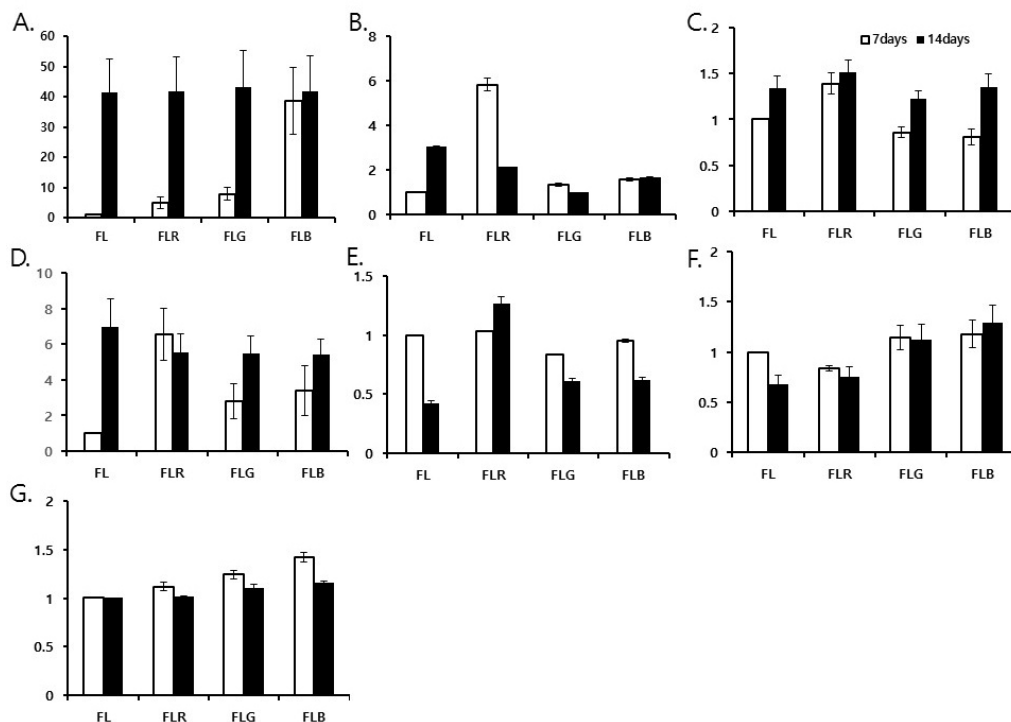


Fig. 5 Quantitative PCR analysis of *Brassica rapa* genes expressed by different light conditions: Genes listed in Table 4 were quantitatively analyzed by real-time PCR. Quantitative RT-PCR of mRNA regulated by four light conditions: fluorescent light (FL), fluorescent + red light (FLR), fluorescent + green light (FLG), and fluorescent + blue light (FLB). qRT-PCR was performed on: Bra026058 (A), Bra029355 (B), Bra034180 (C), Bra022448 (D), Bra024634 (E), Bra015379 (F), and Bra021429 (G) with three technical replications using the Bio-Rad system and the SYBR Green I master mix in a 20ul volume. White and black indicate 7 and 14 day old *B. rapa* seedlings, respectively. Error bars were calculated from three replicates of experiments

싹의 영양성분을 향상시켰다(Urbonavičiūtė et al. 2009). 또한 적색광과 청색광을 단독으로 사용하는 것보다 혼합하여 조사함으로써 인도고무나무의 체내 전분함량을 증가시켰으며, 청색광을 단독으로 사용하는 것 보다는 적색광과의 혼합을 통해 항산화물질 생산을 더 촉진시킬 수 있었다(Heo et al. 2010; Johkan et al. 2010). 광질은 식물의 성장과 체내 물질의 조성을 조절하는 가장 중요한 환경 신호이다(Shiga et al. 2009). 특히 청색광은 식물체 내 플라보노이드와 안토시아닌의 축적을 유도하며(Ebisawa et al. 2008; Kojima et al. 2010) 비타민 C와 E의 함량을 증가시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Awad et al. 2001). 본 연구에서는 형광등에 청색광과 적색광을 보광함으로써 글루코시놀레이트 합성에 관여하는 유전자들의 발현이 다양하게 변화하는 것을 관찰하였다. 이러한 결과는 실제 재배에 청색광과 적색광을 적절히 혼용해 보광하거나 생육 시기별로 광질을 재배함으로써 배추 유묘 내 글루코시놀레이트를 비롯한 유용한 영양 성분을 효율적으로 축적시킬 수 있는데 응용할 수 있을 것이다. 또한 식물의 생육 시기나 대사물의 합성기작에 따라 보광의 효과를 높일 수 있는 광질이 다를 수 있음을 시사하였으며 글루코시놀레이트의 합성 단계 및 생육시기에 맞춰 물질의 생산 효율을 더 높일 수 있는 광질 조합을 구체적으로 구현할 수 있는 실험이 필요할 것으로 사료된다.

