개화시기가 상이한 두 개의 무 계통간 개화유전자 서열변이 분석

김윤성^{1*} · 정원용² · 정선금¹ · 서정팔¹ · 이재용¹ · 조혜선^{2*}

¹농협종묘센터, ²한국생명공학연구원

Sequence Variation Analysis of Flowering-time Genes in Two Radish Lines with Different Flowering Time

Youn-Sung Kim^{1*}, Won-Yong Jung², Sun-Geum Jung¹, Jeong-Pal Seo¹, Jae-Yong Lee¹, and Hye-Sun Cho^{2*}

¹Nong-Hyup Seed, Department of Biotechnology, Anseong, 17558, Korea

²Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Sustainable BioResource Research Center, Daejeon, 34141, Korea

Abstract : It is important for radish to have late flowering characteristics especially in the case of spring and winter cultivars. To understand late flowering characteristics of radish at the molecular level the flowering time genes of two radish lines (NH-JS1 and NH-JS2) with different flowering time were compared by re-sequencing their genomes. There were a total of 872,587 SNPs and 194,637 INDELs between the two lines. The SNP density of each chromosome was relatively uniform throughout, but the region with low SNP density was found at the end of R3 and the middle of R9. To compare the flowering time genes of the two lines, we first looked for the flowering time genes in radish using *Arabidopsis thaliana* flowering time genes. As a result, homologs of radish were found for most flowering time genes, but *FRIGIDA* was not found. Among 224 radish flowering time gene-homologs found, 97 genes showed more than one sequence difference (SNP or INDEL) between the two lines, and 127 genes had no difference. In particular, no sequence differences were found in *FT*, *CO*, and *FLC*, core flowering time control genes. Rs350520 (*FVE*), Rs193800 (*CURLY LEAF*) and Rs255320 (*ATXI*) with more than 100 sequence variations were expected to have a significant effect on flowering time difference between the two lines. These results will be of great help in understanding the flowering timing difference between the two lines at the molecular level.

Keywords : *Raphanus sativus* L., Radish, Flowering time gene, Re-sequencing, SNP

서 언

무(*Raphanus sativus* L.)는 십자화과에 속하는 초본식물로 전세계적으로 식용으로 많이 사용되고 있다. 두꺼운 뿌리뿐만 아니라 잎도 요리 재료로 사용되고 있으며 특히 국내에서는 김치재료로 사용되어 주요 채소작물로 볼 수 있다. 국내 종자매출로 보면 고추에 이어 두 번째로 큰 시장을 형성하고 있다.

무의 게놈은 약 570Mb로 추정되며 그 서열은 2014년 처음 발표되었으나 유전자 구조나 발현 연구에 충분하지 않아서 2015

년에 보강된 서열이 발표되었다(Kitashiba et al. 2014, Mitsui et al. 2015). 2016년에는 Jeong 등이 좀 더 세밀한 형태의 서열결과를 발표하였다 (Jeong et al. 2016). 예상되는 유전자 수는 연구그룹에 따라 다르나 약 46,000~64,000개 일 것으로 추정되고 있다(Mitsui et al. 2015, Jeong et al. 2016, Li et al. 2016).

무는 작형에 따라 봄무, 여름무, 가을무, 월동무 등으로 나뉘어진다. 그 중 봄무와 월동무의 경우 낮은 온도에 노출될 가능성이 높고 저온에 노출된 무는 일찍 개화함으로써 무의 상품성을 떨어뜨린다. 따라서 봄무와 월동무의 경우 만추대 특성을 가지고 있는 것이 중요하다. 무 개화에 대한 분자생물학적 연구는 비교적 최근 들어 연구되기 시작하였다(Park et al. 2015, Jung et al. 2016, Li et al. 2016, Nie et al. 2016a, 2016b, Liu et al. 2017). 대표적인 개화촉진 유전자인 *FLOWERING LOCUS T* (*FT*), *CONSTANS* (*CO*) 등은 무가 생식생장으로 들어서면서 발현

*Corresponding Author (E-mail: yskim0907@naver.com, Tel: Tel: +82-31-8053-8400, Fax: +82-31-8053-8409)

*Corresponding Author (E-mail: hscho@mail.kribb.re.kr, Tel: +82-42-860-4469, Fax: +82-42-861-1759)

(Received on August 23, 2017. Accepted on August 31, 2017.)

