

213007-  
05-5-CG  
600

양배추  
병저항성  
및  
원예형질  
관련  
분자마커개발

2022

농림축산식품부  
농림식품기술기획평가원

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( )발간등록번호( O )  
**Golden Seed 프로젝트 사업 2단계 최종보고서**

발간등록번호

11-1543000-003935-01

**양배추 병저항성 및 원예형질 관련 분자마커 개발**

2022. 03. 25.

프로젝트연구개발기관 /한국생명공학연구원  
세부프로젝트연구개발기관 / 충남대학교

**농림축산식품부**  
**(전문기관) 농림식품기술기획평가원**

제출문

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “양배추 병저항성 및 원예형질 관련 분자마커 개발”(개발기간 : 2017. 01. ~ 2021. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022년 3월 25일

프로젝트연구개발기관명 : 한국생명공학연구원 (김장성)

세부프로젝트연구개발기관명 : 충남대학교 산학협력단 (정종율)



프로젝트연구책임자 : 김 혜 란

세부프로젝트연구책임자 : 허 윤 강

국가연구개발혁신법 시행령 제33조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	213007-05-5-C G600	해당단계 연구기간	2017.01.01. ~ 2021.12.31.	단계구분	(2단계)/(총2단계)
연구사업명	단위사업	Golden Seed 프로젝트사업			
	사업명	GSP원예종자사업단			
프로젝트명	프로젝트명	양배추 병저항성 및 원예형질 관련 분자마커 개발			
	세부프로젝트명	양배추 주요 병저항성 및 원예형질 연관 분자마커 개발 양배추 엽색, 숙기 및 중/아종 구분 관련 분자마커 개발			
프로젝트책임자	김혜란	해당단계 참여연구원 수	총: 64명 내부: 64명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 1,233,300천원 민간: 천원 계: 1,233,300천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 64명 내부: 64명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 1,233,300천원 민간: 천원 계: 1,233,300천원
연구기관명 및 소속부서명	한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터			참여기업명 해당없음	
국제공동연구	상대국명: 해당없음			상대국 연구기관명: 해당없음	
위탁연구	연구기관명: 순천대학교			연구책임자: 박종인	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물자원	정보	실물
기탁 번호								KBRS201 70927_00 00001			
출원번호		10-2017-00 63460 10-2018-01 06299 10-2018-01 18442 10-2018-01 18697 10-2020-01 19053 10-2021-00 19729 10-2021-00 43117 10-2021-01 35699									
등록번호		10-1724372 10-1836109 10-1987278 10-2086769 10-2110907 10-2051578									
ISSN번호	1598-2254 2223-7747 1300-011X 1229-2818 1976-9571 1471-2229 2211-3460 1976-9571 2073-4395 2073-4395 1976-9571 1976-9571 0721-7714 1573-5060										

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장 비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

<p>양배추 고효율 신속 육종을 위해 양배추의 주요 병저항성 검정법과 병저항성 및 주요 원예형질 연관 분자마커를 개발함</p> <p>○ 양배추 뿌리혹병, 검은썩음병, 둥근무늬병 저항성 관련 유전자 동정 및 분자 마커 개발</p> <p>○ 뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발</p> <p>○ 검은썩음병균 race 4 특이적 마커 개발</p>	<p>보고서 면수 239</p>
---	-----------------------



- 글루코이베린, 프로고이트린, 글루코라파닌, 시니그린, 글루코브라시신 함량 연관 분자마커 개발
- 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 발굴 및 연관 SNP 대량 발굴
- 양배추 유전자 지도 작성 및 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping
- 양배추 글루코시놀레이트 함량 분석법 확립 및 육종 소재 성분 분석 지원
- 열구 관련 분자마커 개발 기반 구축
- *BoMYBL2-1*, *BoLBD37L*, *BoRVE5* 유전자 기반 자색(적)양배추를 구분하는 분자마커 개발
- *BoDFR1*, *BoRVE5* 유전자 기반 저온에서도 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 판별용 마커 개발
- *BoTPPI*, *BoPIF4L* 유전자 기반 내서성 양배추 선발용 분자마커 개발
- *BoCCA1*, *BoCSDP5* 유전자 기반 내한성 양배추 선발용 분자마커

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>경제적이고 효율적으로 양배추의 신품종 개발을 위해 선발 효율을 높이고 신속 정확 육종에 사용될 양배추 주요 병저항성 6점, 원예형질 5점 이상의 분자마커 개발을 목적으로 연구 수행함</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 세균병(뿌리혹병, 검은썩음병) 저항성 연관 분자마커 개발</li> <li>○ 양배추 곰팡이병(등근무늬병) 저항성 연관 분자마커 개발</li> <li>○ 양배추 주요 원예형질 연관 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커</li> <li>- 열구 관련 분자마커 개발</li> <li>- 양배추 엽색 관련 분자마커 개발</li> <li>- 양배추 내한성, 내서성 관련 분자마커 개발</li> </ul> </li> </ul>
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 양배추 뿌리혹병 저항성 QTL 영역에 위치하는 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자 동정, 분자마커 디자인 및 디자인된 분자마커들을 이용한 다형성 확인, 유전자형과 표현형의 일치율 검정</li> <li>- 뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 검은썩음병 저항성 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 검은썩음병 race별 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성</li> <li>- 검은썩음병균 race 4 특이적 마커 개발</li> <li>- 제주도 양배추 재배지역의 검은썩음병균 race 검정</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 등근무늬병 저항성 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 등근무늬병 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성</li> <li>- 양배추 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자들 동정, 분자마커 디자인</li> <li>- 디자인된 분자마커들을 이용하여 다형성 확인 및 유전자형과 표현형의 일치율 검정</li> </ul> </li> <li>○ 전사체, 유전체 및 유전자지도 통합 분석 기반 글루코시놀레이트 함량 관련 주요 유전자 동정 및 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 글루코이베린, 프로그이트린, 글루코라파닌, 시니그린, 글루코브라시신 함량 연관 분자마커 개발</li> <li>- 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 동정 및 연관 SNP 분자마커 대량 발굴</li> <li>- 양배추 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 발굴</li> <li>- 양배추 유전자 지도 작성 및 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping</li> <li>- 양배추 글루코시놀레이트 함량 분석법 확립 및 육종 소재 성분 분석 지원</li> </ul> </li> <li>○ 열구 관련 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 열구 강 및 약 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 작성 및 F<sub>2</sub> 작성</li> <li>- F<sub>2</sub> 집단을 이용한 RAD-seq. 수행 및 분석</li> </ul> </li> <li>○ 자색(적)양배추를 구분하는 분자마커 3건 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>BoMYBL2-1</i> 유전자의 InDel을 이용하여 PCR용 마커</li> <li>- <i>BoLBD37L</i> 유전자의 InDel을 이용한 마커</li> <li>- <i>BoRVE5</i> 유전자의 SNP와 InDel을 이용한 마커</li> </ul> </li> <li>○ 저온에서도 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 판별용 마커 2건 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>BoDFR1</i> 유전자의 SNP를 이용한 마커</li> <li>- <i>BoRVE5</i> 유전자의 SNP와 InDel 이용한 마커</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 내서성 양배추 선발용 분자마커 2건 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>BoTPPI</i> 유전자의 InDel을 이용한 내서성 판별용 마커</li> <li>- <i>BoPIF4L</i> 유전자의 SNP와 InDel을 이용한 내서성 판별용 마커</li> </ul> </li> <li>○ 내한성 양배추 선발용 분자마커 <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>BoCCA1</i> 유전자의 SNP을 활용한 분자마커</li> <li>- <i>BoCSDP5</i> 유전자의 InDel을 이용한 내한성 판별용 분자마커</li> </ul> </li> </ul>				
<p style="text-align: center;">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 병 저항성 및 주요 원예형질 판별 분자마커는 사업단 서비스부분에 이전하여 현장 적용해 왔으며, 사업 종료 후에는 관련 분자마커 서비스 가능 기관에 이전하여 조기 선발, 선발 효율 증진, 정밀 육종을 위해 활용 하고자 함</li> <li>○ 뿌리혹병 균주 특이적 마커, 양배추 검은썩음병균 race 4 동정용 분자마커는 국내 배추과 작물 재배지역의 뿌리혹병, 검은썩음병 균주 판별에 활용할 계획임</li> <li>○ 본 연구개발성과는 육종연한 단축 및 효율적인 소재 탐색 및 신품종 개발 미용 절감 효과가 있을 것으로 사료 됨</li> <li>○ 본 사업에서 도출된 병저항성 및 원예형질 검정법과 분자마커는 고품질의 양배추 품종 개발에 기여하여 고품질 품종육성을 통한 국제 경쟁력, 시장성 확보 및 수출증대 효과를 도출할 것으로 사료 됨</li> <li>○ 분자마커 지원을 통한 국내 육종 효율 향상 및 우수품종 개발을 통해 국내 재배 품종의 국산화율을 높이며 농가 소득에 기여할 것으로 기대 됨</li> </ul>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	뿌리혹병	검은썩음병	글루코시놀레이 트	엽색	내서성
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	Clubroot	Black rot	Glucosinolate	Leaf color	Hot tolerance

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

## < 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	9
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	16
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	225
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	227
붙임. 참고 문헌 .....	228

<별첨 1> 연구개발보고서 초록

<별첨 2> 연구성과 활용계획서

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

경제적이고 효율적으로 고품질 양배추 신품종 개발을 위해 양배추의 주요형질 (주요 병저항성, 주요 원예형질)에 대한 분자마커를 개발하고자 함

- 연구개발의 최종 목표: 양배추 주요 병저항성 6점, 원예형질 5점 이상 분자마커 개발
  - 양배추 세균병 (뿌리혹병, 검은썩음병) 및 곰팡이병 (동근무늬병) 저항성 연관 유전자 동정 및 분자마커 개발
  - 양배추 주요 원예형질 연관 분자마커 개발: 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커, 열구 관련 분자마커, 양배추 엽색 관련 분자마커, 양배추 내한성, 내서성 관련 분자마커

[※연구 개시 후에 당초계획의 속기관련 마커는 종자회사에서 요구도가 낮고, 중/아중 구분 마커는 GSP사업단에서 기 개발 마커가 활용되고 있었기 때문에 필요성이 상실되어, 내재해성 마커 개발로 목표를 전환하였음]

## 1-2. 연구개발의 필요성

가. 양배추는 국내 주요 수출 작물이며, 세계적으로 가장 많이 재배되고 있는 채소작물임

- 양배추는 배추과에 속하는 작물로 잎 부분을 채취하여 식용으로 사용하고 있으며, 열량이 적고 비타민 C와 칼륨, 칼슘 등의 무기질 및 식이섬유가 풍부한 식재료로, 특히 서양에서는 요구르트, 올리브와 함께 3대 장수식품이라 일컬어지고 있음.
- 전 세계 양배추 재배 면적은 1,600,000ha정도이고, 종자시장 규모는 약 1,600ton 정도로 전 세계적으로 가장 많이 재배되고 있는 채소 작물 중 하나임. 중국의 연간 양배추 재배 면적은 약 937,000ha로, 인도 약 280,000ha 그리고 동남아 및 기타 지역이 약 100,000ha로 전 세계 양배추 재배 면적의 약 80% 이상을 차지하는 거대 시장임.

나. 양배추는 수입대체, 세계적 시장진출이 매우 중요한 품목

- 국내 양배추 종자 시장 규모는 약 20억원 수준이며 유통 중인 종자는 대부분 다끼이, 사카타 종묘로 일본 품종이 차지하며 국산화율은 10% 미만으로 국내 양배추 재배 농가는 외국 품종을 선호하고 있어, 수입대체가 시급함
- 국내 양배추 종자 수출은 2005년 21톤, 금액으로 1.8백만불을 수출하였으며, 2006년에는 31톤, 2.8백만불을 수출하여 고추 6.9백만불, 무 5.2백만불 다음으로 큰 수출 품목이며 해마다 증가하고 있으며 2009년에는 25,494kg, 금액으로 250만불 이상 수출하여 고추, 무 다음의 수출 효자 품목으로 주로 인도, 중국, 인도네시아에 수출하고 있어 연구 주력 시 경제성 확보 가능성이 매우 높음
- 국내에서도 소비자 지향의 고기능성 양배추 품종 개발을 통한 시장 확대와 수입품종 대체 효과 필요

다. 양배추는 첨단 육종 기술 활용 육종 연한 단축 및 육종 효율 증진 기술 개발이 절실

- 농산물 시장 개방으로 기술력 기반, 고품질 농산물 생산을 위한 종자 개발이 필요하며, 해외

농산물 시장 개방에 따른 기회를 활용하기 위하여 글로벌 농업을 염두에 둔 효율적인 육종 시스템 확립이 필요함

- 무엇보다 신품종 개발에 걸리는 시간에 비해 점점 짧아지는 신품종 시장 수명을 감안할 때 보다 효율적으로 신품종을 개발할 수 있는 tool이 절실히 요구되고 있는 실정임
- 첨단 오믹스 기법을 이용한 조기 진단 마커 개발 및 선발/탐색 마커 개발은 양배추 품종 개발에 있어 효율과 경제성을 확보할 매우 중요한 tool 임. 따라서 국제 경쟁력 있는 소비자 지향적 고부가가치 품종 개발이 필요한 시점이며, 이를 위한 신속 정확, 고효율적인 품종 개발을 위한 국제 경쟁력 있는 첨단 tool 개발이 절실함
- 중국과 캐나다 그룹이 선도적으로 양배추류의 표준유전체를 작성하여 발표하여 양배추의 유전체 기반 분자마커 개발 연구가 용이해짐
- 양배추유전체육종지원사업단에 의해 양배추류의 유전체 정보가 resequencing 및 분석되어 국내육종 소재의 유전체 정보와 마커 정보의 공유가 가능해짐
- GSP 2단계 사업에 있어 양배추의 반쪽시들음병, 검은반점병, 균핵병, 뿌리혹병, 검은썩음병, 둥근무늬병 저항성, 기능성 성분으로서 글루코시놀레이트, 토코페롤 함량 연관, 원예형질로서 열구, 숙기, 엽색, 그리고 중간잡종 품종 육성에 필요한 종 구분 분자마커의 개발이 우선시 됨

#### 라. 검은썩음병

- 전 세계적으로 검은썩음병(Black rot)은 양배추(*Brassica oleracea* L. *capitata*)에서 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc)에 의해 발병하는 심각한 식물병 중의 하나이다 (Alvarez 2000). 이 병은 기주식물의 상처조직이나 곤충, 기공을 통해 전염되며(Kifuji et al. and Tonu et al. 2013), 식물학자이자 곤충학자인 Harrison Garman 이 1889년 미국 켄터키주 렉싱턴시에서 처음으로 발견하였다 (Garman 1890). Xcc에 대한 병원균은 기존 레이스에 대하여 저항성을 지녔다 하더라도, 새로운 레이스가 출현하여 저항성 개체가 무너짐으로 이를 방제하기는 매우 어렵다. Xcc에서 대해서는 현재까지 9개의 레이스가 동정되었으며 (Fargier et al. 2007), 이 중에서 레이스 1과 4는 검은썩음병을 일으키는 주요한 레이스로 알려져 있다 (Vicente et al. 2001). 이와 같은 연구결과들은 국내에 병원균에 대한 정보는 거의 보고되어 있지 않아, 병원균 동정 및 기주 식물에 병원성 검정과 같은 기초실험이 필요하며, 기초 실험을 통하여 더불어 검은썩음병 저항성을 판별할 수 있는 마커를 개발함은 검은썩음병 저항성 양배추를 육종하는 데 있어, MAS를 더욱 용이하게 해줄 것이다.

#### 마. 뿌리혹병

- 뿌리혹병은 *Plasmodiophora brassicae*에 의해 발병하는 병으로 배추과 작물의 생산량과 품질을 크게 떨어뜨려 문제가 되고 있다. 뿌리혹병 저항성 유전자들과 마커에 대한 연구가 배추에서는 많이 진행되어 왔지만, 양배추에서는 아직까지 일부 연구가 진행되고 있지만 완벽하지 않다. Lee (2015년)는 GBS 기술을 기용해 해상도가 높은 유전자 맵을 작성하였으며 뿌리혹병 저항성 (CR, clubroot resistance) QTL들을 동정한 바 있다하였다. 배추에서도 뿌리혹병이 8개의 레이스 특이적인 CR loci (Crr1, Crr2, Crr3, Crr4, CRa, CRb, CRc, CRk)가 5개의 염색체에 위치되어 있음이 동정되었다. 반면에 양배추에서는 배추와 달리 완전한 저항성을 가진 유전자원에 대한 정보가 매우

드물어, 양배추에서 뿌리혹병 저항성 품종을 육종하기 위하여 다양한 CR 레이스에 대한 주요 CR QTL 및 유전자들을 동정하는 일은 매우 중요한 일이다.

#### 바. 둥근무늬병

- 둥근무늬병(Ring spot)은 진균류인 *Mycosphaerella brassicicola*에 의해 발병하는 병으로, 이 병은 경제적으로 중요한 작물인 유채, 양배추, 브로콜리 콜리플라워 등에 자주 발생한다. 병원균은 온화하면서 습한 기후를 좋아하며, 지난 3년간 프랑스와 유럽의 콜리플라워의 재배지에서 심각한 전염병을 일으켰다. 곰팡이 몇 년간 생존하면서 자낭포자로부터 식물의 잔재에 병을 일으켰다(Dixon 1981). 새로운 전염병은 특히 다양한 기주식물에서 연속적으로 자라왔다. 둥근무늬병을 방제하는 방법으로 화학적 약제를 사용하는 방법이 있으나, 이는 작물을 식용할 때 화학 약제의 잔유물이 남아 문제가 되고 있다. 따라서 저항성 작물을 육종하는 것이 최선이 방법이다. 둥근무늬병에 대해서는 매우 극소수의 연구가 진행되어 왔으며, Zornbach (1990)가 독일, 프랑스, 네덜란드에서 29개의 병원균을 수집하여 분석하였고, Van Den Ende (1993)은 네덜란드에서 병원균을 수집하여 분석하여 기주에 따른 병원균의 반응을 연구한 바 있다. 현재 국내에서는 병원균의 분포 및 동정이 전혀 이루어지고 있지 않아, 양배추에서 둥근무늬병 저항성 소재 육종을 위해 병원균 및 기주에 대한 연구가 필요한 실정이다.

#### 사. 글루코시놀레이트

- 배추과 채소의 섭취로 심장병, 암 등의 발병을 저하시키며, 건강을 증진 시킨다는 보고가 활발히 이루어지고 있음 (Zhang et al., 2011. Am. J. Clin.Nutr 등)
- 양배추류에 각종 비타민 C, A, E, K, B1, B2), Foliates, polyphenols, minerals, organo-sulphur compounds의 성분이 타 작물에 비해 비교적 많은 편이며 이러한 영양성분의 함량의 중요성이 대두되며, 기능성 품종 개발이 국제적으로 이루어지고 있음
- 글루코시놀레이트는 아미노산과 당으로부터 만들어지는 황을 함유하는 이차대사산물로서, 가수분해에 의해 배추과작물의 특정한 향과 맛을 내는데 기여하는 물질이다. 배추과 작물에 존재하는 글루코시놀레이트는 식물에 있어 해충에 대한 저항성과 초식동물과 병원균으로부터 방어기작에 관여하는 것으로 알려져 있다. 또한 글루코시놀레이트의 대표적인 기능으로는 강력한 항암작용이 알려져 있음
- 전세계적으로 글루코시놀레이트 성분 함량 증대를 위한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 몬산토에 의해서 glucoraphanin 성분이 증가된 브로콜리 품종이 개발되어 일반 품종보다 2~3개 가격으로 시판되고 있음
- 양배추 시장이 전 세계적으로 점점 더 우수한 품질을 요구하고 있으며, 특히 유럽 및 미주에 비해 저가인 동서남아 시장에서도 고품질의 고기능성 양배추에 대한 관심이 높아져 이에 대응하는 우수품종의 육종이 요구됨
- 국내에서도 소비자 지향의 고기능성 양배추 품종 개발을 통한 시장 확대와 수입품종 대체 효과 필요
- 국내에서 뒤쳐진 고기능성 품종 개발을 위해서는 효율적인 육종 시스템 확립이 시급하며, 이는 양배추를 통한 고부가가치 창출의 기반이 될 것임
- 따라서, 기능성 성분의 함량이 증대된 국내 소비자 지향 품종 및 고부가가치 수출용 품종을 신속 정확하게 개발하기 위한 분자마커의 필요성이 커지고 있음

## 아. 열구

- 열구 병징은 양배추의 결구에 영향을 미치며 이는 양배추에 있어 심각하게 품질을 떨어뜨리며, 경제적으로 막대한 손실을 야기한다. 열구나 갈라짐 현상은 토마토, 배추, 양배추, 체리, 사과, 리치에서도 발생한다 (Peet 1992; Niu et al, 2010; Zhuang et al. 2009; Su et al. 2012; Christensen 1976; Proctor and Loughheed 1980; Wang et al. 2006). 열구는 많은 환경적인 요소들과 세포의 구조와 같은 해부학적 특징도 관련이 있다(Andersen and Richardson 1982; Emmons and Scott 1997; Savvas et al. 2008). 보통 열구는 수확전의 강우, 갑작스러운 토양 수분함량의 증가, 낮과 밤의 습도 차이, 온도의 변동, 광의 노출에 의해 발생한다. 재배학적인 요소로 불규칙적인 관수가 열구의 가장 큰 요인이다. 토마토의 온실에서 관수의 양을 줄임으로서 열구를 감소시켰다. 해부학적인 연구로 방울토마토는 열구에 저항성을 가지며, 이는 큐티클 막 (CM)의 두께와 매우 관련이 높다. 비록 많은 과실에서의 갈라짐에 대한 반응에 대하여 알려져 있지만, 갈라지는 현상을 막는 방법은 보고되어 있지 않다. 따라서, 열구 저항성 품종을 선발하는 방법이 육종에 있어 필요함

## 자. 엽색

- 양배추 육종에 있어 엽색 관련 육종 목표중 하나는 곱은 진녹색 (안토시아닌 축적이 스트레스 조건에서도 일어나지 않는 것)이고 속은 노란색(아직 개발되지 않음)임
- 식물의 색소는 광합성에 관여하는 엽록소를 제외하고 3가지 계통(안토시아닌, 카로테노이드, 베타라인)이 존재하며 이 색소들이 수분을 위한 동물유인 및 종자분산 등을 담당하며, 자외선이나 강한 가시광선에 의한 식물의 손상을 막아줌 (Tanaka et al. 2008; Rodriguez-Amaya 2019)
- 안토시아닌(anthocyanin)은 플라보노이드(flavonoid)계 색소로 수용성이며 세포질에서 생성되어 액포에 저장됨. 오렌지/적색에서 보라/청색 등 다양한 색의 결정에 관여하며 색의 결정은 보조색소의 존재, 금속이온 및 pH 등의 영향을 받음. 양배추(*Brassica oleracea* var. *capitata*)유래 안토시아닌은 천연식품색소로 이용되고 있으며, 플라보노이드는 건강증진 색소로도 각광을 받고 있음 (Bakowska-Barczak 2005).
- 카로테노이드(carotenoid)는 테르페노이드(terpenoid)계 색소로 지용성이며, 엽록체에서 합성되며, 노랑색에서 적색까지 나타내고 광합성 기구를 보호하는데 필수적임 (Rodriguez-Amaya 2019).
- 베타라인(betalain)은 노랑색에서 적색까지를 결정하며, 질소화합물로 수용성이고 일부식물에서만 발견됨 (Rodriguez-Amaya 2019).
- 자색케일(*Brassica oleracea* var. *acephala*)의 경우, MYB전사인자인 *BoPAP1*(promotion of anthocyanin production 1)의 발현증가의 결과 저온에서 50배의 안토시아닌 함량이 증가하였음을 보고하였음 (Zhang et al. 2012)
- 적색양배추(*Brassica oleracea* var. *capitata*)는 안토시아닌 생합성관련 조절유전자 (*BoTT8*과 *BoMYB2*)와 구조유전자들의 발현 증가 결과임이 밝혀짐 (Nesi et al. 2000; Zhang et al. 2003; Baudry et al. 2004; Yuan et al. 2009; Chiu et al. 2010)
- 꽃양배추(*Brassica oleracea* var. *totrytis*)의 안토시아닌 함량의 증가도 *MYB*전사인자와 안토시아닌 생합성관련 구조유전자의 발현증가의 결과였음이 알려짐 (Chiu et al. 2010; Chiu and Li 2012)



- 애기장대에서는 두 개의 bZIP 전사인자인 *HY5*(long hypocotyl 5)와 *HYH*(HY5 homolog)가 저온에서 안토시아닌의 합성을 유도함을 밝힘.
- 기존의 연구는 엽색(특히 자색 및 안토시아닌)관련 유전자 발현에 대한 연구로, 진한 녹색과 관련된 유전자에 대한 정보는 부재하고, 자색관련 마커개발 및 이를 활용하는 내용에 언급은 없음
- 속이 노란색 양배추는 아직 없으나 다른 배추과로부터 도입이 가능하고, 이 과정을 효율적으로 진행할 수 있는 마커의 개발이 필요함

- 이상의 연구배경을 종합하면, 기존의 연구는 엽색(특히 자색 및 안토시아닌) 관련 유전자 발현에 대한 연구로, 진한 녹색과 관련된 유전자에 대한 정보는 부재하고, 자색관련 마커 개발 및 이를 활용하는 내용에 언급은 없음. 또한 속이 노란색 양배추는 아직 없으나 다른 배추과로부터 도입이 가능하고, 이 과정을 효율적으로 진행할 수 있는 마커의 개발이 필요함

#### 차. 양배추의 내재해성: 내한성, 내서성

- Jacob 등 (2017)은 heat shock transcription factor들이 내서성을 포함한 다양한 스트레스에 핵심적인 역할을 한다는 것을 제안하여 이들이 표적유전자가 될 수 있음을 시사함
- Janmohammadi 등 (2015)은 저온저항성과 관련된 단백질체를 종합하여, HSF와 ROS 등이 저온내성과 관련이 있음을 시사
- Jiang 등(2017)은 WRKY 전사인자가 다양한 형태의 스트레스와 관련이 있음을 보고함.
- Naing과 Kim (2021)은 abiotic stress 저항성과 안토시아닌의 관련성을 ROS와 관련하여 리뷰하였음
- 내서성관련 국내특허는 한국생명공학연구원에서 2건을 등록하였으나 (대한민국 특허 등록번호: 1012019220000, 1016093090000), 단기 열충격에 반응하는 유전자를 기반으로 하였기 때문에 진정한 내서성 품종의 개발에 활용이 불투명한 실정임

- 내한성관련 특허는 발표된 바 없으며, 내서성관련 특허도 단기간 고온노출과 관련된 것이며 진정한 내서성관련 마커는 아니므로 분자마커의 개발이 시급하다 하겠음.

#### 카. 국내외 연구의 문제점과 전망

- 본 과제에서 목표형질로 제시된 병 저항성 관련해서는 병 저항성 소재와 품종이 매우 제한적
- 기존 연구는 병의 방제방법, 병원균 검출 방법 분야에 치중되어 있어,
- 현재 국내 연구진의 분자마커 개발 시도는 국제적인 경쟁력이 있어 보이며, 개발된 분자표지를 활용하여 효율적으로 해당 저항성 품종을 개발한다면 그 상품가치가 매우 높을 것으로 판단됨
- 엽색과 관련해서 대부분 연구가 모델식물인 애기장대와 꽃색에 관련한 유전자와 그 조절 메카니즘에 대한 것이며, 채소작물에서의 연구는 자색케일, 적색양배추 및 꽃양배추의 색이 특정 전사인자의 돌연변이 결과라는 보고만 있을 뿐, 엽색관련해서 유전자에 대한 종합적인 연구는 없는 실정임. 특히 다양한 양배추에서 안토시아닌의 축적

은 각기 다른 메카니즘에 의한 것으로 예측되기 때문에 종합적인 연구와 마커의 개발 및 활용이 필수적임

- 유전체 연구의 활성화와 RNA Seq 등의 대두로 형질에 관한 유전자의 탐색과 이를 이용한 마커(유전자특이 마커 또는 형질관련 마커) 개발이 가능한 시점이기 때문에 양배추의 주요 원예형질을 결정하는 다양한 유전자 발굴과 마커 개발이 가능하다고 판단됨
- 종/아종 구분 마커는 다른 배추과 작물이나, 양배추의 다른 아종이 지닌 주요형질을 주 재배용 양배추에 도입하는 과정을 가능하게 할 수 있음

타. 국내 연구 개발의 필요성

- GSP 1단계 연구를 통해서 일부 원예형질 관련 분자마커를 개발하여 활용하고 있으나 숫적, 양적으로 미흡한 상태임. 골든씨드가 되기 위한 주요 원예형질을 판별하고, 육종에 활용이 가능함 마커를 개발하여 활용해야 함
- 양배추의 육종방향은 내병성, 내재해성, 기능성 성분 함량 및 엽색과 숙기가 생산자와 소비자 기호에 맞아야 함. 엽색은 짙은 진녹색이어야 하며, 가능하다면 내엽이 노란색이면 최고의 양배추가 될 것이며, 숙기 판별용 마커를 활용하여 숙기조절을 통한 출하시기의 조절은 양배추 재배를 활성화할 수 있음
- 종/아종 구분 마커는 새로운 원예형질을 지닌 양배추 육종에 필수적임.
- 유전자서열 및 DNA 서열이 공개되어 활용이 가능하고, 저렴한 비용으로 전사체 정보를 확보하여 형질관련 분자마커 개발을 위한 표적유전자의 선별과 연구가 가능함
- 다양한 양배추 및 배추과 종자를 보유하고 있어 이를 소재로 주요 원예형질 관련 분자마커의 개발이 가능함: 엽색은 양배추이외에 케일과 콜리플라워 및 콜라비가 소재로 활용될 수 있으며, 숙기관련 소재로는 조생종 양배추 재배종과 원종을 활용할 수 있으며, 종/아종 판별용 마커는 안토시아닌 합성, 카로티노이드 합성 및 글루코시놀레이트 합성관련 유전자의 변이를 이용하여 개발이 가능함
- 본 연구팀은 공공 웹사이트에서 얻을 수 있는 정보 이외에 다양한 양배추 소재를 이용한 유전체 정보를 보유하고 있어 마커 개발에 어려움이 없을 것임

따라서, 외국 육종 기술과의 경쟁을 통해 경제적이고 효율적으로 고품질 양배추 개발을 위해 양배추 주요 형질과 종구별 분자마커 개발이 시급

### 1-3. 연구개발 범위

가. 양배추 주요 병저항성 분자마커 개발

(1) 양배추 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발 연구

- 뿌리혹병(clubroot) 균주에 대한 저항성 및 이병성 계통 선별
- 뿌리혹병의 저항성 및 이병성 계통의 F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> 작성
- 양배추 뿌리혹병 저항성 QTL 영역에 위치하는 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자들 동정 및 분자마커 디자인
- 뿌리혹병 저항성 및 이병성 계통들과 디자인된 분자마커들을 이용하여 다형성 검정
- 유전자형과 표현형의 일치율 검정

- (2) 양배추 검은썩음병 저항성 분자마커 개발 연구
  - 검은썩음병(black rot)에 대한 균주 수집 및 분양
  - 검은썩음병의 균주 증식 및 레이스 판별 품종 수집
  - 검은썩음병 race별 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성
  - 제주도 양배추 재배지역의 검은썩음병균 race 검정
- (3) 양배추 둥근무늬병 저항성 분자마커 개발 연구
  - 둥근무늬병(ring spot)에 대한 균주 분양, 배양 및 증식
  - 둥근무늬병에 대한 저항성 및 이병성 계통 선발
  - 둥근무늬병 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성
  - 양배추 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자들 동정 및 분자마커 디자인
  - 둥근무늬병 저항성 및 이병성 계통들과 디자인된 분자마커들을 이용하여 다형성 검정
  - 유전자형과 표현형의 일치율 검정
- (4) 열구 관련 분자마커 개발 연구
  - 열구에 대하여 강 및 약 계통 분양, 포장 실험
  - 열구 강 및 약 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 작성 및 F<sub>2</sub> 작성
  - F<sub>2</sub> 집단을 이용한 RAD-seq. 수행 및 분석

나. 글루코시놀레이트 함량 연관 분자마커 개발 및 육종 지원

- (1) 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping
  - 양배추 F<sub>2</sub> 분리집단 2개 (#1626 집단, #1627 집단)와 TBDH 집단 유전자 지도 작성
  - 각 집단의 progeny 글루코시놀레이트 함량 분석을 통한 표현형 결과 작성
  - 양배추 3개의 유전자지도 기반 글루코시놀레이트 총 함량과 각성분별 QTL 지도 작성
- (2) 양배추 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 발굴
  - 모델식물 애기장대의 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 발굴
  - 배추의 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자
  - 애기장대와 배추의 유전자를 기반으로 양배추 표준유전체로부터 각 유전자 homolog gene 발굴
  - 발굴된 양배추 유전자의 promoter 부위 염기서열 확보
- (3) 양배추 유전체 정보 기반 글루코시놀레이트 함량 연관 SNP 분자마커 대량 발굴
  - 글루코시놀레이트 각 성분별 함량 고/저 계통 2계통 이상씩 선발
  - 선발된 계통 50X 이상 re-sequencing 및 표준유전체 align 분석
  - 각 성분별 함량 고/저 계통 비교 분석을 통한 함량 연관 SNP 대량 발굴
- (4) 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 동정
  - 글루코시놀레이트 QTL spanning 생합성 생분해 경로 유전자 발굴 및 검증
  - 각 성분별 함량 고/저 계통 SNP 연관 생합성 생분해 경로 유전자 발굴 및 검증
- (5) 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커 개발
  - 기 보고된 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커 실증
  - QTL spanning 분자마커 검증
  - 대량 발굴 SNP 검증을 통한 각 성분별 함량 연관 분자마커 개발
- (6) 육종 소재 분석 지원
  - 양배추류 종자 순도 검정 분자마커를 이용한 종자 순도 검정 지원
  - 육종 소재 글루코시놀레이트 성분 분석

○ 육종 소재 유용 기능성 성분 분석 지원

다. 엽색관련 주요 유전자 동정 및 분자마커 개발

- 엽색은 외엽과 내엽으로 구분하여 연구를 수행하며, 외엽은 진녹색 특히 스트레스 (저온 등)에 노출되었을 때 안토시아닌이 합성되어 축적이 되지 않는 양배추를 구분 할 수 있는 마커를 개발하도록 함. 최소 2개 이상의 별개 유전자 유래 분자마커를 개발하도록 함.
- 외엽 및 내엽이 자색(또는 적색)인 양배추와 관련된 마커를 개발하기 위하여 안토시아닌 생합성관련 구조유전자와 조절유전자를 동정하여 2-3개의 후보유전자를 선발 하고 연구하여 마커를 개발함.

라. 내한성과 내서성 관련 분자마커 개발

- 내한성 구분 분자마커 개발은 RNA\_seq 결과를 분석하여 후보 유전자를 발굴하고, 유전자 클로닝과 분석을 통하여 유전적 다형성을 찾아 분자마커로 개발함. 적어도 2개 이상의 유전자를 이용한 마커를 개발하도록 함.
- 내서성 구분 분자마커 개발도 RNA\_seq 결과 분석과 발표된 논문분석을 통하여 후보 유전자를 정하고, 유전자 서열을 분석하여 분자마커로 개발하고자 함.

## 2. 연구수행 내용 및 결과

가. 양배추 뿌리혹병 분자마커 개발 연구

(1) 뿌리혹병 저항성 마커 개발을 위한 F<sub>2</sub>집단 작성, 접종 및 표현형 관찰

뿌리혹병은 *Plasmodiophora brassicae*에 의해 발병하는 병으로 배추과 작물의 생산량과 품질을 크게 떨어뜨려 농가의 경제적 손실에 막대한 영향을 미치고 있다. 이 뿌리혹병균 (*P. brassicae*)은 휴면 포자로 토양에 존재하며, 환경이 적합하면 수 년 동안 생존이 가능하여 뿌리혹병이 발생한 배추과 작물 재배 포장에서는 뿌리혹병균이 오랫동안 생존 가능하다. 또한 뿌리혹병균에 감염된 식물체를 뽑아서 뿌리를 살펴보면 잔뿌리가 없어지고 주근에 흑이 생성되어 수분과 양분의 흡수가 억제되고 생육이 저해되며 한낮의 무더운 시간에는 시들음 증상을 보이다가 밤에는 회복되기를 반복하다 결국 고사하게 된다. 이러한 뿌리혹병을 방제하기 위하여 토양의 pH를 조절하거나 배추과 작물 이외 작물과의 윤작등의 경종적 방제와 fluazinam, flusulfamide 및 cyazofamid 등의 살균제를 이용한 화학적 방제 방법이 이용되고 있으나 뿌리혹병 방제에 대한 실효성에 문제가 대두되고 있다. 이에 양배추 재배농가에서는 뿌리혹병 저항성 품종에 대한 요구도가 나날이 높아지고 있다. 본 연구는 육종가의 뿌리혹병 저항성 품종개발에 MAS system을 도입하여 육종연한을 단축하기 위하여 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발을 위한 실험을 수행하였다.

뿌리혹병 저항성 분자마커를 개발하기 위하여 조은종묘와 공동연구를 통하여 먼저 뿌리혹병 저항성 계통인 CR3에 이병성 계통 CR4, CR5, CR6에 각각 교배한 3조합의 F<sub>1</sub>을 작성한 후 이들 3조합의 F<sub>1</sub>들을 자가수분 시켜 3조합의 F<sub>2</sub>집단(CR3×CR4, CR3×CR5, CR3×CR6)을 작성하였다. 이들 작성된 3조합의 F<sub>2</sub> 집단을 이용하여 한국화학연구원에 접종을 의뢰하였다. 접종은 3조합의 F<sub>2</sub>집단 각각에 대하여 연천균주(Y), 강릉균주(K), 해남-2균주(H-2)를

감염시킨 후 5~7주 후 감염된 뿌리의 표현형을 관찰하였다. 그림 1에서 보여지는 것과 같이 뿌리혹병의 발병도는 저항성(0)에서 이병성(1-4)까지 5단계로 분류하여 관찰하였다. 3개의 F<sub>2</sub> 집단 각각에 대하여 표현형을 관찰한 결과 3:1의 분리비를 관찰할 수 없었으며 각 균주에 따라 분리비의 차이가 제 각각 이었다(표 1). 이는 양배추에 있어서 뿌리혹병은 단일 유전자가 관여하는 것이 아닌 다수의 유전자가 관여한다는 것을 분리비를 통하여 알 수 있었다. 또한 분리비를 분석한 결과 본 실험에 이용된 양배추 재료들에 있어서 병원성은 강릉 균주, 연천 균주, 해남-2균주 순이었다.



그림 1. 뿌리혹병 발병에 대한 INDEX

표 1. 3조합 및 3개 균주(연천, 해남-2, 강릉)를 이용한 F<sub>2</sub> 집단의 뿌리혹병 표현형 결과

F <sub>2</sub> 조합	균주 (F <sub>2</sub> 개체 수)	index	표현형	분리비
CR7 (CR3XCR4)	Y (200)	0	34	34:166
		1	24	
		2	19	
		3	17	
		4	106	
	K (197)	0	5	5:192 R:S=1:38.4
		1	9	
		2	21	
		3	22	
		4	140	
	H-2 (190)	0	92	92:98 R:S=1:1.06
		1	33	
		2	27	
		3	18	
		4	20	
CR8 (CR3XCR5)	Y (196)	0	30	30:166 R:S=1:5.53
		1	47	
		2	35	
		3	36	
		4	48	
	K (196)	0	22	22:174 R:S=1:7.9
		1	36	

		2 43 3 38 4 57	
	<b>H-2 (189)</b>	0 102 1 41 2 21 3 16 4 9	102:87 R:S=1;0.85
CR9 (CR3XCR6)	<b>Y (195)</b>	0 22 1 19 2 32 3 43 4 79	22:173 R:S=1;7.86
	<b>K (193)</b>	0 15 1 20 2 27 3 29 4 102	15:178 R:S=1;11.86
	<b>H-2 (193)</b>	0 159 1 17 2 11 3 4 4 2	159:34 R:S=1;0.21

**(2) 기 보고된 뿌리혹병 저항성 분자마커들을 이용한 실증 실험**

기 보고된 논문들로부터 다수의 분자마커 정보들을 획득한 후(그림 1), 이들 분자마커들을 이용하여 실용성을 검토하였다. 본 연구에서 작성하여 뿌리혹병 접종 실험 후 표현형을 알고 있는 F<sub>2</sub> 집단 재료들을 이용하여 이들 분자마커들의 실용성을 검증한 결과, F<sub>2</sub> 집단 재료들에 있어서 기 보고된 분자마커들은 거의 다형성을 나타내지 않았다(그림2, 3). 이러한 결과는 기 보고된 논문에서 사용된 뿌리혹병균과 본 실험에서 사용된 균주가 서로 다름으로 인해서 생긴 결과라고 생각된다.

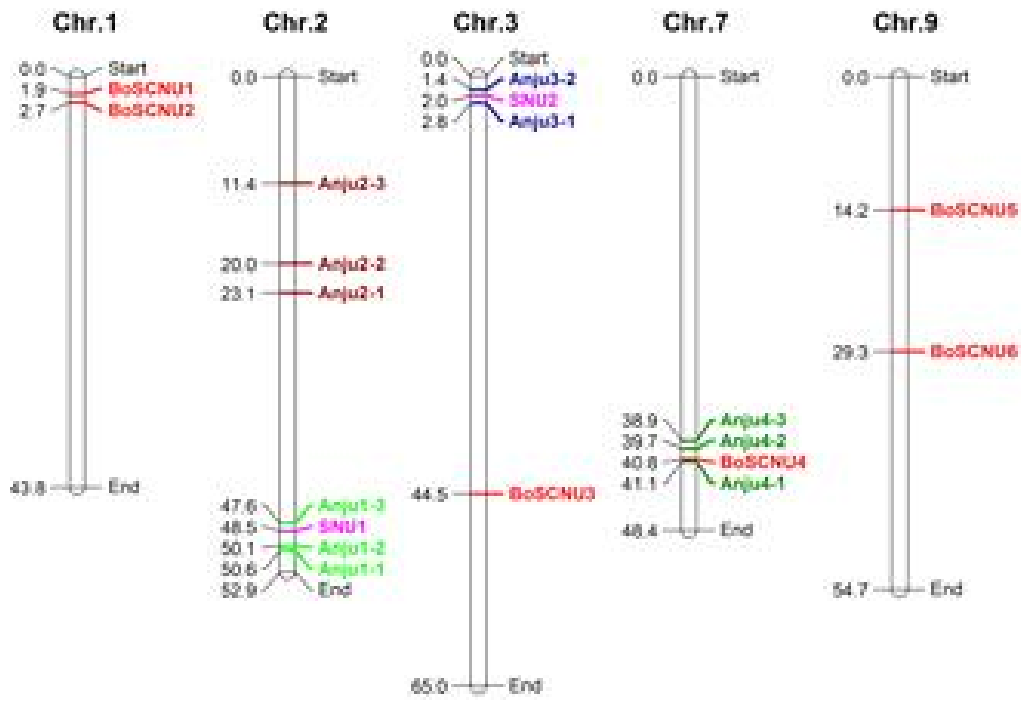


그림 2. 기 보고 및 본 연구에서 개발된 마커 위치

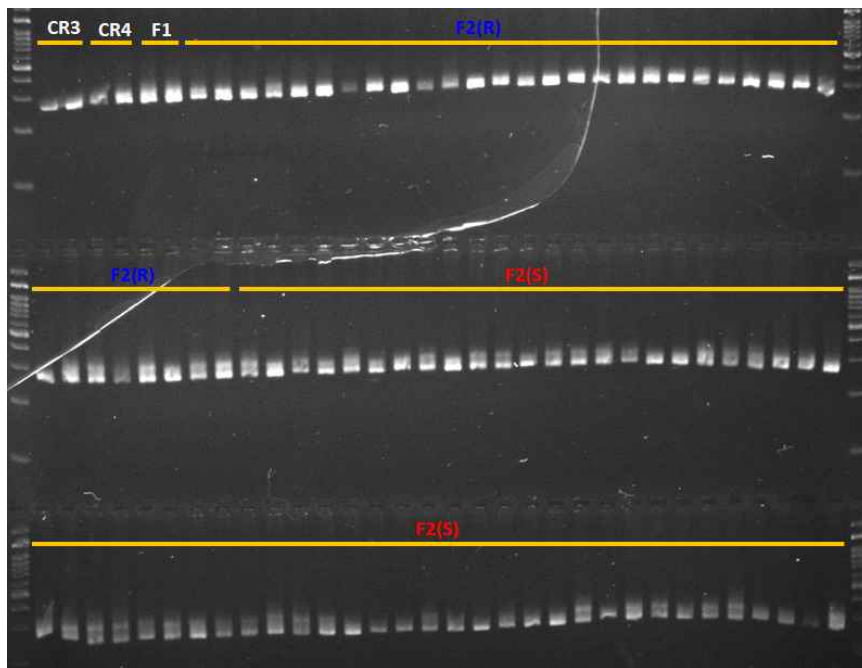


그림 3. 기 보고된 분자마커(Anju 1-1)를 이용한 실증실험

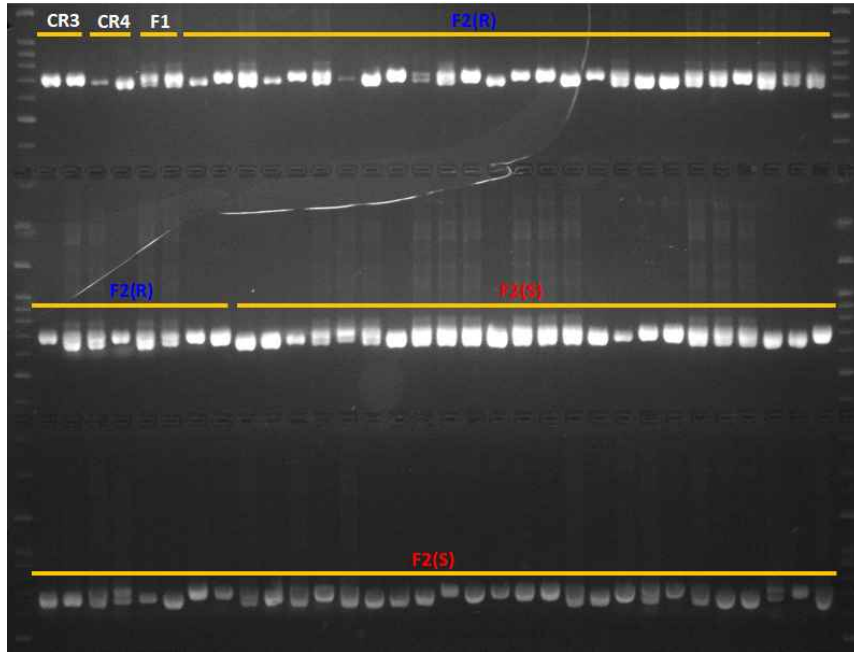


그림 4. 기 보고된 분자마커(Anju 3-1)를 이용한 실증실험

### (3) 양배추 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발 연구

기 보고된 다수의 QTL영역으로부터 병 저항성에 관련된 R gene들을 탐색하였다. 그 결과 이들 QTL영역으로부터 19개의 NBS-LRR 유전자들이 동정되었으며(그림 5), 이들 동정된 NBS-LRR 유전자들을 이용하여 다수의 분자마커들을 제작하여 실험을 수행하였다. 동정된 19개의 NBS-LRR 유전자들을 이용하여 제작된 분자마커 및 F<sub>2</sub> 집단을 작성하기 위하여 이용된 연천군주에 저항성을 나타내는 RL3 계통, 이병성을 나타내는 SL4, SL5, SL6 계통들을 이용하여 실험을 수행한 결과, NBS-LRR\_8번 분자마커와 NBS-LRR\_17번 분자마커에서 다형성을 나타내었다(그림 6). 이에 NBS-LRR\_8번 분자마커와 NBS-LRR\_17번 분자마커 및 연천군주의 뿌리혹병 접종 실험 후 F<sub>2</sub> 집단에서 발병도가 0인 완전 저항성 식물체 및 발병도가 4인 완전 이병성 식물체들을 이용하여 실험을 수행하였다. 그 결과 NBS-LRR\_8번 분자마커는 다형성을 나타내었지만 유전형과 표현형의 일치율이 매우 낮아 저항성과 이병성을 거의 구분할 수 없었다(그림 7).



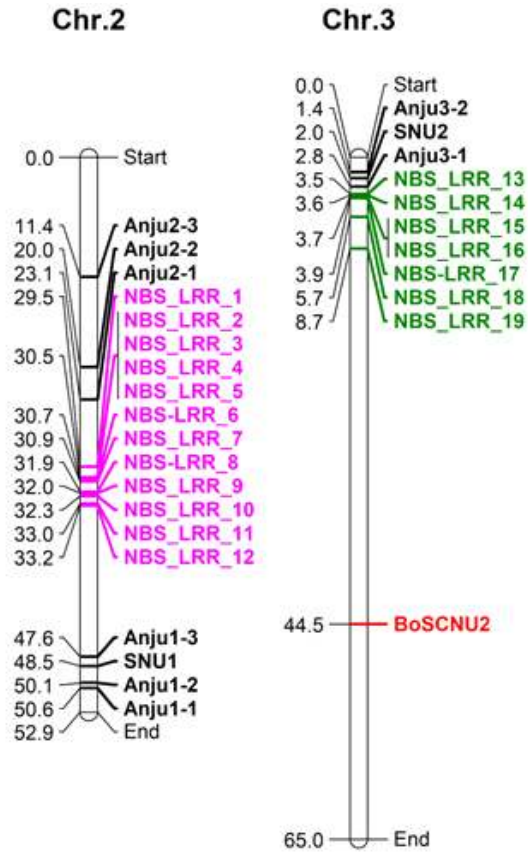


그림 5. 보고된 뿌리혹병 저항성 QTL영역으로부터 19개의 NBS-LRR 유전자 동정

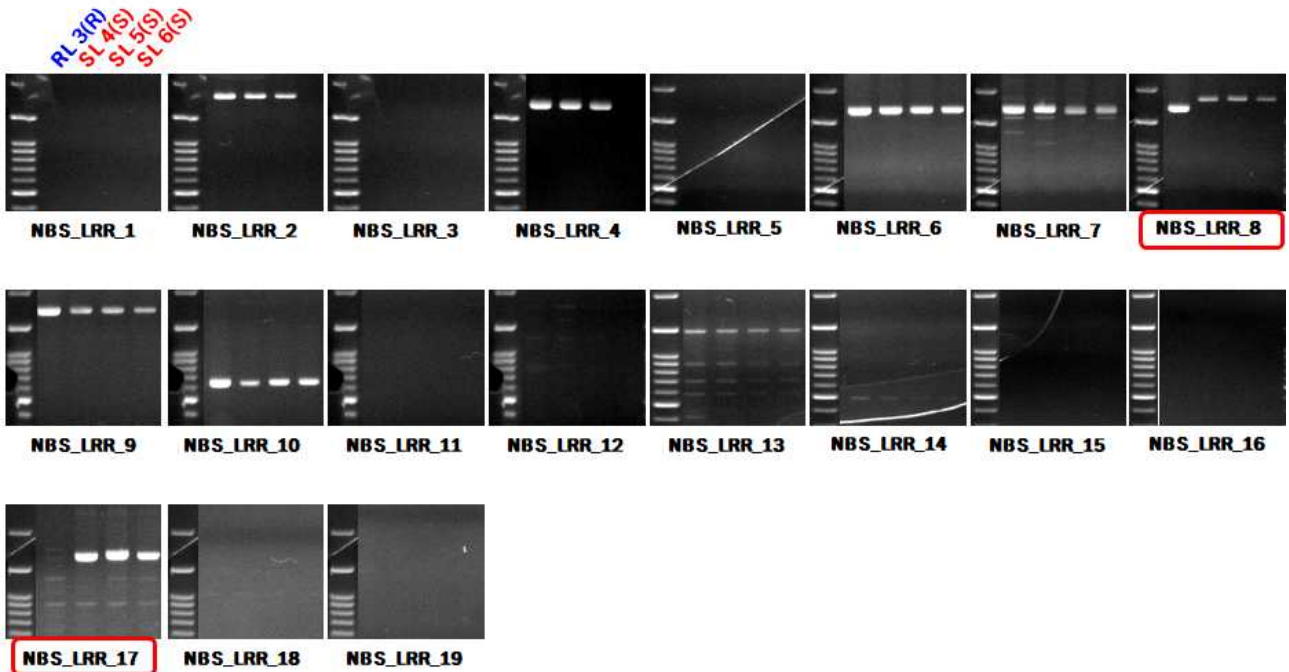


그림 6. NBS-LRR 유전자들을 이용하여 제작된 분자마커들에 대한 연천균주 뿌리혹병 저항성 및 이병성 식물체의 다형성 분석

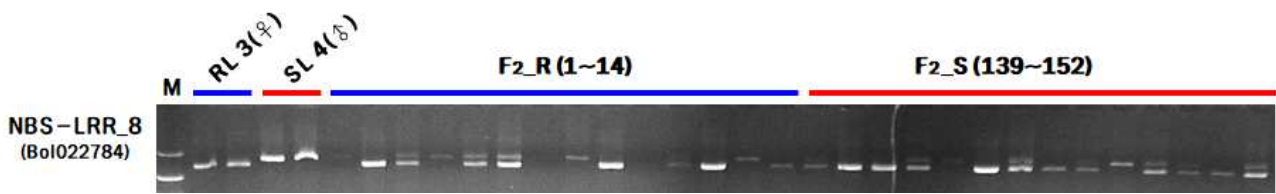


그림 7. NBS-LRR-8 분자마커를 이용한 F<sub>2</sub> 집단의 다형성 분석

Chromosome 3번에 위치하고 있는 NBS-LRR\_17 후보유전자는 프로모터 영역과 유전자 영역에서 다양한 조합의 분자마커를 디자인하여 실험에 이용하였다. Forward 프라이머 40번과 Reverse 프라이머 47, 48번 조합, 및 Forward 프라이머 17번과 Reverse 프라이머 47, 48번 조합들을 이용하여 각각 PCR을 수행한 결과 양친의 저항성 계통(RL3)에서는 증폭이 되지 않았으며 이병성 계통(SL4)에서는 증폭되었다. 또한 F<sub>2</sub>의 저항성 시료에서는 2~3개의 시료를 제외하고는 저항성 계통(RL3)과 동일하게 증폭되지 않았으며, F<sub>2</sub>의 이병성 시료에서는 이병성 계통(SL4)과 동일하게 한 개의 시료를 제외하고는 증폭되었다(그림 8). 또한 위에서 사용된 분자마커에서는 저항성 계통(RL3)에서는 PCR 증폭이 되지 않고 이병성 계통(SL4)에서만 증폭됨으로 저항성 계통(RL3)의 프로모터 영역과 유전자 영역 어딘가에 큰 단편이 삽입되어 있음을 의미한다. 이에 프로모터 약 -2000bp ~ -500bp 사이에서 여러 개의 Forward 프라이머를 다시 디자인하였으며 그림 9에서 보여지는 것과 같이 Reverse 프라이머 45번을 이용하여 PCR을 수행한 결과 저항성 계통(RL3) 및 이병성 계통(SL4)에서 모두 PCR 증폭되었지만 다형성을 나타내지 않았다. 따라서 이들 영역에는 큰 단편이 삽입되지 않고 이들 영역을 제외한 영역에 단편이 삽입되었음을 확인할 수 있었다.

이에 프로모터 영역 -500bp 및 유전자 영역을 이용하여 다시 여러 조합의 프라이머 조합을 작성하여 실험을 수행하였다. 그 결과 여러 개의 프라이머 조합에서 각각의 시료들 간에 다형성을 나타내었으며 F<sub>2</sub>의 저항성, 이병성 시료의 유전형 및 표현형의 일치율이 높게 나타났다(그림 9). 또한 프로모터 영역 과 유전자 영역에 있어서 저항성 계통(RL3) 및 이병성 계통(SL4)에서의 insertion 및 deletion을 확인하기 위하여 이들 영역을 cloning 및 sequencing 하였다. 그 결과 저항성 계통(RL3)은 190bp의 insertion과 123bp의 deletion 부분이 존재하고 있음을 확인하였다(그림 10). 또한 유전자 영역에서는 이병성 계통(SL4)에서 인트론 및 엑손 영역에서 427bp가 deletion되어 있음을 확인할 수 있었다(그림 11).

NBS-LRR\_17 후보유전자의 프로모터 영역과 유전자 영역에서 디자인된 여러 조합의 분자마커들은 표현형과 유전자형이 높은 일치도를 나타내었다. 이들 분자마커 조합들은 F<sub>2</sub> 집단의 재료 수를 늘려서 현재 재검토 중에 있다. 양배추에 있어서 뿌리혹병 저항성에 관여 하는 유전자는 단일 유전자가 아니며 2개 이상의 유전자가 관여한다고 보고되고 있으며, 또한 본 연구에서 F<sub>2</sub> 집단의 표현형 분리비 관찰 결과도 여러 개의 유전자들이 관여하는 것으로 나타났다. 따라서 1개의 유전자 마커를 이용하여 저항성 및 이병성 계통/품종을 탐색하는 것은 매우 어려운 일 이므로 2개 이상의 분자마커 set 개발이 필요 하다고 생각된다.

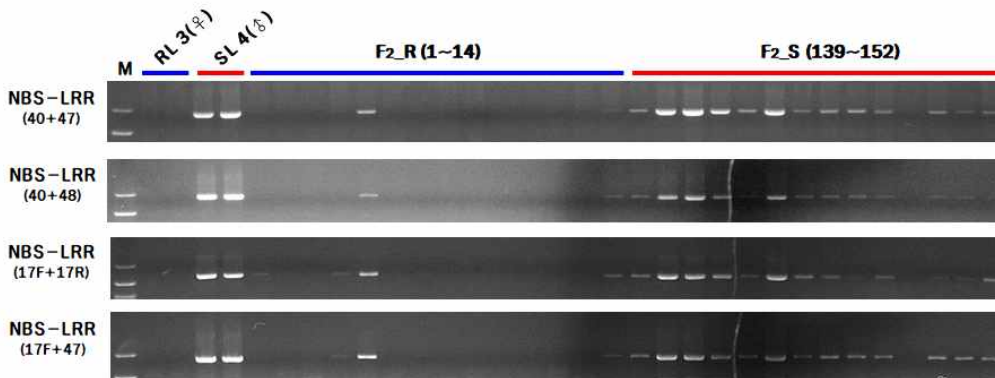
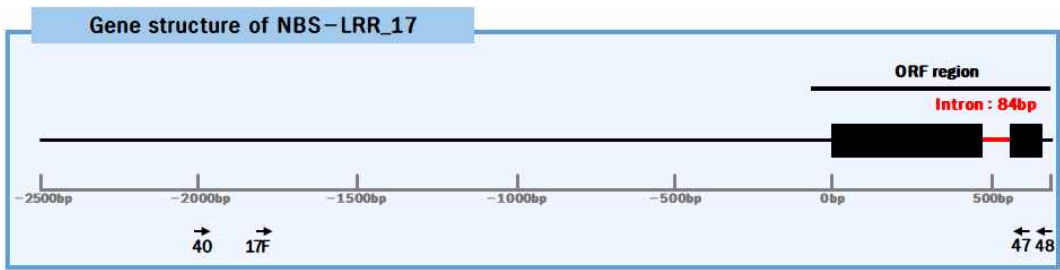


그림 8. NBS-LRR-17 유전자를 이용한 프라이머 디자인 및 이들 프라이머 조합을 이용한 다형성 검정

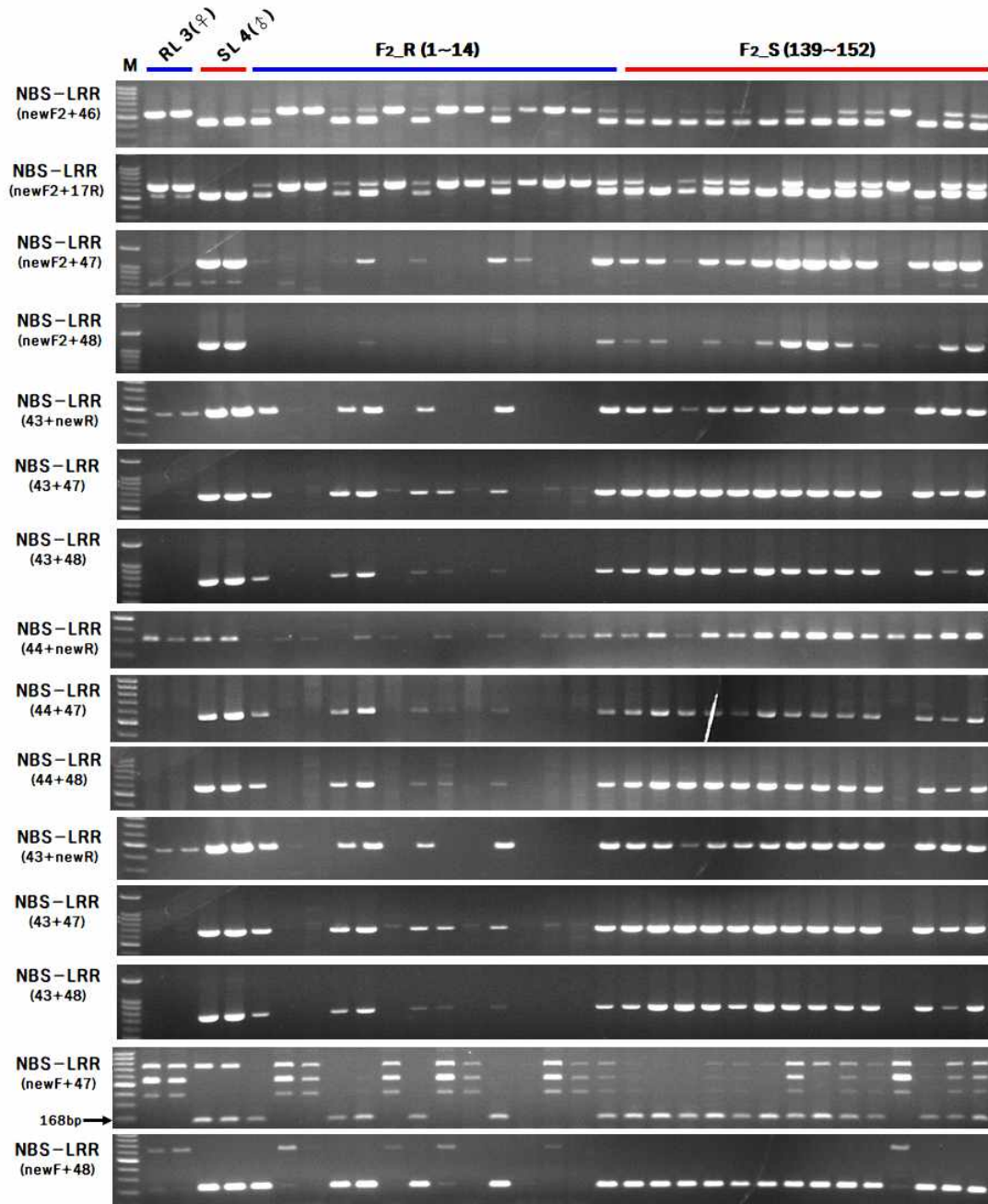
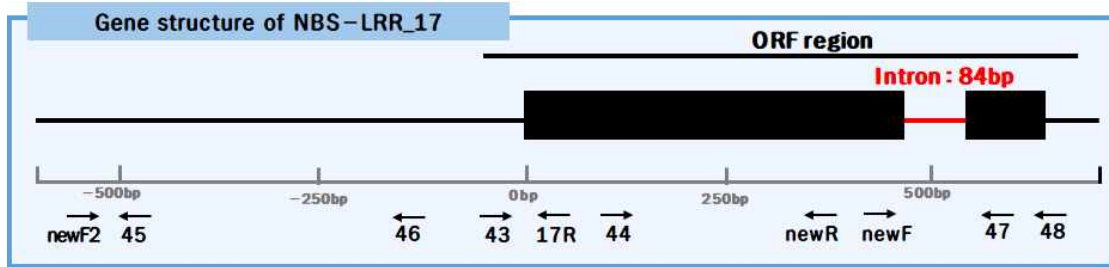


그림 9. NBS-LRR-17 유전자를 이용한 프라이머 디자인 및 이들 프라이머 조합을 이용한 다형성 검정



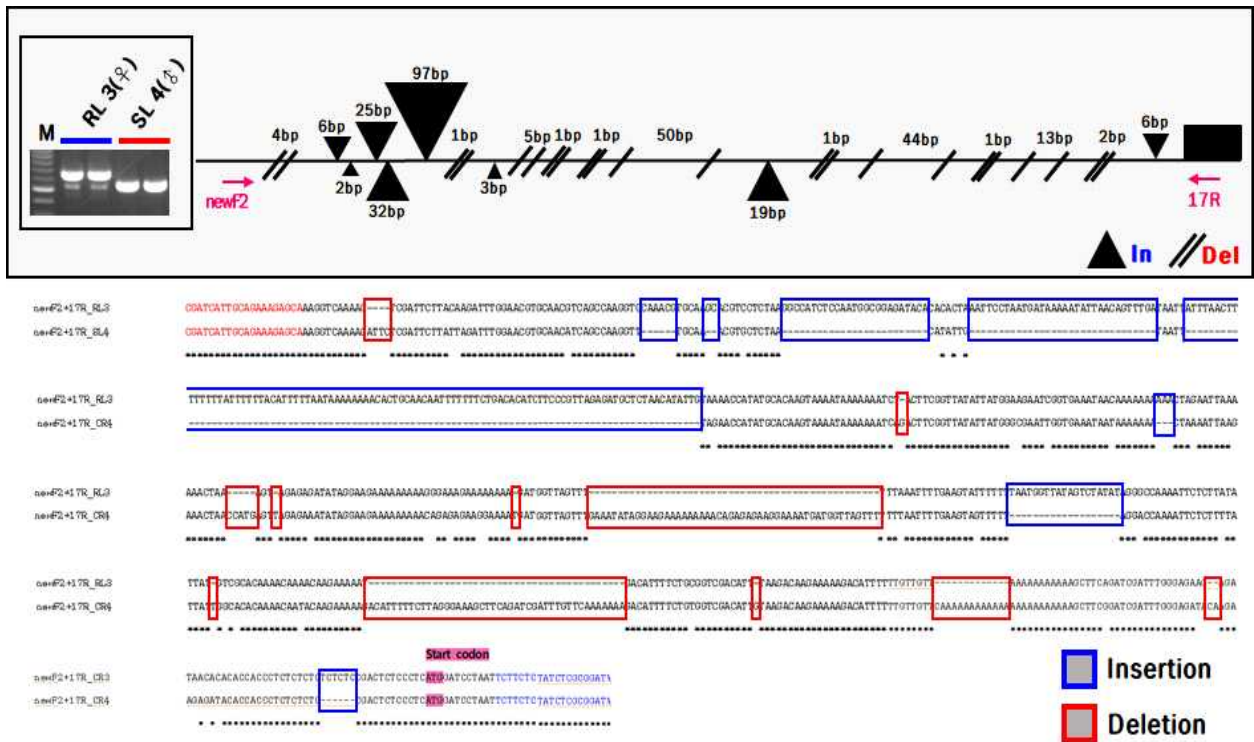


그림 10. NBS-LRR-17 유전자의 프로모터 영역에 대한 뿌리혹병 저항성 및 이병성 계통의 염기 배열 분석

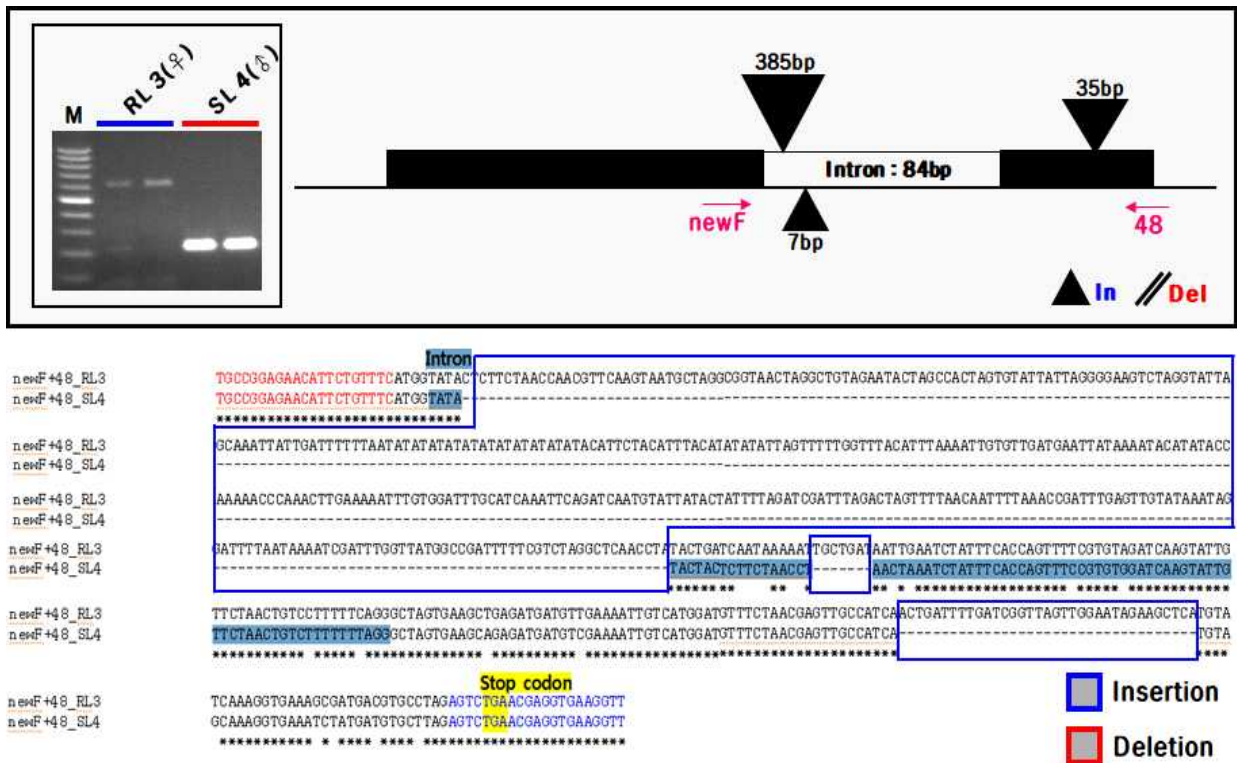


그림 11. NBS-LRR-17 유전자의 영역에 대한 뿌리혹병 저항성 및 이병성 계통의 염기 배열 분석

#### (4) 뿌리혹병 균주 특이적 마커 개발

배추과 작물에 있어서 뿌리혹병을 발병시키는 *Plasmodiophora brassicae*는 지금까지 연구 결과 다양한 pathotype과 race을 나타낸다고 보고되어 있으며, 국내의 각 지역(강릉, 괴산, 정선, 횡성, 대전, 금산, 해남, 평창, 연천, 서산)에서 수집된 12개의 *Plasmodiophora brassicae* 균주들을 이용하여 화학연구소의 최경자 박사는 4개의 pathotype으로 분류하였다. 첫 번째 pathotype 그룹은 강릉1, 강릉2, 괴산, 정선, 횡성균주, 두 번째 pathotype 그룹은 대전, 금산균주, 세 번째 pathotype 그룹은 해남1, 평창, 연천균주, 네 번째 pathotype 그룹은 해남2, 서산균주로 분류하였다. 또한 Williams race 판별 품종(4품종)을 이용하여 강릉2 균주는 race 1, 횡성, 연천 균주는 race 2, 해남2 균주는 race 4, 대전, 서산 균주는 race 5, 강릉1, 괴산 및 평창 균주는 race 9로 판별하였다. 그러나 사용된 race 판별 품종이 적기 때문에 앞에서 언급한 강릉1, 괴산 및 평창 균주가 race 9로 판별되었지만 더 많은 판별 품종을 이용하여 이들 균주에 대한 race를 판별할 경우 race 9 뿐만 아니라 다른 race가 검출될 가능성을 내포하고 있다. 이에 실제적으로 현재 유럽 뿌리혹병 연구팀이나 캐나다 뿌리혹병 연구팀에서는 뿌리혹병 race 판별을 위하여 15품종의 유럽 뿌리혹병 판별품종(ECD, European clubroot differential set)를 이용하여 보다 세밀하게 뿌리혹병 race를 판별하고 있으며, 캐나다 그룹 역시 13개 품종(CCD, Canadian clubroot differential set)을 이용하여 뿌리혹병 race를 판별하고 있다. 그러나 이들 다수의 뿌리혹병 판별 품종을 이용한 race 판별은 뿌리혹병균을 접종한 후 각각의 판별품종에서 나타나는 병징을 관찰하여 race를 판별할 수 있는데 이러한 방법은 많은 시간과 노동력이 소요된다. 이에 PCR을 기반으로 하여 쉽고 간편하게 균주 또는 race를 특이적으로 판별하고자 본 연구를 수행하였다.

우선 본 연구를 수행하기 위하여 기 보고된 2개의 *P. brassicae* 균주인 e3와 ZJ-1의 유전체 염기 서열을 NCBI로부터 확보하였으며, 본 연구실에서 4개 균주(대전, 강릉1, 해남2, 연천)에 대한 whole genome re-sequencing을 하여 얻은 데이터 총 6개의 whole genome sequence를 이용하였다(표 2).

표 2. *Plasmodiophora brassicae* 균주들에 대한 유전체 정보

Isolate	Sequence	Race	Country	Genome size	Reference
e3	Genome	Unknown	Sweden	24.0508 Mb	Schwelm et al. 2015
ZJ-1	Gemome	Race 1	China	24.8311 Mb	Bi et al. 2016
Daejeon	Whole genome re-seq.	Race 5	Korea	21 Mb	Our lab. (unpublished data)
Gangneung-1	Whole genome re-seq.	Race 9	Korea	21 Mb	Our lab. (unpublished data)
Haenam-2	Whole genome re-seq.	Race 4	Korea	21 Mb	Our lab. (unpublished data)
Yeoncheon	Whole genome re-seq.	Race 2	Korea	21 Mb	Our lab. (unpublished data)

이 6개의 whole genome sequence간 특이적 영역을 확인하기 위하여 Mauve(version 2.4.0)를 사용하여 “Align with progressive Mavuve“ 방식으로 정렬하였고 Geneious (Free trial version, version 11.0.3)를 이용하여 각각의 균주들에 대한 특이적 영역을 확인하였다(그림 11). 이렇게 확인된 특이적 영역들로부터 117개(20개의 e3 특이적 primer set, 61개의 ZJ1 특이적 primer set, 2개의 대전 특이적 primer set, 17개의 연천 특이적 primer set, 6개의 해남2 특이적 primer set, 11개의 강릉-1 특이적 primer set)의 primer set들을 디자인하였으며, 국내에서 수집된 11개의 균주들로부터 추출된 DNA를 실험에 이용하였다(표 3).

117개의 primer set 및 11개 균주들을 이용하여 PCR 검정을 수행한 결과, 2개의 primer set(Ycheon 9 및 Ycheon 10)가 연천 균주만을 특이적으로 증폭시켰으며, 다른 10개의 균주들과 control로 사용된 식물체 DNA를 증폭시키지 않았다(그림 12, 13, 14). 또한 특이적 마커인 ZJ1 3, ZJ1 4, ZJ1 5 primer set는 해남2 균주만을 특이적으로 증폭시켰으며(그림 15), ZJ1 35, ZJ1 40, ZJ1 41 및 ZJ1 49 primer set는 횡성 균주(그림 16), ZJ1 56과 ZJ1 61은 평창 균주(그림 17)만을 특이적으로 증폭시켰으며, 다른 10개의 균주들과 control로 사용된 식물체 DNA를 증폭시키지 않았다. 이 결과들은 각각의 개발된 SCAR 마커들은 특이적으로 연천 균주, 해남2 균주, 횡성 균주, 평창 균주들을 특이적으로 검출할 수 있음을 나타내었다.

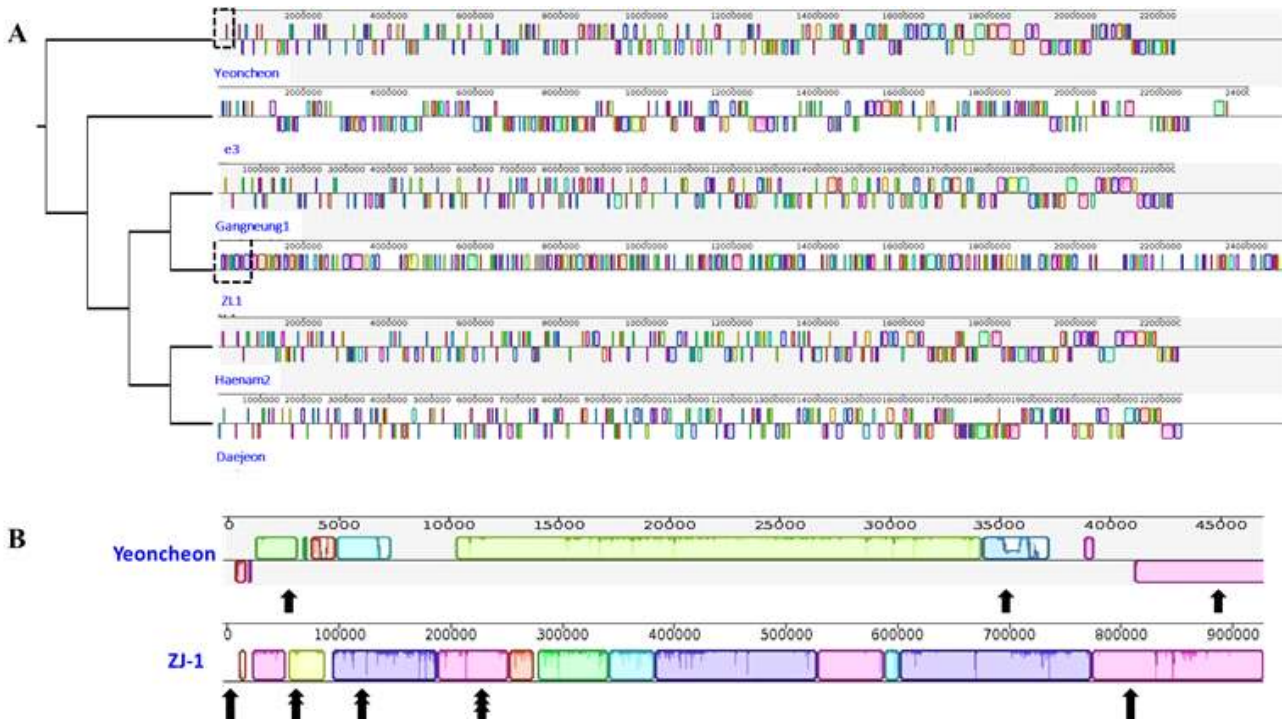
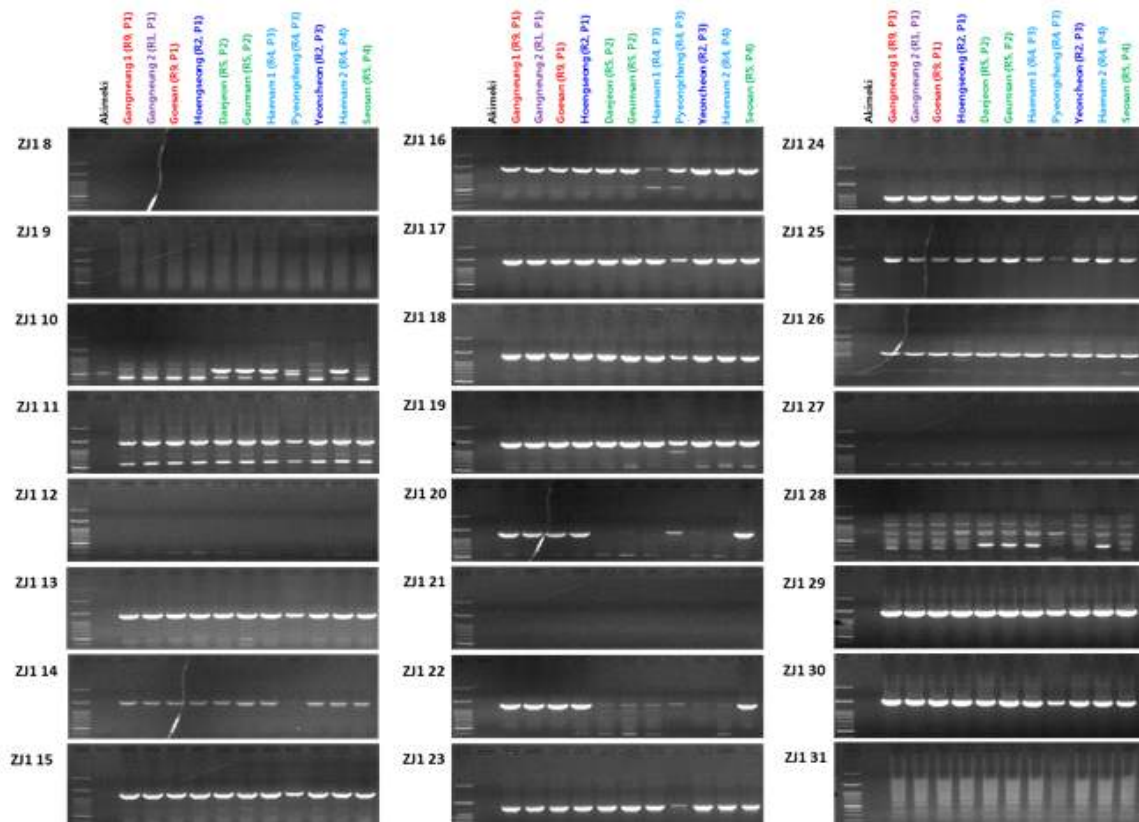
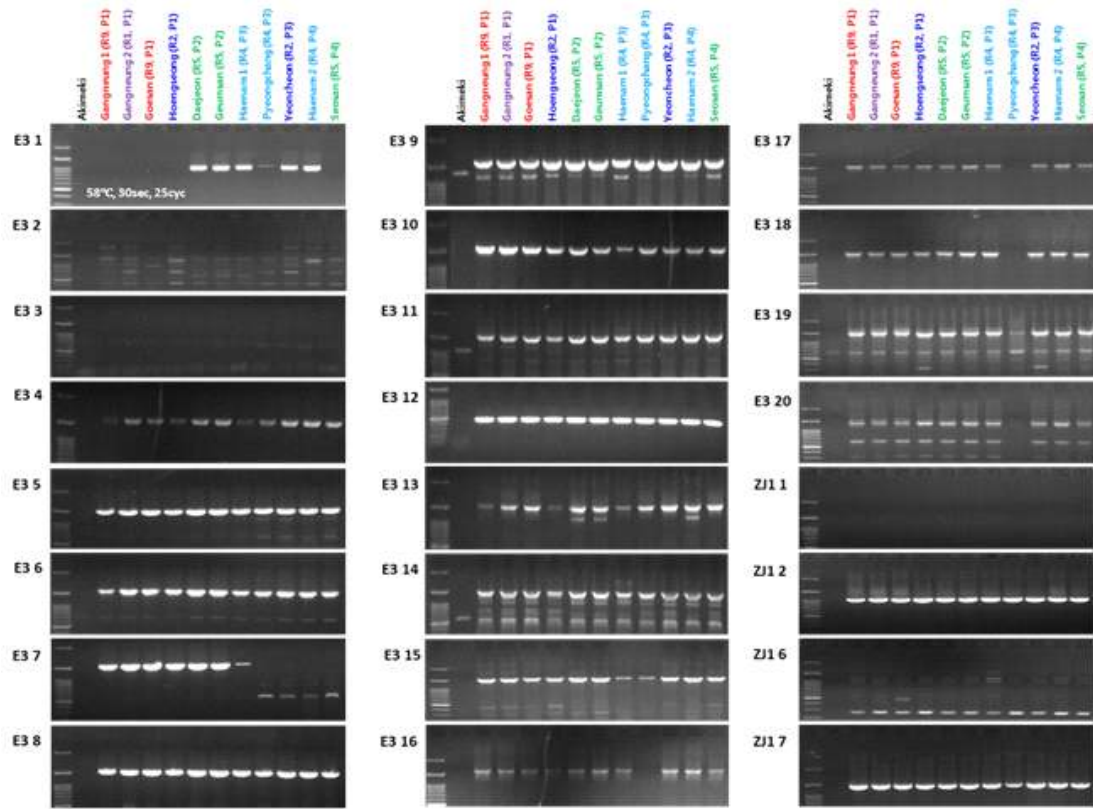


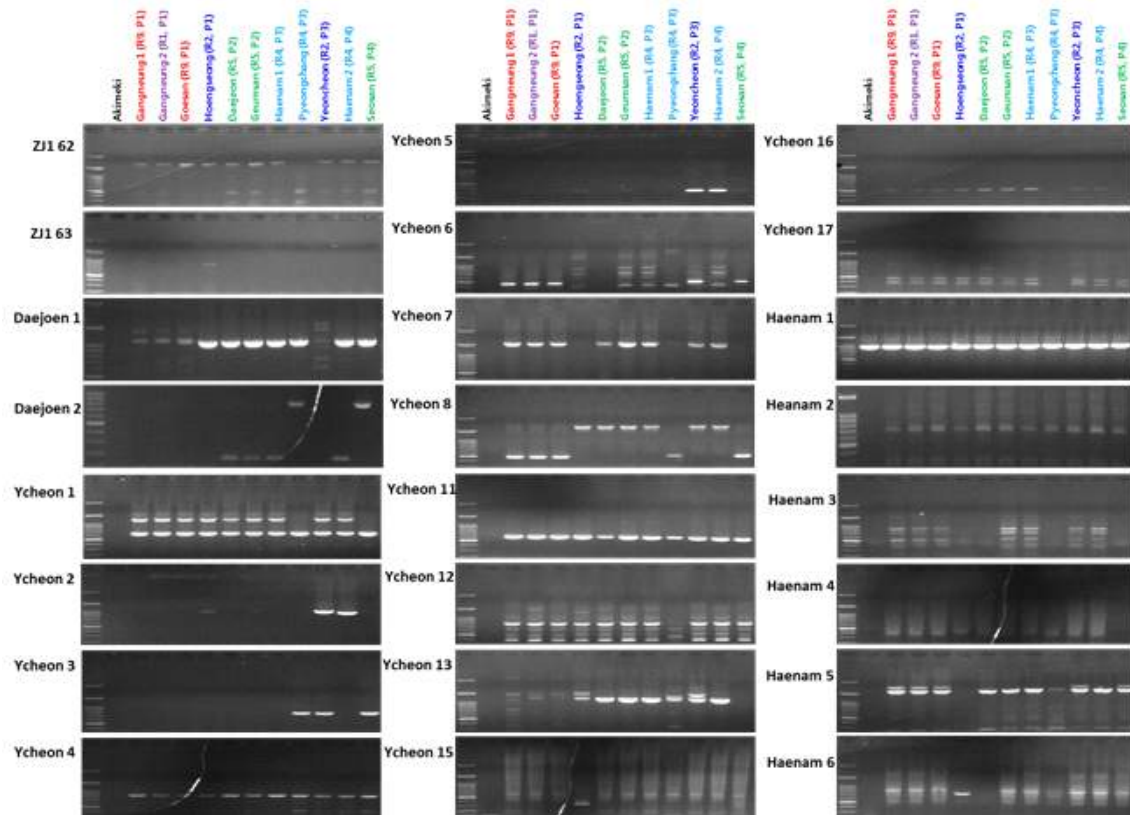
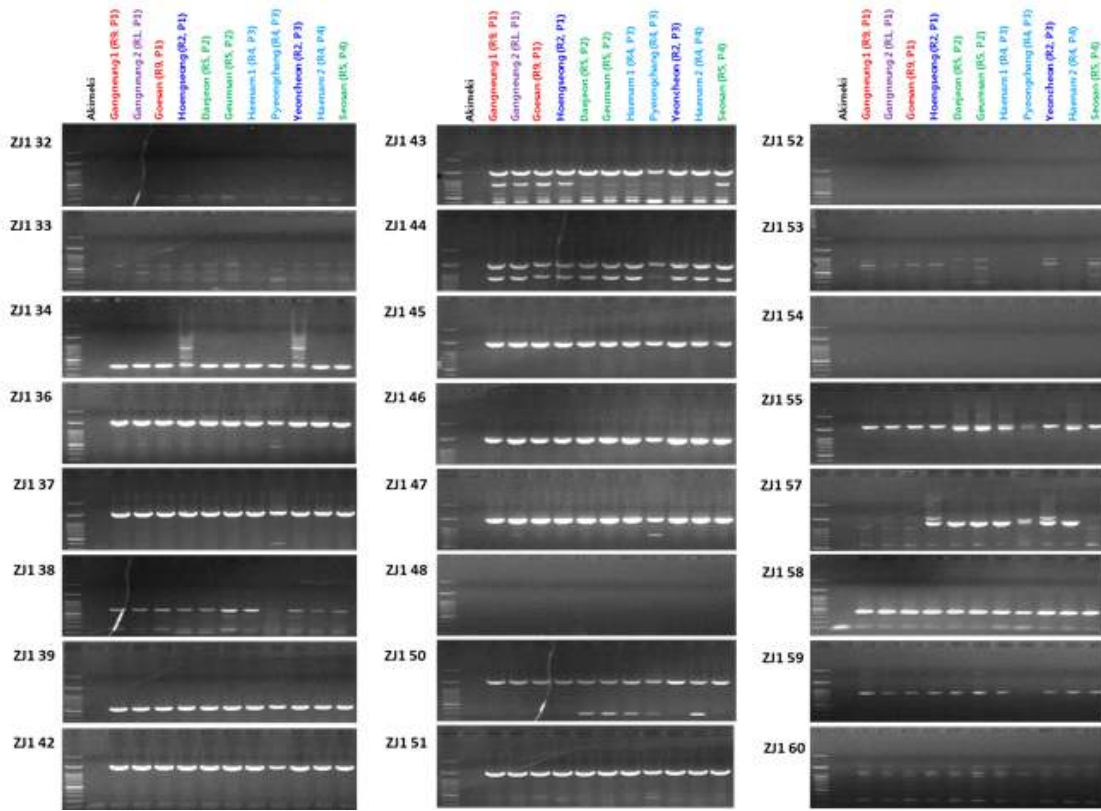
그림 12. *Plasmodiophora brassicae* 균주들에 대한 유전체 비교

표 3. *Plasmodiophora brassicae* 균주 특이적 동정을 위한 프라이머 염기서열

Sequence No.	Given primer name	Forward sequence	Reverse sequence	Product Size (bp)	Genomic positions	
					Start	End
>LCB455.5	Ycheon_9	ACAGTGC GG GTAGTCTATACG	ACAGTGC GG GTAGTCTATACG	1317	35690	34374
>LCB460.5	Ycheon_10	TCGAACCAGAAACCGTGAAC	TTCGGCACATCCCCATACAT	1589	44998	43410
>LCB975.5	Ycheon_14	GGTATGATTGTACAGGTCGCC	CACTTTCGGCAAACCTACGC	1459	3247	1789
>LCB888.2	ZJ1_3	TGGACGAGGCTGACAATCTT	CAAAAGCTCACAACGGTCGA	1073	224268	223196
>LCB1098.2	ZJ1_4	GTCGGCGATCTGGAGAACTA	CACGACGAGCTTCATTCCAG	1060	66622	65563
>LCB1098.2	ZJ1_5	CACCAGTATTTCCGCGTTCA	AGGTTTGATCCGCCTGTACA	1118	65497	64380
>LCB608.2	ZJ1_35	CTCCAACCTGAAAGGCAGAGG	GATGCAACGAACGCTTTGAC	547	761	1307
>LCB679.2.1	ZJ1_40	TGAATACGAACCGATGCTGC	CGTACACAATGGTTCGGCTG	517	224996	224480
>LCB679.2.2	ZJ1_41	CGGAGTTGAACGAGACTAGC	GCATACCTAATTGAGCGCGT	722	222677	222019
>LCB830.2	ZJ1_49	CTTCATCACTAGGCATGCGG	AACGAATCAGTGCATGGACC	485	118258	118742
>LCB975.2	ZJ1_56	GGTACCGTTCTTCACGTTC	GAGTGAACCCAGACCTGACA	1450	138164	136715
>LCB1188.2	ZJ1_61	TTCACATCACGTTGCACAGG	CCTCCACCGGTTATCAGTA	452	806998	807400







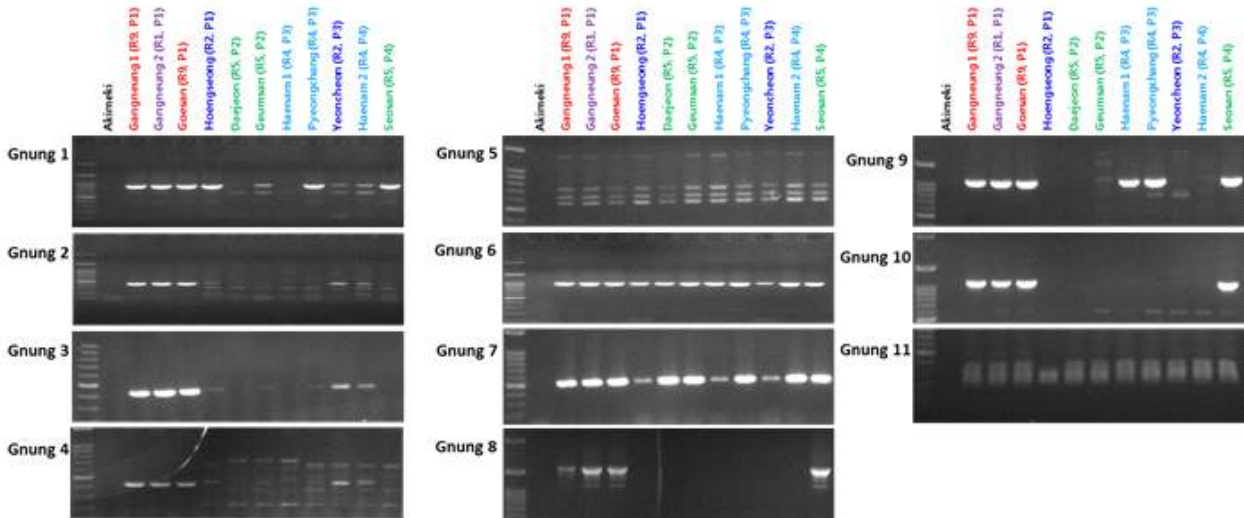


그림 13. 뿌리혹병 균주에 비특이적으로 증폭되는 107개의 마커.