글루코시놀레이트 함량 분석

광질의 효과가 배추 유묘의 글루코시놀레이트 함량에도 실제로 영향을 주지는 알아보기 위해 형광등, 형광등과

적색광 혼합, 형광등과 청색광 혼합 조건에서 생육한 7일 유묘를 수확하여 UPLC 분석을 수행하였다. 분석에 사용한 스탠다드 글루코시놀레이트는 프로고이트린(progoitrin:pro), 글루코라파닌(glucoraphanin: rapha), 글루코나핀(gluconapin: napin), 글루코브라시카나핀(glucobrassicinapin: canapin) 글루코브라시신(glucobrassicin: brass), 글루코나스투르틴(gluconasturtin: nastur) 총 6가지이고 이 중 글루코브라시신은 인돌 글루토시놀레이트(indolic glucosinolate)이고, 다른 5종은 모두 알리페틱 글루코시놀레이트(aliphatic glucosinolate)에 속한다. 글루코시놀레이트 합성 기작에 관여하는 유전자 발현 실험에 이용되었던 지부 품종은 글루코시놀레이트 함량이 비교적 적은 품종으로, 본 실험의 결과에서 프로고이트린의 대사량이 청색 혼합광 조건에서 증가하였고 글루코나핀의 경우 적색 혼합광에서 증가한 듯 보이나 큰 변화를 관찰할 수 없었다(Fig. 6A). 또한 글루코시놀레이트 함량이 적은 품종으로 알려진 Tsao Huang Pa 역시 글루코나핀은 적색 혼합광에서 약간 증가하였지만 다른 종류의 글루코시놀레이트는 광질과 무관하게 생산되었다(Fig. 6B). 상대적으로 글루코시놀레이트 함량이 많은 것으로 알려진 BP79배추의 경우 프로고이트린을 비롯하여 분석에 사용된 6종의 글루코시놀레이트가 모두 청색 혼합광에서 증가하였다. 특히 발암 물질을 억제하는 아이소싸이오사이아네이트(isothiocyanate)의 전구체로 알려진 글루코나핀 (Padilla et al. 2007)의 경우 적색 혼합광 조건과 비교하여 청색 혼합광 조건에서 함량이 1.2 배 증가하였다. 또한 광범위한 암 억제 효과를 가지며 식물의 방어 기작에도 관여(Brew et al. 2009; Pedras et al. 2006) 하는 것으로 알려진 글루코브라시신은 0.019 μM/