이 증가하나 개화억제 유전자인 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* 등은 발현이 감소하였다(Nie et al. 2016a). 또한 춘화처리 시 *FLC* 발현양은 감소하는 반면 *VERNALIZATION INSENSITIVE 3 (VIN3)*, *VERNALIZATION 1 (VRN1)* 등은 발현이 증가하여 애기장대와 상당히 유사하였다 (Jung et al. 2016).

만추대 특성을 가진 계통을 육성하기 위해서는 무의 개화 조절 메커니즘을 이해하는 것과 더불어 만추대 계통과 조추대 계통의 차이를 분자생물학적으로 이해하는 것이 필요하다. 저온 처리 시 만추대 계통은 개화가 빠른 조추대 계통에 비해 개화촉진 유전자의 발현이 낮은 것으로 밝혀졌다(Jung et al. 2016). 특히 *SOC1*의 발현양이 크게 차이 났으며 그 외 춘화처리에 관련된 유전자의 발현도 의미 있게 차이가 났다. 반면 *FLC*와 같은 개화 억제 유전자의 발현양은 오히려 더 높아 두 계통간 개화특성 차이를 잘 설명해 주었다. 만추대 계통은 조추대 계통과 비교했을 때 다수의 개화관련 유전자발현 수준이 다른 것이 밝혀졌고 이는 만추대 계통을 육성하는 것이 어려운 이유를 분자생물학적으로 설명해 주는 결과였다. 본 연구는 이러한 만추대 계통과 조추대 계통의 차이를 보다 세밀하게 연구하기 위해 두 계통을 re-sequencing 하여 게놈 수준에서 개화유전자 차이를 분석하였다. Blast를 통하여 애기장대 개화 유전자와 비교하여 무 개화 유전자를 조사하였으며 두 계통간 개화 유전자 서열을 비교하였다.

재료 및 방법

실험 재료

농협종묘센터에서 보유한 13개 계통에 대해 개화시기를 조사한 후 개화시기가 많이 차이 나는 만추대 1계통(NH-JS1)과 조추대 1계통(NH-JS2)을 선발하여 실험 재료로 사용하였다 (Park et al. 2015).

Re-sequencing

Re-sequencing을 수행하기 위해 무 잎에서 genomic DNA extraction kit(바이오니아, 한국)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. 튜브에 잎 조각과 bead를 같이 넣은 뒤 액체질소로 얼렸다. Tissue Lyzer II(QIAGEN, Germany)로 2분 동안 상온에서 조직을 파쇄한 후 kit내 사용방법에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 아가로스겔 전기영동으로 분해여부를 확인하였다. Re-sequencing은 테라젠바이오(수원, 한국)에 의뢰하여 진행하였으며 일차적인 SNP 및 INDEL 추출 또한

테라젠바이오에서 수행되었다. 얻어진 SNP, INDEL 중 두 계통에서 동형접합성인 것과 depth가 10 이상인 것들만 선발하여 이후 분석에 사용하였다.