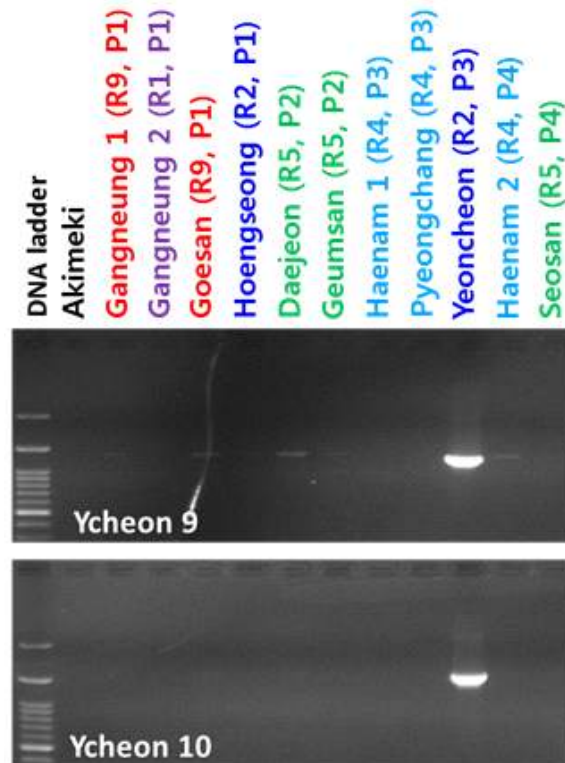


그림 14. 연천 균주 특이적 마커 개발. Akimeki, 식물체 DNA; R, race; P, pathotype.

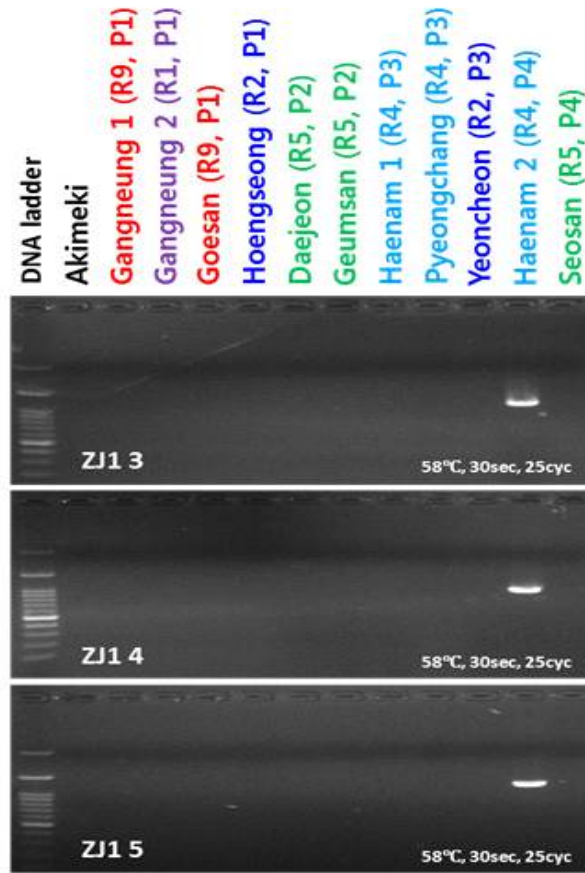


그림 15. 해남 2 균주 특이적 마커 개발. Akimeki, 식물체 DNA; R, race; P, pathotype.

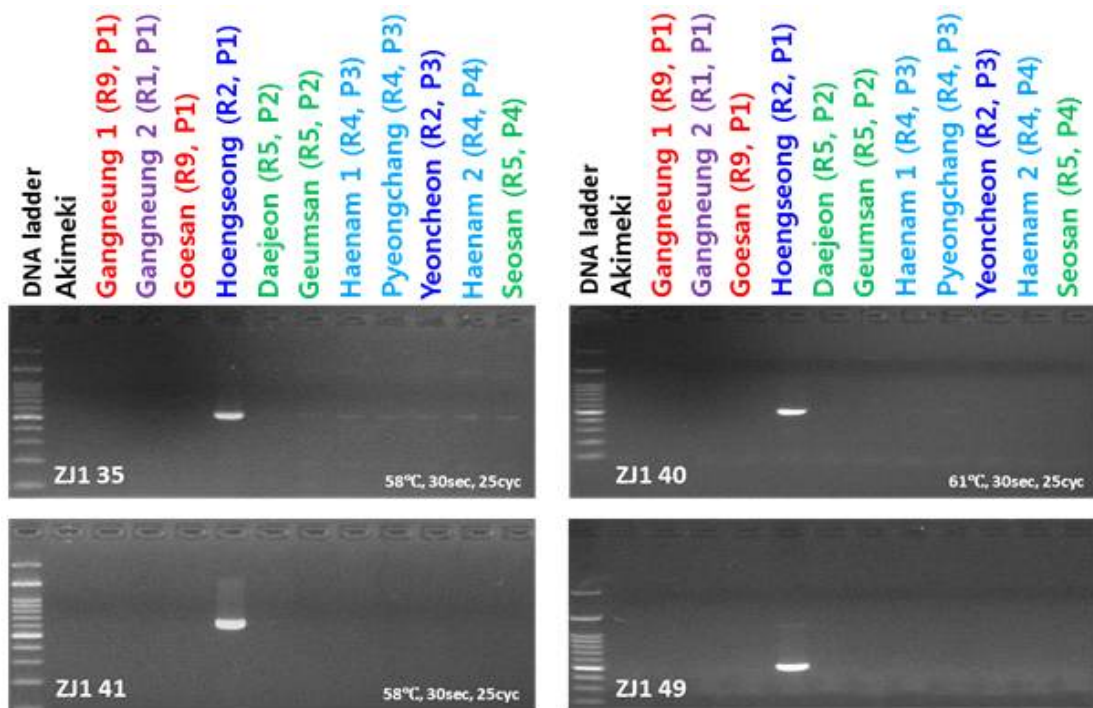


그림 16. 홍성 균주 특이적 마커 개발. Akimeki, 식물체 DNA; R, race; P, pathotype.



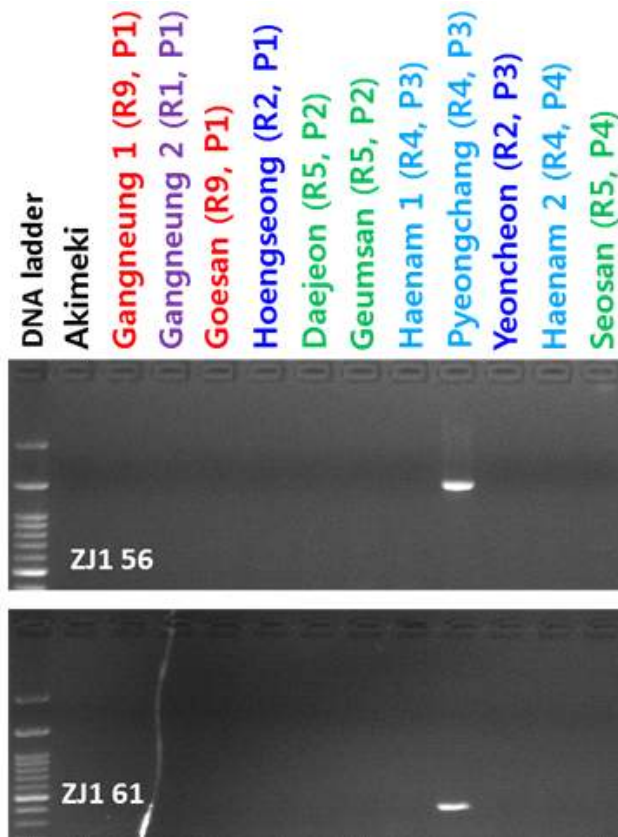


그림 17. 평창 균주 특이적 마커 개발. Akimeki, 식물체 DNA; R, race; P, pathotype.

#### 나. 양배추 검은썩음병 분자마커 개발 연구

##### (1) 양배추 검은썩음병 분자마커 개발을 위한 각각의 race 저항성 계통 선발

전 세계적으로 양배추 검은썩음병(Black rot)은 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc)에 의해서 감염되어 발병하는 심각한 식물병 중의 하나이다. 이 병은 기주식물의 상처조직이나 곤충, 기공을 통해 전염되며 잎 배수조직, 손상된 잎과 곤충을 통해 식물에 감염되고 관조직을 통해 번식하여 V자 모양의 병반을 일으킨다. 검은썩음병에 감염된 양배추는 수확 후 급격히 부패되어 저장에 적합하지 않다. 또한 유리한 환경에서도 작물 수확량이 50 % 이상 감소되는 등 재배농가 및 상인들에게 큰 경제적인 손실을 일으키는 병이다. 검은썩음병을 방제하기 위하여 재배농가는 시장에서 유통되는 농약을 살포하고 있지만 이 병원균을 통제하는 것은 매우 어렵다. 따라서, 검은썩음병 저항성 양배추 품종 개발은 검은썩음병을 통제하는 가장 효과적인 방법 중 하나이다. 이에 본 연구는 육종가의 검은썩음병 저항성 품종개발에 MAS system을 도입하여 육종연한을 단축하기 위하여 검은썩음병 저항성 분자마커 개발을 위한 실험을 수행하였다. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*는 전 세계적으로 현재까지 9개의 race(race 1~race 9)가 동정되어 있으나 국내의 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*에 대한 race 정보는 알려져 있지 않다. 따라서 각 race에 대한 양배추 검은썩음병 분자마커 개발 연구를 위해서 첫 번째로 각 race별로 동정된 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*균이 필수적이다. 이에 본 연구실은 해외 검은썩음병 연구 그룹(영국)과 공동연구를 통하여 race 1~race 7까지 균을 분양

받아 실험에 이용하였다(표 4). 분양 받은 7개 race 및 본 연구실에서 보유하고 있는 다수의 양배추 계통들을 이용하여 이들 균들을 접종하였다. 접종 2~3주 후 각각의 race들에 대한 표현형을 관찰하여 저항성 계통 및 이병성 계통을 선발하였다. Race 1 접종 후 2주 후의 표현형을 관찰한 결과 2개의 저항성 계통(BA321, BA32)을 선발할 수 있었다(그림 18). 또한 race 2 접종 결과 6개의 저항성 계통(SNU3631, SNU3637, SNU3639, SNU4066, SNU4072, SNU4073)을 선발하였으며, race 3 접종 결과 2개의 저항성 계통(SNU3273, SNU4118), race 4 접종 결과 10개의 저항성 계통(BA281, BA319, BA311, BA64, BA31, BA292, BA56, BA320, BA345, BA60), race 5 접종 결과 1개의 저항성 계통(SNU4118), race 6 접종 결과 1개의 저항성 계통(SNU3470), race 7 접종 결과 4개의 저항성 계통(SNU107, SNU3270, SNU3470, SNU4059)들을 선발할 수 있었다(그림 19~24). 또한 선발된 계통들 중 SNU4118은 race 3 및 race 5에 대하여 저항성을 나타내었으며, SNU3470은 race 6과 race 7에서 저항성을 나타내었다(표 5).

표 4. 분양받은 8개의 검은썩음병균 목록

Bacterial strains	Races	Host	Sources	Collection year
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-3811)	1	<i>B. oleracea</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-3849A)	2	<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-5212)	3	<i>B. oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-1279A)	4	<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-3880)	5	<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-6181)	6	<i>B. rapa</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (HRI-W-8450A)	7	<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>	HRI-W, UK	2017
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (I CMP8)	-	<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>	ICMP, New Zealand	2016



그림 18. 양배추 검은썩음병 race 1에 대한 접종 실험 및 결과

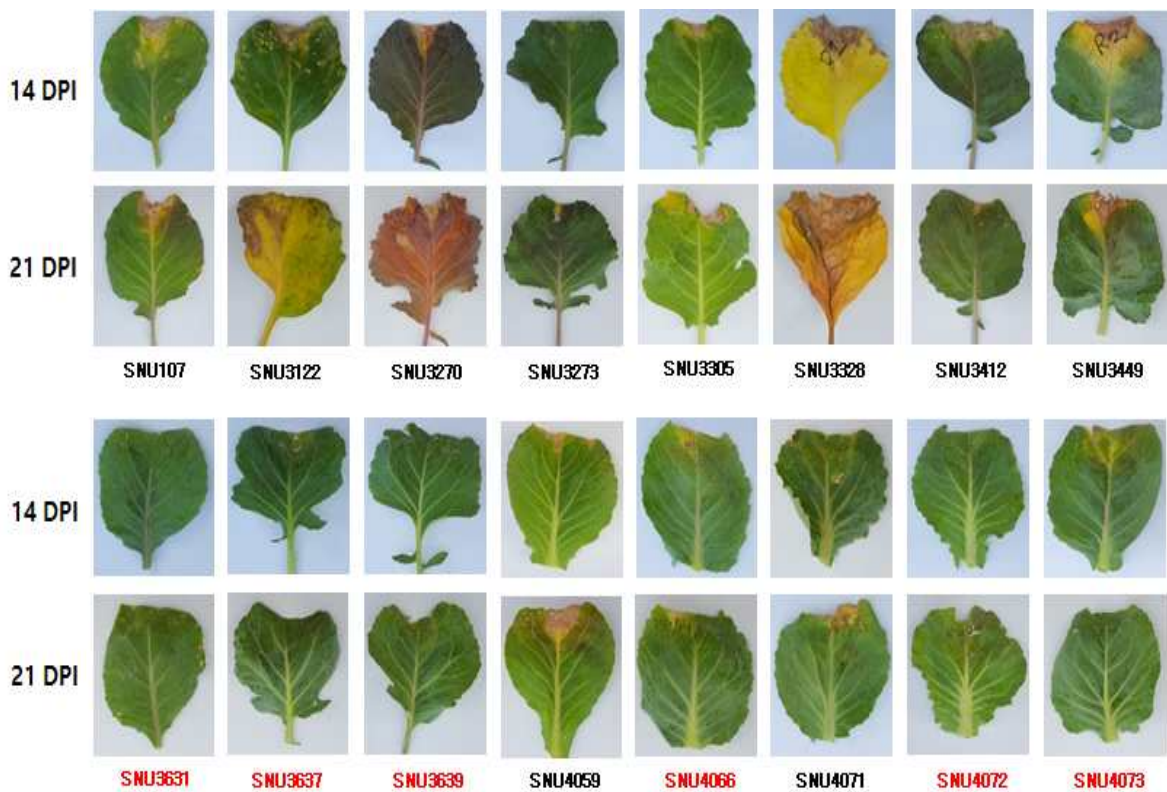


그림 19. 양배추 검은썩음병 race 2에 대한 접종 실험 및 결과



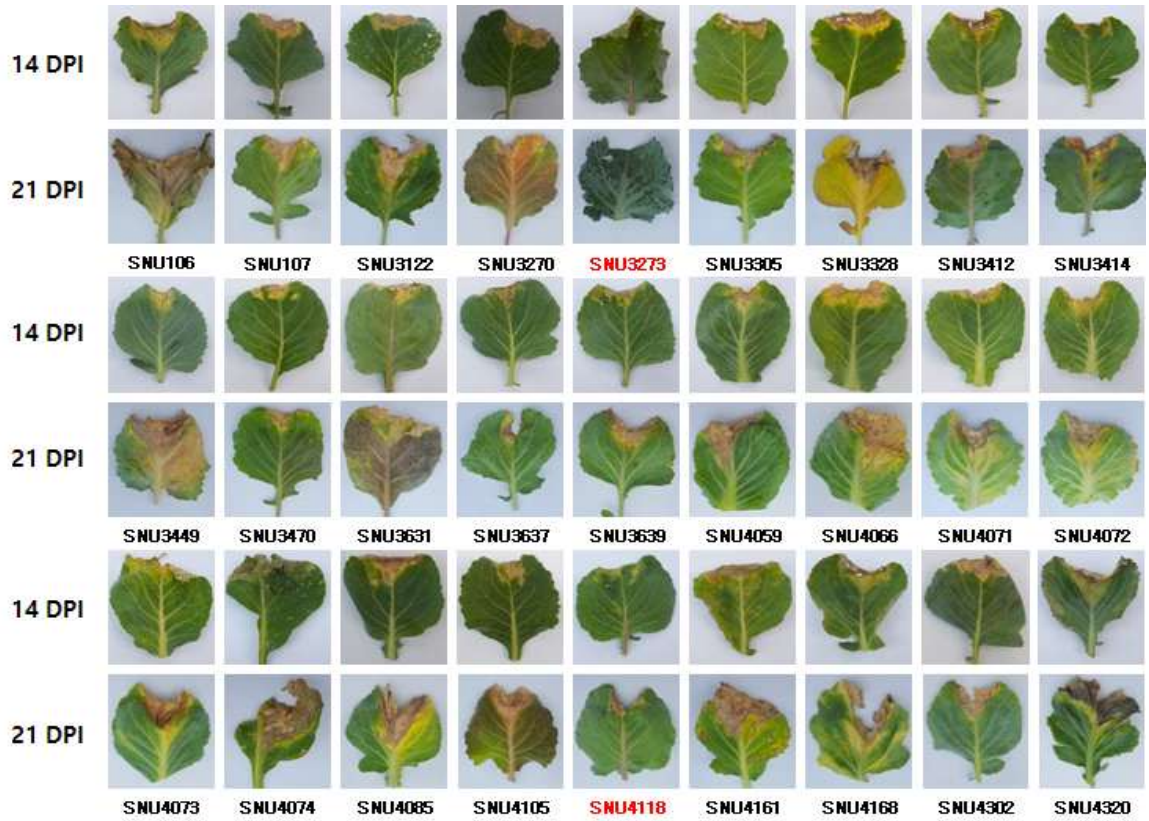


그림 20. 양배추 검은썩음병 race 3에 대한 접종 실험 및 결과

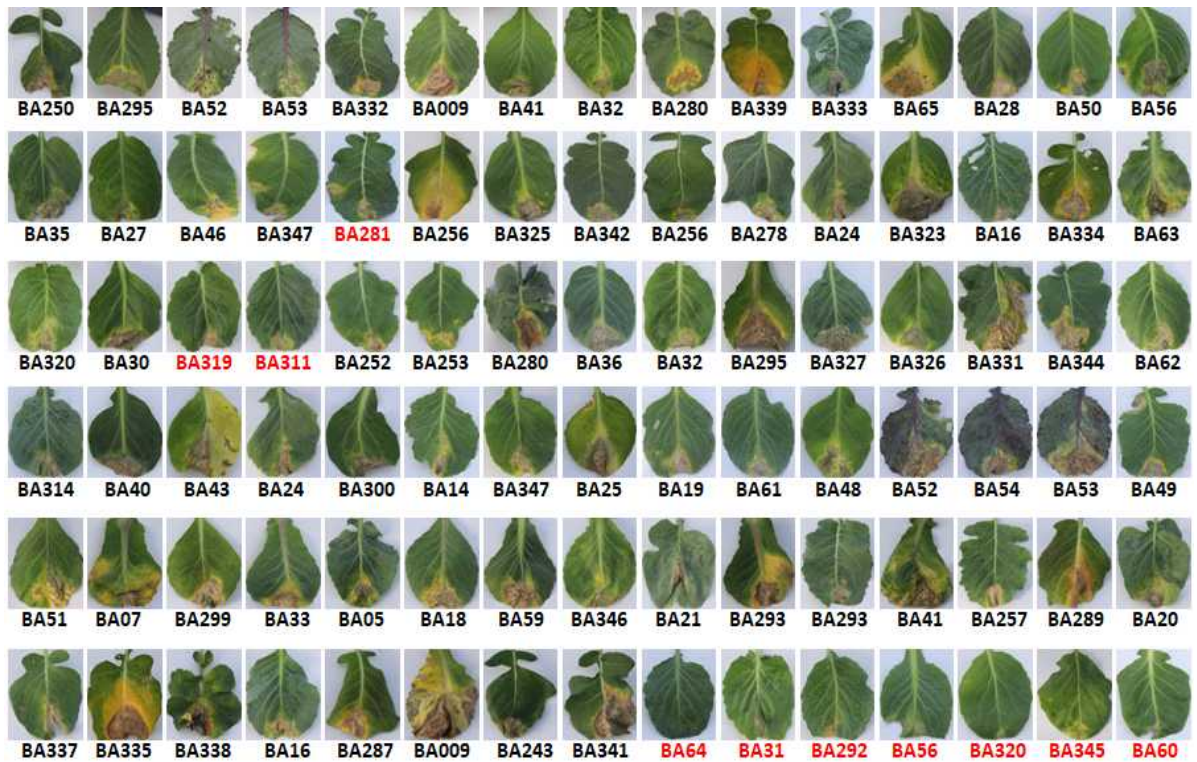


그림 21. 양배추 검은썩음병 race 4에 대한 접종 실험 및 결과



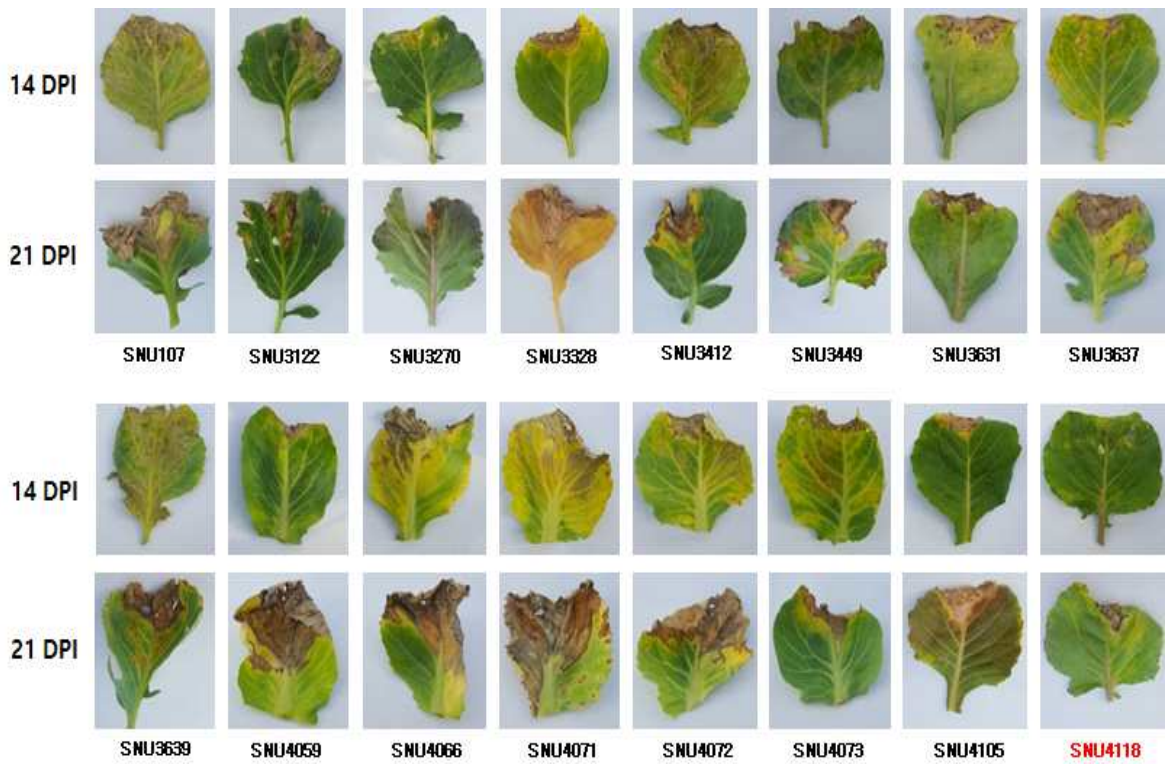


그림 22. 양배추 검은썩음병 race 5에 대한 접종 실험 및 결과

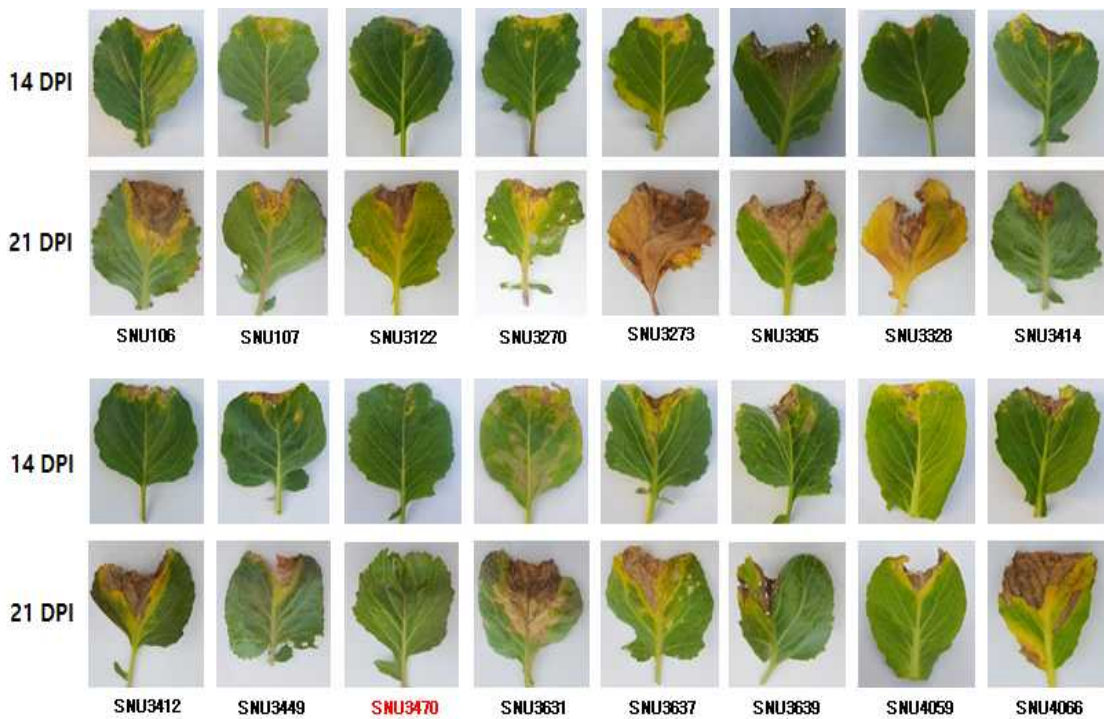


그림 23. 양배추 검은썩음병 race 6에 대한 접종 실험 및 결과

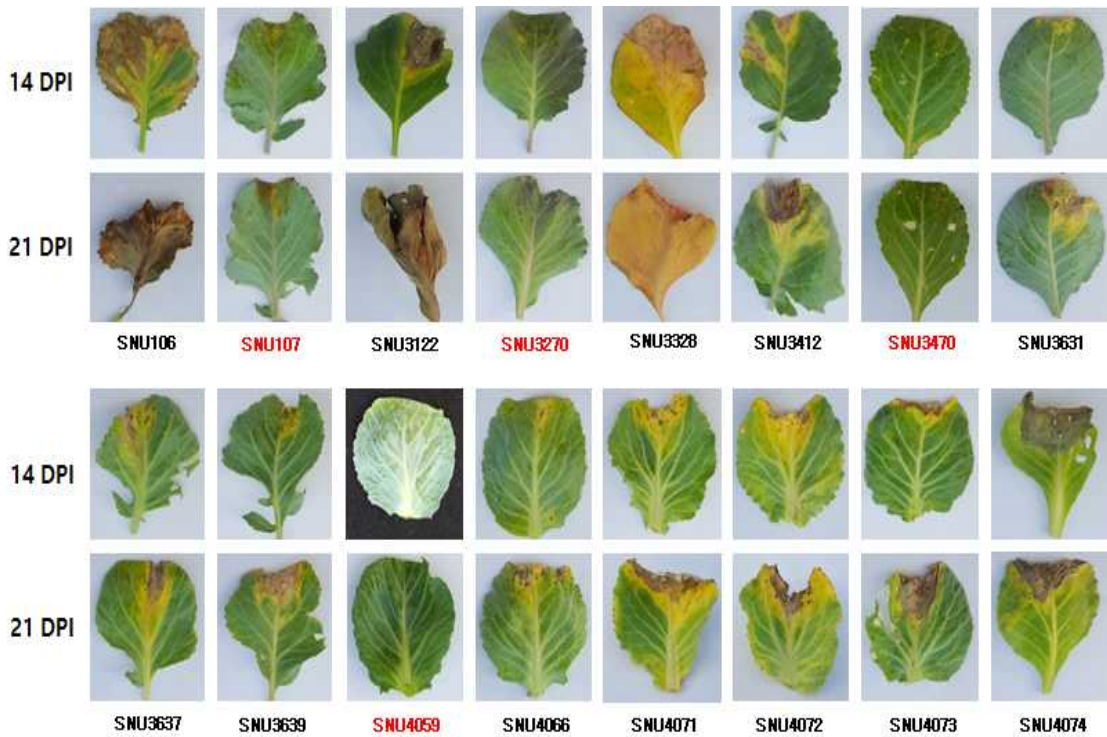


그림 24. 양배추 검은썩음병 race 7에 대한 접종 실험 및 결과

표 5. 7개 race를 이용한 저항성 계통 선발

Races	Selected resistant lines
R1	BA32, BA321
R2	SNU3631, SNU3637, SNU3639, SNU4066, SNU4072, SNU4073
R3	SNU3273, SNU4118
R4	BA281, BA319, BA311, BA64, BA31, BA292, BA56, BA320, BA345, BA60
R5	SNU4118
R6	SNU3470
R7	SNU107, SNU3270, SNU3470, SNU4059

## (2) 양배추 검은썩음병균 race 4 동정용 분자마커 개발

검은썩음병균(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, (*Xcc*))은 현재까지 11개의 race가 보고되어 있으며, 이 중 양배추류에 있어서 race 1과 race 4가 가장 빈번하게 검은썩음병을 발병시킨다고 보고되고 있다. 이에 본 연구는 배추과 작물의 검은썩음병균(*Xcc*) race 4을 다른 race 및 균주로부터 신속하게 검출하고 동정하기 위한 분자 마커를 개발하기 위하여 수행하였다.



우선 본 연구를 수행하기 위하여 기 보고된 4개의 검은썩음병균(*Xcc*) race1, race3, race4, race9, *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*(*Xci*), *Xanthomonas campestris* pv. *raphan*(*Xcr*), *Xanthomonas euvesicatoria*(*Xev*)의 유전체 염기 서열을 확보하였다. 7개의 확보된 유전체들을 비교하여 race 4 특이적 영역을 확인하기 위하여 Mauve(version 2.4.0)를 사용하여 “Align with progressive Mauve” 방식으로 정렬하였고 Geneious (Free trial version, version 11.0.3)를 이용하여 race 4 대한 특이적 영역을 확인하였다(그림 25). 이렇게 확인된 특이적 영역으로부터 다수의 primer set들을 디자인하여 실험을 수행하였다. 또한 본 실험에 사용된 균주들은 *Xcc* race (race 1-7)와 *Xc* pathovar WHRI-6377 (*Xci*), WHRI-8305 (*Xcr*) DNA는 영국 워릭대학교 (University of Warwick) Welles Bourne 캠퍼스 (HRIW)의 자원센터에서 분양 받았다. *Xanthomonas* 균주 (KACC10490, KACC11153, KACC17821, KACC17126, KACC10491)는 한국 농촌진흥청 농업생명자원센터(KACC), 기타 식물병원균 ICMP13051과 ICMP12464는 랜드케어 연구소(Landcare Research, Auckland, New Zealand), NIHHS1326은 국립원예특작과학원에서 분양받아 실험에 이용하였다. Race 4 대한 특이적 영역으로부터 디자인된 다수의 primer set들과 분양받은 균들의 DNA를 이용하여 실험한 결과, 다수의 primer set 중 2개의 primer set(*Xcc*1\_46R4, *Xcc*2\_46R4)에서 race 4 특이적인 PCR 증폭을 확인할 수 있었다(표 6, 그림 26). 또한 이 2개의 primer set 및 각각의 race들을 감염시킨 잎으로부터 직접 추출된 DNA를 이용하여 PCR 실험을 수행한 결과 역시, 이들 2개의 primer set들은 race 4 특이적으로 PCR 산물이 증폭되었다(그림 27). 이러한 결과들은 이 2개의 primer set들은 race 4를 동정하기 위한 매우 유용한 primer set라는 것을 시사하였다.

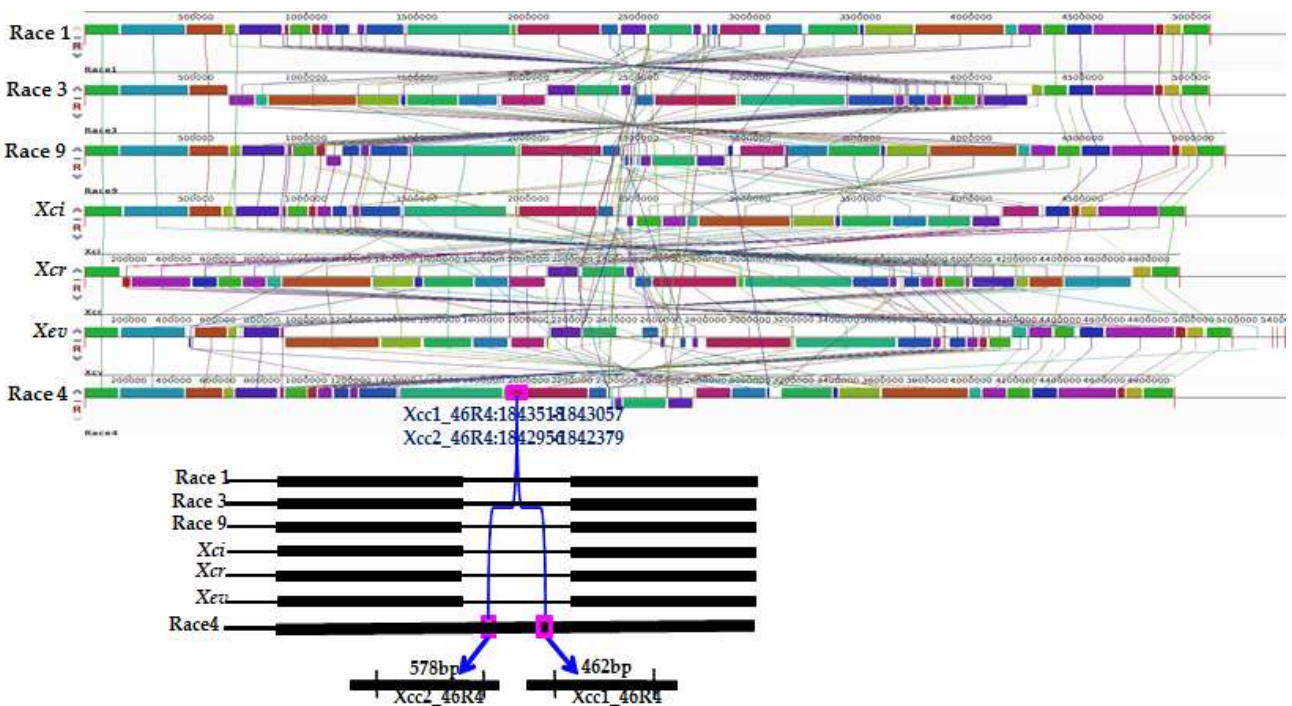


그림 25. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, (*Xcc*) race 1, 3, 4, 9, *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*(*Xci*), *Xanthomonas campestris* pv. *raphan*(*Xcr*), *Xanthomonas euvesicatoria*(*Xev*) 균의 유전체 비교

표 6. Race 4 특이적 동정을 위한 프라이머 염기서열.

Primer name		Sequences (5'.....3')	Genomic Position	Gene name	Base pair (bp)	Annealing temperature
Xcc1_46R4	F	GGCATGGGGAATGATCGTTGAC	1843518-1843057	Intergenic	462	66°C, 40 s, 20 cycles
	R	ATGCGGGCGATGGGATGGCCA				
Xcc2_46R4	F	GCGTAGCGAAAACGGTAGTTC	1842956-1842379	Intergenic	578	66°C, 40 s, 20 cycles
	R	GCACAGGCGACCAGCATATGGC				

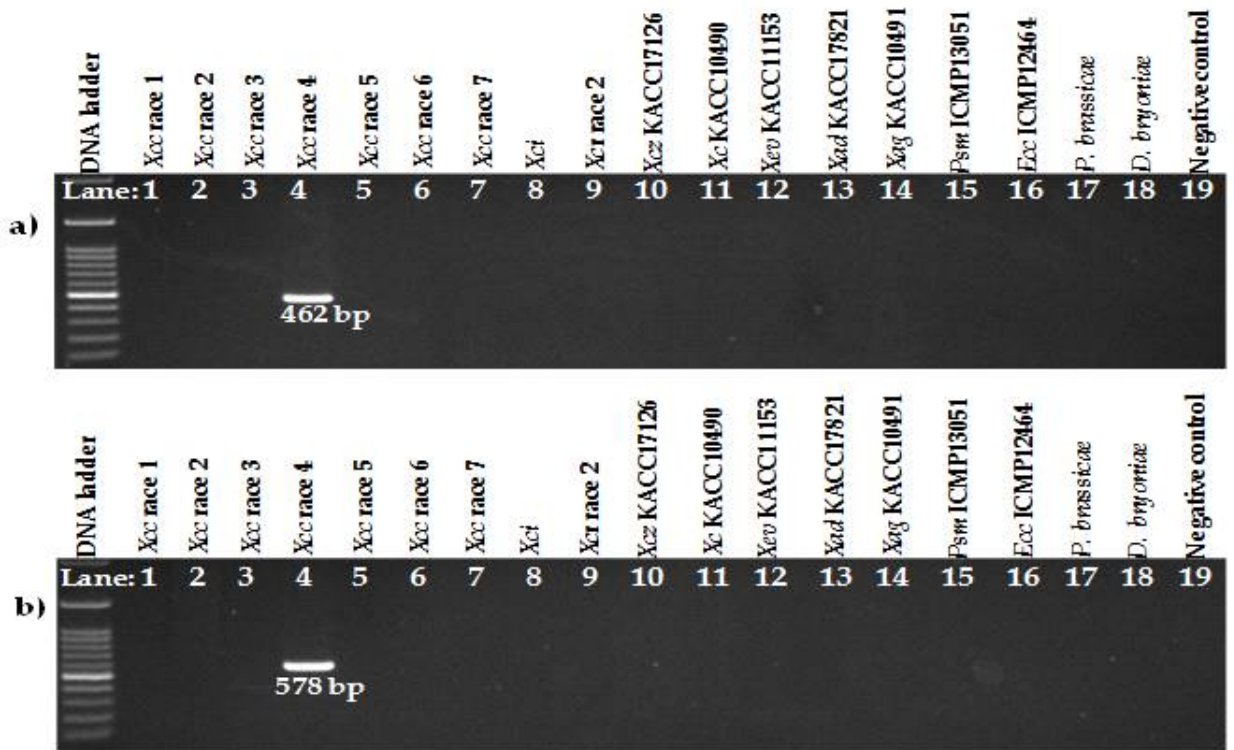


그림 26. Race 4 특이적 마커 개발

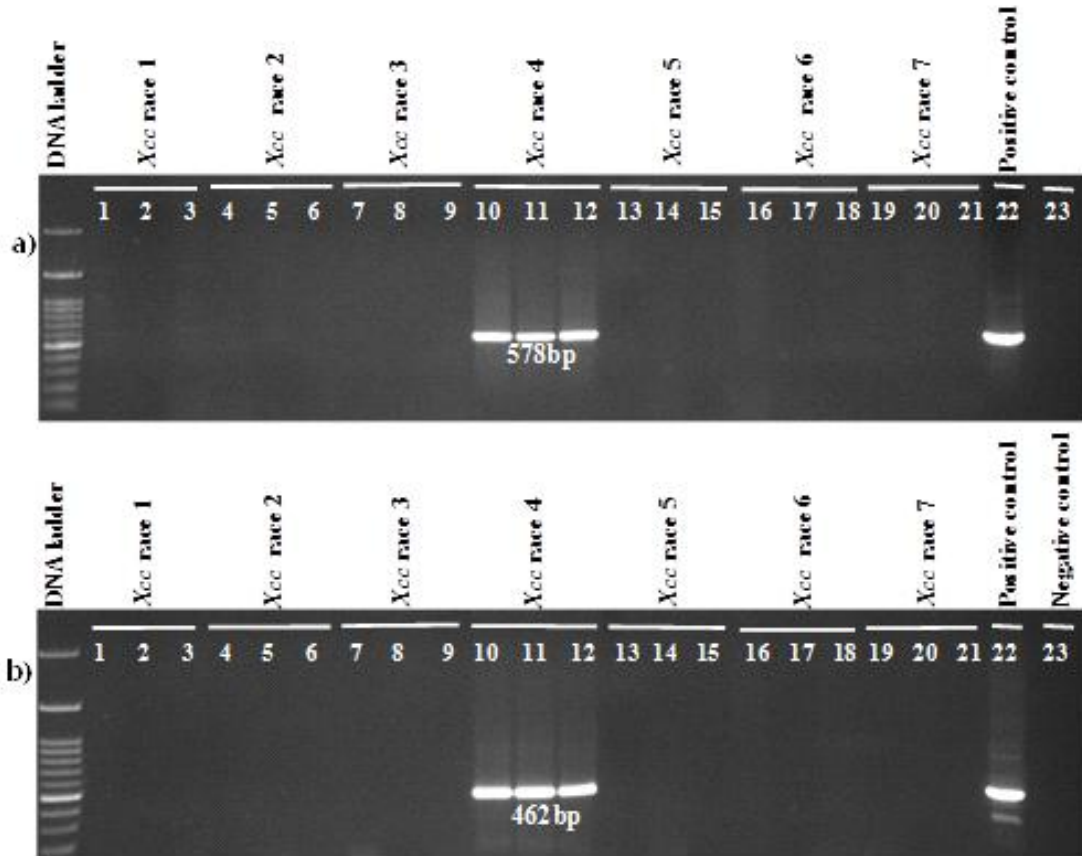


그림 27. Bio-PCR을 통한 race 4 특이적 마커의 실용성 확인

### (3) 제주도 양배추 재배지역의 검은썩음병균 race 검정

검은썩음병균(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, (*Xcc*))은 현재까지 11개의 race가 보고되어 있으며, 이 중 양배추류에 있어서 race 1과 race 4가 가장 빈번하게 검은썩음병을 발생시킨다고 보고되고 있다. 또한 국내 양배추 생산량은 2017년 기준 330,886톤을 생산하고 있으며, 이 중 제주도에서 108,768톤으로 약 30%정도를 제주도에서 생산하고 있는 양배추 주 재배지역이다. 이에 본 연구는 제주도 양배추 재배지역(애월읍, 한림읍, 한경면, 안덕면, 대정읍)으로부터 2년(2019년 17지역 및 2020년 24지역)에 걸쳐 검은썩음병에 감염된 양배추, 브로콜리, 콜라비 등의 옆을 샘플링하였으며(그림 28, 29), 샘플링한 옆은 배지에서 배양하여 다수의 colony을 얻었다. 이들 colony 및 본 연구실에서 개발한 검은썩음병균 race 특이적 분자마커(그림 30, race 1~ race 6)를 이용하여 각각의 양배추 재배지역에 존재하는 검은썩음병균 race 들을 검정하였다. 우선 배양된 각각의 colony들이 검은썩음병균 인지를 확인하기 위하여 본 연구실에서 개발한 검은썩음병균 특이적 마커를 이용하여 검정한 후, 검은썩음병균 특이적 마커에 특이적으로 증폭된 colony 들만을 이용하였다. 또한 이들 colony과 검은썩음병균 race 1, 2, 3, 4, 5, 6 특이적 마커들을 이용하여 각각의 colony들이 어떤 검은썩음병균 race들인지를 검정하였다.

그 결과 2019년에 수집된 17개 지역 모든 양배추 재배지역에서 검은썩음병균 race 1번이 검출되었으며, 한림읍 수원리에서는 race 1번과 race 4번이 각각 검출되었다(표 7). 또한 2020년에 수집된 24개 지역의 양배추 재배지역 중 12개 지역(대정읍 상모리 2156-3, 대정

읍 신도리 1121-1, 대정읍 영락리 1136, 애월읍 광지리 744-2, 애월읍 봉성리 2121-1, 애월읍 어음리 2316, 애월읍 하가리 1066-2, 한경면 두모리 2452-1, 한경면 신창리 1077-1, 한림읍 귀덕리 448-4, 한림읍 대림리 593-4, 한림읍 수원리 272-12)에서 race 1번만이 검출되었으며, 2개의 지역(대정읍 신평리 230-1, 안덕면 서광리 367-2)에서 race 4번만이 검출되었다. 그리고 6개 지역(대정읍 무릉리 502, 대정읍 무릉리 2161, 대정읍 신도리 303, 애월읍 신음리 975, 한경면 고산리 458, 한림읍 수원리 264-16)에서는 race 1번과 race 4번이 동시에 검출되었다. 그러나 4개의 지역(대정읍 동일리 2392-2, 대정읍 보성리 2077-21, 한경면 판포리 87-1, 한림읍 상대리 2875-2)에서 검출된 검은씩음병균은 race 1, 2, 3, 4, 5, 6번 특이적 마커로는 검출할 수 없었다. 이 결과는 이들 4개의 지역에 race 7, 8, 9, 10, 11번중에 한 개 이상의 race들이 존재하거나 아니면 아직 보고되어지지 않은 신규 race들이 존재할 가능성이 있는 것으로 생각되어진다(그림 30, 31, 표 8).

이러한 2019년 및 2020년에 수집된 검은씩음병균 실험 결과는 양배추류에 있어서 race 1과 race 4가 가장 빈번하게 검은씩음병을 발병시킨다는 보고와 일치하였으며, 제주도 지역에도 race 1과 race 4가 존재한다는 것을 확인할 수 있었다.



그림 28. 제주도 양배추 재배지역으로부터 검은씩음병균 채집 지역(2019년)



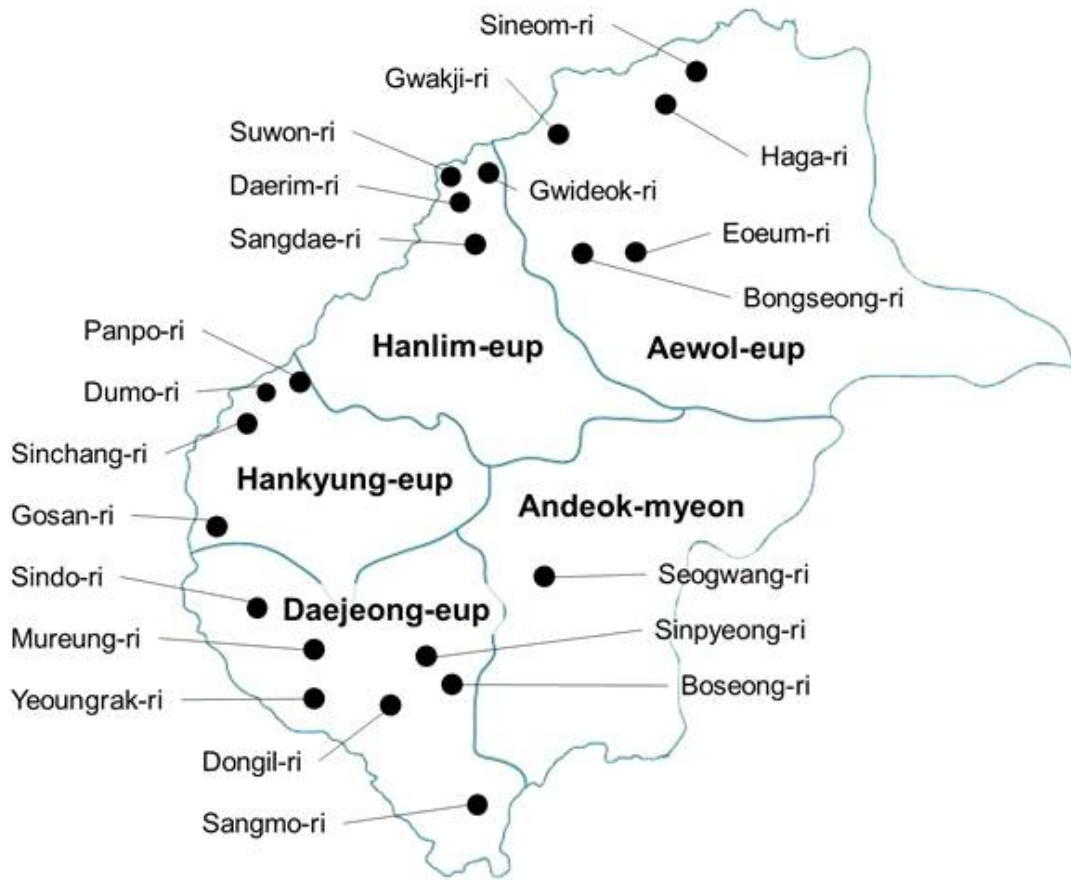


그림 29. 제주도 양배추 재배지역으로부터 검은썩음병균 채집 지역(2020년)

표 7. 검은썩음병균 race 특이적 분자마커를 이용한 2019년 제주도 양배추 재배지역에서 수집된 검은썩음병균의 race 검정 결과

No.	Place name	Sources	Xcc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
1	애월읍	하가리	cabbage	5	2	-	-	-	-
2		어음1리	cabbage	59	12	-	-	-	-
3		어음1리	cabbage	17	13	-	-	-	-
4		어음2리	cabbage	8	1	-	-	-	-
5		곽지리	cabbage	5	2	-	-	-	-
6	한림읍	귀덕리	cabbage	17	1	-	-	-	-
7		수원리	cabbage	22	4	-	-	5	-
8		대림리	cabbage	5	3	-	-	-	-
9	한경면	두모리 1	red cabbage	22	8	-	-	-	-
10		고산리	broccoli	6	4	-	-	-	-
11		고산리 1	broccoli	3	3	-	-	-	-
12		고산리	red cabbage	18	10	-	-	-	-
13	안덕면	상천리	cabbage	4	1	-	-	-	-
14	대정읍	상모리	cabbage	1	1	-	-	-	-
15		신평리	cabbage	2	1	-	-	-	-
16		신도2리	cabbage	11	1	-	-	-	-
17		무릉리 1	kholbrabi	8	2	-	-	-	-



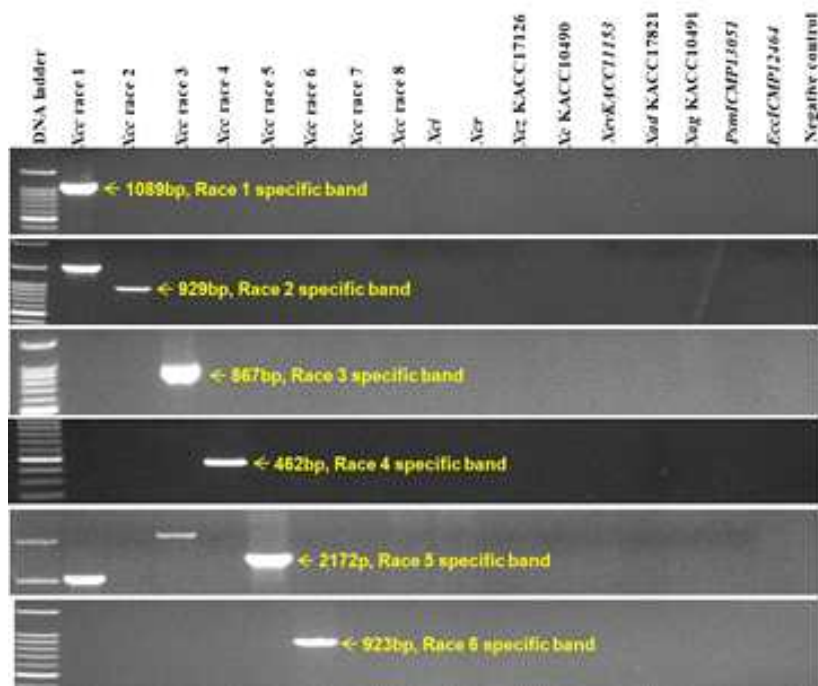
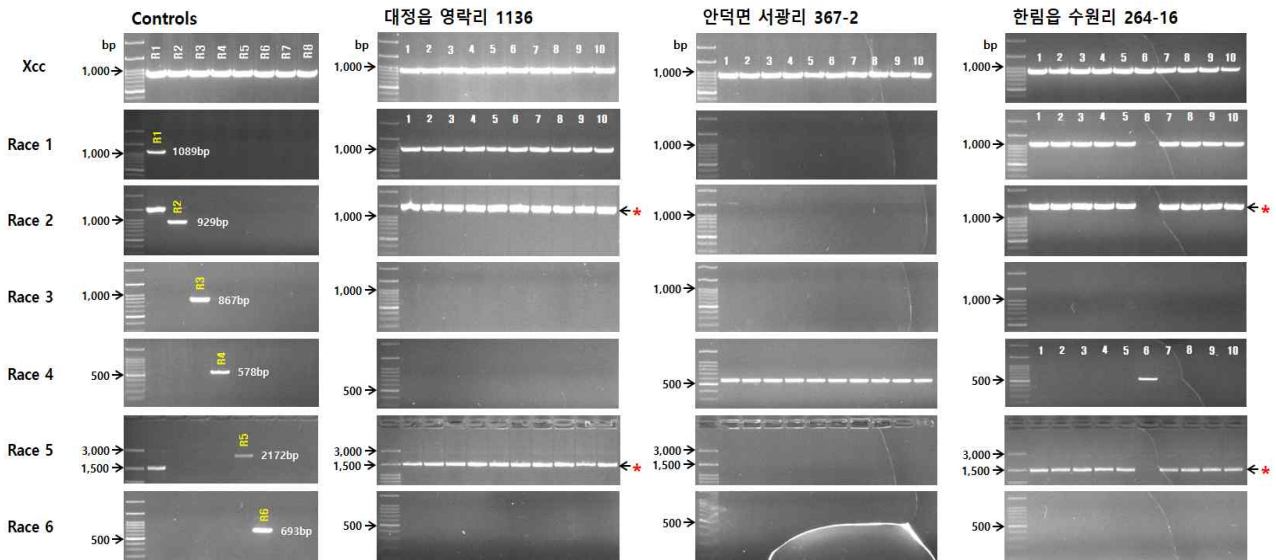
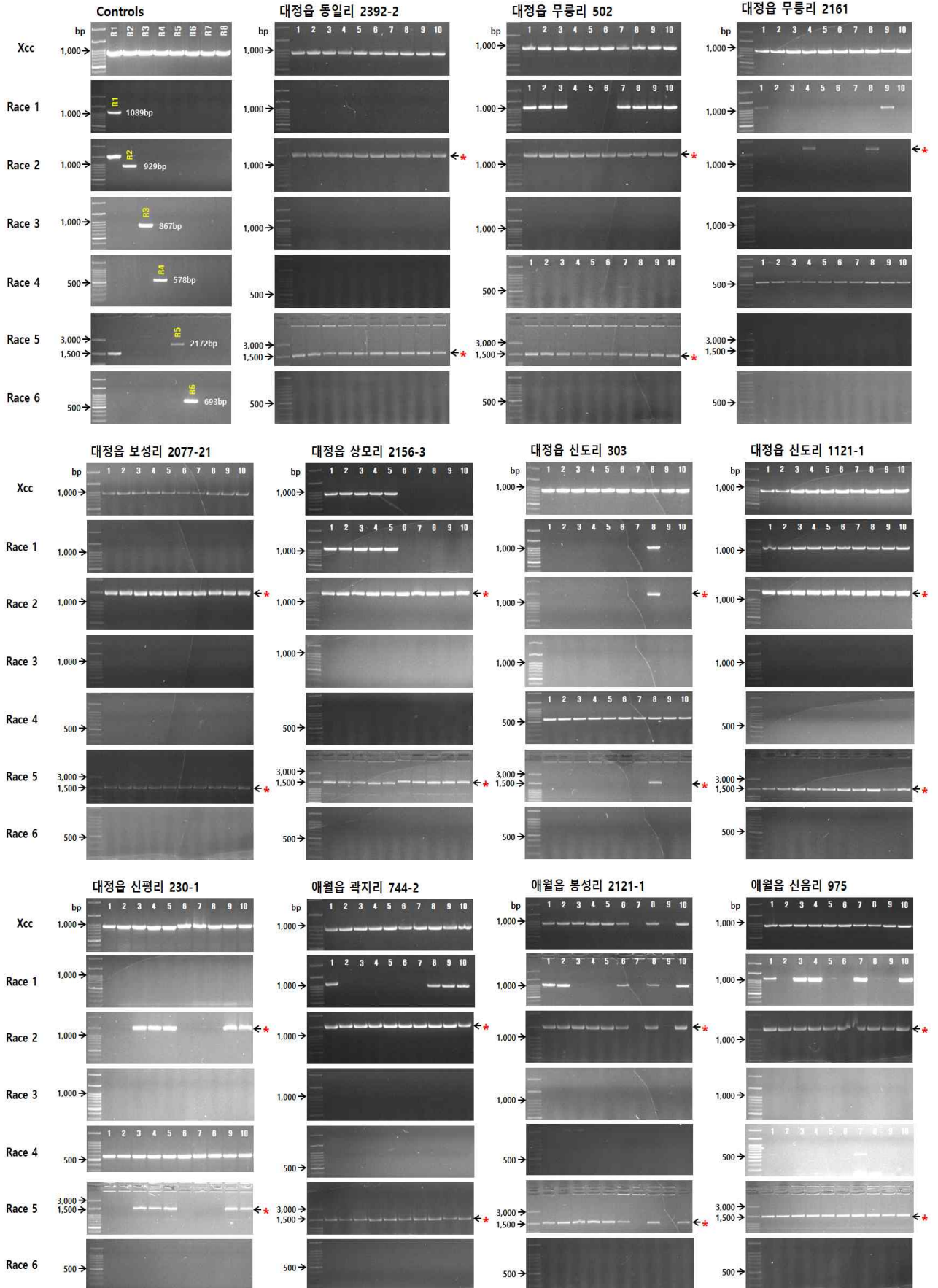
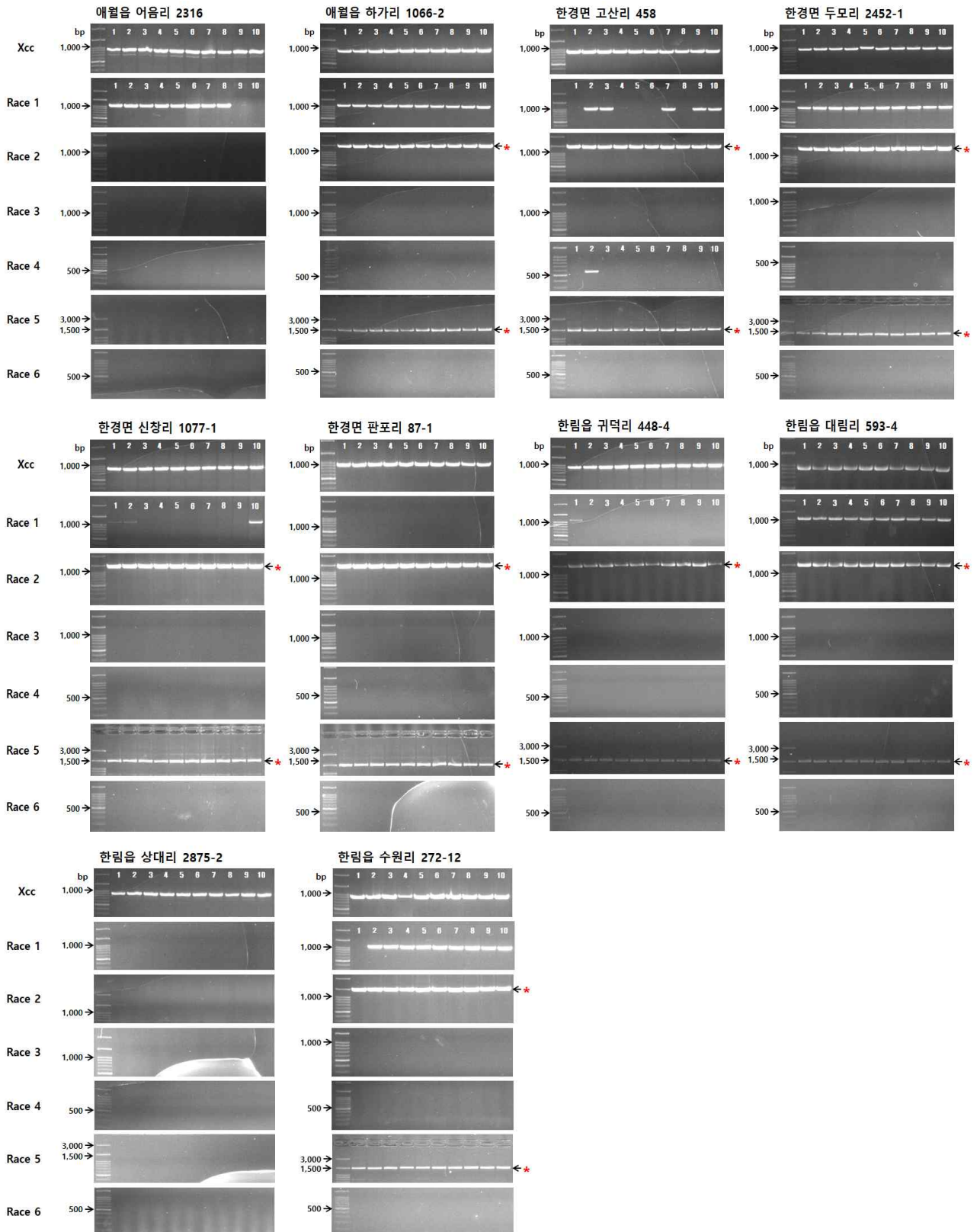


그림 30. 검은썩음병균 race 특이적 분자마커







\* : non-specific bands

그림 31. 2020년 제주도 24개 양배추 재배지역에서 수집된 검은썩음병균 및 검은썩음병균 race 특이적 분자마커를 이용한 PCR 분석 결과

표 8. 검은씩음병균 race 특이적 분자마커를 이용한 2020년 제주도 양배추 재배지역에서 수집된 검은씩음병균의 race 검정 결과

No	Collection place		Sources	Xcc	Race					
					1	2	3	4	5	6
01	대정읍	동일리 2392-2	Cabbage	10	X	X	X	X	X	X
02		무릉리 502	Cabbage	10	○	X	X	○	X	X
03		무릉리 2161	Cabbage	10	○	X	X	○	X	X
04		보성리 2077-21	Broccoli	10	X	X	X	X	X	X
05		상모리 2156-3	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
06		신도리 303	Cabbage	10	○	X	X	○	X	X
07		신도리 1121-1	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
08		신평리 230-1	Cabbage	10	X	X	X	○	X	X
09		영락리 1136	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
10		안덕면	서광리 367-2	Cabbage	10	X	X	X	○	X
11	애월읍	곽지리 744-2	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
12		봉성리 2121-1	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
13		신음리 975	Cabbage	10	○	X	X	○	X	X
14		어음리 2316	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
15		하가리 1066-2	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
16	한경면	고산리 458	Cabbage	10	○	X	X	○	X	X
17		두모리 2452-1	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
18		신창리 1077-1	Broccoli	10	○	X	X	X	X	X
19		판포리 87-1	Cabbage	10	X	X	X	X	X	X
20	한림읍	귀덕리 448-4	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
21		대림리 593-4	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X
22		상대리 2875-2	Cabbage	10	X	X	X	X	X	X
23		수원리 264-16	Cabbage	10	○	X	X	○	X	X
24		수원리 272-12	Cabbage	10	○	X	X	X	X	X

#### 다. 양배추 둥근무늬병 분자마커 개발 연구

양배추에서 발병하는 둥근무늬병(Ring spot)은 곰팡이 중 하나인 *Mycosphaerella brassicicola*에 의해 발생하며, 온화하면서 습한 기후에 둥근무늬병이 확산되어 양배추 재배지에 심각한 병해를 일으킨다. 또한 둥근무늬병의 곰팡이는 포자 상태로 여러 해 동안 살아남아, 계속해서 둥근무늬병이 발병하여 심각한 문제가 되고 있다. 특히, 둥근무늬병은 고온 다습한 환경에서 번식이 활발하여, 국내육성 양배추 해외수출국인 인도, 베트남 등에서 가장 문제가 되고 있다. 화학적 제제를 살포하여 병의 발생을 방지하는 방법이 있긴 하나, 지속적인 농약 살포로 인한 잔류농약이 식품 안전상 문제가 되고 있으므로 궁극적으로는 둥근무늬병 저항성 품종을 육성하는 것이 가장 바람직한 방법이다. 국내에서는 둥근무늬병에 대한 연구가 전무한 상황이며, 해외에서는 Zornbach (1990)가 독일, 프랑스, 네덜란드에서 29개의 병원균을 수집하여 분석한 바 있으며, Van Den Ende (1993)은 네덜란드에서 병원균을 수집 및 분석하여 기후에 따른 병원균의 반응을 연구한 바 있으나, 아직까지 해외에서도 둥근무늬병에 대한 연구가 미진한 상황이다.

둥근무늬병에 저항성을 가지는 양배추 품종의 육성을 위해서는 둥근무늬병에 저항성을 가지는 유전자원을 찾는 일이 가장 시급한 일이며, 더불어 저항성 유전자원을 가지고 상용 품종을 육성하기 위해서는 둥근무늬병 저항성 개체를 조기에 선별할 수 있는 분자마커의 개발이 필수적이다. 둥근무늬병의 저항성을 판별할 수 있는 분자마커의 개발로 육성된 둥근무늬병 저항성 양배추 품종을 동남아 등지에 수출함으로써 고부가가치를 창출할 수 있을 것이다.

둥근무늬병에 대한 저항성 및 이병성 유전자원을 탐색하기 위해 둥근무늬병에 대한 병리검정을 수행하였다. 병리검정에 사용한 병원균은 뉴질랜드로부터 분양받은 'IPO99008'을 이용하였다. 병원균의 포자수집을 위하여, 분양받은 병원균을 V8 agar 배지에 치상한 후 12시간 UV (380 nm) 및 12시간 암상태 주기로 17°C에서 4주간 배양하였다. 병원균을 배양한 배지에 250 ml의 증류수를 이용하여, 포자를 수집한 후, 혈구계산기를 이용하여  $1.6 \times 10^5$ /ml 농도를 만들어 접종에 이용하였다. 병원균 접종은 45일 동안 키운 양배추 (3엽기) 식물을 이용하였으며, 식물 당 3ml 씩 스프레이로 분무하였으며, 3반복을 수행하였다. 접종 후 식물체를 습도가 높은 사각플라스틱 용기에 넣은 후 뚜껑을 덮고, 광량이 적은 (1000 lux) 조건에서 16시간 광상태, 8시간 암상태 주기로 15°C에서 6일간 배양하였다. 접종 6일 후 사각플라스틱 용기의 뚜껑을 제거한 후 높은 습도상태의 17~20°C에서 접종 후 18일, 24일, 28일 및 30일에 첫 번째 엽의 병징을 확인하였다. 둥근무늬병의 병리검정을 위한 재료로는 연구실에서 보유하고 있는 18개의 양배추 유전자원을 이용하였다. 그 결과 접종 후 30일에 대부분의 양배추 계통에서 이병성을 보였으며, 특히 두개의 계통(SNU4072, SNU4071)에서는 저항성을 보였다(그림 32). 병리검정을 통하여, 선발된 저항성 계통 및 이병성 계통을 이용하여 F<sub>1</sub>을 작성하였다. 이 후, F<sub>1</sub>을 selfing하여 F<sub>2</sub> 집단 종자를 확보하였다. 이 F<sub>2</sub> 집단은 접종 실험 후 표현형을 관찰하여 분리비를 확인한 후 분자마커 개발에 활용할 것이다.



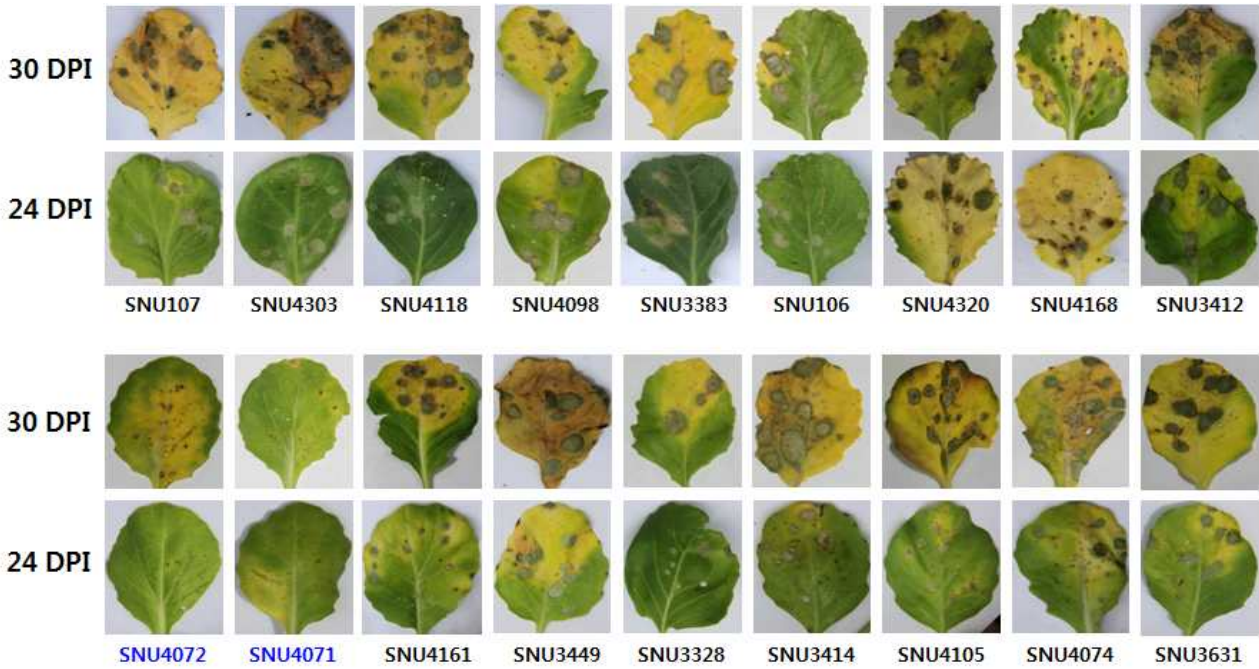


그림 32. 둥근무늬병 병원균에 대한 18개의 양배추 유전자원의 병리검정 결과

또한 양배추 whole genome sequencing을 탐색하여 병 저항성에 관여 한다고 보고된 LBS-LRR 유전자 121개를 동정하여 프라이머를 디자인한 후(그림 33), 둥근무늬병에 저항성 계통과 이병성 계통을 이용하여 다형성을 검정하였다. 그 결과 6개의 프라이머 조합에서 저항성 계통과 이병성 계통을 구분 할 수 있었다(그림 34).

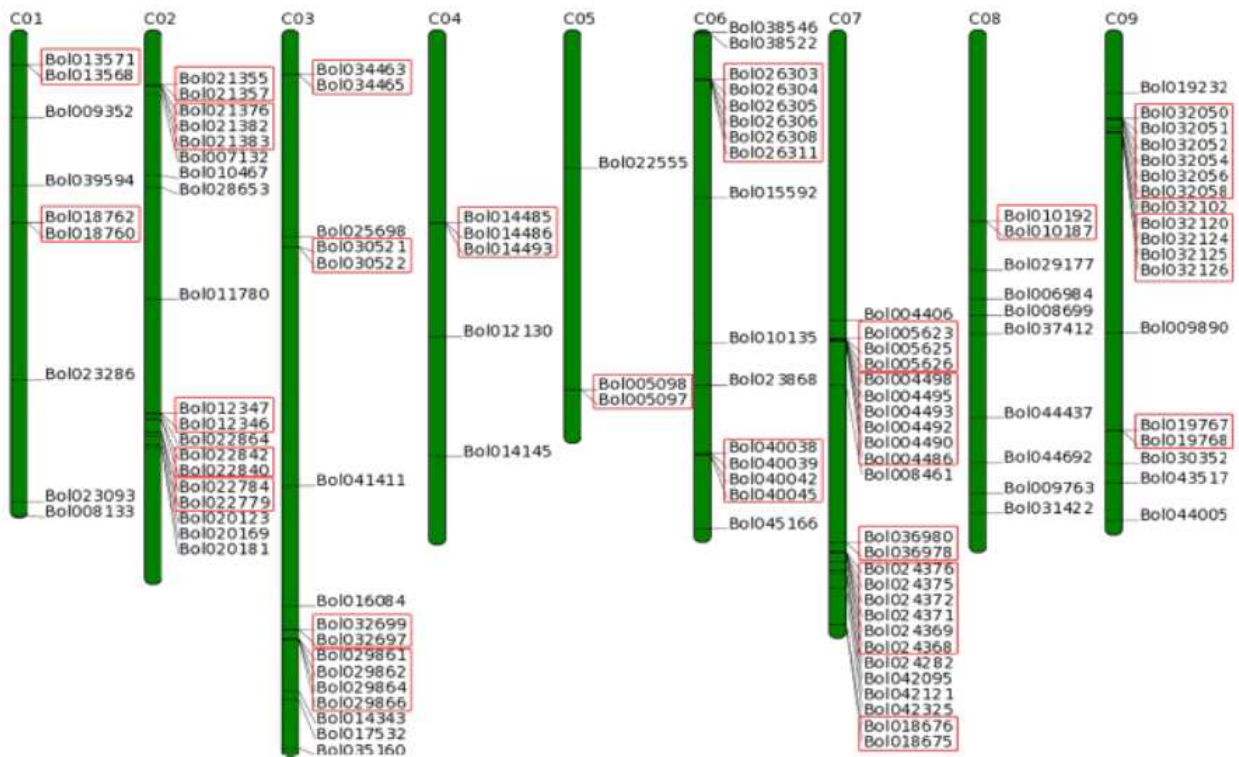


그림 33. 양배추 유전체를 이용하여 121개의 NBS-LRR 유전자 동정

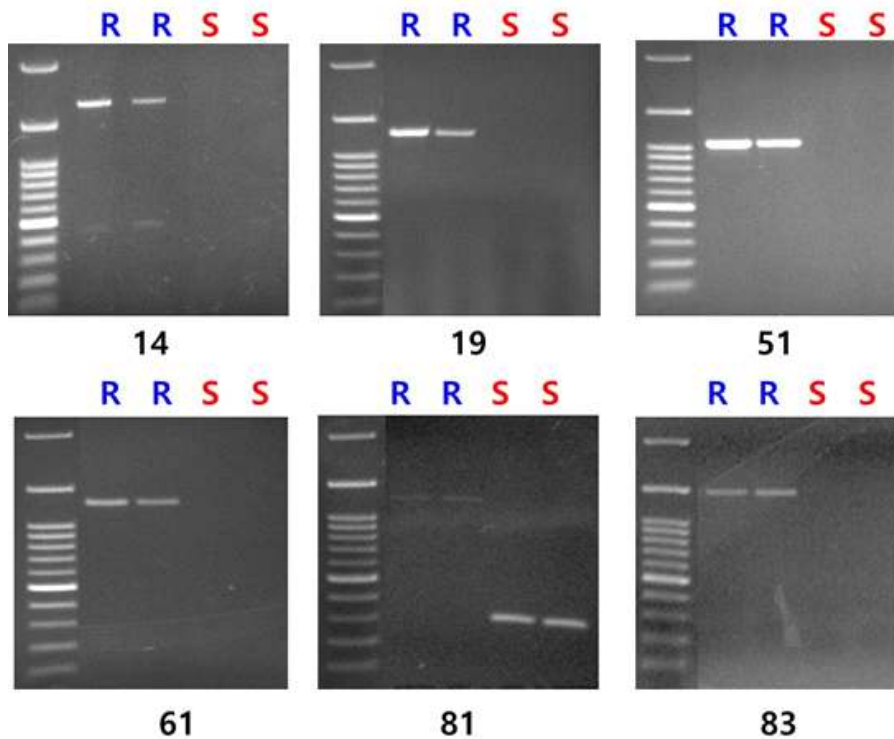


그림 34. NBS-LRR 유전자들로부터 디자인된 프라이머 조합들로부터 등근무늬병 저항성 및 이병성 구분

#### 라. 열구 관련 분자마커 개발 연구

양배추의 품질을 떨어뜨리는 중요한 형질로써 여러 가지 형질이 있지만, 그 중에서 가장 문제가 되는 것은 구가 갈라지는 열구 현상이다. 지금까지 열구나 갈라짐 현상은 양배추를 비롯하여 배추, 토마토, 체리, 사과, 리치에서도 발생하여 문제가 되고 있다. 현재까지 열구 현상에 관하여 진행된 연구로는 환경적인 요소와 해부학적인 요소에 대해서만 언급되고 있는 상황이다. 열구 현상에 관한 환경적인 요소로는 수분함량의 증가, 온도의 변동, 광 노출에 의해 발생하는 것으로 보고되었으며, 해부적인 요소로는 큐티클 막의 두께와 매우 관련이 높은 것으로 알려져 있다. 하지만, 아직까지 열구 현상에 대한 유전학적인 연구가 진행되어 있지 않아, 분자생물학적인 접근에 의해 양배추 초기 생육시 열구에 약한 개체를 선발함으로써 양배추 재배시 열구에 의한 피해를 직접적으로 줄이는 데, 크게 기여할 수 있는 방안이 될 수 있을 것이다. 열구의 유전현상을 연구하기 위한 재료로서, 국내 양배추 육종회사로부터 열구에 강한 계통과 열구에 약한 계통을 분양받아 두 계통 간의 교배에 의해  $F_1$ 을 작성하였으며,  $F_1$ 의 자식수분에 의해 214개체의  $F_2$  집단을 작성하였다.

$F_1$  작성을 위해 사용한 양친 중 모계는 열구에 강한 계통이며, 부계는 열구에 약한 계통으로 이 두 계통간의 교배에 의해 작성된  $F_1$ 의 표현형은 열구 현상이 발생하였다. 이는 열구 현상이 우성으로 유전됨을 알 수 있었다(그림 35).  $F_2$  집단에 대한 열구 현상의 표현형을 알아보기 위하여,  $F_2$  집단의 표현형 조사시점은  $F_1$ 이 완전 열구된 시점에서 조사

하였으며, 열구가 되지 않은 경우는 ‘0’, 조금만 열구 현상이 있는 경우는 ‘1’, 열구 현상이 심한 경우는 ‘2’ 로 총 3단계의 index를 사용하였다. F<sub>2</sub> 집단의 index별 표현형은 아래 그림 36와 같다.



그림 35. 양친과 F<sub>1</sub>의 열구 형질의 표현형 (좌: 모계, 중앙: 부계, 우: F<sub>1</sub>)



그림 36. F<sub>2</sub> 집단의 표현형에 대한 index (좌: 0, 중앙: 1, 우: 2)

214개체의 F<sub>2</sub> 집단에 대한 전체적인 표현형은 아래 그림 37과 같으며, 각 개체에 대한 열구 현상의 index는 표 9와 같다. F<sub>2</sub> 집단에서 각 개체별 열구 현상의 index가 ‘0’ 인 경우는 75개체, ‘1’ 인 경우는 89개체, ‘2’ 인 경우는 50개체로서 열구 현상은 단인자에 의해 지배되는 형질이 아닌 것으로 판단된다.



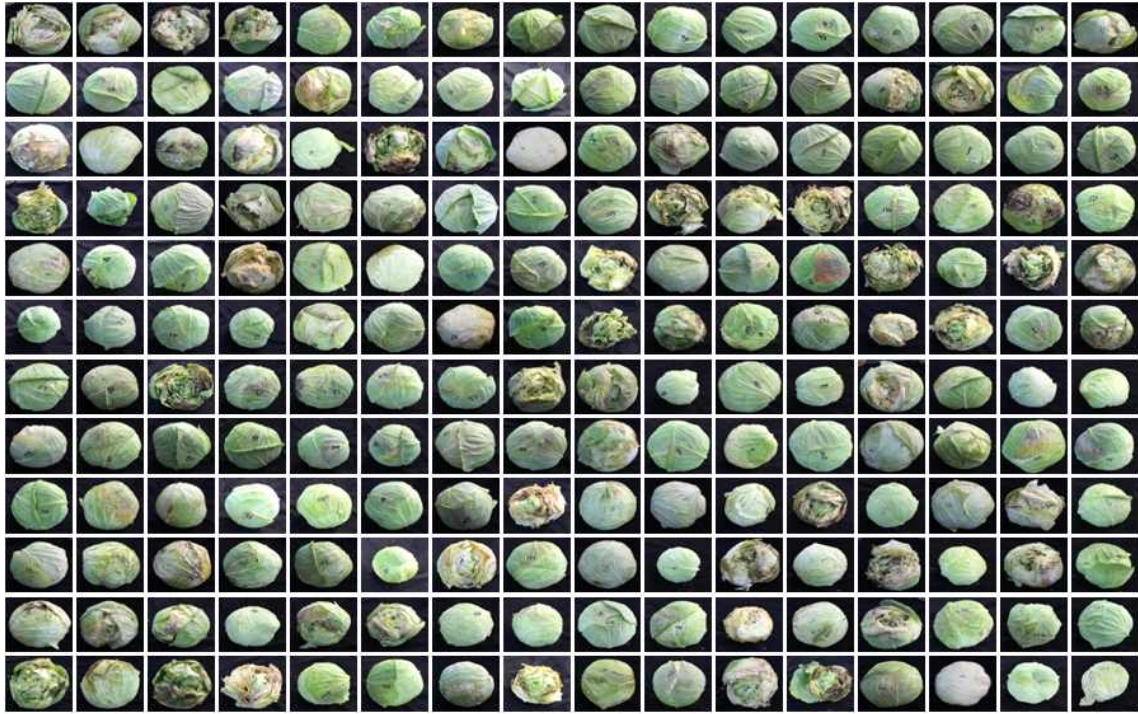


그림 37. F<sub>2</sub> 집단 214개체에 대한 열구 형질의 표현형

표 9. F<sub>2</sub> 집단 214개체에 대한 열구 형질의 index 결과

Acc. No.	Index	Acc. No.	Index	Acc. No.	Index	Acc. No.	Index	Acc. No.	Index
1	1	44	1	87	2	130	1	173	1
2	1	45	0	88	1	131	2	174	1
3	2	46	0	89	0	132	2	175	0
4	0	47	1	90	2	133	1	176	0
5	1	48	2	91	1	134	1	177	1
6	0	49	1	92	0	135	2	178	1
7	1	50	1	93	0	136	2	179	2
8	0	51	0	94	1	137	0	180	2
9	2	52	0	95	1	138	1	181	1
10	0	53	0	96	0	139	2	182	1
11	1	54	1	97	1	140	0	183	2
12	1	55	0	98	0	141	1	184	0
13	1	56	0	99	0	142	2	185	0
14	0	57	2	100	0	143	1	186	0
15	1	58	0	101	0	144	1	187	2
16	2	59	0	102	0	145	2	188	1
17	1	60	1	103	0	146	2	189	2
18	2	61	0	104	0	147	0	190	0
19	2	62	0	105	2	148	0	191	2
20	2	63	0	106	2	149	1	192	1
21	1	64	1	107	2	150	2	193	0
22	2	65	1	108	1	151	2	194	0
23	1	66	0	109	0	152	1	195	2
24	1	67	0	110	1	153	0	196	0
25	1	68	0	111	1	154	1	197	2
26	0	69	0	112	0	155	1	198	1
27	1	70	0	113	1	156	2	199	0

Acc. No.	Index	Acc. No.	Index	Acc. No.	Index	Acc. No.	Index	Acc. No.	Index
28	0	71	0	114	0	157	2	200	1
29	1	72	1	115	1	158	2	201	1
30	2	73	1	116	0	159	2	202	1
31	1	74	1	117	0	160	2	203	2
32	1	75	0	118	1	161	2	204	2
33	0	76	1	119	0	162	1	205	1
34	1	77	1	120	1	163	2	206	2
35	0	78	1	121	0	164	0	207	0
36	1	79	1	122	1	165	0	208	2
37	0	80	2	123	1	166	2	209	2
38	0	81	0	124	0	167	0	210	0
39	0	82	0	125	2	168	0	211	2
40	1	83	1	126	1	169	1	212	1
41	1	84	1	127	1	170	1	213	1
42	1	85	0	128	0	171	1	214	2
43	1	86	1	129	1	172	1		

F<sub>2</sub> 집단에 대하여 열구 및 비열구를 구분할 수 있는 단일염기다형성(SNP)를 찾기 위해 RAD-seq을 수행하였으며, RAD-seq을 수행한 개체에 대한 표현형은 아래 그림 38와 같다. RAD-seq을 수행한 결과, 총 752개의 SNP를 얻었으며, 이 SNP들은 9개의 염색체에 고르게 분포하고 있었으며, 염색체 당 45~142개의 SNP가 존재하였다(그림 39). 또한 752개의 SNP는 유전자의 down-stream 쪽에 568개의 SNP로 가장 많이 분포하고 있었으며, 그 다음으로 up-stream에 409개의 SNP가 있었으며, intergenic에 349개, exon에 268개, intron에 115개, splice region에 19개, splice donor에 1개가 위치하고 있었다(그림 40). 이 정보들은 열구 현상에 관한 후보 유전자 선별을 위하여 활용될 것으로 기대된다.



그림 38. F<sub>2</sub> 집단의 열구 및 비열구에 대한 RAD-seq 분석을 위한 샘플

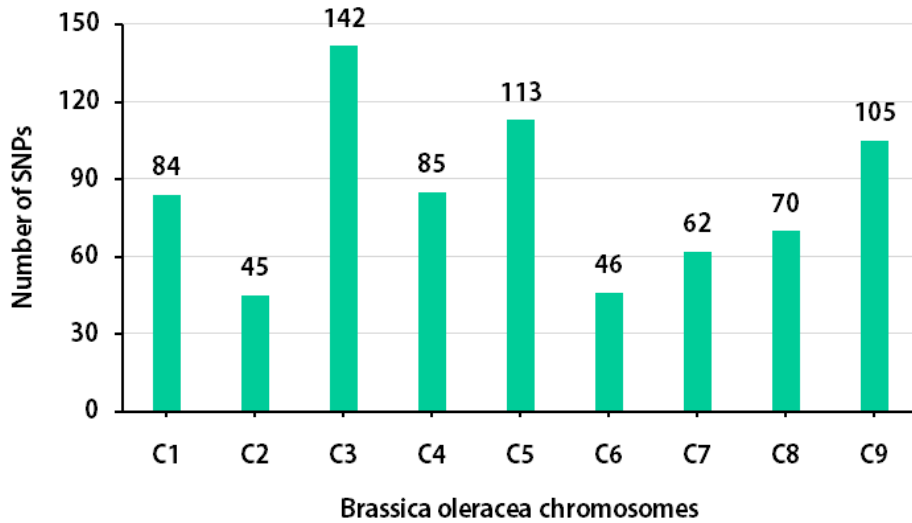


그림 39. F<sub>2</sub> 집단의 RAD-seq 결과에 따른 염색체 간의 SNP의 분포

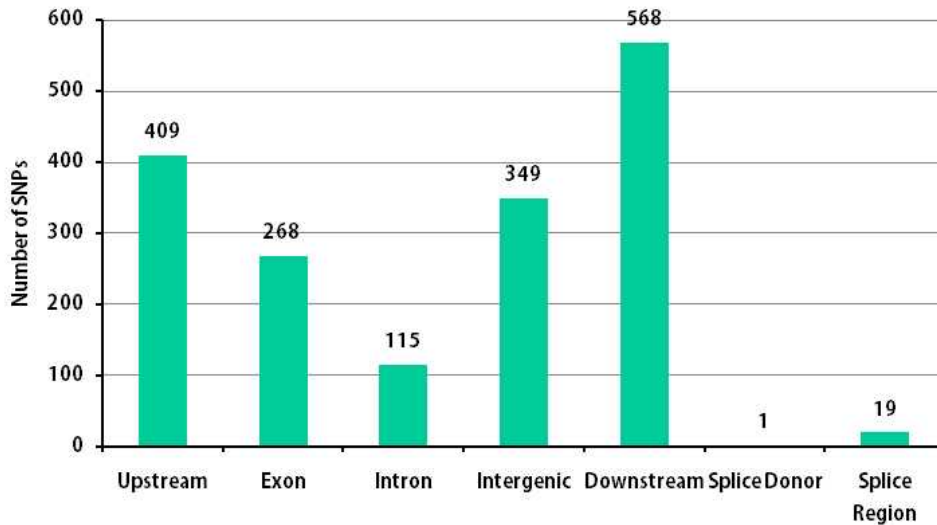


그림 40. F<sub>2</sub> 집단의 RAD-seq 결과에 따른 SNP의 유전체의 구조적 위치에 대한 분포

마. 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 분자마커 개발 연구

(1) 양배추 글루코시놀레이트 성분 분석법 구축

(가) 양배추 글루코시놀레이트 추출

양배추의 글루코시놀레이트 성분 함량 측정을 위해 글루코시놀레이트 추출법을 확립하였다. 확립한 양배추의 글루코시놀레이트 추출법은 다음과 같다. 동결 건조한 분말시료 100 mg에 70% (v/v) boiling methanol (1.5 ml)을 넣고 vortex한 후 70°C 항온수조에 5분간 incubation하여 crude한 글루코시놀레이트를 추출하였다. 추출된 글루코시놀레이트를 pasteur pipette으로 미리 준비해둔 mini-column (DEAE-Sephadex A-25)에 로딩하고 초순수 2 ml(1 ml × 2회)를 이용해 washing하였다. Aryl sulfatase solution (23 mg/ml) 75 ul을 이용하여 상온에서 16시간 방치한 다음 초순수 0.5 ml로 3회 elution하여 시료는 0.45 um hydrophilic PTFE milipore filter (직경 13 mm)로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

(나) 양배추 글루코시놀레이트 성분 및 함량 분석 : Ms/MS 결과, HPLC 방법 기재

글루코시놀레이트 각성분의 함량 분석을 위한 HPLC 분석법을 확립하였다. HPLC 장비는 Agilent 1200 series 모델을 사용하였으며, 컬럼은 ODS-3 glucosinolate (150\*3.0 mm\*5.0 um) column을 사용하였고, Detector로서 PDA-detector (227 nm)를 사용하였다. standard 물질로 sinigrin (0.1 mg/1 ml)을 사용하여 HPLC로 분석된 성분들을 정량하였다. HPLC 분석을 통해 도출된 각 피크의 동정을 위해 AB SCIEX TripleTOF® 5600+ system을 이용하여 positive ion mode로 분석하였으며, 양배추에서 glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, glucoalyssin, glucoiberverin, glucoerucin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin와 같이 11개 성분을 동정하였다 (그림 41, 표 10). 이 확립된 추출법과 함량 분석법을 이용하여 양배추의 글루코시놀레이트 성분 검정, QTL mapping 등에 활용하며 연구수행을 하였다.

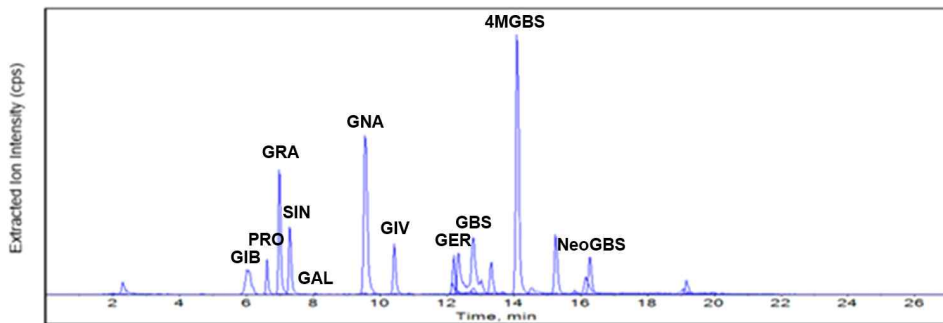


그림 41. Retention time에 따른 양배추 desulfo-glucosinolate 성분

표 10. Desulfo-glucosinolate 분자량 값을 기준으로 동정한 양배추 글루코시놀레이트 성분

Desulfo-glucosinolates	Retention time (min)	Molecular weight (g/mol)	Structure
Glucoiberin (GIB)	6.05	344	[M+H] <sup>+</sup>
Progoitrin (PRO)	6.62	310	[M+H] <sup>+</sup>
Glucoraphanin (GRA)	7.01	358	[M+H] <sup>+</sup>
Sinigrin (SIN)	7.31	280	[M+H] <sup>+</sup>
Glucoalyssin (GAL)	8.14	372	[M+H] <sup>+</sup>
Gluconapin (GNA)	9.57	294	[M+H] <sup>+</sup>
Glucoiberverin (GIV)	10.48	328	[M+H] <sup>+</sup>
Glucoerucin (GER)	12.21	364	[M+Na] <sup>+</sup>
Glucobrassicin (GBS)	12.78	391	[M+Na] <sup>+</sup>
4-Methoxyglucobrassicin (4MGBS)	14.11	399	[M+H] <sup>+</sup>
Neoglucobrassicin (NeoGBS)	16.28	399	[M+H] <sup>+</sup>

(2) 양배추 유전자지도 작성 및 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping

(가) 양배추 집단 유전자 지도 작성

양배추 F<sub>2</sub>집단 (1626집단; 코레곤828×코레곤829의 F<sub>2</sub>집단 90개체/ 1627집단; 코레곤826×코레곤827의 F<sub>2</sub>집단 92개체)의 유전자 지도를 작성하기 위해 2014년에 기 보고된 양배추 유래 SNP 마커 (384 마커, fluidigm 포맷, 실용화재단 기술이전)를 이용하여 genotyping을 수행하였다 (그



림 42, 43).