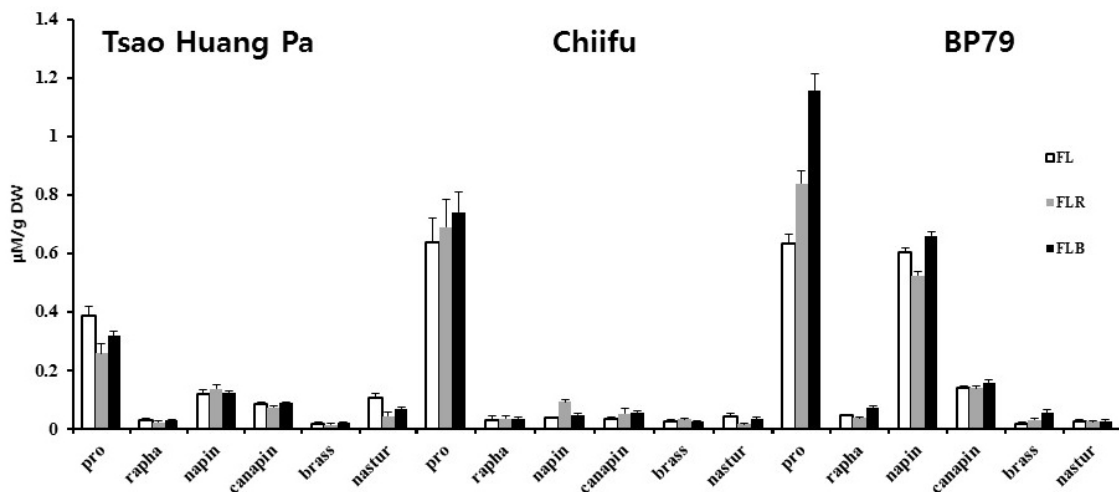


Fig. 6 Glucosinolate contents in three Chinese cabbage varieties: Tsao Huang Pa, Chiifu, and BP79. The seedlings were grown for 7 days. After they were cultured for four days under fluorescent light and 2 days in the dark, they were treated for 24 hrs under three light conditions. The white, gray, and black bars indicate fluorescent light (FL), fluorescent + red light (FLR), and fluorescent + blue light (FLB), respectively. The names of glucosinolate trivial were written by abbreviation: pro, progoitrin; rapha, glucoraphanin; napin, gluconapin; canapin, glucobrassicinapin; brass, glucobrassicin; nastur, gluconasturtin

gDW였던 형광등 조건에서 보다 적색 혼합광과 청색 혼합광 조건에서 함량이 각각 0.03과 0.055 $\mu\text{M/gDW}$ 로 2배와 3배 증가하였다(Fig. 6)

본 실험은 배추 유묘의 초기 생육 동안 2차 대사산물 합성에 영향을 주는 것으로 알려진 청색광과 적색광을 형광등에 혼합한 조건이 배추의 유용성분인 글루코시놀레이트 대사에 영향을 줄 수 있음을 유전자 발현과 물질을 분석을 통해 증명하였다. 온실이나 식물 공장에서 주, 조보 광원으로 이용이 늘고 있는 LED 광원은 다양한 파장의 광을 선택적으로 이용할 수 있다. 이러한 LED의 특성을 이용하여 식물의 생육단계와 목적하는 대사물의 생산 시기에 맞춰 관련 유전자들의 발현을 향상시킬 수 있는 광질과 조사 시기 및 조사량에 대한 실험은 광원을 효율적으로 이용하고 작물의 기능성을 향상시키는 시설 조건을 마련하는데 기초 자료를 제공할 수 있다. 또한 김치의 원료로만 이용되었던 배추 유묘의 글루코시놀레이트의 함량을 조절하여 기능성 식품소재로서 이용 범위를 넓힐 수 있는 가능성을 제시하였다. 글루코시놀레이트 생합성은 광에 의해 조절되는 황산동화(sulphate assimilation) 작용의 영향을 받으므로 밤보다는 낮 시간에 대사산물의 양이 많으며(Huseby et al. 2013), 황산동화에 관여하는 유전자와 함께 글루코시놀레이트 합성 유전자들이 광에 의해 조절을 받는다는 보고가 있다. 광질과 함께 일일단위의 광 조사 주기와 각 대사 단계별 영향 및 대사산물의 양에 관한 상관관계에 대한 연구 역시 필요하며 이러한 연구는 인공광을 이용하여 유묘를 생육하는 시설에서 광원을 효율적으로 이용하면서 기능적으로 우수한 작물을 생산하는 조건을 조성하는데 유용한 기초 자료가 될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 연구과제(과제번호: PJ01002502)와 차세대바이오그린 21사업(PJ01106902)의 지원에 의해 수행되었음.