무 개화유전자 분석

무 개화유전자를 찾기 위해 애기장대 유전자를 활용하였다. 애기장대 개화유전자 리스트는 독일 막스플랑크 연구소의 George Coupland 박사팀의 리스트 (http://mpipz.mpg.de/14637/Arabidopsis_flowering_genes)를 사용하였다. 그 외 PubMed에서 조사를 통해 애기장대 유전자를 더 확보하였다. 애기장대 유전자 서열은 TAIR 데이터 베이스(<http://www.arabidopsis.org/index.jsp>)에서 확보하였다. 무 개화유전자를 찾기 위해 애기장대 유전자 서열을 무 CDS 데이터 베이스(<http://radish-genome.org>)를 대상으로 blast를 수행하였다. Blast는 local blast(<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/blast+/LATEST/>)를 자체 서버에 설치하여 사용하였다. Blast 결과를 분석하여 애기장대 유전자와 크기가 비슷하고 identity가 65% 이상, E값이 1e-25이하인 유전자를 선발하였다.

두 계통간 개화유전자 서열차이는 R에서 스크립트를 작성하여 re-sequencing 데이터에서 추출하였다. 무 염색체별 SNP 밀도는 1 kb 당 SNP 혹은 INDEL의 수를 re-sequencing 데이터에서 조사하였고 그 결과를 R을 이용하여 나타내었다.

결과 및 고찰

Re-sequencing

무 계통인 NH-JS1과 NH-JS2는 개화시기가 다르다. 25일간 4도씨에서 춘화처리 후 개화시기를 조사해 보면 NH-JS2는 22일째 추대를 하는 반면 NH-JS1은 전혀 추대를 하지 않았다(Park et al. 2015). 이러한 형질의 차이를 DNA 수준에서 조사해 보기 위해 두 계통에 대해 re-sequencing을 수행하였다. NH-JS1은 총 12.3 Gb, NH-JS2는 8.6 Gb 정도 서열정보가 얻어졌으며 총 맵핑율은 54%(NH-JS1)와 80%(NH-JS2) 이었다(Table 1). Mapping depth는 각각 16.7X와 19.2X 였으며clean reads의 비율은 NH-JS1은 87.54%, NH-JS2는 90.64%였다. 얻어진 서열 결과를 이용하여 얻은 NH-JS1과 NH-JS2간 SNP는 총 872,587개였으며 INDEL은 194,637개였다. 염색체별로 보면 SNP는 4만~15만개, INDEL은 1만개~3.5만개로 염색체간 차이가 상당히 컸다(Fig. 1). SNP, INDEL 모두 R3, R7 보다 R4, R5, R6에서 많았다. 이러한 차이는 염색체 크기와 상관성이 있었다.

Table 1. Summary of re-sequencing data from the two radish lines.

Sample name	Total sequenced reads	Mapped reads	Mapping rate (%)	Properly paired reads	Properly paired read rate (%)	Mapping depth (x)
NH-JS1	125,474,936	50,912,880	51	35,254,463	28.6	16.7
NH-JS2	88,805,772	58,578,707	83	36,230,548	42.1	19.2

Fig. 1. Number of sequence variations (SNP and INDEL) in each chromosome. The size of each chromosome (Mb) is shown below the SNP data.

R3(29.1 Mb)와 R7(27.2 Mb)은 비교적 크기가 작은 반면 R4~R6(45.9~53.6 Mb)는 크기가 상대적으로 큰 편이었다. INDEL의 크기를 조사해 본 결과 대부분 2bp이하였으나 20 bp이상인 경우도 853개가 확인되었다. 제일 큰 INDEL은 42 bp 차이가 났다(data not shown).

NH-JS1과 NH-JS2 간의 차이를 좀 더 상세하게 살펴보기

Fig. 2. SNP density map. SNP density was measured as the number of SNP per 1 kb. X axis shows position on chromosomes (kb). Y axis shows the number of SNP in each position. The red boxes show the conserved region between NH-JS1 and NH-JS2 line.

