

04-3-4

## 고추나물의 RAPD 분석을 통한 유전적 다양성 확보

김선희\*, 김옥태\*, 안준철<sup>1</sup>, 황백\*

\*전남대학교 생물학과, <sup>1</sup>서남대학교 생명과학과

### 목 적

고추나물의 RAPD 분석을 통하여 국내에 자생하고 있는 고추나물의 지리적 분포에 따른 유전적 차이 유무를 규명하고자 하였고, 또 동일 과에 속한 물레나물, St. John's wort와의 비교를 통해 유전적인 다양성과 계통간 근연성을 분석하기 위해 실시하였다.

### 재료 및 방법

공시재료는 지리산과 병풍산에 자생하고 있는 고추나물을 채집하였고, 고추나물과의 비교를 위해 동속인 St. John's wort와 물레나물은 기내 배양된 것을 사용하였다.

고추나물의 DNA 분리는 DNeasy plant Mini kit를 사용하여 수행하였고, PCR 반응은 GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems)을 사용하였다. RAPD를 위한 PCR 반응은 pre-denaturation 95°C 5분, 1 cycle 후, denaturation 95°C 1분, annealing 36°C 1분, extension 72°C 2분으로 총 45 cycle을 시행하였으며 post-extension은 72°C에서 10분 동안 수행하였다. 증폭된 DNA는 EtBr 존재 하에 1.5% Agarose gel에서 전기영동 후 반응물은 UV광선 하에서 사진 촬영하여 분석에 사용하였다. PCR을 위하여 Operon Technologies Inc.로부터 구입한 random primer를 사용하였다.

### 결과 및 고찰

식물의 유전적 유연관계를 평가하는 방법으로 지금까지는 형태적 특성에 근거하여 왔으나 최근에는 분자 수준에서 분석하는 것이 가능하게 되었다. RAPD는 종의 분류와 유연관계, 유전자원 평가, 외래 유전자 도입 확인, 집단유전학의 양적 형질 분석, 유용 유전 형질을 탐지할 수 있는 표지인자 개발 등에 이용되고 있다.

국내에서 자생하고 있는 고추나물은 형태적 다양성이 크고, 명확한 분류체계가 없어서 종을 동정하기에 어려움이 따른다. RAPD 방법을 통해 고추나물의 지리적 분포에 따른 유전적 변이와 유연관계를 조사하였다. 고추나물은 지리산 500m, 1100m, 1300m 고지별로 채집하였고, 병풍산의 고추나물을 채집하여 지리적 위치 차이에 의한 유전적 차이도 알아보았다. 동일 과 식물인 물레나물과 St. John's wort 는 기내 배양 중인 것을 사용하였다.

RAPD를 위해 지리산, 병풍산, 기내배양 중인 물레나물과 St. John's wort 개체로부터 genomic DNA를 분리하였고, Genotech의 10-mer primer 6종(001,006,020,025,026,029)을 선별하고, Operon random primer (10-mer) 20종을 추가로 더 선별하여 PCR을 수행하여 재현성이 있으면서 polymorphism을 보이는 몇 개의 primer를 선별할 수 있었다. 선별된 primer로부터 PCR에 의해 증폭된 DNA의 크기는 4000~250bp이었고, random primer에서 복제된 전체 band의 수는 종간에 많은 차이를 보였으며, band의 유무에 근거한 유연관계 분석에서 지리산에서 채집한 식물종의 고도에 따른 band 차이는 한 두개 정도로 나타났다. 지리산과 병풍산을 비교했을 때는 그보다 더 많은 band 차이를 보였고, 동일 과에 속하는 식물들과는 band 패턴의 차이가 확실하게 나타났다.