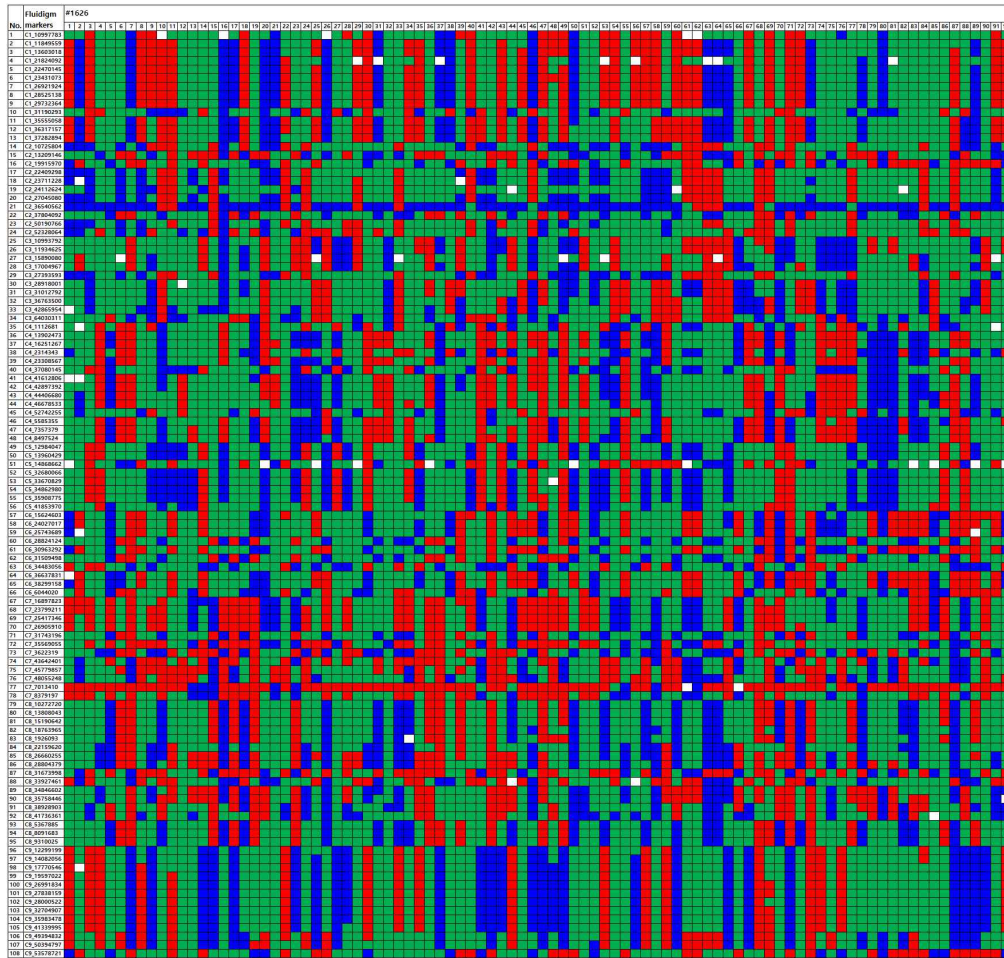
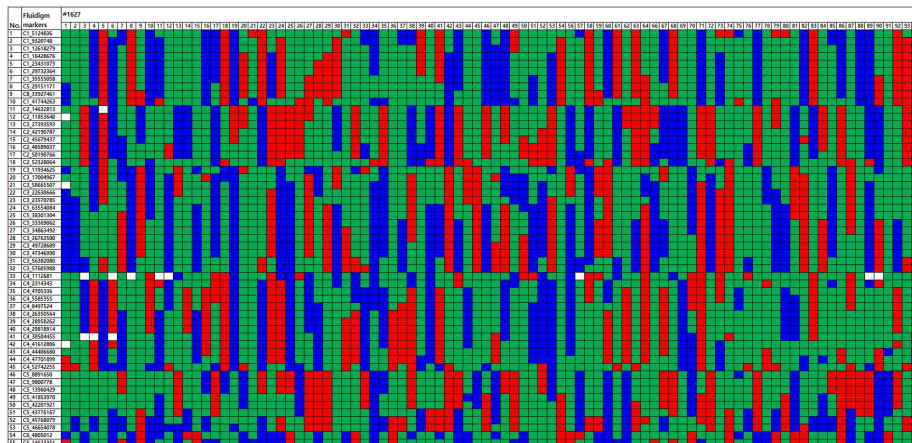


그림 42. 양배추 384 SNP 마커를 이용한 1626 집단 genotyping 결과



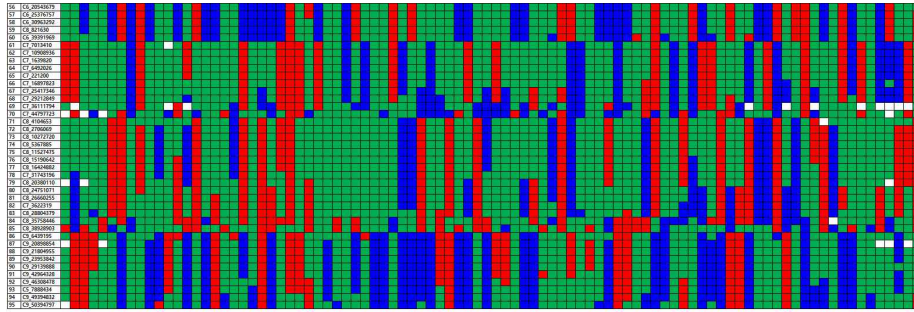
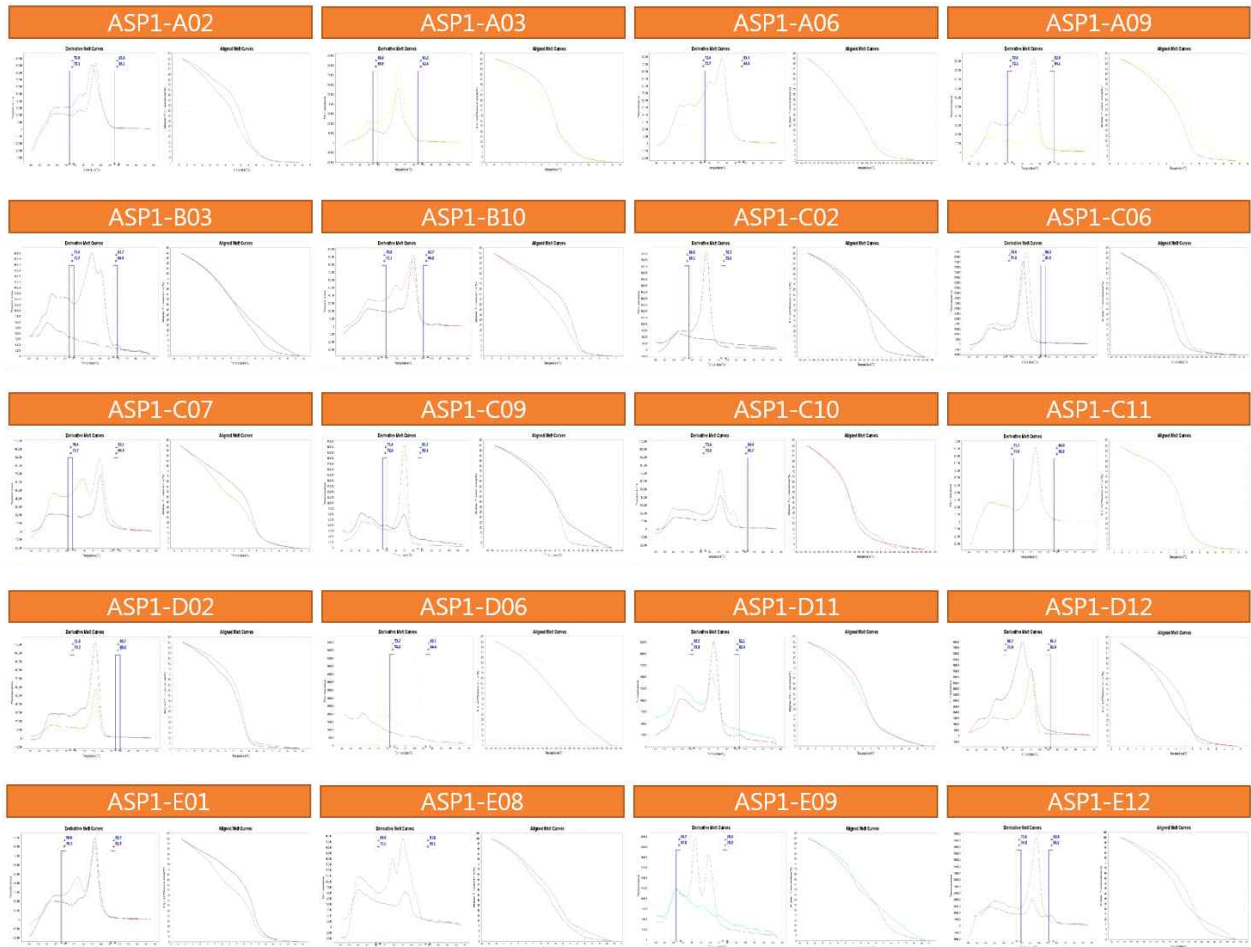


그림 43. 양배추 384 SNP 마커들을 이용한 1627 집단 genotyping 결과 작성된 유전자지도를 보다 saturation 시키기 위해 기 보고된 배추의 SNP 마커 192개를 이용하여 집단 1626, 1627 양친의 polymorphic한 마커들을 발굴하여 집단 genotyping에 활용하였다. fluidigm 포맷으로 전환된 마커들의 정보는 이로부터 1626 집단에서는 59개, 1627 집단에서는 58개의 polymorphic한 마커의 genotyping 결과를 추가로 확보하였다(그림 44).

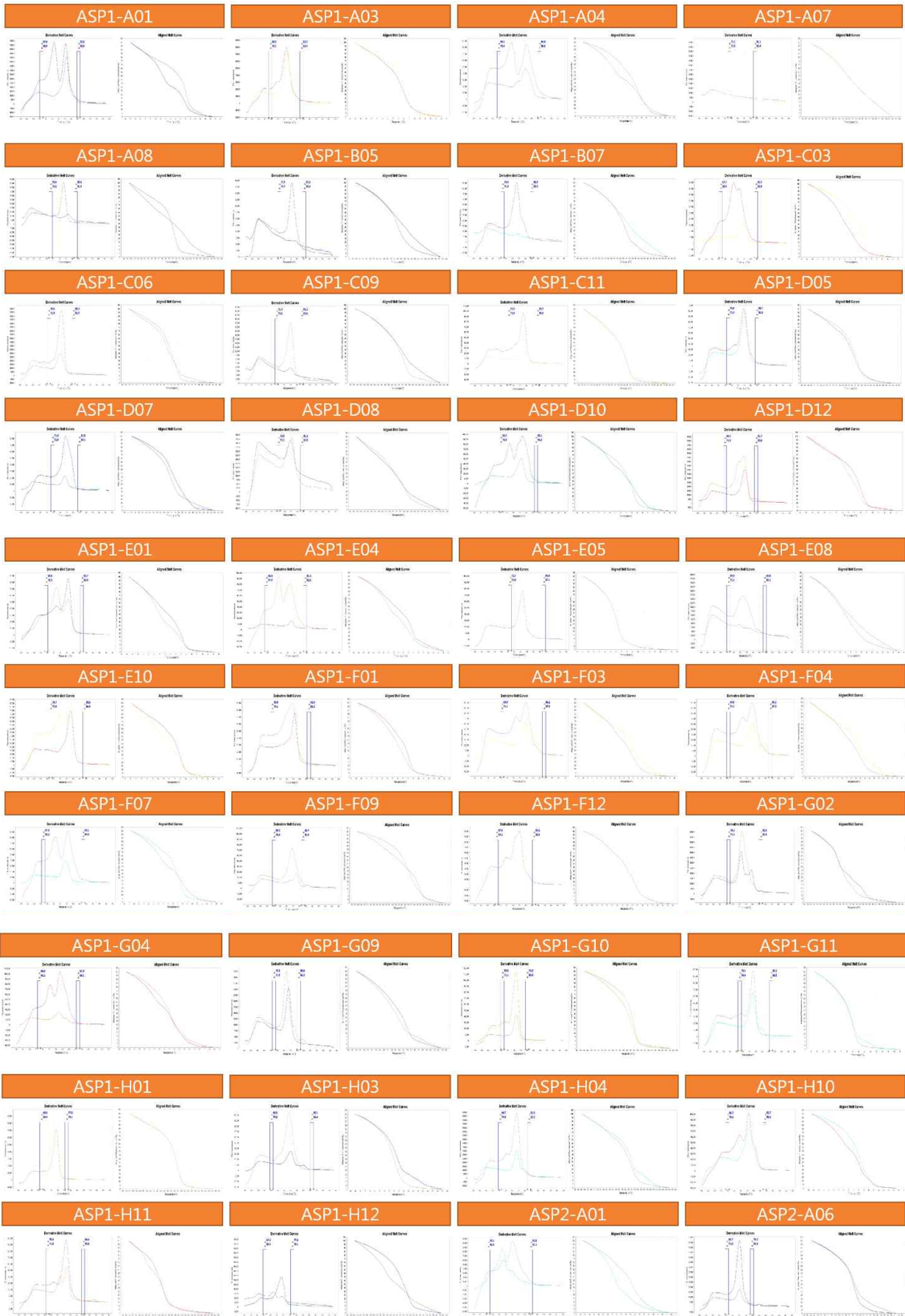
< 1626 집단 >







< 1627 집단 >



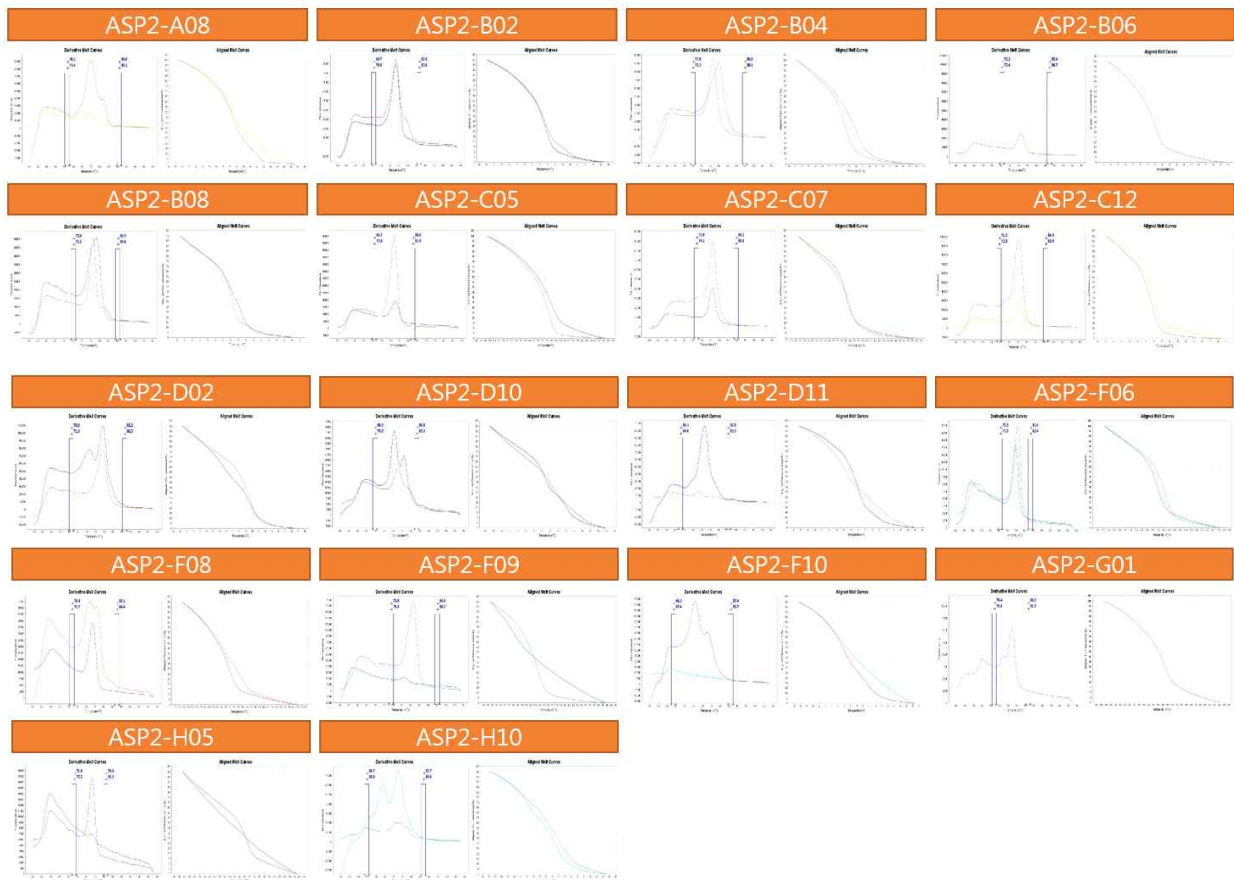


그림 44. 유전자 지도 saturation을 위해 추가 선발된 polymorphic 마커 HRM 분석 결과

작성된 유전자지도에서 글루코시놀레이트 함량과 연관된 부위의 마커를 좀더 saturation 시키기 위해 rough하게 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTL mapping 진행하여 염색체 2번에 QTL이 위치함을 확인하고, 2번 염색체 위치에서 추가 마커 제작하였다 (표 11). 양배추 염색체 2번에 위치한 SNP들을 기반으로 총 192개의 HRM 포맷의 마커를 제작하였고 두 집단 1626, 1627 양친의 polymorphic 한 마커를 발굴하여 1626 집단에서는 37개, 1627 집단에서는 38개를 추가로 확보하였다 (그림 45).

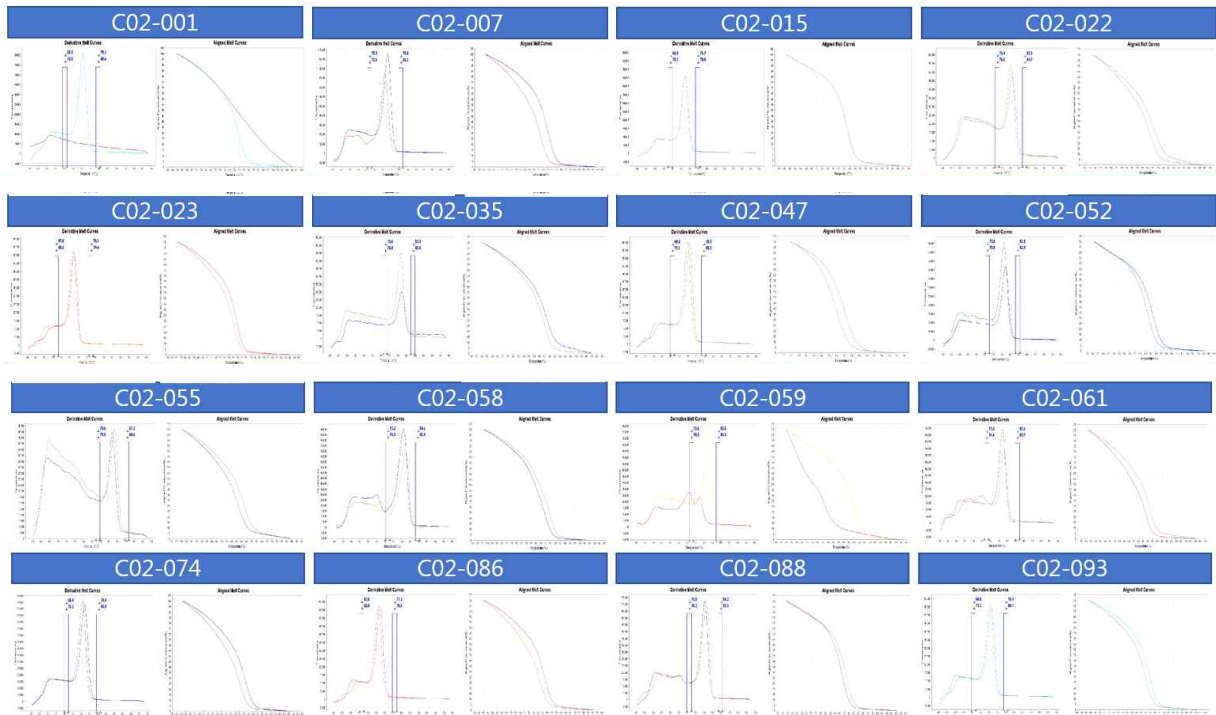
표 11. 집단 genotyping에 사용한 양배추 염색체 2번 추가 마커 정보

No.	Fluidigm marker name	SNP locus	Allele 1	Allele 2	Fluidigm marker sequence			
					ASP1	ASP2	LSP	STA
1	C02-001	29,993	A	G	GAATGCGTCCATT CAAGTCATAAA	GAATGCGTCCATT CAAGTCATAAG	CTTCCTTTTGGATT ATATGCTTCATGG TGTG	ACCATATCAATCA GAGAAGAGCCTA
2	C02-006	861,912	A	G	GCAGGTCTTCAA TGGATAGACA	GCAGGTCTTCAA TGGATAGACG	TTTCCAACAGAAG CAGGGAGGA	ACCACAAAACCAG GAGTTAACG
3	C02-007	1,055,145	G	A	CGCGTCAATCTCT CTATGGAACAC	CGCGTCAATCTCT CTATGGAACAT	CGCGGTCTTATTTG TCGCACG	GCCTCACTATTA TTTTACTAGAAG C
4	C02-010	1,799,275	G	A	GAGCCACCGTCTA CGGTG	GAGCCACCGTCTA CGGTA	CGGTTTGGCGATCC GGT	GCATAGCTCTGG CTCCG
5	C02-015	2,519,244	T	A	TCAATGGCTTCGT ACTGAGAATCTTT A	CAATGGCTTCGTA CTGAGAATCTTT	AGCTGCTTTAGGC ATTTAGAGACGA	TCACTCAATAGGC TTTGAAATCT
6	C02-018	2,916,193	C	T	CCTGCTCACTGTGT ATATATATTTGTTA CTCAG	CCTGCTCACTGTGT ATATATATTTGTTA CTCAA	CGTTTCAACTCTTC AGAAAACGTAACA GT	GAACACTGGCAA TTCACATGAC
7	C02-019	3,119,255	T	A	ACACGGGCCGTCA AAATCT	ACACGGGCCGTCA AAATCA	TGCTGGGCTCTAA TTTGGGCT	GGAACCTAAGGAT GTCTACGTTTT

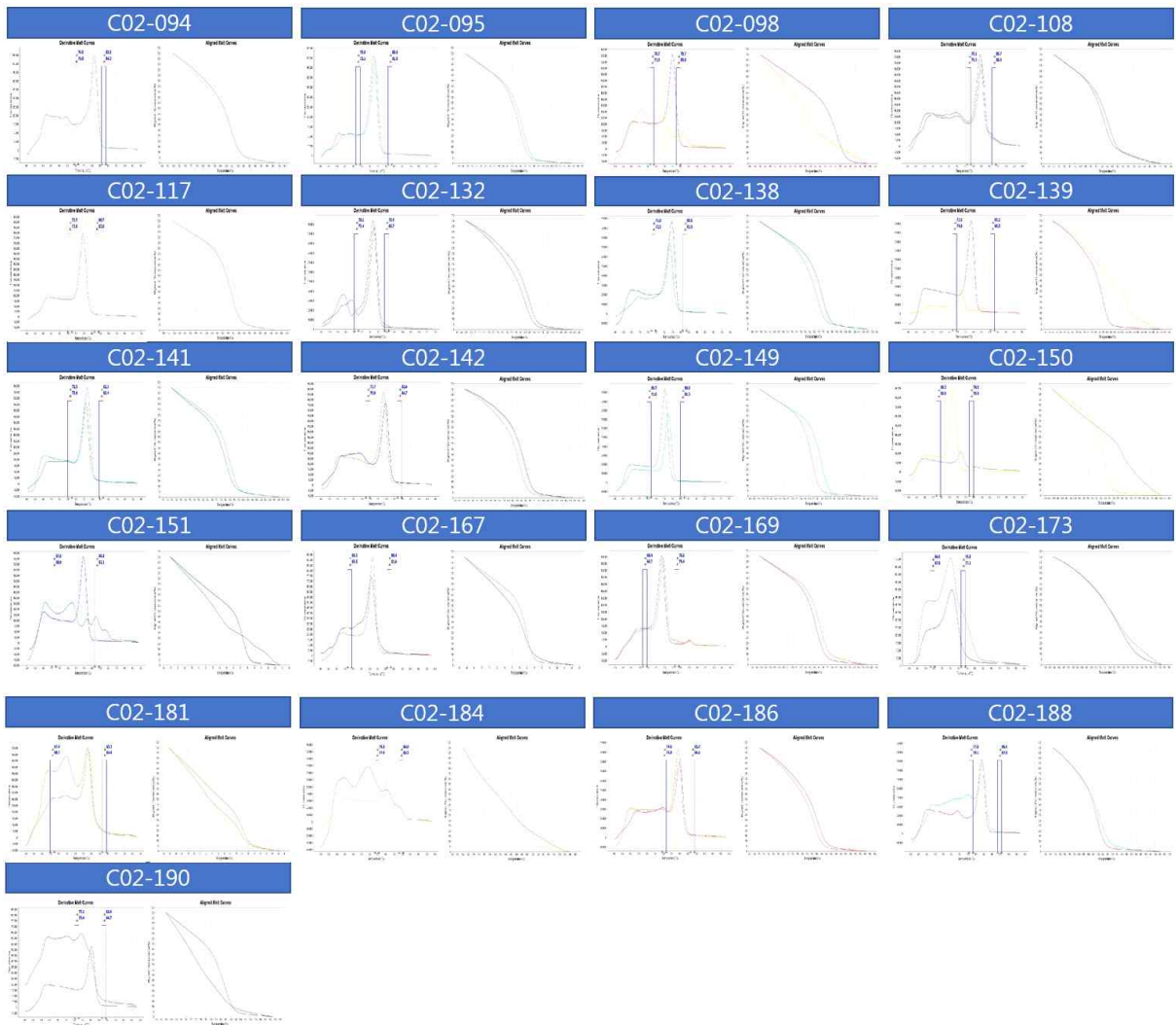
8	C02-022	3,494,927	C	T	GGTTCTCGTGGTCT CTTGGC	GGTTCTCGTGGTCT CTTGGT	GAAGCCTTCGCTG CCCC	CATGAATCTTCT CCTCACTCTCC
9	C02-023	3,638,052	C	T	CTTAATTTTTCTCA AACCATTCGTGTG G	CCTTAATTTTTCTC AACCATTCGTGTG CA	GGCACCAAGGTAC TATTCGTAGTACT	TCATAGTCTCCGGT AACCTCAACC
10	C02-027	4,287,868	G	C	ACTTACAACAGG GGATCAAGTGG	CTTACAACAGGG GATCAAGTGC	GAATGGCGATTG GCCTCCA	GGCAAGGACATT TTCAAATGAAGA
11	C02-035	5,774,692	A	C	CGTCTTCAAGATC GCCAAGACAA	GTCTTCAAGATCG CCAAGACAC	CTCCGGAAGTATG CAGCGACA	TTCTTAGCTCTCTA ACCTCATCTCC
12	C02-045	7,963,477	G	A	GATTTGACCGATT GCCCTTCG	GATTTGACCGATT GCCCTTCA	TGACGTTAATGTC CTCGCCGT	GAATGTCATGTC ATCGAGTTCTCT
13	C02-047	8,451,048	A	G	GTGTGCACAAAAC CAAGAATCTAGTA	TGTGCACAAAACC AAGAATCTAGTG	AGCAGGTTTGTCA CCTGATCATCA	GCAAAATGATATCA GACCCGATTGA
14	C02-052	8,995,742	C	A	CTAGGACCTTGG AAGACACTATCC	CTAGGACCTTGG AAGACACTATCA	GACTGCGGCTTGG AGCAT	TGCAAAAGGATGT TGGACCC
15	C02-055	9,755,545	G	A	ACGGCTTAGGAGA CCAGAG	ACGGCTTAGGAGA CCAGAA	GGCGTTAAGTGA CTGACAC	GGCCTAAGCTCCG TCGA
16	C02-058	10,350,846	T	G	CTTGGGAGGTAC TTGTTCTTTT	CTTGGGAGGTAC TTGTTCTTTG	CGTATCTCTGTGG TAGTGGCT	CGCAATCCGCTG CCTC
17	C02-059	10,557,340	G	A	TTTGCATACCGTG AAGGTTGC	GTTTGCATACCGTG AAGGTTGT	ACGGAACCTCCC ATCGTC	ACTTCCGCTTAC TTCTGGT
18	C02-060	10,773,582	C	T	ACAATGGCTAGTC CTGAGCAC	GACAATGGCTAGT CCTGAGCAT	CATCAAAGGCGAT GGCTGGT	AGGAGGCCGAGGA AGAC
19	C02-061	10,974,300	T	C	TCTGCATGTTGTG ACTTTTAGGACA	CTGCATGTTGTGTA CTTTTAGGACG	AGTCAGAGAACCA ATGCGGA	TCGAACCGAGCTA GTGTCTT
20	C02-063	11,490,828	G	A	ATCTCCTAGATGC AGAGTTTGACG	AAATCTCCTAGAT GCAGAGTTTGACA	CACGCCGCTGAAG TTGCT	GGCCGCTACCTT CTGAAA
21	C02-074	13,921,185	C	A	AGCATCTTTCATA AACACTAATTCAA GCTG	CTAGCATCTTTCATA TAAACACTAATTC AAGCTT	GCTCAGGCTGGAG TCGTCT	TTCTTGAAGCTCT TCTCTAGCAT
22	C02-080	15,144,162	C	T	GAGTCGTCTCCAG CACTCTC	GAGTCGTCTCCAG CACTCTT	CGGCGGTTTGAGCT CTGTT	GGCTTTTCATCTTC TTCTTCGTCAG
23	C02-086	16,259,187	C	T	TATCACAAGAGGT ATACTAAAAGATT ATGAATATTG	TATCACAAGAGGT ATACTAAAAGATT ATGAATATTA	GCAGCTAGCGGTA TGCATTGT	AACAGTGTAGTAC TCTTCCCTGT
24	C02-088	16,676,075	G	A	TGACCTGATAACA GACCCCTTG	GTGACCTGATAAC AGACCCCTTA	TGTGAGACCCTA GCGCA	ACTGCATTCGTGCT TTCTTGAC
25	C02-093	17,612,135	C	T	GCAACATCCCACA AAAAGAGTGTG	GCAACATCCCACA AAAAGAGTGTG	TCTTCTTACTACTA ATCGTTCTTTGTG GGA	GGTGAAGTAACTA CATAACCCCTGCA
26	C02-094	17,790,972	G	A	GAGAAGTAACTT TGCTCGGC	GGAGAAGTAACTT TTGCTCGGT	CGGATGCGTTGCTC GGAA	CCAGTTGGATGTG GCTCG
27	C02-095	18,085,392	G	A	CAAGTCCACAACC ATTTCTTCTTTC	CAAGTCCACAACC ATTTCTTCTTTC	AGACGGTCTTGTG CCTCTTTTCA	GAACCTCTGGAAC ACATCTTGC
28	C02-097	18,556,203	C	T	TGGCATGTGCCAT GTATGTTTAC	TTTATGGCATGTGC CATGTATGTTTAT	GCCGTACATAACA ATTTGTGTTATTGA AAACC	CCGTGTCACCTTT TAGTGATCTTT
29	C02-098	18,751,339	T	A	CGTGCTCCGGTGA AGATTCA	CGTGCTCCGGTGA AGATTCT	CGGCGGTTGTTGGC CT	ACTCTTGATGCTTG TGTCGC
30	C02-105	19,816,600	A	C	CCTGGGGATATGA GGTAAAACCTTCTT	CCTGGGGATATGA GGTAAAACCTTCTG	CGCAACGGTTTTG AGCCAGT	GCAGTGTACTTCA ACAAAATTTGCC
31	C02-107	20,101,540	A	G	TTTTGCAACATTGG AAGTGTCT	TTGCAACATTGGA AGCTGCC	CCGTACCGGCATG AACAAAGT	TTCTATTTGTTTGG GCACCTG
32	C02-108	20,264,276	A	G	CATCGCTCCGTTG GTCGT	TCGCTCCGTTGCTC GC	CGCCGTAGTTTGTG AGCCT	CGAAGTCTTCCCA GGAGACA
33	C02-109	20,595,328	C	T	CTCTATCTTTTGA CCTATGTGGC	GCTCTATCTTTTGC ACCTATGTGGT	TGCAGTTTCCCGGT GAGAGAA	GGGTGTTTCTTGG GCTCG
34	C02-114	21,870,818	A	C	CGTCAGGCAGTTC ATAGAGATTTCT	CGTCAGGCAGTTC ATAGAGATTTCTG	CCAAGACTAGTTC TTTTGAATCTATCG GGT	ATGAAACCAACTG TGATATTTCTGCA
35	C02-117	22,775,103	T	G	TCATCATCTCCAG CCTCATCAAAAA	CATCATCTCCAGC CTCATCAAAAC	CCTAGTCCAGGGA AGGGTCT	CCTTGGCCACTTGT CTAGTCT
36	C02-118	22,862,619	A	C	CCATCAACAGAA ACAACCGAAGTAA AAA	CCATCAACAGAA ACAACCGAAGTAA AAC	CCGGCTTGTGGTCC CTATGT	ACTCCTCCGACGA ACACAC
37	C02-120	23,331,542	T	G	GGAATGCCAAGAT CTTCAATCCATT	GGAATGCCAAGAT CTTCAATCCATG	GGTCCATCAGGAA GAGACATGAACA	CCAAGAATGAAAC AGCACCATG
38	C02-121	23,793,813	A	G	GCTTGAGAAGACT GACCTATGCAAT	CTTGAGAAGACTG ACCTATGCAAC	TCTTGCCTACTCTA ATCCGTGCT	AAGCTTGAAGCT TATGGAGC
39	C02-132	27,614,356	C	T	CCATAGAGGACAC AGATTGTAAGAC TC	CCATAGAGGACAC AGATTGTAAGAC TT	GCATGCTTAGGTCT GTGGCTT	ATGGTCGGCTGCA TATAGTAGA
40	C02-136	29,072,318	G	C	ACGATGCTCTCCG CTAAAACG	ACGATGCTCTCCG CTAAAACC	GAAGCGTGGTCAC GTCAGC	AGCAACTGTTTGA TCCACCAAT
41	C02-138	29,621,662	C	T	GACAACATTGACG ACACAGATGATG	TGACAACATTGAC GACACAGATGATA	GCTGCACCATTCT GTGCTCT	CTGAGTATCAAGA TGCTAACGGTG
42	C02-139	30,124,531	C	T	GCTTTGGGAATAC ATGATCAGAGC	GGCTTTGGGAATA CATGATCAGAGT	CAACCCGGAGGAA GCACG	GGTTTTCCACGTTT CGCAATT
43	C02-141	30,477,581	C	T	GGAGAACTTGACA AGCCTTGTTC	GGAGAACTTGACA AGCCTTGTTC	GAGCAGCCTCTCA GATTCAGGA	GCAAAAGGTTGAA AACATTAGACGC
44	C02-142	30,731,011	A	G	GCAAGGATCCCCA TGAGACAT	GCAAGGATCCCCA TGAGACAC	TCCGGGTTCTCGG ATTG	TGAAACCCCAACT TTGTTCAAGAT
45	C02-144	31,282,236	T	A	GCAGTCTACAAGC TGTTGTCTA	GCAGTCTACAAG CTGTTGTCT	CGGCTATAGAAGG AGCAACGC	CAGCCAAAATCGT TTGTGTG
46	C02-149	32,682,675	G	A	AGAATATATCGTC GCGATTCTGAACG	AGAATATATCGTC GCGATTCTGAACA	TCCGGGTACCGG AAGCTT	CGTTGGCAATTAC TTTATCAGGAAG
47	C02-150	32,927,654	C	T	GACTTCAAAGTT	AAGACTTCAAAG	ACAGGCTTACATT	TCAGAGATGGAAT

					GTGTTTTGACTCA TG	TTGTGTTTTGACT CATA	AGCATAAAAGACT CCA	CAGACGTTATGT
48	C02-151	33,487,911	T	C	GGCCAAGATTATG ACAAAGCCT	GGCCAAGATTATG ACAAAGCCC	GGCCTCTCACATT CTTCCTGG	CGGTACAAGAAG TCCAGGTAA
49	C02-154	34,157,399	A	G	AAGATGCGTTTAT AAAGGAAAAGACT GATTT	AAGATGCGTTTAT AAAGGAAAAGACT GATTC	GCACCAGAAAATA ATGCGGGT	GTTTCTCATGGAG ACGAAGAATGA
50	C02-157	34,684,550	G	A	CCACTCGGAGGAC GGTG	ACCACTCGGAGGA CGGTA	CGGCTACACGAT GCC	GTTTCGAGAGAAAT CTTTCGAATCA
51	C02-162	35,977,514	C	T	AGTTGACGATCCG ACAGTTATCG	CAGTTGACGATCC GACAGTTATCA	TTCGCTTATCATAG CTATTGTTATCTGC AGT	GGGCGATTACAAG AAGTCTTTACT
52	C02-163	36,080,367	A	G	TTAAGGTTACTCA GTTGATGGAAGCT	AGGTTACTCAGTT GATGGAAGCC	CTCTTCGATGAAT CTGTTTTGTTTTCC TCTG	GGAAGGGATTAC GACCATCTT
53	C02-164	36,256,357	G	A	CGGAATCATGTTG GTATCATGTGTC	CGGAATCATGTTG GTATCATGTGTT	CGGCGCAGTGAA GGATC	ACCTACTCCAATA GGTGCCG
54	C02-167	37,470,031	G	C	CTGCTAATGGTGA TCTTGCTTCTTAT C	CTGCTAATGGTGA TCTTGCTTCTTAT G	CCGAGTTGCCCT ATAAGGGA	TGGAGAGCTCCT CTCTGC
55	C02-168	37,627,120	T	G	CTCGATCATTGTGT TTTGGGAATGT	TCGATCATTGTGTT TTTGGGAATGG	CACCCACCAGCTC CTCTCT	ACGTGCGTAAAGTG TTGCAATC
56	C02-169	37,848,047	T	G	TTGTTCCCAAAG GTAAAAATCATT AT	TCGTTCCCAAAGG TAAAAATCATTCA G	TGGCTCCGCTCTGA CCAT	GACAAGATCTAC TCTTGTGGTT
57	C02-173	38,924,552	T	C	TTGTTGAAAACGT AGAGCCGTA	TGTTGAAAACGTA GAGCCGTG	TGGGCGTGTCTACT TGCTTACA	CGTGAAGCAAAG AAAGTAACGGT
58	C02-178	40,170,468	G	A	ACTGGGTTTGGCCT AGGATTTT	ACTGGGTTTGGCCT AGGATTTT	GCAGTCTTAACTG GCAGCACC	AACTACGAAATGT GTGGTCTGTG
59	C02-181	40,604,686	A	C	TGAGCCAGTTGCT ATTGTATGTACT	GAGCCAGTTGCTA TTGTATGTACG	GGCGAGCATGCGG TTCAAA	GATGCTCTGAATG ATATAATGGACCT
60	C02-184	41,286,018	G	A	AAGCTGAGACCAG TGTCGG	GAAGCTGAGACCA GTGTCCA	TCACAGCTCCCTC ATTTGGCT	AGCGAGCATGG GATGAA
61	C02-186	41,882,221	T	C	CCCAATCTCAATC ACTCGCCA	CCAATCTCAATCA CTCGCCG	GATCACATGCATG GTCGGCTT	GCTGAAAGCACCA CTACGA
62	C02-188	42,268,227	G	T	CCCCAACATTAGC TCTTTCAGC	TTCCCCAACATTA GCTCTTTCAGA	ACCTTGTAGCAGC AGCGGT	GGACCAAACACGC AAGAGT
63	C02-189	42,662,452	A	C	CCAGGTGACATAT CCTGCTCA	CCAGGTGACATAT CCTGCTCC	TGGCAAGTCTTCC GGCGA	TCTAAGCATTATT CGTTTCCAGGTG
64	C02-190	43,116,573	C	G	CCACAAGTCATA CCCTGGAG	CCACAAGTCATA CCCTGGAC	AGGAATCTACCTG TTGGTGTACAG	TCGGATCCCTTCT CCAG

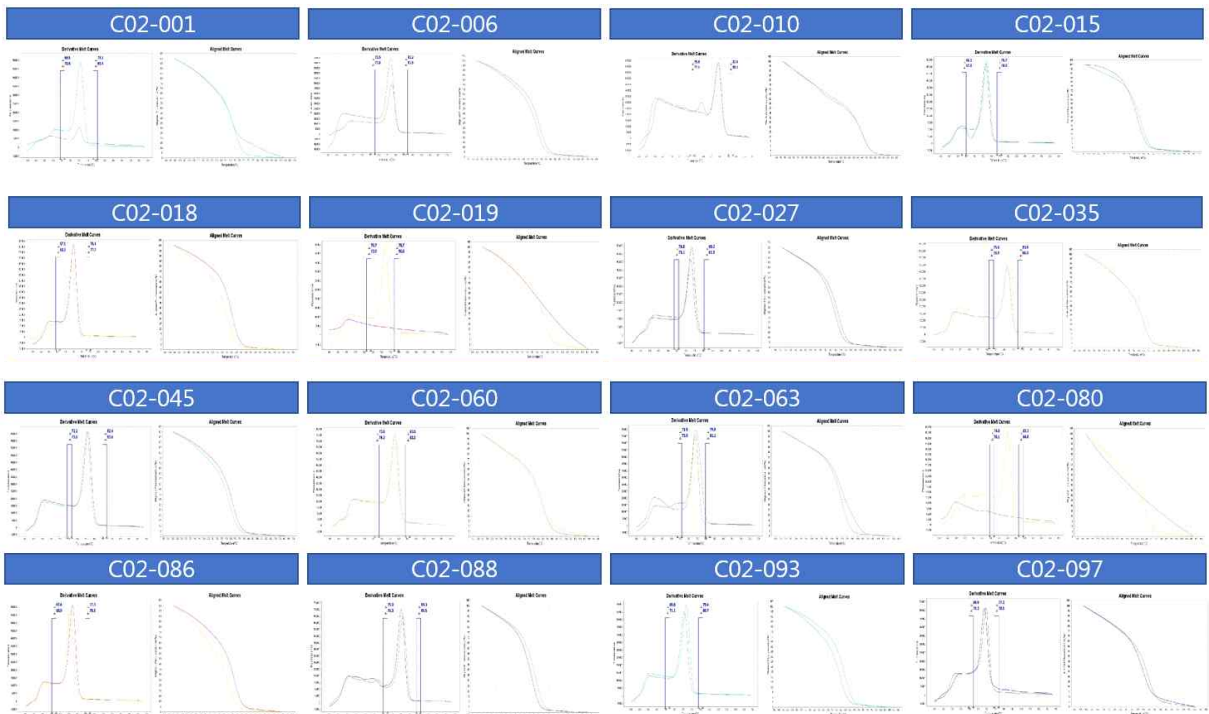
< #1626 집단 >







< #1627 집단 >





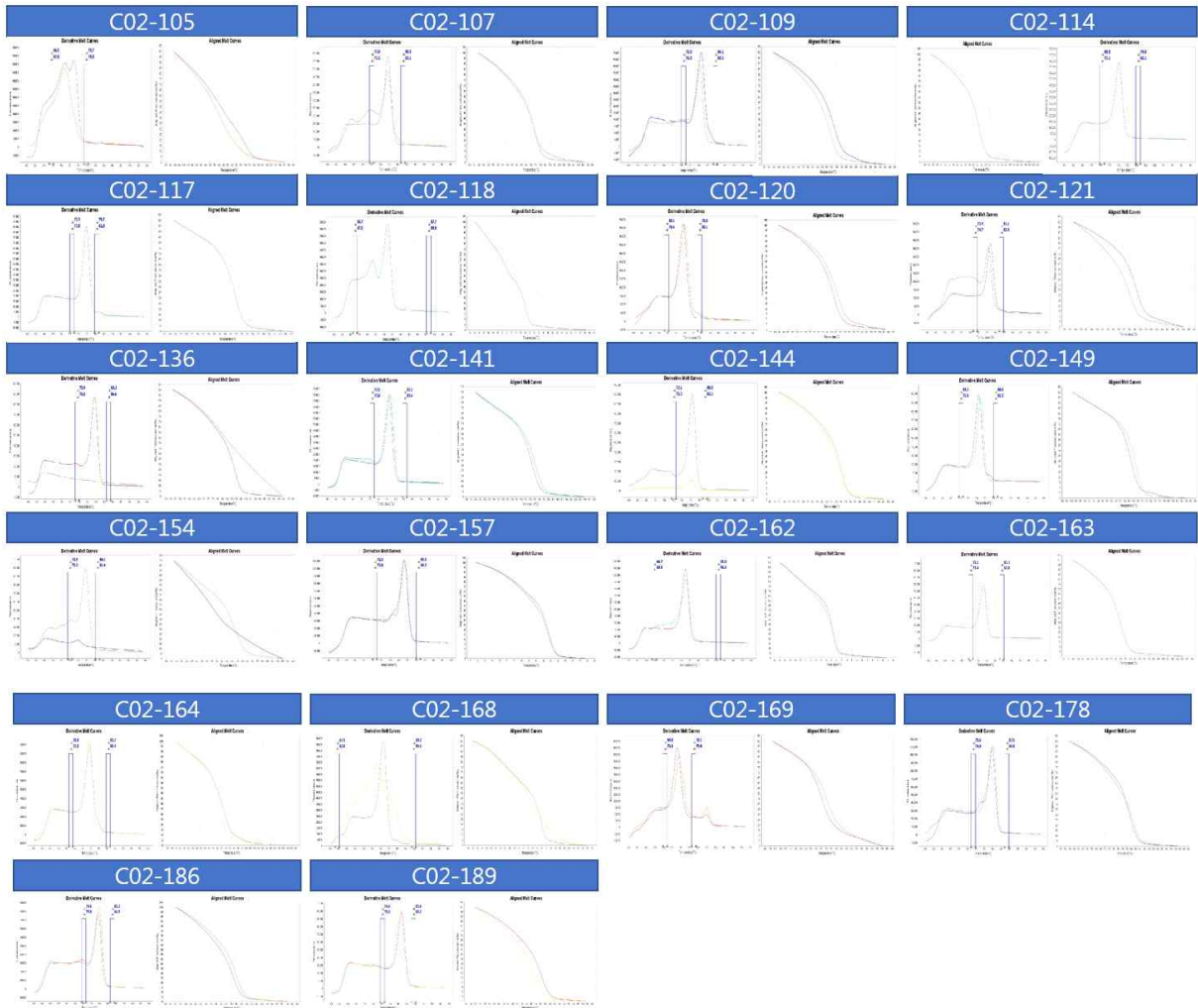
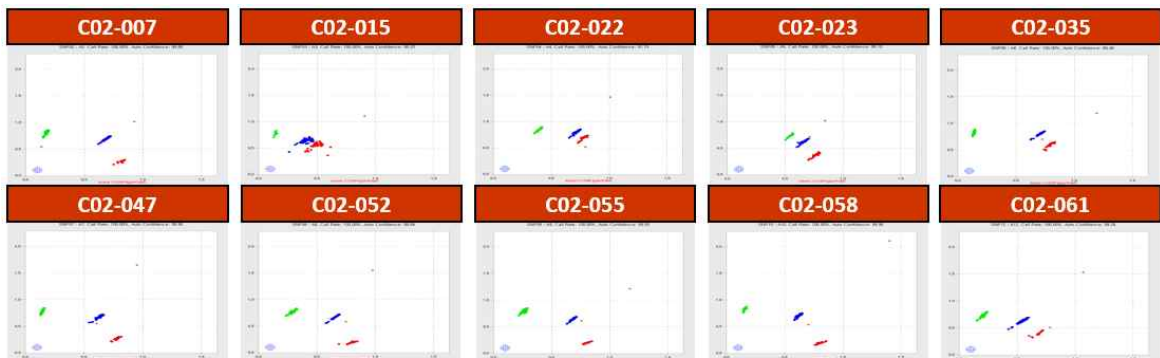


그림 45. 양배추 염색체 2번 유래 추가 확보된 polymorphic 마커 HRM 분석 결과

위에서 선발된 polymorphic한 마커는 genotype의 편리상 fluidigm 형태의 제작하여 (표 11) 두 집단 1626, 1627의 progeny를 genotyping 하였다. Fluidigm genotyping 분석을 통해 각 집단에서 3개의 유전자형(XX, XY, YY)으로 genotyping되는 마커 24개(1626 집단)와 22개(1627 집단)를 확보하여 유전자 지도 작성에 사용하였다(그림 46).

< 1626 집단 >





< 1627 집단 >



그림 46. 염색체 2번 Fluidigm 포맷 추가 마커의 1626, 1627 집단 genotyping 결과

JoinMap 4.0 프로그램을 사용하여 유전자 지도 작성을 수행하였으며, genotyping 결과중 10% 이상의 unknown genotype 데이터가 있는 개체들은 제외 하였다. 유전자 지도는 LOD(Logarithms of odds) 스코어 2.0-4.0은 마커를 linkage group에 할당하기 위해 사용하였고 연관 거리는 Kosambi's map function으로 regression mapping하여 작성되었다.

1626 집단의 유전자지도는 73개체의 progeny가 사용되고 총 118개의 마커를 포함하고 있으며 총 길이는 505.1 cM로 각 연관 그룹 별로 마커와 마커간의 거리는 1.8~11.4 cM이며 평균 거리는 5.0 cM이었다( 그림47 표12). 1627 F<sub>2</sub> 집단의 유전자지도는 84개체의 progeny가 사용되고 총 112개의 마커를 포함하고 있으며 총 길이는 497.7 cM로 각 연관 그룹 별로 마커와 마커간의 거리는 3.0~7.9 cM이며 평균 거리는 4.8 cM이었다(그림48, 표 13). 유전자 지도의 linkage group은 기 보고된 양배추 유전체에서의 SNP 위치를 기반으로 염색체 번호를 명명하였다.

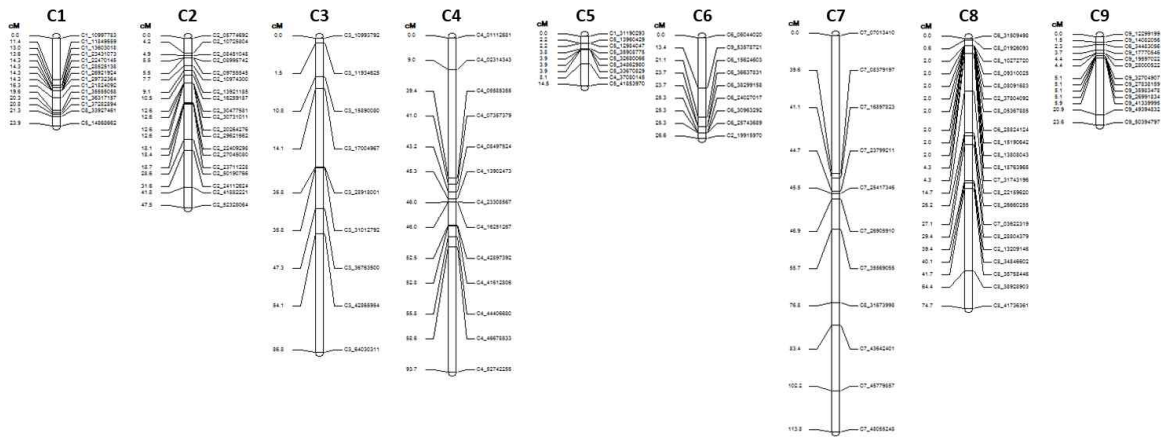


그림 47. 1626 F<sub>2</sub> 집단의 유전자지도

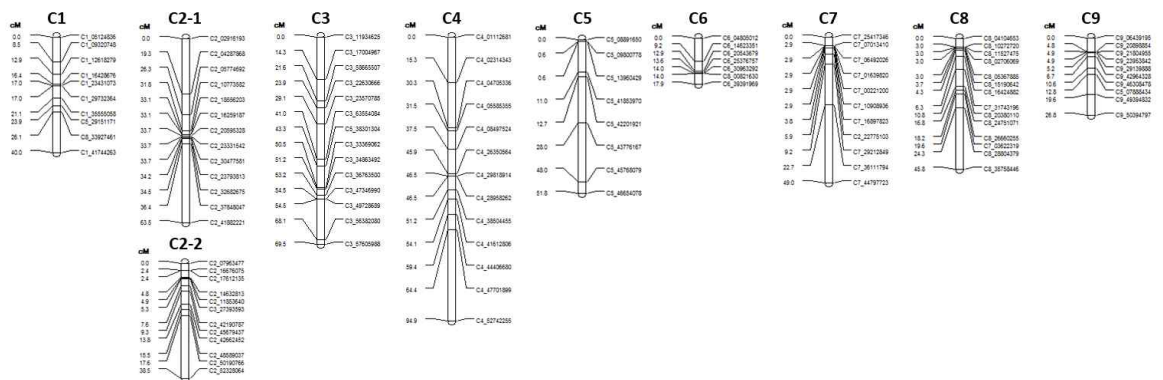


그림 48. 1627 F<sub>2</sub> 집단의 유전자지도

표 12. 1626 F<sub>2</sub> 집단의 유전자지도 요약

Linkage group	No. of markers	Genetic length (cM)	Average distance (cM)
C1	14	23.882	1.837
C2	19	47.512	2.640
C3	9	86.843	10.855
C4	13	93.652	7.804
C5	9	14.462	1.808
C6	9	26.621	3.328
C7	11	113.854	11.385

C8	21	74.689	3.734
C9	13	23.559	1.963
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>505.084</b>	<b>5.039</b>

표 13. 1627 F<sub>2</sub> 집단의 유전자지도 요약

Linkage group	No. of markers	Genetic length (cM)	Average distance (cM)
C1	10	40.005	4.445
C2-1	13	63.451	5.288
C2-2	12	38.512	3.501
C3	14	69.519	5.348
C4	13	94.94	7.912
C5	8	51.765	7.395
C6	7	71.921	2.987
C7	11	48.956	4.896
C8	14	45.844	3.526
C9	10	26.746	2.972
<b>Total</b>	<b>112</b>	<b>497.659</b>	<b>4.827</b>

(나) TBDH 집단 유전자지도 작성

글루코시놀레이트 함량 연관 분자마커 개발 시 유전체 정보와 통합 분석을 위해 표준 양배추 계통으로 구축된 배추과 C genome의 표준 유전집단인 TBDH 집단 (*Brassica oleracea* rapid-cycling double haploid (DH) line ‘TO1000DH3’ × 브로콜리 ‘Early Big’ 을 교배하여 생성된 F<sub>1</sub>을 약배양하여 만든 DH 집단, 130계통)을 이용하여 유전자 지도를 작성하였다. 작성된 유전자지도에 mapping 된 마커의 위치와 마커가 개발된 유전체 정보에서의 위치를 비교하여 유전자지도를 검증하여 최종 344개의 마커 (*B. rapa* 유래 SSR 마커 133개, *B. oleracea* 유래 SNP 마커 211개)가 mapping 되었다 (표 14).

표 14. TBDH 유전자지도 작성에 사용된 마커 정보 요약

Marker name	Type	Reference genome	Number of mapped markers
ACMP	EST-SSR	<i>Brassica rapa</i>	46
cnu_m	BAC-SSR	<i>Brassica rapa</i>	47
BRMS	SSR	<i>Brassica rapa</i>	11
BRPGM	BAC-SSR	<i>Brassica rapa</i>	29
KR	SNP (Fluidigm)	<i>Brassica oleracea</i>	119
	SNP (HRM)	<i>Brassica oleracea</i>	92

TBDH 유전자지도는 총 9개의 linkage groups (C1 ~ C9, 염색체명으로 명명)으로 구축되었으며, 총 길이는 831.5 cM이었다 (표 15, 그림 49). 각 linkage group별로 마커 density는 1.894cM/marker ~ 4.792cM/marker이며 유전자지도의 평균 marker density는 2.931 cM/marker 였다(표 15). 작성된 유전자지도는 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTL mapping에 사용하였다.

표 15. TBDH 유전자지도 요약

Linkage group	Number of markers	Length (cM)	Marker density (cM/marker)
C1	26	67.779	2.824
C2	26	115.010	4.792
C3	36	92.652	2.895
C4	46	114.063	2.592
C5	62	92.784	1.894
C6	33	91.770	3.164
C7	40	94.233	2.772
C8	29	70.558	3.068
C9	46	92.618	2.375
<b>Total</b>	<b>344</b>	<b>831.467</b>	<b>2.931</b>

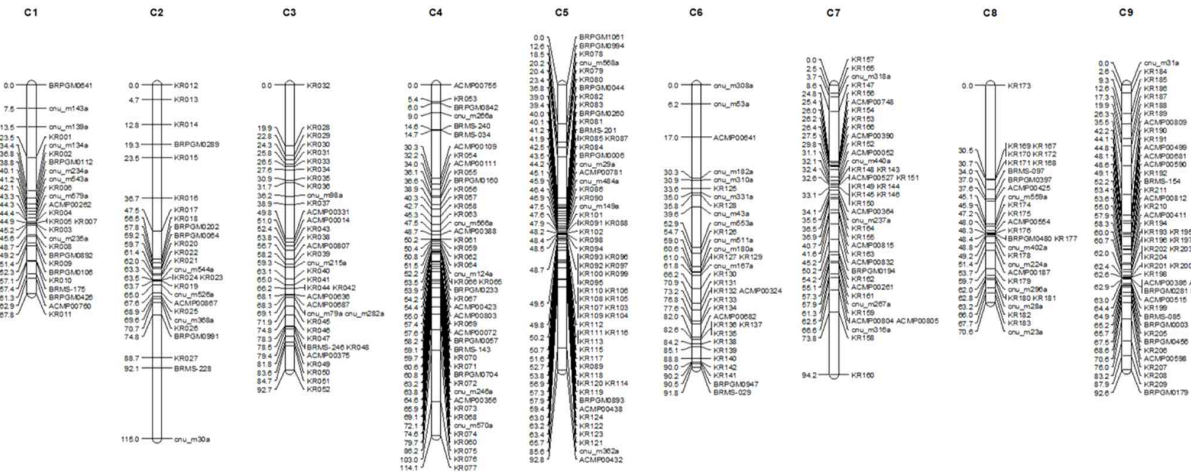


그림 49. TBHD 유전자지도

(다) 1626, 1627 집단 기반 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping

(주)코레콘 소재로 구축된 유전자지도 작성에 사용된 1626, 1627집단의 progeny (각각 92 lines)의 표현형 정보를 구축하기 위해 글루코시놀레이트 성분 분석을 수행하였다. 성분 분석을 통해 glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, 4-hydroxyglucobrassicin, glucoerucin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin 및 neoglucobrassicin의 10가지 성분을 동정하였다. 각 샘플별로 2반복으로 분석하였으며, 이들의 평균값을 각 progeny의 계통의 함량으로 간주하여 글루코시놀레이트 각 성분의 함량 표현형으로 도출하였다(표 16). Total glucosinolate 함량은 1626, 1627 집단 각각 2.853 ~ 78.768  $\mu\text{mol/g}$  dry wt. 13.926 ~ 45.415  $\mu\text{mol/g}$  dry wt. 였으며, 주요 성분은 glucobrassicin과 sinigrin으로 동정되었다.

표 16. 1626, 1627 집단의 progeny 글루코시놀레이트 성분 함량 표현형 분석 결과 요약

Glucosinolates	1626 (Total 92 lines)			1627 (Total 92 lines)		
	Mean $\pm$ S.D. ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)	Min. content ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)	Max. content ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)	Mean $\pm$ S.D. ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)	Min. content ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)	Max. content ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)
Glucoiberin	2.844 $\pm$ 2.132	0.401	10.259	5.819 $\pm$ 2.308	1.923	13.628
Progoitrin	1.085 $\pm$ 1.036	0.0	5.108	0.575 $\pm$ 0.465	0.0	2.012
Glucoraphanin	1.827 $\pm$ 2.671	0.0	15.026	1.730 $\pm$ 1.588	0.0	5.186
Sinigrin	5.871 $\pm$ 3.350	0.668	17.512	5.804 $\pm$ 2.150	2.078	14.582
Gluconapin	0.403 $\pm$ 0.587	0.0	2.591	0.424 $\pm$ 0.366	0.0	1.612
4-hydroxyglucobrassicin	0.784 $\pm$ 0.565	0.0	2.809	1.533 $\pm$ 0.769	0.446	4.002



Glucoerucin	0.023±0.045	0.0	0.182	0.132±0.110	0.0	0.489
Glucobrassicin	7.813±6.136	1.107	40.899	8.710±3.161	3.883	19.044
4-methoxyglucobrassicin	0.716±0.298	0.187	1.725	2.089±0.654	0.999	3.989
Neoglucobrassicin	0.175±0.177	0.0	1.245	0.319±0.157	0.086	1.015
<b>Total glucosinolates</b>	<b>21.542±13.693</b>	<b>2.853</b>	<b>78.768</b>	<b>27.134±6.623</b>	<b>13.926</b>	<b>45.415</b>

양배추 1626 집단 및 1627 집단의 유전자 지도와 각 개체의 글루코시놀레이트 성분 함량 결과를 사용하여 QTL mapping을 수행하였다. QTL mapping은 Windows QTL cartographer v2.5 프로그램을 이용하였고, 1.0 cM walking speed로 사용한 Composite Interval Mapping (CIM) 분석 방법으로 LOD threshold는 유의성 5% 기준으로 1000번의 permutation test를 수행한 후 LOD≥3.0의 연관 부위를 탐색하였다.

글루코시놀레이트 성분 분석에서 total glucosinolates를 포함한 총 11종류의 성분함량 연관 유전자 지도 부위를 탐색한 결과, 1626 집단에서 8개의 QTLs이 검출되었다(표 17, 그림 50). Linkage group 2번(C2)에서 gluconapin 함량과 연관된 1개의 QTL과 glucoraphanin 함량과 연관된 QTL 1개가 검출되었으며, C3 그룹에서 glucoraphanin 함량과 연관된 QTL 1개, C6 그룹에서는 glucobrassicin 함량과 연관된 QTL 1개, C7 그룹에서는 gluconapin 함량과 연관된 QTLs 2개와 progoitrin 함량과 연관된 QTL 1개, 그리고 C8 그룹에서는 glucoiberin 함량과 연관된 QTL 1개가 검출되었다(표 17, 그림 50).

표 17. 1626 집단의 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL 요약

Traits	Linkage group	Position (cM)	LOD	Flanking markers	Interval position	R <sup>2</sup> (%)
Gluconapin	C2	16.60	5.8	C2_29621662 C2_23711228	12.60-26.67	42.16
Gluconapin	C7	6.01	6.5	C7_07013410	4.01-14.01	0.01
Gluconapin	C7	54.93	3.6	C7_26905910	52.93-54.93	12.88
Glucoraphanin	C2	22.67	4.2	C2_23711228 C2_24112624	18.67-33.56	27.84
Glucoraphanin	C3	53.29	3.0	C3_36763500	47.29-53.29	19.97
Glucobrassicin	C6	10.01	4.2	C6_06044020	4.01-12.01	18.31
Progoitrin	C7	6.01	3.1	C7_07013410	4.01-6.01	2.69
Glucoiberin	C8	14.73	3.9	C7_31743196 C8_22159620	10.30-16.73	41.25



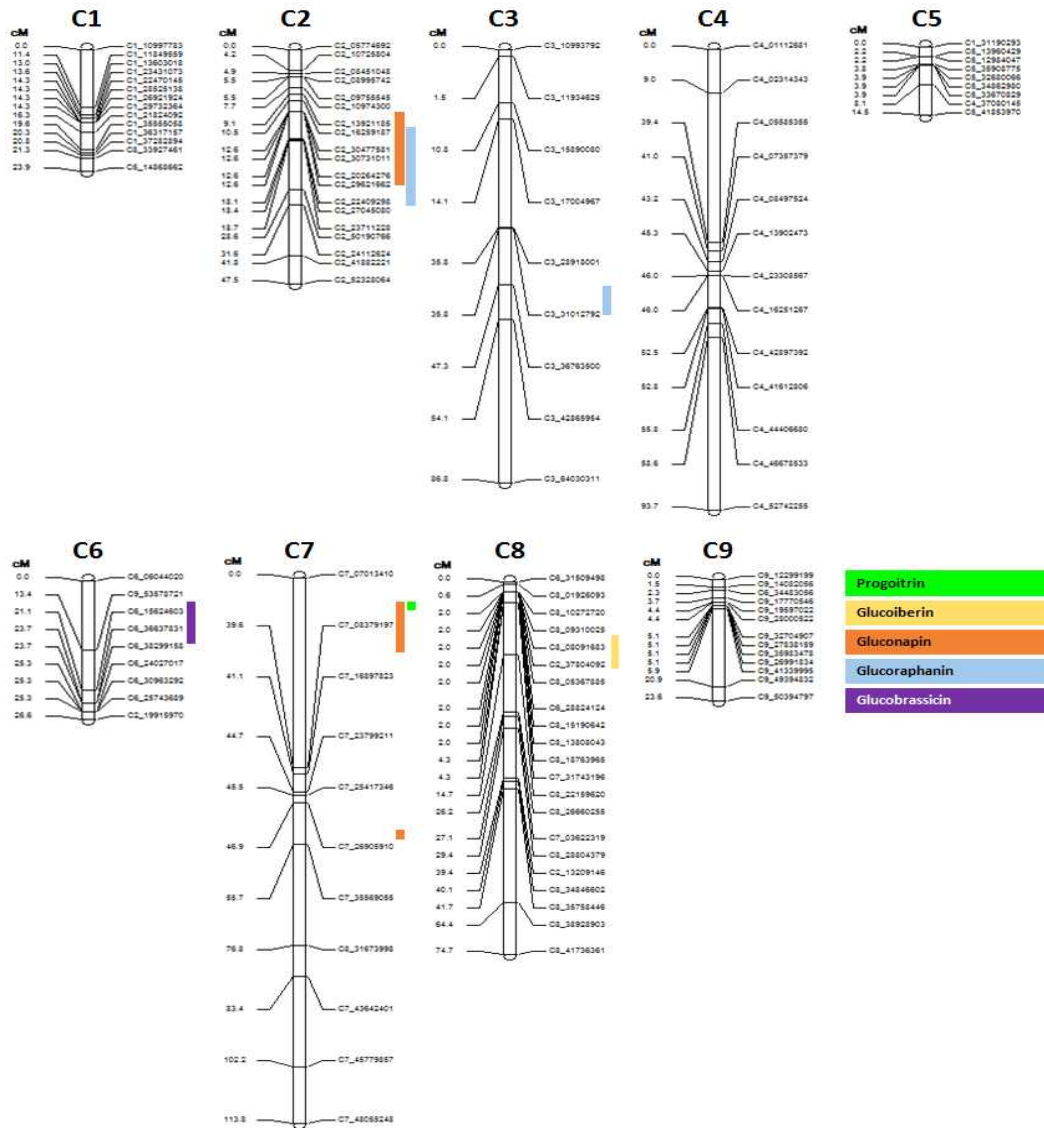


그림 50. 1626 유전자지도 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTLs

1627 집단의 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 유전자지도 부위를 분석한 결과 9개의 QTLs이 검출되었다. 이 집단의 Linkage group 2번은 두 개의 그룹으로 나뉘어졌는데 C2-1 그룹에서 gluconapin 함량과 연관된 QTL 1개와 progoitrin 함량 연관 QTL 1개가 검출되었고, C2-2 그룹에서는 gluconapin 함량 연관 QTL 1개, progoitrin 함량 연관 QTLs 2개, sinigrin 함량 연관 QTLs 2개 그리고 glucoraphanin 함량 연관 QTL 1개가 검출되었다. 또한 C9 그룹에서 gluconapin 함량과 연관된 1개의 QTL이 검출되었다(표 18, 그림 51).

표 18. 1627 유전자지도의 글루코시놀레이트 함량 관련 QTL 요약

Traits	Linkage group	Position (cM)	LOD	Flanking markers	Interval position	R <sup>2</sup> (%)
Gluconapin	C2-1	12.01	4.1	C2_02916193	4.01-18.01	43.2
Gluconapin	C2-2	11.32	6.1	C3_27393593 -	7.31-13.32	35.6

				C2_45679437		
Gluconapin	C9	0.01	3.3	C9_06439195	0.01	13.7
Progoitrin	C2-1	18.01	5.3	C2_02916193 - C2_04287868	2.01-25.27	19.5
Progoitrin	C2-2	11.32	3.2	C2_45679437	11.32	21.4
Progoitrin	C2-2	21.65	4.7	C2_48589037 - C2_50190766	15.48-27.65	25.6
Sinigrin	C2-2	4.44	3.1	C2_17612135 - C3_27393593	4.44-5.31	15.1
Sinigrin	C2-2	9.32	3.6	C2_45679437	9.32-11.32	16.2
Glucoraphanin	C2-2	21.65	17.4	C2_45679437 - C2_50190766	11.32-37.65	18.9

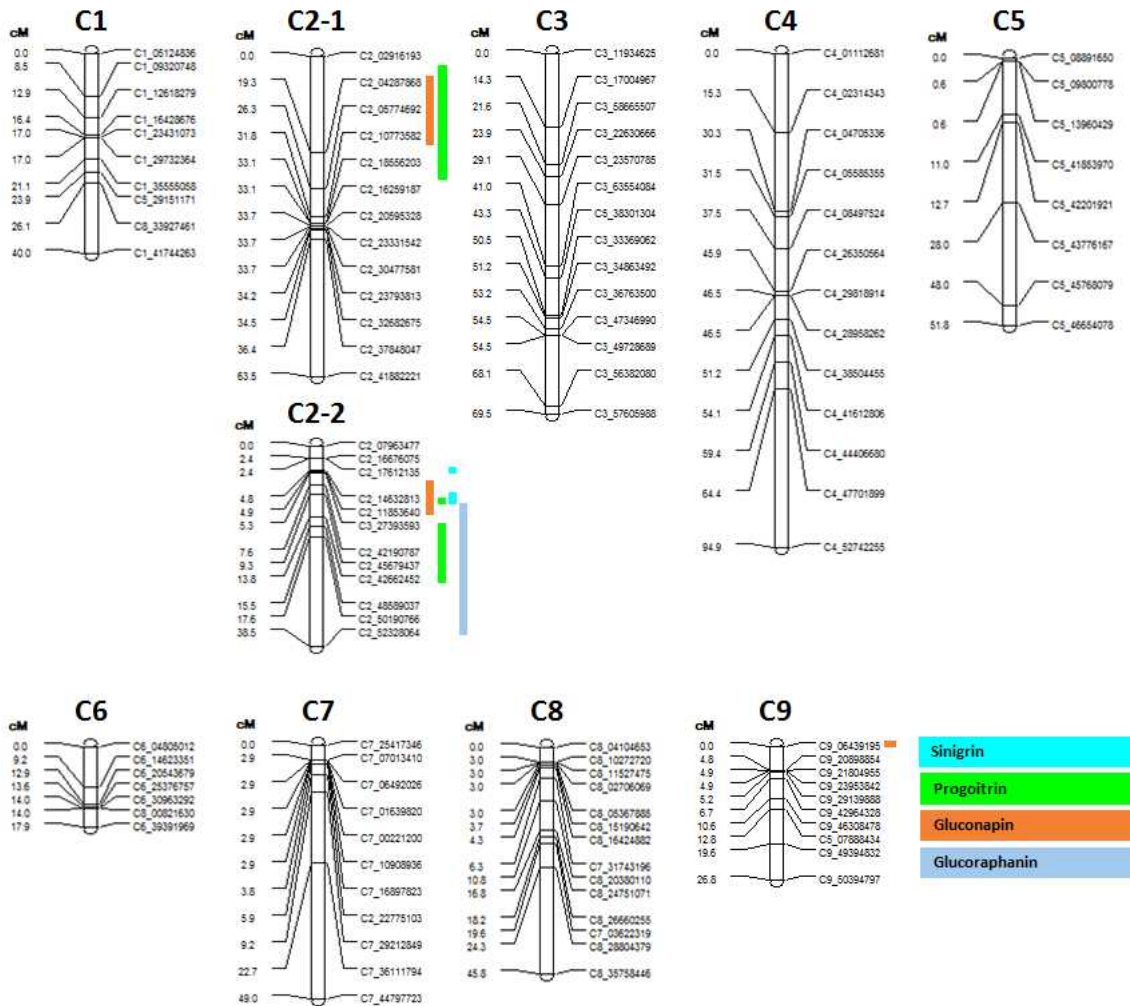


그림 51. 1627 유전자지도 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTLs

(라) 1626, 1627 공통 QTL 유래 글루코시놀레이트 함량 연관 분자마커 개발 및 검증

1626, 1627 집단의 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL 분석 결과, 두 유전자지도 공통적으로 gluconapin 및 glucoraphanin 함량과 관련된 QTL 5개가 C2 그룹에서 검출되었다 (그림 52).

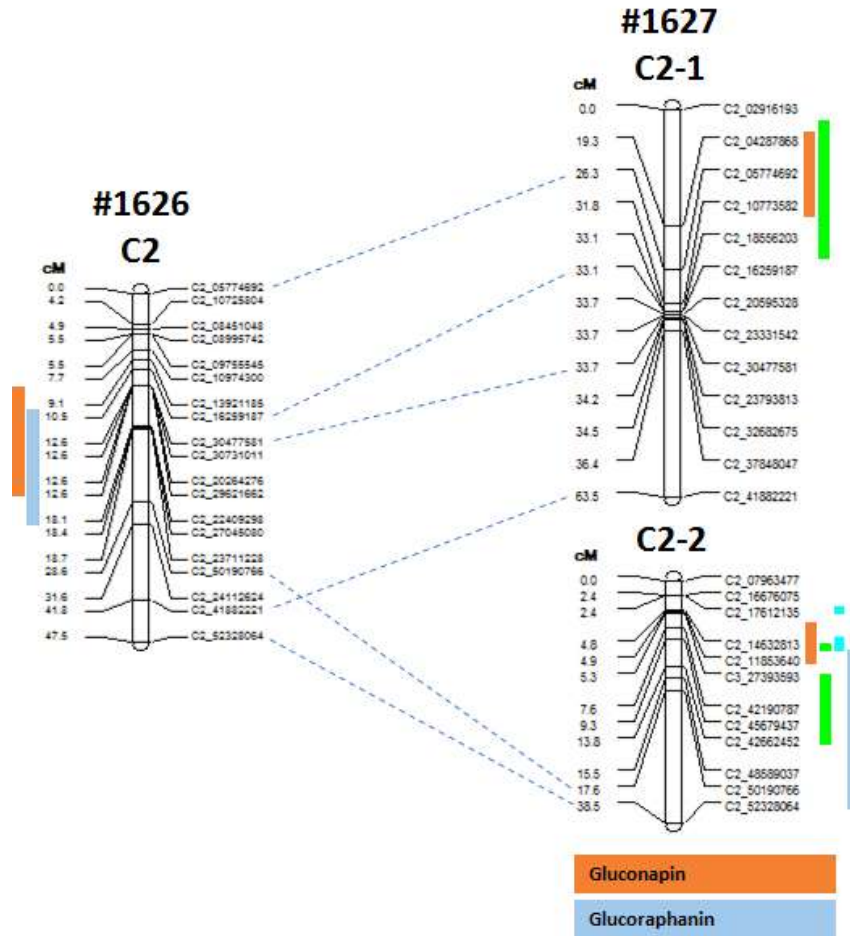


그림 52. 양배추 1626 1627 공통 QTLs (gluconapin 및 glucoraphanin 함량)

linkage group C2의 gluconapin 및 glucoraphanin의 함량 연관 공통 QTL로 도출되었다. 이 부위의 유전체 정보를 표준유전체 정보 (TO1000DH3', *B. oleracea* var. *capitata* '02-12')로부터 확보하고, 이부위 spanning 글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자 유래 SNP를 발굴하여, genotyping 을 위한 HRM 프라이머 20개를 제작하였다(표 19).

표 19. Gluconapin 및 glucoraphanin 함량 연관 공통 QTLs에 위치하는 글루코시놀레이트 생합성 유전자 유래 SNP genotyping 프라이머 목록

Primer name	Forward primer	Reverse primer	Product size (bp)	Gene	Gene locus in TO1000	Related glucosinolates
AOP1-SNP1	TCGCCGAAC TTTATGTGAG GT	GCGAACAGTGCAAGAAAC A	123	<i>AOP1</i>	C2:27310996. .27312375	Gluconapin
MAM1n3-524a	TCATGACCAAGAAAATCAC TCC	TGACGATGATTTGTTTTTC CA	142	<i>MAM1/</i> <i>MAM3</i>	C2:29516713. .29523297	Gluconapin
MAM1n3-524b	GCGTCCACCTAAGCAAAT AA	CTACGTTGAGTCGCCCTG TA	147	<i>MAM1/</i> <i>MAM3</i>	C2:29516713. .29523297	Gluconapin
MAM1n3-524c	TTTCAAAGAGTTGAAGAGT TCG	CCCACATCCACTTGTAGA GC	136	<i>MAM1/</i> <i>MAM3</i>	C2:29516713. .29523297	Gluconapin
MAM1n3-524d	AATTCTTGTCGCGCATCTT G	GCACAAGAAGCCAACCTT GT	134	<i>MAM1/</i> <i>MAM3</i>	C2:29516713. .29523297	Gluconapin
MAM1n3-524e	TTGTTTTGTGATGAGAGGG AGA	TGCTGCAGCCATATTTTT AAC	124	<i>MAM1/</i> <i>MAM3</i>	C2:29516713. .29523297	Gluconapin
CYP79F1-SNP1	AATCTCGGCCAAGGGATG	AAGCACTTTGCGCATTTG TT	102	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
CYP79F1-SNP2	GTTTGGGTTGCACACTCCT T	CACCAAAGGAGCAGTGG TT	120	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin

CYP79F1-SNP3	AATGTGTTTGGCCAGAGGA G	TGGTGGACGTAATGCACT GT	146	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
CYP79F1-SNP4	TGGAGGTTCTTGCTCAGCT T	GGAAGGTTTGGCCGTCATA GA	137	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
CYP79F1-SNP5	CACCGAAAGCTTCGAAAAT C	CAGTCTGCCTGCAAAAAGA AA	102	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
CYP79F1-SNP6	GGTTTAACCACTGGGCAAC T	TTTGGGCAGAAATGAAAGA GG	113	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
CYP79F1-SNP7	CTCATTATGGGTTGCCTGG A	TCTTTGCTAGCAGTCTCA GAGC	125	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
CYP79F1-SNP8	AGCCACCCTCTGGATAT G	TCAATAAGGGGACCCAGC TT	137	<i>CYP79F1</i>	C2:44987149. .44993846	Gluconapin, glucoraphanin
MAM1n3-531a	TTCAGCCTTTCAAGGTAAT T TACTG	ACCTAGTTAACATCTAAC AACCAAC	80	<i>MAM1/ MAM3</i>	C2:50461464. .50472292	Glucoraphanin
MAM1n3-531b	TCCACCAGAAAGTAGGAAT GG	ACGCTTGGTGAGACAGGT TC	103	<i>MAM1/ MAM3</i>	C2:50461464. .50472292	Glucoraphanin
MAM1n3-531c	TCTTTGTCAACGGACACGA G	GCTTTCGGAGTTTGTGGA AG	109	<i>MAM1/ MAM3</i>	C2:50461464. .50472292	Glucoraphanin
MAM1n3-531d	CTTCCACAACTCCGAAAG C	GGTTGCAAGACTCCAAAA GC	89	<i>MAM1/ MAM3</i>	C2:50461464. .50472292	Glucoraphanin
MAM1n3-637	AATCCGAGGGAAAACCTCT G	AACTCTCACTAACACCTT CTAATTG	118	<i>MAM1/ MAM3</i>	C2:50486524. .50490997	Glucoraphanin
CHY1-SNP1	TGATCGCATTTGATGTTCC T	AGTAAAATGGGTTCTTCG GTT	107	<i>CHY1</i>	C2:52309411. .52312467	Glucoraphanin

제작된 20개의 마커 중 gluconapin 함량과 연관된 마커 4개(MAM1n3-524d, CYP79F1-SNP2, CYP79F1-SNP4, CYP79F1-SNP6), glucoraphanin 함량과 연관된 마커 4개(CYP79F1-SNP2, CYP79F1-SNP4, CYP79F1-SNP6, CHY1-SNP1)를 검토하였다. 이 마커들의 gluconapin 및 glucoraphanin 성분 함량 연관성을 확인하기 위해 두 집단의 모본, 부분본을 포함하여 gluconapin 및 glucoraphanin 성분별로 고함량 및 저함량 계통 4개체씩, 총 12개체를 이용하여 genotyping 분석을 실시하였다(표 20, 21). 결과적으로 gluconapin 및 glucoraphanin 함량 연관 공통 QTL 부위에 위치하는 글루코시놀레이트 생합성 유전자들의 SNP를 기반으로 HRM 마커를 제작하였지만 이 중 효과적으로 gluconapin 및 glucoraphanin 고함량을 선발할 수 있는 마커는 발견되지 않았다.

표 20. Gluconapin 고함량 및 저함량 계통 12개체를 이용한 HRM 마커 분석 결과

Sample	Gluconapin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*			
		MAM1n3 -524d	CYP79F1 -SNP2	CYP79F1 -SNP4	CYP79F1 -SNP6
#1626-22	2.6	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-24	2.5	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-44	2.5	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-33	1.5	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>
#1627-부 (#827)	0.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>
#1626-모 (#828)	0.2	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-모 (#826)	0.1	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-부 (#829)	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-91	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-84	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-9	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>
#1627-86	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>

\* *ho*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

표 21. Glucoraphanin 고함량 및 저함량 계통 12개체를 이용한 HRM 마커 분석 결과

Sample	Glucoraphanin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*			
		CYP79F1 -SNP2	CYP79F1 -SNP4	CYP79F1 -SNP6	CHY1-SNP1

#1626-19	11.2	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho1</i>
#1626-33	10.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho2</i>
#1626-24	8.1	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho1</i>
#1627-39	5.2	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>he</i>	<i>ho2</i>
#1627-부 (#827)	2.8	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>	<i>ho2</i>
#1626-모 (#828)	1.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho2</i>
#1627-모 (#826)	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho2</i>
#1626-부 (#829)	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho1</i>
#1626-91	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho1</i>
#1626-86	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho1</i>
#1627-77	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho2</i>
#1627-86	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>	<i>ho2</i>

\* *ho*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

(마) TBDH 집단 기반 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping

양배추 1626, 1627 유전자지도보다 고밀도로 작성된 TBDH 유전자지도와 집단 계통을 이용하여 QTL mapping을 수행하였다. TBDH 집단의 글루코시놀레이트 성분 함량을 HPLC로 분석하였고, 2반복 수행하여 평균값으로 각 성분의 함량을 측정하였다(표 22).

표 22. TBDH 집단 및 부모 계통의 글루코시놀레이트 성분 함량 ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )

샘플	Glucobr berin	Progo itrin	Glucor aphani n	Sinigri n	Glucon apin	Glucoa lyssin	Glucoi berver in	Glucoc erucin	Glucob rassic in	4-met hoxygl ucobr assicin	Neoglu cobras sacin	Total glucos inolate s
TO1000DH3	0.75	1.77	1.61	5.30	11.97	0.01	0.05	0.15	0.39	0.06	1.33	23.39
Early Big	0.01	0.00	0.68	0.00	0.07	0.01	0.06	0.15	0.07	0.11	0.05	1.21
TBDH 2	0.07	0.00	3.67	0.00	0.02	0.02	0.00	1.78	0.02	0.04	0.02	5.65
TBDH 4	3.74	0.00	7.00	0.00	0.03	0.00	0.11	1.14	0.09	0.04	0.04	12.20
TBDH 5.2	0.23	0.00	0.40	0.00	0.03	0.00	0.01	0.05	0.03	0.05	0.01	0.82
TBDH 7	0.15	0.00	0.23	0.00	0.05	0.00	0.05	0.06	0.07	0.02	0.02	0.64
TBDH 11	2.55	0.00	3.52	0.00	0.00	0.00	0.05	0.25	0.35	0.37	0.13	7.26
TBDH 21	0.25	0.00	13.29	0.00	0.00	0.00	0.00	1.26	0.05	0.21	0.17	15.23
TBDH 27	1.72	0.00	2.97	0.00	0.01	0.00	0.02	0.12	0.05	0.11	0.02	5.02
TBDH 28	0.00	0.61	0.05	0.02	3.82	0.01	0.03	0.17	0.09	0.06	0.01	4.87
TBDH 31	0.00	0.76	0.20	0.14	11.52	0.00	0.13	0.04	0.16	0.19	0.05	13.20
TBDH 33	0.02	7.03	0.66	0.12	1.14	0.01	0.55	0.28	0.07	0.06	0.02	9.95
TBDH 34	0.00	0.77	0.14	0.00	3.11	0.00	0.06	0.13	0.05	0.03	0.01	4.30
TBDH 36	1.83	0.00	3.31	0.01	0.08	0.01	0.03	0.21	0.07	0.09	0.06	5.68
TBDH 37	0.01	0.00	0.53	0.01	0.02	0.00	0.01	0.09	0.06	0.04	0.04	0.80
TBDH 38.2	0.00	0.07	0.04	0.03	4.83	0.01	0.03	0.05	0.03	0.04	0.01	5.15
TBDH 39	3.19	0.00	4.87	0.00	0.00	0.02	0.12	0.77	0.06	0.24	0.02	9.34
TBDH 42	0.01	0.00	0.76	0.00	0.03	0.02	0.00	0.12	0.05	0.04	0.03	1.06
TBDH 45	0.18	3.37	0.31	3.01	1.42	0.00	0.21	0.13	0.05	0.03	0.01	8.72
TBDH 46.2	0.05	0.00	4.44	0.00	0.01	0.01	0.01	0.61	0.03	0.06	0.08	5.32
TBDH 47	0.00	0.00	0.80	0.00	0.03	0.02	0.00	0.24	0.04	0.06	0.04	1.22
TBDH 48	0.12	0.00	9.67	0.00	0.05	0.02	0.00	1.39	0.08	0.10	0.21	11.64
TBDH 49.2	0.00	5.15	0.43	0.08	0.51	0.01	0.25	0.11	0.05	0.01	0.01	6.62
TBDH 50	0.01	0.34	0.04	0.21	0.09	0.01	0.03	0.05	0.05	0.01	0.01	0.84
TBDH 51	0.00	2.53	0.13	0.25	14.12	0.01	0.15	0.12	0.05	0.05	0.02	17.41
TBDH 52	0.00	1.45	0.05	0.00	0.13	0.00	0.47	0.07	0.06	0.02	0.01	2.25
TBDH 53	0.00	0.59	0.01	0.05	3.25	0.00	0.00	0.07	0.05	0.02	0.02	4.07
TBDH 56	0.00	0.97	0.01	0.00	0.14	0.00	0.00	0.06	0.05	0.04	0.01	1.27
TBDH 57	0.87	0.00	1.45	0.00	0.02	0.01	0.05	0.21	0.11	0.07	0.04	2.84
TBDH 58	0.96	0.00	1.33	0.00	0.01	0.00	0.02	0.61	0.48	0.09	0.09	3.59
TBDH 61	0.01	0.09	0.02	0.01	0.31	0.00	0.05	0.07	0.09	0.07	0.03	0.75
TBDH 63	0.00	0.05	0.07	0.00	2.60	0.01	0.01	0.05	0.06	0.02	0.01	2.89
TBDH 72	0.00	0.13	0.20	0.04	4.05	0.00	0.05	0.05	0.10	0.16	0.04	4.81
TBDH 73	0.00	0.06	0.19	0.05	3.58	0.00	0.04	0.03	0.10	0.04	0.02	4.12
TBDH 80	0.00	1.29	0.45	0.09	8.53	0.01	0.11	0.09	0.09	0.14	0.02	10.81
TBDH 81.2	0.50	0.00	0.43	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.03	0.03	0.01	1.06
TBDH 83	0.31	0.01	0.45	0.00	0.03	0.00	0.01	0.04	0.05	0.05	0.02	0.98
TBDH 93.2	0.04	0.13	0.80	0.42	0.91	0.01	0.02	0.08	0.07	0.02	0.03	2.53



TBDH 94.2	1.85	0.00	1.34	0.00	0.01	0.00	0.03	0.19	0.21	0.28	0.05	3.97
TBDH 95	0.00	0.00	1.51	0.00	0.03	0.01	0.00	0.11	0.06	0.05	0.02	1.78
TBDH 96	0.02	0.66	0.06	0.83	0.15	0.01	0.22	0.03	0.06	0.01	0.01	2.06
TBDH 97	0.03	0.00	2.78	0.00	0.02	0.01	0.00	0.63	0.05	0.03	0.02	3.58
TBDH 100	0.04	0.00	2.14	0.00	0.02	0.00	0.01	0.59	0.11	0.09	0.07	3.08
TBDH 101	0.10	0.00	4.15	0.00	0.01	0.02	0.00	0.44	0.04	0.03	0.05	4.83
TBDH 102	0.00	0.11	0.03	0.06	2.42	0.00	0.09	0.17	0.15	0.04	0.03	3.11
TBDH 103	0.35	0.00	1.03	0.00	0.03	0.01	0.02	0.11	0.05	0.02	0.02	1.63
TBDH 104	0.39	0.00	0.48	0.00	0.02	0.01	0.02	0.04	0.03	0.04	0.02	1.05
TBDH 105	0.02	0.16	0.02	0.49	0.71	0.00	0.09	0.03	0.06	0.02	0.01	1.59
TBDH 106.2	0.04	2.31	0.10	1.87	0.29	0.00	0.27	0.05	0.06	0.05	0.01	5.07
TBDH 107	0.06	2.96	0.13	1.68	0.62	0.00	0.26	0.13	0.08	0.02	0.03	5.97
TBDH 109	0.01	0.10	0.79	0.00	1.23	0.01	0.01	0.08	0.05	0.03	0.02	2.33
TBDH 110	0.00	0.34	0.04	0.00	0.83	0.00	0.21	0.03	0.10	0.04	0.02	1.61
TBDH 112	0.02	0.00	2.30	0.00	0.01	0.01	0.00	0.13	0.04	0.05	0.05	2.61
TBDH 113	0.06	0.00	3.18	0.00	0.00	0.01	0.01	0.18	0.06	0.05	0.03	3.57
TBDH 117	0.14	0.00	10.19	0.00	0.04	0.00	0.00	1.28	0.12	0.05	0.05	11.87
TBDH 122	1.45	0.00	1.69	0.00	0.01	0.00	0.06	0.20	0.04	0.08	0.02	3.55
TBDH 125	0.00	4.10	0.05	0.02	2.91	0.02	0.29	0.04	0.08	0.05	0.01	7.57
TBDH 126	0.34	0.00	22.00	0.00	0.10	0.01	0.01	0.73	0.44	0.08	0.08	23.78
TBDH 127	0.00	3.04	0.33	0.04	0.11	0.01	0.78	0.06	0.10	0.10	0.02	4.59
TBDH 128	0.01	0.00	1.44	0.00	0.00	0.02	0.00	0.41	0.04	0.06	0.02	1.99
TBDH 137	0.11	0.00	8.99	0.00	0.06	0.01	0.00	0.88	0.04	0.07	0.05	10.22
TBDH 138	0.05	0.02	3.01	0.00	0.10	0.01	0.00	0.22	0.05	0.02	0.02	3.50
TBDH 139.3	0.13	0.22	0.05	2.90	4.17	0.00	0.13	0.06	0.03	0.08	0.05	7.83
TBDH 142	0.00	0.86	0.04	0.00	0.07	0.00	0.41	0.04	0.07	0.04	0.02	1.54
TBDH 144	0.07	0.00	6.20	0.00	0.06	0.00	0.00	1.15	0.08	0.02	0.04	7.61
TBDH 146.2	0.00	0.02	0.00	0.01	0.08	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.23
TBDH 147	0.07	0.32	0.09	0.99	1.49	0.02	0.07	0.06	0.07	0.15	0.01	3.34
TBDH 148	0.03	0.10	0.03	0.31	0.51	0.01	0.05	0.03	0.04	0.05	0.01	1.14
TBDH 151	0.07	0.42	0.10	0.19	0.05	0.02	0.22	0.03	0.03	0.04	0.01	1.17
TBDH 156	0.00	1.14	0.06	0.07	0.32	0.00	0.09	0.03	0.04	0.05	0.01	1.79
TBDH 157	0.02	0.17	0.03	0.43	0.90	0.01	0.09	0.03	0.10	0.03	0.01	1.83
TBDH 159	0.17	0.00	17.22	0.00	0.05	0.03	0.00	0.51	0.12	0.13	0.06	18.28
TBDH 160	0.00	0.05	0.02	0.00	0.47	0.00	0.03	0.01	0.04	0.03	0.01	0.67
TBDH 162	0.00	0.00	0.81	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.04	0.05	0.02	1.01
TBDH 179	0.00	0.00	6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	0.06	0.06	0.03	6.43
TBDH 181	0.06	0.29	0.07	1.50	1.57	0.00	0.08	0.14	0.13	0.09	0.02	3.94
TBDH 183	0.00	3.91	0.25	0.04	0.17	0.02	0.24	0.07	0.07	0.02	0.01	4.79
TBDH 185	0.00	5.32	0.13	0.08	0.56	0.00	0.93	0.06	0.18	0.04	0.04	7.35
TBDH 187	0.00	3.42	0.15	0.13	0.81	0.00	0.22	0.03	0.10	0.12	0.11	5.09
TBDH 191	0.00	4.96	0.29	3.09	1.21	0.00	0.14	0.08	0.03	0.08	0.01	9.89
TBDH 195	1.81	0.00	2.74	0.00	0.05	0.00	0.05	0.26	0.10	0.02	0.04	5.07
TBDH 197	0.03	0.00	2.25	0.04	0.02	0.00	0.01	0.37	0.11	0.14	0.06	3.04
TBDH 198	0.24	0.00	0.86	0.00	0.15	0.00	0.00	0.73	0.41	0.41	0.08	2.89
TBDH 199	0.02	0.00	2.18	0.00	0.04	0.02	0.01	0.24	0.06	0.02	0.03	2.63
TBDH 200	0.06	0.00	3.69	0.00	0.01	0.00	0.00	0.13	0.05	0.08	0.02	4.05
TBDH 202	0.00	0.00	1.75	0.00	0.06	0.01	0.02	0.52	0.06	0.06	0.02	2.51
TBDH 203	0.00	0.18	0.07	0.16	0.14	0.01	0.02	0.44	0.42	0.06	0.05	1.56
TBDH 209	0.15	0.00	3.04	0.00	0.05	0.01	0.00	0.37	0.11	0.03	0.04	3.80
TBDH 215	0.24	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.37	0.24	0.09	0.06	1.45
TBDH 217	0.00	1.86	0.10	0.05	0.11	0.01	0.38	0.04	0.08	0.02	0.01	2.65
TBDH 220	1.93	0.00	3.84	0.00	0.04	0.02	0.03	0.35	0.04	0.05	0.03	6.33
TBDH 221	0.00	5.08	0.26	0.03	0.81	0.00	0.12	0.04	0.05	0.04	0.01	6.44
TBDH 223.2	0.02	0.02	1.21	0.00	0.03	0.01	0.01	0.04	0.04	0.02	0.03	1.42
TBDH 234	0.00	0.75	0.14	0.14	7.46	0.00	0.46	0.23	0.34	0.06	0.03	9.62
TBDH 242	0.01	0.00	1.66	0.00	0.03	0.01	0.00	0.25	0.06	0.08	0.02	2.11
TBDH 244	0.00	0.60	0.03	0.02	2.07	0.01	0.05	0.03	0.04	0.02	0.01	2.87
TBDH 245	0.00	0.75	0.03	0.04	3.36	0.01	0.08	0.02	0.06	0.12	0.02	4.49
TBDH 248	0.00	0.05	0.02	0.01	1.78	0.02	0.03	0.03	0.07	0.06	0.03	2.08
TBDH 251	0.02	0.00	1.30	0.00	0.02	0.00	0.00	0.05	0.06	0.02	0.02	1.47
TBDH 255	0.00	0.10	0.03	0.00	0.52	0.01	0.05	0.03	0.06	0.02	0.01	0.83
TBDH 256	0.00	0.00	6.84	0.00	0.08	0.06	0.03	0.52	0.03	0.08	0.02	7.65
TBDH 260	0.02	1.65	0.12	0.00	0.10	0.00	0.12	0.09	0.08	0.04	0.01	2.23
TBDH 261	0.00	0.03	0.02	0.01	0.74	0.01	0.02	0.01	0.06	0.04	0.01	0.95
TBDH 262	0.00	0.62	0.04	0.04	3.26	0.00	0.05	0.02	0.04	0.10	0.01	4.20
TBDH 264	0.17	0.06	0.09	2.76	3.51	0.01	0.09	0.07	0.03	0.05	0.01	6.84
TBDH 266	0.01	0.00	1.51	0.00	0.07	0.00	0.00	0.22	0.10	0.03	0.04	2.00
TBDH 267	0.09	0.00	0.17	0.00	0.01	0.01	0.01	0.03	0.04	0.02	0.01	0.39
TBDH 269	0.00	1.72	0.07	0.06	6.15	0.00	0.10	0.02	0.08	0.07	0.18	8.45

TBDH 271	0.10	0.00	3.45	0.00	0.03	0.00	0.00	0.20	0.12	0.10	0.09	4.08
TBDH 282	0.03	0.01	1.43	0.17	0.02	0.00	0.00	0.46	0.05	0.01	0.02	2.20
TBDH 285	1.20	0.00	1.70	0.00	0.01	0.00	0.00	0.06	0.05	0.10	0.04	3.16
TBDH 286	0.03	0.03	0.08	0.79	1.16	0.00	0.00	0.06	0.06	0.04	0.01	2.26
TBDH 287	0.00	0.03	0.03	0.00	0.42	0.00	0.04	0.02	0.06	0.01	0.00	0.61
TBDH 290	0.00	0.05	0.05	0.00	3.29	0.01	0.02	0.05	0.05	0.01	0.00	3.53
TBDH 296	0.82	0.00	1.94	0.00	0.03	0.02	0.04	0.28	0.07	0.04	0.04	3.27
TBDH 298	0.00	4.80	0.49	0.07	0.72	0.00	0.23	0.12	0.06	0.11	0.02	6.63
TBDH 303	0.00	0.45	0.00	1.06	0.89	0.00	0.03	0.01	0.03	0.04	0.05	2.56
TBDH 307	0.11	0.00	0.23	0.00	0.03	0.01	0.01	0.03	0.04	0.01	0.00	0.48
TBDH 310	4.60	0.00	8.89	0.00	0.00	0.00	0.03	0.23	0.05	0.07	0.02	13.89
TBDH 312	0.04	0.01	0.08	0.00	0.03	0.00	0.01	0.03	0.04	0.03	0.01	0.29
TBDH 314	0.01	1.35	0.23	0.08	4.87	0.00	0.24	0.27	0.24	0.04	0.05	7.37
TBDH 315	0.04	0.00	4.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.06	0.05	0.02	4.30
TBDH 320	16.43	0.00	16.46	0.00	0.03	0.00	0.42	1.80	0.09	0.20	0.03	35.47
TBDH 323	0.06	0.93	0.39	0.68	0.34	0.02	0.11	0.07	0.06	0.02	0.00	2.69
TBDH 325	0.00	0.27	0.02	0.01	2.31	0.01	0.05	0.01	0.04	0.03	0.01	2.76
TBDH 328	1.33	0.00	1.53	0.00	0.07	0.01	0.02	0.04	0.03	0.06	0.02	3.11
TBDH 329	0.07	0.00	5.84	0.00	0.05	0.01	0.01	0.09	0.06	0.02	0.03	6.18
TBDH 334	0.47	0.00	0.59	0.00	0.02	0.01	0.01	0.03	0.04	0.01	0.02	1.20
TBDH 335	0.01	0.18	0.05	1.41	0.78	0.01	0.03	0.05	0.06	0.02	0.01	2.61
TBDH 340	0.00	0.00	0.17	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.03	0.03	0.02	0.31
TBDH 342	0.00	0.08	0.02	0.06	1.57	0.00	0.01	0.08	0.07	0.03	0.03	1.94
TBDH 345	0.01	0.06	0.01	0.18	0.18	0.00	0.02	0.12	0.08	0.13	0.02	0.82

11개의 성분과 이들 전체 성분값의 합을 총 글루코시놀레이트 함량으로 하여 정량한 결과, 부모 개체에서 glucoalyssin, glucoibervein, glucoerucin, 4-methoxyglucobrassicin을 제외한 나머지 성분들의 각 함량이 ‘TO1000DH3’에서 ‘Early big’보다 높게 검출되었고, 특히 gluconapin, total glucosinolates의 함량에서 약 180배, 19배의 차이가 있었다(표 22). 부모 개체의 각 성분별 함량의 평균과 표준편차를 이용하여 t-검정한 결과, ‘TO1000DH3’와 ‘Early Big’의 총 글루코시놀레이트 함량을 포함한 총 8개 성분, glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, glucobrassicin, 4-hydroxyglucobrassicin의 성분별 함량에서 각각 유의한 차이를 보였다(표 23).