위해 각 염색체별로 SNP 밀도를 조사해 보았다. 평균적으로 1 kb 당 약 2.5개의 SNP가 발견되고 INDEL은 1 kb당 0.56개가 발견되었다. 차이가 나는 지역이 비교적 골고루 분포하고 있으나 차이가 상대적으로 적은 지역도 발견할 수 있었다(Fig. 2). 그 중에서도 특히 R3 끝부분과 R9 중간 부분에서 SNP 밀도가 낮은 지역이 상당히 크게 자리잡고 있었다. 이러한 현상은 수박에

서도 발견되었다. 8개의 수박 계통을 re-sequencing하여 계통간 서열을 비교한 결과 10번, 11번 염색체에서 상당히 넓은 지역에서 서열의 차이가 적은 지역이 발견되었다(Kim et al. 2016). 이러한 보존 지역이 생긴 이유는 확실하지 않으나 이 지역의 SNP나 INDEL은 품종판별용 마커로 사용하기에 적합하지 않다는 것은 알 수 있다. 인간에 의한 선발과정 동안 지속적으로 보존된 지역일 가능성도 있으며 이는 다른 무 계통에서 re-sequencing을 통해 확인 가능할 것이다.

무 개화 유전자

무의 개화유전자를 찾아보기 위해 애기장대 개화유전자를 사용하였다. 독일 막스플랑크 연구소의 George Coupland 박사의 리스트에서 애기장대 개화 유전자리스트를 확보하였다. 이 리스트에 있는 miRNA 및 일부 유전자를 제외하고 총 131개의 개화유전자를 찾을 수 있었다. 찾아진 각 유전자를 무 CDS에 blast를 수행하여 무 homolog를 찾아보았다(Suppl. 1). 그 결과 중 일부를 Table 2에 정리하였다. 개화 조절 핵심유전자 중 일부는 무에서 하나만 있는 경우도 있었으나 일부는 여러 개의 유사한 유전자를 찾을 수 있었다. 이렇게 해서 찾은 무 개화유전자는 총 224개였다. *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1 (SOC1)*의 경우 4개의 유사한 유전자를 찾을 수 있었고 *CO*는 2개, *FT*는 한 개의 유사한 유전자를 찾았다(Table 2). 무는 저온처리 시 개화가 촉진되는데 이와 관련된 *FLC*의 경우 3개가 발견되었다. 이는 기존에 Yi 등이 무에서 3개의 *FLC* 유전자를 찾은 결과와 일치한다(Yi et al. 2014). *FRIGIDA(FRI)*는 chromatin modification factor를 통해서 *FLC* 유전자 발현을 조절한다(Choi et al. 2011). 그러나 특이하게도 *FRI*의 경우는 homolog라고 생각되는 유전자가 하나도 발견되지 않았다. Blast 결과를 보면 *FRI*와 서열 유사성이 있는 유전자가 4개 정도 있는 것으로 보이나 실제 그 결과를 상세히 들여다 보면 유사한 유전자라고 하기는 어려운 것으로 판단되었다. 가장 E값이 낮은 결과를 보인 유전자는 Rs467270(1281 bp)로 *FRI* (945 bp)보다 크기가 약 300 bp 정도 더 길고 실제 유사성이 있는 부분은 이 유전자의 앞 쪽 448 bp에서만 확인되었다. *FRI*쪽에서 보면 *FRI*의 뒤쪽 450bp에서만 유사성이 보였다. 두 번째로 높은 유사성을 보인 유전자(Rs467280, 999 bp)는 *FRI*와 크기가 유사하였다. 그러나 유사성을 보인 부분은 앞쪽 약 500 bp 부분으로 뒤쪽 절반은 유사성이 없어 이 유전자도 *FRI* homolog라고 결론 내리기 어려웠다. 나머지 두 개의 결과도 비슷하였다. 다만 이들 무 유전자들은 다 염기서열을 기반으로 예측된 것으로 유전자예측 프로그램

의 오류가 있을 가능성도 배제할 수 없다. 따라서 무에서 *FRI* homolog가 없다고 단정적으로 말하기는 어렵고 실험적으로 확인해 볼 필요가 있다고 생각된다. 또 다른 가능성으로 무에서는 *FRI* 대신 다른 유전자가 *FLC* 유전자를 조절할 수도 있다고 생각된다.