적 요

농업에서의 LED는 단지 광을 보충해주는 역할로만 이용되는 것뿐 아니라, 시설 재배 시스템에 있어 매우 중요한 주광원이다. 인공광을 이용한 시설재배에서 주광인 형광등에 다양한 파장의 광질을 혼합하여 식물의 생육 및 대사를 증진시키는 시도가 있어 왔다. 주광인 형광등에 청색광을 혼합한 조건과 청색 단독광 조건을 배추 유묘에 조사한 후 마이크로어레이 분석을 수행한 결과 배추 속

작물의 기능성 물질로 주목을 받고 있는 글루코시놀레이트 합성에 관여하는 일부 유전자들 중 청색 혼합광 조건에서 3.6-4.6배는 증가 하는 유전자 3개를 찾을 수 있었다. 글루코시놀레이트 합성 유전자를 배추 데이터베이스에서 더 선별하여 적, 녹, 청색광을 형광등에 각각 혼합한 조건에 반응하여 발현이 변하는지 관찰하였는데 청색광 혼합 조건뿐만아니라 적색광 혼합 조건에서도 발현이 증가하는 유전자들이 있었다. 각각 애기장대 CYP79F1, ST5a, FMOGS-OX1와 이중상동 유전자인 Bra026058, Bra015379와 Bra021429는 청색광 조건에서 발현량이 증가하였으나 MAM1, AOP3, UGT74B1, BCAT4의 이중상동유전자인 Bra029355, Bra034180, Bra024634, Bra022448은 청색광 보다 적색 혼합광 조건에서 발현이 증가하였다. 혼합광 처리에 의한 글루코시놀레이트 합성의 효과는 배추 품종에 따라 차이를 보였으나 몇가지 글루코시놀레이트가 청색광을 혼합한 조건에서 합성이 증가하였다. 이러한 결과는 유묘의 생육 시설에서 기능적으로 우수한 작물을 생산하는 인공광 조건을 조성하는데 유용한 기초 자료가 될 것으로 사료된다.

References

- An CG, Hwang YH, An JU, Yoon HS, Chang YH, Shon GM, Hwang SJ (2011) Effect of LEDs (Light Emitting Diodes) irradiation on growth of paprika (*Capsicum annum* 'Cupra'). *J Bio-Env Cont* 20:253-257
- Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G (2000) Gene ontology: tool for the unification of biology. *The Gene Ontology Consortium. Nat Genet* 25:25-29
- Awad MA, Wagenmakers PS, Jager AD (2001) Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. *Sci Hort* 88:289-298
- Brew CT, Aronchik I, Kosco K, McCammon J, Bjeldanes LF, Firestone GL (2009) Indole-3-carbinol inhibits MDA-MB-231 breast cancer cell motility and induces stress fibers and focal adhesion formation by activation of Rho kinase activity. *Int J Cancer* 124:2294-2302
- Butler WL, Siegelman HW, Miller CO (1964) Denaturation of phytochrome. *Biochem* 3:851-857
- Cha YS, Oh SH (2000) Investigation of gamma-aminobutyric acid in Chinese cabbage and effects of the cabbage diets on lipid metabolism and liver function of rats administered with ethanol. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29:500-505
- Cho JA, Son DM, Kim JM, Seo BS, Yan SY, Kim BW, Heo BG (2008) Effects of LEDs on the germination, growth and physiological activities of amaranth sprouts. *Kor J Hort Sci Technol* 26:106-112