표 23. TBDH 집단 양친계통의 글루코시놀레이트 함량

Glucosinolates	TO1000DH3 (P <sub>1</sub> ) (Mean ± S.D.)	Early Big (P <sub>2</sub> ) (Mean ± S.D.)	p-value
Glucoiberin	0.748±0.071	0.013±0.001	4.00E-02
Progoitrin	1.771±0.042	Not detected	1.00E-02
Glucoraphanin	1.612±0.180	0.677±0.053	2.00E-02
Sinigrin	5.299±0.033	Not detected	3.00E-03
Glucoalyssin	0.009±0.001	0.010±0.001	3.00E-01
Gluconapin	11.972±0.003	0.066±0.063	2.00E-03
Glucoibervein	0.051±0.007	0.061±0.066	8.00E-01
Glucoerucin	0.147±0.005	0.154±0.016	6.00E-01
Glucobrassicin	0.393±0.011	0.067±0.006	8.00E-04
4-Methoxyglucobrassicin	0.060±0.005	0.110±0.008	2.00E-02
Neoglucobrassicin	1.334±0.179	0.049±0.001	6.00E-02
<b>Total glucosinolates</b>	<b>23.395±0.418</b>	<b>1.207±0.108</b>	<b>2.00E-04</b>

TBDH 집단 130계통에서는 글루코시놀레이트 각 성분의 함량은 양적 형질 분리양상을 나타냈다(그림 53, 표 24). 가장 많이 함유한 글루코시놀레이트 성분은 glucoraphanin과 gluconapin으로 각각 총 글루코시놀레이트 함량의 39.11%, 23.23%를 차지하였으며, 가장

높은 함량의 시료는 glucoiberin(16.432  $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )과 glucoraphanin(21.999  $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )으로 나타났다(표 24). 반면 glucoalyssin과 neoglucobrassicin의 함량 평균값은 각각 0.007, 0.080  $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 으로 TBDH 집단에서 극소량을 함유하는 것으로 나타났다(표 24).

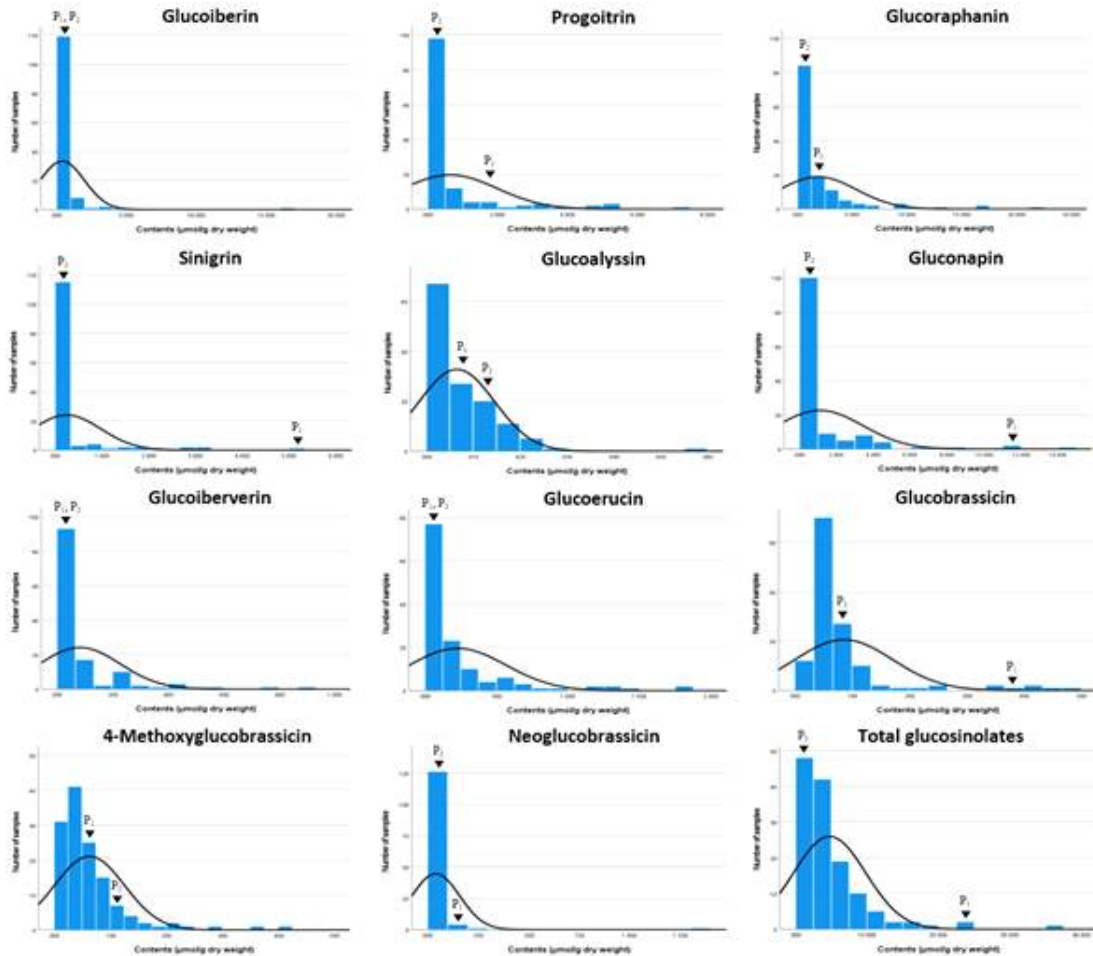


그림 53. TBDH 집단 130계통 및 양친 계통(P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>)의 글루코시놀레이트 성분 함량 분포도

표 24. TBDH 집단 130계통 글루코시놀레이트 성분 함량의 기초 통계

Glucosinolates	Mean±S.D. ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )	Min. content ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )	Max. content ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )
Glucoiberin	0.406±1.591	0.0	16.432
Progoitrin	0.632±1.349	0.0	7.030
Glucoraphanin	1.880±3.522	0.0	21.999
Sinigrin	0.209±0.587	0.0	3.087
Glucoalyssin	0.007±0.008	0.0	0.055
Gluconapin	1.033±2.141	0.0	14.115
Glucoiberverin	0.083±0.146	0.0	0.932
Glucoerucin	0.231±0.339	0.014	1.802
Glucobrassicin	0.084±0.082	0.025	0.481
4-Methoxyglucobrassicin	0.063±0.063	0.004	0.409
Neoglucobrassicin	0.031±0.032	0.003	0.206

Total glucosinolates	4.657±4.822	0.226	35.469
----------------------	-------------	-------	--------

TBDH 집단 부모 계통 간 유의한 차이를 보인 7개의 글루코시놀레이트 성분 및 총 글루코시놀레이트 함량에 관여하는 유전체 부위를 탐색한 결과, 총 3개의 염색체(C2, C5, C9)에서 총 11개의 QTL이 검출되었다 (표 25). 총 글루코시놀레이트 함량과 연관된 QTL 1개가 C2에 mapping 되었고, sinigrin 함량 연관 QTL은 3개가 C5에 mapping 되었다(표 25). C9에서는 glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin 함량과 연관된 QTL이 각각 1개씩 검출되었고, 4-methoxyglucobrassicin 함량 연관 QTL이 2개 확인되었다(표 25). 특히 C9 공통 지역(0.01~23.90, 0.01~19.26)에서 5개의 글루코시놀레이트 성분, glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin 성분 함량과 연관된 QTL이 있음을 확인하였다(표 25, 그림 52).

표 25. TBDH 집단 130계통의 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTL 요약

Trait	Linkage group	Position (cM)	Interval (cM)	LOD	R <sup>2</sup> (%)	Additive effect	Flanking markers	Marker position (cM)
GIB	C9	17.26	0.01 ~ 23.90	5.35	2.60	-0.27	cnu_m31a ~ KR189	0.00 ~ 26.29
PRO	C9	9.27	0.01 ~ 19.26	7.85	19.43	0.60	cnu_m31a ~ KR188	0.00 ~ 19.89
GRA	C9	9.27	0.01 ~ 19.26	10.69	25.41	-1.81	cnu_m31a ~ KR188	0.00 ~ 19.89
SIN	C5	44.24	23.40 ~ 48.73	10.04	24.38	0.31	KR080 ~ KR110	23.39 ~ 49.45
		49.49	49.49 ~ 49.76	8.15	20.41	0.28	KR104 ~ KR111	49.48 ~ 50.21
		50.70	50.23 ~ 56.84	8.41	20.97	0.28	KR113 ~ KR120	50.22 ~ 56.92
	C9	9.27	0.01 ~ 19.26	5.04	11.09	0.20	cnu_m31a ~ KR188	0.00 ~ 19.89
GNA	C9	9.27	0.01 ~ 19.26	9.27	24.52	1.08	cnu_m31a ~ KR188	0.00 ~ 19.89
4MGBS	C5	62.03	49.12 ~ 62.65	4.70	8.35	-0.02	KR192 ~ ACMP00386	49.11 ~ 62.88
		63.01	62.91 ~ 69.56	4.36	7.80	-0.02	BRPGM0021 ~ ACMP00598	62.90 ~ 70.63
Total GSLs	C2	88.75	88.75	3.01	8.59	1.52	KR027 ~ BRMS-228	88.74 ~ 92.10

(바) QTL spanning 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자 발굴

TBDH 집단 130계통을 사용하여 작성한 유전자 지도에서, 3개의 linkage group(C2, C5, C9)에 탐색된 글루코시놀레이트 함량 연관 유전자 부위의 flanking 지역으로 mapping된 마커들의 *B. oleracea* ‘TO1000DH3’ 유전체 지도 상 위치를 파악하여 범위 내 존재하는 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들을 확인하였다(그림 54).

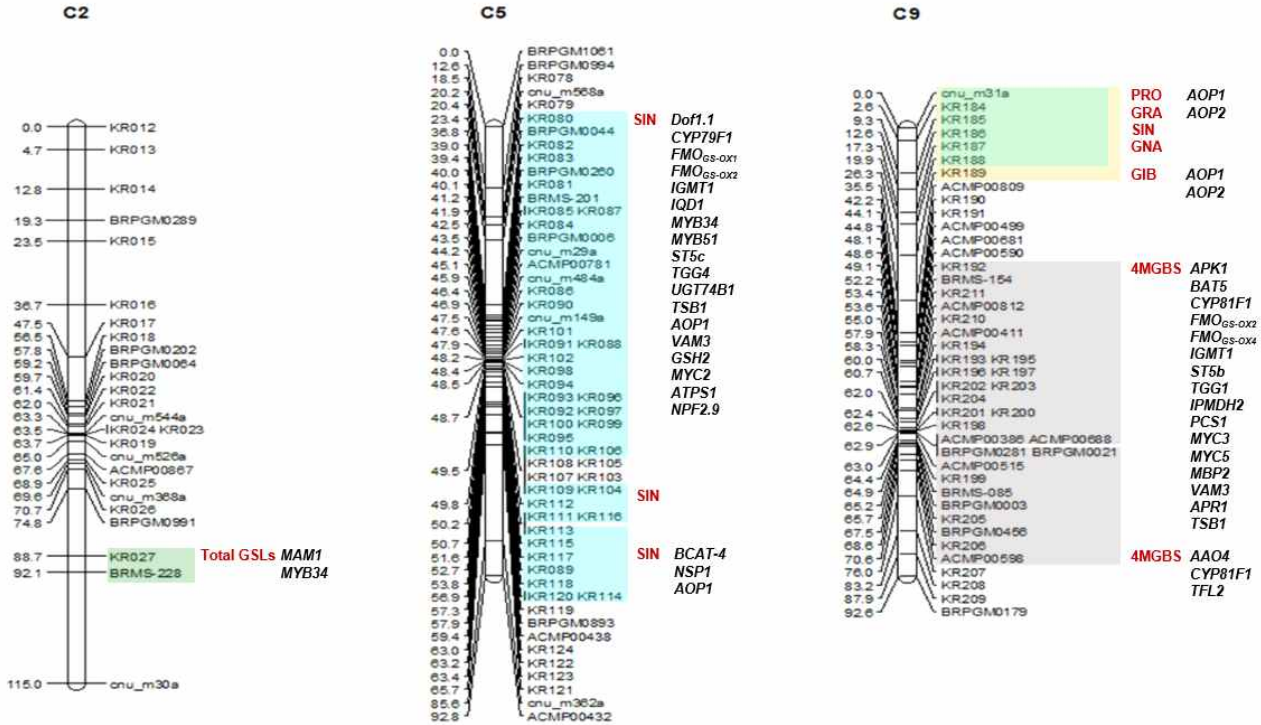


그림 54. 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTL spanning 생합성 및 분해 경로 유전자들

글루코시놀레이트 함량 연관 QTL들의 ‘TO1000DH3’ 유전체 physical position에 위치하는 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들을 확인한 결과, total glucosinolates 함량에 관여하는 유전자는 transcription factor인 *MYB34* 유전자 2개와 chain elongation에 관여하는 *MAM1* 유전자 2개로 확인되었고, sinigrin 함량과 연관된 유전자들은 총 31개 (*AOP1* 6개, *AOP2* 1개, *ATPS1* 1개, *BCAT-4* 1개, *CYP79F1* 1개, *Dof1.1* 1개, *FMO<sub>GS-ox1</sub>* 1개, *FMO<sub>GS-ox2</sub>* 1개, *GSH2* 1개, *IGMT1* 1개, *IQD1* 1개, *MYB34* 1개, *MYB51* 1개, *MYC2* 1개, *NPF2.9* 1개, *NSP1* 4개, *ST5c* 1개, *TGG4* 3개, *TSB1* 1개, *UGT74B1* 1개, *VAM3* 1개), 그리고 4-methoxyglucobrassicin 함량과 연관된 유전자들은 총 25개(*AAO4* 1개, *APK1* 1개, *APR1* 1개, *BAT5* 1개, *CYP81F1* 2개, *FMO<sub>GS-ox2</sub>* 1개, *FMO<sub>GS-ox4</sub>* 2개, *IGMT1* 1개, *IPMDH2* 1개, *MBP2* 1개, *MYC3* 1개, *MYC5* 1개, *PCS1* 2개, *ST5b* 5개, *TFL2* 1개, *TGG1* 1개, *TSB1* 1개, *VAM3* 1개)로, 이러한 유전자들이 생합성 및 분해 경로 전체적으로 해당되는 것을 확인하였다. 특히, sinigrin을 비롯하여 progoitrin, glucoraphanin, gluconapin, glucoiberin까지 총 5개 성분 함량과 연관되었다고 나타난 C9 그룹(interval distance: 0.01~19.26 cM)에서, 글루코시놀레이트 생합성 경로에서 methylsulfinyl GSLs를 alkenyl GSLs로 전환해주는 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase를 코딩하는 유전자 *AOP2* 유전자 1개와 *AOP1* 유전자 3개가 위치하는 것을 확인하였다.

(3) 기 보고된 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL spanning 분자마커 실증

논문 발표된 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTL 또는 분자마커의 실효성을 검토하기 위해 보고된 마커를 글루코시놀레이트 성분 함량 표현형과 연계시킬수 있는지를 검증하



였다. 2014년에 Tamara Sotelo 외(2014, *PLoS ONE*)에 의해 보고된 TBDH 집단의 seedling에서의 글루코시놀레이트 성분 연관 QTL 분석 논문을 참고하여, 이 논문에서 제시한 글루코시놀레이트 7개 성분들, gluconapin, glucoraphanin, progoitrin, sinigrin, glucoiberin, glucobrassicin 및 4-hydroxyglucobrassicin에 대한 QTL의 flanking 및 spanning marker 리스트를 확보하였다(그림 55). 이 마커의 리스트를 Brassica 데이터베이스를 mining 하여 마커 정보를 확보하고 그 결과 TBDH 집단에서 글루코시놀레이트 7개 성분들과 연관된 총 32개의 SSR 마커 정보를 수집하였다(표 26).

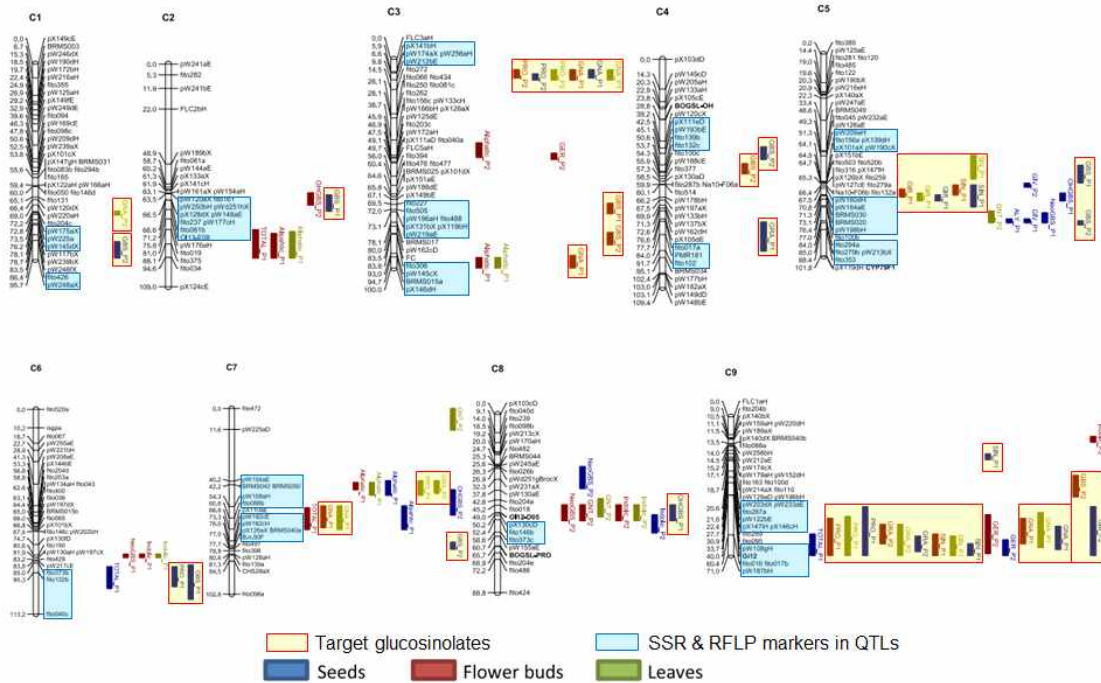


그림 55. Sotelo 외(2014)의 TBDH 집단 글루코시놀레이트 함량 연관 유전자지도 및 QTLs

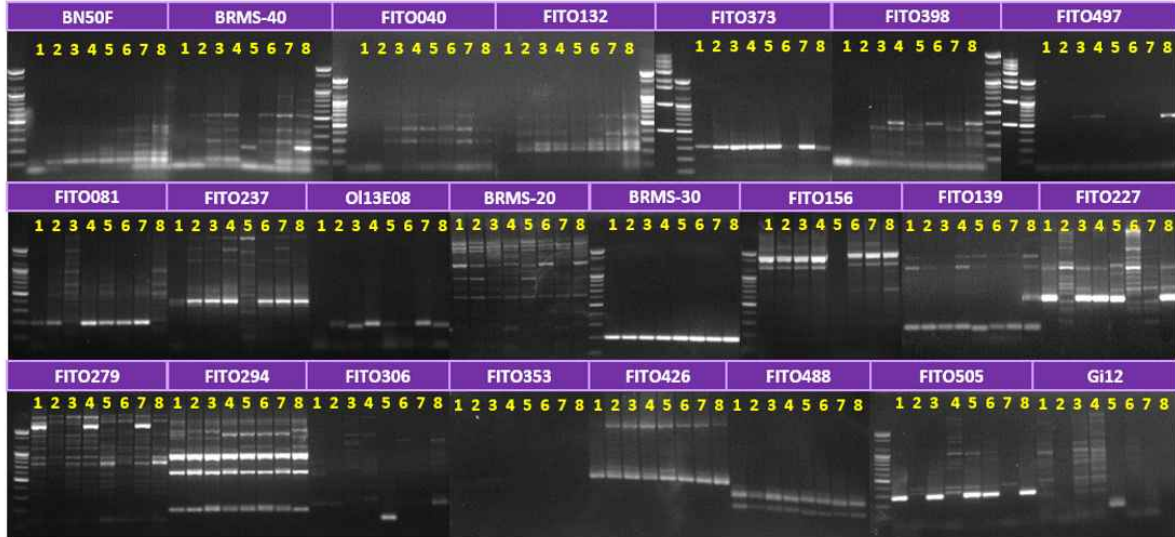
표 26. Sotelo 외(2014)의 TBDH 집단 글루코시놀레이트 함량 연관 SSR 마커 목록

Primer name	Type	Forward primer	Reverse primer	<i>B. oleracea</i> chromosome	Related glucosinolates
BN50F	SSR	CGTTGAAGCATCTCTGTATCTCTC	TTTCTCTCCGACCAAAACAC	C07	Glucobrassicin
BRMS-015	SSR	TCGCCAATAGAACCCAAAACCTT	CATCTCCATTGCTGCATCTGCT	C03	Gluconapin
BRMS-020	SSR	AACAAGAGAAGGAGAGCCACCG	CGCTTATAAAATGGCAGTCGCA	C05	Glucoiberin, 4-hydroxyglucobrassicin
BRMS-030	SSR	TCAGCCTACCAACGAGTCATAA	AAGTCTCATAATGAGTGGGAGTG	C05	Glucoiberin, 4-hydroxyglucobrassicin
BRMS-040	SSR	TCGGATTTGCATGTTCTGACT	CCGATACACAACCAGCCAATC	C07	Glucobrassicin
BRMS-042	SSR	GGATCAGTTATCTGCACCACAA	TCGGAATTGGATAAGAATTCAA	C07	Glucoraphanin, progoitrin, 4-hydroxyglucobrassicin
BRMS-050	SSR	AACTTTGCTTCCACTGATTTTT	TTGCTTAACGCTAAATCCATAT	C07	Glucoraphanin, progoitrin, 4-hydroxyglucobrassicin
FIT0016	SSR	GCATCACCATGACGATTCTC	CAAAAATGATGGAGGATACAAAA	C09	Glucobrassicin, gluconapin, glucoraphanin, progoitrin, glucoiberin, sinigrin

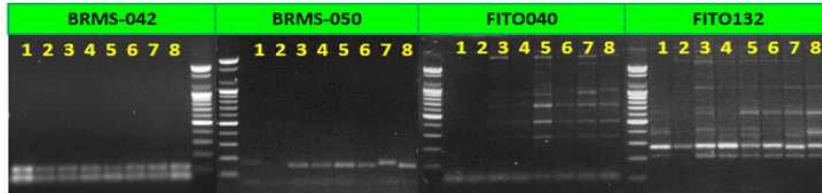
FITO017	SSR	TTTTTGTATCCTCCATCATTTTTG	TGATATGTTGACAATTTCCCC	C04, C09	Glucoraphanin, glucobrassicin, gluconapin, progoitrin, glucoiberin, sinigrin
FITO040	SSR	GATTGTTTGGTTCTAACTGTGG	TAGGATGTGACTTGGTCTTTC	C06	Progoitrin, glucobrassicin
FITO081	SSR	AACTAACTCGGGAAACAACC	GAATGTCCGTCAGAATACC	C02	4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin
FITO088	SSR	CCATCACTCATCTCACTCTTT	ATAAATCTCGTTGTCGGAAGT	C07	Gluconapin
FITO102	SSR	TAACTCATCAAACCAATGCGA	CGTCCAACACAAACTTACT	C04	Glucoraphanin
FITO132	SSR	TTGGGATGTAGGAACTGA	TCACACTAAAGGTCAATCAA	C04, C06	Progoitrin, glucobrassicin
FITO139	SSR	CCTCCATTACCACCACAA	CGTAGACAAACAACACCTGA	C04	Glucobrassicin
FITO146	SSR	ATTACTGAACGGACGAAA	GGAGCAGATGGAAGTTGTAG	C08	4-hydroxyglucobrassicin
FITO156	SSR	TATGTGTGTGTGTGTGTGTGT	ATAACCTGACAACGAAGATTG	C05	Sinigrin, glucobrassicin
FITO161	SSR	AGCCAGGGTTACACAGAGA	CCCAGAAGAGGGAGTCAG	C02	4-hydroxyglucobrassicin
FITO227	SSR	GTAACAGCAGAAGCAGAAGCA	CAGGTTCCACGATACACAAGA	C03	Glucobrassicin
FITO237	SSR	ATGAACAGCAACAACAACAA	TGTCTTCTCAAGTCCAGCA	C02	4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin
FITO279	SSR	AGAGACCTGCCACACAGA	GCACTTATTACAGACCCAAAC	C05	Glucobrassicin
FITO287	SSR	TGATTAGAAGGACAGCACACT	CCTCACACCACTCGGTTTC	C09	Sinigrin
FITO294	SSR	ATCACTTTCTCCAAATCACT	TACGACCTCAATCAATCAATC	C05	Glucobrassicin
FITO306	SSR	AGATTGTCCGTTCTTGTATTT	CCCTGTTTCTTGTAGTGTATG	C03	Glucobrassicin
FITO353	SSR	ATCGCTGTTCGGTGGGT	GTCCAATAAAGTGAAGGGA	C05	Glucobrassicin
FITO373	SSR	TCCCGAAACTCAAATACATAA	CCCTAAGTCCATAACTACTACAA	C06, C08	Progoitrin, 4-hydroxyglucobrassicin
FITO426	SSR	TGTCATAGTCAGTCAAAGTAGG	AAAGTGGAGAGAGGCAAATAC	C01	Glucobrassicin
FITO488	SSR	TTTCTAAGGCGTATCAAAGTG	ATTCTCTCTCAACCAACAGAC	C03	Glucobrassicin
FITO505	SSR	CTGGATGGTCTTCTGTGTTT	AGGATTTCTTTAGTGGGTTGT	C03	Glucobrassicin
Gi12	SSR	GAAAGGAAGTGAAGAAAGAGTG	CCAAACCATAGCATAAACAAC	C09	Glucobrassicin, gluconapin
OI13E08	SSR	TTCGCAACTCCTCCTAGAATC	AAGGTCTCACCACCGGAGTC	C02	4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin
pMR181	SSR	AGATTTGCATGTGGTTTGAC	ATTGCTTANTGATGTTGGGAA	C04	Glucoraphanin

수집한 32개의 SSR 마커들을 1626 및 1627 집단의 모본 및 부분과 글루코시놀레이트 각 성분별 고함량 및 저함량 계통 2개씩 사용하여 총 8개체로 marker의 실증성을 validation 하였다(그림 56). 32개의 SSR 마커들을 분석하였으며, 글루코시놀레이트 성분 함량과 연관성이 있는 마커는 없었다.

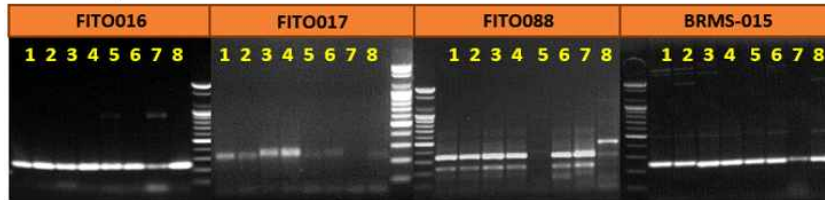
### Glucobrassicin



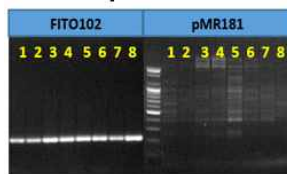
### Progoitrin



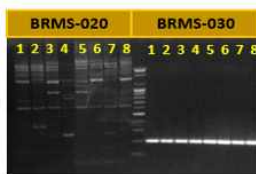
### Gluconapin



### Glucoraphanin



### Glucoiberin



### Sinigrin



Glucobrassicin			Progoitrin			Gluconapin			Glucoraphanin			Glucoiberin			Sinigrin		
Line	Sample	GBS	Line	Sample	PRO	Line	Sample	GNA	Line	Sample	GRA	Line	Sample	GIB	Line	Sample	SIN
1	#1626-29	40.9	1	#1626-19	5.1	1	#1626-22	2.6	1	#1626-26	15.0	1	#1626-39	9.9	1	#1626-44	17.5
2	#1626-26	26.4	2	#1626-29	4.7	2	#1626-24	2.5	2	#1626-29	12.2	2	#1626-37	9.6	2	#1626-19	16.3
3	#1626-1	1.1	3	#1627-86	0.0	3	#1627-86	0.0	3	#1627-77	0.0	3	#1627-5	2.1	3	#1626-55	1.3
4	#1626-69	2.2	4	#1627-88	0.0	4	#1627-88	0.0	4	#1627-86	0.0	4	#1627-15	1.9	4	#1626-1	0.7
5	#1627-모	8.0	5	#1627-모	0.3	5	#1627-모	0.1	5	#1627-모	0.0	5	#1627-모	4.6	5	#1627-모	12.8
6	#1627-부	7.4	6	#1627-부	0.6	6	#1627-부	0.3	6	#1627-부	2.8	6	#1627-부	5.9	6	#1627-부	2.2
7	#1626-모	1.3	7	#1626-모	0.8	7	#1626-모	0.2	7	#1626-모	1.3	7	#1626-모	2.6	7	#1626-모	2.6
8	#1626-부	4.9	8	#1626-부	0.0	8	#1626-부	0.0	8	#1626-부	0.0	8	#1626-부	5.0	8	#1626-부	6.0

그림 56. 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 기보고된 SSR 마커 실증 결과

이에 이어 TBDH 집단에서 글루코시놀레이트 7개 성분들과 연관된 27개의 RFLP 마커 정보를 수집하였다. 분자마커의 효율성과 실용성 증진을 위해 RFLP 마커를 SNP 기반 HRM 마커로 전환하여 글루코시놀레이트 성분 함량과의 연관성을 확인하였다. 27개의 RFLP 마커들의 유래 염기서열을 NCBI database로부터 얻어 *B. oleracea* var. *oleracea* reference

genome ‘TO1000’ 에서 높은 상동성으로 매치되는 서열을 찾고 ‘TO1000’ 과 *B. oleracea* var. *capitata* cabbage homozygous line ‘02-12’ 간의 SNP를 발굴하여 총 55개의 HRM 마커를 제작하였다(표 27).

표 27. 기보고된 글루코시놀레이트 함량 연관 RFLP 기반 SNP 마커 목록

Primer name	Forward primer	Reverse primer	Product size (bp)	NCBI nucleotide ID	<i>B. oleracea</i> chromosome	Related Glucosinolates
pW104-1	AGGAGATGTTCAACAAGATGGA	CCAAAAATCGCGAAGTCCAGC	82	71803705	C07	Glucoraphanin, progoitrin
pW104-2	ACATCCCATATGACTGACACC	TCCTTTCCTTTAGTATCCACCT	90			
pW108-1	CTGCAACGAGACAGGGTTAA	TCGCAAAAAGAGACGAGACTGG	80	71803710	C09	Glucobrassicin, gluconapin
pW108-2	CCAATGCAACGACACTGGC	CAGAAGAGACGAGACTGGGAC	134			
pW120-1	ACTCCCTCCGTTTTCGTATTA	ACACCTAACCATATTTCAACCA	140	71803697	C02	4-hydroxygluco brassicin
pW145-1	AGACGTAAAGACAACCGAAGA	TGTTCAAGTGTTCCTGGTGTATGC	80	71803731	C01	Glucoraphanin
pW145-2	TTGCTTGTAACTGCTGCTGCG	TGCTTGTAGCAGCTTCATCGA	101			
pW145-3	TCGATGAAGCTGCTCAAGACA	CACCTGTTTTCTCAATTGGCA	128			
pW160-1	TGATACTGCTCTTTGAAACCGA	CCGCAGCAACAAAGATCAGAG	100	71803732	C05	Sinigrin
pW160-2	AGCCACCTTTTCTTTAATGCA	AGACAATGTTGGAGCGAATGA	80			
pW160-3	CGTGCAGGATGATTGTTGC	GTGTACAAGGGGAGTAAGCCA	84			
pW162-1	GGTGAAGGAAGCGACAGTGA	ACACCAGAAAAGGAACAAGAGT	137	71803734	C07	Glucobrassicin
pW162-2	CCCAAGAACATAATCCATTTCCA	TGCGTGTAAATAAGAGAGAGAG	147			
pW164-1	TGCCAACACACAATACTAACA	GAACCGTTCATTTAACCCTACT	135	71803746	C05	Glucoiberin, sinigrin
pW164-2	GTAGGGTTAAAATGAACGGTTC	CCGCAACAGAGCACAAGAAT	83			
pW175-1	TTGAGAAGTTGGTGTGTATGAA	GCGAGGCGATTCAATCTCAC	80	71803736	C01	Glucoraphanin
pW175-2	TGGAGAGAATGGTCAAAGTGA	TGCTTAAACTTCACGCTTCGG	97			
pW175-3	TCTGTGTGAGATTGAATCGCCT	GCTGGTGCCTTTGTATC	81			
pW187-1	GCTGCGATTCTCTGGATCCA	GGATCAGAGGGAACGTTTGC	112	71803717	C09	Gluconapin, glucoraphanin, progoitrin, glucoiberin, sinigrin
pW187-2	AATTAGTAAAGCAAACGTTCCC	TGAGATTGCAATGTTAACTCGG	80			
pW192-1	CTAACCGGGGAATCTCGTCG	CGACCAAGACAGTGAAGCT	117	71803782	C07	Glucobrassicin
pW192-2	TCCTCTAGCAACTCCCACGA	TCATCCCAAGTACAGCACCA	104			
pW192-3	GCTCTCCCTCATGCTCTGAC	CCTGTCTGGGGAGTTGCTAG	96			
pW193-1	CAGGGACAGGAAACACGGTTC	TAGCAACTCCATCGACAGGG	81	71803783	C04	Glucobrassicin
pW193-2	CCTGTCGATGGAGTTGCTATAG	ATGCCAGACCACTTATTCCA	100			
pW209-1	TGTGTGTGTGTGTGTGTGTG	CAGAAACTTTGGTGTGTAACAAC	107	71803801	C05	Sinigrin, glucobrassicin
pW212-1	TGCCCTGTGATTGGTCCTGG	ACAGAGTCGTCAAGCCAACA	119	71803720	C03	Gluconapin, progoitrin
pW212-2	TCCTGGTTTGGGAAGAGATC	CAAACCAGAGCATTGAAGAAATCA	87			
pW213-1	ACGATGTAAGGAGGAGGTTG	AGCCAAATCACACATATCATCAGT	90	71803721	C05	Glucobrassicin
pW213-2	AGGTATAGCAAATATGAGGGTGG	TGAGTCGTATCCAAAAGGA	83			
pW213-3	ACAAGTTGTGGACAGTTCTGGT	ACACCTTACACACCAAGAACGA	82			
pW225-1	GCTAGTGCCGGACATGACAA	TGCCATATTACAGCCTGCAA	120	71803790	C01	Glucoraphanin
pW225-2	TCCTTCGTAATTTTCATCGGACA	ACCTTATCTGCCGCTCATCG	106			
pW248-1	GGATCCGGAGCTGTGTTTCA	TCGTCGCGATATGTTCCGTC	116	71803752	C01	Glucobrassicin
pW248-2	CCGTATCCTCTTCCCGAT	GACGTTGGTCCGAGGTGAT	110			
pW251-1	ACTCAAAGTTGCTCTCACTGT	TTGGCCCTGGGAAGATGGTA	149	71803766	C02	4-hydroxygluco brassicin
pW251-2	AGCCATAGACACAGAGTTGG	TACGTGTGGACTGGAGGTGA	84			
pX101-1	GGAGTGGGAAACAGAGCAA	TCCAAACTCAGATCCACC GC	113	73866392	C05	Glucobrassicin
pX101-2	GCGGTGGATCTGAGTTTGA	ACGACAAAGCAATAGACGTCA	108			
pX111-1	GAGATTGGGATAGCAAGGGTGA	TATGGTCTCCGAGCTCAGGG	95	73866408	C04	Glucobrassicin
pX111-2	AAGGCAGAGATCACACACTC	CAATCTCTTGGTCCATTGGTG	103			
pX119-1	GTGGAATCGACGAGGTGTT	CATTAGCTGCACTGCCTAAAG	141	73866398	C03	Glucobrassicin
pX126-1	CGAACTCAAGCACTTTAGGCAC	CGCTTGGGAACTGGAAAGA	142	73866399	C07	Glucobrassicin
pX126-2	GGCTCATTATCTCAAAGCACT	AGTGCTTGAGTTCGAATTGT	124			
pX130-1	AGCGAAGATAGTGGTGTGGC	ACAGTGTGGGTGCTTGGTT	103	73866429	C08	4-hydroxygluco brassicin
pX130-2	GTCGAACCAATAACCCACCG	AGGGACGTAGATGGCTGAT	116			
pX131-1	AGATGTTAGAAGGCGGAGCA	TCACACTTCCACACACAGA	101	73866401	C03	Glucobrassicin
pX131-2	TCTCGGACAGATCATTTGGT	TGTTCTCCCTGTTACTAACG	147			
pX139-1	ATGGTTGGTGGAAATCGACGA	AGTACAAAGCATCTCCTTAAGC	82	73866405	C05	Glucobrassicin
pX141-1	TGTCTCTGACCGTGTGTGG	CCCATGTGCTGTCTCTCAA	114	73866418	C03	Gluconapin
pX141-2	CCACTTGAGGATGATGCCGA	AATCATTCTGCAGCAACA	84			
pX146-1	CCGAAAGAGCCCTGGGATAG	TGGTGATGATCTGGTTGCTTG	126	73866420	C03	Gluconapin
pX146-2	ACAAGAGATAACCCGTCGCC	ATGCTCATGACCGCTTTGA	130			
pX147-1	CGGGAGGCATGATAGATCTACA	GCTTTGGAGGAGGCATCAGT	110	73866421	C09	Sinigrin
pX147-2	TGTGTGTGAAGAATGGTGAA	ACCAGATGAGAGATTTGTATGT	121			

제작된 55개의 HRM 마커 중 우선적으로 총 16개의 마커를 이용하여 마커들을 연관된 글루코시놀레이트 성분별로 나누어 glucobrassicin 6개, glucoraphanin 3개, gluconapin 4개, sinigrin 5개, progoitrin 2개, glucoiberin 마커 1개로 부모 개체들을 포함한 각 성분별 고품량 및 저함량 6개체씩 사용하여 총 16개체를 재료로 HRM 분석을 실시하였다(표 28-33). HRM을 통해 총 16개의 RFLP-SNP 마커들을 분석하였지만 글루코시놀레이트 성분 함량과 연관성이 있는 마커는 발견되지 않았다(표 19-24).

표 28. Glucobrassicin 고품량 및 저함량 계통 16개체를 이용한  
기보고 RFLP-SNP 마커 실증 분석 결과

Sample	Glucobrassicin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*					
		pW162-1	pW193-2	pW248-2	pX111-2	pX131-1	pX131-2
#1626-29	40.9	<i>ho3</i>	<i>he</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>he</i>
#1626-26	26.4	<i>he</i>	<i>he</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-37	23.4	<i>ho3</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-20	22.9	<i>ho2</i>	<i>he</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-92	19.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-23	17.8	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>	<i>ho</i>
#1627-모 (#826)	8.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>	<i>ho</i>
#1627-부 (#827)	7.4	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-부 (#829)	4.9	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-17	4.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1627-84	3.9	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>	<i>ho</i>
#1626-67	3.1	<i>he</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-47	2.5	<i>ho3</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>
#1626-69	2.2	<i>he</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho</i>
#1626-모 (#828)	1.3	<i>ho3</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>he</i>
#1626-1	1.1	<i>ho3</i>	<i>he</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho</i>

\* *ha*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

표 29. Glucoraphanin 고품량 및 저함량 계통 16개체를 이용한  
기보고 RFLP-SNP 마커 실증 분석 결과

Sample	Glucoraphanin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*		
		pW104-2	pW175-3	pW187-2
#1626-26	15.0	<i>ho1</i>	<i>he</i>	<i>ho2</i>
#1626-29	12.2	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-19	11.2	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-33	10.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-24	8.1	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-39	5.2	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-부 (#827)	2.8	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-모 (#828)	1.3	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>
#1627-모 (#826)	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>
#1626-부 (#829)	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-91	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-86	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-77	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>
#1627-86	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>
#1626-60	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-36	0.0	<i>ho1</i>	<i>he</i>	<i>ho2</i>

\* *ha*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

표 30. Gluconapin 고품량 및 저함량 계통 16개체를 이용한  
기보고 RFLP-SNP 마커 실증 분석 결과

\* *ha*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype



Sample	Gluconapin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*			
		pW187-2	pX141-2	pX146-1	pX146-2
#1626-22	2.6	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho3</i>	<i>ho1</i>
#1626-24	2.5	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho3</i>	<i>ho1</i>
#1627-56	1.6	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>
#1627-22	1.5	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-33	1.2	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-91	1.2	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-부 (#827)	0.3	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>
#1626-모 (#828)	0.2	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho3</i>	<i>ho2</i>
#1627-모 (#826)	0.1	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-72	0.1	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-60	0.1	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-부 (#829)	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho3</i>	<i>ho1</i>
#1627-71	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-77	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>
#1627-86	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>
#1626-91	0.0	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>ho3</i>	<i>ho2</i>

표 31. Sinigrin 고함량 및 저함량 계통 16개체를 이용한  
기보고 RFLP-SNP 마커 실증 분석 결과

Sample	Sinigrin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*				
		pW160-1	pW160-2	pW160-3	pW187-2	pX147-2
#1626-44	17.5	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he3</i>
#1626-19	16.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he2</i>
#1626-27	16.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he2</i>
#1627-72	14.6	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he1</i>
#1626-37	13.9	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he2</i>
#1627-모 (#826)	12.8	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>he3</i>
#1627-33	11.4	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>he2</i>
#1626-부 (#829)	6.0	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>he3</i>
#1627-14	2.9	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>he</i>	<i>he2</i>
#1626-모 (#828)	2.6	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he1</i>
#1626-89	2.4	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>he3</i>
#1626-59	2.3	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>he1</i>
#1627-부 (#827)	2.2	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>he1</i>
#1627-60	2.1	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>	<i>ho1</i>	<i>he3</i>
#1626-66	1.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he1</i>
#1626-1	0.7	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>	<i>he2</i>

\* *ho*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

표 32. Progoitrin 고함량 및 저함량 계통 16개체를 이용한  
기보고 RFLP-SNP 마커 실증 분석 결과

Sample	Progoitrin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*	
		pW104-2	pW187-2
#1626-19	5.1	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-29	4.7	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-26	4.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-44	3.9	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-24	3.5	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-22	3.3	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-모 (#828)	0.8	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1627-부 (#827)	0.6	<i>ho2</i>	<i>ho2</i>
#1627-모 (#826)	0.3	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>
#1627-86	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>
#1627-77	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho1</i>

#1627-71	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-부 (#829)	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-91	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-90	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>
#1626-86	0.0	<i>ho1</i>	<i>ho2</i>

\* *ho*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

표 33. Glucoiberin 고함량 및 저함량 계통 16 개체를 이용한  
기보고 RFLP-SNP 마커 분석 결과

Sample	Glucoiberin ( $\mu\text{mol/g dwt.}$ )	HRM genotyping results*
		pW187-2
#1626-26	10.3	<i>ho2</i>
#1626-39	9.9	<i>ho2</i>
#1626-37	9.6	<i>ho2</i>
#1627-33	9.3	<i>ho1</i>
#1626-19	8.8	<i>ho2</i>
#1627-38	8.1	<i>ho2</i>
#1627-부 (#827)	5.9	<i>ho2</i>
#1626-부 (#829)	5.0	<i>ho2</i>
#1627-모 (#826)	4.6	<i>ho1</i>
#1627-60	4.1	<i>ho1</i>
#1627-64	3.3	<i>ho1</i>
#1626-부 (#829)	2.6	<i>ho2</i>
#1626-91	0.7	<i>ho2</i>
#1626-84	0.6	<i>ho2</i>
#1627-9	0.5	<i>ho2</i>
#1627-86	0.4	<i>ho2</i>

\* *ho*: homozygous genotype, *he*: heterozygous genotype

기 보고된 문헌과 정보로부터 실증 가능한 마커에 대한 검증을 한 결과 기 보고된 논문 발표된 마커는 양배추의 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 마커로서의 실효성이 없는 것을 확인하였다.

#### (4) 글루코시놀레이트 함량 연관 계통 유전체 분석 및 분자마커 대량 발굴

##### (가) 글루코시놀레이트 함량 연관 계통 선발 및 resequencing

글루코시놀레이트 성분별로 고함량과 저함량 계통 간의 genetic variant 대량 발굴을 위해 글루코시놀레이트 주요 성분 5개 (glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin) 각 성분별 고함량 또는 저함량 계통을 TBDH 집단에서 총 10계통을 선발하였다(표 34).

표 34. 선발된 글루코시놀레이트 성분별 고함량 및 저함량 TBDH 계통

Trait	High contents		Low contents	
	TBDH	Content ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )	TBDH	Content ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )
GIB	TBDH 320	16.43	TBDH 51	0.0
			TBDH 146.2	0.0
			TBDH 191	0.0
			TBDH 303	0.0
PRO	TBDH 33	7.03	TBDH 11	0.0
			TBDH 126	0.0
			TBDH 310	0.0
			TBDH 320	0.0
GRA	TBDH 126	22.0	TBDH 146.2	0.0
	TBDH 320	16.46	TBDH 303	0.0

SIN	TBDH 191	3.09	TBDH 11	0.0
	TBDH 45	3.01	TBDH 126	0.0
			TBDH 310	0.0
			TBDH 320	0.0
GNA	TBDH 51	14.12	TBDH 11	0.0
			TBDH 310	0.0

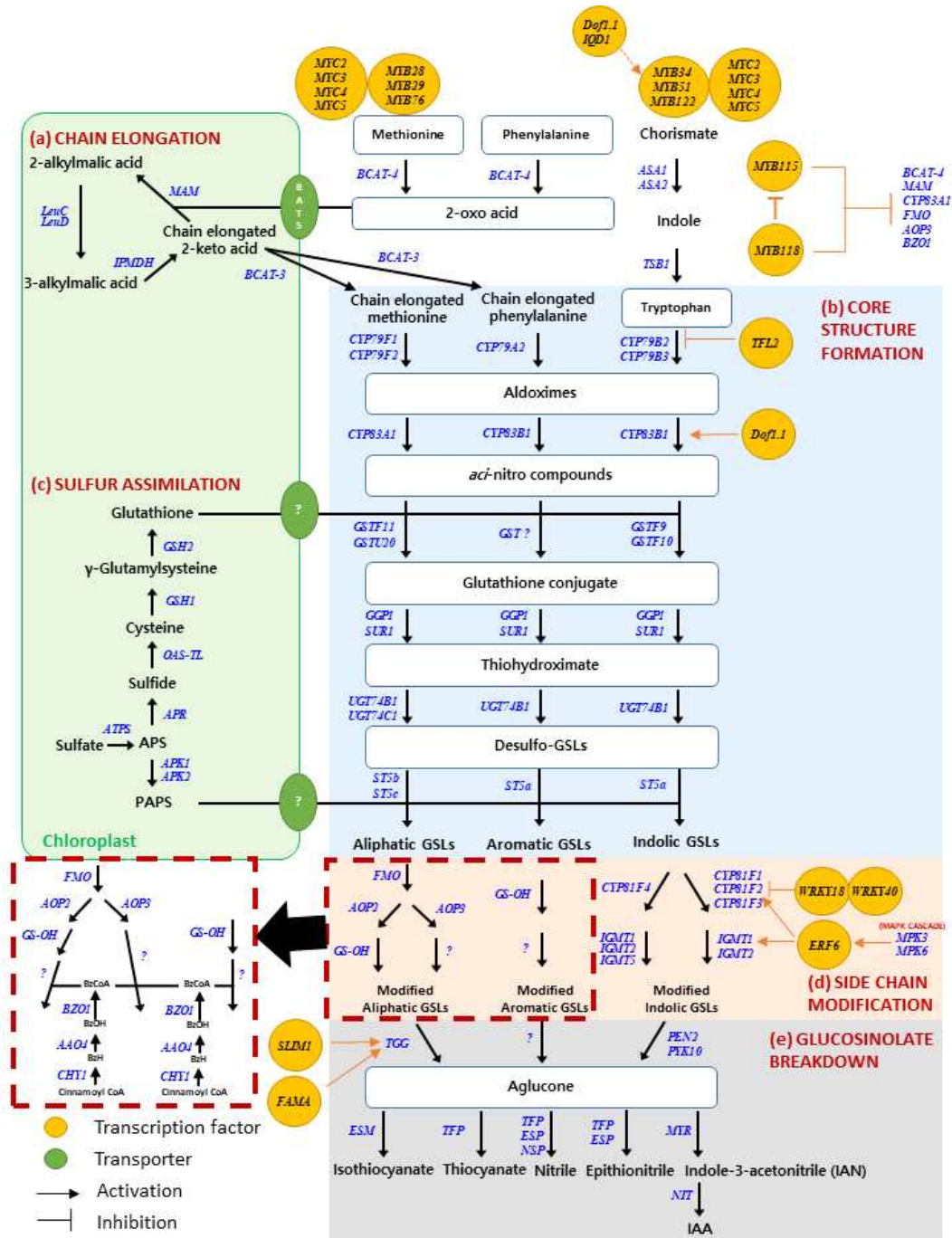
선발된 10개의 TBDH 계통들, TBDH 11, TBDH 33, TBDH 45, TBDH 51, TBDH 126, TBDH 146.2, TBDH 191, TBDH 303, TBDH 310, TBDH 320을 Illumina NovaSeq6000으로 sequencing (2 × 150 bp paired end reads)하여, 약 15.1 Gb의 염기서열 데이터를 생성하였다. 이는 평균적으로 reference genome (*B. oleracea* ‘TO1000DH3’ genome, 88.95 Mb) align 된 서열 기준으로 약 25.78 genome coverage로 생성된 것을 확인하였다(표 35). high quality trimming 을 한 후 reference genome에 align 된 각 계통별 81.11 (TBDH146.2)~ 96.59% (TBDH303)의 read를 이용하여 SNP를 발굴하였다(표 35).

표 35. 선발된 TBDH 10계통의 sequencing 분석 결과

TBDH line	Raw bases	Aligned bases	Depth of coverage	Total reads	Aligned reads	Aligned %
TBDH 11	14,858,197,962	13,128,358,805	26.85	98,398,662	94,870,581	96.41
TBDH 33	15,647,121,018	13,692,159,321	28.00	103,623,318	99,933,665	96.44
TBDH 45	14,925,379,976	12,663,397,026	25.90	98,843,576	91,951,411	93.03
TBDH 51	15,114,173,162	11,592,898,455	23.71	100,093,862	83,394,059	83.32
TBDH 126	14,892,329,096	12,866,960,151	26.32	98,624,696	93,237,785	94.54
TBDH 146.2	15,061,630,900	11,241,963,500	23.00	99,745,900	80,899,451	81.11
TBDH 191	14,706,326,692	12,218,990,377	24.99	97,392,892	87,953,945	90.31
TBDH 303	15,326,993,770	13,448,985,094	27.51	101,503,270	98,038,621	96.59
TBDH 310	15,541,781,606	13,191,777,272	26.98	102,925,706	96,249,452	93.51
TBDH 320	14,965,891,464	11,964,686,614	24.47	99,111,864	86,343,870	87.12

(나) 글루코시놀레이트 합성 및 분해경로 유전자 발굴

글루코시놀레이트 성분 함량 연관 유전자군 및 분자마커 개발을 위해 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로와 연관된 유전자들을 발굴하였다. 모델식물 애기장대의 TAIR10 버전의 유전체 정보를 기반으로 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 연관 유전자들 127개를 발굴하여 양배추 유전자 발굴 기준으로 활용하였다(그림 57, 표 36).



References:

- (1) Li et al. 2014. Nat commun 5:3930
- (2) Chhajed et al. 2019. Front Plant Sci 10:618
- (3) Chhajed et al. 2020. Agronomy 10(11):1786
- (4) Frerigman H. 2016. Adv Bot Res 80:57-97
- (5) Lächler et al. 2020. Front Plant Sci 11:808
- (6) Maeda HA. 2019. Front Plant Sci 10:881
- (7) Sønderby et al. 2010. Trends Plant Sci 15(5):283-290
- (8) Shirakawa et al. 2014. Plant Cell 26(10):4039-4052

그림 57. 애기장대의 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로

표 36. 애기장대의 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들

No	Gene ID	Gene	Protein	Function	
1	AT5G61420	MYB28	Myb transcription factor 28	Transcription factor (GSL biosynthesis)	
2	AT5G07690	MYB29	Myb transcription factor 29		
3	AT5G07700	MYB76	Myb transcription factor 76		
4	AT5G60890	MYB34	Myb transcription factor 34		
5	AT1G18570	MYB51	Myb transcription factor 51		
6	AT5G40360	MYB115	Myb transcription factor 115		
7	AT3G27785	MYB118	Myb transcription factor 118		
8	AT1G74080	MYB122	Myb transcription factor 122		
9	AT1G07640	Dof1.1	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein Dof1.1		
10	AT3G09710	IQD1	Protein IQ-DOMAIN 1		
11	AT1G32640	MYC2	Transcription factor MYC2		
12	AT5G46760	MYC3	Transcription factor MYC3		
13	AT4G17880	MYC4	Transcription factor MYC4		
14	AT5G46830	MYC5	Transcription factor MYC5		
15	AT4G17490	ERF6	Ethylene response factor 6		
16	AT5G17690	TFL2	Like heterochromatin protein 1	Transcription factor (GSL breakdown)	
17	AT1G73730	SLIM1	Sulfur limitation 1		
18	AT4G31800	WRKY18	WRKY DNA-binding protein 18		
19	AT1G80840	WRKY40	WRKY DNA-binding protein 40		
20	AT3G24140	FAMA	Transcription factor FAMA		
21	AT5G23010/AJ486890	MAM1/2	Methylthioalkylmalate synthase 1/2	Chain elongation	
22	AT5G23020	MAM3	Methylthioalkylmalate synthase 3		
23	AT4G13430	LeuC1	3-isopropylmalate dehydratase large subunit 1		
24	AT2G43100	LeuD1	3-isopropylmalate dehydratase small subunit 2		
25	AT3G58990	LeuD2	3-isopropylmalate dehydratase small subunit 3		
26	AT2G43090	LeuD3	3-isopropylmalate dehydratase small subunit 1		
27	AT5G14200	IPMDH1	Isopropylmalate dehydrogenase 1		
28	AT1G80560	IPMDH2	Isopropylmalate dehydrogenase 2		
29	AT1G31180	IPMDH3	Isopropylmalate dehydrogenase 3		
30	AT3G49680	BCAT-3	Branched-chain amino acid aminotransferase 3		
31	AT3G19710	BCAT-4	Branched-chain amino acid aminotransferase 4		
32	AT4G12030	BAT5	Bile acid transporter 5		
33	AT1G16410	CYP79F1	Cytochrome P450 79F1		Core structure formation
34	AT1G16400	CYP79F2	Cytochrome P450 79F2		
35	AT5G05260	CYP79A2	Cytochrome P450 79A2		
36	AT4G39950	CYP79B2	Cytochrome P450 79B2		
37	AT2G22330	CYP79B3	Cytochrome P450 79B3		
38	AT4G13770	CYP83A1	Cytochrome P450 83A1		
39	AT4G31500	CYP83B1	Cytochrome P450 83B1		
40	AT2G20610	SUR1	S-alkyl-thiohydroximate lyase SUR1		
41	AT1G24100	UGT74B1	UDP-glucosyl transferase 74B1		
42	AT2G31790	UGT74C1	UDP-glucosyl transferase 74C1		
43	AT1G74100	ST5a	Sulfotransferase 5a		
44	AT1G74090	ST5b	Sulfotransferase 5b		
45	AT1G18590	ST5c	Sulfotransferase 5c		
46	AT3G03190	GSTF11	Glutathione S-transferase F11	Side chain modification	
47	AT1G78370	GSTU20	Glutathione S-transferase U20		
48	AT2G30860	GSTF9	Glutathione S-transferase F9		
49	AT2G30870	GSTF10	Glutathione S-transferase F10		
50	AT4G30530	GGP1	Gamma-glutamyl peptidase 1		
51	AT5G05730	ASA1	Anthranilate synthase alpha subunit 1		
52	AT2G29690	ASA2	Anthranilate synthase alpha subunit 2		
53	AT5G54810	TSB1	Tryptophan synthase beta 1		
54	AT1G65860	FMOGS-OX1	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 1		
55	AT1G62540	FMOGS-OX2	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 2		
56	AT1G62560	FMOGS-OX3	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 3		
57	AT1G62570	FMOGS-OX4	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 4		
58	AT1G12140	FMOGS-OX5	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 5		
59	AT1G12130	FMOGS-OX6	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 6		
60	AT1G12160	FMOGS-OX7	Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase 7		
61	AT4G03070	AOP1	Alkenyl hydroxalkyl producing 1		
62	AT4G03060	AOP2	Alkenyl hydroxalkyl producing 2		
63	AT4G03050	AOP3	Alkenyl hydroxalkyl producing 3		
64	AT2G25450	GSL-OH	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase		
65	AT4G37430	CYP81F1	Cytochrome P450 81F1		
66	AT5G57220	CYP81F2	Cytochrome P450 81F2		
67	AT4G37400	CYP81F3	Cytochrome P450 81F3		
68	AT4G37410	CYP81F4	Cytochrome P450 81F4		
69	AT1G21100	IGMT1	Indole glucosinolate O-methyltransferase 1		
70	AT1G21120	IGMT2	Indole glucosinolate O-methyltransferase 2		
71	AT1G21110	IGMT3	Indole glucosinolate O-methyltransferase 3		
72	AT1G21130	IGMT4	Indole glucosinolate O-methyltransferase 4		



73	AT1G76790	IGMT5	Indole glucosinolate O-methyltransferase 5	
74	AT2G14750	APK1	Adenosine-5'-phosphosulfate kinase 1	
75	AT4G39940	APK2	Adenosine-5'-phosphosulfate kinase 2	
76	AT4G23100	GSH1	Glutamate--cysteine ligase, chloroplastic	
77	AT5G27380	GSH2	Glutathione synthetase, chloroplastic	
78	AT5G28030	OAS-TL	Bifunctional cystathionine gamma-lyase/cysteine synthase	
79	AT4G04610	APR1	5'-adenylylsulfate reductase 1, chloroplastic	
80	AT3G22890	ATPS1	ATP sulfurylase 1, chloroplastic	
81	AT5G65940	CHY1	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 1	Co-substrate pathways
82	AT1G04580	AAO4	Aldehyde oxidase 4	
83	AT1G65880	BZO1	Benzoyloxyglucosinolate 1	
84	AT5G48850	SDI1	Protein SULFUR DEFICIENCY-INDUCED 1	
85	AT1G04770	SDI2	Protein SULFUR DEFICIENCY-INDUCED 2	
86	AT3G45640	MPK3	Mitogen-activated kinase 3	
87	AT2G43790	MPK6	Mitogen-activated kinase 6	
88	AT4G00830	Lif2	LHP1-Interacting factor 2	
89	AT5G14260	RuBisCO	RuBisCO methyltransferase family protein	
90	AT5G26000	TGG1	Thioglucoside glucohydrolase 1	Myrosinases
91	AT5G25980	TGG2	Thioglucoside glucohydrolase 2	
92	AT5G48375	TGG3	Thioglucoside glucohydrolase 3	
93	AT1G47600	TGG4	Thioglucoside glucohydrolase 4	
94	AT1G51470	TGG5	Thioglucoside glucohydrolase 5	
95	AT1G51490	TGG6	Thioglucoside glucohydrolase 6	
96	AT3G11820	PEN1	Syntaxin-121	
97	AT2G44490	PEN2	Atypical myrosinase PEN2	
98	AT5G44070	PCS1	Phytochelatin synthase 1	
99	AT1G54040	ESP	Epithiospecifier protein	
100	AT3G16400	NSP1	Nitrile specifier protein 1	
101	AT2G33070	NSP2	Nitrile specifier protein 2	
102	AT3G16390	NSP3	Nitrile specifier protein 3	
103	AT3G16410	NSP4	Nitrile specifier protein 4	
104	AT5G48180	NSP5	Nitrile specifier protein 5	
105	AT3G07720	NSP6	Nitrile specifier protein 6	
106	AT1G54030	MVP1	Modified Vacuole Phenotype 1	
107	AT3G14210	ESM1	Epithiospecifier modifier 1	
108	AT3G14220	GDSL-like Lipase	GDSL-like lipase	
109	AT3G09260	PYK10	Atypical myrosinase PYK10	Epithioester protein formation
110	AT3G44310	NIT1	Nitrilase 1	
111	AT3G44300	NIT2	Nitrilase 2	
112	AT3G44320	NIT3	Nitrilase 3	
113	AT5G22300	NIT4	Nitrilase 4	
114	AT1G59870	PEN3	AtPDR8 ABC transporter	
115	AT1G52040	MBP1	Myrosinase-binding protein 1	
116	AT1G52030	MBP2	Myrosinase-binding protein 2	
117	AT3G16450	JAL33	Jacalin-related lectin 33	
118	AT1G54020	GLIP	GDSL-like lipase	
119	AT1G54010	GLL23	GDSL-like lipase 23	
120	AT1G54000	GLL22	GDSL-like lipase 22	
121	AT5G46860	VAM3	Vacuolar Morphology 3	
122	AT2G43910	HOL1	Harmless to ozone layer 1	
123	AT1G18880	NPF2.9	Nitrate transporter 1.9	Glucosinolate transport
124	AT3G47960	NPF2.10	Nitrate transporter 2.10	
125	AT5G62680	NPF2.11	Nitrate transporter 2.11	
126	AT1G27080	NPF2.12	Nitrate transporter 1.6	
127	AT1G69870	NPF2.13	Nitrate transporter 1.7	

애기장대 유전자 염기서열과의 상동성을 이용하여 양배추 표준유전체 정보 (TO1000DH3, NCBI RefSeq assembly accession ID: GCF\_000695525.1)로부터 *B. oleracea* 의 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자를 발굴하였다 (표 37). 그 결과 최종적으로 *B. oleracea* ‘TO1000DH3’ 의 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 연관 유전자 총 385 개를 선별하였다(표 38).

표 37. 배추과 작물의 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자 ortholog

Gene function	<i>A. thaliana</i> v10.1	<i>B. rapa</i> v1.5	<i>B. oleracea</i> v1.1	<i>B. oleracea</i> TO1000DH3 v2.1
Transcription factors (Glucosinolate biosynthesis)	15	27	23	66
Transcription factors (Glucosinolate breakdown)	5	14	12	19
Side chain elongation	12	14	13	27
Core structure formation	21	32	29	66
Side chain modification	20	12	12	81
Co-substrate pathways	16	27	24	37
Glucosinolate hydrolysis: myrosinases	9	12	7	22
Ephithioester protein formation	24	22	20	54
Glucosinolate transport	5	9	8	13
<b>Total genes</b>	<b>127</b>	<b>169</b>	<b>148</b>	<b>385</b>

표 38. *B. oleracea* ‘TO1000DH3’ 의 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들

No.	Gene	Gene ID	Chromosome	Function
1	MYB28	106301630	C7	Transcription factor (GSL biosynthesis)
2	MYB28	106313100	C9	
3	MYB28	106327854	C2	
4	MYB28	<b>106340604</b>	C4	
5	MYB28	106309300	C8	
6	MYB29	106315954	C9	
7	MYB29	<b>106332656</b>	C3	
8	MYB76	106320193	Scaffold00847	
9	MYB34	106310800	C8	
10	MYB34	106316820	C9	
11	MYB34	106322588	C2	
12	MYB34	<b>106325229</b>	C2	
13	MYB34	106342587	C1	
14	MYB34	106322626	C2	
15	MYB34	106326447	C2	
16	MYB34	106293379	C5	
17	MYB34	106303800	C7	
18	MYB34	106309976	C8	
19	MYB51	106312074	C8	
20	MYB51	106293028	C5	
21	MYB51	106312415	C8	
22	MYB51	<b>106304641</b>	C7	
23	MYB122	106298877	C6	
24	MYB122	106325577	C2	
25	MYB122	106323902	C2	
26	MYB122	<b>106296784</b>	C6	
27	<b>MYB122</b>	<b>106311171</b>	C8	
28	Dof1.1	106312740	C8	
29	Dof1.1	106309874	C8	
30	Dof1.1	106295447	C5	
31	IQD1	106340466	C1	
32	IQD1	106334027	C3	
33	IQD1	106314221	C1	
34	IQD1	106324139	C1	
35	IQD1	106327643	C2	
36	IQD1	106325893	C2	
37	IQD1	106328384	C3	
38	IQD1	<b>106335376</b>	C3	
39	IQD1	106331986	C3	
40	IQD1	106330002	C3	
41	IQD1	106329065	C3	
42	IQD1	106330340	C3	
43	IQD1	106335254	C3	
44	IQD1	106336494	C3	
45	IQD1	106337412	C4	
46	IQD1	106339701	C4	
47	IQD1	106339740	C4	
48	IQD1	106341392	C4	
49	IQD1	106294573	C5	
50	IQD1	106296082	C5	
51	IQD1	106300350	C6	
52	IQD1	106308193	C8	

53	IQD1	106307649	C8	
54	IQD1	106310359	C8	
55	IQD1	106318840	C9	
56	MYC2	106312167	C8	
57	MYC2	106295384	C5	
58	MYC3	106306243	C7	
59	MYC3	106318743	C9	
60	MYC4	106312572	C1	
61	MYC5	106303014	C7	
62	MYC5	106320924	Scaffold01130	
63	MYC5	106303011	C7	
64	MYC5	106316376	C9	
65	ERF6	<b>106310477</b>	C1	
66	ERF6	106308755	C8	
67	TFL2	<b>106326881</b>	C2	
68	TFL2	<b>106313214</b>	C9	
69	TFL2	106333137	C3	
70	SLIM1	106300720	C6	
71	SLIM1	106296485	C6	
72	<b>WRKY18</b>	106343768	C1	
73	<b>WRKY18</b>	106301364	C7	
74	<b>WRKY18</b>	106332273	C3	
75	WRKY40	106296409	C6	
76	WRKY40	106296755	C6	
77	WRKY40	106327894	C2	
78	FAMA	106337095	C1	
79	FAMA	<b>106328461</b>	C3	
80	FAMA	106305241	C7	
81	FAMA	106325082	C1	
82	FAMA	106338117	C4	
83	FAMA	106329839	C1	
84	FAMA	106302606	C7	
85	FAMA	106297550	C6	
86	MAM1/2	106324531	C2	
87	MAM1/2	106324637	C2	
88	MAM1/2	106301761	C7	
89	MAM1/2	106323908	C2	
90	MAM1/2	106325524	C2	
91	MAM1/2	106319988	Scaffold00751	
92	MAM3	106321871	Scaffold03444	
93	LeuC1	106320112	Scaffold00805	
94	LeuC1	106342873	C4	
95	LeuC1	106315891	C9	
96	LeuD2	<b>106328228</b>	C3	
97	LeuD2	106337302	C4	
98	LeuD3	106339421	C4	
99	LeuD3	106329943	C3	
100	IPMDH1	106326972	C2	
101	IPMDH1	106299777	C6	
102	IPMDH1	106330853	C3	
103	IPMDH2	106325760	C2	
104	IPMDH2	106316765	C9	
105	IPMDH2	106326973	C2	
106	IPMDH3	106324796	C2	
107	BCAT-3	106308824	C1	
108	BCAT-3	106307576	C8	
109	BCAT-4	106292635	C5	
110	BCAT-4	106332286	C3	
111	BAT5	106335543	C3	
112	BAT5	<b>106315702</b>	C9	
113	CYP79F1	106343089	C5	
114	CYP79F1	106326644	C2	
115	CYP79F1	106324352	C2	
116	CYP79F1	106333603	C3	
117	<b>CYP79F1</b>	<b>106334168</b>	C3	
118	CYP79F1	106342122	C4	
119	CYP79F1	<b>106297566</b>	C6	
120	CYP79F2	106338032	C4	
121	CYP79A2	106316016	C9	
122	CYP79A2	<b>106321702</b>	Scaffold02541	
123	CYP79A2	<b>106325663</b>	C2	
124	CYP79A2	<b>106321615</b>	Scaffold02165	
125	CYP79A2	<b>106325664</b>	C2	
126	CYP79B2	106330945	C3	
127	CYP79B2	<b>106302779</b>	C1	
128	CYP79B2	106301717	C7	
129	CYP79B3	106337668	C4	

Transcription factor (GSL breakdown)

Chain elongation

Core structure formation

130	CYP83A1	106342466	C4
131	CYP83A1	<b>106339606</b>	C4
132	CYP83B1	<b>106312180</b>	C8
133	SUR1	<b>106304207</b>	C7
134	SUR1	106306752	C7
135	SUR1	<b>106306456</b>	C7
136	SUR1	<b>106306457</b>	C7
137	UGT74B1	106294846	C5
138	UGT74C1	106342669	C4
139	UGT74C1	<b>106342937</b>	C4
140	ST5a	106327830	C2
141	ST5a	106296616	C6
142	ST5b	106296795	C6
143	ST5b	106298441	C6
144	ST5b	106312822	C1
145	ST5b	106336556	C4
146	ST5b	106339182	C4
147	ST5b	106297887	C6
148	ST5b	<b>106298762</b>	C6
149	ST5b	106297889	C6
150	ST5b	106300712	C6
151	ST5b	106300711	C6
152	ST5b	106318760	C9
153	ST5b	106317105	C9
154	ST5b	106314384	C9
155	ST5b	<b>106316008</b>	C9
156	ST5b	106316636	C9
157	<b>ST5c</b>	106343839	C5
158	GSTF11	106294469	C5
159	<b>GSTU20</b>	<b>106300996</b>	C6
160	GSTF9	106342187	C4
161	GSTF9	<b>106328226</b>	C3
162	<b>GSTF10</b>	<b>106328484</b>	C3
163	GGP1	106306103	C7
164	GGP1	106306562	C1
165	GGP1	<b>106329223</b>	C3
166	GGP1	106333646	C3
167	GGP1	106312467	C8
168	GGP1	106329266	C3
169	GGP1	106310578	C8
170	<b>GGP1</b>	<b>106297076</b>	C6
171	GGP1	106340518	C4
172	ASA1	106336085	C3
173	ASA1	<b>106318281</b>	C9
174	ASA2	106328027	C3
175	TSB1	106319040	C9
176	TSB1	106303229	C7
177	TSB1	106295867	C5
178	TSB1	106308133	C8
179	FMOGS-OX1	106293980	C5
180	FMOGS-OX1	106311141	C8
181	FMOGS-OX2	106318728	C9
182	FMOGS-OX2	106343813	C5
183	FMOGS-OX2	106307926	C8
184	FMOGS-OX4	106313540	C9
185	FMOGS-OX4	106319251	C9
186	FMOGS-OX5	106311680	C8
187	FMOGS-OX5	106312190	C8
188	AOP1	106316191	C9
189	AOP1	106332683	C3
190	AOP1	<b>106332760</b>	C3
191	AOP1	106325757	C2
192	<b>AOP1</b>	<b>106324484</b>	C1
193	<b>AOP1</b>	<b>106294106</b>	C5
194	AOP1	106293173	C5
195	AOP1	<b>106339579</b>	C1
196	AOP1	106316895	C9
197	AOP1	106304294	C7
198	AOP1	106300075	C1
199	AOP1	106298770	C6
200	AOP1	106294244	C5
201	AOP1	106299174	C6
202	AOP1	106332262	C3
203	AOP1	106325718	C2
204	AOP1	106316300	C9
205	AOP1	<b>106300451</b>	C1
206	AOP2	106316468	C9
207	AOP2	106322002	Scaffold04741

Side chain modification

208	AOP2	106322019	Scaffold04963
209	<b>AOP3</b>	<b>106299460</b>	C6
210	GSL-OH	106342562	C4
211	GSL-OH	106342565	C4
212	GSL-OH	106342567	C4
213	GSL-OH	106340330	C4
214	GSL-OH	106339044	C4
215	GSL-OH	106342186	C4
216	CYP81F1	106326330	C1
217	CYP81F1	106320670	Scaffold01007
218	CYP81F1	106324414	C1
219	CYP81F1	106296956	C6
220	<b>CYP81F1</b>	<b>106298401</b>	C1
221	CYP81F1	106328210	C1
222	CYP81F1	106325221	C2
223	CYP81F1	<b>106332501</b>	C3
224	CYP81F1	106332102	C3
225	CYP81F1	106333279	C3
226	CYP81F1	106296957	C6
227	CYP81F1	<b>106314024</b>	C9
228	CYP81F1	<b>106320671</b>	Scaffold01007
229	IGMT1	106309746	C8
230	IGMT1	106296139	C5
231	IGMT1	106322193	Scaffold09472
232	IGMT1	106305213	C7
233	IGMT1	106307083	C7
234	IGMT1	106317199	C1
235	IGMT1	106333186	C1
236	IGMT1	106333198	C1
237	IGMT1	106322876	C2
238	IGMT1	106324621	C2
239	IGMT1	106324620	C2
240	IGMT1	106340825	C4
241	IGMT1	106337626	C4
242	IGMT1	106296887	C6
243	IGMT1	106298971	C6
244	IGMT1	106297038	C6
245	IGMT1	106299322	C6
246	IGMT1	106301103	C6
247	IGMT1	106299497	C6
248	IGMT1	106301934	C7
249	IGMT1	106301936	C7
250	IGMT1	106309932	C8
251	IGMT1	106308581	C8
252	IGMT1	106311050	C8
253	IGMT1	106309901	C8
254	IGMT1	106312540	C8
255	IGMT1	106309242	C8
256	IGMT1	106315790	C9
257	IGMT1	106320085	Scaffold00795
258	IGMT1	106321241	Scaffold01342
259	IGMT1	106321835	Scaffold03247
260	APK1	106331528	C3
261	APK1	106313567	C9
262	APK2	106302805	C1
263	APK2	106332457	C3
264	APK2	106302172	C7
265	GSH1	106311424	C1
266	GSH1	106304686	C7
267	GSH1	106301145	C7
268	GSH1	106320719	Scaffold01035
269	GSH2	106319219	C9
270	GSH2	<b>106301286</b>	C7
271	GSH2	106343249	C5
272	OAS-TL	106313347	C9
273	APR1	106319498	C9
274	APR1	106321237	C2
275	<b>ATPS1</b>	106295272	C5
276	<b>ATPS1</b>	106336128	C3
277	CHY1	106324626	C2
278	CHY1	106339665	C4
279	CHY1	106337238	C4
280	CHY1	106341109	C4
281	CHY1	106300943	C6
282	AAO4	106326885	C2
283	AAO4	106326884	C2
284	AAO4	<b>106328601</b>	C3
285	AAO4	106335357	C3

Co-substrate pathways



286	AAO4	106317854	C9	
287	BZO1	106298008	C6	
288	SDI1	106303861	C7	
289	SDI1	106324950	C2	
290	SDI1	<b>106317145</b>	C9	
291	SDI2	106343766	C5	
292	SDI2	106310632	C8	
293	MPK3	<b>106334002</b>	C3	
294	MPK6	106342627	C4	
295	MPK6	106336133	C3	
296	RuBisCO	106318182	C9	
297	TGG1	106319184	C9	
298	TGG1	106299074	C6	
299	TGG1	106326801	C2	
300	TGG1	106326800	C2	
301	TGG1	106326798	C2	
302	TGG1	106330038	C3	
303	TGG2	106333491	C1	
304	TGG4	106293453	C5	
305	TGG4	106295724	C5	
306	TGG4	106295722	C5	
307	MYR1	106309978	C8	
308	MYR1	106344637	C1	
309	MYR1	106310801	C8	
310	MYR2	106320470	Scaffold00934	
311	MYR3	106310472	C8	
312	PEN1	106343334	C5	
313	PEN1	106334686	C3	
314	PEN2	106342984	C4	
315	PCS1	106306174	C7	
316	PCS1	106327302	C2	
317	PCS1	106316852	C9	
318	PCS1	106316809	C9	
319	ESP	106296341	C6	
320	ESP	106306884	C7	
321	ESP	106306810	C7	
322	ESP	106296585	C6	
323	ESP	106325105	C2	
324	ESP	106297542	C6	
325	NSP1	106292512	C5	
326	NSP1	106295642	C5	
327	NSP1	106295641	C5	
328	NSP1	106292513	C5	
329	NSP2	106316308	C1	
330	NSP2	106296567	C1	
331	NSP2	106336851	C4	
332	NSP2	106298243	C6	
333	NSP5	106301248	C7	
334	NSP5	106326669	C2	
335	NSP5	106294305	C5	
336	MVP1	106327986	C3	
337	MVP1	106296793	C6	
338	MVP1	<b>106297375</b>	C6	
339	ESM1	106292913	C5	
340	ESM1	106296024	C5	
341	GDSL-like Lipase	106343078	C1	
342	PYK10	<b>106322875</b>	C1	
343	PYK10	106293254	C5	
344	PYK10	106293140	C5	
345	PYK10	106331928	C3	
346	PYK10	106310054	C8	
347	NIT2	<b>106320293</b>	Scaffold00874	
348	NIT2	106327314	C2	
349	NIT2	106333257	C3	
350	NIT2	106339483	C4	
351	NIT4	106327565	C2	
352	PEN3	106298839	C6	
353	MBP2	106333488	C3	
354	MBP2	<b>106333487</b>	C3	
355	MBP2	106331197	C3	
356	MBP2	106316347	C9	
357	MBP2	106316327	C1	
358	MBP2	<b>106338953</b>	C1	
359	MBP2	<b>106333489</b>	C3	
360	MBP2	106297050	C6	
361	GLIP	106331227	C3	
362	GLIP	106300944	C6	
363	GLIP	<b>106299557</b>	C6	

Myrosinases

Epithioester protein formation

364	GLL23	106332644	C3	Glucosinolate transport
365	GLL23	106299159	C6	
366	GLL23	106298891	C6	
367	GLL22	106329262	C3	
368	VAM3	106305838	C7	
369	VAM3	106324738	C2	
370	VAM3	106294932	C5	
371	VAM3	106314515	C9	
372	HOL1	106339571	C4	
373	NPF2.9	106293309	C5	
374	NPF2.9	106308254	C8	
375	NPF2.9	106312323	C8	
376	NPF2.10	106335386	C3	
377	NPF2.10	106310781	C1	
378	NPF2.10	106328099	C3	
379	NPF2.11	106335161	C3	
380	NPF2.11	106319254	C9	
381	NPF2.11	106326950	C2	
382	NPF2.12	106301598	C7	
383	NPF2.13	106327204	C2	
384	NPF2.13	106296481	C6	
385	NPF2.13	106300551	C6	

(다) 유전체 정보 기반 SNP 발굴

5개의 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 SNP를 대량 발굴하기 위해 각 성분별로 고품량과 저함량 계통 간의 유전체 정보 비교분석을 통해 SNP를 발굴하였다. Glucoiberin (GIB), progoitrin (PRO), glucoraphanin (GRA), sinigrin (SIN), gluconapin (GNA) 성분의 함량 연관 SNP를 각각 327,042개, 997,293개, 142,024개, 51,064개, 1,126,334개 발굴하였다. 대량 발굴된 SNP중에서 385개 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자의 gene 및 promoter 영역 (2 kb upstream)에 위치하는 SNP를 우선 발굴하여, 각 성분별 glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin 성분별로 각각 684개, 3,343개, 436개, 51개, 4,135개 발굴하였다. 이중에서 우선적으로 아미노산 change SNP를 선발하여 validation 하였다. 각 성분별 대량 발굴 및 선발된 SNP 정보는 아래와 같다 (표 39).

표 39. 글루코시놀레이트 5개 성분 함량 연관 SNP 발굴 정보 요약

Trait	High contents		≠	Low contents		Total SNPs	SNPs in 385 GSL genes	Selected SNPs
	TBDH	Content (μmol/g dry wt.)		TBDH	Content (μmol/g dry wt.)			
GIB	TBDH 320	16.43		TBDH 51	0.0	327,042	684	139
				TBDH 146.2	0.0			
				TBDH 191	0.0			
				TBDH 303	0.0			
PRO	TBDH 33	7.03		TBDH 11	0.0	997,293	3,343	46
				TBDH 126	0.0			
				TBDH 310	0.0			
				TBDH 320	0.0			
GRA	TBDH 126	22.0		TBDH 146.2	0.0	142,024	436	77
	TBDH 320	16.46		TBDH 303	0.0			
SIN	TBDH 191	3.09		TBDH 11	0.0	51,064	51	41
				TBDH 126	0.0			
	TBDH 45	3.01		TBDH 310	0.0			
GNA				TBDH 320	0.0	1,126,334	4,135	293
	TBDH 51	14.12		TBDH 11	0.0			
				TBDH 310	0.0			

Glucoiberin 성분 함량과 연관된 SNP이 위치한 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들은 총 17개(TO1000DH3 기준 21개)였다(표 40). 각 유전자별 SNP 개수는 총 139개로, 생합성과 관련된 transcription factor 유전자 MYB34에서는 80개, MYB76 3개, IQD1 2개, 분해와 관련된 transcription factor 유전자 FAMA에서는 1개가 나타났다. 글루코시놀

레이트 생합성 경로 유전자별 SNP 개수는 chain elongation 관여 유전자 *MAMI/2* 1개, core structure formation 관여 유전자 *TSBI* 1개, *ST5b* 1개, side chain modification 관여 유전자 *IGMT1* 2개, co-substrate pathways 관여 유전자 *GSH2* 19개, *SDII* 5개였다. 글루코시놀레이트 분해 경로 유전자별 SNP 개수는 myrosinases 관여 유전자 *MYR2* 2개, *TGGI* 2개, epithioester protein formation 관여 유전자 *GLL22* 5개, *MBP2* 1개, *NSP2* 1개, *PYK10* 10개였다. 그리고 글루코시놀레이트 수송 관여 유전자별 SNP 개수는 *NPF2.12* 3개로 나타났다.

표 40. Glucoiberin 성분 함량 연관 선발 SNP 정보

No.	Gene ID	Gene	Region	Function	Allele 1	Allele 2
1	106322588	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	G/A
2	106322588	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	C/A
3	106322588	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	C/T
4	106322588	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	C/T
5	106322588	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	A/C
6	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
7	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
8	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/T
9	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/C
10	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/T
11	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/C
12	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
13	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/T
14	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
15	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/T
16	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/G
17	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/T
18	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/C
19	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
20	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/T
21	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/C
22	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
23	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
24	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
25	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
26	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/C
27	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
28	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
29	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
30	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
31	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/A
32	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
33	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/A
34	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
35	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
36	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
37	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/T
38	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/G
39	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/T
40	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
41	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/A
42	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
43	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/A
44	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
45	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/A
46	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/A
47	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	C/C	C/G
48	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
49	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
50	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
51	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
52	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/A
53	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
54	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
55	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/A
56	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
57	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/C
58	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	T/T	T/C
59	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	G/G	G/T
60	106322588	MYB34	5' UTR	Transcription factor	A/A	A/G
61	106329065	IQD1	PROMOTER	Transcription factor	T/C	T/T

62	106335254	IQD1	PROMOTER	Transcription factor	G/C	G/G
63	106302606	FAMA	PROMOTER	Transcription factor	C/T	C/C
64	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	A/A
65	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	C/C
66	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
67	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	A/A
68	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
69	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	G/G
70	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
71	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	T/T
72	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
73	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
74	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	A/A
75	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
76	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
77	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	G/G
78	106316820	MYB34	INTRON 2-3	Transcription factor	A/A	G/G
79	106316820	MYB34	EXON 3	Transcription factor	C/C	T/T
80	106316820	MYB34	EXON 3	Transcription factor	G/G	A/A
81	106316820	MYB34	EXON 3	Transcription factor	G/G	A/A
82	106316820	MYB34	3' UTR	Transcription factor	C/C	G/G
83	106316820	MYB34	3' UTR	Transcription factor	G/G	A/A
84	106320193	MYB76	INTRON 1-2	Transcription factor	A/T	A/A
85	106320193	MYB76	INTRON 1-2	Transcription factor	A/C	A/A
86	106320193	MYB76	INTRON 1-2	Transcription factor	C/T	C/C
87	106323908	MAM1/2	INTRON 2-3	Chain elongation	C/T	C/C
88	106308133	TSB1	INTRON 1-2	Core structure formation	G/T	G/G
89	106316636	ST5b	PROMOTER	Core structure formation	A/T	A/A
90	106296139	IGMT1	PROMOTER	Side chain modification	T/T	A/A
91	106307083	IGMT1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/C	T/T
92	106317145	SDI1	EXON 4	Co-substrate pathways	C/C	T/T
93	106317145	SDI1	EXON 1	Co-substrate pathways	G/G	A/A
94	106317145	SDI1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	T/T
95	106317145	SDI1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	T/T
96	106317145	SDI1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
97	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	A/A	G/G
98	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	A/A	G/G
99	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	T/T	C/C
100	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	G/G	C/C
101	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	C/C	T/T
102	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	C/C	G/G
103	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	C/C	A/A
104	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	A/A	G/G
105	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	A/A	C/C
106	106319219	GSH2	EXON 1	Co-substrate pathways	G/G	A/A
107	106319219	GSH2	EXON 1	Co-substrate pathways	G/G	A/A
108	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
109	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
110	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	C/C
111	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	T/T
112	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	T/T
113	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
114	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
115	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
116	106326801	TGG1	INTRON 7-8	Myrosinases	A/G	A/A
117	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	C/T	C/C
118	106320470	MYR2	PROMOTER	Myrosinases	A/G	A/A
119	106320470	MYR2	PROMOTER	Myrosinases	C/T	C/C
120	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	A/G	A/A
121	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	G/T	G/G
122	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	A/T	A/A
123	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	C/T	C/C
124	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	C/G	C/C
125	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	T/C	T/T
126	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	T/C	T/T
127	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	A/C	A/A
128	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	T/C	T/T
129	106331928	PYK10	PROMOTER	Epithioester protein formation	T/G	T/T
130	106329262	GLL22	INTRON 2-3	Epithioester protein formation	T/A	T/T
131	106329262	GLL22	INTRON 2-3	Epithioester protein formation	C/T	C/C
132	106329262	GLL22	INTRON 2-3	Epithioester protein formation	C/T	C/C
133	106329262	GLL22	INTRON 2-3	Epithioester protein formation	G/A	G/G
134	106329262	GLL22	INTRON 2-3	Epithioester protein formation	C/T	C/C
135	106298243	NSP2	EXON 3	Epithioester protein formation	A/G	A/A
136	106316347	MBP2	EXON 3	Epithioester protein formation	G/T	G/G
137	106301598	NPF2.12	PROMOTER	Glucosinolate transport	T/T	C/C
138	106301598	NPF2.12	PROMOTER	Glucosinolate transport	C/C	T/T
139	106301598	NPF2.12	PROMOTER	Glucosinolate transport	A/A	G/G

Progoitrin 성분 함량과 연관된 SNP이 위치한 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들은 총 8개(TO1000DH3 기준 11개)였다(표 41). 각 유전자별 SNP 개수는 총 46개로, 생합성과 관련된 transcription factor 유전자 *MYB122*에서는 1개가 나타났다. 글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자별 SNP 개수는 core structure formation 관여 유전자 *TSB1* 2개, *CYP79F1* 2개, side chain modification 관여 유전자 *AOP1* 32개, *IGMT1* 3개였다. 글루코시놀레이트 분해 경로 유전자별 SNP 개수는 myrosinases 관여 유전자 *PCSI* 3개, *TGG1* 2개, *TGG4* 1개였다.

표 41. Progoitrin 성분 함량 연관 선발 SNP 정보

No.	Gene ID	Gene	Region	Function	Allele 1	Allele 2
1	106323902	MYB122	PROMOTER	Transcription factor	G/G	A/A
2	106333603	CYP79F1	PROMOTER	Core structure formation	T/A	T/T
3	106334168	CYP79F1	PROMOTER	Core structure formation	T/A	T/T
4	106308133	TSB1	INTRON 4-5	Core structure formation	A/G	A/A
5	106308133	TSB1	INTRON 4-5	Core structure formation	T/C	T/T
6	106339579	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	C/C
7	106324620	IGMT1	PROMOTER	Side chain modification	G/G	G/T
8	106312540	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	G/C
9	106312540	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	G/T
10	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	A/A
11	106316191	AOP1	EXON 1	Side chain modification	T/T	A/A
12	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	A/A
13	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	G/G	A/A
14	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	C/C	T/T
15	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	C/C	T/T
16	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	A/A	G/G
17	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	T/T
18	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	G/G
19	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	C/C
20	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	A/A	G/G
21	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	T/T	C/C
22	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	A/A
23	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	A/A	C/C
24	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	C/C
25	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	A/A
26	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	T/T
27	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	C/C
28	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
29	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	A/A
30	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	T/T
31	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	T/T
32	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	G/G
33	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	A/A
34	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	A/A
35	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
36	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
37	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	A/A
38	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	A/A
39	106316191	AOP1	EXON 3	Side chain modification	T/T	C/C
40	106316191	AOP1	EXON 3	Side chain modification	G/G	A/A
41	106327302	PCSI	PROMOTER	Myrosinases	C/C	C/T
42	106327302	PCSI	PROMOTER	Myrosinases	A/A	A/C
43	106327302	PCSI	PROMOTER	Myrosinases	C/C	C/T
44	106326801	TGG1	INTRON 1-2	Myrosinases	T/T	T/C
45	106326801	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/T	T/T
46	106293453	TGG4	INTRON 7-8	Myrosinases	T/T	T/A

Glucoraphanin 성분 함량과 연관된 SNP이 위치한 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들은 총 12개(TO1000DH3 기준 14개)였다(표 42). 각 유전자별 SNP 개수는 총 77개로, 생합성과 관련된 transcription factor 유전자 *MYB34*에서는 4개, *MYB122* 1개, *IQD1* 23개, 분해와 관련된 transcription factor 유전자 *FAMA*에서는 1개가 나타났다. 글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자별 SNP 개수는 core structure formation 관여 유전자 *CYP79A2* 10개, *GSTF11* 1개, *ST5b* 1개, side chain modification 관여 유전자 *AOP1* 31개,

co-substrate pathways 관여 유전자는 *CHY1* 1개였다. 글루코시놀레이트 분해 경로 유전자별 SNP 개수는 myrosinases 관여 유전자 *PCSI* 2개, *TGG1* 1개, epithioester protein formation 관여 유전자는 *NSP1* 1개로 나타났다.