두 계통간 개화유전자 차이

NH-JS1과 NH-JS2 계통간 개화 유전자 차이를 알아보기 위해 각 개화유전자에서 두 계통의 서열차이를 조사해 보았다. 조사한 모든 개화유전자에서 발견되는 SNP 혹은 INDEL의 수를 Supplementary Table 1에 정리하였다. 또한 일부 유전자의 데이터를 Table 2에 나타내었다. 주요 개화 조절 유전자인 *FT*, *CO*에서는 서열차이가 발견되지 않았다. 또한 *SOC1*은 네 개의 homolog가 찾아졌는데 한 유전자(Rs113920)에서만 서열차이가 확인되었다(Table 2, Fig. 3). 이러한 차이는 exon에서만 보이는 것이 아니고 intron에서도 나타나 유전자 전체적으로 차이를 보이는 것을 알 수 있었다(Fig. 3). NH-JS1과 NH-JS2는 춘화처리 후 개화시기 차이가 많이 나타나 춘화처리 관련 유전자(*FLC*, *VRN1*, *VIN3* 등)의 서열차이도 조사하였다. *VRN1*은 두 개의 유전자가 있는데 그 중 한 개(Rs234830)에서만 SNP가 발견되었다. *VERNALIZATION5(VRN5)*는 하나의 homolog가 있고 이 유전자(Rs241200)에서 SNP가 다수 발견되었다(Fig. 3). 그러나 *FLC*에서는 계통간 서열차이를 전혀 확인할 수 없었다. 한편 *FLC*발현을 조사한 결과를 보면 두 계통에서 발현차이가 확인 되었다(Jung et al. 2016). 또한 서열차이가 전혀 없었던 *SOC1*유전자에서도 계통간 발현차이가 많이 나는 것을 알 수 있었다(Jung et al. 2016). 이러한 발현차이는 프로모터 서열차이 때문에 나타날 가능성이 있으므로 두 계통간 서열차이가 없었던 무 *SOC1*, *FLC* homolog의 프로모터에서 SNP/INDEL의 수를 조사해 보았다. 그 결과 프로모터에서는 서열차이가 없거나 혹은 4개가 발견되어 발현차이는 프로모터의 서열 차이보다는 유전자 발현을 조절하는 상위 전사인자의 차이 때문일 것으로 추정된다.

본 연구로 찾은 무 개화유전자 224개 중 두 계통간 서열차이(SNP 혹은 INDEL)이 한 개 이상 발견되는 유전자는 97개였으며 전혀 차이가 없었던 유전자는 127개였다. 특히 서열차이가 20개 이상 나는 유전자는 43개로 확인되었다. 100개이상 차이가 나는 유전자는 3개였으며 이들은 각각 Rs350520(*FVE*), Rs193800(*CURLY LEAF*), Rs255320(*ATXI*)이었다. 이 유전자들은 두 계통간 개화시기 차이에 많은 영향을 줄 것으로 예상된다.

Table 2. Blast results of *Arabidopsis* flowering time genes against radish genes.