- Choi MK, Baek GY, Kwon SJ, Yoon YC, Kim HT (2014) Effect of LED light wavelength on lettuce growth, vitamin C and anthocyanin contents. *Protected Hort and Plant Factory* 23:19-25
- Du Z, Zhou X, Ling Y, Zhang Z, Su Z (2010) agriGO: a GO analysis toolkit for the agricultural community. *Nucleic Acids Res* 38:W64-W70
- Ebisawa M, Shoji K, Kato M, Shimomura K, Goto F, Yoshihara T (2008) Supplementary ultraviolet radiation B together with blue light at night increased quercetin content and flavonol synthase gene expression in leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Environ Control Biol* 46:1-11
- Faulkner K, Mithen R, Williamson G (1998) Selective increase of the potential anticarcinogen 4-methylsulphinybutyl glucosinolate in broccoli. *Carcinogenesis* 19:605-609
- Halliwel B (1997) Antioxidants: the basics-what they are and how to evaluate them. *Adv Pharmacol* 38:3-20
- Hangarter RP (1997) Gravity, light and plant form. *Plant Cell Environ* 20:796-800
- Heo JW, Lee YB, Kim DE, Chang YS, Chun C (2010) Effects of supplementary LED lighting on growth and biochemical parameters in *Dieffenbachia amoena* ‘Camella’ and *Ficus elastica* ‘Melany’. *Kor J Hort Sci Technol* 28:51-58
- Huseby S, Koprivova A, Lee BR, Saha S, Mithen R, Wold AB, Bengtsson GB, Kopriva S (2013) Diurnal and light regulation of sulphur assimilation and glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *J Exp Bot* 64:1039-1048
- Hwang MK, Huh CS, Seo YJ (2004) Optic characteristics comparison and analysis of SMD type Y/G/W HB LED. *J Kor Ins Illumin Electric Install Eng* 18:51-21
- Irizary RA, Bolstad BM, Collin F, Cope LM, Hobbs B, Speed TP (2003) Summaries of Affimetrix GeneChip probe level data. *Nucleic Acids Res* 31:e15
- Johkan M, Shoji K, Goto F, Hashida S, Yoshihara T (2010) Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *Hortscience* 45:1809-1814
- Kim JA, Kim JS, Hong JK, Lee YH, Choi BS, Seol YJ, Jeon CH (2012) Comparative mapping, genomic structure, and expression analysis of eight pseudo-response regulator genes in *Brassica rapa*. *Mol Genet Genomics* 287:373-388
- Kim JA, Lee YH, Hong JK, Hong SC, Lee SI, Choi SG, Moon YS, Koo BS (2013) Effects of light quality using LEDs on expression patterns in *Brassica rapa* seedlings. *Kor J Hort Sci Technol* 31:607-616
- Kim JK, Chu SM, Kim SJ, Lee DJ, Lee SY, Lim SH, Ha SH, Kweon SJ, Cho HS (2010) Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*. *Food Chem* 119:423-428
- Kim JW (2010) Trend and direction for plant factory system. *J Plant Biotechnol* 37:442-455
- Kim MR (2004) Bioactivities of sulfur compounds in cruciferous vegetables. 2004 Annual meeting and international symposium on the current prospects of functional and medical food. Jeju. The Korean Society of FSN. p.150-157
- Klein RM (1979) Reversible effect of green and orange-red radiation on plant cell elongation. *Plant Physiol* 63:114-116
- Kojima M, Nakano Y, Fujii H (2010) Light stimulation triggered expression of genes coding for vacuolar proton-pump enzymes V-ATPase and V-PPase in buckwheat. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:1507-1511
- Kopsell DA, Kopsell DE (2008) Genetic and environmental factors affecting plant lutein/zeaxanthin. *Agro Food Ind Hi-Tech* 19:44-46
- Lee JJ, Lee YM, Shin HD, Jeong YS, Lee MY (2007) Effects of vegetable sprout power mixture on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:965-974
- Lee NY, Lee MJ, Kim YK, Park JC, Park HK, Choi JS, Hyun JN, Kim KJ, Park KH, Ko JK, Kim JG (2010) Effect of light emitting diode radiation on antioxidant activity of barley leaf. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53:685-690
- Lund EK, Smith TK, Clarke RG, Johnson IT (2001) Cell death in the colorectal cancer cell line HT29 in response to glucosinolate metabolites. *J Sci Food Agric* 81:959-961
- Lund JB, Blom TJ, Aaslyng JM (2007) End-of-day lighting with different red/far-red ratios using light-emitting diodes affects plant growth of *Chrysanthemum × morifolium* Ramat. ‘Coral Charm’. *HortScience* 24:1609-1611
- Mun JH, Kim JA, Park SW (2014) Effect of light quality on the glucosinolate pathway in *Brassica rapa* seedling. Konkuk University master's thesis.
- Nagaharu U (1935) Genome analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japan J Bot* 7:389-452
- Okamoto K, Yanagi T, Takita S, Tanaka M, Higuchi T, Ushida Y, Watanabe T (1996) Development of plant growth apparatus using blue and red LED as artificial light source. *Acta Hort* 440:111-116
- Osawa T, Katsuzaki H, Hagiwara H, Hagiwara H, Shibamoto T (1992) A novel antioxidant isolated from young green barley leaves. *J Agric Food Chem* 40:1135-1138
- Padilla G, Carrea M, Velasco P, de Haro A, Ordás A (2007) Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. *Phytochem* 68:4536-4545
- Pedras MSC, Sarwar MG, Suchy M, Adio AM (2006) The phytoalexins from cauliflower, caulilexins A, B and C: Isolation, structure determination, synthesis and antifungal activity. *Phytochem* 67:1503-1509
- Redovniković, IR, Glivetić, T, Delonga, K, Vorkapić-Furač, J (2008) Glucosinolates and their potential role in plant. *Periodicum Biologorum*. 110: 297-309
- Shiga T, Shoji K, Shimada H, Hashida S, Goto F, Yoshihara T (2009) Effect of light quality on rosmarinic acid content and antioxidant activity of sweet basil, *Ocimum basilicum* L. *Plant Biotechnol* 26:255-259
- Smyth GK (2004) Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. *Stat Appl Genet Mol Biol* 3:1-25
- Urbonavičiūtė A, Samuolienė G, Sakalauskienė S, Brazaitytė A, Jankauskienė J, Duchovskis P, Ruzgas V, Stonkus A, Vitta P,