표 42. Glucoraphanin 성분 함량 연관 선발 SNP 정보

No.	Gene ID	Gene	Region	Function	Allele 1	Allele 2
1	106314221	IQD1	INTRON 5-6	Transcription factor	G/G	G/T
2	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	A/A	T/T
3	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	C/C	T/T
4	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	A/A	G/G
5	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	T/T	C/C
6	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	A/A	G/G
7	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	T/T	C/C
8	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	T/T	C/C
9	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	C/C	T/T
10	106327643	IQD1	EXON 5	Transcription factor	T/T	C/C
11	106327643	IQD1	EXON 4	Transcription factor	A/A	T/T
12	106327643	IQD1	INTRON 2-3	Transcription factor	C/C	T/T
13	106327643	IQD1	EXON 2	Transcription factor	T/T	C/C
14	106327643	IQD1	EXON 2	Transcription factor	G/G	A/A
15	106327643	IQD1	EXON 2	Transcription factor	T/T	C/C
16	106327643	IQD1	EXON 2	Transcription factor	A/A	C/C
17	106327643	IQD1	EXON 1	Transcription factor	G/G	A/A
18	106327643	IQD1	5' UTR	Transcription factor	G/G	A/A
19	106327643	IQD1	5' UTR	Transcription factor	T/T	A/A
20	106327643	IQD1	5' UTR	Transcription factor	C/C	G/G
21	106327643	IQD1	5' UTR	Transcription factor	T/T	A/A
22	106327643	IQD1	5' UTR	Transcription factor	G/G	A/A
23	106327643	IQD1	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
24	106323902	MYB122	PROMOTER	Transcription factor	T/T	T/G
25	106302606	FAMA	EXON 3	Transcription factor	A/A	G/A
26	106310800	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	A/G
27	106310800	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	C/T
28	106310800	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	A/C
29	106310800	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	C/T
30	106325663	CYP79A2	EXON 2	Core structure formation	C/C	G/G
31	106325663	CYP79A2	EXON 2	Core structure formation	G/G	A/A
32	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	T/T	A/A
33	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	A/A	C/C
34	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	G/G	A/A
35	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	G/G	A/A
36	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	G/G	T/T
37	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	A/A	G/G
38	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	A/A	T/T
39	106325663	CYP79A2	INTRON 1-2	Core structure formation	T/T	C/C
40	106294469	GSTF11	PROMOTER	Core structure formation	A/A	T/T
41	106300712	ST5b	EXON 1	Core structure formation	T/T	T/A
42	106316895	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	A/A	T/T
43	106316191	AOP1	EXON 1	Side chain modification	A/A	T/T
44	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	A/A	T/T
45	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	A/A	G/G
46	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	C/C
47	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	C/C
48	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	G/G	A/A
49	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	T/T	C/C
50	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	C/C
51	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	G/G
52	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	A/A
53	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	T/T
54	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	A/A	G/G
55	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	A/A
56	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	G/G
57	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	A/A	C/C
58	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	T/T	C/C
59	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	A/A
60	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	T/T
61	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	G/G
62	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
63	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	A/A
64	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	A/A
65	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	C/C
66	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	C/C
67	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	T/T
68	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	T/T



69	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	G/G
70	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	T/T
71	106316191	AOP1	EXON 3	Side chain modification	C/C	T/T
72	106316191	AOP1	EXON 3	Side chain modification	A/A	G/G
73	106341109	CHY1	EXON 11	Co-substrate pathways	T/T	T/A
74	106327302	PCS1	PROMOTER	Myrosinases	C/T	C/C
75	106327302	PCS1	PROMOTER	Myrosinases	C/T	C/C
76	106299074	TGG1	INTRON 7-8	Myrosinases	T/A	A/A
77	106292513	NSP1	INTRON 6-7	Epithioester protein formation	G/G	G/C

Sinigrin 성분 함량과 연관된 SNP이 위치한 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들은 총 4개(TO1000DH3 기준 5개)였다(표 43). 각 유전자별 SNP 개수는 총 41개로, 글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자별 SNP 개수는 side chain modification 관여 유전자 *AOP1* 31개, *IGMT1* 8개였다. 그리고 글루코시놀레이트 분해 경로 유전자별 SNP 개수는 myrosinases 관여 유전자 *PCS1* 1개, *TGG1* 1개로 나타났다.

표 43. Sinigrin 성분 함량 연관 선발 SNP 정보

No.	Gene ID	Gene	Region	Function	Allele 1	Allele 2
1	106333198	IGMT1	PROMOTER	Side chain modification	A/T	T/T
2	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	T/A
3	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	G/A
4	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	A/G
5	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	C/T
6	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	C/T
7	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	T/C
8	106311050	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	C/T
9	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	A/A
10	106316191	AOP1	EXON 1	Side chain modification	T/T	A/A
11	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	T/T	A/A
12	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	G/G	A/A
13	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	C/C	T/T
14	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	C/C	T/T
15	106316191	AOP1	INTRON 1-2	Side chain modification	A/A	G/G
16	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	T/T
17	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	G/G
18	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	C/C
19	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	A/A	G/G
20	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	T/T	C/C
21	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	A/A
22	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	A/A	C/C
23	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	G/G	C/C
24	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	A/A
25	106316191	AOP1	EXON 2	Side chain modification	C/C	T/T
26	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	C/C
27	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
28	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	A/A
29	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	T/T
30	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	T/T
31	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	A/A	G/G
32	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	A/A
33	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	C/C	A/A
34	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
35	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	C/C
36	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	A/A
37	106316191	AOP1	INTRON 2-3	Side chain modification	T/T	A/A
38	106316191	AOP1	EXON 3	Side chain modification	T/T	C/C
39	106316191	AOP1	EXON 3	Side chain modification	G/G	A/A
40	106327302	PCS1	PROMOTER	Myrosinases	C/C	C/T
41	106326801	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/T	T/T

Gluconapin 성분 함량과 연관된 SNP이 위치한 글루코시놀레이트 생합성 및 분해 경로 유전자들은 총 28개(TO1000DH3 기준 39개)였다(표 44). 각 유전자별 SNP 개수는 총 293개로, 생합성과 관련된 transcription factor 유전자 *MYB28*에서는 22개, *MYB34* 21개, *MYB122* 1개, *IQD1* 8개, *MYC5* 1개, 분해와 관련된 transcription factor 유전자 *WRKY18*에서는 1개가 나타났다. 글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자별 SNP 개수는 chain elongation 관여 유전자 *IPMDH1* 2개, *IPMDH2* 32개, *LeuC1* 35개, *MAMI/2* 1개, core

structure formation 관여 유전자 *CYP79F1* 2개, *TSBI* 1개, *SURI* 4개, side chain modification 관여 유전자 *AOPI* 2개, *IGMT1* 9개, co-substrate pathways 관여 유전자 *AAO4* 14개, *APKI* 65개, *CHY1* 1개, *GSH2* 19개, *SDI1* 5개였다. 글루코시놀레이트 분해 경로 유전자별 SNP 개수는 myrosinases 관여 유전자 *TGG1* 22개, *TGG4* 1개, epithioester protein formation 관여 유전자 *ESP* 5개, *MVPI* 10개, *NSPI* 4개, *PYK10* 2개였다. 그리고 글루코시놀레이트 수송 관여 유전자별 SNP 개수는 *NPF2.10* 2개, *NPF2.11* 1개로 나타났다.

표 44. Gluconapin 성분 함량 연관 선발 SNP 정보

No.	Gene ID	Gene	Region	Function	Allele 1	Allele 2
1	106324139	IQD1	EXON 1	Transcription factor	C/T	C/C
2	106324139	IQD1	EXON 1	Transcription factor	G/C	G/G
3	106324139	IQD1	EXON 1	Transcription factor	T/C	T/T
4	106324139	IQD1	EXON 1	Transcription factor	C/G	C/C
5	106324139	IQD1	EXON 1	Transcription factor	C/T	C/C
6	106325893	IQD1	PROMOTER	Transcription factor	C/C	A/A
7	106323902	MYB122	PROMOTER	Transcription factor	T/G	T/T
8	106329065	IQD1	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
9	106330340	IQD1	EXON 1	Transcription factor	G/G	T/T
10	106301364	WRKY18	PROMOTER	Transcription factor	A/T	A/A
11	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
12	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	A/A
13	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	G/G
14	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
15	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
16	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
17	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	T/T
18	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
19	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	G/G
20	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	A/A
21	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
22	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
23	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	A/A
24	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
25	106316820	MYB34	PROMOTER	Transcription factor	G/G	C/C
26	106316820	MYB34	INTRON 2-3	Transcription factor	G/G	A/A
27	106316820	MYB34	EXON 3	Transcription factor	T/T	C/C
28	106316820	MYB34	EXON 3	Transcription factor	A/A	G/G
29	106316820	MYB34	EXON 3	Transcription factor	A/A	G/G
30	106316820	MYB34	3' UTR	Transcription factor	G/G	C/C
31	106316820	MYB34	3' UTR	Transcription factor	A/A	G/G
32	106313100	MYB28	3' UTR	Transcription factor	G/G	A/A
33	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	C/C	T/T
34	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	A/A	C/C
35	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	G/G	C/C
36	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	G/G	C/C
37	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	A/A	G/G
38	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	C/C	T/T
39	106313100	MYB28	EXON 3	Transcription factor	T/T	C/C
40	106313100	MYB28	INTRON 2-3	Transcription factor	G/G	A/A
41	106313100	MYB28	EXON 2	Transcription factor	C/C	T/T
42	106313100	MYB28	INTRON 1-2	Transcription factor	T/T	C/C
43	106313100	MYB28	INTRON 1-2	Transcription factor	C/C	T/T
44	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
45	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	T/T	G/G
46	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	C/C	A/A
47	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	A/A	G/G
48	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
49	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	A/A	C/C
50	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	C/C	T/T
51	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	T/T	C/C
52	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	A/A	T/T
53	106313100	MYB28	PROMOTER	Transcription factor	A/A	T/T
54	106316376	MYC5	PROMOTER	Transcription factor	A/A	A/G
55	106324531	MAM1/2	INTRON 4-5	Chain elongation	T/T	T/C
56	106330853	IPMDH1	INTRON 5-6	Chain elongation	T/G	T/T
57	106330853	IPMDH1	EXON 7	Chain elongation	C/T	C/C
58	106315891	LeuC1	INTRON 2-3	Chain elongation	A/A	G/G
59	106315891	LeuC1	EXON 2	Chain elongation	T/T	C/C
60	106315891	LeuC1	INTRON 1-2	Chain elongation	G/G	A/A
61	106315891	LeuC1	INTRON 1-2	Chain elongation	G/G	A/A

62	106315891	LeuC1	EXON 1	Chain elongation	G/G	A/A
63	106315891	LeuC1	EXON 1	Chain elongation	G/G	C/C
64	106315891	LeuC1	EXON 1	Chain elongation	C/C	T/T
65	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	A/A	G/G
66	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	A/A	G/G
67	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	G/G	A/A
68	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	A/A	T/T
69	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	G/G	A/A
70	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	C/C	A/A
71	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	C/C	T/T
72	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	C/C	A/A
73	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	C/C	A/A
74	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	G/G	A/A
75	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	A/A	G/G
76	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	A/A	G/G
77	106315891	LeuC1	5' UTR	Chain elongation	G/G	A/A
78	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	G/G	T/T
79	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	C/C	T/T
80	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	T/T	C/C
81	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	T/T	C/C
82	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	T/T	A/A
83	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	C/C	G/G
84	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
85	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	A/A	T/T
86	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	C/C	T/T
87	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	G/G	T/T
88	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	T/T	C/C
89	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	G/G	T/T
90	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	T/T	C/C
91	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	C/C	A/A
92	106315891	LeuC1	PROMOTER	Chain elongation	A/A	G/G
93	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
94	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	A/A	G/G
95	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	A/A	G/G
96	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
97	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	A/A	G/G
98	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
99	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
100	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
101	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	C/C	T/T
102	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	T/T	C/C
103	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
104	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
105	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	A/A	C/C
106	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	C/C	T/T
107	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	T/T
108	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	T/T
109	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	C/C	T/T
110	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	A/A
111	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	G/G	C/C
112	106316765	IPMDH2	PROMOTER	Chain elongation	T/T	T/C
113	106316765	IPMDH2	5' UTR	Chain elongation	C/C	T/T
114	106316765	IPMDH2	5' UTR	Chain elongation	T/T	C/C
115	106316765	IPMDH2	INTRON 1-2	Chain elongation	G/G	A/A
116	106316765	IPMDH2	INTRON 1-2	Chain elongation	A/A	G/G
117	106316765	IPMDH2	EXON 2	Chain elongation	A/A	G/G
118	106316765	IPMDH2	EXON 2	Chain elongation	C/C	T/T
119	106316765	IPMDH2	3' UTR	Chain elongation	A/A	C/C
120	106316765	IPMDH2	3' UTR	Chain elongation	A/A	C/C
121	106316765	IPMDH2	3' UTR	Chain elongation	C/C	A/A
122	106316765	IPMDH2	3' UTR	Chain elongation	T/T	A/A
123	106316765	IPMDH2	3' UTR	Chain elongation	A/A	G/G
124	106316765	IPMDH2	3' UTR	Chain elongation	C/C	T/T
125	106326644	CYP79F1	INTRON 4-5	Core structure formation	T/A	T/T
126	106334168	CYP79F1	PROMOTER	Core structure formation	A/A	C/C
127	106306456	SUR1	EXON 1	Core structure formation	G/G	G/T
128	106306456	SUR1	EXON 1	Core structure formation	T/T	T/C
129	106306456	SUR1	EXON 1	Core structure formation	T/T	T/A
130	106306456	SUR1	EXON 1	Core structure formation	C/C	C/T
131	106308133	TSB1	INTRON 4-5	Core structure formation	C/T	C/C
132	106333198	IGMT1	PROMOTER	Side chain modification	A/T	T/T
133	106293173	AOP1	PROMOTER	Side chain modification	C/C	A/A
134	106293173	AOP1	PROMOTER	Side chain modification	G/G	A/A
135	106308581	IGMT1	INTRON 3-4	Side chain modification	A/A	A/G
136	106308581	IGMT1	INTRON 3-4	Side chain modification	T/T	T/C
137	106308581	IGMT1	INTRON 3-4	Side chain modification	A/A	A/T
138	106308581	IGMT1	INTRON 3-4	Side chain modification	G/A	G/G
139	106308581	IGMT1	INTRON 3-4	Side chain modification	C/A	C/C

140	106309901	IGMT1	PROMOTER	Side chain modification	G/A	G/G
141	106312540	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	G/C
142	106312540	IGMT1	INTRON 2-3	Side chain modification	G/G	G/T
143	106326885	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	A/G	A/A
144	106326885	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	A/C	A/A
145	106326885	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	C/A	C/C
146	106326885	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	A/T	A/A
147	106326885	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	T/T	C/C
148	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	G/G	T/T
149	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	C/A	C/C
150	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	A/T	A/A
151	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	A/T	A/A
152	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	T/A	T/T
153	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	T/C	T/T
154	106326884	AAO4	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	T/A	T/T
155	106326884	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	G/G	A/A
156	106326884	AAO4	EXON 2	Co-substrate pathways	C/C	G/G
157	106339665	CHY1	INTRON 9-10	Co-substrate pathways	C/T	C/C
158	106317145	SDI1	EXON 4	Co-substrate pathways	T/T	C/C
159	106317145	SDI1	EXON 1	Co-substrate pathways	A/A	G/G
160	106317145	SDI1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
161	106317145	SDI1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
162	106317145	SDI1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
163	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	G/G	A/A
164	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	G/G	A/A
165	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	C/C	T/T
166	106319219	GSH2	EXON 3	Co-substrate pathways	C/C	G/G
167	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	T/T	C/C
168	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	G/G	C/C
169	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	A/A	C/C
170	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	G/G	A/A
171	106319219	GSH2	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	C/C	A/A
172	106319219	GSH2	EXON 1	Co-substrate pathways	A/A	G/G
173	106319219	GSH2	EXON 1	Co-substrate pathways	A/A	G/G
174	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
175	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
176	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	G/G
177	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
178	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	G/G
179	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
180	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	T/T
181	106319219	GSH2	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
182	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
183	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
184	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	T/T
185	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	G/G
186	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
187	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
188	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
189	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
190	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
191	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
192	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
193	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
194	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
195	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	T/T
196	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
197	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
198	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
199	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	A/A
200	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	A/A
201	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
202	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
203	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
204	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
205	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
206	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	A/A
207	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
208	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
209	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
210	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
211	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
212	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	A/A
213	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	C/C
214	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
215	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	A/A
216	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
217	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A

218	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
219	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
220	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
221	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	T/T
222	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
223	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	T/T
224	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	G/G
225	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
226	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	G/G
227	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	A/A	T/T
228	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
229	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
230	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
231	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	C/C
232	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	T/T
233	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
234	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	A/A
235	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	C/C	A/A
236	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
237	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
238	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
239	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	C/C
240	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	G/G	A/A
241	106313567	APK1	PROMOTER	Co-substrate pathways	T/T	C/C
242	106313567	APK1	5' UTR	Co-substrate pathways	T/T	C/C
243	106313567	APK1	5' UTR	Co-substrate pathways	C/C	T/T
244	106313567	APK1	EXON 1	Co-substrate pathways	C/C	T/T
245	106313567	APK1	INTRON 1-2	Co-substrate pathways	C/C	T/T
246	106313567	APK1	EXON 2	Co-substrate pathways	A/A	C/C
247	106326801	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/T	T/T
248	106330038	TGG1	INTRON 6-7	Myrosinases	A/A	A/G
249	106293453	TGG4	INTRON 7-8	Myrosinases	T/T	T/A
250	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	A/A	C/C
251	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	C/C	T/T
252	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	T/T	G/G
253	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/G	A/A
254	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	A/A	G/G
255	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/G	T/T
256	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	A/A	T/T
257	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	A/A	T/T
258	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	T/T	C/C
259	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	A/A	C/C
260	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	C/C	T/T
261	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	C/C	T/T
262	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/G	A/A
263	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	G/G	T/T
264	106319184	TGG1	PROMOTER	Myrosinases	A/A	C/C
265	106319184	TGG1	EXON 2	Myrosinases	T/G	G/G
266	106319184	TGG1	EXON 2	Myrosinases	G/A	A/A
267	106319184	TGG1	EXON 2	Myrosinases	T/G	G/G
268	106319184	TGG1	EXON 2	Myrosinases	A/G	G/G
269	106319184	TGG1	EXON 3	Myrosinases	G/A	A/A
270	106292512	NSP1	PROMOTER	Epithioester protein	T/T	A/A
271	106295642	NSP1	PROMOTER	Epithioester protein	C/G	C/C
272	106295642	NSP1	PROMOTER	Epithioester protein	A/C	A/A
273	106295642	NSP1	PROMOTER	Epithioester protein	G/A	G/G
274	106293140	PYK10	EXON 13	Epithioester protein	T/T	C/C
275	106293140	PYK10	EXON 13	Epithioester protein	C/C	T/T
276	106297375	MVP1	PROMOTER	Epithioester protein	C/T	T/T
277	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	T/G	T/T
278	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	T/A	T/T
279	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	C/T	C/C
280	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	T/A	T/T
281	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	T/C	T/T
282	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	C/T	C/C
283	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	G/A	G/G
284	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	C/A	C/C
285	106297375	MVP1	INTRON 1-2	Epithioester protein	A/G	A/A
286	106297542	ESP	PROMOTER	Epithioester protein	T/G	T/T
287	106297542	ESP	PROMOTER	Epithioester protein	G/A	G/G
288	106297542	ESP	PROMOTER	Epithioester protein	G/A	G/G
289	106297542	ESP	PROMOTER	Epithioester protein	G/A	G/G
290	106297542	ESP	PROMOTER	Epithioester protein	T/C	T/T
291	106310781	NPF2.10	5' UTR	Glucosinolate transport	G/G	G/A
292	106310781	NPF2.10	5' UTR	Glucosinolate transport	T/T	C/T
293	106319254	NPF2.11	PROMOTER	Glucosinolate transport	T/C	T/T

(5) 글루코시놀레이트 함량 연관 분자마커 개발

5개의 주요 글루코시놀레이트 성분별로 선발된 SNP들의 글루코시놀레이트 함량 연관성 확인을 위해 HRM 또는 re-sequencing 방법을 이용하여 validation 하였다. 정확한 분석을 위하여 부모 계통 TO1000DH3 및 Early Big을 포함한 TBDH 집단 132계통과 아시아종묘 유전자원 30점을 활용하였다.

HRM 분석은 각 SNP 부위를 포함한 50-150 bp 크기로 프라이머를 제작하여 StepOnePlus 기기를 사용하여 분석하였다. 각 시료의 DNA는 1 ng을 사용하였고, 최종 3 pmoles의 forward/reverse 프라이머, 1 X의 MeltDoctor HRM Master mix와 함께 총 10 ul의 reaction을 사용하였다. HRM 조건은 initial denaturation으로 95° C에 10분, 그리고 94° C에 30초, 55-60° C에 20초로 40 cycles, 그리고 마지막 melting curve 단계는 95° C에 15초, 60° C에 1분, 95° C에 15초(ramp rate: 1.0%), 60° C에 15초로 하여 수행하였다.

Re-sequencing 분석은 PCR로 SNP이 포함된 약 0.5-1.5 kb 부위를 증폭시켜 sequencing 분석 후 계통별 함량들과 각 SNP들을 비교하면서 글루코시놀레이트 함량 연관성을 확인하였다. PCR은 각 시료의 DNA 4 ng과 최종 5 pmoles의 forward/reverse 프라이머, 1 U의 Intron *i-Taq* polymerase와 함께 총 20 ul의 reaction을 사용하였다. Sequencing 분석용 DNA template의 고농도 확보를 위해 시료 당 PCR은 6번 반복 수행하였으며 PCR 조건은 initial denaturation으로 94° C에 2분, 그리고 94° C에 30초, 50-55° C에 30초, 72° C에 1분/kb로 하여 35 cycles, 그리고 final extension으로 72° C에 5분으로 수행하였다. PCR 결과 확인은 PCR product size에 따라 0.8% 또는 1.2% agarose LE gel에 135V 2시간 수행하여 DNA fragment 밴드를 확인하였다. Re-sequencing 분석 준비를 위해 gel 상의 DNA fragment 밴드는 잘라 QIAGENII Gel Extraction Kit를 이용하여 extraction한 후 sequencing 하였다.

(가) Glucoiberin 함량 연관 분자마커

글루코이베린 고함량 계통 TBDH320과 저함량 계통 TBDH51, 146, 191, 303 의 유전체 정보 분석을 통해 글루코이베린 함량 연관 SNP를 총 327,042개 대량 발굴하였다. 이중 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자에 위치한 SNP 684개를 도출하여, 이로부터 아미노산 change SNP 139개를 우선적으로 선발하였다. 선발한 SNP의 validation을 위해 아래 표45에 있는 글루코이베린 함량이 측정된 고함량/저함량 계통들을 사용하였다.

표 45. Glucoiberin 함량 연관 분자마커 개발을 위한 고/저함량 계통

선발 계통	고함량		저함량	
	TBDH	함량 (μmol/g dry wt.)	TBDH	함량 (μmol/g dry wt.)
1차	TBDH 320	16.43	TBDH 51	0.0
			TBDH 191	0.0
			TBDH 303	0.0
			TBDH 146.2	0.0
2차	TBDH 4	3.74	TBDH 261	0.0
	TBDH 39	3.19	TBDH 269	0.0
	TBDH 220	1.93	TBDH 290	0.0
	TBDH 94.2	1.85	TBDH 342	0.0
3차	TBDH 310	4.60	TBDH 102	0.0
	TBDH 11	2.55	TBDH 245	0.0
	TBDH 36	1.83	TBDH 248	0.0



선발된 SNP중 83개는 프라이머 제작이 불가하여 PCR 증폭/sequencing을 통한 genotyping을 수행하여 validation 하였으나, 최종적으로 함량과 연관된 마커는 발굴되지 않았다. (그림 58).

SNP No.	Primer	Amplicon size (bp)	GIB 함량																			
			16.43	4.603	3.738	3.187	2.55	1.931	1.85	1.828	1.813	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			TBDH 320	TBDH 310	TBDH 4	TBDH 39	TBDH 011	TBDH 220	TBDH 94.2	TBDH 036	TBDH 195	TBDH 102	TBDH 146.2	TBDH 191	TBDH 245	TBDH 24B	TBDH 261	TBDH 262	TBDH 269	TBDH 290	TBDH 303	TBDH 342
1	GIB-9-PCR-F1R	736	T/T	C/C	C/C	C/C			C/C	C/C	C/C		C/C	C/C	C/C		C/C	T/T	C/C		C/C	C/C
2	GIB-10-PCR	601	A/A										A/A	A/A								A/A
3	GIB-12-PCR	664	C/C										C/C	C/C								C/C
4	GIB-13 27-PCR	701	C/C										C/C	C/C								C/C
5	GIB-13 27-PCR	701	A/A										A/A	A/A								A/A
6	GIB-13 27-PCR	701	T/T										T/T	T/T								T/T
7	GIB-13 27-PCR	701	A/A										A/A	A/A								A/A
8	GIB-13 27-PCR	701	T/T										T/T	T/T								T/T
9	GIB-13 27-PCR	701	G/G										G/G	G/G								G/G
10	GIB-28 38-PCR	531	A/A										A/A	A/A								A/A
11	GIB-28 38-PCR	531	T/T										T/T	T/T								T/T
12	GIB-28 38-PCR	531	C/C										C/C	C/C								C/C
13	GIB-28 38-PCR	531	A/A										A/A	A/A								A/A
14	GIB-28 38-PCR	531	G/G										G/G	G/G								G/G
15	GIB-28 38-PCR	531	G/G										G/G	G/G								G/G
16	GIB-28 38-PCR	531	G/G										G/G	G/G								G/G
17	GIB-28 38-PCR	531	A/A										A/A	A/A								A/A
18	GIB-28 38-PCR	531	A/A										A/A	A/A								A/A
19	GIB-28 38-PCR	531	G/G										G/G	G/G								G/G
20	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
21	GIB-39 63-PCR	985	C/C										C/C	C/C								C/C
22	GIB-39 63-PCR	985	G/G										G/G	G/G								G/G
23	GIB-39 63-PCR	985	C/C										C/C	C/C								C/C
24	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
25	GIB-39 63-PCR	985	A/A										A/A	A/A								A/A
26	GIB-39 63-PCR	985	G/G										G/G	G/G								G/G
27	GIB-39 63-PCR	985	C/C										C/C	C/C								C/C
28	GIB-39 63-PCR	985	C/C										C/C	C/C								C/C
29	GIB-39 63-PCR	985	A/A										A/A	A/A								A/A
30	GIB-39 63-PCR	985	A/A										A/A	A/A								A/A
31	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
32	GIB-39 63-PCR	985	G/G										G/G	G/G								G/G
33	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
34	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
35	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
36	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
37	GIB-39 63-PCR	985	C/C										C/C	C/C								C/C
38	GIB-39 63-PCR	985	A/A										A/A	A/A								A/A
39	GIB-39 63-PCR	985	A/A										A/A	A/A								A/A
40	GIB-39 63-PCR	985	G/G										G/G	G/G								G/G
41	GIB-39 63-PCR	985	A/A										A/A	A/A								A/A
42	GIB-39 63-PCR	985	G/G										G/G	G/G								G/G
43	GIB-39 63-PCR	985	T/T										T/T	T/T								T/T
44	GIB-64 70-PCR-1	711	T/T										T/T	T/T								T/T
45	GIB-64 70-PCR-1	711	T/T										T/T	T/T								T/T
46	GIB-64 70-PCR-1	711	A/A										A/A	A/A								A/A
47	GIB-64 70-PCR-1	711	G/G										G/G	G/G								G/G
48	GIB-64 70-PCR-1	711	T/T										T/T	T/T								T/T
49	GIB-64 70-PCR-1	711	G/G										G/G	G/G								G/G
50	GIB-72 81-PCR	551	A/A										A/A	A/A								A/A
51	GIB-72 81-PCR	551	G/G										G/G	G/G								G/G
52	GIB-72 81-PCR	551	A/A										A/A	A/A								A/A
53	GIB-72 81-PCR	551	C/C										C/C	C/C								C/C
54	GIB-72 81-PCR	551	C/C										C/C	C/C								C/C
55	GIB-72 81-PCR	551	T/T										T/T	T/T								T/T
56	GIB-72 81-PCR	551	T/T										T/T	T/T								T/T
57	GIB-72 81-PCR	551	A/A										A/A	A/A								A/A
58	GIB-72 81-PCR	551	T/T										T/T	T/T								T/T
59	GIB-72 81-PCR	551	T/T										T/T	T/T								T/T
60	GIB-82-PCR-1	790	G/G										G/G	G/G								G/G
61	GIB-83 87-PCR-1F2R	812	T/T										T/T	T/T								T/T
62	GIB-83 87-PCR-1F2R	812	C/C										C/C	C/C								C/C
63	GIB-83 87-PCR-1F2R	812	C/C										C/C	C/C								C/C
64	GIB-83 87-PCR-1F2R	812	G/G										G/G	G/G								G/G
65	GIB-83 87-PCR-1F2R	812	C/C										C/C	C/C								C/C
66	GIB-90-PCR-6	771	C/C										C/C	C/C								C/C
67	GIB-91 93-PCR	460	T/T		C/C	C/C		C/C	T/T				C/C	C/C			C/C		C/C	T/T	C/C	C/C
68	GIB-91 93-PCR	460	C/C		T/T	T/T		T/T	C/C				T/T	T/T			T/T		T/T	C/C	T/T	T/T
69	GIB-94-PCR-1F2R	1,161	T/T										T/T	T/T								T/T
70	GIB-95-PCR	535	G/G										G/G	G/G								G/G
71	GIB-103 106-PCR	607	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G
72	GIB-103 106-PCR	607	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G
73	GIB-103 106-PCR	607	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C
74	GIB-114 117-PCR-1	789	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G
75	GIB-114 117-PCR-1	789	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	G/G	C/C	C/C	C/C	C/C
76	GIB-120-PCR	452	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	T/T	A/A	A/A	A/A	A/A
77	GIB-122-PCR-2	1290	A/A										A/A	A/A								A/A
78	GIB-131 134-PCR	461	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A
79	GIB-131 134-PCR	461	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G
80	GIB-145 147-PCR	608	A/A										A/A	A/A								A/A
81	GIB-145 147-PCR	608	A/A										A/A	A/A								A/A
82	GIB-145 147-PCR	608	C/C										C/C	C/C								C/C
83	GIB-148 149-PCR	460	C/C										C/C	C/C								C/C

그림 58. sequencing genotyping을 통한 glucoiberin 함량 연관 SNP 후보군 validation 결과

HRM으로 genotyping 가능한 SNP 56개는 1차, 2차 validation을 거쳐 21개의 SNP가 글루코이베린 함량 연관 후보군으로 선발되었다. 이 후보군은 글루코이베린 함량 표현형 데이터를 구축한 TBDH 132계통에 genotyping 하여 함량과 연관성을 심화 분석하였다 (그림 59).

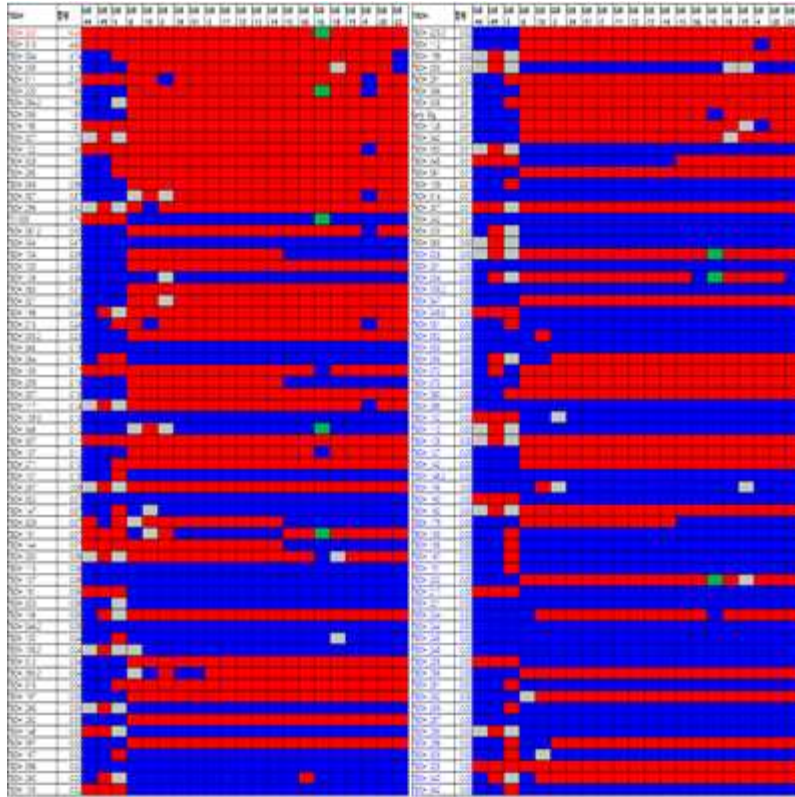


그림 59. TBDH 132계통의 21 글루코이베린 함량 연관 SNP 후보군 genotyping 결과

genotyping을 통해 GIB44, 08, 16 마커를 혼합 사용할 경우 genotype 1-1-3으로 16.43umol/g DW 이상의 글루코이베린 함량을 가진 개체를 선발할 수 있었다.

(나) Progoitrin 함량 연관 분자마커

프로고이트린 성분은 글루코시놀레이트 성분중 유일하게 유해한 성분으로 함량을 줄이는 것이 육종목표인 성분이다. 글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자 유래 SNP 중 ST5c 유전자 유래 SNP가 프로고이트린 저함량 선발 효율을 증진시키는 마커로 개발되었다. 이 분자마커를 이용하여 genotyping 할경우 저함량 소재 (<math><1.0 \mu\text{mol/g DW}</math>)를 83% 선발할 수 있다. 양배추 육종 소재 217점을 대상으로 검정한 결과 저함량 소재의 83%를 genotype 2 로 선발할 수 있었다 (그림 60)



sample	PRO	ST5c-YN-TB11	sample	PRO	ST5c-YN-TB11	sample	PRO	ST5c-YN-TB11	sample	PRO	ST5c-YN-TB11
#1626-36	0.0	2	#1627-11	0.6	2	#1626-01	0.0	1	#1626-20	0.0	3
#1626-91	0.0	2	#1627-23	0.6	2	#1626-02	0.0	1	#1626-47	0.0	3
#1627-03	0.0	2	#1626-28	0.6	2	#1626-06	0.0	1	#1626-58	0.0	3
#1627-05	0.0	2	#1627-75	0.6	2	#1626-42	0.0	1	#1626-88	0.0	3
#1627-08	0.0	2	#1627-74	0.6	2	#1626-49	0.0	1	220	0.1	3
#1627-24	0.0	2	#1627-68	0.6	2	#1626-55	0.0	1	210	0.1	3
#1627-25	0.0	2	#1627-80	0.7	2	#1626-59	0.0	1	764.2	0.2	3
#1627-26	0.0	2	#1626-21	0.7	2	#1626-84	0.0	1	193.8	0.2	3
#1627-32	0.0	2	#1627-89	0.7	2	#1626-86	0.0	1	947.2	0.3	3
#1627-34	0.0	2	#1627-42	0.7	2	#1626-90	0.0	1	219	0.3	3
#1627-35	0.0	2	#1627-18	0.7	2	944	0.3	1	#1626-54	0.5	3
#1627-41	0.0	2	#1627-69	0.7	2	#1626-08	0.3	1	#1626-52	0.5	3
#1627-43	0.0	2	#1627-81	0.7	2	9717	0.4	1	#1626-69	0.6	3
#1627-46	0.0	2	#1627-84	0.7	2	334	0.4	1	#1626-25	0.7	3
#1627-50	0.0	2	#1626-56	0.7	2	#1626-72	0.4	1	214	0.7	3
#1627-52	0.0	2	#1627-87	0.7	2	#1626-65	0.4	1	#1626-78	0.7	3
#1627-53	0.0	2	#1627-83	0.8	2	9418	0.4	1	9174	0.8	3
#1627-64	0.0	2	#1626-05	0.8	2	#1626-70	0.4	1	#1626-79	0.8	3
#1627-67	0.0	2	#1627-91	0.8	2	#1626-10	0.5	1	#1626-18	0.9	3
#1627-71	0.0	2	#1627-48	0.8	2	#1626-81	0.6	1	#1626-57	1.0	3
#1627-77	0.0	2	#1627-79	0.8	2	#1626-63	0.6	1	#1626-17	1.0	3
#1627-86	0.0	2	#1627-90	0.8	2	#1626-87	0.6	1	#1626-88	1.1	3
#1627-88	0.0	2	#1627-93	0.8	2	#1626-90	0.7	1	#1626-38	1.2	3
#1627-90	0.0	2	#1627-92	0.8	2	#1626-96	0.7	1	#1626-16	1.2	3
#1626-76	0.2	2	#1626-32	0.8	2	#1626-89	0.7	1	#1626-77	1.7	3
#1627-72	0.2	2	#1626-73	0.9	2	#1626-53	0.7	1	9482	1.7	3
#1627-20	0.2	2	#1627-76	0.9	2	#1626-64	0.8	1	#1626-15	1.9	3
#1627-63	0.3	2	#1627-61	0.9	2	#1626-61	0.8	1	9474	2.1	3
#1626-03	0.3	2	#1626-51	0.9	2	#1626-07	0.9	1	216	2.6	3
#1627-52	0.3	2	#1627-58	0.9	2	#1626-04	0.9	1	9464	2.9	3
1482	0.3	2	#1626-14	0.9	2	#1626-39	0.9	1	9470	2.9	3
#1627-15	0.3	2	#1626-68	0.9	2	#1626-83	0.9	1	#1626-33	3.1	3
#1627-44	0.3	2	#1626-71	0.9	2	#1626-43	0.9	1	#1626-24	3.5	3
#1627-37	0.4	2	#1627-27	1.0	2	#1626-85	1.0	1	#1626-14	3.9	3
#1627-06	0.4	2	#1627-62	1.0	2	#1626-45	1.0	1	#1626-19	5.1	3
#1627-08	0.4	2	#1627-29	1.0	2	#1626-32	1.0	1	3796	15.2	3
#1627-16	0.4	2	#1627-14	1.0	2	#1626-25	1.0	1	3802	18.6	3
#1627-02	0.4	2	#1627-13	1.0	2	#1626-75	1.1	1	#1626-46	2.4	-
#1627-40	0.4	2	#1627-38	1.0	2	#1626-90	1.1	1			
#1627-47	0.4	2	#1627-56	1.0	2	#1626-53	1.4	1			
#1627-49	0.4	2	#1627-70	1.1	2	#1626-31	1.5	1			
#1627-01	0.4	2	#1627-82	1.1	2	#1626-66	1.5	1			
#1627-51	0.4	2	#1627-33	1.2	2	#1626-23	1.5	1			
#1627-73	0.4	2	#1627-84	1.2	2	#1626-34	1.6	1			
#1627-78	0.4	2	#1627-12	1.2	2	#1626-30	1.8	1			
#1626-90	0.4	2	#1626-47	1.3	2	#1626-27	1.8	1			
#1627-19	0.4	2	#1626-40	1.3	2	#1626-52	1.8	1			
#1627-10	0.5	2	#1627-66	1.4	2	#1626-37	2.0	1			
#1627-85	0.5	2	#1627-45	1.4	2	#1626-41	2.4	1			
#1627-31	0.5	2	#1626-62	1.4	2	#1626-11	2.7	1			
#1627-59	0.5	2	#1627-39	1.5	2	#1626-22	3.3	1			
#1627-36	0.5	2	#1627-57	1.5	2	9709	3.4	1			
#1627-54	0.5	2	#1626-18	1.6	2	#1626-26	4.0	1			
#1627-28	0.5	2	#1626-82	1.7	2	9485	4.5	1			
#1627-30	0.5	2	#1627-94	1.7	2	#1626-29	4.7	1			
#1627-21	0.5	2	#1627-67	1.8	2	218	4.9	1			
#1627-88	0.6	2	#1627-22	2.0	2	2546	6.0	1			
#1626-74	0.6	2	R113	2.7	2	2544	22.8	1			
#1627-17	0.6	2	3965	4.7	2	2570	34.6	1			
			3940	52.1	2	2583	71.2	1			

그림 60. ST5c 유전자 유래 프로고이트린 저함량 선발효율 SNP 마커 genotyping 결과

프로고이트린 고함량 계통과 저함량 계통의 유전체 정보 분석을 통해 함량 연관 SNP를 총 997,293 개 대량 발굴하였다. 이중 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자에 위치한 SNP 3,343개를 도출하여, 이로부터 아미노산 change SNP 46개를 우선적으로 선발하였다. 선발한 SNP의 validation을 거쳐 7개의 SNP를 선발하였고, 이중 PRO 70, 81, 90 3개의 SNP는 프로고이트린 저함량 선발 효율을 증진시킬 마커로서 선발되었다 (그림 61).

SNP No.	Primer	Amplicon size (bp)	PRO 함량												
			7.03	5.32	5.15	5.08	4.80	0	0	0	0	0	0	0	
			TBDH 33	TBDH 185	TBDH 49.2	TBDH 221	TBDH 298	TBDH 95	TBDH 162	TBDH 202	TBDH 256	TBDH 11	TBDH 126	TBDH 310	TBDH 320
1	PRO-71	89													
2	PRO-75	81													
3	PRO-76	86													
4	PRO-79	71													
5	PRO-82	70													
6	PRO-83	90													
7	PRO-85	72													

그림 61. progoitrin 함량 연관 SNP genotyping 분석 결과

(다) Glucoraphanin 함량 연관 분자마커

글루코라파닌 함량 고/저 4 계통 (TBDH126, 320/TBDH146, 303) resequencing을 통해 글루코라파닌 함량 연관 SNP를 142,024 대량 발굴하였고, 이중 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 연관 유전자 기반 436개의 SNP를 선발하였다. 이중 아미노산 change SNP 128개를 우선적으로 선발하여 표 46의 1차 선발을 위한 계통들을 이용하여 77 SNP를 글루코라파닌 함량 연관 SNP로 선발을 하였고, 다른 계통의 글루코라파닌 함량과 선발된 SNP의 연계성을 분석하여 5개의 SNP를 발굴하였다(표 46).

표 46. Glucoraphanin 함량 연관 분자마커 개발을 위한 고/저함량 계통

선발 계통	고함량		저함량	
	TBDH	함량 (μmol/g dry wt.)	TBDH	함량 (μmol/g dry wt.)
1차	TBDH 126	22.0	TBDH 146.2	0.0
	TBDH 320	16.46	TBDH 303	0.0
2차	TBDH 159	17.22	TBDH 160	0.02
	TBDH 21	13.29	TBDH 345	0.01
	TBDH 117	10.19	TBDH 53	0.01
	TBDH 48	9.67	TBDH 56	0.01
3차	TBDH 137	8.99	TBDH 342	0.02
	TBDH 310	8.89	TBDH 261	0.02
	TBDH 4	7.0	TBDH 61	0.02
	TBDH 256	6.84	TBDH 248	0.02

발굴된 5개의 SNP는 TBDH 집단 132계통과 양배추류 품종 및 계통 30점을 사용하여 genotyping 한 결과 glucoraphanin 함량과 연관성이 있는 SNP를 2개 발굴하고, 이 SNP를 genotyping 하는 HRM 프라이머 세트를 각각 GRA24, GRA07 마커로 명명하였다(그림 62).

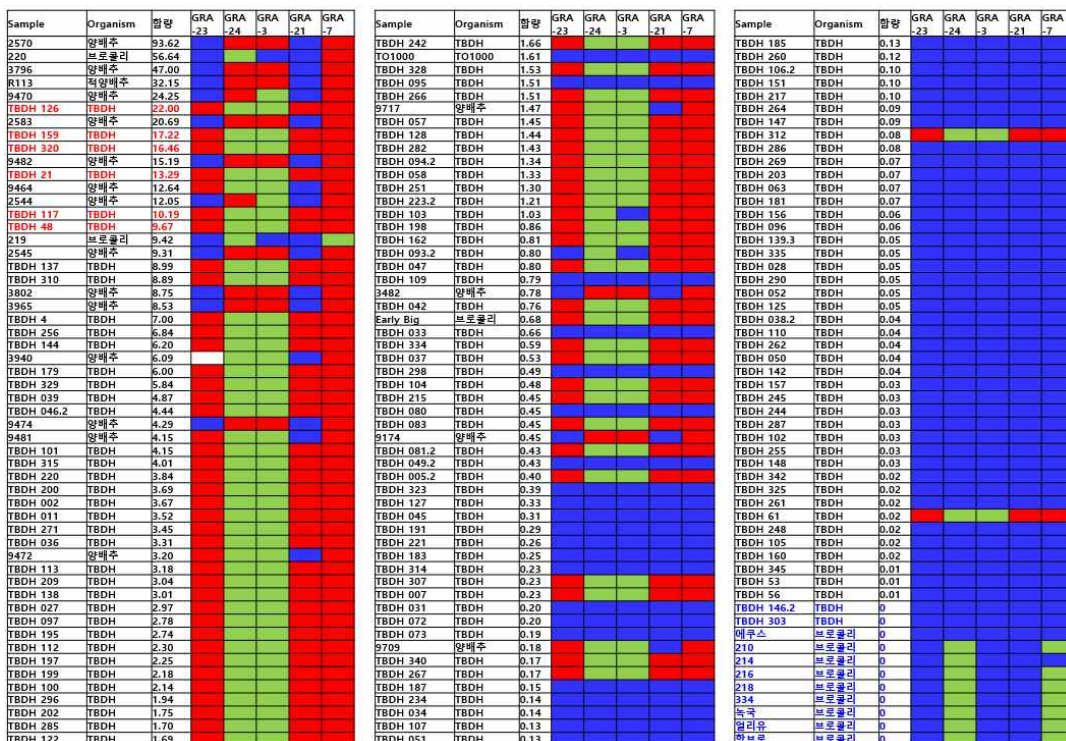


그림 62. TBDH 집단 132계통 양배추류 30점을 사용한 glucoraphanin 함량 연관 후보마커 5점의 genotyping 결과

Glucoraphanin 함량 연관 마커 GRA24와 GRA07을 사용하여 genotype 1 (red), genotype 2 (green)에 해당하는 그룹들만 선발하면 1.61  $\mu\text{mol/g}$  dry weight 이하의 저함량의 혼합물을 66%에서 25%로 낮출수 있어, 이 성분의 함량이 낮은 소재의 제거에 사용 가능한 마커로서 개발되었다 (그림 63).

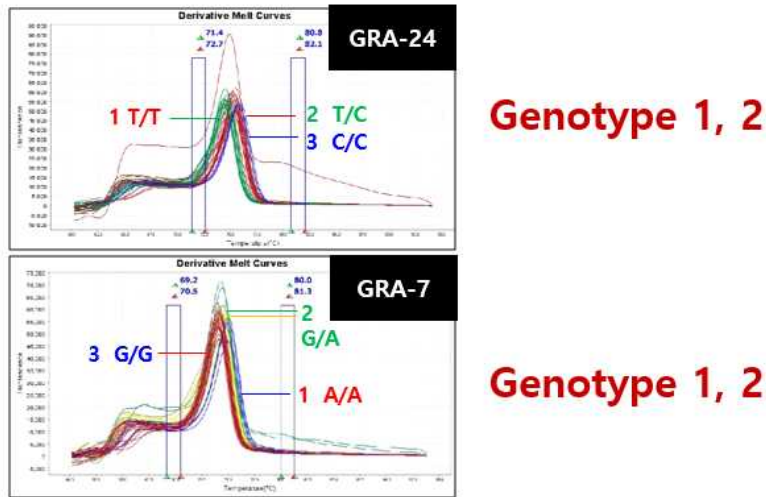


그림 63. GRA24 및 GRA07의 melting graph 결과에 따른 genotype 선발 결과

(라) Sinigrin 함량 연관 분자마커

시니그린 고 (2계통)/저함량 (4계통) 계통 resequencing을 통해 함량 연관 SNP 51,064개를 대량 발굴하였으며, 이중 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 유래 SNP 51 SNP를 우선적으로 선발하였다. 여기서 아미노산 change SNP 41개를 우선적으로 선정하여 HRM 기법으로 resequencing 한 계통 TBDH 191, 45, 11, 126, 310, 320 계통을 사용하여 validation을 수행하여 19개의 SNP를 1차 선발하였다. 선발된 SNP를 8개의 다른 고/저함량 계통을 사용하여 2차 validation을 거쳐 1개의 SNP를 선발하였다 (표 47).

표 47. Sinigrin 함량 연관 분자마커 개발을 위한 고/저함량 계통 선발

선발 계통	고함량		저함량	
	TBDH	함량 ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)	TBDH	함량 ( $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)
1차	TBDH 191	3.09	TBDH 11	0.0
	TBDH 45	3.01	TBDH 126	0.0
			TBDH 310	0.0
			TBDH 320	0.0
2차	TBDH 139.3	2.90	TBDH 110	0.0
	TBDH 264	2.76	TBDH 113	0.0
	TBDH 106.2	1.87	TBDH 142	0.0
	TBDH 107	1.68	TBDH 255	0.0

선발된 1개의 SNP의 시니그린 함량 연관 마커로서 범적용성을 검증하기 위해 글루코시놀레이트 함량 측정이 된 TBDH 132계통과 양배추류 11점 (브로콜리 5 품종, 양배추 5계통, 적양배추 1계통)을 사용하여 genotyping을 수행하고 시니그린 함량과의 연관성을 분석하였다 (그림 64).



샘플종류	샘플명	SIN 함량, 유전형	샘플종류	샘플명	SIN 함량, 유전형	샘플종류	샘플명	SIN 함량, 유전형	샘플종류	샘플명	SIN 함량, 유전형
브로콜리	얼리유	25.54±2.65	TBDH	TBDH 234	0.14	TBDH	TBDH 005.2	0.00±0.00	TBDH	TBDH 144	0.00
	녹국	24.50±0.41		TBDH 187	0.13±0.02		TBDH 007	0.00±0.00		TBDH 159	0.00
	219	20.91±1.06		TBDH 033	0.12±0.02		TBDH 011	0.00±0.00		TBDH 160	0.00±0.00
	218	19.78±4.08		TBDH 080	0.09±0.02		TBDH 021	0.00±0.00		TBDH 162	0.00
	216	18.33±3.66		TBDH 185	0.08±0.01		TBDH 027	0.00±0.00		TBDH 179	0.00
양배추	2545	36.72±2.83	TBDH 049.2	0.08±0.01	TBDH 034	0.00±0.00	TBDH 195	0.00			
	9474	31.79±0.09	TBDH 314	0.08±0.11	TBDH 039	0.00±0.00	TBDH 198	0.00			
	2544	28.46±1.63	TBDH 298	0.07±0.01	TBDH 042	0.00±0.00	TBDH 199	0.00			
	3940	24.10±1.68	TBDH 156	0.07±0.00	TBDH 046.2	0.00±0.00	TBDH 200	0.00±0.00			
	9174	22.86±0.08	TBDH 269	0.06±0.01	TBDH 047	0.00±0.00	TBDH 202	0.00±0.00			
적양배추	R113	23.23±2.23	TBDH 342	0.06±0.00	TBDH 048	0.00±0.00	TBDH 209	0.00±0.00			
TO1000	TO1000	5.30±0.03	TBDH 102	0.06±0.01	TBDH 052	0	TBDH 215	0.00			
TBDH	TBDH 191	3.09±0.45	TBDH 073	0.05±0.01	TBDH 056	0.00±0.00	TBDH 220	0.00±0.00			
	TBDH 045	3.01	TBDH 217	0.05±0.00	TBDH 057	0.00±0.00	TBDH 223.2	0.00±0.00			
	TBDH 139.3	2.90±0.40	TBDH 053	0.05±0.00	TBDH 058	0.00±0.00	TBDH 242	0.00±0.00			
	TBDH 264	2.76±0.28	TBDH 245	0.04±0.01	TBDH 063	0.00±0.00	TBDH 251	0.00±0.00			
	TBDH 106.2	1.87±0.29	TBDH 262	0.04±0.00	TBDH 081.2	0.00±0.00	TBDH 255	0.00±0.00			
	TBDH 107	1.68±0.33	TBDH 183	0.04	TBDH 083	0.00±0.00	TBDH 256	0.00			
	TBDH 181	1.50±0.09	TBDH 127	0.04±0.01	TBDH 094.2	0.00±0.00	TBDH 260	0.00±0.00			
	TBDH 335	1.41±0.03	TBDH 072	0.04±0.00	TBDH 095	0.00±0.00	TBDH 266	0.00±0.00			
	TBDH 303	1.06±0.04	TBDH 197	0.04	TBDH 097	0.00±0.00	TBDH 267	0.00±0.00			
	TBDH 147	0.99±0.03	TBDH 038.2	0.03±0.00	TBDH 100	0.00±0.00	TBDH 271	0.00±0.00			
	TBDH 096	0.83±0.26	TBDH 221	0.03	TBDH 101	0.00±0.00	TBDH 285	0.00±0.00			
	TBDH 286	0.79±0.04	TBDH 125	0.02±0.02	TBDH 103	0.00±0.00	TBDH 287	0			
	TBDH 323	0.68±0.03	TBDH 028	0.02±0.00	TBDH 104	0.00±0.00	TBDH 290	0.00±0.00			
	TBDH 105	0.49±0.05	TBDH 244	0.02±0.01	TBDH 109	0.00±0.00	TBDH 296	0.00±0.00			
	TBDH 157	0.43±0.02	TBDH 325	0.01±0.01	TBDH 110	0.00±0.00	TBDH 307	0.00±0.00			
	TBDH 093.2	0.42±0.15	TBDH 061	0.01±0.00	TBDH 112	0.00±0.00	TBDH 310	0.00±0.00			
	TBDH 148	0.31±0.06	TBDH 036	0.01±0.01	TBDH 113	0.00±0.00	TBDH 312	0.00±0.00			
	TBDH 051	0.25±0.06	TBDH 248	0.01±0.00	TBDH 117	0.00	TBDH 315	0.00±0.00			
	TBDH 050	0.21±0.04	TBDH 146.2	0.01	TBDH 122	0.00±0.00	TBDH 320	0.00			
	TBDH 151	0.19±0.02	TBDH 261	0.01±0.01	TBDH 126	0.00±0.00	TBDH 328	0.00±0.00			
	TBDH 345	0.18±0.03	TBDH 037	0.01±0.01	TBDH 128	0.00	TBDH 329	0.00±0.00			
	TBDH 282	0.17±0.19	Early Big	0.00±0.00	TBDH 137	0.00±0.00	TBDH 334	0.00±0.00			
	TBDH 203	0.16±0.03	TBDH 002	0.00±0.00	TBDH 138	0.00±0.00	TBDH 340	0.00±0.00			
	TBDH 031	0.14	TBDH 004	0.00±0.00	TBDH 142	0					

AA 유전형  
GG 유전형 (저함량)

그림 64. 시니그린 함량이 다른 143 개체의 AOP1 유전자 유래 SIN1 분자마커의 유전자형 검정 결과

위의 선발된 SNP는 9번 염색체 (GenBank accession No. CM002792.1)의 1,411,856bp 위치의 SNP이며, AOP1 유전자 (NCBI accession No. 106316191)의 SNP이다. 이 SNP의 유전형은 HRM 기법으로 검출할 수 있도록 HRM 프라이머 세트 (CTCTTTTCTTTGGGGA ACTCTAA/TCAACCAAAATGTTATACATAGACAAA)를 개발하였다. 이 프라이머 세트를 SIN1 마커로 명명하였으며, SIN1 마커를 이용하여 유전형을 분석할 경우 시니그린의 함량이 높은 개체에서는 AA의 유전형으로, 낮은 개체에서는 유전형이 GG로 분석되며, 시니그린의 함량이 0인 양배추 개체에서 82.4% 이상의 선발효율을 보인다. 그림64에서처럼 시니그린 함량이 0인 계통의 SIN1 마커를 이용한 선발 결과 시니그린 함량이 0인 개체 74계통에서 82.4%의 선발효율을 보인다 (61개체 제거). 또한 0.42 $\mu$ mol/g dry wt.을 초과하는 개체에서는 GG의 유전형이 나타나지 않아 유용 소재인 고함량 소재를 제거할 가능성이 없음을 알 수 있다.

SIN1 분자마커가 도출된 AOP1 유전자는 글루코시놀레이트 생합성 경로에서 side chain modification 기능을 하는 유전자로서 염색체 9번 (linkage group C9)의 시니그린 QTL mapping이 된 위치에 있는 유전자이다 (그림 65).



C9

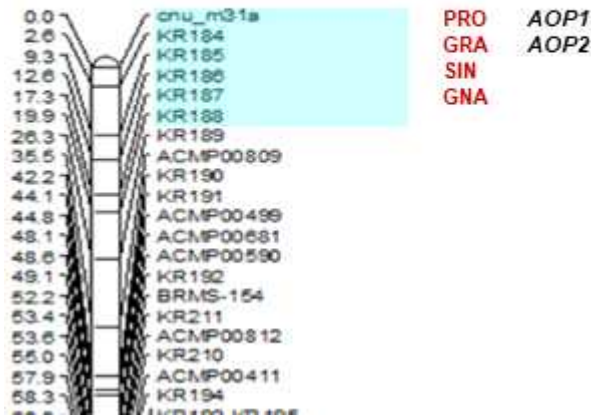


그림 65. linkage group C9의 QTL 및 QTL spanning 유전자

(마) Glucobrassicin 함량 연관 분자마커

글루코시놀레이트 생합성 경로 유전자의 일부를 글루코브라시신 성분의 저함량 고�함량 계통간의 SNP를 발굴하였다. BCAT4, FMOGS\_OX5, IQD1-1, MAM1, MYB122, ST5c 5개의 유전자와 유전자 upstream 부위로부터 190개의 SNP를 발굴하였고, 229점의 양배추류 소재에 적용하여 최종 2개의 SNP를 글루코브라시신 함량 구별마커로 발굴하였다. 이 2개의 SNP는 GIB01, GIB02 마커로 명명하였다. 두 마커는 FMOGS\_OX5 유전자의 3'UTR 부위의 SNP이며, 1.06 umol/g DW.의 함량 기준으로 고�함량에서는 각각 GG, CC genotype을 나타내고, 저함량에서는 각각 AA, TT의 genotype을 보인다. 그림 66에서 0.08~40.9 umol/g DW.의 글루코브라시신 함량을 보이는 여러 소재의 genotyping 한 결과를 보여준다 (그림 66).

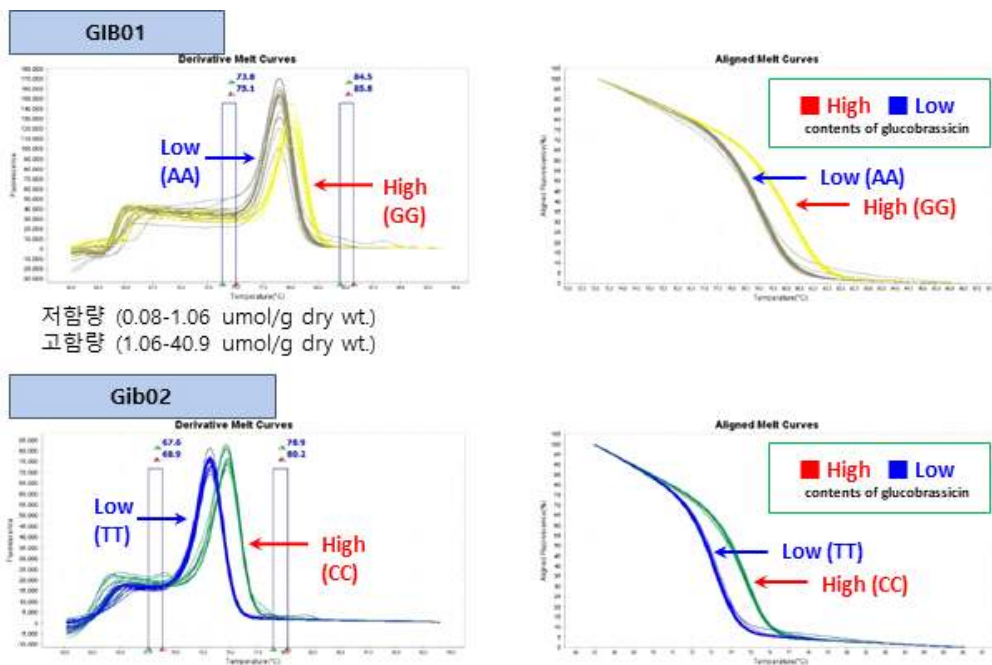


그림 66. 글루코브라시신 저, 고�함량 소재 GIB01, GIB02 분자마커 검정 결과

(6) 글루코시놀레이트 함량 연관 분리집단 작성: Glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin 함량 연관 분자마커 개발용 mapping 집단 작성 내용 기재

글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커 개발 연구를 위하여, TBDH 집단에서 가장 높은 함량을 보인 2개의 성분들 glucoiberin과 glucoraphanin, 그리고 생체 내 갑상선종을 일으킨다고 알려져 글루코시놀레이트 성분 중 유일하게 해로운 물질인 progoitrin에 대해 각 성분별 함량 차이에 따른 F<sub>1</sub>을 작성하고자 하였다. 3개 성분의 고품량 및 저함량 계통의 종자들을 2020년 1월에 파종하여 5월에 각각 교배하여 5차년도(2021년)에 F<sub>1</sub> 종자를 확보하였다(표 48).

표 48. Glucoiberin, glucoraphanin 및 progoitrin 성분 함량 연관 F<sub>1</sub> 작성

Glucosinolates	High contents		Low contents		Number of seeds	
	TBDH	Content (μmol/g dry wt.)	TBDH	Content (μmol/g dry wt.)		
Glucoiberin	TBDH 320	16.43	×	TBDH 187	0.0	117
	TBDH 320	16.43	×	TBDH 110	0.0	46
Glucoraphanin	TBDH 159	17.22	×	TBDH 187	0.15	16
	TBDH 320	16.46	×	TBDH 187	0.15	117
	TBDH 320	16.46	×	TBDH 110	0.04	46
Progoitrin	TBDH 187	3.42	×	TBDH 159	0.0	16
	TBDH 187	3.42	×	TBDH 320	0.0	117

확보된 F<sub>1</sub> 집단 개체 종자들은 추후 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커 개발을 위한 시료로 활용할 수 있을 것이다.

(7) 육종소재 성분 분석 지원

(가) 종자 순도검정 지원

아시아종묘로부터 받은 브로콜리 종자 384점의 순도검정을 위하여 3MM filter paper에서 약 2일정도 암발아시켜 유묘기 샘플에서 genomic DNA를 추출하였고, 기존에 개발한 양배추 순도검정용 마커 24개를 이용하여 fluidigm system으로 genotyping을 분석하였다. 1번 품종 98.9%, 2번 품종 91.6%, 3번 품종 100%, 4번 품종 100%의 순도율을 보였다(표 49).

표 49. 브로콜리 종자의 순도검정 결과

		C1_512	C7_404	C1_285	C3_640	C8_339	C2_199	C4_370	C2_132	C8_164	C6_179	C3_310	C9_101	C7_109	C4_477	C4_298	C8_316	C5_372	C4_849	C3_273	C5_383	C1_395	C3_819	C8_115	C6_480
1	#1_A1	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY
2	#1_A2	XX	YY	XX	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY
3	#1_A3	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
4	#1_A4	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
5	#1_A5	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
6	#1_A6	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
7	#1_A7	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
8	#1_A8	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY
9	#1_A9	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
10	#1_A10	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
11	#1_A11	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
12	#1_A12	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
13	#1_B1	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY
14	#1_B2	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY



85	#1_H1	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
86	#1_H2	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
87	#1_H3	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
88	#1_H4	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
89	#1_H5	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
90	#1_H6	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
91	#1_H7	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
92	#1_H8	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	No	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
93	#1_H9	XX	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
94	#1_H10	XX	YY	XX	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
95	#1_H11	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
96	#1_H12	XX	YY	XY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	XY	YY	XY	YY	YY	
97	#2_A1	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	No	YY	No	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY
98	#2_A2	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY
99	#2_A3	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	No	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
100	#2_A4	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY
101	#2_A5	XY	YY	XY	XY	No	XY	YY	XY	XY	No	XY	No	No	XY	No	XY	XY	XY	XY	XY	XY	No	No	
102	#2_A6	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
103	#2_A7	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
104	#2_A8	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY
105	#2_A9	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
106	#2_A10	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY
107	#2_A11	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
108	#2_A12	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
109	#2_B1	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
110	#2_B2	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	YY	XX	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
111	#2_B3	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
112	#2_B4	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
113	#2_B5	XY	No	XY	XY	No	XY	YY	XY	XY	XY	No	No	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	
114	#2_B6	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
115	#2_B7	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
116	#2_B8	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
117	#2_B9	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
118	#2_B10	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
119	#2_B11	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
120	#2_B12	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
121	#2_C1	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
122	#2_C2	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
123	#2_C3	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
124	#2_C4	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
125	#2_C5	XY	XY	XY	XY	No	XY	YY	No	XY	No	XY	No	No	XY	No	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	
126	#2_C6	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
127	#2_C7	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
128	#2_C8	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
129	#2_C9	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
130	#2_C10	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
131	#2_C11	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
132	#2_C12	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
133	#2_D1	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
134	#2_D2	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
135	#2_D3	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
136	#2_D4	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	No	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
137	#2_D5	XY	XY	No	XY	XY	XY	YY	No	XY	No	XY	XY	No	XY	XY	XY	XY	XY	XY	No	XY	No	XY	
138	#2_D6	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
139	#2_D7	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
140	#2_D8	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
141	#2_D9	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
142	#2_D10	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
143	#2_D11	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
144	#2_D12	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
145	#2_E1	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
146	#2_E2	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
147	#2_E3	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
148	#2_E4	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
149	#2_E5	XY	XY	XY	XY	No	XY	No	XY	No	XY	No	No	XY	No	YY	XY	No	XY	XY	XY	XY	XY	XY	
150	#2_E6	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	
151	#2_E7	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	XY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
152	#2_E8	XX	YY	XY	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
153	#2_E9	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	XY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	YY	XY	
154	#2_E10	XX	YY	XX	XX	XY	XY	YY	XX	YY	YY	XX	XX	YY	YY	YY	XX	YY	XX	XY	XY	XY	YY	XY	









365	#4_G5	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	XY
366	#4_G6	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	XY
367	#4_G7	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	XY
368	#4_G8	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	XY
369	#4_G9	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
370	#4_G10	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
371	#4_G11	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
372	#4_G12	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
373	#4_H1	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
374	#4_H2	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
375	#4_H3	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
376	#4_H4	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	No	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
377	#4_H5	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
378	#4_H6	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
379	#4_H7	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
380	#4_H8	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
381	#4_H9	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
382	#4_H10	XX	YY	XX	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	YY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
383	#4_H11	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	XX	XY	XY	YY	XY	YY	YY	YY	XY
384	#4_H12	XX	YY	XY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	YY	No	YY	YY	YY	No	XY	XY	YY	No	YY	YY	YY	No

**(나) 분자마커 개발을 위한 글루코시놀레이트 성분 분석 지원**

충남대학교로부터 받은 샘플 6점의 글루코시놀레이트 성분 분석을 하기 위하여 샘플을 동결건조하여 시료를 준비하였다. 글루코시놀레이트 분석을 위한 HPLC 장치는 Agilent 1100 모델을 사용하였으며, 컬럼으로는 ODS-3 glucosinolate (150\*3.0 mm\* 5.0 um) column을 사용하였고, Detector로서 PDA-detector (227 nm)를 사용하였다. 동결건조한 분말시료 100 mg에 70% (v/v) boiling methanol (1.5 ml)을 넣고 vortex한 후 70°C 항온수조에 5분간 incubation하여 crude한 글루코시놀레이트를 추출하였다. Crude하게 추출된 글루코시놀레이트를 pasteur pipette으로 미리 준비해둔 mini-column (DEAE-Sephadex A-25)에 로딩하고 초순수 2 ml (1 ml X 2회)을 이용해 washing하였다. Aryl sulfatase solution (115 mg/5 ml) 75 ul을 이용하여 상온에서 16시간 incubation- 초순수 0.5 ml로 3회 elution 하여 시료는 0.45 um hydrophilic PTFE milipore filter (직경 13 mm)로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. Sinigrin (0.1 mg/1 ml)을 standard로 사용하여 정량에 사용하였으며, 총 8개의 물질이 검출 되었다. 각 피크를 4000 Qtrap LC/MS/MS system을 이용하여 positive ion mode로 분석한 결과 glucoiberin, sinigrin, 4-hydroxyglucobrassicin, unknown, glucoerucin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin 및 neoglucobrassicin으로 동정되었고, 함량은 표 50와 같다.

표 50. 애기장대 시료에서 분석한 글루코시놀레이트 함량 (umol/g dry wt.)

	WS2	WS2-2	WS2-3
Glucoiberinn	16.018	24.717	12.997
Sinigrin	0.816	0.918	0.247
4-hydroxyglucobrassicin	0.671	0.303	2.693
Unknown	0.689	0.373	1.204
Glucoerucin	11.574	1.199	1.062
Glucobrassicin	0.526	0.564	0.308
4-Methoxyglucobrassicin	1.165	0.353	0.266

Neoglucobrassicin	3.114	1.029	0.809
Total glucosinolate	34.573	29.456	19.587

위와 동일한 방법으로 아시아종묘로부터 받은 양배추 육종 소재 44점의 글루코시놀레이트 성분 분석을 수행하였고 그 결과 총 13개의 물질이 검출되었다. 각 피크를 4000 Qtrap LC/MS/MS system을 이용하여 positive ion mode로 분석한 결과 glucoiberin, progointrin, glucoraphanin, sinigrin, unknown 1, gluconapin, glucoiberin, 4-hydroxyglucobrassicin, unknown 2, glucoerucin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin 및 neoglucobrassicin으로 동정되었고, 2반복으로 수행하여 각 성분의 함량을 측정하였다(표 51).

표 51. 아시아종묘 시료에서 분석한 글루코시놀레이트 성분 함량 ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )

샘플	작물	Gluc oibe rin	Prog ointri n	Gluc orap hani n	Sini grin	Unk now n 1	Gluc ona pin	Gluc oibe rveri n	4-hy drox yglu cobr assi cin	Unk now n 2	Gluc oeru cin	Gluc obra ssici n	4-m etho xygl uco bras sici n	Neogl ucob rassi cin	Total gluco sinol ates
2497	양배추	25.5	0.5	1.3	26.7	0.0	0.4	0.5	0.0	0.0	0.0	1.1	0.1	0.4	56.5
2544	양배추	8.1	22.7	12.0	28.5	0.0	20.5	0.5	0.0	0.0	0.4	1.0	0.2	0.0	93.8
2545	양배추	35.3	6.0	9.3	36.7	0.0	1.9	0.9	0.2	0.0	0.4	3.0	1.0	0.6	95.3
2550	양배추	28.9	0.9	2.4	35.8	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.2	0.0	69.5
2570	양배추	5.4	34.6	9.4	26.2	0.0	17.1	0.5	0.0	0.0	0.0	0.3	0.1	0.0	93.5
2583	양배추	10.1	71.2	20.7	51.0	0.0	42.6	0.7	0.1	0.5	0.5	2.3	0.7	0.2	200
3482	양배추	13.2	0.3	0.8	95.6	0.0	0.0	1.1	0.3	0.0	0.7	1.3	0.2	1.8	115
3796	양배추	1.7	15.2	4.7	10.8	0.0	8.0	0.2	0.1	0.3	0.0	1.0	0.1	0.5	42.5
3802	양배추	51.1	18.6	8.8	112	0.0	4.5	1.4	0.1	0.0	0.3	4.7	1.0	0.3	202
3940	양배추	2.5	52.1	6.1	24.1	0.0	41.1	0.8	0.1	0.2	0.4	3.8	0.5	0.2	132
3965	양배추	45.3	4.7	8.5	49.3	0.0	1.3	0.5	0.8	0.0	0.8	3.5	1.1	0.9	117
9174	양배추	10.4	0.8	0.4	22.9	0.0	0.6	0.0	1.0	0.0	0.0	0.5	0.7	0.2	37.5
9181	양배추	2.6	0.5	0.5	4.4	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	8.4
9455	양배추	2.2	1.1	0.1	27.6	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	31.9
9461	양배추	5.0	0.8	0.7	9.7	0.0	0.5	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	17.0
9464	양배추	12.3	2.9	1.3	33.6	0.0	2.4	0.3	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	53.0
9467	양배추	3.5	1.5	1.0	11.8	0.0	1.3	0.1	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	19.5
9468	양배추	10.4	0.7	0.5	13.6	0.0	0.5	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.7	26.9
9470	양배추	11.1	2.9	2.4	22.3	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	1.6	42.5
9472	양배추	17.8	0.3	3.2	51.4	0.0	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.2	0.3	76.4
9474	양배추	31.4	2.1	4.3	31.8	0.0	1.3	0.0	0.4	0.0	0.0	3.0	0.7	0.3	75.3
9481	양배추	29.1	4.5	4.1	47.3	0.0	4.5	0.3	0.1	0.0	0.4	0.8	0.1	0.3	91.6
9482	양배추	15.3	1.7	1.5	26.0	0.0	1.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	46.3
9698	양배추	1.4	0.3	0.2	3.6	0.0	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	6.0
9709	양배추	2.8	3.4	0.2	78.9	0.0	2.3	0.6	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.1	89.4
9717	양배추	1.1	0.4	1.5	53.7	0.0	0.5	0.0	0.1	0.0	0.0	2.3	0.7	0.2	60.5
R113	적양배추	1.3	2.7	3.2	2.3	5.9	3.9	0.4	0.1	1.8	0.8	0.2	0.3	0.7	23.6
R115	적양배추	0.6	0.9	1.4	0.9	7.7	2.3	0.6	0.0	0.0	0.7	0.2	0.1	0.4	15.9
210	브로콜리	0.0	0.1	0.0	11.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.1	0.1	0.2	0.1	0.4	12.2
212	브로콜리	1.6	0.5	2.9	4.7	0.0	0.3	0.6	0.0	0.0	0.1	0.2	0.1	0.7	11.8
214	브로콜리	0.0	0.7	0.0	41.1	0.0	1.0	0.3	0.1	0.5	1.1	4.0	0.8	5.9	55.5
216	브로콜리	0.0	2.6	0.0	18.3	0.0	0.0	1.5	0.0	0.3	0.0	0.4	0.1	2.3	25.6
217	브로콜리	3.6	0.1	6.7	17.4	0.0	1.3	0.2	0.1	0.2	0.8	0.4	0.1	1.3	32.2
218	브로콜리	7.2	4.9	0.0	19.8	0.0	1.4	0.0	0.2	0.0	1.2	3.1	0.8	6.1	44.6
219	브로콜리	0.0	0.3	9.4	20.9	0.0	1.6	0.0	0.0	0.3	0.3	2.0	0.3	25.2	60.2
220	브로콜리	1.4	0.1	5.7	18.2	0.0	1.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.4	0.1	1.6	28.7
334	브로콜리	22.4	0.4	0.0	80.0	0.0	0.0	0.7	0.2	0.3	1.9	2.7	2.4	74.8	186
그린송	브로콜리	5.4	0.5	2.6	16.9	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.3	1.3	0.3	10.5	38.5
녹국	브로콜리	0.4	0.3	0.0	2.4	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	3.0	6.6
아메로	브로콜리	0.8	0.3	0.0	8.5	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.4	1.2	0.2	12.3	24.0
얼리유	브로콜리	0.0	0.4	0.0	25.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2	2.5	0.5	10.9	42.1
에쿠스	브로콜리	0.0	0.2	0.0	6.9	0.0	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.7	0.2	8.2	16.9

킹돔	브로콜리	1.0	0.2	0.0	4.6	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.6	0.1	6.2	12.9
햇브로	브로콜리	0.0	0.2	0.0	14.6	0.0	0.0	0.3	0.0	0.4	0.1	0.7	0.1	10.0	26.5

또한 농촌진흥청으로부터 받은 동결건조된 육종소재 26점의 글루코시놀레이트 성분을 동일한 방법으로 분석하였다. 4반복으로 수행하여 분석한 결과, glucoraphenin, glucoraphenin, gluconapin, glucobrassicinapin, 4-hydroxyglucobrassicin, unknown 1, glucoerucin, unknown 2, glucoraphasatin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin 및 neoglucobrassicin으로 총 12개의 물질이 검출되었다. 각 성분의 함량은 표 52와 같다.

표 52. 농촌진흥청 시료에서 분석한 글루코시놀레이트 성분 함량 ( $\mu\text{mol/g dry wt.}$ )

샘플	작물	Glucoraphanin	Glucoraphenin	Gluconapin	Glucobrassicinapin	4-hydroxyglucobrassicin	Unknown 1	Glucoerucin	Unknown 2	Glucoraphasatin	Glucobrassicin	4-Methoxyglucobrassicin	Neoglucobrassicin	Total glucosinolates
28	무	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.4	0.5	71.3	0.1	0.1	0.3	73.4
36	무	0.2	0.2	0.0	0.9	0.3	0.0	0.0	0.5	61.0	0.3	0.0	0.1	63.5
37	무	0.0	0.1	0.0	0.5	0.1	0.0	0.0	0.1	22.0	0.1	0.0	0.1	23.1
38	무	0.0	0.0	0.0	0.3	0.2	0.0	0.0	0.2	27.3	0.1	0.0	0.2	28.2
43	무	0.4	0.6	0.0	0.3	1.3	0.0	0.4	0.9	71.3	0.5	0.0	0.1	76.0
44	무	0.6	0.5	0.0	0.2	1.2	0.0	1.0	1.4	120.5	0.7	0.0	0.1	126.3
45	무	0.0	0.0	0.5	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.1	0.1	1.5
49	무	0.0	0.0	0.3	0.2	0.0	0.0	0.5	0.0	0.3	0.0	0.1	0.1	1.6
88	무	0.1	0.1	0.2	0.4	0.5	0.0	0.0	0.1	28.5	0.1	0.0	0.2	30.1
97	무	0.5	0.6	0.0	0.4	2.2	0.0	0.0	1.2	100.2	0.2	0.0	0.2	105.4
98	무	0.6	0.7	0.0	0.5	2.1	0.0	0.2	0.8	37.6	0.5	0.0	0.1	43.1
99	무	1.0	0.4	0.1	0.4	3.9	0.0	0.0	0.8	57.9	0.4	0.0	0.2	65.2
111	무	0.1	0.0	0.1	0.3	0.6	0.0	1.5	1.9	112.4	0.0	0.1	0.3	117.5
112	무	0.0	0.0	0.8	0.2	0.1	0.0	0.9	0.2	0.3	0.0	0.0	0.3	2.8
113	무	0.0	0.0	0.2	0.3	0.4	0.0	0.0	0.7	13.9	0.0	0.1	0.3	15.9
122	무	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.4
123	무	0.0	0.0	0.3	0.0	0.2	0.0	0.0	0.2	6.6	0.0	0.0	0.1	7.4
124	무	0.1	0.1	0.1	0.3	1.1	0.1	0.0	1.9	87.7	0.5	0.1	0.2	92.2
160	무	0.7	0.4	0.0	0.3	4.1	0.0	0.0	0.7	85.6	0.2	0.0	0.2	92.2
176	무	0.6	0.3	0.1	0.3	1.6	0.0	0.0	0.5	57.3	0.2	0.0	0.1	60.9
187	무	0.6	0.3	0.1	0.3	2.0	0.0	0.0	0.3	19.9	0.1	0.0	0.2	23.8
191	무	0.1	0.2	0.1	0.3	0.7	0.0	0.0	0.3	26.8	0.1	0.0	0.1	28.7
195	무	0.7	0.3	0.2	0.1	2.1	0.0	0.0	0.5	31.4	0.2	0.0	0.1	35.7
220	무	0.1	0.0	0.8	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.4
221	무	0.4	0.2	0.4	0.1	1.2	3.9	1.2	0.5	2.7	0.1	0.0	0.1	10.9
235	무	0.4	0.4	0.2	0.0	3.1	0.0	0.0	0.7	39.7	0.1	0.1	0.1	44.8

#### (다) 안토시아닌 성분 분석 지원

순천대학교로부터 받은 샘플 55점의 안토시아닌을 추출하기 위하여 샘플을 동결건조 하였다. 양배추와 콜라비의 분말시료 100 mg에 5% formic acid (v/v) 2 ml을 넣었다. 상온에서 vortex를 약 5분간 한 후 sonication을 약 20분 정도 하였고, 4°C, 15 min, 8,000 rpm 원심분리 후 상층액을 취하여 0.45  $\mu\text{m}$  hydrophilic PTFE milipore filter (직경 0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과한 후, HPLC용 vial병에 옮겨 담아 분석을 진행하였다. 양배추와 콜라비의 안토시아닌 분석을 위한 HPLC 조건은 표 53과 같다. Formic acid를 사용하여 추출한 안토시아닌 물질을 정확히 동정하기 위해서 LC/MS를 수행하였고, 추출된 안토시아닌 물질의 LC-MS 결과값은 각 샘플의 피크값의 비교를 통하여 물질이 동정되었다(그림 67, 68).

표 53. 양배추와 콜라비 안토시아닌 분석을 위한 HPLC 조건

시간	5% formic acid in water (v/v)	Acetonitrile (v/v)
0 분	95 %	5 %
8 분	90 %	10 %
13 분	87 %	13 %
15 분	87 %	13 %
18 분	82 %	18 %
25 분	85 %	15 %
30 분	82 %	18 %
35 분	82 %	18 %
40 분	79 %	21 %
45 분	79 %	21 %
45.1 분	95 %	5 %
50 분	95 %	5 %

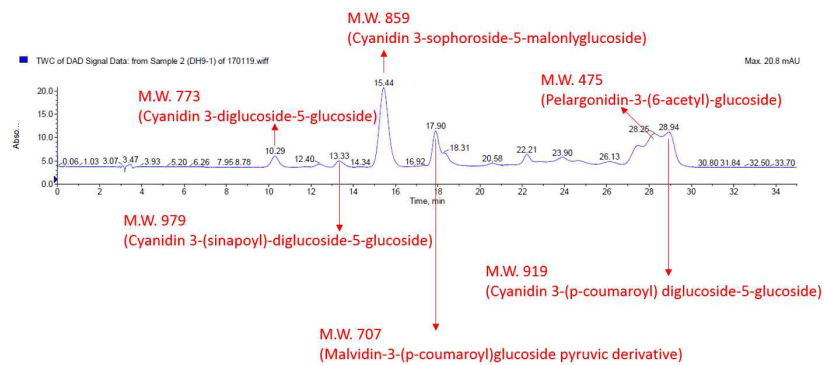


그림 67. 양배추에서 용출한 안토시아닌 물질의 LC-MS 분석 결과

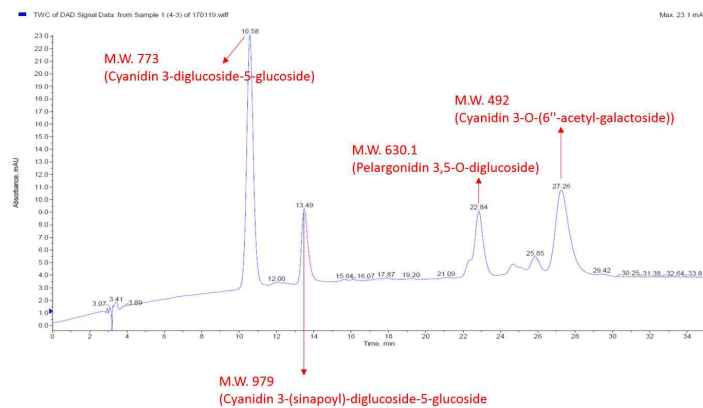


그림 68. 콜라비에서 용출한 안토시아닌 물질의 LC-MS 분석 결과

양배추에서는 Cyanidin 3-diglucoside-5-glucoside, Cyanidin 3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside, Cyanidin 3-sophoroside-5-malonylglucoside, Malvidin-3-(p-coumaroyl)glucoside pyruvic derivative, Pelargonidin-3-(6-acetyl)-glucoside, Cyanidin 3-(p-coumaroyl) diglucoside-5-glucoside의 6종류 안토시아닌이 분석되었고, 콜라비에 서는 Cyanidin 3-diglucoside-5-glucoside, Cyanidin 3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside, Pelargonidin 3,5-O-diglucoside, Cyanidin 3-O-(6''-acetyl-galactoside)의 4종류 안토시아닌이 검출되었다(표 54, 55).

표 54. 양배추 샘플에서 분석한 안토시아닌 함량 결과 (mg/g dry wt.)

Sample name	Cyanidin 3-diglucoside-5-glucoside	Cyanidin 3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	Cyanidin 3-sophoroside-5-malonylglucoside	Malvidin-3-(p-coumaroyl)glucoside pyruvic derivative	Pelargonidin-3-(6-acetyl)-glucoside	Cyanidin 3-(p-coumaroyl)diglucoside-5-glucoside
Asia	0.060	0.394	ND	ND	0.268	ND
AV1	0.159	0.337	ND	ND	0.605	ND
AV2	ND	0.072	ND	0.836	0.131	ND
AV3	ND	ND	0.090	ND	0.239	ND
AV5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
AV6-1	ND	0.298	0.301	ND	1.156	ND
AV6-2	ND	0.369	0.349	ND	1.135	ND
BV2	ND	ND	ND	0.839	0.456	ND
BV3	ND	0.121	ND	0.600	0.366	ND
P BV5	ND	ND	ND	0.619	0.472	ND
BV-Re20	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Re20-1	ND	0.049	ND	0.852	ND	ND
Re20-2	ND	0.048	ND	0.813	ND	ND
DH1	0.041	0.105	0.032	ND	0.262	ND
DH4-1	0.102	0.672	0.051	ND	0.212	ND
DH4-2	0.098	0.676	0.053	ND	0.207	ND
DH4-3	0.099	0.644	0.051	ND	0.193	ND
DH5-1	0.133	0.843	0.055	ND	0.231	ND
DH5-2	0.133	0.839	0.049	ND	0.275	ND
DH5-3	0.133	0.838	0.052	ND	0.271	ND
DH6-1	0.141	0.932	0.035	0.110	0.149	ND
DH6-2	0.140	0.954	0.033	0.155	0.143	ND
DH6-3	0.146	0.972	0.040	0.091	0.126	ND
DH7-1	0.074	0.386	0.039	0.145	0.283	ND
DH7-2	0.078	0.380	0.040	0.113	0.272	ND
DH7-3	0.074	0.369	0.038	0.152	0.242	ND
DH8-1	0.051	0.413	ND	0.269	0.122	ND
DH8-2	0.051	0.405	ND	0.246	0.069	ND
DH8-3	0.051	0.414	ND	0.248	0.125	ND
DH9-1	0.189	0.163	1.198	0.606	0.544	0.315
DH9-2	0.233	0.547	2.106	0.547	0.112	0.246
DH9-3	0.111	0.895	0.051	0.546	0.225	0.273
DH10-1	0.110	0.606	ND	0.114	0.205	ND
DH10-2	0.112	0.595	ND	0.117	0.212	ND
DH10-3	0.110	0.589	ND	0.214	0.257	ND
DH11-1	0.113	0.668	0.051	ND	0.287	ND
DH11-2	0.111	0.641	0.050	ND	0.320	ND
DH11-3	0.112	0.648	0.051	ND	0.333	ND
DH12-1	0.101	0.571	0.038	ND	0.184	ND
DH12-2	0.099	0.550	0.036	ND	0.191	ND
DH12-3	0.098	0.552	0.037	ND	0.101	ND
DH14-1	0.178	1.001	0.082	ND	0.234	0.282
DH14-2	0.178	0.971	0.083	ND	0.214	0.136
DH14-3	0.178	0.978	0.084	ND	0.339	0.117
DH15-1	0.105	0.733	0.028	ND	0.614	ND
DH15-2	0.100	0.756	0.029	ND	0.729	ND
DH15-3	0.104	0.750	0.028	ND	0.170	ND
DH16-1	0.123	0.768	0.054	ND	0.620	ND
DH16-2	0.120	0.744	0.055	ND	0.628	ND
DH16-3	0.130	0.767	0.058	ND	0.635	ND
DH17-1	0.242	1.039	0.072	ND	0.387	0.099
DH17-2	0.242	1.057	0.079	ND	0.317	0.093
DH17-3	0.242	1.046	0.072	ND	0.485	0.165
DH18-1	0.091	0.432	0.027	ND	0.210	ND
DH18-2	0.095	0.437	0.029	ND	0.091	ND
DH18-3	0.096	0.427	0.029	ND	0.204	ND
DH19-1	0.102	0.509	ND	ND	0.106	ND



DH19-2	0.100	0.498	ND	ND	0.098	ND
DH20-1	0.157	0.754	0.039	ND	0.141	0.070
DH20-2	0.145	0.723	0.036	ND	0.128	0.075
DH20-3	0.148	0.734	0.037	ND	0.132	0.076
DH21-1	0.176	1.032	0.040	ND	0.148	0.083
DH21-2	0.191	1.033	0.044	ND	0.218	0.085
DH21-3	0.176	1.043	0.040	ND	0.595	0.098
DH22-1	0.162	0.843	0.044	ND	0.260	0.176
DH22-2	0.162	0.838	0.044	ND	0.234	0.116
DH22-3	0.161	0.831	0.044	ND	0.213	0.072
DH23-1	0.148	0.846	0.046	ND	0.196	0.085
DH23-2	0.148	0.834	0.045	ND	0.200	0.085
DH23-3	0.155	0.859	0.047	ND	0.144	0.068
DH24-1	0.061	0.324	ND	ND	0.078	ND
DH24-2	0.062	0.322	ND	ND	0.075	ND
DH24-3	0.063	0.322	ND	ND	0.086	ND
DH25-1	0.166	0.960	0.048	ND	0.153	0.080
DH25-2	0.166	0.947	0.046	ND	0.152	0.071
DH25-3	0.171	0.965	0.048	ND	0.258	0.091
DH26-1	0.129	0.839	0.063	ND	0.316	0.115
DH26-2	0.159	0.747	0.075	ND	0.255	0.165
DH26-3	0.127	0.843	0.061	ND	0.325	ND
DH27-1	0.106	0.630	0.074	0.066	0.269	ND
DH27-2	0.107	0.624	0.076	0.115	0.323	ND
DH27-3	0.112	0.639	0.078	0.138	0.333	ND
DH28-1	0.107	0.611	0.071	ND	0.327	ND
DH28-2	0.109	0.617	0.069	ND	0.310	ND
DH28-3	0.108	0.590	0.072	ND	0.356	ND
DH29-1	0.088	0.721	0.026	ND	0.116	ND
DH29-2	0.089	0.722	0.025	ND	0.168	ND
DH29-3	0.090	0.725	0.029	ND	0.165	ND
DH30-1	0.065	0.458	ND	ND	2.540	ND
DH30-2	0.063	0.447	ND	ND	0.061	ND
DH30-3	0.063	0.451	ND	ND	0.082	ND
DH31-1	0.160	1.244	1.244	ND	0.241	ND
DH31-2	0.154	1.212	0.048	ND	0.249	ND
DH31-3	0.155	1.223	0.046	ND	0.246	ND
DH32-1	0.166	0.881	0.116	0.061	0.397	ND
DH32-2	0.165	0.878	0.117	0.034	0.361	ND
DH32-3	0.169	0.872	0.115	0.416	0.389	ND
DH33-1	0.141	0.828	0.070	0.267	0.369	ND
DH33-2	0.144	0.868	0.072	0.384	0.354	ND
DH33-3	0.142	0.866	0.071	0.204	0.503	ND
DH34-1	0.144	1.127	0.033	0.142	0.172	ND
DH34-2	0.136	1.103	0.031	0.129	0.159	ND
DH34-3	0.135	1.096	0.032	0.114	0.150	ND
DH35-1	0.235	1.630	0.070	0.067	0.256	ND
DH35-2	0.224	1.635	0.064	0.066	0.252	ND
DH35-3	0.225	1.617	0.063	0.092	0.249	ND
DH36-1	0.241	1.525	0.072	0.076	0.318	ND
DH36-2	0.246	1.494	0.071	0.071	0.303	ND
DH36-3	0.238	1.504	0.072	0.073	0.315	ND
DH37	0.203	1.065	0.197	ND	ND	ND
DH38-1	0.230	1.421	0.097	0.044	0.277	ND
DH38-2	0.232	1.413	0.096	0.056	0.292	ND
DH38-3	0.235	1.440	0.096	0.076	0.282	ND
DH39-1	0.177	0.916	0.070	0.247	0.435	ND
DH39-2	0.183	0.933	0.073	0.127	0.435	ND
DH39-3	0.185	0.928	0.074	0.317	0.479	ND

표 55. 콜라비 샘플에서 분석한 안토시아닌 함량 결과 (mg/g dry wt.)

Sample name	Cyanidin 3-diglucoside-5-g	Cyanidin 3-(sinapoyl)-diglu	Pelargonidin 3,5-O-diglucoside	Cyanidin 3-O-(6"-acetyl-ga
-------------	-------------------------------	--------------------------------	-----------------------------------	-------------------------------

	lucoside	coside-5-glucoside		lactoside)
Purple kohlrabi peel-1	0.009	0.023	ND	ND
Purple kohlrabi peel-2	0.006	0.021	ND	ND
Purple kohlrabi peel-3	0.006	0.024	ND	ND
Purple kohlrabi leaf-1	0.519	0.142	1.051	0.543
Purple kohlrabi leaf-2	0.524	0.150	1.765	0.648
Purple kohlrabi leaf-3	0.522	0.149	2.605	0.763
Green kohlrabi peel-1	ND	ND	ND	ND
Green kohlrabi peel-2	ND	ND	ND	ND
Green kohlrabi peel-3	ND	ND	ND	ND
Green kohlrabi leaf-1	ND	ND	ND	ND
Green kohlrabi leaf-2	ND	ND	ND	ND
Green kohlrabi leaf-3	ND	ND	ND	ND

#### (마) 카로티노이드 성분 분석 지원

충남대학교로부터 받은 배추 육종 소재 10점의 카로티노이드 성분 분석을 하기 위하여 샘플을 동결건조하여 시료를 준비하였다. 카로티노이드 분석을 위한 HPLC 장치는 Agilent 1200 Series를 사용하였으며 컬럼으로는 YMC carotenoid(250\*4.6 mm\*3.0  $\mu$ m) column을 사용하였고, detector로서 PDA-detector(450 nm)를 사용하였다. 동결건조한 분말시료 100 mg에 ethanol에 녹인 0.1% ascorbic acid(3 ml)를 넣고 vortex한 후 85°C 항온수조에 5분간 incubation하고, 80% potassium hydroxide(0.12 ml)를 넣고 vortex한 후 85°C 항온수조에 다시 10분간 incubation하여 crude한 카로티노이드를 추출하였다. 추출한 카로티노이드를 ice에 5분간 정치한 다음  $\beta$ -apo-8' -carotenol(25 ppm)을 interval standard로 50  $\mu$ l씩 첨가하여 vortex하였다. Cold D.W. 1.5 ml와 hexane 1.5 ml를 넣고 vortex 후 4°C 및 1200 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액만 새로운 50 ml tube로 옮기는 것을 3반복하였다. 약 4.5 ml의 상층액을 질소가스(N<sub>2</sub>)를 이용하여 증발시킨 후 methanol:dichloromethane = 50:50(v/v) 300  $\mu$ l로 elution하였다. 시료는 0.45  $\mu$ m hydrophilic PTFE milipore filter(직경 13 mm)로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. Standard로  $\beta$ -apo-8' -carotenol(25 ppm) 500  $\mu$ l을 filtering하여 정량에 사용하였으며 총 9개의 물질이 검출되었다. 각 피크를 분석한 결과 violaxanthin, antheraxanthin, lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, 13-cis- $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, 9-cis- $\beta$ -carotene으로 동정되어 각 성분의 함량을 측정하였다(표 56).

표 56. 충남대 배추 시료에서 분석한 카로티노이드 성분 함량 ( $\mu$ g/g dry wt.)