Query (<i>Arabidopsis</i>)	Length (bp)	Sbjct (Radish)	No. of diversity (SNP/INDEL) between JS1 and JS2	Sbjct Chr	Sbjct Length	Identity (%)	E Value
AGL18	1152	Rs375720	41	R7	777	86	0
		Rs332940	0	R6	777	85	0
		Rs262750	24	R5	780	84	0
SOC1	645	Rs364220	0	R6	642	93	0
		Rs364160	0	R6	642	93	0
		Rs113920	84	R3	642	93	0
		Rs210580	0	R4	642	93	0
AGL24	663	Rs056630	0	R2	666	89	0
AP1	771	Rs097510	4	R2	585	93	0
		Rs416700	0	R8	579	79	6E-141
		Rs416660	0	R8	579	79	6E-141
CO	1122	Rs398510	0	R7	1128	81	0
		Rs398520	0	R7	1065	70	1E-152
ELF3	2088	Rs196270	66	R4	1815	76	0
		Rs346270	0	R6	2049	72	0
EMF1	3291	Rs066730	29	R2	2997	74	0
EMF2	1896	Rs465100	38	R9	1839	92	0
		Rs534260	0	R2	1890	87	0
ESD4	1470	Rs164100	4	R4	1347	87	0
		Rs165500	5	R4	1335	87	0
FCA	1518	Rs061670	0	R2	2406	84	0
FLC	591	Rs394120	0	R7	594	88	0
		Rs144350	0	R3	594	86	0
		Rs067530	0	R2	663	74	0
FPA	2577	Rs361990	0	R6	2556	83	0
		Rs264090	0	R5	2610	69	0
FPF1	333	Rs168700	13	R4	333	92	1E-133
		Rs487780	2	R9	327	90	3E-127
		Rs394480	0	R7	330	79	2E-74
FT	528	Rs094390	0	R2	528	88	0
FVE	1524	Rs326180	80	R6	1521	91	0
		Rs350520	117	R6	1488	90	0
		Rs483490	0	R9	1494	88	0
		Rs048390	73	R2	1458	80	0
		Rs483480	0	R9	1002	94	0
FY	1944	Rs142690	0	R3	1977	90	0
GI	3522	Rs018220	0	R1	3537	88	0
LFY	1263	Not found					
LHY	1938	Rs000160	0	R1	1950	81	0
MAF1,2,3,5	549~618	Rs309680	0	R6	504	86	4E-148
		Rs309690	0	R6	600	80	5E-102
		Rs309700	1	R6	570	77	2E-120
VIN3	2221	Rs054070	0	R2	2193	81	0
		Rs135740	0	R3	1650	83	0
VRN2	1708	Rs433400	0	R8	1281	83	0
VRN5	1989	Rs241200	47	R5	1806	80	0
VRN1	1519	Rs302600	0	R6	1032	89	0
		Rs234830	42	R5	1020	86	0

Query (Arabidopsis)	Length (bp)	Sbjct (Radish)	No. of diversity (SNP/INDEL) between JS1 and JS2	Sbjct Chr	Sbjct Length	Identity (%)	E Value
CAL	1033	Not found					
TSF	799	Rs094390	0	R2	528	82	1.00E-149
AGL19	691	Rs429750	50	R8	666	86	0
FRI	945	Not found					
AGL17	684	Rs041710	71	R2	687	80	8.00E-171
FD	858	Rs150720	20	R4	912	76	1.00E-156
		Rs042390	0	R2	684	79	7.00E-135
FLD	2655	Rs287070	0	R5	2685	85	0
FLK	1734	Rs288110	0	R5	1917	84	0
FRL1	1086	Rs015540	9	R1	1071	88	0
		Rs015550	6	R1	1071	87	0
		Rs101650	0	R2	1083	80	0
FUL	729	Rs311800	40	R6	717	92	0
FWA	2061	Rs472990	1	R9	2070	68	8.00E-50
GA2ox1	990	Rs570400	10	R2	963	85	0
		Rs170920	0	R4	984	84	0
GA2ox2	1026	Rs023230	8	R1	1020	88	0
		Rs419290	0	R8	1023	86	0
GA2ox3	1008	Rs357280	82	R6	981	85	0
GA2ox2	1137	Rs092510	0	R2	1140	87	0
		Rs473380	17	R9	1143	87	0
GAI	1602	Rs179530	6	R4	1599	83	0
LD	2862	Rs088510	0	R2	2814	85	0
RGA	1764	Rs493610	0	R9	1758	78	0
SMZ	1041	Rs260480	92	R5	1029	84	0
TEM2	1059	Rs097160	0	R2	1029	79	0
		Rs416970	19	R8	1065	75	0

Fig. 3. Genomic structure and position of SNP/INDEL in each gene. The vertical lines indicate the position of SNP/INDELs. The black boxes and intervening lines indicate exons and introns, respectively.

