

일품벼 유래 당 및 단백질 관련 돌연변이체 선발에 관한 연구

The Study on Selection of Sugar and Protein

Mutant by Ilpumbyeo

원신숙, 양희은, 이용수, 김민정, 박민식, 김민성, 김상무¹, 유왕균¹, 함진관²,
이해익¹, 신영범, 홍순관*

강원대학교 농업생명과학대학 생명공학부 식물생명공학전공, ¹분자생명공학전공

²강원도 춘천시 우두동 강원도농업기술원

*Corresponding author: Tel. 033-250-6476, E-mail. soonkwan@kangwon.ac.kr

연구목적

본 연구에서는 쌀의 밥맛과 영양분에 커다란 영향을 미치는 요인에 해당하는 당 및 단백질 관련 돌연변이체 선발을 간단하고 효율적인 방법을 개발하는 것이 첫 번째 목적이고, 선발된 돌연변이체를 이용하여 "신기능성 쌀"을 육성하여 품종화하는 기초의 계통화가 다음 목적이다.

재료 및 방법

1. 재료: 식물재료는 밥맛이 좋은 것으로 알려진 일품벼에 화학적 돌연변이원(chemical mutagen) 인 MNU를 처리하여 얻어진 M₂ 돌연변이체 2,800계통의 완숙종자를 이용하였다.
2. 방법: 당 및 단백질 함유량이 변이를 보이는 돌연변이 계통의 선발에 측정기계를 이용 그 결과를 수치로 계측하여 나타내는 것은 구체적인 결과물을 제시하는 것에 해당하여 최종적으로 필요한 것이며, 실험 중간적인 단계에는 과정을 간략화 하여 각 반응의 특성이 색과 같이 구분이 빠른 것이 유리하다는 점에 착안하여 각 실험단계를 최소화하고 보다 소량으로 보다 빠르게 분석이 가능한 방법을 개발하고자 하였다.

- 단백질, 전분 및 당 함유량의 변이 계통의 선발 방법 -

Experimental Objective : Low Content of Protein
High Sugar

Low or High Content of Starch (Fiber)

- | | |
|---|---|
| <ol style="list-style-type: none">1) Sample (Subject)
Each Lines of Independently Five Seeds (20㎖)
Homogenization (Hammer)2) Extraction of Ethanol (100%)
Sample (20㎖) + 100% Ethanol (400㎖)
Vortex
4°C Stock O/N3) Centrifugation and Dry of Pellet4) Solution of Supernatant
Experiment of Sugar (Extraction of 70% Ethanol) --> Fig. 1
Check of Anthrone and DNS Methods5) Extraction of Protein in Pellet (Deproteinization)
Treatment of Pepsin (0.1㎖ <10㎖/㎖>, Sigma P-7012)
Incubation (40°C, 60min, pH 1.5)
Deproteinization
Phosphate Buffer (0.05M, pH 7.5) with Protease6) Centrifugation | <ol style="list-style-type: none">7) Solution of Supernatant
Experiment of Proteins (Total Low Protein Mutant Screening) --> Fig. 2
--> Use of Lowry and Bradford Methods8) Gelatinized Pellet
Transfer of pH 7.0 Buffer (Add)
Autoclave 121°C 15psi pressure for 1hr9) Hydrolyse Digestible Starch and Solubilize Resistant Starch
9-1) α-Amylase (1㎖ <40㎖/㎖>, Sigma A-3176)
Incubation (37°C, O/N <16hr>, pH 6.9) --> Maltose --> Fig. 3
9-2) Residues with 2M KOH
9-3) Amyloglucosidase (80㎖ <140U/㎖>, Sigma A-7255)
Incubation (60°C, 45min, pH 4.75) --> Glucose --> Fig. 310) Centrifugation
(This Result is Possible of Low or High Starch Content in Rice Seed)
(The Mean is Same as Digestible Fiber Content in Rice Seed)
Detection of Glucose or Maltose
ON Test of Anthrone and DNS by Supernatant Solution
OFF Test of Anthrone and DNS |
|---|---|

결과 및 고찰

현대의 쌀은 국가적으로 질과 생산량이 요구되지만 소비자는 질에 대한 요구도가 급격히 증가되고 있는 실정이다. 쌀의 질을 높이고자 하는 방향으로 벼의 육종방향이 전환되고 있으며, 쌀의 질적인 개선을 위한 방법으로는 쌀을 구성하는 성분을 인위적으로 변환시키는 것이 될 것이다. 그러나 현실적으로 이러한 조작은 GMO라고 하는 부담감이 있다.

본 연구에서는 기존에 잘 알려진 방법에 해당하는 돌연변이 육종법에서 얻어진 집단으로부터 당(sugar), 단백질(protein) 및 전분(starch)관련 돌연변이체를 보다 효율적으로 선발의 방법을 찾고자 하는 시도를 통하여 얻어진 결과를 정리하였다.

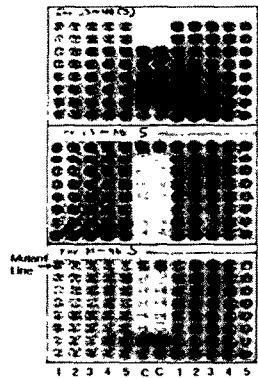


Fig. 1. 당(sucrose) 관련 돌연변이 선발 과정

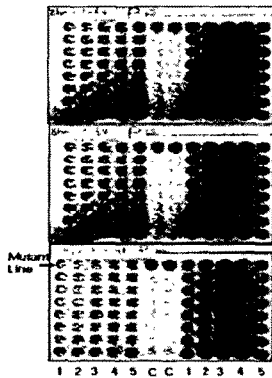


Fig. 2. 단백질(protein) 관련 돌연변이 선발 과정

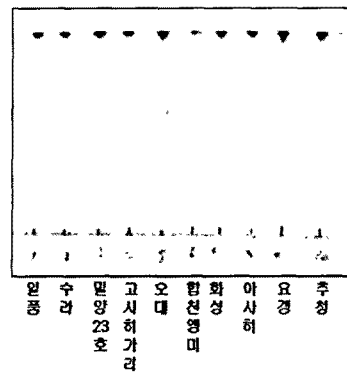


Fig. 3. TLC판을 이용한 재배품종의 당(sucrose) 분석