시료	Violaxanthin	Antheraxanthin	Lutein	Zeaxanthin	$\beta$ -cryptoxanthin	13-cis- $\beta$ -carotene	$\alpha$ -carotene	$\beta$ -carotene	9-cis- $\beta$ -carotene	Total carotenoids
C01-1	12.0	3.0	52.3	3.8	0.1	0.1	1.4	6.0	1.0	79.8
C02-1	12.8	2.5	81.6	6.5	0.2	0.5	9.0	27.1	80.8	220.9
C03-1	74.5	22.9	164.6	8.3	1.2	0.2	4.7	24.6	3.4	304.5
C04-1	68.3	23.9	124.2	6.8	0.8	0.2	2.7	12.7	1.7	241.4
C05-1	7.7	0.8	102.7	7.3	0.4	1.1	12.0	52.4	5.4	189.8
C06-1	30.7	2.5	93.3	6.5	0.2	0.3	2.9	15.1	3.0	154.4
C07-1	1.2	1.0	61.2	6.9	0.6	0.9	10.0	16.6	5.8	104.3
C08-1	17.6	1.1	57.1	4.8	0.4	0.4	1.1	4.1	1.3	87.9
C09-1	31.5	3.7	106.0	6.9	1.6	0.3	2.4	11.7	2.3	166.4
C10-1	0.9	0.3	46.4	3.5	0.5	0.4	2.9	13.0	2.8	70.6

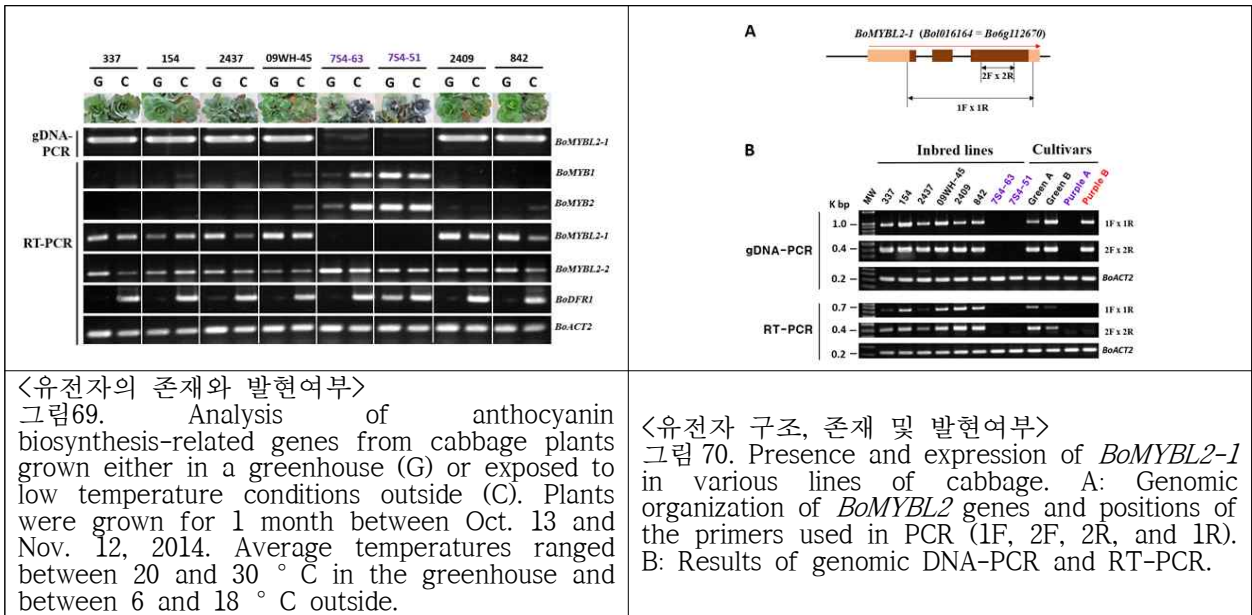
**바. 양배추 엽색관련 분자마커 개발**

양배추 엽색 관련 분자마커 개발 결과는 다음 표와 같이 요약 된다

마커 구분	세부 형질	표적유전자	마커구분	특허	논문	특기사항
엽색	자색양배추 구별	<i>BoMYBL2</i>	InDel	등록	BMC Plant Biol	억제전사인자
		<i>BoLBD37L</i>	InDel	출원	Genes & Genomics	질소와 연관 저온과도 연관됨
	저온과 안토시아닌축적	<i>BoDFR1</i>	SNP	등록	Agronomy	저온연관
		<i>BoRVE5</i>	SNP/InDel	출원	Euphytica	저온연관
	안토시아닌 축적	<i>RsMYBI</i>	Intron 첨가	출원	Plant Cell Rep.	마무리연구 수행
		?	?	-	-	kale 유전집단 작성

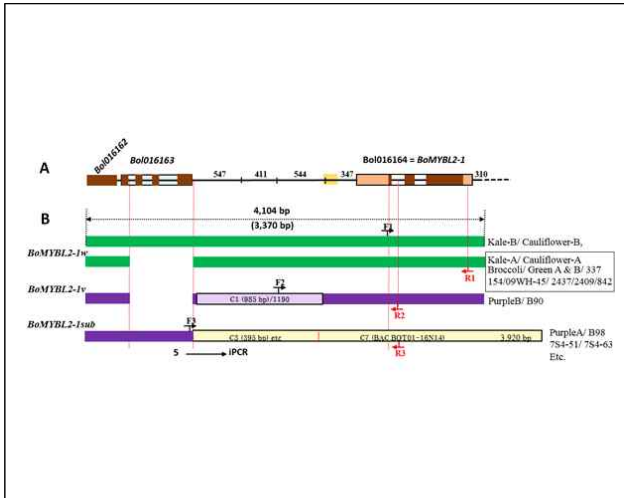
(1) *BoMYBL2-1* 유전자를 이용한 자색양배추 판별용 마커 개발

*BoMYBL2-1* 유전자는 자색양배추에 유전자 없거나 일부에는 존재하더라도 발현이 되지 않는 안토시아닌 생합성 억제전사인자이다. 따라서 이 유전자가 발현되지 않으면 자색양배추가 된다는 결론을 도출할 있으나 서열분석이 1단계 GSP연구에서는 완료가 되지 않아 2단계 1차년도 전반기에 완료하여 특허를 출원하고, SCI 잡지인 BMC Plant Biology에 논문을 발표하였음. 모든 자색양배추에는 프로모터 부분이 결여되어 억제 전사인자인 *BoMYBL2-1* 유전자가 발현되지 않는 결과임. 그 내용을 아래 그림과 그림내 설명을 통해 기재하도록 함 (그림 69-81).

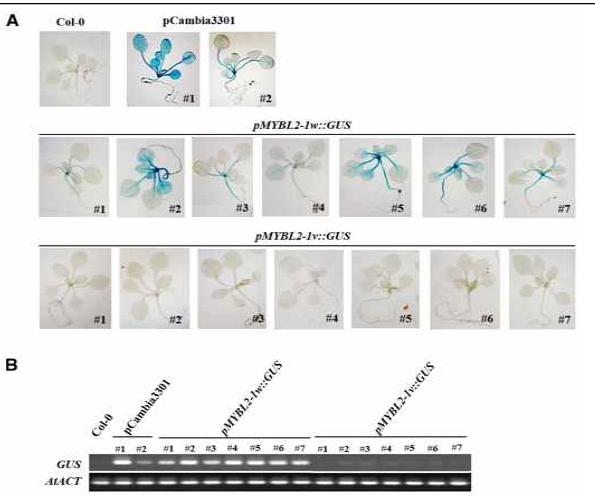


<유전자의 존재와 발현여부>  
그림69. Analysis of anthocyanin biosynthesis-related genes from cabbage plants grown either in a greenhouse (G) or exposed to low temperature conditions outside (C). Plants were grown for 1 month between Oct. 13 and Nov. 12, 2014. Average temperatures ranged between 20 and 30 °C in the greenhouse and between 6 and 18 °C outside.

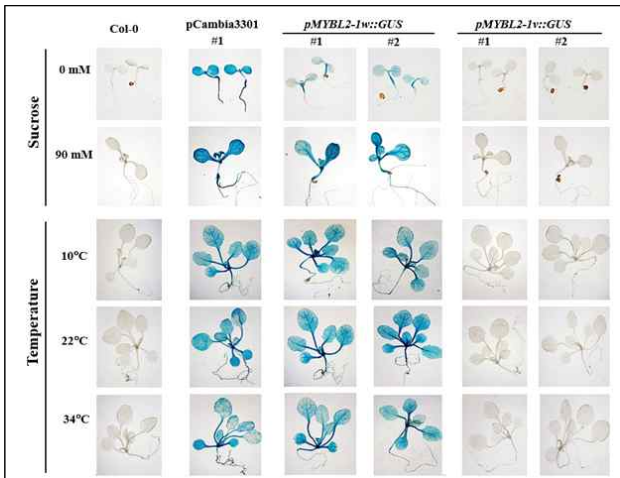
<유전자 구조, 존재 및 발현여부>  
그림 70. Presence and expression of *BoMYBL2-1* in various lines of cabbage. A: Genomic organization of *BoMYBL2* genes and positions of the primers used in PCR (1F, 2F, 2R, and 1R). B: Results of genomic DNA-PCR and RT-PCR.



<유전자 서열에 대한 요약>  
 그림 71. Schematic representation of *BoMYBL2-1* genomic DNA from various *B. oleracea* plants showing the positions of the molecular markers. A: Schematic representation of the *BoMYBL2-1* genomic sequence based on the BRAD database (<http://brassicadb.org/brad>; Liu et al. 2014). The yellow block upstream of *BoMYBL2-1* represents a 159 bp repeat sequence. B: Schematic representation of *BoMYBL2-1* genomic DNA sequences identified in this study. iPCR indicates sequences obtained using inverse-PCR. *BoMYBL2-1w*, *BoMYBL2-1v*, and *BoMYBL2-1sub* represent the wild-type version, the *BoMYBL2-1* variant, and the *BoMYBL2-1* substitution, respectively. F1, F2, F3: forward primers 1, 2, 3; R1, R2, R3: reverse primers (see Table 2).

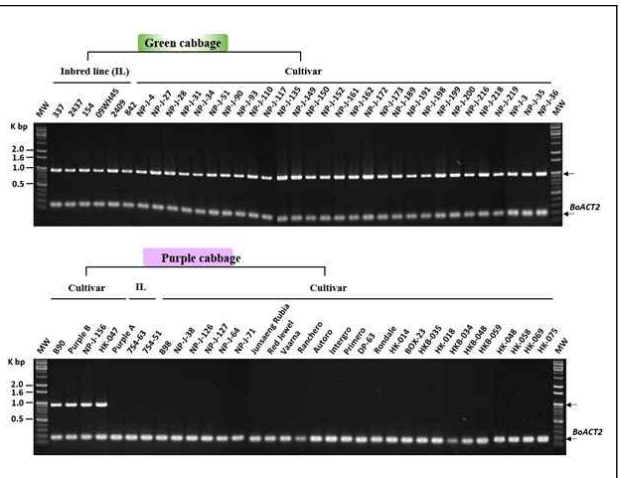


<프로모터가 결여되었음을 보여주는 결과>  
 그림 72. Expression analysis of *BoMYBL2-1* reporter constructs in transgenic *Arabidopsis*. *Arabidopsis* plants were transformed with reporter constructs containing *GUS* under the control of two different *BoMYBL2-1* promoters: *pMYBL2-1-w::GUS* and *pMYBL2-1v::GUS*. A: Histochemical analysis of 10-day-old transgenic *Arabidopsis* seedlings. Seedlings were stained for 18 h at 37 ° C using X-Gluc (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and washed in 95% ethanol. Non-transgenic plants (Col-0) and pCambia3301 were used as negative and positive controls for *GUS* expression, respectively. B: Expression analysis of *GUS* transcripts in transgenic and control plants. *Actin* (*AtACT*) was used as a normalization control.



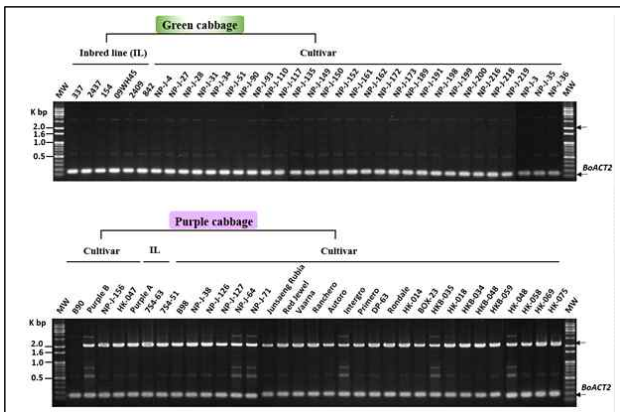
<프로모터가 분석 결과>

그림 73. *GUS* expression in transgenic *Arabidopsis* under conditions of sucrose or temperature stress. For sucrose stress, Col-0 and mutant seedlings were grown in 0.5× MS medium without sucrose (0 mM) or with 90 mM sucrose. *Arabidopsis* seedlings were grown for 10 days after sowing at a light intensity of 100  $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$  under long-day conditions. For temperature stress, Col-0 and mutant plants were grown on soil for 12 days at 22° C with light intensity of 100 $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$  under long-day conditions. They were transferred to incubators at either 10° C (low temperature) or 34° C (high temperature) with a light intensity of 100 $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$  and incubated for 19 h. *GUS* staining was as described in Figure 4.



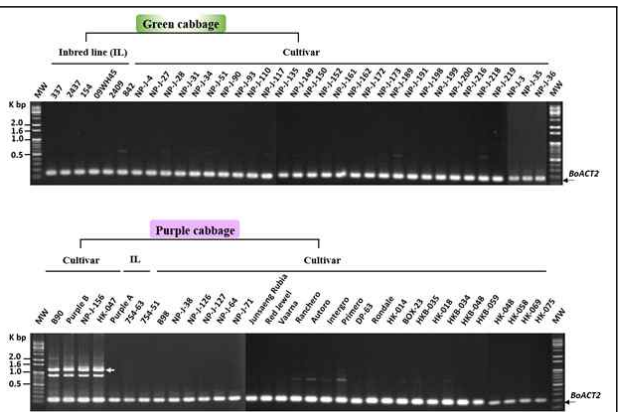
<마커 검증 1>

그림 74. PCR analysis using the F1 and R1 primer pair to identify the presence of the complete coding region of *BoMYBL2-1*. Arrow indicates bands corresponding to *MYBL2-1*. Only four purple cabbages contain the coding region.



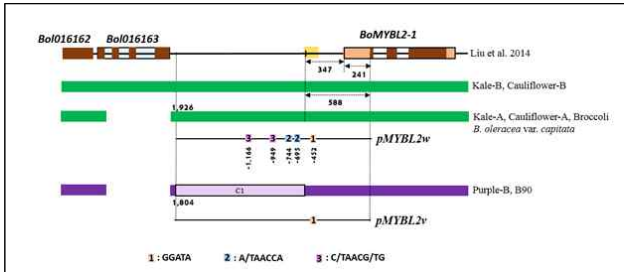
<마커 검증 2>

그림 75. PCR analysis using the F3 and R3 primer pair to amplify the substituted region of *BoMYBL2-1* (upper arrow). All purple cabbages other than B90 (left hand side) contain the substituted DNA region.



<마커 검증 3>

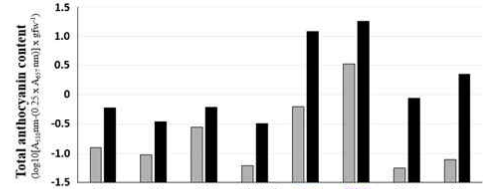
그림 76. Results of PCR analysis using the F2 and R2 primer pair (*BoMYBL2v-F* and *BoMYBL2v-R*) to amplify *BoMYBL2-1v*, which contains the substituted region of the promoter. The white arrow indicates the position of the predicted PCR product. Three purple cabbages (Purple B, NP-J-156, and HK-047) were heterozygous (*BoMYBL2-1v/BoMYBL2-1sub*), but B90 was homozygous for *BoMYBL2-1v*. All other purple cabbages were homozygous for *BoMYBL2-1sub*.



<프로모터의 기능도메인 분석>

그림 77. Schematic representation comparing the promoter sequences and *cis*-elements in *BoMYBL2w* and *BoMYBL2v*. The *BoMYBL2w* promoter harbors one MYB core motif GGATA (1; Baranowskij et al. 1994), two MYB recognition sequences (2; A/TAACCA), and two MYB recognition sequences (3; C/TAACG/TG; Abe et al. 2003). The upstream sequence of *BoMYBL2v* contains only one MYB core motif.

A

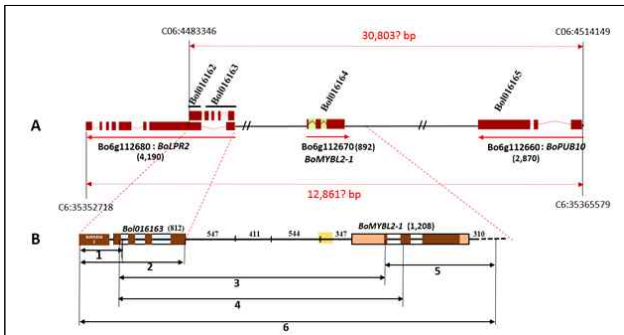


B



<안토시아닌 함량 측정>

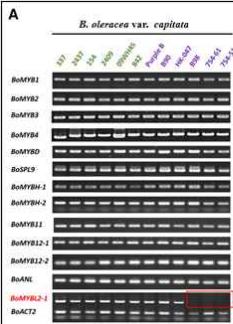
그림 78. Total anthocyanin content (A) of samples of the cabbages (B) shown in Figure 1.



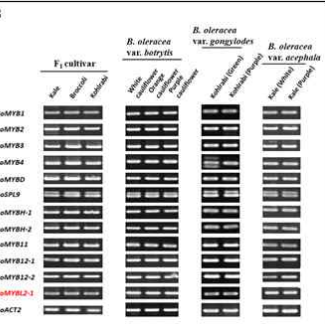
<유전자 크로닝 전략>

그림 79. Schematic illustration of the strategy used to clone *BoMYBL2-1* from various *B. oleracea* species. A: Genomic region around the *BoMYBL2-1* based on information obtained from two different databases (upper: <http://brassicadb.org/brad>; Liu et al. 2014; lower: [http://plants.ensembl.org/Brassica\\_oleracea/Info/Index](http://plants.ensembl.org/Brassica_oleracea/Info/Index); Parkin et al. 2014). B: Illustration showing the positions of the fragments, amplified using different combinations of primer sets, used to assemble the entire promoter and coding sequence of *BoMYBL2-1*. The yellow block represents a 159 bp repeat sequence. All primer sets are listed in Table 2. *BoLPR2* is *B. oleracea* multicopper oxidase LPR2; *BoPUB10* is *B. oleracea* U-box domain-containing protein 10.

A



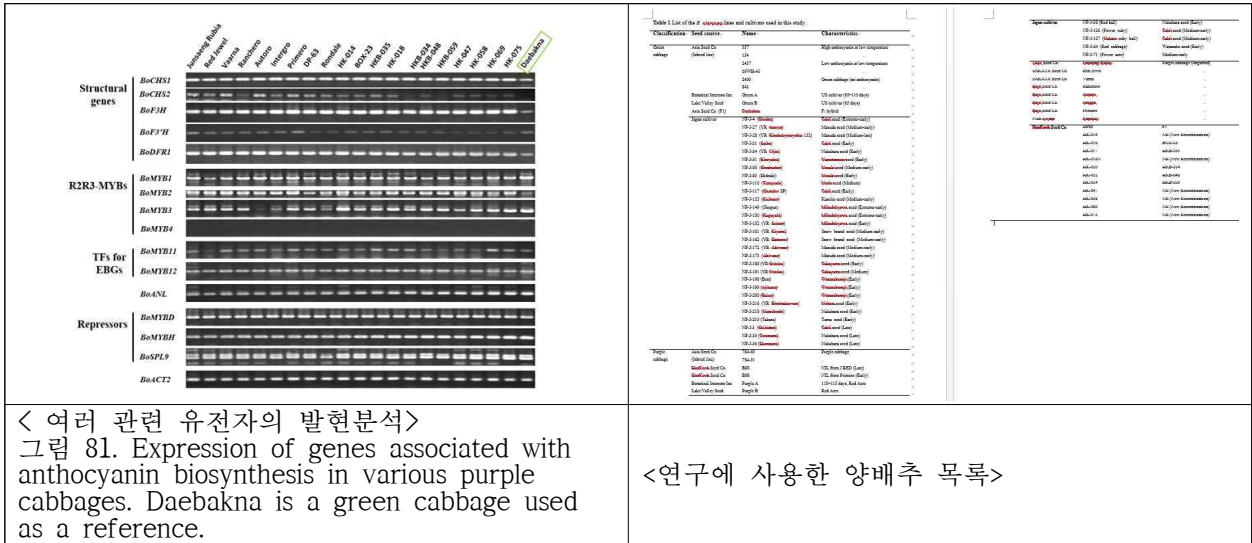
B



<여러 양배추류의 안토시아닌 합성관련 유전자 발현 분석>

그림 80. Results of genomic DNA-PCR preformed to detect the presence or absence of genes regulating anthocyanin biosynthesis other than *BoMYBL2-1*. A: *B. oleracea* var. *capitata* f. *alba* or *rubra* varieties with contrasting characteristics in anthocyanin accumulation were selected for analysis; varieties with green and purple colors are indicated in green or purple. B: PCR analysis of other varieties of *B. oleracea*. The color of each variety is indicated above each lane.





(2) *BoDFR1* 유전자를 이용한 저온에서 안토시아닌 축적여부를 구분하는 마커의 개발

중국을 비롯한 아시아지역에서 선호하는 양배추는 수확기에 짙은 녹색을 지닌 양배추임. 즉, 저온기에 수확해도 안토시아닌 축적에 의한 적색이 나타나지 않는 양배추가 고품질 양배추로 간주됨.

따라서 저온에도 강하고 저온기에 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 품종의 육성이 필수적이고, 이를 위한 분자마커의 개발이 시급한 실정임

아시아종묘 유래 8종의 내흔계 양배추를 이용하여 고온, 저온등에 조건에서 채취한 시료를 이용하여 RNA\_Seq을 수행하고 그 결과를 분석한 결과 *Brassica oleracea dihydroflavonol 4-reductase (BoDFR)* 유전자가 가장 관계가 있는 것으로 결과가 나왔으며, 그 중에서 애기장대 *DFR*과 가장 서열이 비슷한 Bolo35269가 안토시아닌과 축적과 가장 밀접한 관계가 있었음을 밝힘. 이를 표적 유전자로 선발하고 *BoDFR1*으로 명명함.

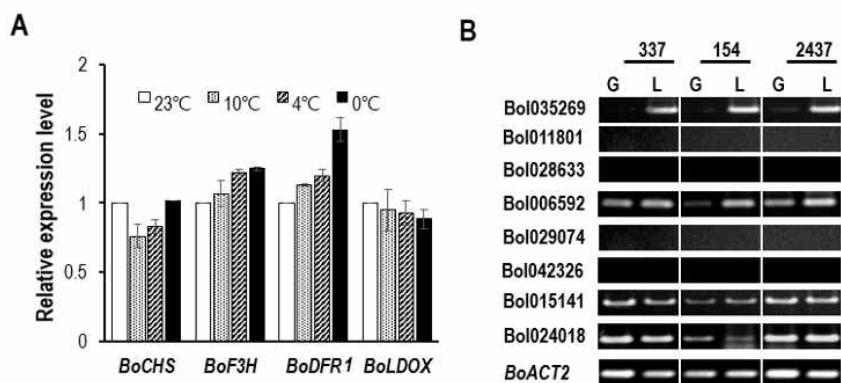


그림 82. Expression analysis for *BoDFR1* selection as a marker gene for anthocyanin accumulation

안토시아닌 축적이 많은 내흔계와 적은 내흔계 2계통식을 대상으로 안토시아닌 축적과 *BoDFR1* 유전자의 발현을 분석한 결과 안토시아닌 축적이 낮은 양배추에서는 저온처리에 의해서도 그 색소 축적이 크게 증가하지 않았으며, 이와 상응해서 *BoDFR1* 발현도 매우

낮았음 (그림 82).

포장에서 저온에 노출시킨 후 선발한 8계통 (안토시아닌 축적이 높은 4계통과 낮은 4계통)을 대상으로 대부분 연구를 진행하고 마커 개발의 초석으로 활용하였음. 양배추의 재배온도와 양배추의 색소축적을 나타내는 결과는 그림 83과 같음. 기대한 바와 같이 안토시아닌 축적과 *BoDFR1*의 발현과 밀접한 관계가 있었음.

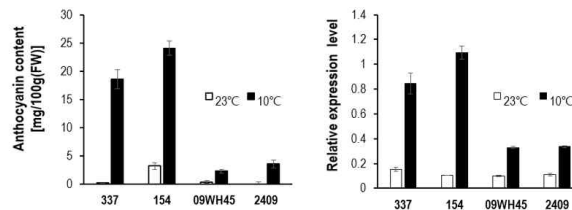


그림 83. Anthocyanin content(left) and *BoDFRI* expression(right) from four selected inbred cabbage lines under controlled conditions[normal growth condition(23°C) and low temperature(10°C) treatment for 30 days]. Plants were grown in growth chamber 3 weeks before treatments. Error bars represent  $\pm$ SD(n=3)

안토시아닌 축적이 다른 양배추와 *BoDFR1* 유전자의 연관성을 밝히기 위하여 프로모터를 포함한 genomic DNA를 11종 양배추로부터 클로닝하여 서열을 비교한 결과 프로모터 부분에는 큰 차이가 없고, 5번째 exon에 아미노산 서열을 Lue에서 His으로 바꾸는 SNP가 두 그룹사이 (안토시아닌 고축적 양배추:HAA/안토시아닌 저축적 양배추:LAA)에 존재함을 밝힘(그림 84, 85).

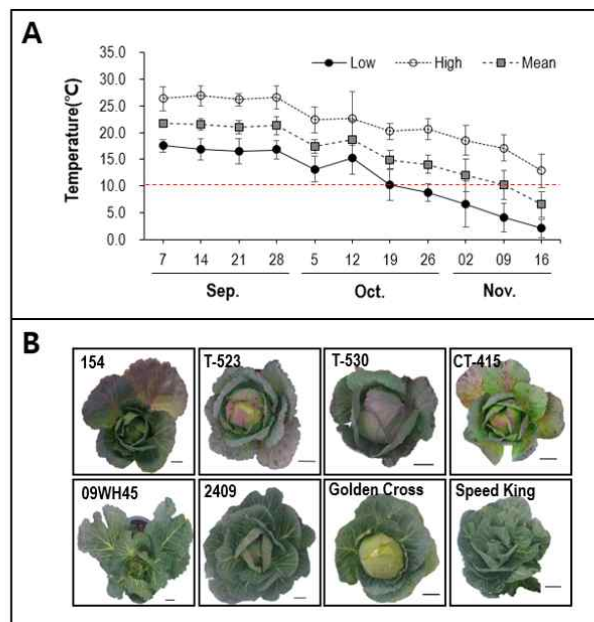


그림 84 Growth condition and cabbage selection based on anthocyanin content under natural environment. The last one moth in filed showed below 10°C(A) of daily low temperature and high anthocyanin content(above 4 samples) and low anthocyanin content(below 4 samples) were visible(B).

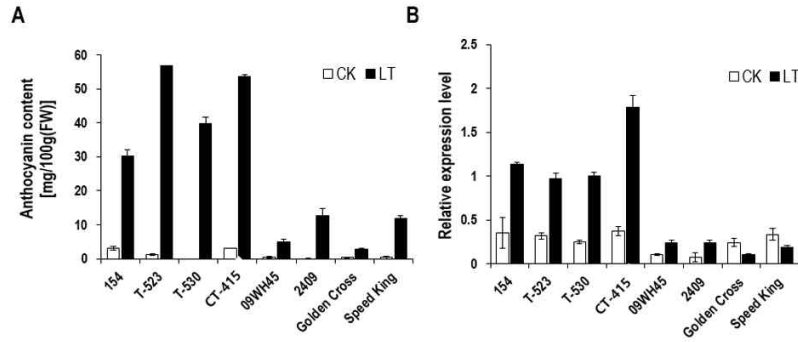


그림 85. Anthocyanin content(A) and DFR expression(B) of cabbages sampled in Figure 3(LT) and cabbages grown in greenhouse with average temperatures between 20°C and 30°C(CK) DFR transcript level was measured by quantitative RT-PCR from cabbages grown in CK and LT. Error bars represent  $\pm$ SD(n=3).

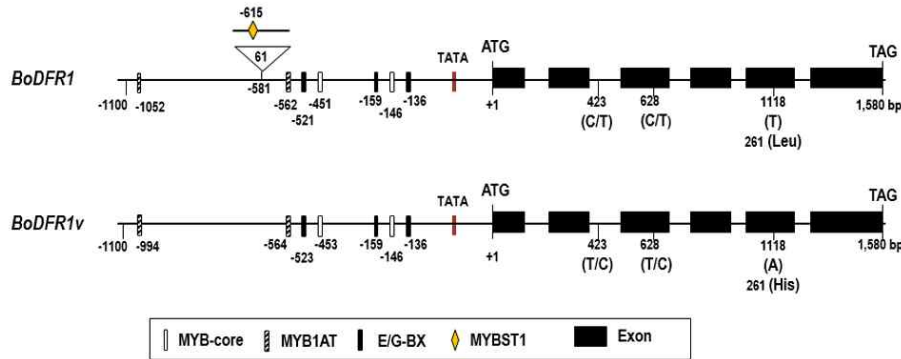


그림 86. Schematic description of DFR gene in *B. oleracea* var. *capitata*, Analysis of cis-regulatory elements of the promoter region was performed using the PlantPAN and PLACE database. Possible transcription binding sites were indicated with different symbols: MYB-core(MYB binding site), E/G-BX(BHLH binding site), MyBIAT(MYB recognition site) and MYB binding site). Coding region consisting of 6 exons(black rectangular) and 5 introns(thick bar) included several SNPs where position and nucleotide were indicated.

아미노산 치환에 의해 DFR 단백질의 활성도와 기질특이성이 바뀌는가를 알아보기 위해 재조합 단백질을 대장균에서 발현시켜 조사한 결과 두 효소간 어떠한 차이도 발견할 수 없어, exon 5에 존재하는 SNP는 자체가 안토시아닌 합성과 연관이 되어 있음을 시사함 (그림 86).

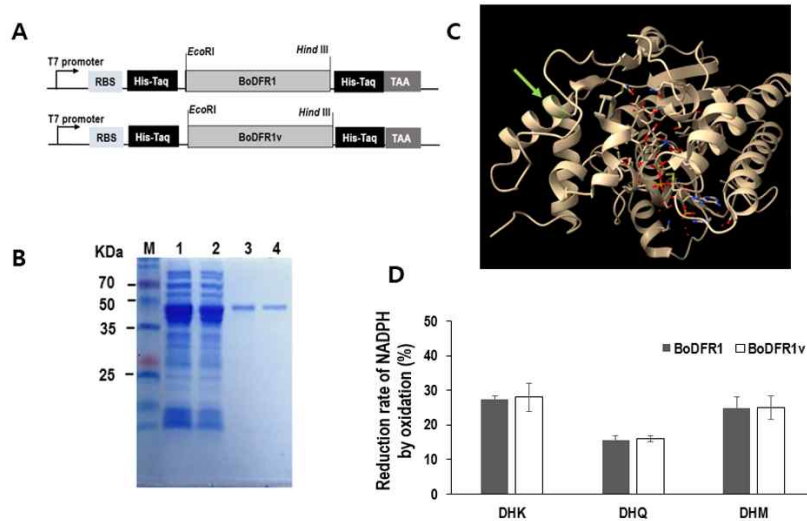


그림 87. Production and enzyme activity assay of recombinant BoDFR1 and BoDFR1v. A, E. coli expression vector construct. B, Purification of recombinant proteins. Protein samples were separated on 10% SDS-PAGE. M, protein molecular marker. 1, Total lysate of pET-28a-BoDFR1. 2, Total lysate of pET-28a-BoDFR1v. 3, Purified his-tagged protein of pET-28a-BoDFR1. 4, Purified his-tagged protein of pET-28a-BoDFR1v. Target protein is 43 kDa. C, Crystal structure of BoDFR1 on the basis of grape DFR protein (PDB ID:2C29) (Petit et al., 2007). The polymorphism substituting Leu 261 in Bo9g058630 to His 261 found in Bo1035269 is located in a 10 helix of the small C-TERMINAL DOMAIN (Green arrow). D, BoDFR1 activity based on the reduction of NADPH by oxidation. The oxidation of NADH is monitored as a loss in absorbance at 340 nm for DFR activity. DFK (dihydrokaempferol), DHQ (dihydroquercetin) and DHM (dihydromyricetin).

따라서 안토시아닌 합성관련 구조유전자와 조절유전자의 발현을 분석하여 그 연관관계를 설명하고자 시도하였음. 그 결과 안토시아닌 고축적 양배추에서는 *BoMYB114L*과 *BobHLH*의 발현이 전반적으로 높고 저온에 의해 발현이 약간 증가하였으며, 축적이 낮은 양배추에서는 정상적인 온도조건과 저온처리 조건에서 모두 발현이 낮았음. 또한 안토시아닌 합성을 억제하는 *BoMYBL2* 유전자의 발현은 이와 정반대였음 (그림 87). 따라서 이 세가지 유전자의 발현이 안토시아닌 축적을 좌우하나, 이들의 발현을 좌우하는 유전자는 추후 발굴하여 활용해야 될 것으로 사료됨.

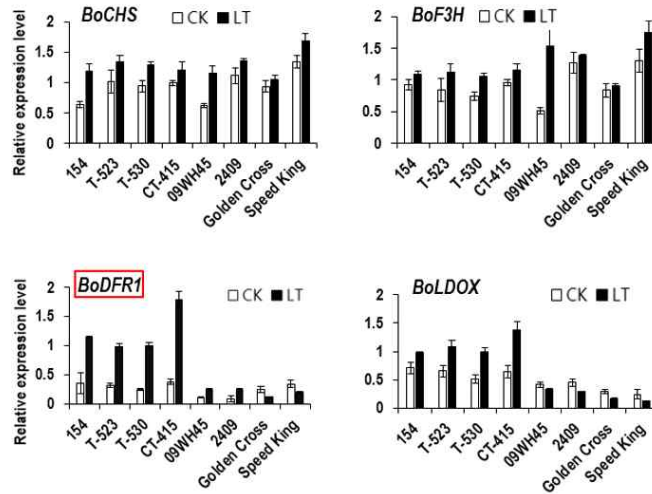


그림 88. Quantitative analysis of transcript levels of structural genes of anthocyanin biosynthesis from cabbages grown in either normal growth temperature(CK, average temperatures between 20°C and LT condition. Expression level of BoActin2 was set to 1. Error bars represent  $\pm$ SD(n=3).

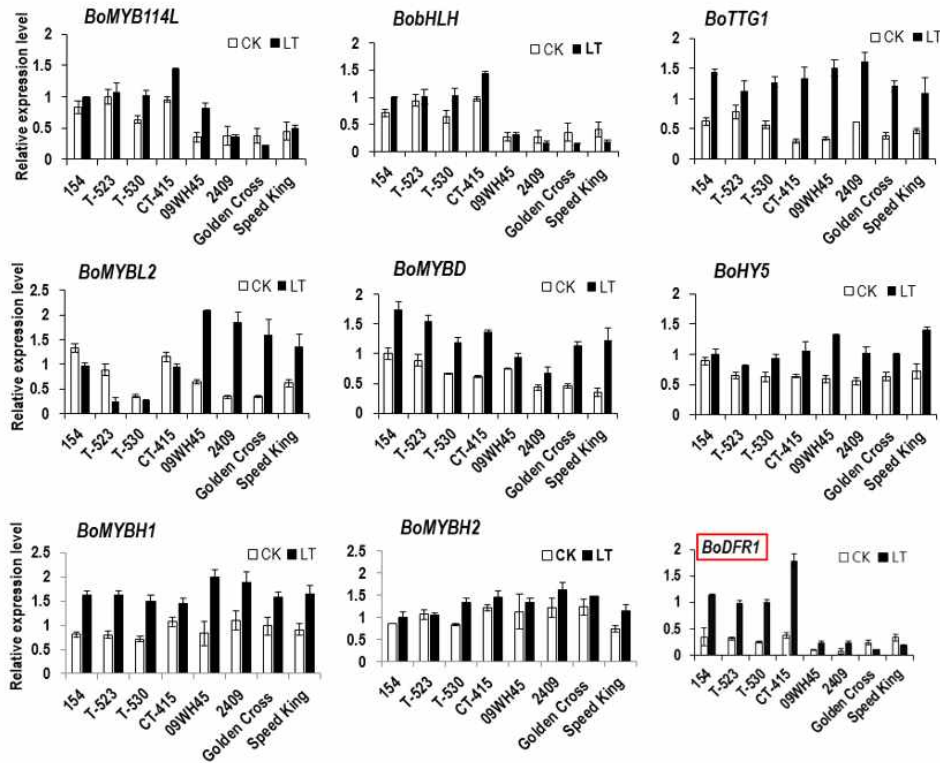


그림 89. Quantitative analysis of transcript levels of regulator genes of anthocyanin biosynthesis from cabbages grown in either normal growth temperature(CK, average temperatures between 20°C and 30°C) and LT condition. Expression level of BoActin2 was set to 1. Error bars represent  $\pm$ SD(n=3). BoDFR1 data were same as that of 그림 85B and used as reference.

안토시아닌 축적이 내한성과 관련이 있을 가능성 때문에 내한성지표 유전자의 발현을 조사한 결과, 위 양배추에서는 내한성과 안토시아닌 축적이 직접적인 관련이 없는 것으로



나타나 마커의 활용에 문제가 없음을 보증함 (그림. 88-90).

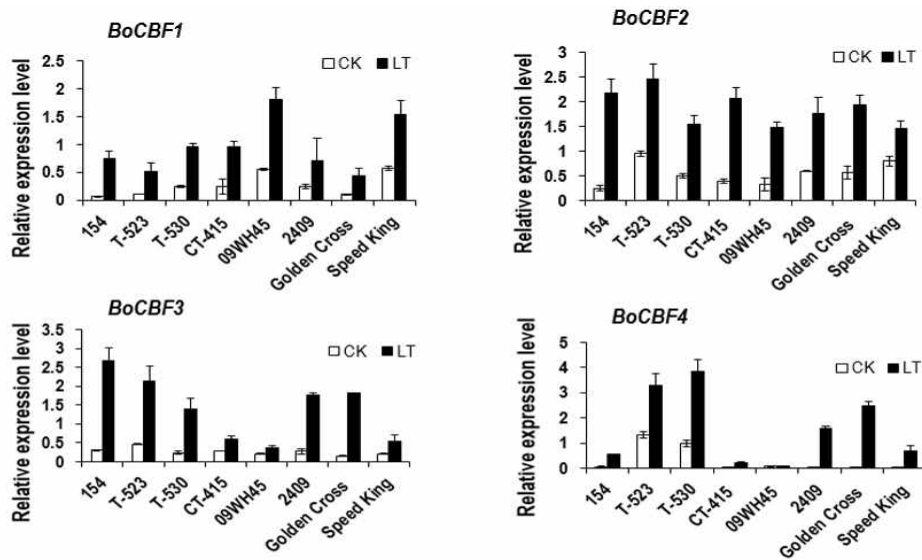


그림 90. Quantitative analysis of transcript levels of four CBF genes from cabbages grown in either normal growth temperature(CK, average temperatures between 20°C and 30°C) and LT condition. Expression level of BoActin2 was set to 1. Error bars represent  $\pm$ SD(n=3)

위 SNP를 이용하여 PCR-based marker와 HRM 마커를 개발하여 검증하였음 (그림 91).

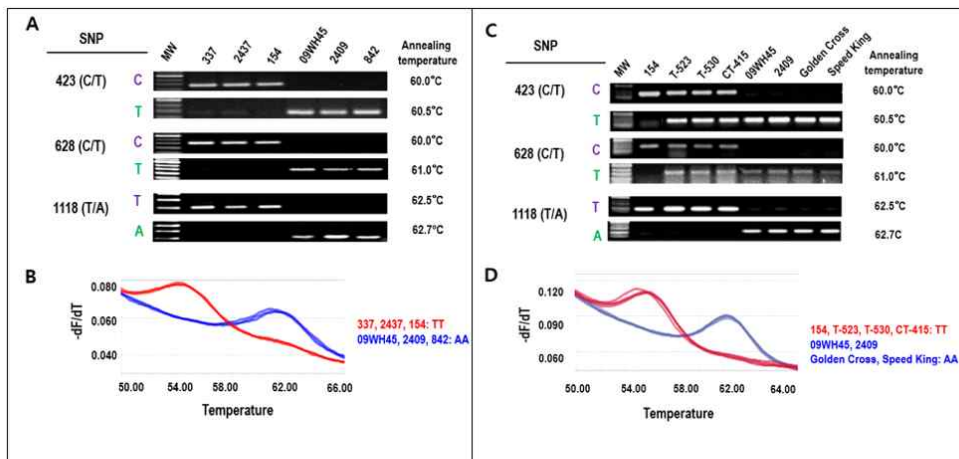


그림 91. Confirmation of BoDFR SNP marker designed to distinguish between HAAs and LAAS. A and C, PCR analysis. B and D, HRM analysis. Optimal annealing temperatures were marked on the right of A and C. Cabbages used for analysis were marked on the right of B and D.

마커의 범용성을 검증하기 위해서 120종의 양배추를 대상으로 검증한 결과 마커의 효용성이 100% 검증됨 (그림 92).



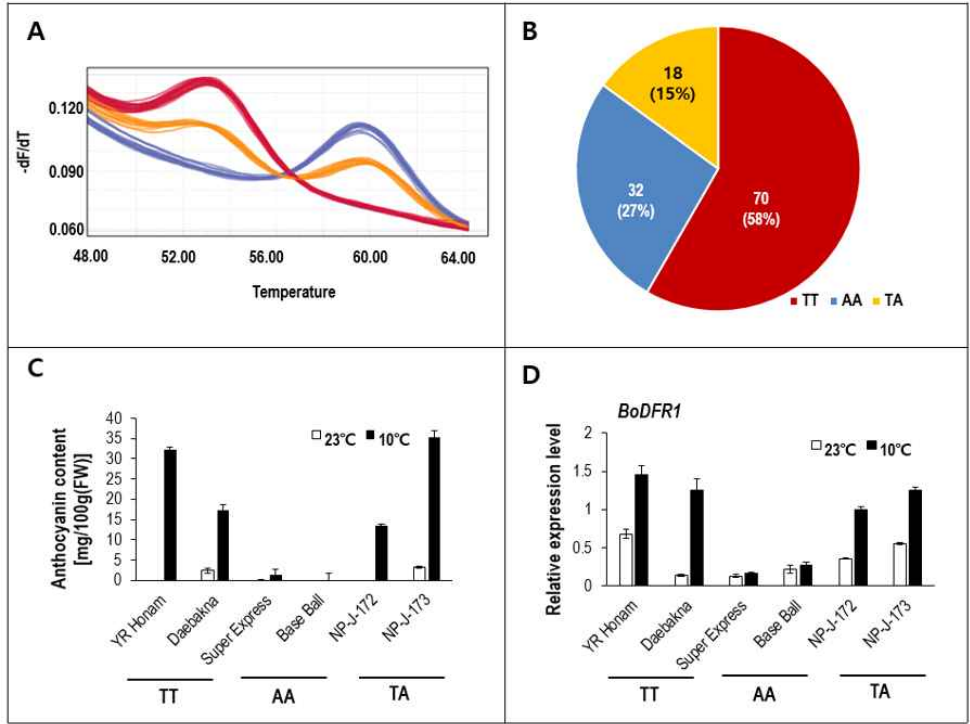


그림 92. HRM analysis of 120 cabbage plants (inbred lines and cultivars). A, HRM graph. B, Genotype distribution. Anthocyanin content(C) and BoDFR1 expression(D) in selected cabbages in order to confirm usefulness of the marker.

위 마커를 이용하여 중국수출용 양배추 육종에 크게 기여할 것으로 판단됨.

단점은 다른 양배추에는 이와 같은 SNP가 존재하지 않아 사용이 불가능하나, 오직 일부 케일 계통(M23/M24)에는 활용이 가능함 (그림 93).

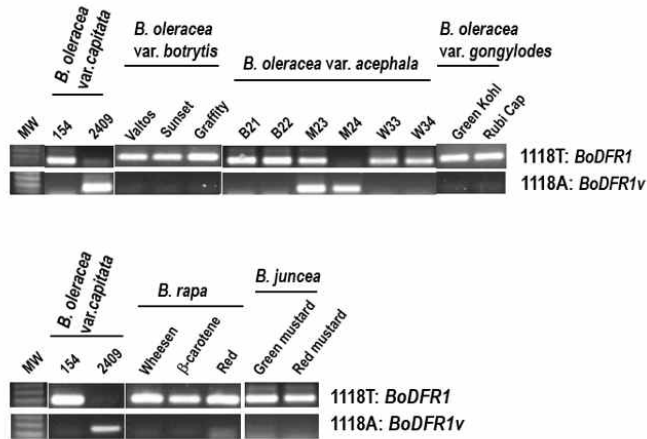


그림 93. Validation of *BoDFR1* SNP from various *Brassica* species.

(3) *BoREV5* 유전자를 이용한 저온에서 안토시아닌 축적구분 마커 개발

MYB 전사인자의 일종인 *REV5* 유전자에 대한 연구는 “Polymorphisms found in *Brassica oleracea* *REVEILLE5/LHY/CCA1-LIKE 4 (BoRVE5/BoLCL4)* are associated with

anthocyanin accumulation in cabbage” 제목으로 논문을 발표하였고, 논문투고 전에 특허를 출원하였음. 그 연구내용을 설명하면 다음과 같으며 먼저 초록을 소개하겠음.

**Abstract**

*REVEILLE/LHY/CCA1-LIKE5 (RVE/LCL)* genes are known as another clock regulators besides *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATE 1 (CCA1)* in plants. Out of 8 *RVE* genes, function of three *RVEs* (*RVE1*, *RVE7* and *RVE8*) are associated with anthocyanin accumulation. Due to the presence of AT-repeats or AT-SSR (simple sequence repeats) at 3'-UTR in relation to anthocyanin accumulation, *Brassica oleracea RVE5 (BoRVE5)* was selected as a target gene for anthocyanin accumulation study and analyzed in high anthocyanin accumulators (HAAs) and low anthocyanin accumulators (LAAs) of green cabbages under low temperature (LT) condition or purple cabbages. Large numbers of polymorphisms (insertion and deletion, InDel and single nucleotide polymorphism, SNP) were present in *BoRVE5* genomic sequences. Among them, polymorphisms changing its amino acid sequence were identified between LAAs and HAAs/purple cabbages. We named LAA-type gene as *BoRVE5a* and HAA-type one as *BoRVE5b*, and found that their expression was closely dependent to anthocyanin accumulation genotypes (allelic specific expression), but not clock pace. Using these polymorphisms, we have developed molecular marker to discriminate LAAs from HAAs of green cabbages and purple cabbages from green cabbages. We also validated performance of the marker using diverse sources of cabbages: 57 green and 59 purple cabbage genotypes. This marker will be very useful if one uses it in combination of other markers developed from different genes, such as *BoMYBL2-1* or *BoDFR1*.

이 유전자에 관심을 갖게 된 이유는 녹색과 자색(적색) 양배추 계통들을 이용한 RNA-seq 결과로부터 안토시아닌 축적을 구분할 수 있는 SSR를 분석한 결과 이 유전자의 3' -UTR 부분에 AT\_repeat의 길이와 안토시아닌 축적이 상관관계가 있음을 알아냈기 때문임 (그림 94).

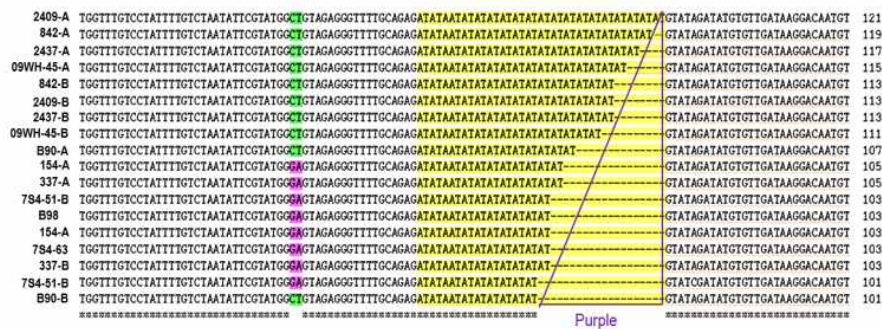


그림 94. BoRVE5 3' -UTR sequence containing AT-repeats from various cabbage genotypes. Primes were designed by information obtained RNA seq and SSR analysis(data not shown). Yellow color represents AT-repeats. Green and purple color represent SNPs found in the nera AT-repeats. Allele in relation to AT-repeat was expressed A and B after genotype.

4 종류 녹색양배추 (2: 안토시아닌 축적이 낮은 내흔계, 2: 안토시아닌 축적이 높은 내흔계)와 4 종류의 자색(적색)양배추 내흔계를 이용하여 위 유전자의 genomic DNA를 클로닝하여 그 염기서열을 분석한 결과, 안토시아닌 축적이 낮은 양배추와 높은 양배추 사이에 SNP와 InDel이 엑손4와 엑손5에 존재함을 밝힘 (그림 95).

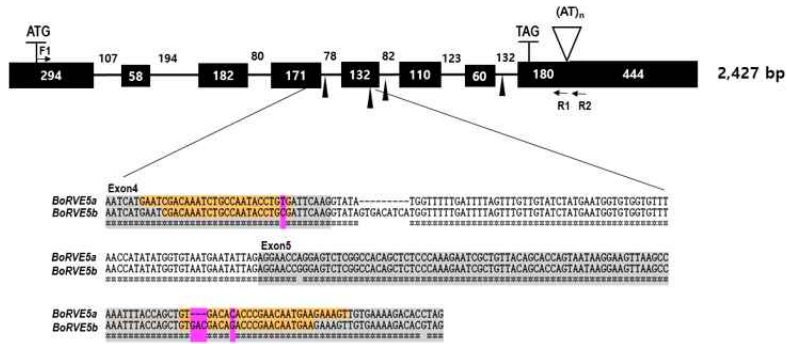


그림 95. Schematic representation of genomic DNA of BoRVE5 gene and primer sequences of markers. Black box and solid line indicated exon and intron, respectively. Number either in exon or intron represented nucleotide number(bp). Several symbols indicated that AT-repeat on 3' -UTR as reverse triangle, and InDel region as dark triangle. Bottom represent primer positions(brown color) for markers distinguishing BoRVE5a(for LAA) and BoRVE5b(fro HAA). Pink color indicated SNPs or GAC SSRs.

아미노산 서열을 유추하여 계통관계를 분석하고 서열을 비교한 결과 주요한 도메인 (MYB and LCL domain)에는 차이가 없고 두 도메인 사이에 차이를 보여주어 기능에 의한 차이보다는 서열의 변화가 우연히 안타시어인 축적과 관련이 있을 것이라는 것을 시사함 (그림 96).

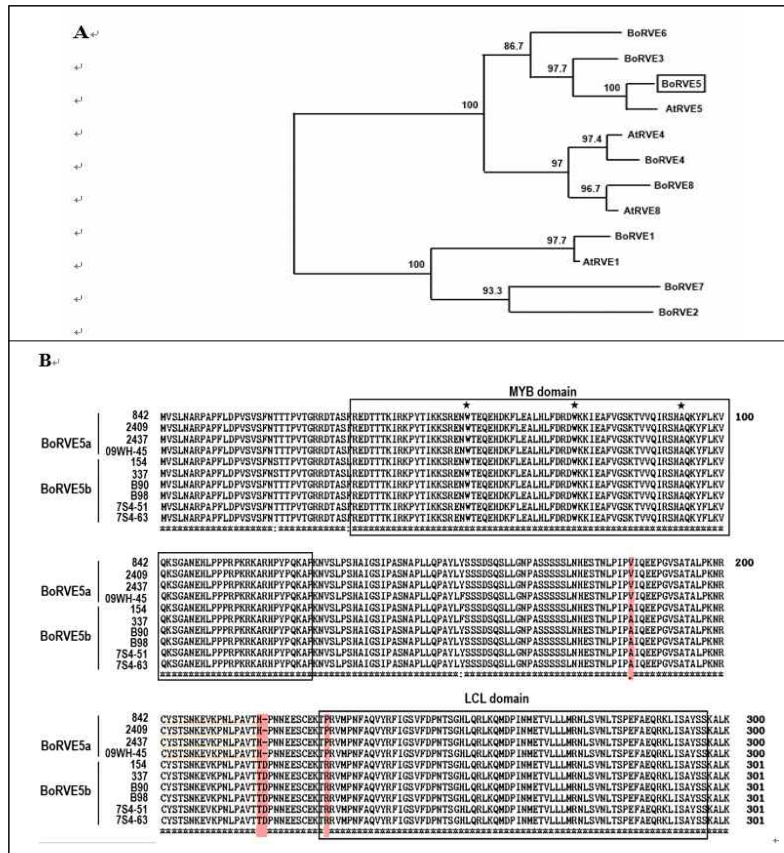


그림 96. Phylogenetic analysis of several AtRVEs and all BoRVEs(A), and amino sequence alignment of BoRVE5s(B). MYB domain and LCL domain were boxed. Critical residues for MYB domain function marked as asterisk. Red shaded amino acids represent variation between BoRVE5a and BoRVE5b.

Sequence information: AtRVE1 (AT5G17300), AtRVE4 (AT5G02840), AtRVE5 (AT4G01280), AtRVE8 (AT3G09600), BoRVE1 (Bo3g012470), BoRVE2 (Bo6g057640), BoRVE3 (Bo5g002430), BoRVE4 (Bo3g002070), BoRVE5 (Bo9g003580), BoRVE6 (Bo9g108370), BoRVE7 (Bo5g025310), BoRVE8 (Bo1g144410)

그림 97에서 보는 바와 같이 저온에서 안토시아닌이 축적이 낮은 양배추와 높은 양배추 사이에 *BoRVE5* 유전자의 발현이 확연히 차이를 보임 (그림 97).

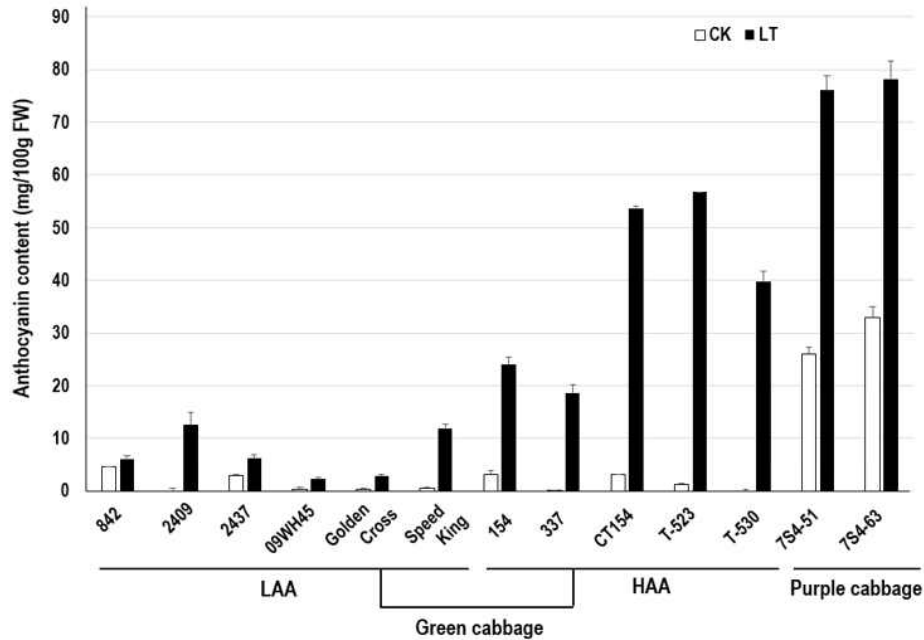


그림 97. Anthocyanin content in cabbage genotypes: green cabbages with low anthocyanin content(LAA) and high anthocyanin content(HAA), and purple cabbages. Plants were grown in the greenhouse at temperatures ranging from 20°C to 30°C(control, CK) or at low temperature(LT) for one month.

안토시아닌 축적이 낮은 양배추가 가진 유전자를 *BoRVE5a*로, 그리고 높은 양배추가 가진 유전자를 *BoRVE5b*로 명명하고, 안토시아닌 축적이 다른 양배추를 선별하여 그 발현과 안토시아닌 합성에 관련된 유전자의 발현을 조사할 결과 이 두 대립인자의 발현과 안토시아닌 축적이 연관이 있음을 밝힘 (그림 98).

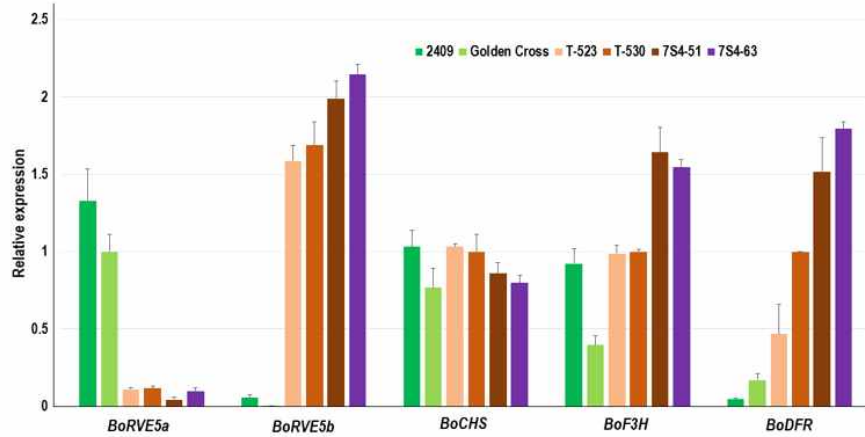


그림 98. Transcript levels of BoRve5 and anthocyanin biosynthetic genes from selected samples in 그림 97. All samples were LT-tREATED LEAVES.

안토시아닌 축적과 *BoRVE5* 대립인자의 발현관계는 어린 유묘를 이용한 실험에서도 같은 결과를 초래했으나 일일주기 또는 생체리듬과 관계는 없는 것으로 밝혀짐 (RVE 단백질이 생체리듬과 관련이 있다는 보고가 있기 때문임) (그림 99).

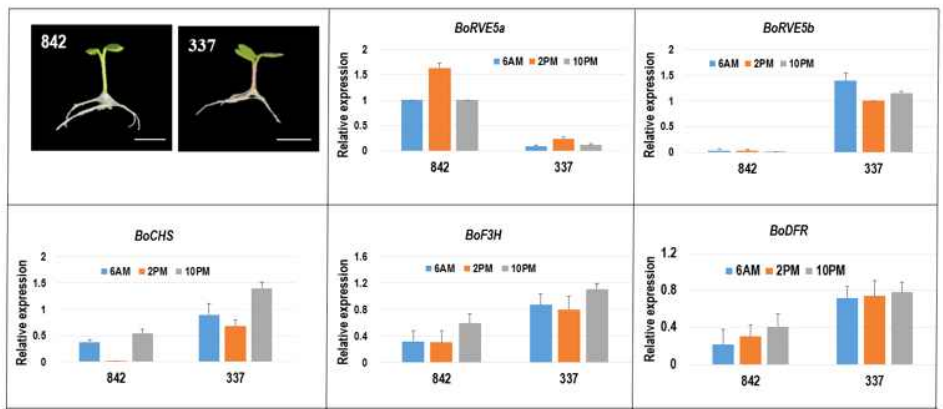


그림 99. Expression profile of BoRVE5 and three anthocyanin biosynthetic genes in seedlings during a day(to see diurnal oscillation). Samples were performed three times: at the start time of light period(6AM), midday(2PM) and at the end of light period(10PM) of 16h light/8h dark cycles.

녹색양배추와 자색양배추 또는 녹색양배추 중에 안토시아닌 축적이 낮은 양배추와 높은 양배추를 구분할 수 있는 PCR 마커를 개발하여 검증한 결과 마커로 활용 가능성을 증명하였음 (그림 100-102). 이 마커는 녹색과 자색양배추 구분과 동시에 녹색양배추 중 저에서 안토시아닌 축적이 높은 것과 낮은 것을 구분할 수 있는 것으로 활용도가 높은 것으로 판단됨.

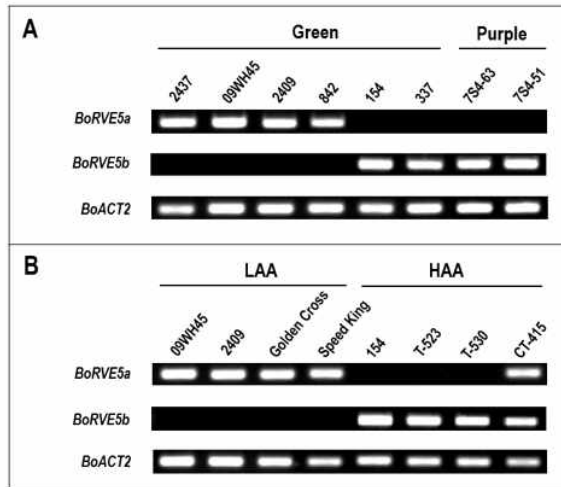


그림 100. Development of PCR-based markers distinguishing BoRVE5a(LAA) and BoRVE5b(HAA). A, cabbage genotypes used in sequence analysis of this study. B, cabbage genotypes of low anthocyanin accumulator(LAA) and high anthocyanin accumulator(HAA) (Song et al., 2020).

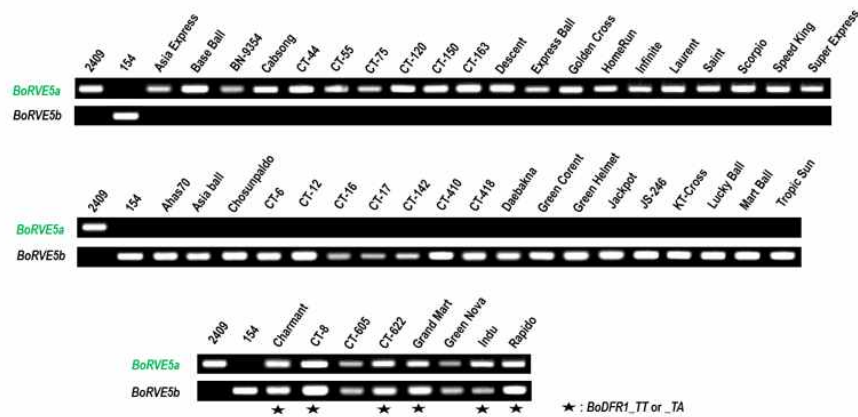


그림 101. Marker validation using green cabbages. Cabbages producing band for BoRVE5a appear to be low anthocyanin accumulator(LAAs)(upper), whereas for BoRVE5b seem to be high anthocyanin accumulators(HAAs)(middle).



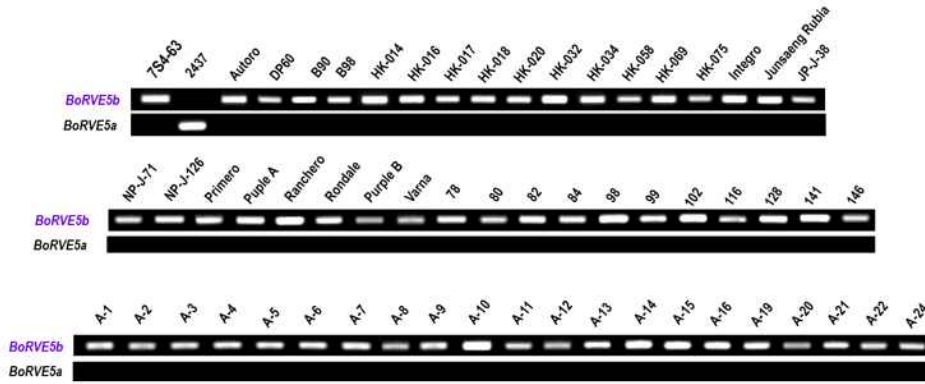


그림 102. Marker validation of purple cabbages. All purple cabbages had BoRVE5b genomic DNA.

(4) *BoLBD37L* 유전자를 이용한 저온에서 안토시아닌 축적을 구분하는 마커 개발

*LBD37* (LOB [Lateral Organ Boundary] domain-containing protein 37)은 *ASL39* (ASYMMETRIC LEAVES2-LIKE 39)로도 알려져 있어 양배추 잎의 형성과 모양에 관여할 것으로 예측되며, LBD37-39가 질소신호와 연관하여 안토시아닌 합성을 제어함이 몇몇 식물에서 보고되어 있어 이들의 발현을 조사한 결과 *LBD37L*(양배추에는 2개의 *LBD37* 유전자가 있고, 애기장대 *LBD37*과 상동성이 높은 것을 *BoLBD37*로 명명하고, 상동성이 떨어지는 유전자를 *BoLBD37L*로 명명하였음)의 전사체가 녹색양배추와 자색(적색)양배추 사이에 크기가 차이가 있음을 밝힘 (그림 103). 다른 *LBD*유전자의 발현은 크게 주목할만한 것이 없었음.

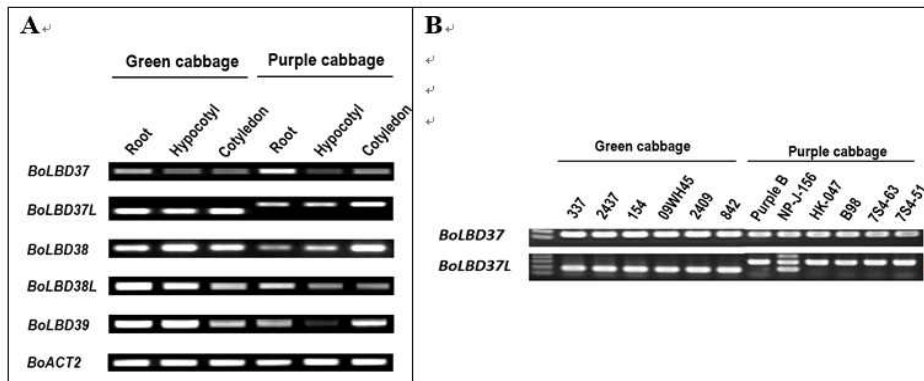


그림 103. Expression analysis of BoLBD genes in green and purple cabbage lines. A. Expression of BoLBD37-39 genes in different tissues of green and purple cabbage genotypes. B. Expression of BoLBD37 and BoLBD37L in the leaves of green and purple cabbage lines.

최근의 애기장대 연구결과 다음 그림 (그림104)과 같이 *LBD37*유전자가 발현되면 안토시아닌 합성을 억제하고, 발현이 억제되거나 분해되면 안토시아닌 합성이 촉진된다는 사실이 밝혀져 적양배추의 진화와 밀접한 관계가 있을 것으로 예측되어 연구를 수행하게 되었음

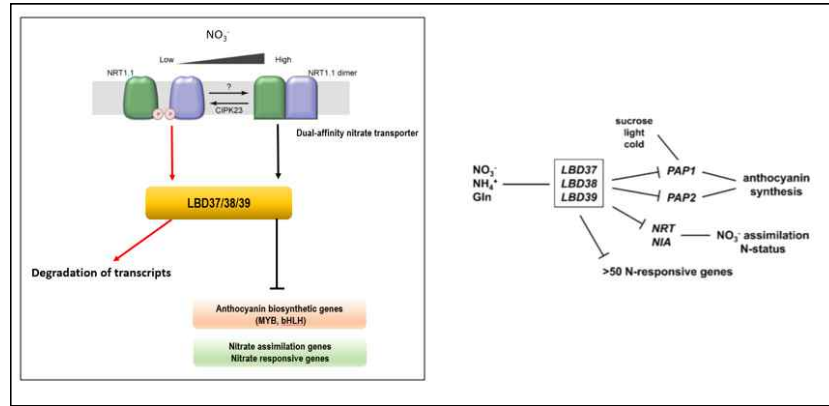


그림 104. LBD37유전자의 안토시아닌 합성 연관성

양배추의 *LBD37*의 정보를 애기장대 클론을 이용하여 찾아본 결과 현재 제공되고 있는 2개의 website에는 서열을 찾을 수 없어, NCBI의 EST 정보를 찾아본 결과 kale로부터 하나의 EST가 등록되어 있었음. 이를 이용하여 <http://brassicadb.org/brad/>을 찾아본 결과 해당서열을 지닌 유전자가 없었으나 [http://plants.ensembl.org/Brassica\\_oleracea/Info/Index](http://plants.ensembl.org/Brassica_oleracea/Info/Index)에는 2개의 클론 (Bo2g16820, Bo7g063630)이 나와, Bo2g16820을 *BoLBD37*, Bo7g063630을 *BoLBD37L*로 명명하였음 (애기장대 *LBD* [AT5G67420]와 서열의 일치도가 큰 것을 우선으로 정함)

이 유전자 서열을 이용하여 NCBI에 등록된 배추, 유채 및 무 서열을 찾아 비교하여 genomic DNA를 클로닝하기 위한 프라이머를 작성하였음 (클로닝은 프로모터 서열 600 bp를 포함하도록 하였으며, 녹색양배추 4종과 적양배추 2종을 대상으로 진행하였음.

클로닝 결과 프로모터 서열에는 몇개의 SNP는 존재하였으나 괄목할 만한 InDel은 존재하지 않아 프로모터에 의한 발현차이는 없을 것으로 예측하였음 (data not shown). *BoLBD37*의 경우 98bp의 인트론이 존재하였고, 6종 양배추간에 서열의 큰 차이는 발견되지 않았음 (그림 105).

그러나 *BoLBD37L*의 경우, 녹색양배추와 자색양배추가 다른 유전자를 지니고 있고, 다른 전사체를 만들고 있었음. 특히, 자색양배추 유전자에는 136bp의 삽입이 존재하여 정상적인 *BoLBD37*단백질을 암호화하지 못할 것으로 예측되었음 (그림 106).

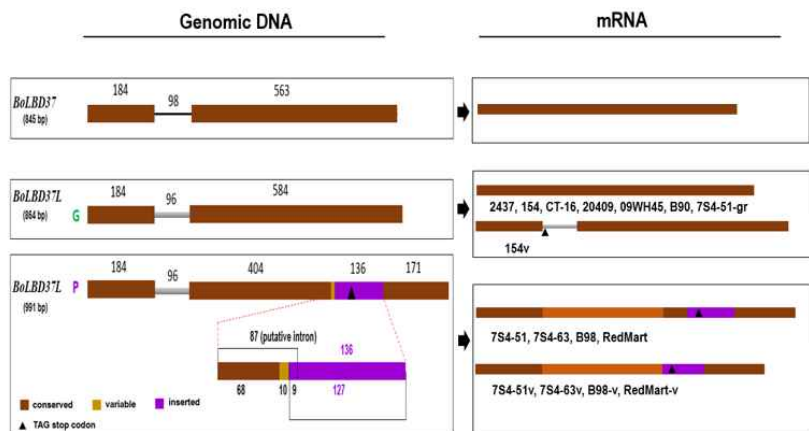


그림 105. Schematic showing the genomic DNA and mRNA structure of *BoLBD37* and *BoLBD37L*. Diagrams were drawn from the ATG start codon to the TAA stop codon. Purple block represents the

136 bp insertion detected in the BoLBD37L-purple(BoLBD37L-P) allele. Black tringle indicates the stop codon.

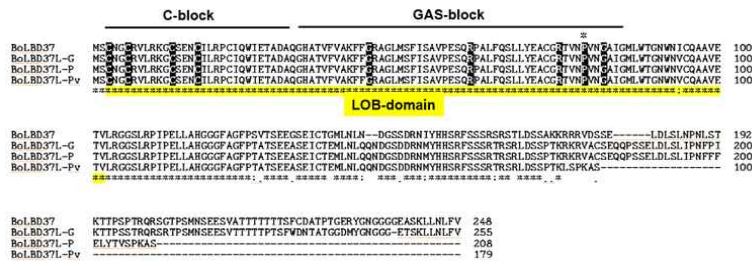


그림 106. Amino acid sequence alignment of BoLBD37 and various forms of BoLBD37L. BoLBD37L-G from green cabbage; BoLBD37L-P, sequence from purple/red cabbage; BoLBD37L-Pv, a variant of BoLBD37L-P caused by alternative splicing. The region highlighted in yellow indicates the conserved LOB domain. Asterisk indicates the proline(P) residue important for LBD function.

녹색양배추에 존재하는 유전자를 *BoLBD37L-G*로 자색양배추에 존재하는 유전자를 *BoLBD37L-P*로 명명하고 다양한 양배추를 재료로 검증해 봄. 그림 107에서 보는 바와 같이 녹색양배추는 *BoLBD37L-G* 유전자와 *BoLBD37L-P* 유전자를 지닐 수 있으며, *BoLBD37L-P* 유전자를 지닌 녹색양배추는 안토시아닌 축적이 비교적 높게 나타날 가능성이 있음.

그러나 자색양배추의 경우는 *BoLBD37L-P* 유전자가 우성으로 작용하여 안토시아닌 축적을 가져오게 하는 것 같아 (그림 108), 이 유전자를 이용하여 자색양배추를 선발할 수 있을 것으로 판단됨.

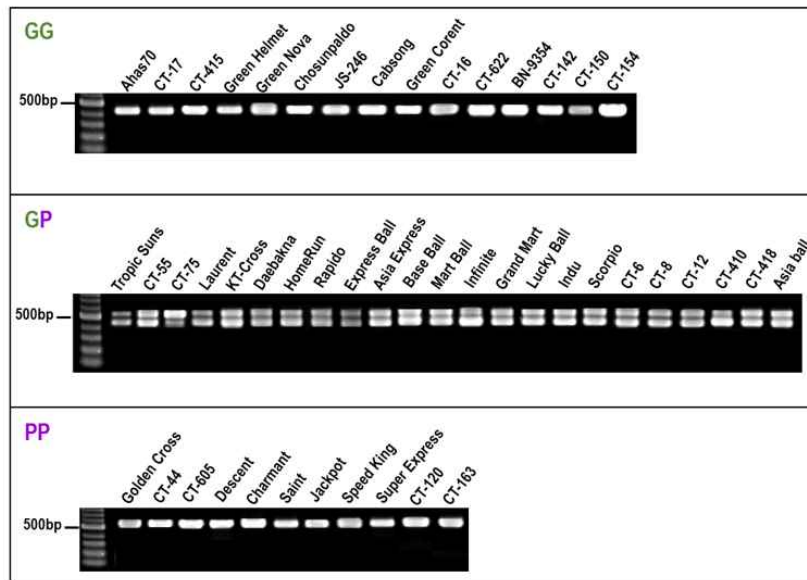


그림 107. PCR amplification of the 2<sup>nd</sup> half of the BoLBD37L genomic DNA from green cabbage lines. GG, lines homozygous for the BoLBD37L-G allele; GP, heterozygous lines; PP, lines homozygous for the BoLBD37L-P allele.

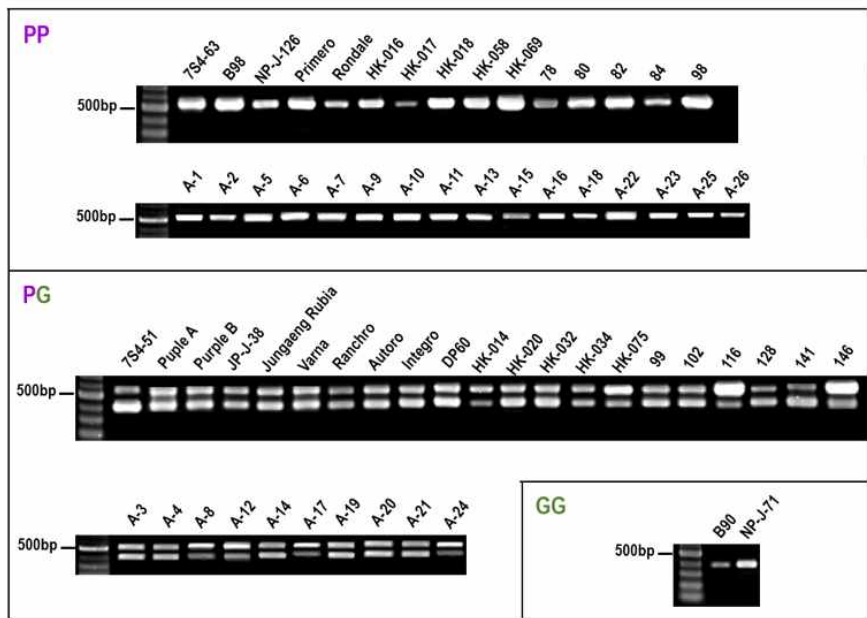


그림 108. PCR amplification of the 2<sup>nd</sup> half of the BoLBD37L genomic DNA from purple cabbage lines. PP, lines homozygous for the BoLBD37L-P allele; GG, lines homozygous for the BoLBD37L-G allele.

안토시아닌 축적과 BoLBD37L의 관계를 간략히 유전자 발현을 통해서 입증해 보였으며, BoLBD37L-P의 경우 단백질이 만들어지지 않아 안토시아닌 합성의 억제자로 작용할 못해 안토시아닌 축적이 일어나도록 하는 것 같음 (그림 109).

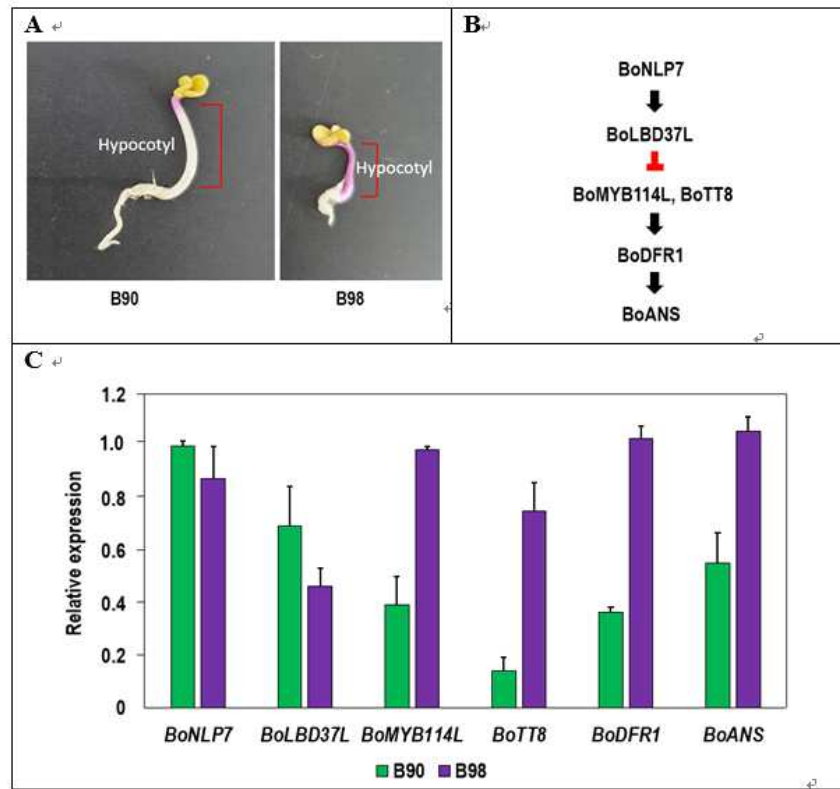


그림 109. Analysis of cabbage lines homozygous for the BoLBD37-G allele(B90) or BoLBD37L-P allele(B98). A, Morphology of dark-grown cabbage seedlings at 3 days after germination(DAG). B, Flow chart showing the regulation of anthocyanin biosynthesis genes. C, Expression analysis of genes involved in the LBD pathway of anthocyanin biosynthesis.

#### (5) *RsMYB1*과 *RsTT8* 유전자를 이용한 안토시아닌 축적 증진

무는 본 연구의 주제는 아니었으나, 적무와 안토시아닌 축적 연구 (겉과 속)(skin and flesh)를 통하여 양배추 안토시아닌 축적에 대한 힌트를 얻을 수 있을 것 같아 연구가 종료된 과제의 연구를 확대하여 위 두 전사인자에 대한 다음과 같은 결과를 도출하여 특허를 출원하고 논문을 발표하였음.

위 두 유전자는 3개의 다른 전사체를 만들며 다른 이유는 intron 유무 및 개수 때문이었음

intron이 유지된 전사체를 담배에 잎에 발현시키거나 애기장대에 넣어 발현시키면 온전한 전사체보다 안토시아닌 합성을 크게 증진시켰음.

다음은 연구결과를 일부를 보여줌.

○ 유전자 구조와 생성되는 전사체 및 인트론의 위치 (그림 110)

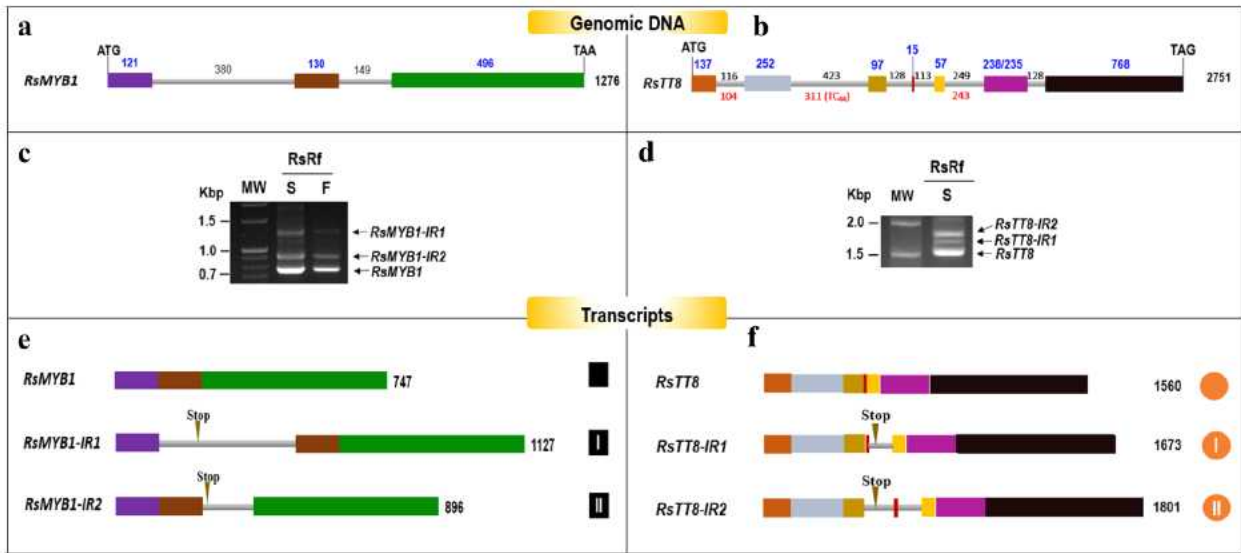


그림 110. Intron-retained(IR) transcripts of RsMYB1 and RsTT8 genes. a and b Schematic representations of genomic DNAs of RsMYB1(a) and RsTT8(b). c and d Agarose gel images showing the results of reverse transcription PCR(RT-PCR) analysis of RsMYB1(c) and RsTT8(d). S and F are abbreviation of skin and flesh, respectively. e and f Schematic representations of spliced and IR transcripts of RsMYB1(e) and RsTT8(f). In a,b,e and f, exons and introns are indicated by colored boxes and gray lines, respectively; numbers indicate nucleotide sequences. Black squares and brown circles on the right of e and f represent various transcripts.

○ 담배잎에 발현시켰을 경우 인트론이 유지된 전사체가 안토시아닌 합성을 효율적으로 증진시킨다는 결과 (그림 111)

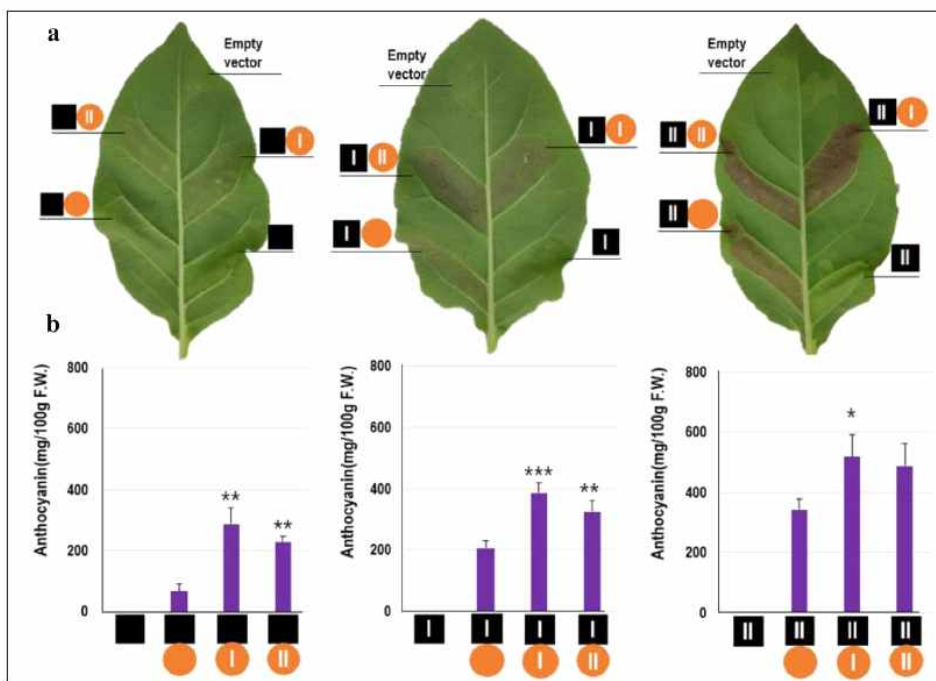


그림 111. Anthocyanin accumulation in transiently transformed tobacco leaves infiltrated with Agrobacterium strains carrying RsMYB1 and RsTT8 transcripts. a Images of transformed tobacco leaves at 5 days post-infiltration(dpi). Symbols indicating different combinations of RsMYB1 and RsTT8 transcripts have been described in b Anthocyanin content data



represented as mean±standard error (SE) of three independent replicates. A total of 8-10 tobacco plants were used in infiltration experiments. Significant differences between RsTT8 spliced form and Rstt8-IR forms were analyzed by Student's t test(\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001)

- 애기장대에 유전자를 도입하여 후대를 검증한 결과 인트론이 유지된 것이 안토시아닌의 합성을 크게 촉진함 (그림 112)

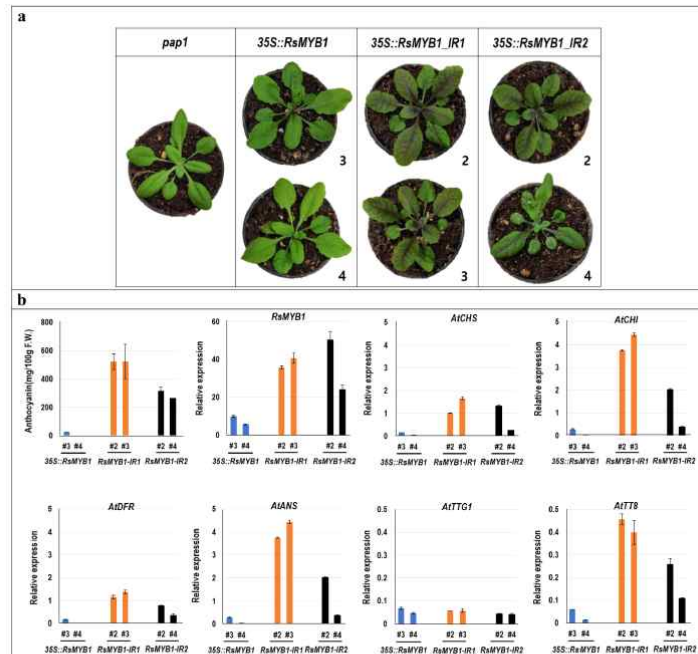


그림 112. Characterization of Arabidopsis *pap1* mutant plants overexpressing RsMYB1 transcripts. a Plant phenotype; b anthocyanin content and flavonoid pathway-related gene transcript levels. RsMYB1 expression in Arabidopsis was measured by qRT-PCR using Primers specific for spliced form; RsMYB1-forward primer is 5' -TTGTTT GCCTTCATAAACTTTGGGAAACAGGGCTGA consisting of 31 nucleotide(nt) of exon 1 plus 6 nt of exon 2; RsMYB1-reverse Primer is 5' -CTACCAGCAATTAAGACCACCTGTTT consisting of 21 nt of exon 3 plus 6 nt of exon 2

- 최종적으로 식물의 안토시아닌 합성을 제어할 수 있는 방안을 제시하였음 (그림 113)

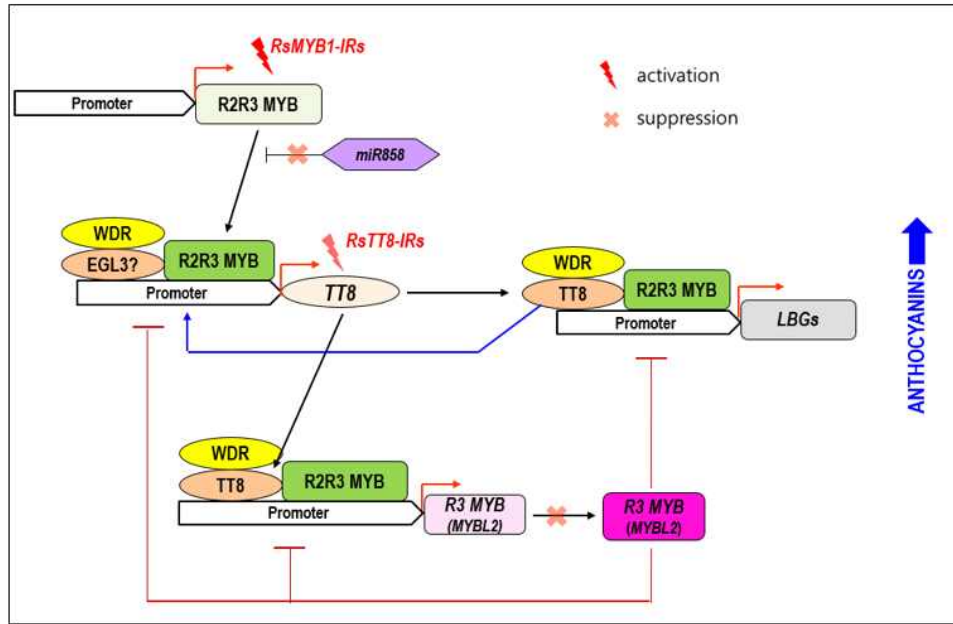


그림 113. A proposed strategy to enhance anthocyanin production in plants. The formation of the MBW complex will be enhanced by the co-introduction of RsTT8-IRs, while suppressing miR858 and MYBL2 genes.

#### (6) 케일의 유전집단 작성

양배추의 잎에 안토시아닌 축적여부를 판단하는 여러 개의 마커가 각기 다른 유전자를 기반으로 발굴되었으나, 이 마커 유전자의 발현을 조절하는 상위유전자 또는 시간적으로 공간적으로 안토시아닌의 합성을 조절하는 유전자에 대한 연구결과는 전무한 편임.

이 문제가 해결되어야 자색양배추의 경우 왜 중륵과 vein에서는 안토시아닌이 축적되지 않으며, ornamental kale의 경우 왜 특정 잎조직 또는 특정시기에 특정부위에만 안토시아닌이 축적되는지, 자색콜라비의 경우 왜 표피에만 안토시아닌이 축적되는지 등을 알 수 있으며 그 메카니즘 혹은 유전자를 조절하여 필요한 원예형질을 지닌 작물을 육성할 수 있음.

이러한 목적을 달성하기 위하여 본 연구실에서는 ornamental kale에 초점을 두고 연구를 수행하였으며 그 결과를 정리하면 다음과 같음. 전체적인 주제는 “ornamental kale의 유전집단 작성” 이 될 것임.

전 세계 2개의 연구실 (Jin et al. 2018; Ren et al. 2019)에서 발표한 연구논문을 근거로 위 시료를 가지고 실험을 수행하였을 경우 기 발표된 유전자의 발현은 안토시아닌 합성 및 축적과 직접적인 관계가 없는 것으로 판명됨.

그리고 다음과 같이 잘 알려진 안토시아닌 생합성관련 유전자의 발현도 케일의 엽색형성과 직접적인 관계가 없어 유전집단 양성과 그를 이용한 유전자 발현이 필요함을 시사함 (그림 114).