Fig. 4. Relationship between gene expression ratio (NH-JS1 versus NH-JS2) and number of SNP. Expression ratio of flowering time genes in two radish lines (NH-JS1 and NH-JS2) was obtained from Jung et al. (2016).

SNP와 유전자 발현

유전자발현 수준이 유전자 서열 등에 따라 달라질 수 있다는 것을 고려하면 SNP와 유전자 발현 간의 상당한 연관성이 예상된다. 이를 살펴보기 위해 Jung 등(2016)이 발표한 NH-JS1과 NH-JS2에서의 유전자 발현 수준 비교 결과를 활용하여 두 계통의 개화 유전자 발현 비율과 SNP 수와의 연관성을 조사해 보았다. 그 결과 사실상 관련이 없는 것으로 나왔다(Fig. 4). 오히려 상당수의 유전자에서 발현차이는 보이나 SNP는 전혀 발견되지 않았고 발현차이는 없으나 SNP는 많이 발견되는 경우도 많았다. 인간 leucocyte에서 연구한 결과를 보면 약 25만개의 SNP 중 유전자 발현과 상관성이 있는 것은 약 2,300개 정도였다(Heap et al. 2009). 따라서 대다수의 SNP는 유전자 발현과 관련이 없었으며 이는 본 연구에서 얻어진 결과와 유사하였다.

Yi등은 9개의 무 계통을 대상으로 개화시기를 조사하고 각 계통의 *FLC* 서열의 차이를 살펴보았으나 SNP 수도 적었고 개화시기와 관련된 것을 찾을 수 없었다(Yi et al. 2014). 그러나 *FLC1*과 *FLC3*의 발현은 개화시기와 관련성을 찾을 수 있었다. NH-JS1과 NH-JS2에서도 *FLC* 유전자 내에서 SNP가 발견되지 않지만 발현차이는 확인되었다(Park et al. 2015). 이는 *FLC* 상위 조절 유전자 활성이나 발현량의 차이로 인한 것으로 추정된다.

적 요

무는 저온처리 시 개화가 촉진되는 작물로 봄과 겨울에 재배되는 품종의 경우 만추대 특성을 가지는 것이 중요하다. 무 만추대

특성을 연구하기 위해 개화시기가 상이한 두 무 계통(NH-JS1과 NH-JS2)을 선택하여 re-sequencing을 수행하였고 두 계통간 개화유전자 서열차이를 분석하였다. 두 계통간 SNP는 총 872,587개였으며 INDEL은 194,637개였다. 각 염색체별로 SNP 밀도를 조사해 본 결과 전체적으로 비교적 골고루 분포하고 있으나 R3 끝부분과 R9 중간 부분에서 SNP 밀도가 낮은 지역이 상당히 크게 자리잡고 있었다. 두 계통의 개화유전자를 비교하기 위해 무 개화유전자를 먼저 찾아보았다. 무 개화유전자는 애기장대 개화유전자를 이용하여 조사하였으며 그 결과 대부분의 개화 유전자에 대해 무의 homolog를 찾을 수 있었으나 *FRIGIDA*는 찾을 수 없었다. 찾아진 무 개화유전자 224개 중 두 계통간 서열차이(SNP 혹은 INDEL)가 한 개 이상인 유전자는 97개였으며 전혀 차이가 없었던 유전자는 127개였다. 특히 핵심 개화조절 유전자인 *FT*, *CO*, *FLC*에서는 서열차이가 발견되지 않았다. Rs35020 (*FVE*), Rs193800 (*CURLY LEAF*), Rs255320 (*ATXI*)는 서열차이가 100개 이상으로 두 계통간 개화시기 차이에 많은 영향을 줄 것으로 예상되었다. 이러한 연구결과는 두 계통간 개화시기 차이를 분자수준에서 이해하는 데 큰 도움을 줄 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 농생명산업기술개발 사업(과제번호: 114061-03-3-HD020와 116091-03-2-SB010)의 지원으로 수행되었음.