- Žukauskas A, and Tamulaitis G (2009) Effect of flashing amber light on the nutritional quality of green sprouts. *Agronomy Res* 7:761-767
- Wang X, Wang H, Wang J, Sun R, Wu J, Liu S, Bai Y, Mun JH, Bancroft I, Cheong F, Huang S, Li X, Hua W, Wang J, Wang X, Freeling M, Pires JC, Paterson AH, Chalhoub B, Wang B, Hayward A, Sharpe AG, Park BS, Weisshaar B, Liu B, Li B, Liu B, Tong C, Song C, Duran C, Peng C, Geng C, Koh C, Lin C, Edwards D, Mu D, Shen D, Soumpourou E, Li F, Fraser F, Conant G, Lassalle G, King GJ, Bonnema G, Tang H, Wang H, Belcram H, Zhou H, Hirakawa H, Abe H, Guo H, Wang H, Jin H, Parkin IA, Batley J, Kim JS, Just J, Li J, Xu J, Deng J, Kim JA, Li J, Yu J, Meng J, Wang J, Min J, Poulain J, Wang J, Hatakeyama K, Wu K, Wang L, Fang L, Trick M, Links MG, Zhao M, Jin M, Ramchiary N, Drou N, Berkman PJ, Cai Q, Huang Q, Li R, Tabata S, Cheong S, Zhang S, Zhang S, Huang S, Sato S, Sun S, Kwon SJ, Choi SR, Lee TH, Fan W, Zhao X, Tan X, Xu X, Wang Y, Qiu Y, Yin Y, Li Y, Du Y, Liao Y, Lim Y, Narusaka Y, Wang Y, Wang Z, Li Z, Wang Z, Xiong Z, Zhang Z (2011) The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nat Genet* 43:1035-1039
- Whitelam GC, Halliday KJ (2007) Light and plant development. *Annual Plant Reviews*, Volume 30. Blackwell Publishing Ltd. Oxford
- Workman C, Jensen LJ, Jarmer H, Berka R, Gautier L, Nielser, HB, Saxild HH, Nielsen C, Brunak S, Knudsen S (2002) A new non-linear normalization method for reducing variability in DNA microarray experiments. *Genome Biol* 3:1-16
- Zang, YX, Kim HU, Kim JA, Lim MH, Jin M, Lee SC, Kwon SJ, Lee SI, Hong JK, Park TH, Mun JH, Seol YJ, Hong SB, Park BS (2009) Genome-wide identification of glucosinolate synthesis genes in *Brassica rapa*. *FEBS J* 276: 3559–3574
- Zeeberg BR, Feng W, Wang G, Wang MD, Fojo AT, Sunshine M, Narasimhan S, Kane DW, Reinhold WC, Lababidi S, Bussey KJ, Riss J, Barrett JC, Weinstein JN (2003) GoMiner: a resource for biological interpretation of genomic and proteomic data. *Genome Biol* 4:R28