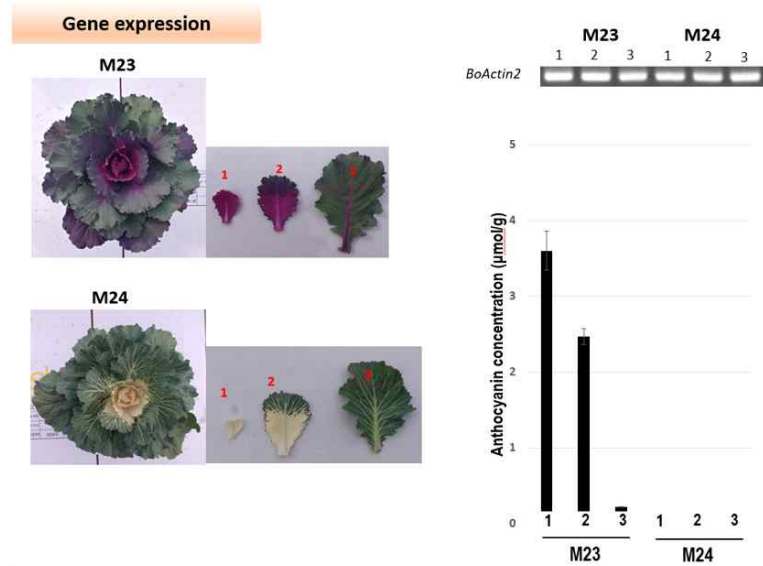


그림 114. 연구재료의 안토시아닌 함량 비교

○ 유전집단 작성 (그림 115)

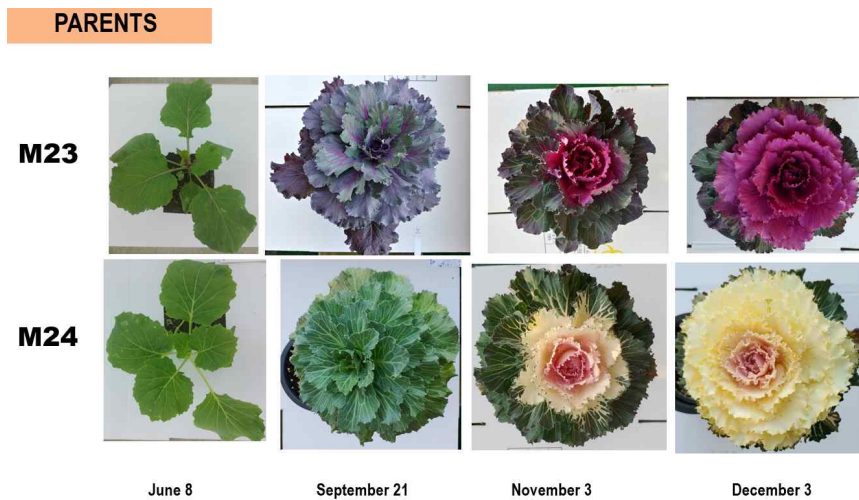


그림 115. 유전집단 작성에 사용한 양친의 표현형, M23: Benitaka 2-Go (붉은매), M24: Shirotaka 2-Go (흰매)

○ 후대선발을 위한 마커 (그림 116)

선발방법: *BoDFR1*과 *BoMYBL2-1* 유전자의 존재로 구분함

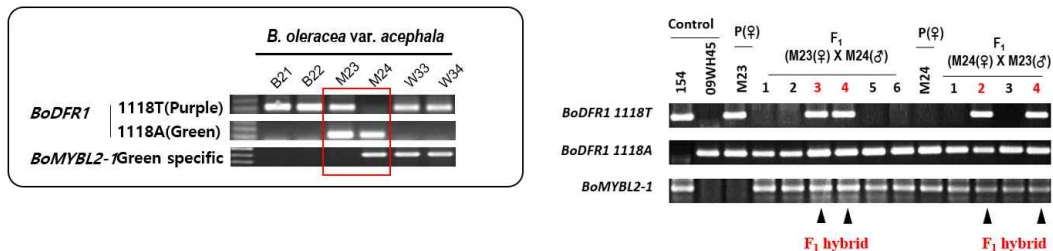


그림 116. 후대선발을 위한 마커의 표현형에 따른 유전형

**F<sub>1</sub> seeds**

F <sub>1</sub> Generation			
Female Parent	Male Parent	No of Seeds	Total
M23	M24	16	28
..	..	5	
..	..	7	
M24	M23	3	63
..	..	40	
..	..	13	
..	..	5	
..	..	2	

그림 117. F<sub>1</sub> 종자 획득과 표현형 검증

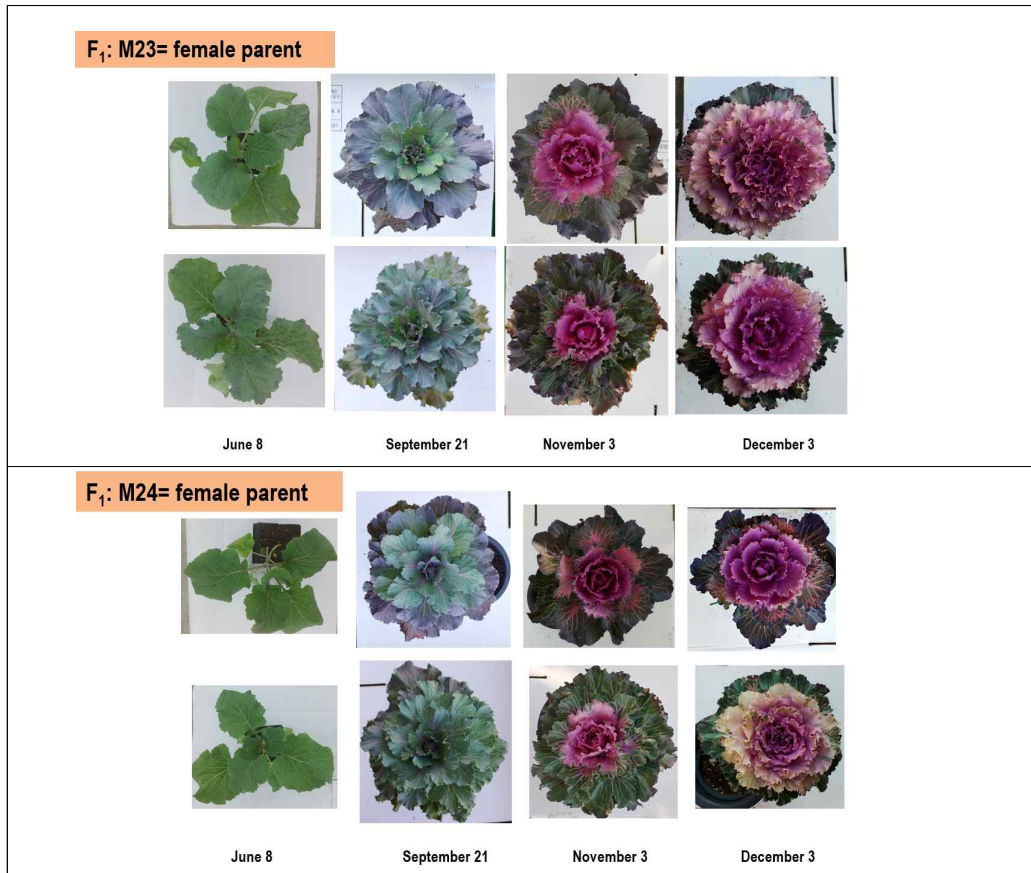


그림 118. F<sub>1</sub> 개체의 표현형

안토시아닌이 축적되는 M23이 우성형질로 나타나는 것 같으며 모두 비슷한 표현형을 보임 (그림 117, 118)



F<sub>2</sub> 식물의 개체수가 적고, 10월의 갑작스런 동해를 입어 바깥잎이 죽은 상태이나, 내엽의 색을 고려하면 F<sub>2</sub> 집단이 만들어졌음을 알 수 있어, 추후 실험이 가능하다고 판단됨.

그림 119. F<sub>2</sub> 종자획득과 표현형 검증

다음 그림과 같이 비교적 충분한 양의 종자를 3개체로부터 얻었음 (그림 119). 표현형 검증을 위해 100개씩의 종자를 파종하였으나 기후관계로 유묘를 상실하고 14개체만 살아 남았고, 2021년 10월 중순의 한파로 겉잎이 동사하였으나 엽색을 관찰하면 F<sub>2</sub> 집단이 확실함. 따라서 RNA-Seq과 GBS 등 유전자 발굴에 활용이 가능할 것으로 판단됨 (그림 119).

### 사. 양배추 내한성 관련 분자마커 개발

양배추 내한성 관련 분자마커 개발 결과는 다음 표와 같이 요약 된다

마커 구분	세부 형질	표적유전자	마커구분	특허	논문	특기사항
내재해성	내한성	<i>BoCCA1</i>	SNP	-	Hortic. Env. Biotechnol.	생체시계연관
		<i>BoCSDP5</i>	InDel	출원	Genes & Genomics	저온내성단백질

내한성관련 분자마커 개발은 GSP RFP에는 없었으나 월동형 양배추 육종과 중국, 동유럽 등에 수출하기 위한 양배추 육종에 내한성은 필수적인 원예형질임. 내한성 마커를 개발하기 위한 양배추 소재는 주로 아시아종묘 제공 BN106(내한성강), BN107(내한성약), BN553(내한성강), BN554(내한성약)을 가지고 실험을 수행해 왔고, 조은종묘로부터 내한성 소재를 분양받아 연구를 마무리하였음. 내한성 분자마커는 *BoCCA1*과 *BoCSDP5*를 이용한 것으로 이 2마커를 활용하면 내한성 양배추 선발에 문제가 없을 것으로 봄.

#### (1) *BoCCA1*유전자 이용 마커 개발

1단계 GSP에서 수행해 오던 연구를 2단계 GST 1차년도에 연구를 완료하여 마커를 개발하고 논문은 Horticulture, Environment, and Biotechnology (2018, 59: 324-434)에 발표하였음.

다음은 클로닝한 유전자 서열과 존재하는 다형성을 보여주는 그림임 (그림 120).







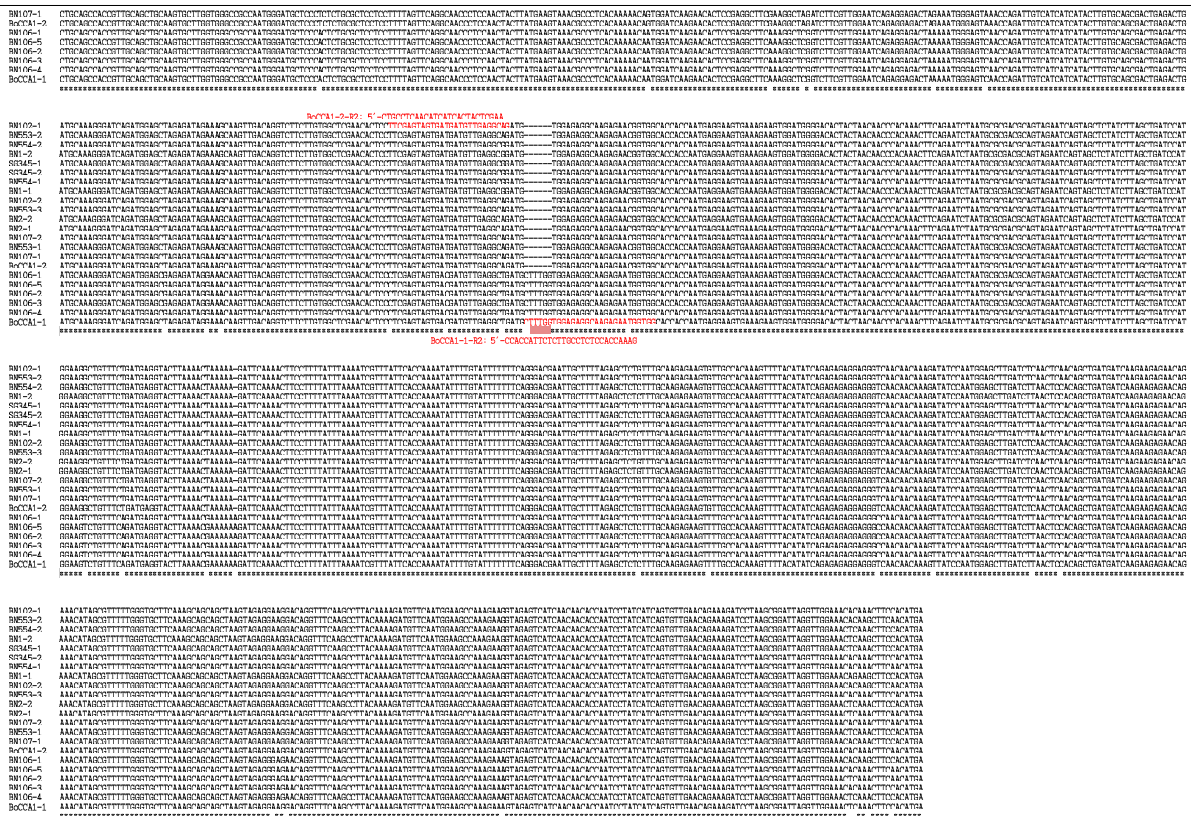


그림 120. Alignment of nucleotide sequences of *BoCCA1* genes from various lines. Shaded region represents exons and colors are indicated polymorphisms: red color, polymorphisms between BoCCA1-1 and BoCCA1-2; yellow color, SNPs between cold tolerant and susceptible putatively; green color, specific for *BoCCA1-1* from BN106 line.

이러한 polymorphism를 모식적으로 표시하고 SNP 마커를 개발한 마지막 exon (E8)을 확대한 것은 다음 그림과 같다 (그림 121). 엑손6(E6)의 InDel도 마커로 개발하였다.

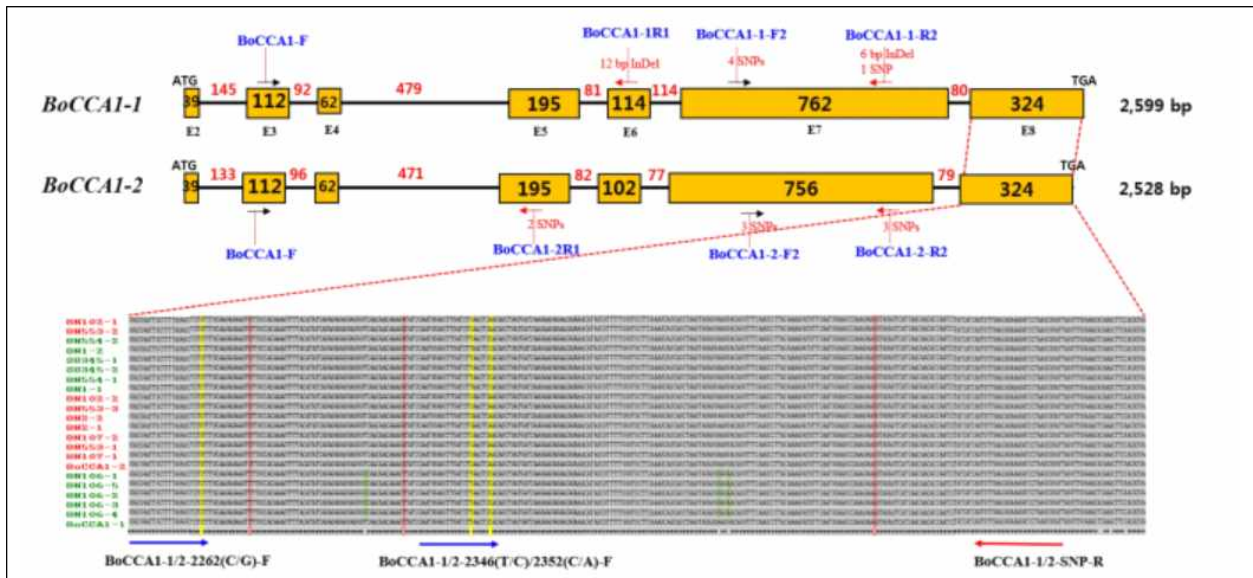
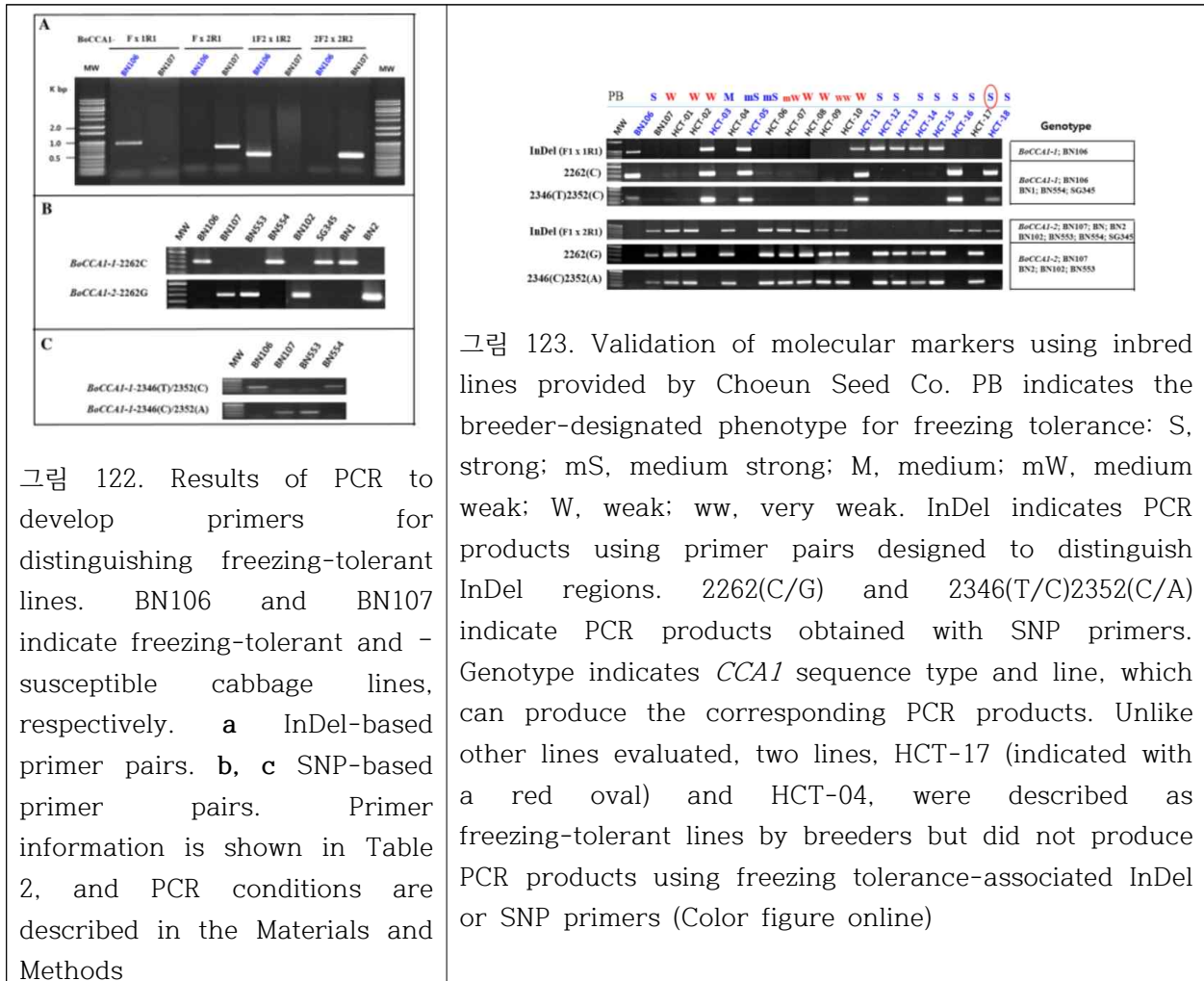


그림 121. Genomic structures of *B. oleracea* CCA1 coding regions and primer positions used for marker development. Each box represents an exon, with the number inside each box representing exon size(in bp). Lines connecting boxes indicate introns(sizes are shown in bp). Arrows indicate primers used for

marker development as well as RT-PCR. Primers shown in the upper panel were designed based on InDels, while primers shown in the lower panel were designed using SNPs.

위의 마커를 내흔계를 이용하여 개발하고, 여러 종자회사로부터 분양받은 내흔계 양배추를 이용한 마커 검증한 결과는 다음과 같다 (그림 122-124).



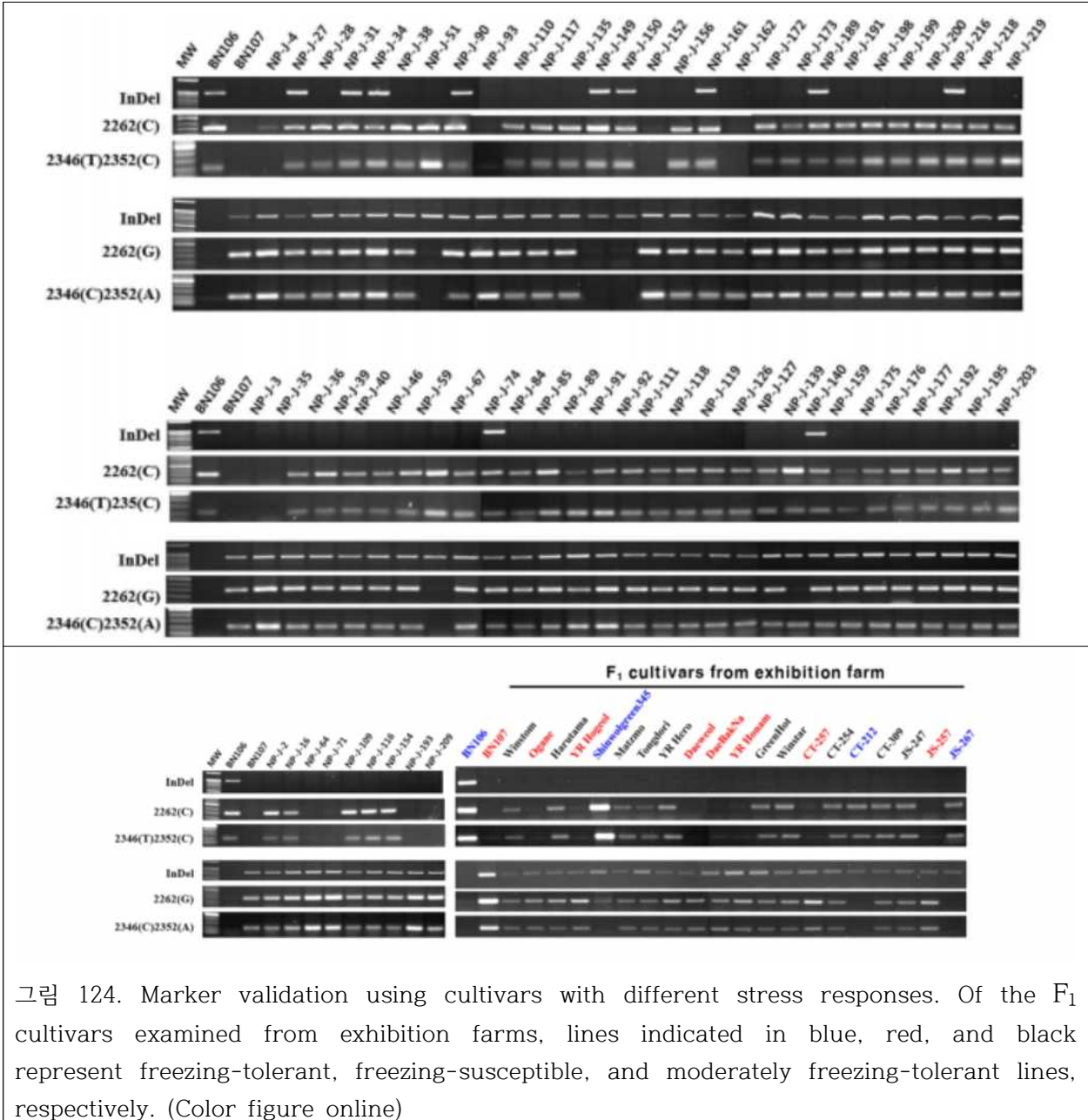


그림 124. Marker validation using cultivars with different stress responses. Of the F<sub>1</sub> cultivars examined from exhibition farms, lines indicated in blue, red, and black represent freezing-tolerant, freezing-susceptible, and moderately freezing-tolerant lines, respectively. (Color figure online)

이상과 같이 대부분의 마커가 육종가의 판단과 일치하나 100% 일치하는 아니기 때문에 부가적인 마커의 활용을 필요로 함.

(2) *BoCSDP5* (COLD SHOCK DOMAIN PROTEIN 5)를 이용한 내한성 마커 개발

COLD SHOCK DOMAIN PROTEIN 유전자는 애기장대에 4개가 있고 이를 이용하여 양배추를 조사하면 8개의 유전자가 있으며 그 중에서 *BoCSDP5*는 Bo1g00600 (Bo1029030)에 해당함. 이 유전자는 아시아종묘 제공 내한성 강 약 양배추 계통사이에 전사체의 길이가 차이가 나기 때문에 연구를 시작하였고(그림 125), 다음 표 (표 57)와 같이 다양한 양배추를 이용하여 마커를 검증하였음. 결과는 특허출원을 하고, 2020년 Genes & Genomics에 논문으로 발표하였음.

표 57. List of cabbage samples used in this study

Use	Source	Name	Genetic information	Characteristics
Cloning/sequencing	Asia Seed Co.	BN106	Inbred line	LT tolerant
	--	BN107	Inbred line	LT susceptible
	--	BN553	Inbred line	LT tolerant
	--	BN554	Inbred line	LT susceptible
	Joen Seed Co.	HCT09	Inbred line	LT susceptible
	Asia Seed Co.	SG345	Cultivar (Shinwol Green 345)	LT tolerant
Genetic analysis	Asia Seed Co.	BN551	F <sub>1</sub> hybrid of BN553 × BN554	
	--	BN552	F <sub>2</sub> population of BN551	
Marker confirmation	Table S1: Modified from Table 1 in Song et al. (2018)			

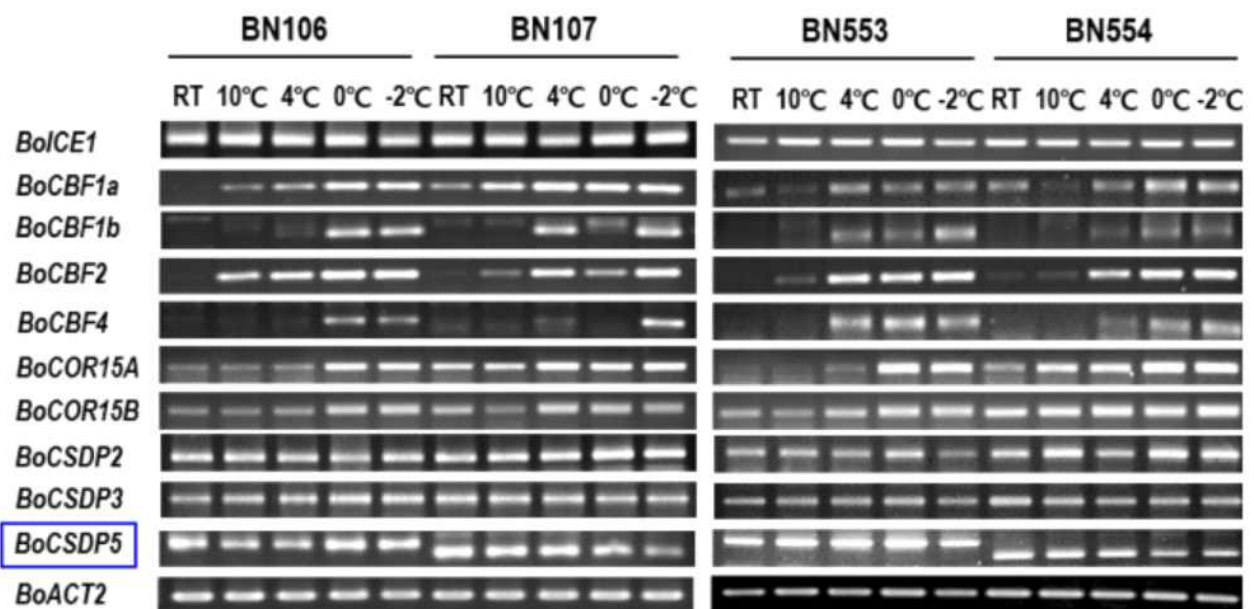


그림 125. Expression profiles of LT-related genes in LT-tolerant BN106 and BN553, and LT-susceptible BN107 and BN554 cabbage lines

우선 BN106, BN553과 BN107, BN554로부터 유전자를 클로닝하여 분석한 결과는 다음 그림과 같음. 유전자를 분석할 결과 저항성 계통은 엑손이 1개더 존재함을 알 수 있었음.

사용한 양배추의 내한성을 electrolyte leakage test를 통해 검증하였음.



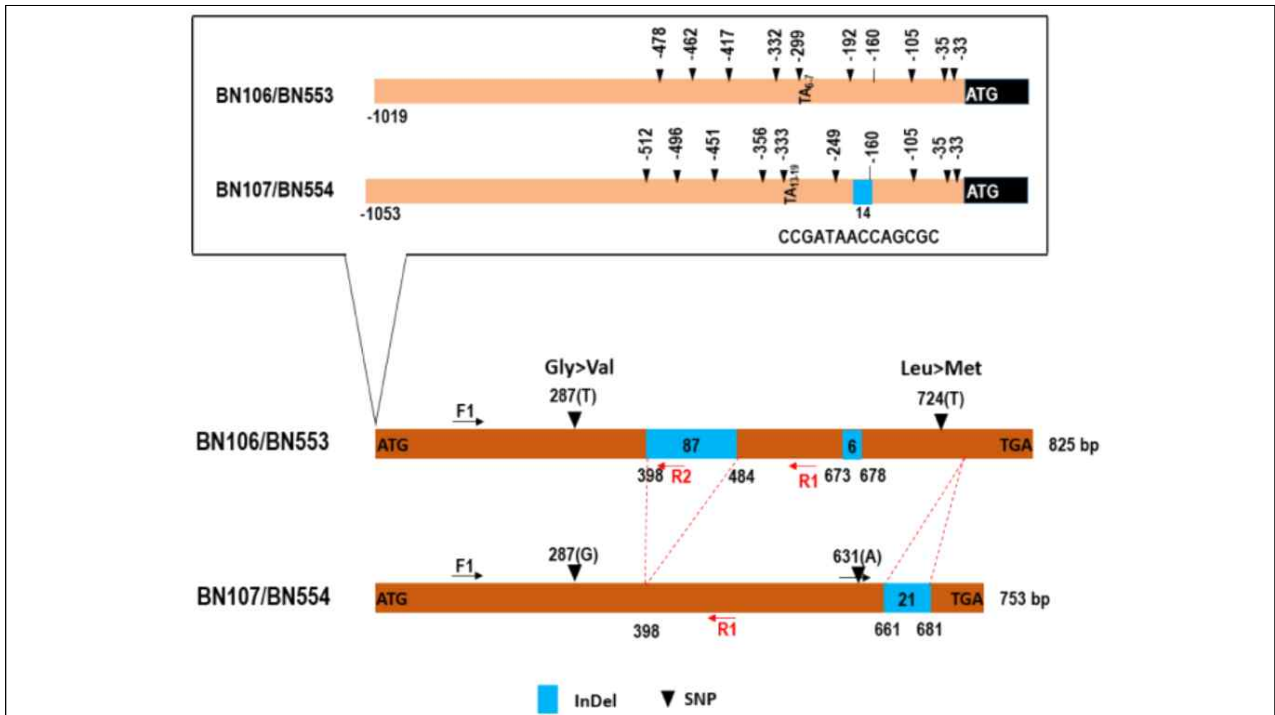


그림 126. Genomic DNA organization of *BoCSDP5* allele from LT-tolerant (BN106 and BN553) and -susceptible (BN107 and BN554) lines. InDel and SNPs were indicated. Numbers represented position of nucleotide, based on translational start codon as +1. Primer positions were shown with arrows and letter F or R

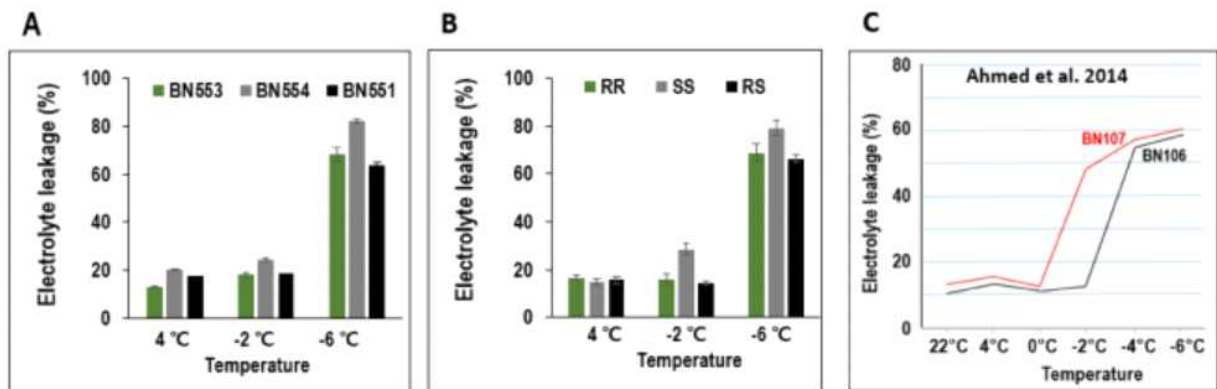


그림 127. Electrolyte leakage test as an indicator of freezing damage. a Parent and its F<sub>1</sub> hybrid used in generation of genetic population. b Selected lines from F<sub>2</sub> segregating population. Five individuals from LT-tolerant (RR), LT-susceptible (SS) and its hybrid (RS) were used in the analysis. c Electrolyte leakage of BN106 and BN107 adopted from Ahmed et al. (2015)

그 다음 단계로 PCR 마커를 개발하고 이전에 발표한 논문의 양배추 소재를 재료로 마커의 활용도를 검증하였음 (그림 126-129).

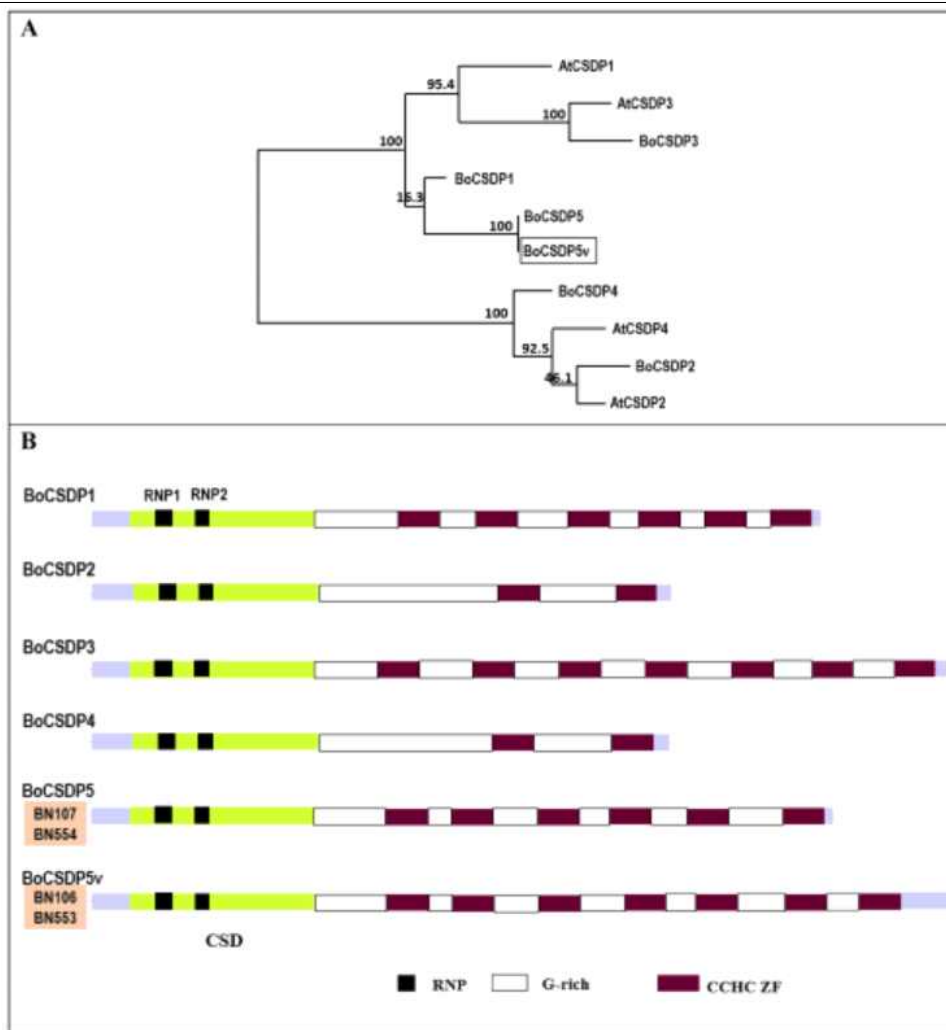


그림 128. Phylogenetic analysis of Arabidopsis and cabbage CSDPs (a) and the domain structure of BoCSDPs (B). a Phylogenetic analysis of CSDPs from *Arabidopsis thaliana* and *B. oleracea*. Numbers shown are bootstrap values. Sequence information: AtCSDP1 (AT4G36020), AtCSDP2 (AT4G38680), AtCSDP3 (AT2G17870), AtCSDP4 (AT2G21060), BoCSDP1 (BoI018682), BoCSDP2 (BoI016003), BoCSDP3 (BoI041461), BoCSDP4 (BoI006747), BoCSDP5 (BoI029030/MT741948/MT741950), BoCSDP5v ((MT741947/MT741949). b Schematic representation of the domain structures of BoCSDPs. Cold shock domain (CSD), glycine-rich region (G-rich), and CCHC-type zinc finger motifs (CCHC ZF) are shown



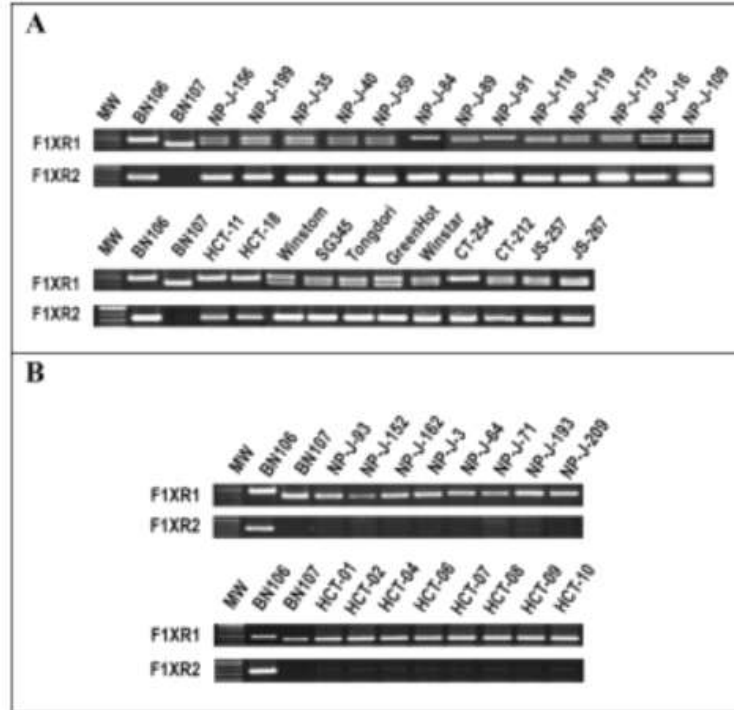


그림 129. Validation of LT-tolerance by genomic DNA PCR. a LT-tolerant cabbages and b LT-susceptible cabbages. Cabbages here were double checked by both *BoCCA1* markers (Song et al. 2018) and *BoCSDP5* primers

### 아. 양배추 내서성 관련 분자마커 개발

양배추 내서성 관련 분자마커 개발 결과는 다음 표와 같이 요약 된다

마커 구분	세부 형질	표적유전자	마커구분	특허	논문	특기사항
내재해성	내서성	<i>BoTPPI-2</i>	InDel	등록	Agronomy	
		<i>BoPIF4L</i>	SNP/InDel	-	-	다수 개발 가능

내서성관련 분자마커도 1개의 유전자로부터 유래한 마커를 100% 확신할 수 없기 때문에 2개의 다른 유전자로부터 개발한 마커를 활용하고자 계획하고, *BoTPPI-2*와 *BoPIF4L*를 이용한 마커를 개발하였음.

#### (1) *BoTPPI-2* 유전자를 이용한 내서성 분자마커 개발

열충격 (heat shock)을 구분하는 유전자 또는 단기적인 고온노출과 관련된 유전자에 대한 연구는 다소 있었으나 장기적으로 내서성(hot tolerance)과 관련된 연구 및 개발된 마커는 존재하지 않았음.

본 연구에서는 내서성이 강한 내흔계와 약한 내흔계 및 그로부터 양성된 유전집단을 이용하여 유전자 발굴과 내서성 검증을 통하여 마커를 개발하고자 하였음.

내서성이 강한 양친을 BN1, 내서성이 약한 양친을 BN2로 명명하고 다음과 같이 심한 고온다습한 조건에서 유전집단을 키우며, 무름병 발병정도를 조사하여 내서성의 척도로 삼았음.

다음 그림과 같은 내서성 테스트를 3월부터 8월에 걸쳐 수행하였으며, 기온과 무름병발병

을 조사하였음 (그림 130, 131).

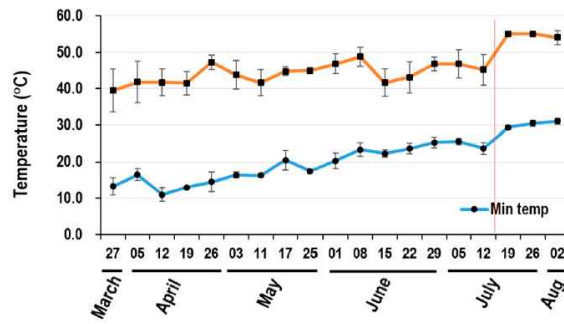


그림 130. Temperature fluctuations in the glass greenhouse during the cabbage growth period. One-month-old seedlings were grown in a culture room at 22°C, and then transplanted in pots (20 cm height × 20 cm diameter) on 27 March 2018 and maintained in the greenhouse until August 2, with frequent watering to maintain high humidity. Min temp, weekly average minimum temperature; max temp, weekly average maximum temperature.

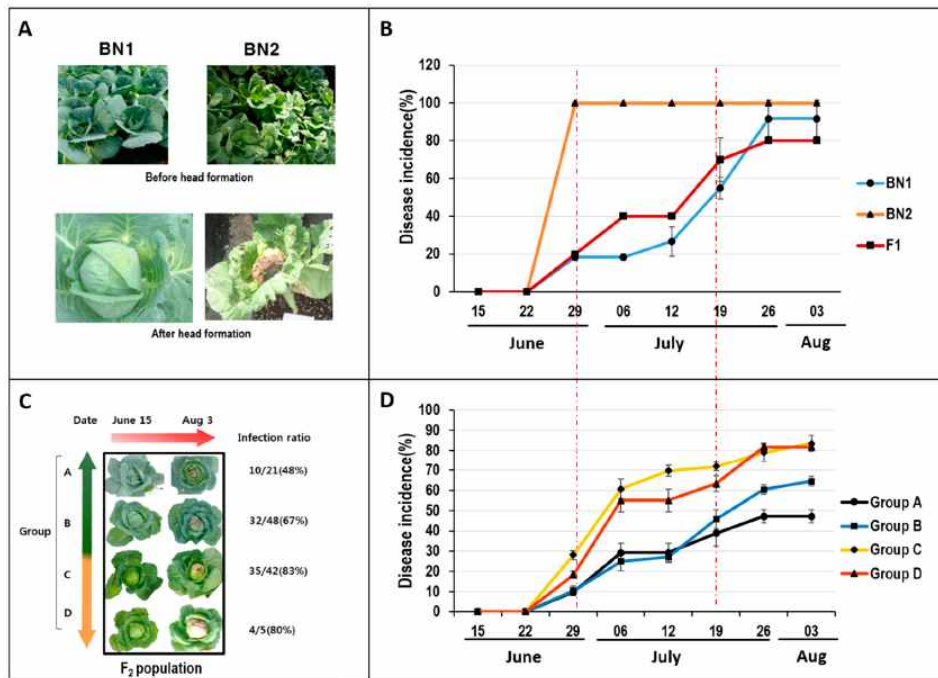


그림 131. Morphology of soft rot incidence in plant materials used in this study. (A) Morphology of parental inbred lines before and after head formation, showing soft rot symptoms and leaf color (bluish green and deep green). (B) Soft rot incidence in parental lines and F<sub>1</sub> plants during the cultivation period. (C) Morphology of F<sub>2</sub> plants on the basis of leaf color and soft rot incidence. (D) Soft rot incidence in F<sub>2</sub> plants during the cultivation period. Vertical dotted lines between (B,D) indicate the period exhibiting the remarkable difference in soft rot incidence.

내서성 표적유전자를 발굴하기 위하여 RNA\_Seq 결과를 분석한 결과 및 trehalose가 환경 내성을 준다는 기존의 연구를 근거로 *BoTPPI* (*Brassica oleracea* trehalose 6-phosphate phosphatase) 유전자의 발현을 분석하고, *BoTPPI-2*를 표적유전자로 선발함 (그림 132).

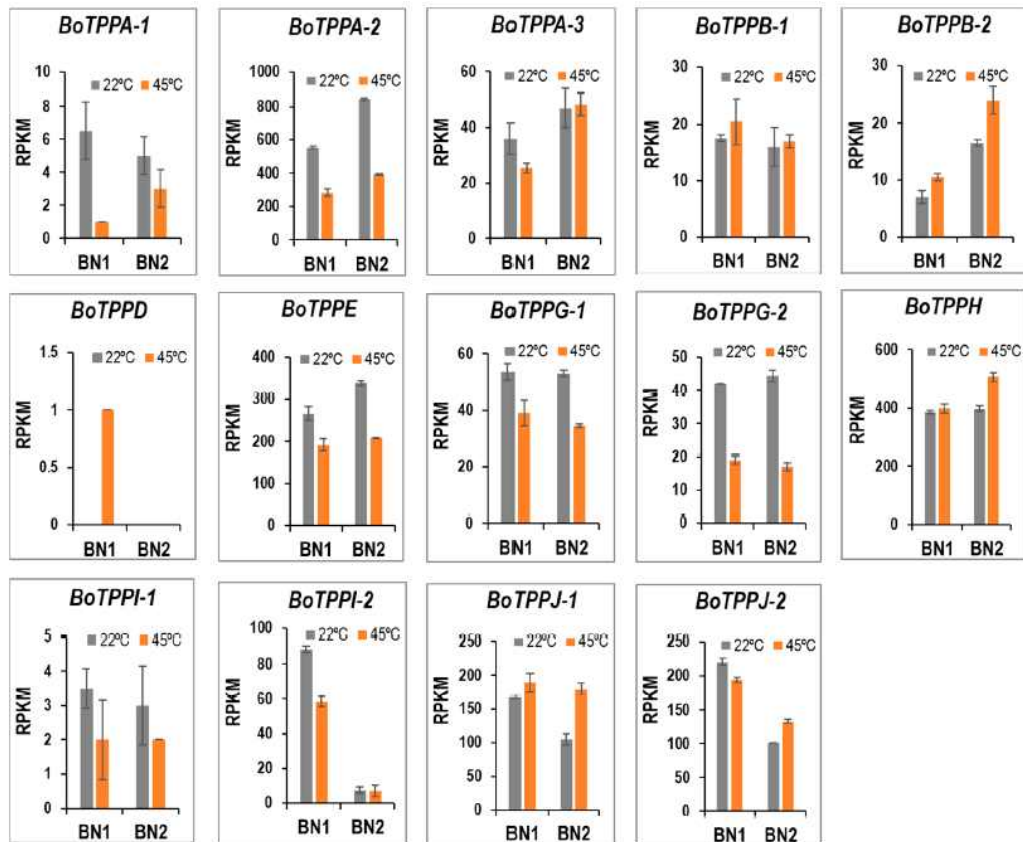


그림 132. Expression of trehalose-6-phosphate phosphatase (*BoTPP*) genes under normal conditions (22°C) and after heat shock (45°C for 1h). Expression levels were obtained from RNA-seq data as reads per kilobase of transcript per million mapped reads (RPKM).

*BoTPPI*에는 2개의 대립인자가 있어, 애기장대 유전자와 상동성이 큰 것을 1으로 명명하고 그보다 낮은 것을 2로 명명하였으며, 둘 사이에 유전자 서열의 차이를 알아보기 위해서 양배추 2계통으로부터 클로닝하여 서열을 분석하였음 (그림 133). 다음 그림과 같이 *BoTOPPI-1*의 경우 BN1과 BN2가 거의 일치하였으며, BN1으로부터 클로닝한 *BoTPPI-2*와도 91% 일치하였음 (그림 134).

그러나 내서성이 약한 BN2로부터는 클로닝을 할 수가 없어 뒷부분에 존재하는 유전자 (*BoDHAR3*) 서열을 이용하여 PCR을 한 경우 긴 크기의 DNA가 증폭됨을 알 수 있었음. BN1과 BN2가 같은 부분으로부터 inverse PCR (iPCR)을 수행하여 전체 유전자 서열을 얻어 분석한 결과 BN2의 *BoTPPI-2*에는 9번째 intron에 4.6 kbp의 LTR이 역으로 삽입되어 있음을 알 수 있었음. 그래서 전사체도 탐지가 되지 않았음

그리고 양배추 유전체 제공 웹사이트의 정보와 비교한 결과 야생양배추는 *BoTPPI-2*가 존재하나 (그러나 LTR 서열은 없었음) *Bo* var. *capitata*에는 서열이 존재하지 않는 것으로 나타나 유전체 정보를 수정해야 될 것으로 판단되어 그림을 제공함 (그림 135).

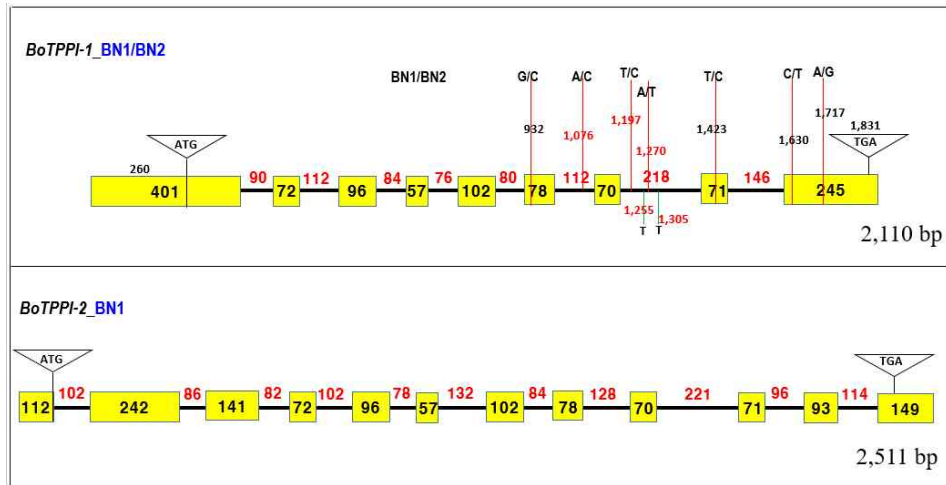


그림 133. Genomic organization of *BoTPPI-1* from inbred lines BN1 and BN2, and *BoTPPI-2* from BN1 inbred line. Yellow boxes indicated exon and bold line for intron with red numbers for size in bp. SNPs and SSRs of *BoTPPI-1* between BN1 and BN2 were labelled on above and below the diagram, respectively

- 91% identity in mRNAs, 81% identity of genomic DNA sequences

*BoTPPI-1* mRNA: 936 bp, *BoTPPI-2* mRNA: 1,087 bp.

*BoTPPI-1* from BN1 and BN2: 8 SNPs in exon (4 of them changed amino acid), 6 SNPs in intron, 2 SSRs in intron.

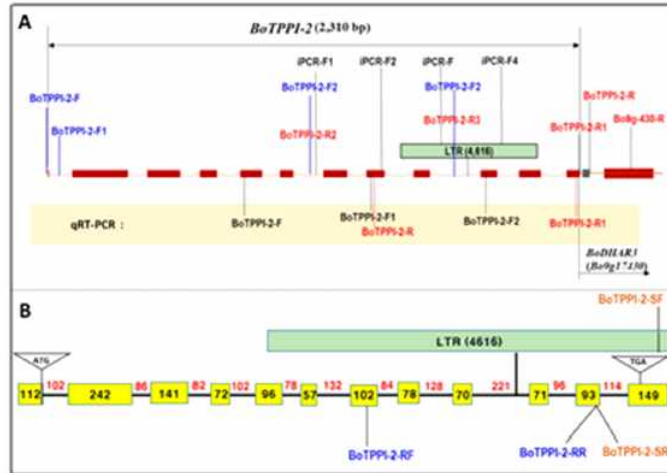


그림 134. Schematic representation of the *BoTPPI-2* gene and adjacent regions along with the names and binding sites of primers used for cloning, RT-PCR, and marker development. (A) Genomic structure of the *BoTPPI-2* gene and the 5' region of *BoDHAR3* (Bo9g17430). The binding sites of primers used for cloning, inverse PCR (iPCR), and qRT-PCR are shown. (B) Names and binding sites of primers used for marker development. Long terminal repeat (LTR; 4616 bp) was inserted into the ninth intron of *BoTPPI-2\_BN2* in the reverse orientation.

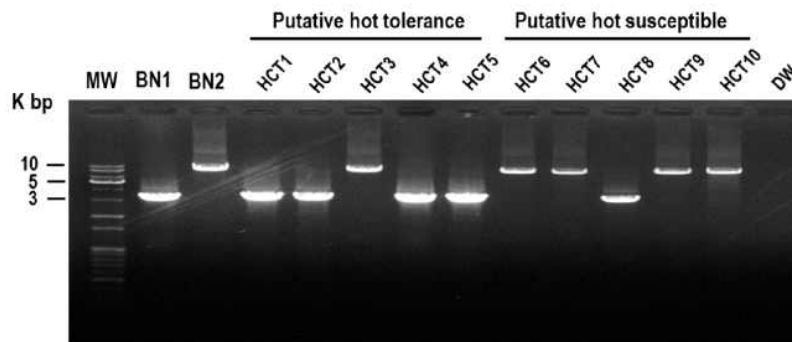


그림 135. Validation of two *BoTPPI-2* alleles (BN1-type and BN2-type) in cabbage inbred lines by PCR using the BoTTI-2-F/-R primer pair. Putative high temperature (HT)-tolerant lines (HCT1-5) and HT-susceptible lines (HCT6-10) were provided by Joen Seed Co., Korea.

여러 가지 고온처리 조건에서 발현을 분석한 결과 내서성이 약한 BN2에서는 전사체를 전혀 발견할 수 없었고, BN1에서만 탐지되어 RNA Seq 결과와 일치함을 보여 주었으며, 다른 열충격관련 유전자의 발현을 보았을 때 *BoTPPI-2*의 발현은 이들과 다른 회로를 통하여 내서성에 기여함을 알 수 있었음.

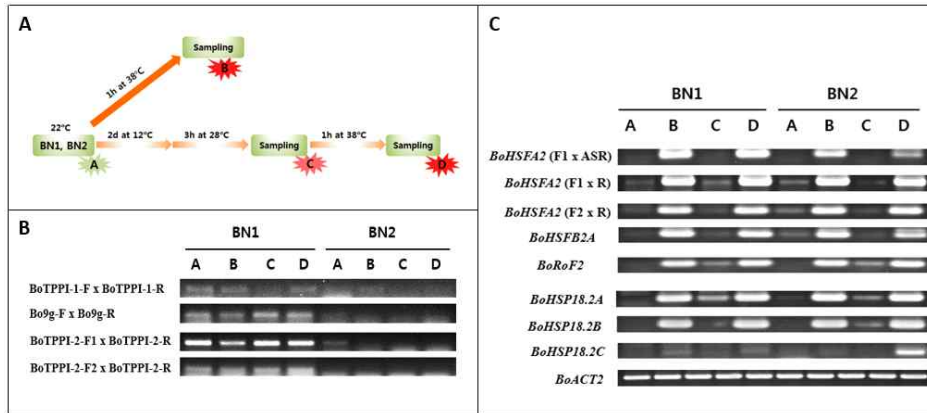


그림 136. Expression of BoTPPI genes and selected heat shock-related genes.

A, Temperature treatments, such as heat shock (B), warming (C) and heat shock after warming (D).

B, Expression of BoTPPI-1 and BoTPPI-2 from BN1 and BN2 inbred lines

C, Expression of HS-related genes from BN1 and BN2 inbred lines.

최종적으로 위 서열을 근거로 내서성 판별용 (*BoTPPI-2*와 *BoTPPI-2v*를 구분하는) 마커를 개발하여 분석한 결과 적어도 80% 정도는 육종가가 판별하는 내서성과 일치하였음 (그림 135)

위 마커를 F<sub>2</sub> 유전집단에서 선발한 개체를 대상으로 검증했을 때 비교적 잘 맞았음 (그림 136).

이후에 제공하는 데이터는 다양한 양배추 계통과 재배종을 대상으로 마커를 테스트한 것임. 결론적으로 대부분 양배추는 내서성 *BoTPPI-2* 유전자를 가지고 있는 것으로 나타남 (그림 137).

*BoTPPI-2*에 LTR이 삽입된 것은 양배추류 중에서 유일하게 *B. oleracea* var. *capitata*에만 적용되는 것 같음. (다음 그림과 같이 다른 양배추에서는 찾아볼 수 없었음) (그림 138-140)



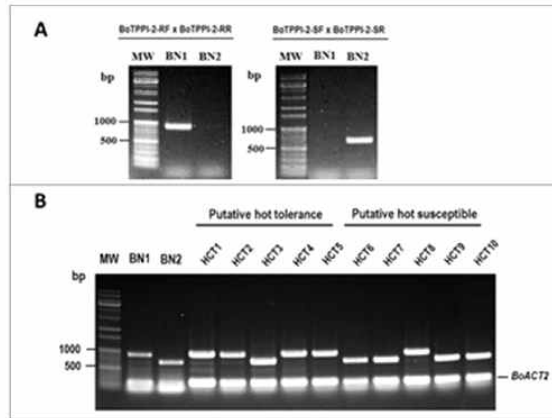


그림 137. Development and validation of the PCR-based marker used for the identification of HT-tolerant and -susceptible cabbage genotypes. (A) Marker development using two different primer sets: BoTPPI-2-RF/-RR for the HT-tolerant (BN1-type) allele and BoTPPI-2-SF/-SR for the HT-susceptible (BN2-type) allele. (B) Marker validation using cabbage inbred lines obtained from Choen Seed Co. The same primer sets were used as in A, and PCR products were separated on 1% agarose gel. *Brassica oleracea Actin2* (*BoACT2*) was used as a control.

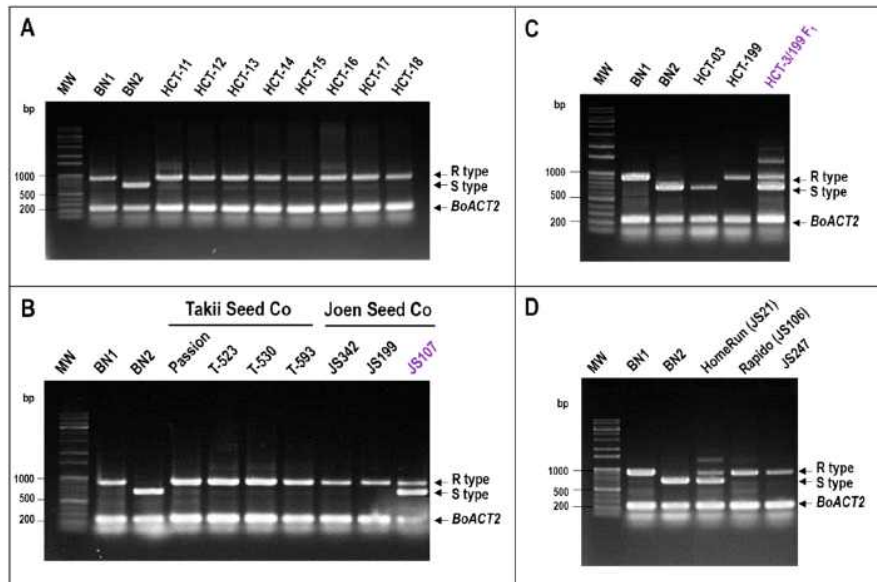


그림 138. Validation of hot tolerance of cabbages provided by Joen Seed Co. (A) Inbred lines that have been used for hot/cold tolerance source. (B) Cabbages that have been used for heat-tolerant and flat head sources. JS107 was a heat-susceptible line used as a reference, which was hybrid of HCT-07 and HCT-08 in Figure 7B. (C) Breeding material for hot tolerance selection. (D) Three representative cultivars for selling.

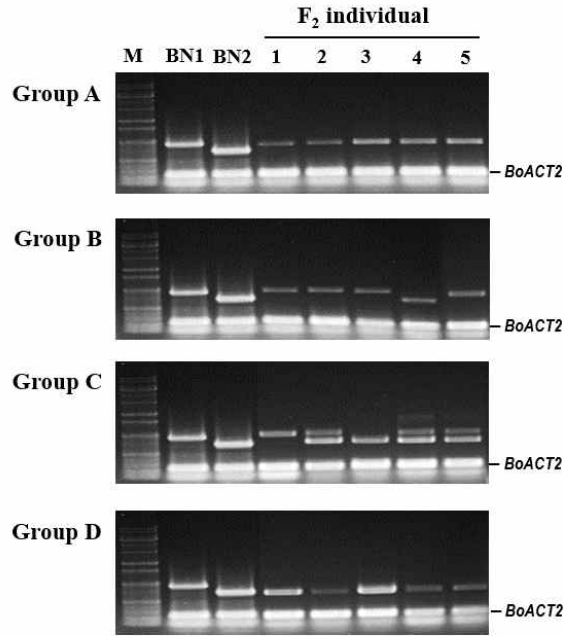


그림 139. Marker validation using selected five individuals from segregating F<sub>2</sub> populations derived from BN1 × BN2 cross. Group A to D were same as that of Figure 2C. Five individuals were selected from each group on the basis of leaf color.

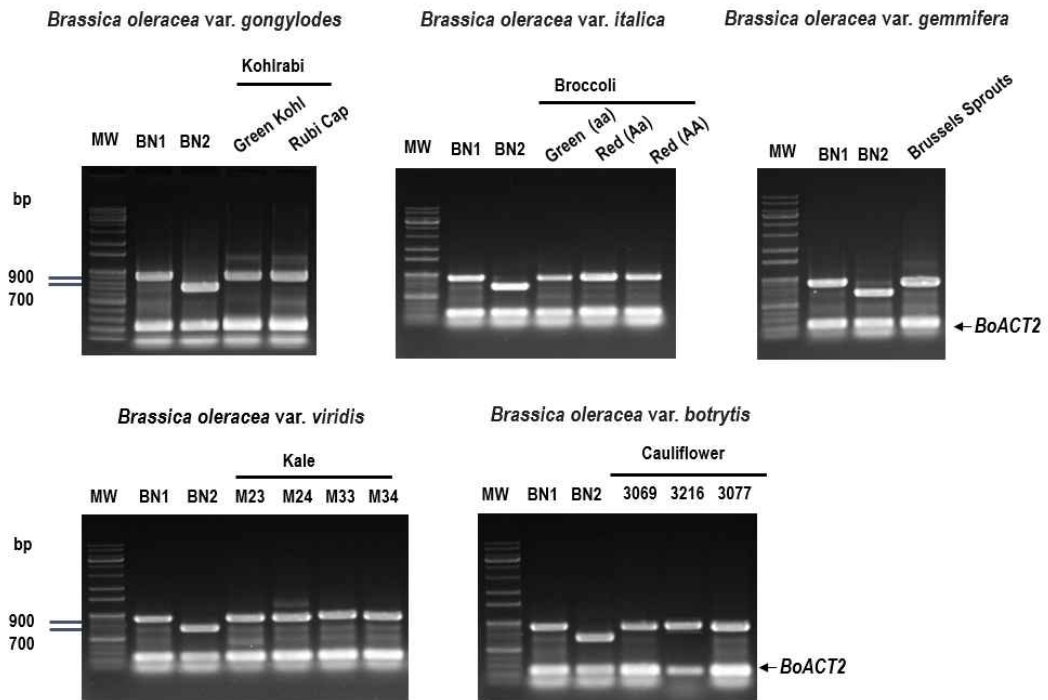


그림 140. 양배추류에 대한 검증결과

(2) *BoPIF4L* 유전자를 이용한 내서성 분자마커 개발

- 표적유전자 선발: 유전자는 내서성과 관련이 있는 논문을 찾아 검토한 후 다음과 같은 4개의 표적유전자를 선발하였으며, 이들에 대한 자세한 내용은 각 유전자 설명에서 하기로 함.

*PIF4*: bHLH transcriptional regulator PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4

*HOS1*: High expression of osmotically responsive genes 1 (E3 ubiquitin ligase HOS1)

*ELF3*: Early flowering 3

*RECQ2*: DNA helicase RECQ2/RECQ HELICASE L2 (RECQL2)

*HSFA2*: Heat Shock Transcription Factor A2

- 애기장대 유전자를 이용하여 양배추 게놈 홈페이지를 조사하여 다음과 같은 유전자 정보를 확보함

Gene	At_locus	BocDNA		BogDNA		Aligned score
		Size	No. of transcript	Size (Kbp)	No. of exon	
<i>PIF4</i>	AT2G43010	Bo3g036300 (BoPIF4) 1,245	1(4)	1.81	6	80.6
		Bo4g192880 (BoPIF4L) 1,224	1(4)	1.75	6	
<i>ELF3</i>	AT2G25930	Bo4g159930 (BoELF3) 1,700	1	2.76	4	
		Bo8g098940 (BoELF3L) 1,477	1	2.75	4	
<i>HOS1</i>	AT2G39810	Bo4g188620 (BoHOS1) 2,775	1(3)	4.33	10	73.5
		Bo3g034490 (BoHOS1L) 2,439	1	4.44	12	
<i>RECQ2</i>	AT1G31360	Bo8g032340 (BoRECQ2) 2,124	1(2)	4.24	20	
<i>HSFA2</i>	AT2G26150	Bo3g042080 (BoHSFA2) 1,050	1(4)	1.44	2	
		Bo4g154180 (BoHSFA2L) 771		1.24	4	

- 유전자 서열을 검토분석하여 게놈유전자를 클로닝하기 위한 프라이머를 작성하였음.

Primer information			
<i>BoPIF4</i>	BoPIF4-A-F: 5'-CTCCAGAGATCTGACATGGAACACC	BoPIF4-A-R: 5'-AATGCCACAGCCGCTTAGTG	1,854
<i>BoPIF4L</i>	BoPIF4-B-F: 5'-GAGATCTGACATGGAACATCAAGTTGG	BoPIF4-B-R: 5'-AGTGCAACGTCAGTTTTGTAGCTCT	1,780
<i>BoELF3</i> (2,766)	BoELF3-1F: 5'-AGGGGTTTGTGGGTGATGAAGAG	BoELF3-1R: 5'-CCTTAATCAGCCTGTGCAACTCAA	1,500
	BoELF3-2F: 5'-TTTGAGTTGCACAGGCTGATTAAGG	BoELF3-2R: 5'-AGAGTCAGTCGCAACACAATTACG	1,300

<i>BoELF3L</i> (2,733)	BoELF3L-1F: 5'-AGGGTTTGGTGATGAAGAGAGG	BoELF3L-1R: 5'-CAGCCTGTGCAGCTCAAACAG	1,500
	BoELF3L-2F: 5'-CTGTTTGAGCTGCACAGGCTG	BoELF3L-2R: 5'-GGCTCAAGGGTAGTAGTGTTCACGC	1,300
<i>BoHOS1-A</i> (4,361)	BoHOS1-A-F1: 5'-TTTCCTCTGCTCGTTTCGCTATCG	BoHOS1-A-R1: 5'-GCCATGCACGCTTAATTGCATTT	1,538
	BoHOS1-A-F2: 5'-GTGCATAAGACACGGATTTCTGGATG	BoHOS1-A-R2: 5'-AAAGGCCTCTCAATTTTCTGAAGCC	1,651
	BoHOS1-A-F3: 5'-GGCTTCAGAAAATTGAAGAGGCCTTT	BoHOS1-A-R3: 5'-TCATCTTGCAAGTGAATCTACGTGTCC	1,221
<i>BoHOS1-B</i> (4,465)	BoHOS1-B-F1: 5'-TCTTCTCCGTGTTTGGGTGAGG	BoHOS1-B-R1: 5'-CCATGCACGCTTAATTGCGTCT	1,809
	BoHOS1-B-F2: 5'-GTGCATAAGACACAGTTTCTGGAAG	BoHOS1-B-R2: 5'-GAAACTCTCTGCAATACTCTGGAGCT	1,675
	BoHOS1-B-F3: 5'-AGCTCCAGAGTATTGCAGAGAGTTTC	BoHOS1-B-R3: 5'-TCATCTTACAGCGAATCTACGCGTC	1,033
<i>BoRECQ2</i> (4,295)	BoRECQ2-F1: 5'-ACCGGTGAACCAATGAAAGTGA	BoRECQ2-R1: 5'-TGGACCTTCTGTGTAGCAGTTGC	1,360
	BoRECQ2-F2: 5'-GCAACTGCTACACAGAAGGTCCA	BoRECQ2-R2: 5'-TGCAATCTTGTGACGGCTCTCC	1,487
	BoRECQ2-F2: 5'-GCAACTGCTACACAGAAGGTCCA	BoRECQ2-R3: 5'-CGGTTTCCGACGACCTGAAAT	1,493
<i>BoHASF2</i> (1,491)	BoHSAF2-F: 5'-CAGAGTCAGTCTTTGGCTATGGA	BoHSAF2-R: 5'-AGTGAGATGTGCTCGAGCTGTA	1,491
<i>BoHASF2L</i> (1,288)	BoHSAF2L-F: 5'-CGGCCTAACTCCTTTGTTCTCCA	BoHSAF2L-R: 5'-CCTTATTAGGCACGAACTACTACTCA	1,288

○ 내서성 연구 양배추 재료:

양배추 내서성 분자마커를 개발하고 검증하기 위하여 사용한 양배추 재료는 다음과 같음  
(모두가 내흔계통임)

특 성	아시아종묘(주)	조은종묘(주)
내서성 강	BN1	HCT-01, HCT-02
내서성 약	BN2	HCT-03, HCT-04

○ 마커 검증은 조은종묘에서 제공한 양배추 잎을 시료로 활용하였음

HT-1 ~ HT-17: 내서성 강

HT-18 ~ HT-35: 내서성 약

HT-36 ~ HT-51: 내서성 중

○ 마커검증을 위한 프라이머와 검증결과 요약

Gene			Marker pair	Results	Remarks
Name	Size (bp)	Structure			
<i>BoPIF4</i>	1,825	6E + 5I	-	-	-
<i>BoPIF4L</i>	1,760	6E + 5I	SF1 X SR1	Good	Sensitive line selection
			RF1 X RR1	Very good	Resistant line selection
			SF2 X SR2	NG	
			RF2 X RR2	NG	
<i>BoELF3</i>	2,799	4E + 3I	-	-	-

<i>BoELF3L</i>	2,722	4E + 3I	F1 X RR1	Good	Resistant line selection	
			F1 X SR1	NA		
			RF2 X R2	NA		
			SF2 X R2	NA		
			RF3 X R3	NA		
			SF3 X R3	NA		
			RF4 X R4	Good		
SF4 X R4	NA	Resistant line selection				
<i>BoRECQ2</i>	4,265	20E + 19I	RF1 X RR1	NG	Resistant line selection	
			SF1 X SR1	Good		Sensitive line selection
			F2 X R2	NA		
			RF3 X R3	Good		Resistant line selection
			SF3 X R3	NA		
<i>BoHSFA2</i>	1,491	2E + 1I	-	-	-	
<i>BoHSFA2L</i>	1,288	4E + 3I	SF1 X SR1	NG		
			RF1 X RR1	NG		
<i>BoHOS1</i>	4,405	10E + 9I	-	-	-	
<i>BoHOS1L</i>	4,450	12E + 11I	-	-	-	

E: exon, I: intron, NG: no good, NA: not amplified

-: polymorphism was not found

### ○ 표적유전자별 연구결과

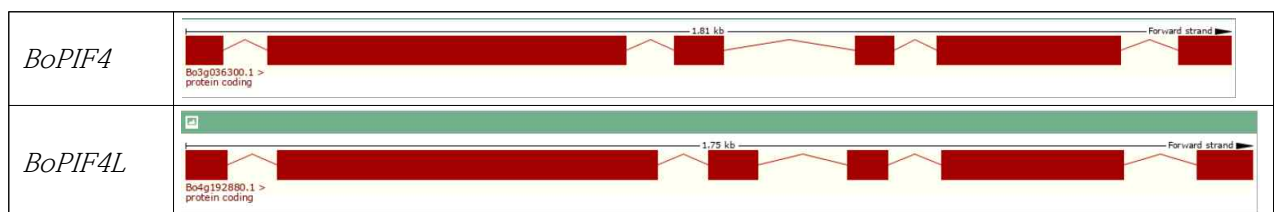
#### *BoPIF4* 유전자

①선택이유: 애기장대 유전자 (*AtPIF4*: AT2G43010)가 thermotolerance와 관계가 있음이 다수의 논문에 의해 입증되었음.

②양배추 유전자: *AtPIF4*와 상동성을 지닌 양배추 유전자에는 2개가 존재함 (애기장대와 서열이 가장 가까운 유전자를 *BoPIF4*로 그리고 다른 유전자를 *BoPIF4L* (like)로 명명하였음.

**Bo3g036300: *BoPIF4***

**Bo4g192880: *BoPIF4L* (like)**



#### ③ Primer sequences for genomic DNA cloning:

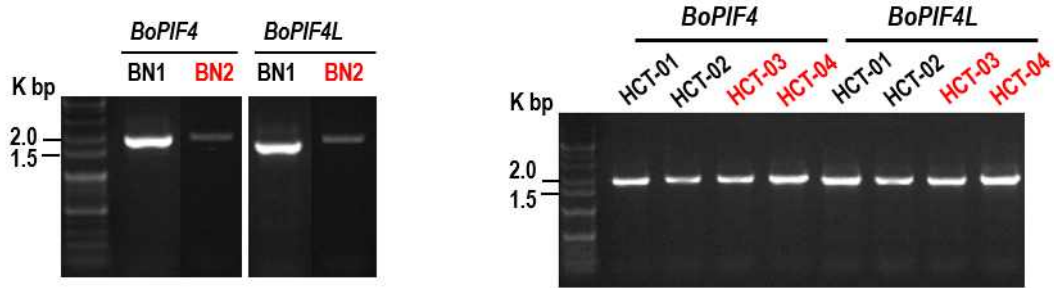
BoPIF4-F: 5'-CTCCAGAGATCTGACATGGAACACC

BoPIF4-R: 5'-AATGCCACAGCCGCTTAGTG (CACTAAGCGGCTGTGGCATT)

BoPIF4L-F: 5'-GAGATCTGACATGGAACATCAAGGTTGG

BoPIF4L-R: 5'-AGTGCAACGTCAGTTTTGTAGCTCT (AGAGCTACAAAAGTACGTTGCACT)

④ PCR 결과: 아시아종묘 양배추 2계통 (BN1, 내서성강; BN2, 내서성 약)과 조은종묘 4계통 (HCT-01, HCT-02: 내서성 강)(HCT-03, HCT-04: 내서성 약)을 이용하였음



⑤ Genomic DNA 클로닝과 염기서열 분석 결과: 자세한 내용은 마지막 부분에 넣음

- *BoPIF4* 6계통 양배추의 서열이 1,854 (1,825 bp from ATG to TAA) bp가 100% identical: 믿기 어려운 데이터임

- *BoPIF4L*:

- BN1과 BN2에는 A SSR1개 차이만 존재 (아마도 false): BN1: 1,760 bp, BN2: 1,759 bp

- HT01/HT02와 HT03/HT04 다수의 polymorphism이 발견됨; 마커 개발에 좋은 정보임.

	InDel	SNP	SSR
Exon	2	25	-
Intron	1	9	3

⑥ 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성과 그 결과:

Primer set for Marker validation: S, sensitive; R, resistance

BoPIF4L-SF1: 5'-TGCAACTTATCCAACAATAGGAGATCATC  
BoPIF4L-SR1: 5'-GACATCAAGATTGTTATGAGATTGGCTG 500 bp

BoPIF4L-RF1: 5'-GAATTACAATTTGTCCAACAATAGGAGACC  
BoPIF4L-RR1: 5'-ATTGGCTGCTTCCGCAATGG 500 bp

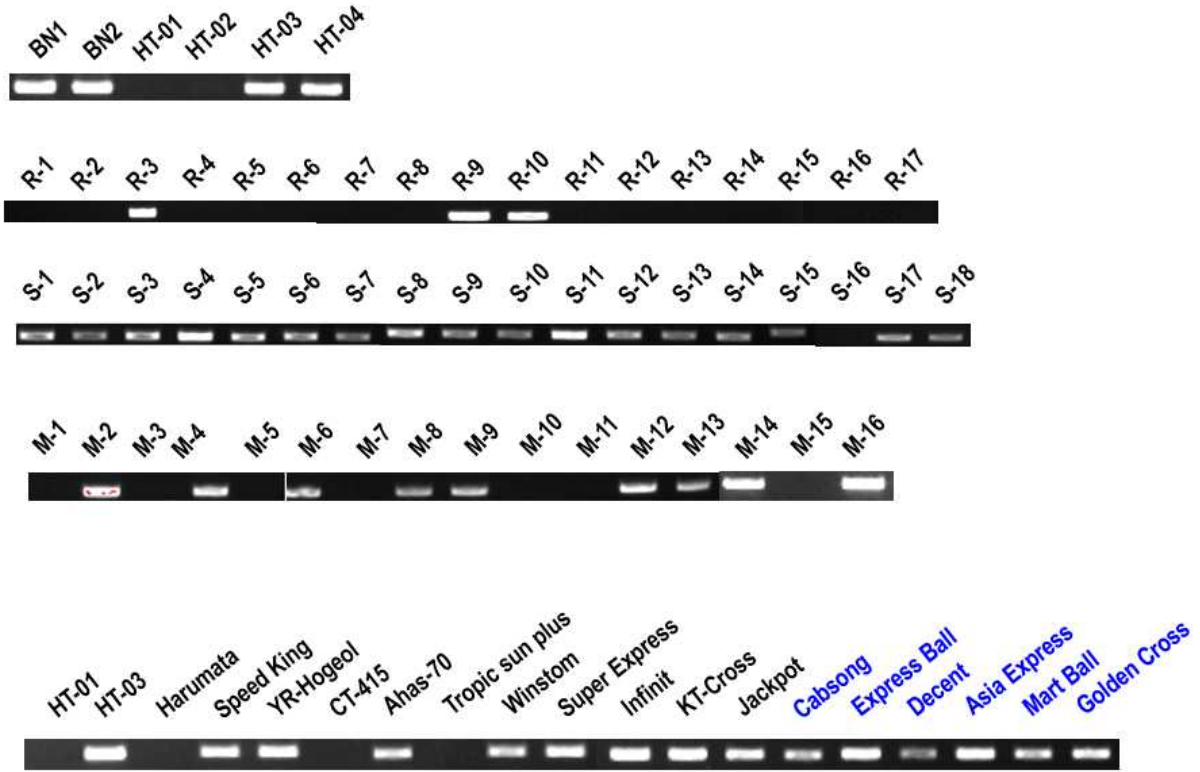
BoPIF4L-SF2: 5'-TTTTGACCGTTGGACCGAGCA  
BoPIF4L-SR2: 5'-GAGCCACCTGATGATGAACCTGC 120 bp

BoPIF4L-RF2: 5'-GACCGTTGGACCGAGCCATT  
BoPIF4L-RR2: 5'-GGAGCCACCTGATGATGAACCTAC 120 bp

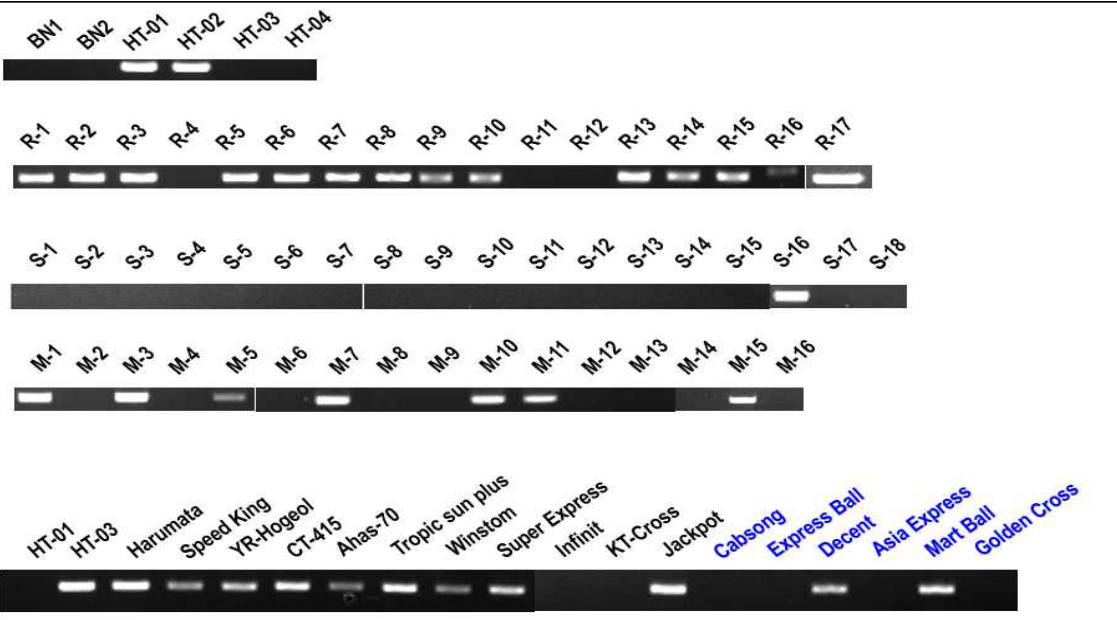
SF1 x SR1: 60°C --- 민감성 색출마커

- 민감성은 1개 계통을 제외하고는 모두 색출
- 저항성의 경우 18%가 검출됨 --- 100% 완전하지는 않지만 마커로 사용이 가능함
- 중도저항성은 56%가 민감성 유전자로 분류됨
- 시판종 대부분은 민감성으로 나타남



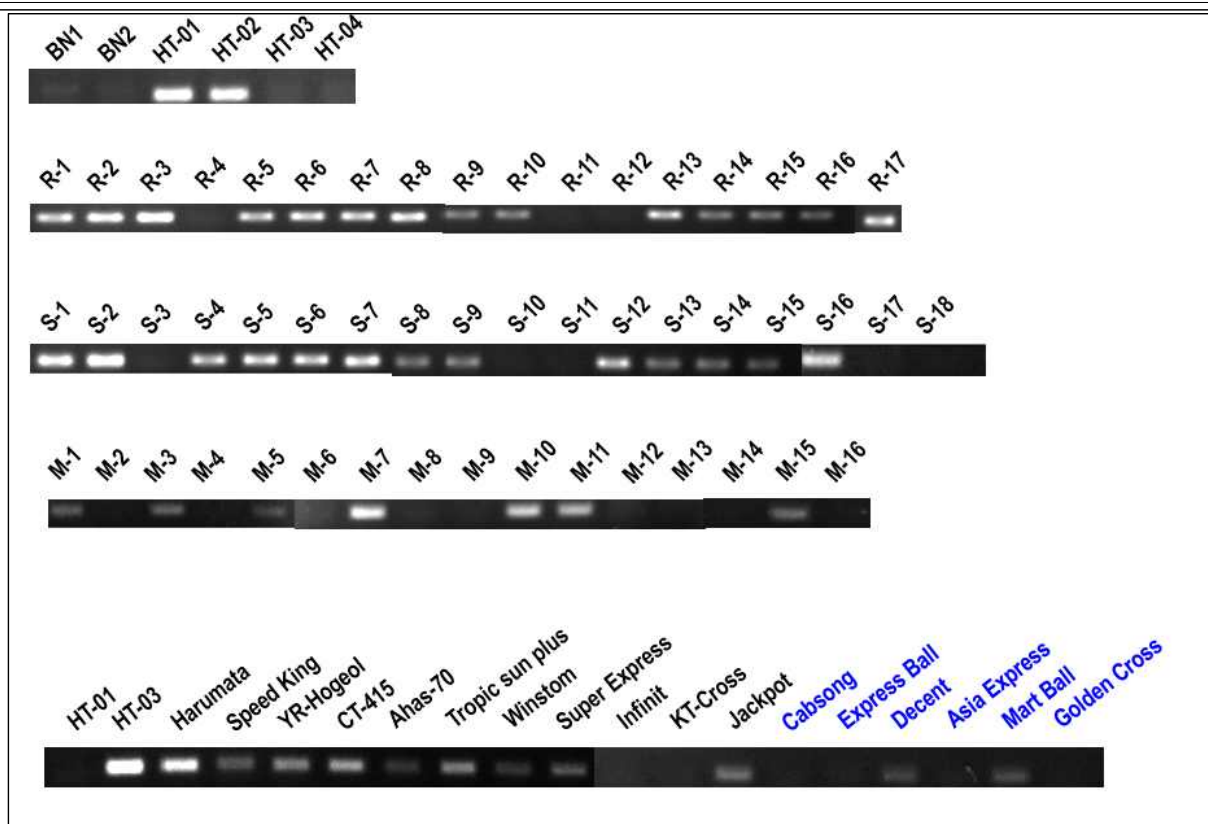


RF1 x RR1: 60°C --- 저항성 색출 마커



- 저항성의 82%가 검출됨
- 민감성은 오직 1개만 검출 (6%)
- 중도저항성은 44%만 이 유전자를 지님
- 시판종은 저항성의 77%, 민감성의 67%을 맞춤
- 가장 좋은 마커가 될 것 같음

RF2 x RR2: 60°C --- 저항성 색출마커



- 저항성과 민감성 대부분이 검출됨
- 마커로 사용에 적합하지 않음

⑦ 클로닝한 서열과 분석결과 (*BoPIF4* 부록)

***BoPIF4*: Bo3g036300: 1 transcript**

- *PIB4*: 6계통 양배추의 서열이 1,854 bp가 100% identical: incredible

>RoPIF4 BN1  
 CTCCAGAGATCTGACATGGAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATATAATGTTTAACTAATTTATACATTAATTA AAAAGGACTATACAATAGT  
 TCTGAGTGTGTATATGTTGTAAGGCCACAAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCCAGCAGAGCCAAACTCATAGAGATCATACTCAAGCTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGA  
 ACCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTTGGATCCAATACCTCTTAGATGAAGATCCATTTGAATCCGAAGACTTCACCTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCCCCAGAGACTT  
 CTTTCAGAGACGGTTAAGCAGGAGGCCGGTCCCTGTCCTCCCTGATCAAGTCAATGCCCTCTCTCAAGTTTAGGCTAACGGATTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
 ACCGAACCACTCGGGAGCAACCAATCTCAAACCGATCCCGATGTCATTGACTCATGATCCAAGTAAAACAATCGATGAGAGGCTCTACTCGACCAGAAAATTCATCATCAGGTGGCTCCTCTGGTTGCAGCTTT  
 GGCAAGAACCAACAAGAAATAGCTTTGTGGAAGAAGCATCACAGCAGACCGTAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAAGATGATATGCTTTATTTTTAACTCATGATGATAAGTTCT  
 GAAACGTTTTCTTAGTCCATTTCTCATTTGTTCTTGAACGTTTTACAGGCTATCCGGTAATAGCAAGTGAACCAAGGATCAGGATCAACCGAAGAAGTCGAGCAGCTGAAGTTCAATACTTTCCGAAAGGTA  
 TTTTTCAATTCGCTAATTAATTTTTTTTCATCATAAATGATTTTTTGGCTATGTTCAATTTTCACTAACTTTAAACTAATAGCATTTCAATAAAGTTCAATGTTCTTTGAGGTTTATTTATTTATAAACTA  
 AACATCTATTTTTATCGGAGGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATTAAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGGCTTTGCACGAA  
 TAATACCTCACTGCACAAAAGTAAGTTATAAAGTTGAAATCTGATATGGGGACTAATTTGATTAAGTTGGTGTCAATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAGCCATAGATTTT  
 GAAGTCACTTCAAGTTACAGCTTCAAGTTATGTTGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCTGACAGGACTCCTATTATGTTCCCTGGGTACAGCTCCTCCACCGTTCACTCCGTCAGGTGCAAGCCCGGTACTGTT  
 CCACGATTTCCGGTTATCGACGGTCTGCTATTCAGAACAATCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGCCAAAGTTTTTCCGATCCGGTTGGTATGATGTTGGCTTATTTCCACGTTATGCAAGGGCACG  
 CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGGTTGATATAAAGCTAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTTCTC  
 GGCGGGACAGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGGCTCTCGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

RoPIF4 BN2  
 CTCCAGAGATCTGACATGGAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATATAATGTTTAACTAATTTATACATTAATTA AAAAGGACTATACAATAGT  
 TCTGAGTGTGTATATGTTGTAAGGCCACAAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCCAGCAGAGCCAAACTCATAGAGATCATACTCAAGCTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGA  
 ACCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTTGGATCCAATACCTCTTAGATGAAGATCCATTTGAATCCGAAGACTTCACCTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCCCCAGAGACTT  
 CTTTCAGAGACGGTTAAGCAGGAGGCCGGTCCCTGTCCTCCCTGATCAAGTCAATGCCCTCTCTCAAGTTTAGGCTAACGGATTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
 ACCGAACCACTCGGGAGCAACCAATCTCAAACCGATCCCGATGTCATTGACTCATGATCCAAGTAAAACAATCGATGAGAGGCTCTACTCGACCAGAAAATTCATCATCAGGTGGCTCCTCTGGTTGCAGCTTT  
 GGCAAGAACCAACAAGAAATAGCTTTGTGGAAGAAGCATCACAGCAGACCGTAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAAGATGATATGCTTTATTTTTAACTCATGATGATAAGTTCT  
 GAAACGTTTTCTTAGTCCATTTCTCATTTGTTCTTGAACGTTTTACAGGCTATCCGGTAATAGCAAGTGAACCAAGGATCAGGATCAACCGAAGAAGTCGAGCAGCTGAAGTTCAATACTTTCCGAAAGGTA  
 TTTTTCAATTCGCTAATTAATTTTTTTTCATCATAAATGATTTTTTGGCTATGTTCAATTTTCACTAACTTTAAACTAATAGCATTTCAATAAAGTTCAATGTTCTTTGAGGTTTATTTATTTATAAACTA  
 AACATCTATTTTTATCGGAGGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATTAAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGGCTTTGCACGAA  
 TAATACCTCACTGCACAAAAGTAAGTTATAAAGTTGAAATCTGATATGGGGACTAATTTGATTAAGTTGGTGTCAATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAGCCATAGATTTT  
 GAAGTCACTTCAAGTTACAGCTTCAAGTTATGTTGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCTGACAGGACTCCTATTATGTTCCCTGGGTACAGCTCCTCCACCGTTCACTCCGTCAGGTGCAAGCCCGGTACTGTT  
 CCACGATTTCCGGTTATCGACGGTCTGCTATTCAGAACAATCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGCCAAAGTTTTTCCGATCCGGTTGGTATGATGTTGGCTTATTTCCACGTTATGCAAGGGCACG  
 CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGGTTGATATAAAGCTAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTTCTC  
 GGCGGGACAGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGGCTCTCGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

>BoPIF4 HT01  
 CTCCAGAGATCTGACATGGAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATATAATGTTTAACTAATTTATACATTAATTA AAAAGGACTATACAATAGT  
 TCTGAGTGTGTATATGTTGTAAGGCCACAAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCCAGCAGAGCCAAACTCATAGAGATCATACTCAAGCTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGA  
 ACCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTTGGATCCAATACCTCTTAGATGAAGATCCATTTGAATCCGAAGACTTCACCTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCCCCAGAGACTT  
 CTTTCAGAGACGGTTAAGCAGGAGGCCGGTCCCTGTCCTCCCTGATCAAGTCAATGCCCTCTCTCAAGTTTAGGCTAACGGATTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
 ACCGAACCACTCGGGAGCAACCAATCTCAAACCGATCCCGATGTCATTGACTCATGATCCAAGTAAAACAATCGATGAGAGGCTCTACTCGACCAGAAAATTCATCATCAGGTGGCTCCTCTGGTTGCAGCTTT  
 GGCAAGAACCAACAAGAAATAGCTTTGTGGAAGAAGCATCACAGCAGACCGTAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAAGATGATATGCTTTATTTTTAACTCATGATGATAAGTTCT  
 GAAACGTTTTCTTAGTCCATTTCTCATTTGTTCTTGAACGTTTTACAGGCTATCCGGTAATAGCAAGTGAACCAAGGATCAGGATCAACCGAAGAAGTCGAGCAGCTGAAGTTCAATACTTTCCGAAAGGTA  
 TTTTTCAATTCGCTAATTAATTTTTTTTCATCATAAATGATTTTTTGGCTATGTTCAATTTTCACTAACTTTAAACTAATAGCATTTCAATAAAGTTCAATGTTCTTTGAGGTTTATTTATTTATAAACTA  
 AACATCTATTTTTATCGGAGGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATTAAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGGCTTTGCACGAA  
 TAATACCTCACTGCACAAAAGTAAGTTATAAAGTTGAAATCTGATATGGGGACTAATTTGATTAAGTTGGTGTCAATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAGCCATAGATTTT  
 GAAGTCACTTCAAGTTACAGCTTCAAGTTATGTTGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCTGACAGGACTCCTATTATGTTCCCTGGGTACAGCTCCTCCACCGTTCACTCCGTCAGGTGCAAGCCCGGTACTGTT  
 CCACGATTTCCGGTTATCGACGGTCTGCTATTCAGAACAATCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGCCAAAGTTTTTCCGATCCGGTTGGTATGATGTTGGCTTATTTCCACGTTATGCAAGGGCACG  
 CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGGTTGATATAAAGCTAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTTCTC  
 GGCGGGACAGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGGCTCTCGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

ACCCTAAGATCCACACTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTGGATCCAAATCCCTCTAGATGAAGATCCATTTGAATCCGAGACTTCACTCACCTTTCTTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTT  
CTTCAGAGACGGTAAAGCAGAGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCATGCTCCCTCAAGTTTAGGCTAACGGATTTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
ACCGAACCTATCGGGGAGCAACCTTCTCAACCGATCCCGATGTCCTATGACTCATGATCCCAAGTAAACAAATCGATGAGAGGCTCTACTCGACGAAAATTCATCATCAGGTGCTCTCTGGTTCAGCTT  
GGCAAGAACCAAGAAAGTAACTTTTGAAGATCAAGAACCGTCAACAGCAGACCGTAAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAGATGATGCTTTATTTTAACTCATGATGAACTTCT  
GAAACGTTTTCTTATGCTCAATTTCTCATTTGCTTGAACCGTTTTACAGGCTATCCGTAATAGCAAGTCCGAAACAGGATCAGGATCAACCCGAAAGAGTCCGAGCAGCTGAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTA  
TTTTTCAATTCGCTCAATTAATTTTTTTCATCAATAAGTATTTTTTGTCTATTGCTCAATTTTCACTAACTTTAAACCTAATAGCATTTCAATAAGTTCATTTGAGGTTTATTTATTAATAAACTA  
AACATCTATTTATCGGAGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAGGCTTTCGACGAA  
TAATACCTCACTGCACAAAGTAAAGTTAAACTTGAATCTGATATGGGGACTAATTTAGTTAGTGTGTCATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAAGCCATAGATATTT  
GAAGTCACTTCAAGTTCACGCTTCAAGTTATGTTGGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCAGGCACTCTCTATATGTTCCCTGGGTACAGCTCCCTCCACCGTTCACTCCGAGGTGCAACCGGTTGTT  
CCACGATTTCCGGTTATCGAGGGTCTGCTATTCAGAACAACTCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGGCCAAGTTTTCCCGATCGGTTGGTAGATATGTTGGCCCTATCCACAGTATGACGGGACCG  
CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGTGGTTTGAATTAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTCTC  
GGCGGGACAGGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGCTCTCTGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

>RoPIF4 HT02

CTCCAGAGATCTGACATGGAACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT  
TCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAGCTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGA  
ACCTTAAGATCCCAACACTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAGACTTCACTCACCTTCTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACTT  
CTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAAGTCACTCCCTCAAGTTTAGGCTAACCGATTTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
ACCGAACCTATCGGGAGCAACCAATCTCAAACCGATCCCGATGTCCTCATGACTCATGATCCAAAGTAAACAACTCGATGAGAGGCTCTACTCGACCCAAAATTCATCATCAGGTGGCTCTCTGGTTCGACCTT  
GGCAAGAACCAAGAAATAGCTTTGGAAGAGAGCATCACAGCAGACCGTAAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAGATGATGCTTTATTTTAACTCATGATGATAAGTTCTT  
GAAACGTTTTCTTATGCTCAATTTGATGTTCTTGAACGTTTTACAGGCTATCCGTAATAGCAAGTCCGAAACAGGATCAGGATCAACCCGAAAGAGTCCGAGCTGAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTA  
TTTTTCAATTCGCTCAATTAATTTTTTTCATCAATAAGTATTTTTTGTCTATTGCTCAATTTTCACTAACTTTAAACTAATAGCATTTCAATAAAGTTCATTTGTTCTTTGAGGTTTATTTATTAATAAACTA  
AACATCTATTTTTATCGGAGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAGGCTTTGACGAA  
TAATACCTCACTGCACAAAGTAAAGTTAAACTTGAATCTGATATGGGGACTAATTTAGTTAGTGTGTCATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAAGCCATAGATATTT  
GAAGTCACTTCAAGTTCACGCTTCAAGTTATGTTGGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCAGGCACTCTCTATATGTTCCCTGGGTACAGCTCCCTCCACCGTTCACTCCGAGGTGCAAAAGCCGGTACTGTT  
CAACGATTTCCGTTATCGAGGGTCTGCTATTCAGAACAACTCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGGCCAAGTTTTCCCGATCGGTTGGTAGATATGTTGGCCCTATCCACAGTATGACGGGACCG  
CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGTGGTTTGAATTAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTCTC  
GGCGGGACAGGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGCTCTCTGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