REFERENCES

1. Choi KC, Kim J, Hwang HJ, Kim S, Park C, Kim SY, Lee I. 2011. The FRIGIDA complex activates transcription of FLC, a strong flowering repressor in *Arabidopsis*, by recruiting chromatin modification factors. *Plant Cell* 23: 289-303.
2. Heap GA, Trynka G, Jasen RC, Bruinenberg M, Swertz MA, Dinesen LC, Hunt KA, Wijmenga C, vanHeel DA, et al. 2009. Complex nature of SNP genotype effects on gene expression in primary human leucocytes. *BMC Med Gen* 2: 1-13.
3. Jeong YM, Kim N, Ahn BO, Oh M, Chung WH, Chung H, Heong S, Lim KB, Hwang YJ, et al. 2016. Elucidating the triplicated ancestral genome structure of radish based on chromosome-level comparison with the *Brassica* genomes. *Theor Appl Genet* 129: 1357-72.
4. Jung WY, Park HJ, Lee A, Lee SS, Kim YS, Cho HS. 2016. Identification of flowering related genes responsible for differential expression between two radish inbred lines exhibiting disparate bolting time through comparative transcriptome analysis. *Front Plant Sci* 7: 1844.
5. Kim YS, Ko CS, Yang HB, Kang SC. 2016. Genome-wide analysis of sequence variations in eight inbred watermelon lines. *J Plant Biotech* 43: 164-173.
6. Kitashiba H, Li F, Hirakawa H, Kawanabe T, Zou Z, Hasegawa Y, Tonosaki K, Shirasawa S, Fukushima A, et al. 2014. Draft sequences of the radish (*Raphanus sativus* L.) genome. *DNA Res* 21: 481-90.
7. Li C, Wang Y, Xu L, Nie S, Chen Y, Liang D, Sun X, Karanja BK, Luo X, Liu L. 2016. Genome-wide characterization of the MADS-box gene family in radish (*Raphanus sativus* L.) and assessment of its roles in flowering and floral organogenesis. *Front Plant Sci* 7: 1390.
8. Liu C, Wang S, Xu W, Liu X. 2017. Genome-wide transcriptome profiling of radish (*Raphanus sativus* L.) in response to vernalization. *PLoS One* 12: e0177594
9. Mitsui Y, Shimomura M, Komatsu K, Namiki N, Shibata-Hatta M, Imai M, Katayose Y, Mukai Y, Kanamori H, et al. 2015. The radish genome and comprehensive gene expression profile of tuberous root formation and development. *Sci Rep* 5: 10835.
10. Nie S, Li C, Wang Y, Xu L, Muleke EM, Tang M, Sun X, Liu L. 2016a. Transcriptomic analysis identifies differentially expressed genes (DEGs) associated with bolting and flowering in radish (*Raphanus sativus* L.). *Front Plant Sci* 7: 682.
11. Nie S, Li C, Xu L, Wang Y, Huang D, Muleke EM, Sun X, Xie Y, Liu L. 2016b. De novo transcriptome analysis in radish (*Raphanus sativus* L.) and identification of critical genes involved in bolting and flowering. *BMC Genomics* 17: 389.
12. Park HJ, Chung WY, Lee SS, Lee JW, Kim YS, Cho HS. 2015. Physiological and molecular characterization of two inbred radish lines with different bolting times. *J Plant Biotech* 42: 215-222.
13. Yi G, Park H, Kim JS, Chae WB, Park S, Huh JH. 2014. Identification of three *FLOWERING LOCUS C* genes responsible for vernalization response in radish (*Raphanus sativus* L.). *Hort Environ Biotechnol* 55: 548-556.