>BoPIF4 HT03

CTCCAGAGATCTGACATGGAACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT  
TCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAGCTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGA  
ACCTTAAGATCCCAACACTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAGACTTCACTCACCTTCTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACTT  
CTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAAGTCACTCCCTCAAGTTTAGGCTAACCGATTTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
ACCGAACCTATCGGGAGCAACCAATCTCAAACCGATCCCGATGTCCTCATGACTCATGATCCAAAGTAAACAACTCGATGAGAGGCTCTACTCGACCCAAAATTCATCATCAGGTGGCTCTCTGGTTCGACCTT  
GGCAAGAACCAAGAAATAGCTTTGGAAGAGAGCATCACAGCAGACCGTAAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAGATGATGCTTTATTTTAACTCATGATGATAAGTTCTT  
GAAACGTTTTCTTATGCTCAATTTGATGTTCTTGAACGTTTTACAGGCTATCCGTAATAGCAAGTCCGAAACAGGATCAGGATCAACCCGAAAGAGTCCGAGCTGAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTA  
TTTTTCAATTCGCTCAATTAATTTTTTTCATCAATAAGTATTTTTTGTCTATTGCTCAATTTTCACTAACTTTAAACTAATAGCATTTCAATAAAGTTCATTTGTTCTTTGAGGTTTATTTATTAATAAACTA  
AACATCTATTTTTATCGGAGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAGGCTTTGACGAA  
TAATACCTCACTGCACAAAGTAAAGTTAAACTTGAATCTGATATGGGGACTAATTTAGTTAGTGTGTCATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAAGCCATAGATATTT  
GAAGTCACTTCAAGTTCACGCTTCAAGTTATGTTGGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCAGGCACTCTCTATATGTTCCCTGGGTACAGCTCCCTCCACCGTTCACTCCGAGGTGCAAAAGCCGGTACTGTT  
CCACGATTTCCGGTTATCGAGGGTCTGCTATTCAGAACAACTCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGGCCAAGTTTTCCCGATCGGTTGGTAGATATGTTGGCCCTATCCACAGTATGACGGGACCG  
CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGTGGTTTGAATTAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTCTC  
GGCGGGACAGGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGCTCTCTGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

>RoPIF4 HT04

CTCCAGAGATCTGACATGGAACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT  
TCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAGCTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGA  
ACCTTAAGATCCCAACACTTTCTTGAAGATCAAGAAACCGTCTCTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAGACTTCACTCACCTTCTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACTT  
CTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAAGTCACTCCCTCAAGTTTAGGCTAACCGATTTCATCATCAGGAGGTAGGGAACCTAGGAAAAGAACAGTACTCGGTGATGACCGTTG  
ACCGAACCTATCGGGAGCAACCAATCTCAAACCGATCCCGATGTCCTCATGACTCATGATCCAAAGTAAACAACTCGATGAGAGGCTCTACTCGACCCAAAATTCATCATCAGGTGGCTCTCTGGTTCGACCTT  
GGCAAGAACCAAGAAATAGCTTTGGAAGAGAGCATCACAGCAGACCGTAAAGAGAAAACATATAATGGACACTGATGAATCTGTGTCAGTCAGATGATGCTTTATTTTAACTCATGATGATAAGTTCTT  
GAAACGTTTTCTTATGCTCAATTTGATGTTCTTGAACGTTTTACAGGCTATCCGTAATAGCAAGTCCGAAACAGGATCAGGATCAACCCGAAAGAGTCCGAGCTGAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTA  
TTTTTCAATTCGCTCAATTAATTTTTTTCATCAATAAGTATTTTTTGTCTATTGCTCAATTTTCACTAACTTTAAACTAATAGCATTTCAATAAAGTTCATTTGTTCTTTGAGGTTTATTTATTAATAAACTA  
AACATCTATTTTTATCGGAGGTAGTGTATGATGATTCAGACAAAGATATATACTAAGTAACTCTGTTTCATTTGTTAATTAATAGAGGAGGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAGGCTTTGACGAA  
TAATACCTCACTGCACAAAGTAAAGTTAAACTTGAATCTGATATGGGGACTAATTTAGTTAGTGTGTCATCGAGTTTGTTTTTCTTGTAGACTGATAAAGCTTCAATTTTGAAGAAAGCCATAGATATTT  
GAAGTCACTTCAAGTTCACGCTTCAAGTTATGTTGGATGGGGAGTGGAAATGGCTGGTGTGCAGGCACTCTCTATATGTTCCCTGGGTACAGCTCCCTCCACCGTTCACTCCGAGGTGCAAAAGCCGGTACTGTT  
CCACGATTTCCGGTTATCGAGGGTCTGCTATTCAGAACAACTCCCTGGTTAGTTTGTCAAACCCGGTACAAGGCCAAGTTTTCCCGATCGGTTGGTAGATATGTTGGCCCTATCCACAGTATGACGGGACCG  
CTCAGGTAAGGCTCATACGTTACGTAGTTAAGTACATATAAGAGCCAGTGAATGCCACAACGACGTAGTTTATTTGACATGTTGTGGTTTGAATTAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTCTC  
GGCGGGACAGGAAAGTCAACGTACTTCTGCGCCGACGAAGACCACCGAGCTCTCTGTTAGGGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT

BoPIF4_BN1	CTCCAGAGATCTGAC	GAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT
RoPIF4_BN2	CTCCAGAGATCTGAC	GAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT
BoPIF4_HT01	CTCCAGAGATCTGAC	GAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT
BoPIF4_HT02	CTCCAGAGATCTGAC	GAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT
RoPIF4_HT04	CTCCAGAGATCTGAC	GAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT
BoPIF4_HT03	CTCCAGAGATCTGAC	GAACACCAAGGTTGGAGTTTTGAGGAGAATTACAATCTGTCCAATAATAGAAGATTTATAAGGTAATAATAGTTTAACTAATTTATACATTAATTAAGAGGACTATACAAAGT

BoPIF4_BN1	GGACTATAACAATAGTCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAG
RoPIF4_BN2	GGACTATAACAATAGTCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAG
BoPIF4_HT01	GGACTATAACAATAGTCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAG
BoPIF4_HT02	GGACTATAACAATAGTCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAG
RoPIF4_HT04	GGACTATAACAATAGTCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAG
BoPIF4_HT03	GGACTATAACAATAGTCTGAGTGTGATATGTTGTAGGCCACAAGATGAACCTAGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCAGCAGAGCCAACTCATAGAGATCATACTCAAG

BoPIF4_BN1	CTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGAAACCCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCCGCTCTTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAG
RoPIF4_BN2	CTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGAAACCCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCCGCTCTTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAG
BoPIF4_HT01	CTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGAAACCCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCCGCTCTTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAG
BoPIF4_HT02	CTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGAAACCCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCCGCTCTTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAG
RoPIF4_HT04	CTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGAAACCCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCCGCTCTTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAG
BoPIF4_HT03	CTCAAGCTCAAGCTCAGAAACAGGATCAAGAAACCCCTAAGATCCCAACACTTTTCTTGAAGATCAAGAAACCCGCTCTTGGATCCAAATACCTCTAGATGAAGATCCATTTGAAATCCGAAAG

RoPIF4_BN1	ACTTCACTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTGCTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAATGCTCTCTCTAAGTTTAGGC
RoPIF4_BN2	ACTTCACTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTGCTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAATGCTCTCTCTAAGTTTAGGC
BoPIF4_HT01	ACTTCACTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTGCTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAATGCTCTCTCTAAGTTTAGGC
BoPIF4_HT02	ACTTCACTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTGCTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAATGCTCTCTCTAAGTTTAGGC
RoPIF4_HT04	ACTTCACTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTGCTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAATGCTCTCTCTAAGTTTAGGC
BoPIF4_HT03	ACTTCACTCACCTTTCTTCTCAACTATAGATCCCTCCAGAGACCTGCTTCAGAGACGGTTAAGCAGAGGCGGCTCTGCTCCCTGATCAAGTCAATGCTCTCTCTAAGTTTAGGC





BoPIF4\_HT02 GTGAAATGCCACAAACGACGTAGTTTATTGACATGTTGTGGTTTGAATATAAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTTCTCCGGCGGGACAGGAAAGTCAACGACTTCTGCGC  
BoPIF4\_HT04 GTGAAATGCCACAAACGACGTAGTTTATTGACATGTTGTGGTTTGAATATAAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTTCTCCGGCGGGACAGGAAAGTCAACGACTTCTGCGC  
BoPIF4\_HT03 GTGAAATGCCACAAACGACGTAGTTTATTGACATGTTGTGGTTTGAATATAAACGTAAGCCGATGGAGATGATGACATTTGGTTCTCCGGCGGGACAGGAAAGTCAACGACTTCTGCGC  
\*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 CGACGAAGACCACCGACGGTCTCTCGT GGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT  
BoPIF4\_BN2 CGACGAAGACCACCGACGGTCTCTCGT GGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT  
BoPIF4\_HT01 CGACGAAGACCACCGACGGTCTCTCGT GGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT  
BoPIF4\_HT02 CGACGAAGACCACCGACGGTCTCTCGT GGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT  
BoPIF4\_HT04 CGACGAAGACCACCGACGGTCTCTCGT GGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT  
BoPIF4\_HT03 CGACGAAGACCACCGACGGTCTCTCGT GGCGCCACTAAGCGGCTGTGGCATT  
\*\*\*\*\*

음영부분은 exon을 의미함

### BoPIF4L: Bo4g192880

#### PIF4L:

- 1) BN1과 BN2에는 A SSR1개 차이만 존재 (아마도 false): BN1: 1,760 bp, BN2: 1,759 bp
- 2) HT01/HT02와 HT03/HT04 다수의 Polymorphism이 발견됨

#### >PIF4L\_BN1

GAGATCTGACATGGAACTCAAGTTGGAAATTTGAGGAGAATTGCAACTTATCCAAACAATAGGAGATCATCTTTAAGGTATATATGTTTAACTAATTCATTTAGCGTTTAAAAAATCTATATAA  
AGTATCTGAGTGTACATATTTGTAGGCCACAAGATGAACAGTGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCTCAGAGGCCAAACTAACAGAGAGCAAAACCCAGGCCAAACTGTGAAACATGATCATCATC  
AGAAACCCCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGAAAGACCAATTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGAG  
CCAGCCCTAGAGATGGTTAAGCACGAGGCCGGTCTGACCCCTCTGATCAGGCCATGCCCTCCCTATGTTTAGGTTACCGGATTCATCATCAAGTGTCAAGGAACTAGGAAAGGAAACAATCTCGTTGTGACCC  
TTGGACCGAGCCAAATCTCATAAACAATCTTGATGTCTCAGTGCCTCATGATCGGAGCAAAACTGTCAATGAAAGGGCTTTACCATAACGACGGTTCTCATCAGGTGGCTCTCTGGTTGACGCTTTGGCAAGA  
CATCAAGAAATAGGCTGGTGTGCAAGCATTACACAGACCGTAAAGAAACAATATAATGGACACTGATGAATATGATCTCAACCCAGATGATGTTTATTTTTAGCTCATGATATTAAGTTCTTGAAACGCT  
GTTTTCTGATTTCTCATATTTCTTGAAACTTTTTACAGGTAATAGGTAACAACAGCAACCAACGACCGAGGATCAACGGGACGAGGTCGAGCAGCTGAAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTACTTCTATCGGTT  
GTCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAGTCTATATATAATATGTAATGATATAGTAATTAATGTTGGTAGATGTTGTTACTCGGACAAGATAAGAGATATAAAGTGTGTTGTTTAAATAAGAGGAA  
AAGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAAGACTTTGCAAGAACTAATACCTCAGTGCCTAAAGTAAGTTACAACACTAGAAAATGATTCGGAGATTCAAATGAAAACCTGTTATTAATGGATTGTTTTTTTT  
TGGCAGACTGATAAAGCATCAATATTGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAAGTTACAACCTCAAGTTATGTTGGATGGGAAATGGAATGGTTGCTGTCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTA  
AACCTCAGCCCTTCACTCCGACAGATGACAGGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCGGTTATGAAACAATCCCGGATATTTTTGTCAAAAATCCGACACAAAACAGTGTTCCTCAATTTGGTTGATAGATACATTTG  
CGTATCCCAACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTAAGGCTCATACGACGTAGACTATTTACTTGAAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGTTACTTTAGTGTCAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGG  
TTGATATATACGACGGCTGGAGATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCCGGACAGCAAAAGTCAACACCGTCTGCGCCGACGAGACCACCGACGGTCTCGTTAGAGCTACAAAACCTGACCTTGCCT

#### >PIF4L\_BN2

GAGATCTGACATGGAACTCAAGTTGGAAATTTGAGGAGAATTGCAACTTATCCAAACAATAGGAGATCATCTTTAAGGTATATATGTTTAACTAATTCATTTAGCGTTTAAAAAATCTATATAA  
AGTATCTGAGTGTACATATTTGTAGGCCACAAGATGAACAGTGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCTCAGAGGCCAAACTAACAGAGAGCAAAACCCAGGCCAAACTGTGAAACATGATCATCATC  
AGAAACCCCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGAAAGACCAATTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGAG  
CCAGCCCTAGAGATGGTTAAGCACGAGGCCGGTCTGACCCCTCTGATCAGGCCATGCCCTCCCTATGTTTAGGTTAACCGGATTCATCATCAAGTGTCAAGGAACTAGGAAAGGAAACAATCTCGTTGTGACCC  
TTGGACCGAGCCAAATCTCATAAACAATCTTGATGTCTCAGTGCCTCATGATCGGAGCAAAACTGTCAATGAAAGGGCTTTACCATAACGACGGTTCTCATCAGGTGGCTCTCTGGTTGACGCTTTGGCAAGA  
ATCAAGAAATAGGCTGGTGGCAAGCATTACAACAGACCGTAAAGAAACAATATAATGGACACTGATGAATATGATCTCAACCCAGATGATGTTTATTTTTAGCTCATGATATTAAGTTCTTGAAACGCT  
TTTTCTGATCTGCTCATATTTCTTGAAACTTTTTACAGGTAATAGGTAACAACAGCAACCAACGACCGAGGATCGAGCAGCTGAGCAGCTGAAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTACTTCTATCGGTTCT  
TCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAGTCTATATAAATATGATGATATATAGTAATTAATGTTGGTAGATGTTGTTACTCGGACAAGATAAGAGATATAAAGTGTGTTTAAATAAGAGGAA  
AGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAAGACTTTGCAAGAACTAATACCTCAGTGCCTAAAGTAAGTTACAACACTAGAAAATGATTCGGAGATTCAAATGAAAACCTGTTATTAATGGATTGTTTTTTTT  
CGACACTGATAAAGCATCAATATTGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAAGTTACAACCTCAAGTTATGTTGGATGGGAAATGGAATGGCTGCTGTCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACA  
CTCAGCCGTTCACTCCGACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTAAGGCTCATACGACGTAGACTATTTACTTGAAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGTTACTTTAGTGTCAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGG  
TATTTCCACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTAAGGCTCATACGACGTAGACTATTTACTTGAAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGTTACTTTAGTGTCAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTT  
GATATATACGACGGCTGGAGATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCCGGACAGCAAAAGTCAACACCGTCTGCGCCGACGAGACCACCGACGGTCTCGTTAGAGCTACAAAACCTGACCTTGCCT

#### >PIF4L\_HT01

GAGATCTGACATGGAACTCAAGTTGGAAATTTGAGGAGAATTGCAACTTATCCAAACAATAGGAGACCTTTAAGGTATATATGTTTAACTAATTCATTTAGCGTTTAAAAAATCTATATAA  
CTGAGTGTATATAATTTGTAGGCCACAAGATGAACAGTGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCTCAGAGGCCAAACTAACAGAGAGCAAAACCCAGGCCAAACTGTGAAACATGATCATCATCAAGAA  
CCCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGATGACGAGCTTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGATACCGAG  
CTCAGAGACGGTTAAGCACGAGGCCGGTCTGACCCCTCCAGATCAGGCCATGCCCTCCCTCAAGTTTAGGTTAACCGGATTCATCATCAAGTGTCAAGGAACTAGGAAAGGAAACAATCTCGTTGTGACCC  
CCGAGCCCTGCGGAGACGCAATCTCATAAACAATCTTGATTTCTCAGTGCCTCATGATCGGAGCAAAACTGTCAATGAAAGGGCTTTACCATAACGACGGTTCTCATCAGGTGGCTCTCTGGTTGACGCTTT  
GCAAGAACATCAAGAAATAGGCTGGTGTGCAAGCATTACAACAGACCGTAAAGAAACAATATAATGGACACTGATGAATATGATCTCAACCCAGATGATGTTTATTTTTAGCTCATGATATTAAGTTCTTT  
AAAGCTGTTTCTGATCTGCTCATATTTCTTGAAACTTTTTACAGGTAATAGGTAACAACAGCAACCAACGACCGAGGATCAACGGGACGAGGTCGAGCAGCTGAAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTACTTCA  
CGTTCTGCTAAAATATAAATTTTGTCAAACAAGTCTATATAAATATGTAATGATATATAGTAATTAATGTTGGTAGATGTTGTTACTCGGACAAGATAAGAGATATAAATAAGTGTGTTTAAATAA  
AATAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAAGACTTTGCAAGAACTAATACCTCAGTGCCTAAAGTAAGTTACAACACTAGAAAATGATTCGGAGATTCGATGATTAATGAAAACCTGTTATTAAT  
GGATTGTTTTTTTTTTTGGCAGACTGATAAAGCATCAATATTGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAAGTTACAACCTCAAGTTATGTTGGATGGGAAATGGAATGGCTGCTGTCGACAGCTCCG  
TGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCCTTCTCCGACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTTGCTGATTTGCTGATTTCCGTTATGAAACAATCCCGGTAAGTTTGTCAAACCCGATACAAAACCAAGTTTCTTCAAT  
GTTTTGATAGATACATTTGGCTATTTCCCAACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTAAGGCTCATACGACGTAGACTATTTACTTGAAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGTTACTTTAGTGTCAAACGACTTATGAT  
GATTTGACACGTTGTGGTTGATATATACGACGGCTGGAGATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCCGGACAGCAAAAGTCAACACCGTCTGCGCCGACGAGACCACCGACGGTCTCGTTAGAGCTACAAAAC  
GACCTTGCCT

#### >PIF4L\_HT02

GAGATCTGACATGGAACTCAAGTTGGAAATTTGAGGAGAATTGCAACTTATCCAAACAATAGGAGACCTTTAAGGTATATATGTTTAACTAATTCATTTAGCGTTTAAAAAATCTATATAA  
CTGAGTGTATATAATTTGTAGGCCACAAGATGAACAGTGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCTCAGAGGCCAAACTAACAGAGAGCAAAACCCAGGCCAAACTGTGAAACATGATCATCATCAAGAA  
CCCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGATGACGAGCTTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGATACCGAG  
CTCAGAGACGGTTAAGCACGAGGCCGGTCTGACCCCTCCAGATCAGGCCATGCCCTCCCTCAAGTTTAGGTTAACCGGATTCATCATCAAGTGTCAAGGAACTAGGAAAGGAAACAATCTCGTTGTGACCC  
CCGAGCCCTGCGGAGACGCAATCTCATAAACAATCTTGATTTCTCAGTGCCTCATGATCGGAGCAAAACTGTCAATGAAAGGGCTTTACCATAACGACGGTTCTCATCAGGTGGCTCTCTGGTTGACGCTTT  
GCAAGAACATCAAGAAATAGGCTGGTGTGCAAGCATTACAACAGACCGTAAAGAAACAATATAATGGACACTGATGAATATGATCTCAACCCAGATGATGTTTATTTTTAGCTCATGATATTAAGTTCTTT  
AAAGCTGTTTCTGATCTGCTCATATTTCTTGAAACTTTTTACAGGTAATAGGTAACAACAGCAACCAACGACCGAGGATCAACGGGACGAGGTCGAGCAGCTGAAAGTTCATAATCTTCCGAAAGGGTACTTCA  
CGTTCTGCTAAAATATAAATTTTGTCAAACAAGTCTATATAAATATGTAATGATATATAGTAATTAATGTTGGTAGATGTTGTTACTCGGACAAGATAAGAGATATAAATAAGTGTGTTTAAATAA  
AATAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAAATGAAGACTTTGCAAGAACTAATACCTCAGTGCCTAAAGTAAGTTACAACACTAGAAAATGATTCGGAGATTCGATGATTAATGAAAACCTGTTATTAAT  
GGATTGTTTTTTTTTTTGGCAGACTGATAAAGCATCAATATTGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAAGTTACAACCTCAAGTTATGTTGGATGGGAAATGGAATGGCTGCTGTCGACAGCTCCG  
TGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCCTTCTCCGACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTTGCTGATTTGCTGATTTCCGTTATGAAACAATCCCGGTAAGTTTGTCAAACCCGATACAAAACCAAGTTTCTTCAAT  
GTTTTGATAGATACATTTGGCTATTTCCCAACAGATGACAGGCCCGGCTCAGGTAAGGCTCATACGACGTAGACTATTTACTTGAAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGTTACTTTAGTGTCAAACGACTTATGAT  
GATTTGACACGTTGTGGTTGATATATACGACGGCTGGAGATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCCGGACAGCAAAAGTCAACACCGTCTGCGCCGACGAGACCACCGACGGTCTCGTTAGAGCTACAAAAC  
GACCTTGCCT

#### >PIF4L\_HT03

GAGATCTGACATGGAACTCAAGTTGGAAATTTGAGGAGAATTGCAACTTATCCAAACAATAGGAGATCATCTTTAAGGTATATATGTTTAACTAATTCATTTAGCGTTTAAAAAATCTATATAA  
GTATCTGAGTGTACATATTTGTAGGCCACAAGATGAACAGTGTAGAGTTGTTATGGCGAGATGGGCAAGTGGTTCTCAGAGGCCAAACTAACAGAGAGCAAAACCCAGGCCAAACTGTGAAACATGATCATCATCA  
GAAACCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGATGACGAGCTTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGAG  
AAACCCCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGATGACGAGCTTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGAG  
AAACCCCTAAGATCCACACCCCTTCTTGAGGATCAAGAAACCGTCTCTGGTTTACAATACCCCTCCATATGATGACGAGCTTCATAACCGACGGCTTCTCATCTCATTTCTTCAACCGGTAATCCCTGGAGAG





BoPIF4\_BN1 GCTCATATTTCTTGAACCTTTTTACAGGTAATAGGTAACAAAACGAACCAACGACAGGATCAACGGGAGGAGTCGAGCAGCTGAAGTTCATATCTCCGAAAGGGTACTTCATCGG  
 BoPIF4\_BN2 GCTCATATTTCTTGAACCTTTTTACAGGTAATAGGTAACAAAACGAACCAACGACAGGATCAACGGGAGGAGTCGAGCAGCTGAAGTTCATATCTCCGAAAGGGTACTTCATCGG  
 BoPIF4\_HT03 GCTCATATTTCTTGAACCTTTTTACAGGTAATAGGTAACAAAACGAACCAACGACAGGATCAACGGGAGGAGTCGAGCAGCTGAAGTTCATATCTCCGAAAGGGTACTTCATCGG  
 BoPIF4\_HT04 GCTCATATTTCTTGAACCTTTTTACAGGTAATAGGTAACAAAACGAACCAACGACAGGATCAACGGGAGGAGTCGAGCAGCTGAAGTTCATATCTCCGAAAGGGTACTTCATCGG  
 BoPIF4\_HT01 GCTCATATTTCTTGAACCTTTTTACAGGTAATAGGTAACAAAACGAACCAACGACAGGATCAACGGGAGGAGTCGAGCAGCTGAAGTTCATATCTCCGAAAGGGTACTTCATCGG  
 BoPIF4\_HT02 GCTCATATTTCTTGAACCTTTTTACAGGTAATAGGTAACAAAACGAACCAACGACAGGATCAACGGGAGGAGTCGAGCAGCTGAAGTTCATATCTCCGAAAGGGTACTTCATCGG  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 TTCTGCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAAAGTCTATATAAATATGTATGATATATAGTAATTAATGTGGTAGATTGTGTACTCGGACAAAGATAAGAGATATA----AACTGTT  
 BoPIF4\_BN2 TTCTGCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAAAGTCTATATAAATATGTATGATATATAGTAATTAATGTGGTAGATTGTGTACTCGGACAAAGATAAGAGATATA----AACTGTT  
 BoPIF4\_HT03 TTCTGCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAAAGTCTATATAAATATGTATGATATATAGTAATTAATGTGGTAGATTGTGTACTCGGACAAAGATAAGAGATATA----AACTGTT  
 BoPIF4\_HT04 TTCTGCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAAAGTCTATATAAATATGTATGATATATAGTAATTAATGTGGTAGATTGTGTACTCGGACAAAGATAAGAGATATA----AACTGTT  
 BoPIF4\_HT01 TTCTGCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAAAGTCTATATAAATATGTATGATATATAGTAATTAATGTGGTAGATTGTGTACTCGGACAAAGATAAGAGATATA----AACTGTT  
 BoPIF4\_HT02 TTCTGCTAAATAAATATTTTGTCAAACAAAAGTCTATATAAATATGTATGATATATAGTAATTAATGTGGTAGATTGTGTACTCGGACAAAGATAAGAGATATA----AACTGTT  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 TTGTGTTAATTAATAAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGACTTTGCAAGAATAACCTCCTACTGCCTAAAGTAAGTTACAACCTAGAAAATGATTCGGAGATT---  
 BoPIF4\_BN2 TTGTGTTAATTAATAAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGACTTTGCAAGAATAACCTCCTACTGCCTAAAGTAAGTTACAACCTAGAAAATGATTCGGAGATT---  
 BoPIF4\_HT03 TTGTGTTAATTAATAAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGACTTTGCAAGAATAACCTCCTACTGCCTAAAGTAAGTTACAACCTAGAAAATGATTCGGAGATT---  
 BoPIF4\_HT04 TTGTGTTAATTAATAAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGACTTTGCAAGAATAACCTCCTACTGCCTAAAGTAAGTTACAACCTAGAAAATGATTCGGAGATT---  
 BoPIF4\_HT01 TTGTGTTAATTAATAAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGACTTTGCAAGAATAACCTCCTACTGCCTAAAGTAAGTTACAACCTAGAAAATGATTCGGAGATT---  
 BoPIF4\_HT02 TTGTGTTAATTAATAAGAGGAGAAGAGATAGGATCAATGAGAGAATGAAGACTTTGCAAGAATAACCTCCTACTGCCTAAAGTAAGTTACAACCTAGAAAATGATTCGGAGATT---  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 ----CAAATTGAAAACCTTGTATTAATTTGGATTGGTTTTTTTTTTT---GGCAGACTGATAAAGCATCAATATGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAGTTACAACCTCAAG  
 BoPIF4\_BN2 ----CAAATTGAAAACCTTGTATTAATTTGGATTGGTTTTTTTTTTT---GGCAGACTGATAAAGCATCAATATGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAGTTACAACCTCAAG  
 BoPIF4\_HT03 ----CAAATTGAAAACCTTGTATTAATTTGGATTGGTTTTTTTTTTT---GGCAGACTGATAAAGCATCAATATGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAGTTACAACCTCAAG  
 BoPIF4\_HT04 ----CAAATTGAAAACCTTGTATTAATTTGGATTGGTTTTTTTTTTT---GGCAGACTGATAAAGCATCAATATGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAGTTACAACCTCAAG  
 BoPIF4\_HT01 TGATTAAATTGAAAACCTTGTATTAATTTGGATTGGTTTTTTTTTTT---GGCAGACTGATAAAGCATCAATATGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAGTTACAACCTCAAG  
 BoPIF4\_HT02 TGATTAAATTGAAAACCTTGTATTAATTTGGATTGGTTTTTTTTTTT---GGCAGACTGATAAAGCATCAATATGGACGAAGCCATAGATTACATGAAGTCACTTAAGTTACAACCTCAAG  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 TTAATGTTGATGGGGAATGGAATGGTTGCTGCTGCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCGTTTCCGCCAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCCG  
 BoPIF4\_BN2 TTAATGTTGATGGGGAATGGAATGGTTGCTGCTGCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCGTTTCCGCCAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCCG  
 BoPIF4\_HT03 TTAATGTTGATGGGGAATGGAATGGTTGCTGCTGCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCGTTTCCGCCAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCCG  
 BoPIF4\_HT04 TTAATGTTGATGGGGAATGGAATGGTTGCTGCTGCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCGTTTCCGCCAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCCG  
 BoPIF4\_HT01 TTAATGTTGATGGGGAATGGAATGGTTGCTGCTGCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCGTTTCCGCCAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCCG  
 BoPIF4\_HT02 TTAATGTTGATGGGGAATGGAATGGTTGCTGCTGCGACAGCTCCGATGATGCTCCCTGGCGTACAACCTCAGCCGTTTCCGCCAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTGCCCTCGATTTCCCG  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 TTATGAACAATCCCGGTATATTTTGTCAAATCCGACAAAACCAAGTTTCTCCAATTTGGTTTGTATAGATACATTTGGCGTATTTCCACAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTAAGGCTCA  
 BoPIF4\_BN2 TTATGAACAATCCCGGTATATTTTGTCAAATCCGACAAAACCAAGTTTCTCCAATTTGGTTTGTATAGATACATTTGGCGTATTTCCACAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTAAGGCTCA  
 BoPIF4\_HT03 TTATGAACAATCCCGGTATATTTTGTCAAATCCGACAAAACCAAGTTTCTCCAATTTGGTTTGTATAGATACATTTGGCGTATTTCCACAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTAAGGCTCA  
 BoPIF4\_HT04 TTATGAACAATCCCGGTATATTTTGTCAAATCCGACAAAACCAAGTTTCTCCAATTTGGTTTGTATAGATACATTTGGCGTATTTCCACAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTAAGGCTCA  
 BoPIF4\_HT01 TTATGAACAATCCCGGTATATTTTGTCAAATCCGACAAAACCAAGTTTCTCCAATTTGGTTTGTATAGATACATTTGGCGTATTTCCACAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTAAGGCTCA  
 BoPIF4\_HT02 TTATGAACAATCCCGGTATATTTTGTCAAATCCGACAAAACCAAGTTTCTCCAATTTGGTTTGTATAGATACATTTGGCGTATTTCCACAGATGCAGAGCCCGGTACAGTTAAGGCTCA  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 TACGACGTAGACTATTTACTTGTAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGCTACTTTAGTGCTAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTTTGTATATACGACAGCCGTTGGAG  
 BoPIF4\_BN2 TACGACGTAGACTATTTACTTGTAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGCTACTTTAGTGCTAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTTTGTATATACGACAGCCGTTGGAG  
 BoPIF4\_HT03 TACGACGTAGACTATTTACTTGTAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGCTACTTTAGTGCTAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTTTGTATATACGACAGCCGTTGGAG  
 BoPIF4\_HT04 TACGACGTAGACTATTTACTTGTAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGCTACTTTAGTGCTAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTTTGTATATACGACAGCCGTTGGAG  
 BoPIF4\_HT01 TACGACGTAGACTATTTACTTGTAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGCTACTTTAGTGCTAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTTTGTATATACGACAGCCGTTGGAG  
 BoPIF4\_HT02 TACGACGTAGACTATTTACTTGTAGTGTATTTGAGCATCAACGACGTCGCTACTTTAGTGCTAAACGACTTATGATGATTTGACACGTTGTGGTTTGTATATACGACAGCCGTTGGAG  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4\_BN1 ATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCGGGACAGCAAAAGTCAACAACCCGCTGCGCCGACGAAGACCCAGCGGTTCTCTGT AGCTACA AAACTGACGTTGCACCT  
 BoPIF4\_BN2 ATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCGGGACAGCAAAAGTCAACAACCCGCTGCGCCGACGAAGACCCAGCGGTTCTCTGT AGCTACA AAACTGACGTTGCACCT  
 BoPIF4\_HT03 ATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCGGGACAGCAAAAGTCAACAACCCGCTGCGCCGACGAAGACCCAGCGGTTCTCTGT AGCTACA AAACTGACGTTGCACCT  
 BoPIF4\_HT04 ATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCGGGACAGCAAAAGTCAACAACCCGCTGCGCCGACGAAGACCCAGCGGTTCTCTGT AGCTACA AAACTGACGTTGCACCT  
 BoPIF4\_HT01 ATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCGGGACAGCAAAAGTCAACAACCCGCTGCGCCGACGAAGACCCAGCGGTTCTCTGT AGCTACA AAACTGACGTTGCACCT  
 BoPIF4\_HT02 ATGCTAAGATTGGTTCTCAGGCGGGACAGCAAAAGTCAACAACCCGCTGCGCCGACGAAGACCCAGCGGTTCTCTGT AGCTACA AAACTGACGTTGCACCT  
 \*\*\*\*\*

음영부분은 exon서열임. Green color: SNP, Yellow color: SSR, Red color: InDel

BoPIF4L-HT01 MFHOGWKFEEFNVI.SNNRRP-I.RPODEFI.VRI.I.WRDGOVVI.OSOTNRETOAQTVKHHOQETI.RSHTII.FDQETVSWI.OVPPYDDOPI.TDGFSSHFSTGNPI.RIPASRTVKHFAGPDPAP  
 BoPIF4L-HT04 MEHOGWNFEECNLSNNRRSLRPODEL.VELL.WRDGOVVI.OSOTNRETOAQTVKHHOQETI.RSHTI.FLEDQETVSWLOVPPYDDOPI.TDGFSSHFSTGNPI.LERPASEMVKHEAGPDDP  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4L-HT01 DQAMPKPFRI.TDSI.SSVKFI.GKROVSVVTVGPHSGSSQSHNNI.DFSVSHDPSKTVNRFI.VHNVGSSSGSSGCSFGKNI.KRMAGVQSTITDRKRKHTMDTRVYASQPDVITGNKNORP  
 BoPIF4L-HT04 DQAMPKPFRI.TDSSSVKFI.GKROVSVVTVGP----SSQSHNNI.DVSVRHRDRSKTVNRFI.VHNVGSSSGSSGCSFGKNI.KRMAGVQSTITDRKRKHTMDTRVYASQPDVITGNKNORP  
 \*\*\*\*\*

BoPIF4L-HT01 GSTGRSRAAEVHNI.SRRRRDRINERMKTI.OE.I.PHC'KTKDKASTI.DETIDVMKSI.KI.OI.OVMWGMGMVAAAATAPMMI.PGVQPOPTTROMQSPVOI.PRPFVMMNPGTVCNPTONQVFS  
 BoPIF4L-HT04 GSTGRSRAAEVHNI.SRRRRDRINERMKTI.OE.I.PHC'KTKDKASTI.DETIDVMKSI.KI.OI.OVMWGMGMVAAAATAPMMI.PGVQPOPTTROMQSPVOI.PRPFVMMNPGTVCNPTONQVFS  
 \*\*\*\*\*

Basic Helix1 Loop Helix2

BoPIF4L-HT01 NWFDRYIGVFPQMOAAPPQVPMI.RFGSOAGQSQSPSAPTKTIDGSI.  
 BoPIF4L-HT04 NWFDRYIGVFPQMOAAPPQVEMLR.FGSOAGQSQSPSAPTKTIDGSI.

\*\*\*\*\*

비록 중요한 motif는 잘 보존되어 있지만, 전체 단백질의 구조는 달라져 기능에 영향을 줄 수 있음.

### BoELF3 유전자

① 선택이유: 애기장대 유전자 (AT2G25930: *Arabidopsis thaliana* hydroxyproline-rich glycoprotein family protein (ELF3))에는 poly Q가 존재하고 그 수의 다양성이 형질과 관계가 있음.

② 양배추 유전자: *AtELF3*와 상동성을 지닌 양배추 유전자에는 2개가 존재함

- *BoELF3*: Bo4g159930, *BoELF3L*: Bo8g098940

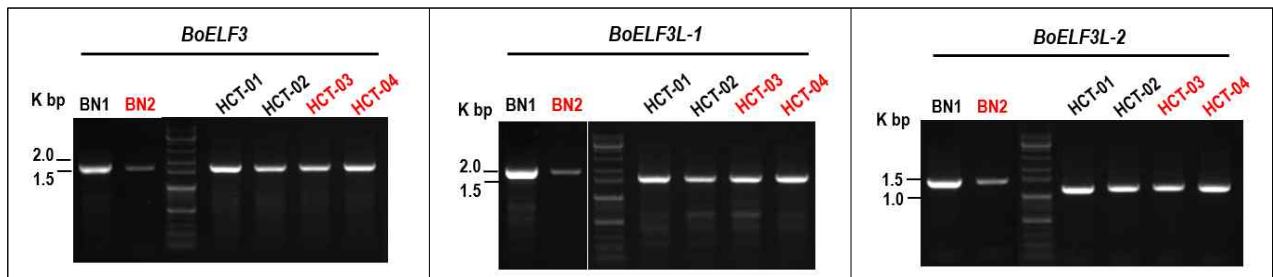


### ③ Primer sequences for genomic DNA cloning:

- Primer for cloning: *BoELF3*-1F: 5'-AGGGGTTTGTGGGTGATGAAGAG x *BoELF3*-1R: 5'-CCTTAATCAGCCTGTGCAACTCAA  
*BoELF3*-2F: 5'-TTTGAGTTGCACAGGCTGATTAAGG x *BoELF3*-2R: 5'-AGAGTCAGTCGCAAAACACAATTACG

- Primer for cloning: *BoELF3L*-1F: 5'-AGGGTGGTGGTGAAGAGAGG x *BoELF3L*-1R: 5'-CAGCCTGTGCAGCTCAAACAG  
*BoELF3L*-2F: 5'-CTGTTTGAGCTGCACAGGCTG x *BoELF3L*-2R: 5'-GGCTCAAGGTTAGTGTGTTACGC

④ PCR 결과: 아시아종묘 양배추 2계통 (BN1, 내서성 강; BN2, 내서성 약)과 조은종묘 4계통 (HCT-01, HCT-02: 내서성 강)(HCT-03, HCT-04: 내서성 약)을 이용하였음



- 유전자 크기나 존재여부에는 차이가 나타나지 않음

### ⑤ Genomic DNA 클로닝과 염기서열 분석 결과: 자세한 내용은 마지막 부분 (부록)에 넣음

- 결과1= *ELF3*: *ELF3*는 서열분석이 완결되지 않았지만 HT03-*ELF3*와 HT04-*ELF3*-2는 *ELF3-L* 서열과 같음  
 나머지를 비교한 결과 서열의 차이를 발견하지 못함

- 결과2: *ELF3L*

- Exon2와 Exon4 서열만 증폭하는 프라이머를 작성하여 클로닝하여 확인이 필요함

- 서열확인 하였음. HT01-ELF3L서열은 다른 서열과 너무 빗나가 한번 제외하고 비교해 봄이 좋을 듯 함.
- 모든 서열을 비교하였을 경우: Exon 2의 red color에 해당되는 SNP 1개와 SSR 1개가 내서성과 연관이 있는 것 같음
- HT01서열을 제외하고 비교하면, SNP 1개, SSR 1개, InDel 1개가 나옴 (부록 참조)

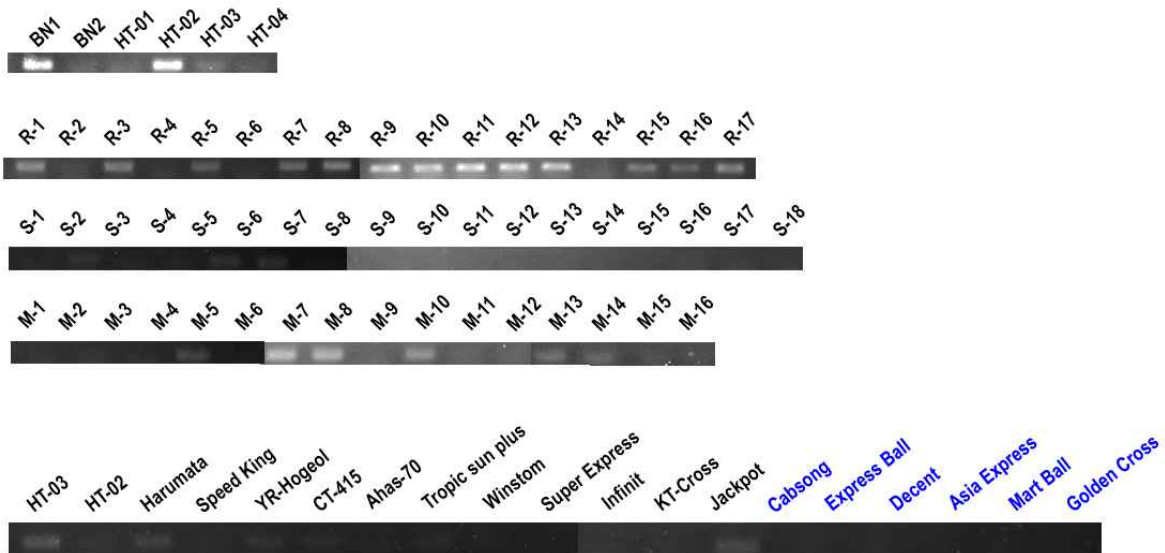
⑥ 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성과 그 결과:

Primer set for Marker validation: S, sensitive; R, resistance

Sequence	Size	Position
BoELF3L-F1: 5'-CCGGTCTGTGGAGGGTATTA	190	exon4-polyQ
BoELF3L-RR1: 5'- TCATTGCTCATTGGGTGTGTGTCT BoELF3L-SR1: 5'- TGCTCATTGGGTGTGTGTGTGT		
BoELF3L-RF2: 5'-ACTATTCGGACAACAAGAACAACAAC BoELF3L-SF2:5'-TCCGGACAACAACAACAACAAC	260	exon4-polyQ
BoELF3L-RF3: 5'-CAAGGTCAAGGTCAAGGTCAAGTTC BoELF3L-SF3: 5'-CTGCCAAACCAAGGTCAAGGTC	240	exon 4
BoELF3L-RF4: 5'-GGAAGAAGAAGGTCAAGGTCAAGGTA BoELF3L-SF4: 5'-AGGTCAAGGTCAAGGTCAAGGTA	160	exon 2

- 2개의 프라이머 세트에서만 결과를 얻을 수 있었음.

F1 x RR1: 68°C --- 저항성 색출마커



- 저항성 4계통을 제외하고 모두 색출: 76% 확률
- 민감성에서는 증폭이되지 않음: 100% 적용가능 (그러나 저항성 계통에서 증폭이 되지 않음을 염두)
- 보완연구 후 활용이 가능함

RF4 x R4: 68°C --- 저항성 색출 마커

- F1 x RR1의 결과와 같음. 증폭의 선명성을 보완해야 됨





























BoHOS1-F1: 5'-TTTCCTCTGCTCGTTTCGCTATCG  
 BoHOS1-R1: 5'-GCCATGCACGCTTAATTGCATTT (AAATGCAATTAAGCGTGCATGGC) 1,538

BoHOS1-F2: 5'-GTGCATAAGACACGGATTTCTGGATG  
 BoHOS1-R2: 5'-AAAGGCCTCTTCAATTTCTGAAGCC (GGCTTCAGAAAATTGAAGAGGCCTTT) 1,651

BoHOS1-F3: 5'-GGCTTCAGAAAATTGAAGAGGCCTTT  
 BoHOS1-R3: 5'-TCATCTTGCAAGTGAATCTACGTGTCC (GGACACGTAGATTCAGTCAAGATGA) 1,221

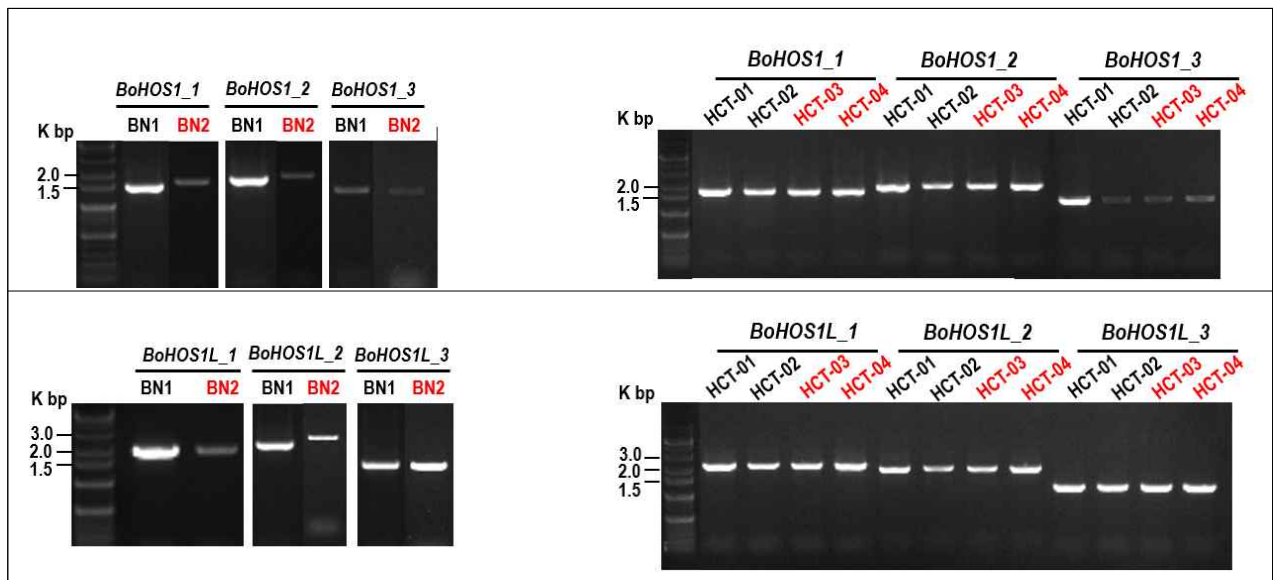
Primers for *BoHOS1L* cloning: 4,465

BoHOS1L-F1: 5'-TCTTCTCCGTGTTTGGGTGAGG  
 BoHOS1L-R1: 5'-CCATGCACGCTTAATTGCCTCT (AGACGCAATTAAGCGTGCATGG) 1,809

BoHOS1L-F2: 5'-GTGCATAAGACACAGGTTTCTGGAAG  
 BoHOS1L-R2: 5'-GAAACTCTCTGCAATACTCTGGAGCT (AGCTCCAGAGTATTGCAGAGAGTTTC) 1,675

BoHOS1L-F3: 5'-AGCTCCAGAGTATTGCAGAGAGTTTC  
 BoHOS1L-R3: 5'-TCATCTTACAGCGAATCTACGCGTC (GACGCGTAGATTCGCTGTAAGA) 1,033

④ PCR 결과: 아시아종묘 양배추 2계통 (BN1, 내서성강; BN2, 내서성 약)과 조은종묘 4계통 (HCT-01, HCT-02: 내서성 강)(HCT-03, HCT-04: 내서성 약)을 이용하였음



⑤ Genomic DNA 클로닝과 염기서열 분석 결과: 자세한 내용은 마지막 부분 (부록)에 넣음

⑥ 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성과 그 결과:

마커로 개발이 가능한 프라이머를 제작할 수 없었음

⑦ 클로닝한 서열과 분석결과 (부록)



GTGTGTTGTCATGTCGACGCGTACCGTTACATCCATCGCTACCAAGTCGATCTTAGGCTCAGAAAATGAAGAGCCCTTCTTATCCGAAAATCGAATGGGGAAGAAGTAAATGTCAGAAATGCAATCCAGAG  
TCATTTGGAGGAAAGAGTAAATTTGTAAGTATCTAGCCACCTTCCATGAGCAAGTGGCGTTTCTCTCTTTTCTGGTTAAATACTGACAGCTCAAATTTTACGTTGCGTTTGTAGTACTTGTAGCCTCTTG  
TCTTCCGAGGATTTGATATTTCTGTAATCTGTAATGTGCAATGATACGTTATATATATTTAAACCCCTCCGCTGTTACTGTTGGTTTCAACAGGATAAAGCCATAGATATACCTCCAGCAATACAGGACGCT  
AGTCAGATCTGGTCAAGTTTCTGAGATGGAAGTACCTCCGAAAAGTCTTATGAGACGCGACAAACACTGATCTCCAGAAAGCAAAACAACTCAAGTGTTCCTGATTAATCTGTTATTTCCCAAGGGCT  
AAGGACGCTGGCGCTAGAGTTCAGCTGTTTAAACGCGCAGCAGCTTTCACCCAGCTGCTTGTATAGTTTCCGCTTCCATGATATCTCCCATGGAAGGCTTTTACAGAGCCAAATGAGGAGCAAGAGATG  
AAGTCAGAAATCAACCAAGACTCTGAAATCTGGTGAAGCGTCCACCCGTTCAAAAGATCTTAAACAGGCTCTGGGAAACAGCAGCAAGGGAAGAAGGACTGAGGACACATCTCCGAAATAAACCTGTTAT  
ATTCATGGACTCTCTTATCTCACAGCTAATAATCCCGTAACAATGGAACCTCGCAGTCGACGAAAGCATCTCAATGGATCTGCACAGAAACCGGAATCCACTTCTTGGCGTAAAGATGCAACAAGATAGAGA  
CACCCGAGCCATTTGGATGATCCAAATGGACATGCTTCAAGGTACATTTCTCTCTTTCTATAAATATACCTGTTGTTACCTTTGGTTTGGCTAAGAAGTTCGCTTCTGTTCTGTTCTTATAATTT  
ATGAAATGGTAGCTTGAAGAACAACAATGTTATGGCCACGAGAGAGCAAAAATGAAGTGGAGGATTAAGGTGGCGATCAGATGAAGGAAGCGATGAGGAAAGTGAACCGATGTTGGGGCATGGAGCGACTAGT  
CCGTTCCATCCCGGTTAAGGGAAGGAGGACACGTAGATTACTGCAAGATGA

>H0S1 HT03

TTTCCCTGCTCGTTTCCGCTACCGGAGAAGATGGACACGAAACGCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCGGAGAGATCGATGAATCTCCCTCCGCAACATCTCTGATACGCTAGCAAACTGTTACAGTACTCTCG  
TTTCTCTCTCTCTCGCGAGTTTGTAGCTTATCCAAAGCCCTTAGGTGATTTTAGCAGCTGATAGGCTTCTCTTCAAGGTTGATTAAGCTTGGCTAGTCTTAAATTTAACTTTGATTTCTCAGGAGGCGTT  
ATGCAATTTGGCATCCCAACCTCAGAGATCTGTGTAAACGAGCGAAAGCTGAGCGTTGCCGCTGACAGAGACTTGACGAGCTGTGGGAGATCTGTGCTGATTTGCGTTGAAATCTGTTGGGCAATGCTTCAATTTG  
GCAGAGAGGTTGTGAGAGGTTTGTACTTTGTCCAACTCTGTAGAAGTACACTACCAAGATCTGGAGATAAGCTTCGGCTCTGCTCTACTATGAGTGTGTGAAGCTGGTTTAAATCTCCGGAACACCTGAAGATG  
ATCACAGGATGAAGATGAGGATGTTTTCATCCGCTTATTTCTCTGTCGATGTTGCCTTGAACAATAATTTGATATCTGTGGTTTGTCTATGATCTCTTTGCTGCTATTTAGCATTTAAGTGTTTAGTTGAT  
ATGTCGTGATAAATGGAATTTGACTGATAGGTTTATGTAATTTTAGTGTGTTTCTTCCAGTCCGCTCTGATGATGAAAGTGTGCTATGTTGTTATTTCTGATTTCTGATGTTGATTTGTTGAGTT  
TCCTTGACAGAAAATGAAATAGATATCACCATAATTTGATGATGAGGACGCTGTATCTAGTACCOCGCTCATGCTTCTTCTGCTGGATGAAGTGTGTTGTTCAAGACTGGGTCAGCGTACATTCCAGGACATCT  
AGCTGGCTTCAAGAAATCTGTATCTTGTAGCTTTTAGCTGTTAAGAGTATTTATATGTGACTTAGGCTCAGTATATGTTGTTGTTGCTGCTATCTTTAAATTTGGTTCTCAGATAGCTTTGAACGAGGAGATGCA  
GGTGGTTAGATAAATCTCTGAAGTATTCGAAACAAGTGGCTGGCATATGTTAGTGTGCTTGAAGTTTAGGAGTTCAGCTTTTAAAGGTTTCTGTTTCAACCTCAGCTTCAAGAGCTGGAGAAGCTTAAAGATAACATTT  
GAAAACAAGCAGGTCAGCTAAGATGTTTATATATAAACAATAACACTCTCTTAGTCTTTACTTATCCAGTATGACCGCTGGCTCCCTGACAGGAGAGTGTTTAGCTTTTACTTATGATGCAAGAT  
TAGGAGCTTATGTTGTTGTTTCTGCTGGCTGGCTGGCTGGCATCAGAACTGTTTCAATTTGGTGAAGCTGTCACAGCTGTTCTGGTGTGAGAGTGGAAATGGTGTCTTGAAGTATGTTGAAATCTTAACTTAACTTAA  
GTGCTCGAAAGGAAATCAATGCAATTAAGCGTGCATGGCCGTGATGCCGTAGATCAGTCTCAGATGCTGTGATGCTGACAGGTTGCTCCCTTTTATCGAGGATGCTTTGGAATAATCTTGAGAGAGGCTAGGATAC  
GTCAAGACTTAGGGGACACTAGGATGTTGATGTTGCGAAGCATGAAAGATCAATTTTCTAGGTTCCAAATGAGGGAACACTCAGGATCTTACCATTGAGAACTCTAGAACGCTGTAGAACCTGATAAATCTTTT  
ACATGGCAGCTCAGATTTGGTTGTTGCAAGCAAGCCATTTGATCTCTTCTCACTACCTAATTTCAATACTTAACTTAACTTAAAGCTTCAACACTCAGTACGCTTCTTCTTCTTTGTTGGCT  
CCTTAAACAGTATATAGTTTCTTATCTTCTTGTGATCGGCACCTCCGCTACCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCGGAGAGATCGATGAATCTCCCTCCGCAACATCTCTGATACGCTAGCAAACTGTTACAGTACTCTCG  
ATTTTATCTTCTGATGATCCCTCAGAAGGAGGACCTCCAGGTACCTTTTGACATTCGCAATGGAATAAATATAGAAATATGTTATTTGAGTGTGTTTAAATTTCTGGCTAAAACATATATAGCCAAATACAT  
AAATTTGTAAGCTGGTGGCTCACAACCTCCACAAATTTTATTTCCAGGAGCTTGTAGAATCTTCTCGAAATATGTTGGTCCAGAAACATATCCCAAGGTTGCAAGCTTGTGTAAGAAAGGAAATACCTT  
AAGCAGCTCTTCCGCTGGCTGGCTGGCTGGCATGAGAACTGTTTCAATTTGGTGAAGCTGTCACAGCTGTTCTGGTGTGAGAGTGGAAATGGTGTCTTGAAGTGGAAATGCTTACATACCAAGCTTACATACCAAGGCT  
CTCTGCTGAAAGGTAAGGAAATATGAAATAAGGACGCTGTAACAATGTTGTTGATGAGGAGGACAGCTGATGATGAGGAGGACAGCTGATGATGAGGAGGACAGCTTGAATGAGGATGATGTTGATGAT  
AGAAACTGAGGAAATTTAGTAAAGATTAATTTAGCCCATCCAGATCCCACTAGATACATGATATTTCTCTGCTCAGCTCTGTTGATGTTGCTATATGTTGGCTTCAAGTGTCTTTTAACTCGAGCTTGTGTAGCT  
GAGATAATGAGAGTAAAGCAAGTATGAAATCTTTGAAACAAGGAGGCAAAATGCAATTTAAACGTTCTGTTAAATTTGAGCTTCTGTTGATATGTTGTTGCTATTTGTTGGTCCGCTGTTAACTGGAAACTCT  
GTTGTTGCTGCTGACCGCTACCTGTTACATCCATCGCTACCAAGTGCATCTTAGGCTCAGAAAATGGAAGGCGCTTCCGATCTCGAAATCGAATTTGGGGAAGAAATGTTCCAGAAATGGCATCCAGAA  
CATTTGGAGGAAAGAAATAGTTGTAGTTTATGTTTCCAGCCACTTCTTGTGTAAGATGTTATCTTCTCTGATGAGTATCTCTTCTGTAAGCTTAACTTAACTTAACTTAAAGCTTCTGTTGATGTTGTTGATCTTA  
ATATACTATCTGGAATGGTACTTGTATATTTGGCTATTTGAACATCTCTGTTGTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAGGCCATAGATATCTTCCAGGATTTACAGCAGCAGCAAGTCAAGATCTGGCAATTTTCTG  
AGTGAAGATACCTTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCTGATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCATATAATCTGCTATTTCTCCAAAGGGCTAACGACCTGGCTGAGAGGCTAGTGGCTAA  
AATGGAGCAGCTCTTCTTCAACCCGTTCTGTTGATAGGAAACGCTTCCCATGGAAGTATTTGACACCCGCAATAAGAGGAAACACGAGTGAAGCTAAGCAAGACTAACCAGACTGAAATCTCGGTGGGTAAGCA  
CCACACCCGTTCAAGATCTTTAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCAGCTCAAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCTGTCGCTGGTACTTTGTTGATTTGGATGATTTCAATGGAATTTGCTTCAAGGATCTTAACTT  
TCTTCTTATAAACCATTTGTTTACGTTTGGTTTGCATAAGAAGTGGCTTCAACTACTATGTTCAACTCTGTTAAATTTGATATTTCAATGAATGGTAGCTTCAAGGACAACAACAATGTTCTGGCACTAGAGAG  
AGAAATACAGCTGGGGATTAGTGGCTTCAGATGAAGCAAGCAATGAGGAAAGATGAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCCGTTCCATGCGGTTAAGGGAAGGAGGACACGTAGATTCAGTCA  
GATGA

>H0S1 HT04

TTTCCCTGCTCGTTTCCGCTACCGGAGAAGATGGACACGAAACGCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCGGAGAGATCGATGAATCTCCCTCCGCAACATCTCTGATACGCTAGCAAACTGTTACAGTACTCTCG  
TTTCTCTCTCTCTCGCGAGTTTGTAGCTTATCCAAAGCCCTTAGGTGATTTTAGCAGCTGATAGGCTTCTCTTCAAGGTTGATTAAGCTTGGCTAGTCTTAAATTTAACTTTGATTTCTCAGGAGGCGTT  
ATGCAATTTGGCATCCCAACCTCAGAGATCTGTGTAAACGAGCGAAAGCTGAGCGTTGCCGCTGACAGAGACTTGACGAGCTGTGGGAGATCTGTGCTGATTTGCGTTGAAATCTGTTGGGCAATGCTTCAATTTG  
GCAGAGAGGTTGTGAGAGGTTTGTACTTTGTCCAACTCTGTAGAAGTACACTACCAAGATCTGGAGATAAGCTTCGGCTCTGCTCTACTATGAGTGTGTGAAGCTGGTTTAAATCTCCGGAACACCTGAAGATG  
ATCACAGGATGAAGATGAGGATGTTTTCATCCGCTTATTTCTCTGTCGATGTTGCCTTGAACAATAATTTGATATCTGTGGTTTGTCTATGATCTCTTTGCTGCTATTTAGCATTTAAGTGTTTAGTTGAT  
ATGTCGTGATAAATGGAATTTGACTGATAGGTTTATGTAATTTTAGTGTGTTTCTTCCAGTCCGCTCTGATGATGAAAGTGTGCTATGTTGTTATTTCTGATTTCTGATGTTGATTTGTTGAGTT  
TCCTTGACAGAAAATGAAATAGATATCACCATAATTTGATGATGAGGACGCTGTATCTAGTACCOCGCTCATGCTTCTTCTGCTGGATGAAGTGTGTTGTTGAAAGACTGGGTCAGCGTACATTCCAGGACATCT  
AGCTGGCTTCAAGAAATCTGTATCTTGTAGCTTTAAGATATTTATATGTGACTTAGGCTCAGTATATGTTGTTGTTGCTGCTATCTTTAAATTTGGTTTCTGAAACGAGGAGATGCA  
GGTGGTTAGATAAATCTCTGAAGTATTCGAAACAAGTGGCTGGCATATGTTAGTGTGCTTGAAGTTTAGGAGTTCAGCTTTTAAAGGTTTCTGTTTCAACCTCAGCTTCAAGAGCTGGAGAAGCTTAAAGATAACATTT  
GAAAACAAGCAGGTCAGCTAAGATGTTTATATATAAACAATAACACTCTCTTAGTCTTTACTTATCCAGTGTATGACCGCTGGCTCCCTGACAGGAGAGTGTTTAGCTTTTACTTATGATGCAAGAT  
TAGGAGCTTATGTTGTTGTTTGAAGTATTTAGCTTGTGGTTTCTTATTTCCAGCTTGGACATATGATGCTGGTGCATAAAGCAAGTATCTGGAATGATGTTGTTGCTATTTTAACTTCACTGTTGGAAGGCTCT  
GTGCTCGAAAGGAAATCAATGCAATTAAGCGTGCATGGCCGTGATGCCGTAGATCAGTCTCAGATGCTGTGATGCTGACAGGTTGCTCCCTTTTATCGAGGATGCTTTGGAATAATCTTGAGAGAGGCTAGGATAC  
GTCAAGACTTAGGGGACACTAGGATGTTGATGTTGCGAAGCATGAAAGATCAATTTTCTAGGTTCCAAATGAGGGAACACTCAGGATCTTACCATTGAGAACTCTAGAACGCTGTAGAACCTGATAAATCTTTT  
ACATGGCAGCTCAGATTTGGTTGTTGCAAGCAAGCCATTTGATCTCTTCTCACTACCTAATTTCAATACTTAACTTAACTTAAAGCTTCAACACTCAGTACGCTTCTTCTTCTTTGTTGGCT  
CCTTAAACAGTATATAGTTTCTTATCTTCTTGTGATCGGCACCTCCGCTACCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCGGAGAGATCGATGAATCTCCCTCCGCAACATCTCTGATACGCTAGCAAACTGTTACAGTACTCTCG  
ATTTTATCTTCTGATGATCCCTCAGAAGGAGGACCTCCAGGTACCTTTTGACATTCGCAATGGAATAAATATAGAAATATGTTATTTGAGTGTGTTTAAATTTCTGGCTAAAACATATATAGCCAAATACAT  
AAATTTGTAAGCTGGTGGCTCACAACCTCCACAAATTTTATTTCCAGGAGCTTGTAGAATCTTCTCGAAATATGTTGGTCCAGAAACATATCCCAAGGTTGCAAGCTTGTGTAAGAAAGGAAATACCTT  
AAGCAGCTCTTCCGCTGGCTGGCTGGCTGGCATGAGAACTGTTTCAATTTGGTGAAGCTGTCACAGCTGTTCTGGTGTGAGAGTGGAAATGGTGTCTTGAAGTGGAAATGCTTACATACCAAGCTTACATACCAAGGCT  
CTCTGCTGAAAGGTAAGGAAATATGAAATAAGGACGCTGTAACAATGTTGTTGATGAGGAGGACAGCTGATGATGAGGAGGACAGCTGATGATGAGGAGGACAGCTTGAATGAGGATGATGTTGATGAT  
AGAAACTGAGGAAATTTAGTAAAGATTAATTTAGCCCATCCAGATCCCACTAGATACATGATATTTCTCTGCTCAGCTCTGTTGATGTTGCTATATGTTGGCTTCAAGTGTCTTTTAACTCGAGCTTGTGTAGCT  
GAGATAATGAGAGTAAAGCAAGTATGAAATCTTTGAAACAAGGAGGCAAAATGCAATTTAAACGTTCTGTTAAATTTGAGCTTCTGTTGATATGTTGTTGCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGAAACTACT  
GTTGTTGCTGCTGACCGCTACCTGTTACATCCATCGCTACCAAGTGCATCTTAGGCTCAGAAAATGGAAGGCGCTTCCGATCTCGAAATCGAATTTGGGGAAGAAATGTTCCAGAAATGGCATCCAGAA  
CATTTGGAGGAAAGAAATAGTTGTAGTTTATGTTTCCAGCCACTTCTTGTGTAAGATGTTATCTTCTCTGATGAGTATCTCTTCTGTAAGCTTAACTTAACTTAAAGCTTCTGTTGATGTTGTTGATCTTA  
ATATACTATCTGGAATGGTACTTGTATATTTGGCTATTTGAACATCTCTGTTGTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAGGCCATAGATATCTTCCAGGATTTACAGCAGCAGCAAGTCAAGATCTGGCAATTTTCTG  
AGTGAAGATACCTTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCTGATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCATATAATCTGCTATTTCTCCAAAGGGCTAACGACCTGGCTGAGAGGCTAGTGGCTAA  
AATGGAGCAGCTCTTCTTCAACCCGTTCTGTTGATAGGAAACGCTTCCCATGGAAGTATTTGACACCCGCAATAAGAGGAAACACGAGTGAAGCTAAGCAAGACTAACCAGACTGAAATCTCGGTGGGTAAGCA  
CCACACCCGTTCAAGATCTTTAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCAGCTCAAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCTGTCGCTGGTACTTTGTTGATTTGGATGATTTCAATGGAATTTGCTTCAAGGATCTTAACTT  
TCTTCTTATAAACCATTTGTTTACGTTTGGTTTGCATAAGAAGTGGCTTCAACTACTATGTTCAACTCTGTTAAATTTGATATTTCAATGAATGGTAGCTTCAAGGACAACAACAATGTTCTGGCACTAGAGAG  
AGAAATACAGCTGGGGATTAGTGGCTTCAGATGAAGCAAGCAATGAGGAAAGATGAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCCGTTCCATGCGGTTAAGGGAAGGAGGACACGTAGATTCAGTCA  
GATGA

>H0S1 HT01

TTTCCCTGCTCGTTTCCGCTACCGGAGAAGATGGACACGAAACGCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCGGAGAGATCGATGAATCTCCCTCCGCAACATCTCTGATACGCTAGCAAACTGTTACAGTACTCTCG  
TTTCTCTCTCTCTCGCGAGTTTGTAGCTTATCCAAAGCCCTTAGGTGATTTTAGCAGCTGATAGGCTTCTCTTCAAGGTTGATTAAGCTTGGCTAGTCTTAAATTTAACTTTGATTTCTCAGGAGGCGTT  
ATGCAATTTGGCATCCCAACCTCAGAGATCTGTGTAAACGAGCGAAAGCTGAGCGTTGCCGCTGACAGAGACTTGACGAGCTGTGGGAGATCTGTGCTGATTTGCGTTGAAATCTGTTGGGCAATGCTTCAATTTG  
GCAGAGAGGTTGTGAGAGGTTTGTACTTTGTCCAACTCTGTAGAAGTACACTACCAAGATCTGGAGATAAGCTTCGGCTCTGCTCTACTATGAGTGTGTGAAGCTGGTTTAAATCTCCGGAACACCTGAAGATG  
ATCACAGGATGAAGATGAGGATGTTTTCATCCGCTTATTTCTCTGTCGATGTTGCCTTGAACAATAATTTGATATCTGTGGTTTGTCTATGATCTCTTTGCTGCTATTTAGCATTTAAGTGTTTAGTTGAT  
ATGTCGTGATAAATGGAATTTGACTGATAGGTTTATGTAATTTTAGTGTGTTTCTTCCAGTCCGCTCTGATGATGAAAGTGTGCTATGTTGTTATTTCTGATTTCTGATGTTGATTTGTTGAGTT  
TCCTTGACAGAAAATGAAATAGATATCACCATAATTTGATGATGAGGACGCTGTATCTAGTACCOCGCTCATGCTTCTTCTGCTGGATGAAGTGTGTTGTTGAAAGACTGGGTCAGCGTACATTCCAGGACATCT  
AGCTGGCTTCAAGAAATCTGTATCTTGTAGCTTTAAGATATTTATATGTGACTTAGGCTCAGTATATGTTGTTGTTGCTGCTATCTTTAAATTTGGTTTCTGAAACGAGGAGATGCA  
GGTGGTTAGATAAATCTCTGAAGTATTCGAAACAAGTGGCTGGCATATGTTAGTGTGCTTGAAGTTTAGGAGTTCAGCTTTTAAAGGTTTCTGTTTCAACCTCAGCTTCAAGAGCTGGAGAAGCTTAAAGATAACATTT  
GAAAACAAGCAGGTCAGCTAAGATGTTTATATATAAACAATAACACTCTCTTAGTCTTTACTTATCCAGTGTATGACCGCTGGCTCCCTGACAGGAGAGTGTTTAGCTTTTACTTATGATGCAAGAT  
TAGGAGCTTATGTTGTTGTTTGAAGTATTTAGCTTGTGGTTTCTTATTTCCAGCTTGGACATATGATGCTGGTGCATAAAGCAAGTATCTGGAATGATGTTGTTGCTATTTTAACTTCACTGTTGGAAGGCTCT  
GTGCTCGAAAGGAAATCAATGCAATTAAGCGTGCATGGCCGTGATGCCGTAGATCAGTCTCAGATGCTGTGATGCTGACAGGTTGCTCCCTTTTATCGAGGATGCTTTGGAATAATCTTGAGAGAGGCTAGGATAC  
GTCAAGACTTAGGGGACACTAGGATGTTGATGTTGCGAAGCATGAAAGATCAATTTTCTAGGTTCCAAATGAGGGAACACTCAGGATCTTACCATTGAGAACTCTAGAACGCTGTAGAACCTGATAAATCTTTT  
ACATGGCAGCTCAGATTTGGTTGTTGCAAGCAAGCCATTTGATCTCTTCTCACTACCTAATTTCAATACTTAACTTAACTTAAAGCTTCAACACTCAGTACGCTTCTTCTTCTTTGTTGGCT  
CCTTAAACAGTATATAGTTTCTTATCTTCTTGTGATCGGCACCTCCGCTACCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCGGAGAGATCGATGAATCTCCCTCCGCAACATCTCTGATACGCTAGCAAACTGTTACAGTACTCTCG  
ATTTTATCTTCTGATGATCCCTCAGAAGGAGGACCTCCAGGTACCTTTTGACATTCGCAATGGAATAAATATAGAAATATGTTATTTGAGTGTGTTTAAATTTCTGGCTAAAACATATATAGCCAAATACAT  
AAATTTGTAAGCTGGTGGCTCACAACCTCCACAAATTTTATTTCCAGGAGCTTGTAGAATCTTCTCGAAATATGTTGGTCCAGAAACATATCCCAAGGTTGCAAGCTTGTGTAAGAAAGGAAATACCTT  
AAGCAGCTCTTCCGCTGGCTGGCTGGCTGGCATGAGAACTGTTTCAATTTGGTGAAGCTGTCACAGCTGTTCTGGTGTGAGAGTGGAAATGGTGTCTTGAAGTGGAAATGCTTACATACCAAGCTTACATACCAAGGCT  
CTCTGCTGAAAGGTAAGGAAATATGAAATAAGGACGCTGTAACAATGTTGTTGATGAGGAGGACAGCTGATGATGAGGAGGACAGCTGATGATGAGGAGGACAGCTTGAATGAGGATGATGTTGATGAT  
AGAAACTGAGGAAATTTAGTAAAGATTAATTTAGCCCATCCAGATCCCACTAGATACATGATATTTCTCTGCTCAGCTCTGTTGATGTTGCTATATGTTGGCTTCAAGTGTCTTTTAACTCGAGCTTGTGTAGCT  
GAGATAATGAGAGTAAAGCAAGTATGAAATCTTTGAAACAAGGAGGCAAAATGCAATTTAAACGTTCTGTTAAATTTGAGCTTCTGTTGATATGTTGTTGCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGAAACTACT  
GTTGTTGCTGCTGACCGCTACCTGTTACATCCATCGCTACCAAGTGCATCTTAGGCTCAGAAAATGGAAGGCGCTTCCGATCTCGAAATCGAATTTGGGGAAGAAATGTTCCAGAAATGGCATCCAGAA  
CATTTGGAGGAAAGAAATAGTTGTAGTTTATGTTTCCAGCCACTTCTTGTGTAAGATGTTATCTTCTCTGATGAGTATCTCTTCTGTAAGCTTAACTTAACTTAAAGCTTCTGTTGATGTTGTTGATCTTA  
ATATACTATCTGGAATGGTACTTGTATATTTGGCTATTTGAACATCTCTGTTGTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAGGCCATAGATATCTTCCAGGATTTACAGCAGCAGCAAGTCAAGATCTGGCAATTTTCTG  
AGTGAAGATACCTTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCTGATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCATATAATCTGCTATTTCTCCAAAGGGCTAACGACCTGGCTGAGAGGCTAGTGGCTAA  
AATGGAGCAGCTCTTCTTCAACCCGTTCTGTTGATAGGAAACGCTTCCCATGGAAGTATTTGACACCCGCAATAAGAGGAAACACGAGTGAAGCTAAGCAAGACTAACCAGACTGAAATCTCGGTGGGTAAGCA  
CCACACCCGTTCAAGATCTTTAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCAGCTCAAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCTGTCGCTGGTACTTTGTTGATTTGGATGATTTCAATGGAATTTGCTTCAAGGATCTTAACTT  
TCTTCTTATAAACCATTTGTTTACGTTTGGTTTGCATAAGAAGTGGCTTCAACTACTATGTTCAACTCTGTTAAATTTGATATTTCAATGAATGGTAGCTTCAAGGACAACAACAATGTTCTGGCACTAGAGAG  
AGAAATACAGCTGGGGATTAGTGGCTTCAGATGAAGCAAGCAATGAGGAAAGATGAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCCGTTCCATGCGGTTAAGGGAAGGAGGACACGTAGATTCAGTCA  
GATGA







HOS1\_BN1 CAGCTTGAGTTGGACGGAAATGGATGGAGATACTGTCAACGAAATTTGCTGTCTGTCTATTAGGAGAAACGTGGTGTGATCGAATCATTTAGTGTCCGCTGGAACCCAGATGAAGAGAAATA  
HOS1\_HT03 CAGCTTGAGTTGGACGGAAATGGATGGAGATACTGTCAACGAAATTTGCTGTCTGTCTATTAGGAGAAACGTGGTGTGATCGAATCATTTAGTGTCCGCTGGAACCCAGATGAAGAGAAATA  
HOS1\_HT04 CAGCTTGAGTTGGACGGAAATGGATGGAGATACTGTCAACGAAATTTGCTGTCTGTCTATTAGGAGAAACGTGGTGTGATCGAATCATTTAGTGTCCGCTGGAACCCAGATGAAGAGAAATA  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 TCTGCACAGATGCTTATTAGATTCTGCAACTGATGACCCCTCATCAGCTGTGGGTAGTCTTTGGTGTCTTCTATCTTCAGGTAAAGTCATCACATATTCATGCTTAAATCATCTTCACT  
HOS1\_HT02 TCTGCACAGATGCTTATTAGATTCTGCAACTGATGACCCCTCATCAGCTGTGGGTAGTCTTTGGTGTCTTCTATCTTCAGGTAAAGTCATCACATATTCATGCTTAAATCATCTTCACT  
HOS1\_BN1 TCTGCACAGATGCTTATTAGATTCTGCAACTGATGACCCCTCATCAGCTGTGGGTAGTCTTTGGTGTCTTCTATCTTCAGGTAAAGTCATCACATATTCATGCTTAAATCATCTTCACT  
HOS1\_HT03 TCTGCACAGATGCTTATTAGATTCTGCAACTGATGACCCCTCATCAGCTGTGGGTAGTCTTTGGTGTCTTCTATCTTCAGGTAAAGTCATCACATATTCATGCTTAAATCATCTTCACT  
HOS1\_HT04 TCTGCACAGATGCTTATTAGATTCTGCAACTGATGACCCCTCATCAGCTGTGGGTAGTCTTTGGTGTCTTCTATCTTCAGGTAAAGTCATCACATATTCATGCTTAAATCATCTTCACT  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 TGAACATAGTCTTAAATAGTTGTTAGCCCGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATAAATATCAAGACTCAGAGCTGTAACTACATATATTTGGTAAATAGATGGAATTTTGTAGTA  
HOS1\_HT02 TGAACATAGTCTTAAATAGTTGTTAGCCCGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATAAATATCAAGACTCAGAGCTGTAACTACATATATTTGGTAAATAGATGGAATTTTGTAGTA  
HOS1\_BN1 TGAACATAGTCTTAAATAGTTGTTAGCCCGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATAAATATCAAGACTCAGAGCTGTAACTACATATATTTGGTAAATAGATGGAATTTTGTAGTA  
HOS1\_HT03 TGAACATAGTCTTAAATAGTTGTTAGCCCGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATAAATATCAAGACTCAGAGCTGTAACTACATATATTTGGTAAATAGATGGAATTTTGTAGTA  
HOS1\_HT04 TGAACATAGTCTTAAATAGTTGTTAGCCCGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATAAATATCAAGACTCAGAGCTGTAACTACATATATTTGGTAAATAGATGGAATTTTGTAGTA  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 GATTAATAGCCCATCCCAAGATCCAACCTAGATACATGTATATTTCTCTCACTCTCTGGTATGTGCTATATGGGCTTCAGTGTCTTTTATTATTCAGAGCTGTGTAGTCTGAGATATT  
HOS1\_HT02 GATTAATAGCCCATCCCAAGATCCAACCTAGATACATGTATATTTCTCTCACTCTCTGGTATGTGCTATATGGGCTTCAGTGTCTTTTATTATTCAGAGCTGTGTAGTCTGAGATATT  
HOS1\_BN1 GATTAATAGCCCATCCCAAGATCCAACCTAGATACATGTATATTTCTCTCACTCTCTGGTATGTGCTATATGGGCTTCAGTGTCTTTTATTATTCAGAGCTGTGTAGTCTGAGATATT  
HOS1\_HT03 GATTAATAGCCCATCCCAAGATCCAACCTAGATACATGTATATTTCTCTCACTCTCTGGTATGTGCTATATGGGCTTCAGTGTCTTTTATTATTCAGAGCTGTGTAGTCTGAGATATT  
HOS1\_HT04 GATTAATAGCCCATCCCAAGATCCAACCTAGATACATGTATATTTCTCTCACTCTCTGGTATGTGCTATATGGGCTTCAGTGTCTTTTATTATTCAGAGCTGTGTAGTCTGAGATATT  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 GAGAGTAATGAACAAGTATGAAATCATTTGAAACAACCGGCAAAATGCAATTAATAACGTTCTGTAAAATTCGTCTTGTGTATATGGTTTGTCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGA  
HOS1\_HT02 GAGAGTAATGAACAAGTATGAAATCATTTGAAACAACCGGCAAAATGCAATTAATAACGTTCTGTAAAATTCGTCTTGTGTATATGGTTTGTCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGA  
HOS1\_BN1 GAGAGTAATGAACAAGTATGAAATCATTTGAAACAACCGGCAAAATGCAATTAATAACGTTCTGTAAAATTCGTCTTGTGTATATGGTTTGTCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGA  
HOS1\_HT03 GAGAGTAATGAACAAGTATGAAATCATTTGAAACAACCGGCAAAATGCAATTAATAACGTTCTGTAAAATTCGTCTTGTGTATATGGTTTGTCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGA  
HOS1\_HT04 GAGAGTAATGAACAAGTATGAAATCATTTGAAACAACCGGCAAAATGCAATTAATAACGTTCTGTAAAATTCGTCTTGTGTATATGGTTTGTCTATTTTGGTCCGCTGTTAACTGGA  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 AACTACTTGTGTTTGGCATTGCTGCAGCGCTACCGTTACATCCATCCATGCGTACCAAGTCGATCTTAGGCTTCAGAAAATGGAAGAGCCCTTCTTATCCGAAAATCGAATTGGGGAAGAAGT  
HOS1\_HT02 AACTACTTGTGTTTGGCATTGCTGCAGCGCTACCGTTACATCCATCCATGCGTACCAAGTCGATCTTAGGCTTCAGAAAATGGAAGAGCCCTTCTTATCCGAAAATCGAATTGGGGAAGAAGT  
HOS1\_BN1 AACTACTTGTGTTTGGCATTGCTGCAGCGCTACCGTTACATCCATCCATGCGTACCAAGTCGATCTTAGGCTTCAGAAAATGGAAGAGCCCTTCTTATCCGAAAATCGAATTGGGGAAGAAGT  
HOS1\_HT03 AACTACTTGTGTTTGGCATTGCTGCAGCGCTACCGTTACATCCATCCATGCGTACCAAGTCGATCTTAGGCTTCAGAAAATGGAAGAGCCCTTCTTATCCGAAAATCGAATTGGGGAAGAAGT  
HOS1\_HT04 AACTACTTGTGTTTGGCATTGCTGCAGCGCTACCGTTACATCCATCCATGCGTACCAAGTCGATCTTAGGCTTCAGAAAATGGAAGAGCCCTTCTTATCCGAAAATCGAATTGGGGAAGAAGT  
\*\*\*\*\*

이 부분의 annotation이 이상함

HOS1\_BN2 AATGTCCAGAATGCAATCAGAGTCAATGGAGGAAAGAGTTAATGTAAGT----ATTCTAGCCACCTTCCATGAGCAAGTCCGCTTCCCTTCTTCTTCCCTGGTTAAATACTGCAG  
HOS1\_HT02 AATGTCCAGAATGCAATCAGAGTCAATGGAGGAAAGAGTTAATGTAAGT----ATTCTAGCCACCTTCCATGAGCAAGTCCGCTTCCCTTCTTCTTCCCTGGTTAAATACTGCAG  
HOS1\_BN1 AATGTCCAGAATGCAATCAGAGTCAATGGAGGAAAGAGTTAATGTAAGT----ATTCTAGCCACCTTCCATGAGCAAGTCCGCTTCCCTTCTTCTTCCCTGGTTAAATACTGCAG  
HOS1\_HT03 AATGTCCAGAATGCAATCAGAGTCAATGGAGGAAAGAGTTAATGTAAGT----ATTCTAGCCACCTTCCATGAGCAAGTCCGCTTCCCTTCTTCTTCCCTGGTTAAATACTGCAG  
HOS1\_HT04 AATGTCCAGAATGCAATCAGAGTCAATGGAGGAAAGAGTTAATGTAAGT----ATTCTAGCCACCTTCCATGAGCAAGTCCGCTTCCCTTCTTCTTCCCTGGTTAAATACTGCAG  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 ACTCAAATTTTCAGCTTGCCTTTAGTACTTAGT-AGCCCTCTGGTGTCTCCGAGGATT--CTGATATTTCTGAACTTGAATGTGC-----AATGATACGTTATATT-ATTTATTTAA  
HOS1\_HT02 ACTCAAATTTTCAGCTTGCCTTTAGTACTTAGT-AGCCCTCTGGTGTCTCCGAGGATT--CTGATATTTCTGAACTTGAATGTGC-----AATGATACGTTATATT-ATTTATTTAA  
HOS1\_BN1 ACTCAAATTTTCAGCTTGCCTTTAGTACTTAGT-AGCCCTCTGGTGTCTCCGAGGATT--CTGATATTTCTGAACTTGAATGTGC-----AATGATACGTTATATT-ATTTATTTAA  
HOS1\_HT03 ACTCAAATTTTCAGCTTGCCTTTAGTACTTAGT-AGCCCTCTGGTGTCTCCGAGGATT--CTGATATTTCTGAACTTGAATGTGC-----AATGATACGTTATATT-ATTTATTTAA  
HOS1\_HT04 ACTCAAATTTTCAGCTTGCCTTTAGTACTTAGT-AGCCCTCTGGTGTCTCCGAGGATT--CTGATATTTCTGAACTTGAATGTGC-----AATGATACGTTATATT-ATTTATTTAA  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 ACCCTCCCGTGTACTGTGTTGTTCAA-CAGGATAAAGCCATAGATATACTACCAGCAATACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGTCAAGTTTCTGAGATGGAAGATACCTCCGAAAGTGC  
HOS1\_HT02 ACCCTCCCGTGTACTGTGTTGTTCAA-CAGGATAAAGCCATAGATATACTACCAGCAATACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGTCAAGTTTCTGAGATGGAAGATACCTCCGAAAGTGC  
HOS1\_BN1 ACCCTCCCGTGTACTGTGTTGTTCAA-CAGGATAAAGCCATAGATATACTACCAGCAATACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGTCAAGTTTCTGAGATGGAAGATACCTCCGAAAGTGC  
HOS1\_HT03 ACTATCCCTGTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACTCCAGCAGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGCAATTTCTGAAAGTGAAGATACCTC-----  
HOS1\_HT04 ACTATCCCTGTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACTCCAGCAGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGCAATTTCTGAAAGTGAAGATACCTC-----  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 TTATGAGCAGCAGCAAAACACTGATCTTCCAGAAGCAAAACAATCAAGTGT---TCCGCTTCCACTAATTTCTGATATTTCTCCAAACGGGCTAAGGACGGTGGCGCTAGAGTCCAGTGGC  
HOS1\_HT02 TTATGAGCAGCAGCAGCAAAACACTGATCTTCCAGAAGCAAAACAATCAAGTGT---TCCGCTTCCACTAATTTCTGATATTTCTCCAAACGGGCTAAGGACGGTGGCGCTAGAGTCCAGTGGC  
HOS1\_BN1 TTATGAGCAGCAGCAGCAAAACACTGATCTTCCAGAAGCAAAACAATCAAGTGT---TCCGCTTCCACTAATTTCTGATATTTCTCCAAACGGGCTAAGGACGGTGGCGCTAGAGTCCAGTGGC  
HOS1\_HT03 ---TGAAGCAGCAGAAACCTGATCTTCCATGAGCAGCAAAACCTGATATGATTTCCCTCTCATACTAATCCGTAATTTCTCCAAAGGGCTAACACGCTGGCGCTAGAGTCCAGTGGC  
HOS1\_HT04 ---TGAAGCAGCAGAAACCTGATCTTCCATGAGCAGCAAAACCTGATATGATTTCCCTCTCATACTAATCCGTAATTTCTCCAAAGGGCTAACACGCTGGCGCTAGAGTCCAGTGGC  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 TAATAACGCGCAGCTCCCTTTCAACCCAGTCCGTTGATAGGTTCCGCTCCATTTGATATCTCCCATGGAAAGCTATTTACAAGCGCAAAATAGAGGACAGAAAGAGTGAAGTCAAGCAT  
HOS1\_HT02 TAATAACGCGCAGCTCCCTTTCAACCCAGTCCGTTGATAGGTTCCGCTCCATTTGATATCTCCCATGGAAAGCTATTTACAAGCGCAAAATAGAGGACAGAAAGAGTGAAGTCAAGCAT  
HOS1\_BN1 TAATAACGCGCAGCTCCCTTTCAACCCAGTCCGTTGATAGGTTCCGCTCCATTTGATATCTCCCATGGAAAGCTATTTACAAGCGCAAAATAGAGGACAGAAAGAGTGAAGTCAAGCAT  
HOS1\_HT03 TAATAATGGCAGCAGCTCCCTTTCAACCCAGTCCGTTGATAGGAAACGCTTCC-----CATGGAAAGTATTTGACAACCGCAAAATAGAGGACAGAAAGAGTGAAGTCAAGCAT  
HOS1\_HT04 TAATAATGGCAGCAGCTCCCTTTCAACCCAGTCCGTTGATAGGAAACGCTTCC-----CATGGAAAGTATTTGACAACCGCAAAATAGAGGACAGAAAGAGTGAAGTCAAGCAT  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 AACCAAGACTCTGAAATTCGGTG---AAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGGGAAACAGCAAGGCAAGGGAAGAGGACTGAAGCACATCTCCGAAATAAACGT  
HOS1\_HT02 AACCAAGACTCTGAAATTCGGTG---AAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGGGAAACAGCAAGGCAAGGGAAGAGGACTGAAGCACATCTCCGAAATAAACGT  
HOS1\_BN1 AACCAAGACTCTGAAATTCGGTG---AAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGGGAAACAGCAAGGCAAGGGAAGAGGACTGAAGCACATCTCCGAAATAAACGT  
HOS1\_HT03 AACCAAGACTCTGAAATTCGGTG---AAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGGGAAACAGCAAGGCAAGGGAAGAGGACTGAAGCACATCTCCGAAATAAACGT  
HOS1\_HT04 AACCAAGACTCTGAAATTCGGTG---AAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGGGAAACAGCAAGGCAAGGGAAGAGGACTGAAGCACATCTCCGAAATAAACGT  
\*\*\*\*\*

HOS1\_BN2 TGATAGATTCATGGACTCTCCTTATCTCACAGCTAATAATCCCGTAAACAATGGAACTCCGACTCGCAGCAAGCATCTCAATGGATCTGCACAGAAACCGGAATCCACTTCTTTGGCGT  
HOS1\_HT02 TGATAGATTCATGGACTCTCCTTATCTCACAGCTAATAATCCCGTAAACAATGGAACTCCGACTCGCAGCAAGCATCTCAATGGATCTGCACAGAAACCGGAATCCACTTCTTTGGCGT





TGATATCACCATCTGGCTCTGACCAAAAGAGTGTTTAACTACATCAGCTCTATTGTTTTGGTGCAAGATCAACAGAGTATATGGATCCTATTGTTTTGTTTTTTTTTCAGCATCTGGACATTATGATCTGGT  
CATAGACACAGGTTTTCCGGAAGATGTAGGTTCTCGGTATTCTACTTCTCGTGGAAAGGCTCTGGTACTTGAAGAAAGTACAGCCGAATTAAGCGTGCATGGCCGTGAGCCGTAGACAGCTTCCAGATTG  
AATGTACAGGTTCTCCCTTTTTATCGAGGATGCTGTACAAAATCTGAAAGAGAGCCAGAGTACAGTCAAGACATAGGGCCAGACCTAGATGTTGGATGTTTGCAGACAGATGAGAGATCAATTTCTAGGTTCC  
AAATAGAGGGAATTTCCAGATCTTTCCATTTGAGAGTCTTAGAAGTCCGCGTACATCTTTTTTACAGGGCAGTTTCAGATTTGGTGTGCGAAGCAAGCAATTTGATCCTTTTACATTTATCTCTACTTT  
GCTTTAAATACCTCATAAAGTAACTCCCATGTTTTTTTTTATTCGATGGTTTTCTTAACTCAGGATATAGTTTCTTTTACCTGTTTGTATCAGCATGGACCTCCCTTGCAGAAATATTTGGAAGCAGCAT  
ATAGATGATTTGCTGCTACCTTTGGCGTATCCAGACACTCGTTGCTGGAGTCTTTGATTTTTTCTTCGATGATCCCTCAGAGGAGGACTCCAGACTCCCTTTGACATTTCCAAAGGATAAACATATAG  
ATATGATTTATGTCAGATTTTTGTTATTTCCACCAACATTTAATACAGTTGTAGCTTTCCAAAATTTTATATCAGGAAGCTGTAGGACTCTCCCGAAATATGTGTGTCAGAAACATATCCCAAGGTTGCA  
AAGTCTGTTTGAAGAGGAAACCCTGAACAGTTCATAGGTTGTGCTGTAGTCTGAGTGGGGTACAGAACTGGTTTCAAGTGGTGAAGCTGTCACAGCAGTTCTGTGTGAGAGTGGAAATGTGTTATTC  
GAGTGAAGCATTCACATCCAAAGGTCCTCTGCTTGAAGTGAAGGAAATAAATTTGAATAATGGAGCTGTGAAAGATGTCTGATGATGTAGACATCTGGGGCTGGACGGAGTGGATGGAGATACTTTGTCAACG  
GTTCTGCTGTCTATGATATAGGAGAAACGTTGGTGTAGATCAATGAGTTACCCTGGAAATCCAGATGAAGAGAAATATCTGCACAGATGCCTATTTGGATTTGCAAGTGTAGCCCTCATCAGCTGTGGGTAG  
CTTCTGGTTGCTCTTCAATCTCAAGTAAGTAATTTAATCTTCAATCTTAAATCAAGTTCACTTGAACAACATGTTGCCCCCGAGAGTACGTTTGAATAAGTAAATACACACTTGAACCTCCAGAGCTGTAAAG  
ATATATGATTTAGAAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTATAGCTCATCCAATACATACATGATGTTTTCTTCGATGTGCTATCTGGCTAATAGTCTTTTATAATTCGAGCTTAATAGTGTACTTAA  
ACGAGGCAAAATTAAGCATAACCCGCTGCTAAATTTCTGGAAACTTGTCTTTGATATATTTATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGTTGTTGTCATGCTGAGGCTACCTACCTACAGGCTAT  
CCAAGTCACTTAAAGCTCCAGAGTATGTCAGAGAGTTTCTGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATTCAGAAATGGCACTACAGAGTCAATGGAGGAAGAATTTAGTTGTAAGTTATTTCCAGCC  
ATTTCTTTTGTCAAGTGTATCTCTTCTCTTCTGCTTTAGTGTCTTGTAGCTTATGATGCTTGCAGGATTTGCTTGCAGATTTTGAATCTTTAAATACTATCTGGAATGGTACTTGTATTTGGCTATTTGAACT  
CTTCTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACCTCCAGCAGTACAGCAGCAAGCTCAGATCTGGACAATTTTCTGAAAGTGGAAAGTAACTCCGGCTCTGCTTTATCAGGAGTGTGTTGA  
GATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCATATTAATTCCTGATTTCTCCAAAGGGCTAACAGCAGCTGGCCCTAGAGAGCCAGTGGCTAAATAATGGCAGACTTTTCAACCCGCTGTTGATAGGAAAC  
CTTCCCATAGGAAAGTTATTTGCAACCGCAATATGAGGACAAACGAGTGAAGCTTGAAGCATAACCAAGCACTTGAATTTCCGGTGTGAAGCGTCCACACCGTTCAGAGCTTTAACAGAGCTGTGAAGCC  
GCTCAAAGGACAGAGCTGCTGTGAACACTGTCGCGTACTTTGTTGATTTGGATGATCCAATGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTTCTCTTTTATAAACCATTTGTGTTACCGTTTGGTTGCAATAAG  
AGTGGCTTCAATCTTATGTCCTAACCTGTTAAATTTGTAATTTCAATGAAATGTTAGCTTCAAGGACACAACAATGCTTGGCTACTGAGAGCAGAAATAACAGTGGGGGATTGAGGTGGCGTTCCAGATGAAGCA  
GCAATGAGGAAGATGAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTCCGTTCCATGCCGTTAAGGGAAGGAGGACCGCTAGATTCGCTGAAGATGA

>HOS11. HT04  
GAGGGAGAAGATGGATACGAATCGACAATAAATCAATGGTTACGCCCTCCGCGCGAGATCCATGCTCTCCGAAGCAGCCTCATTACAATAGCAAGCCTGTTCAAGCTCTCCCTTCTCTCTCCCTAACTT  
CTTTTTTCTTTGGGTTTGGTACTCGTCTATAGCTCTTGCCATATATGCTCTACAAGCATCCCTCGGTTCTCAGTGTACAAAAGTTCACTCTTTTTATTTATTTCTTAAATGGGATAGCATATGTAACAATGTAT  
AGTGGTGAAGATTTGTTATTTGGTGTCCAACTCACTTTGCTTCAACCTGTTCACATTTCAAGTGAAGAAAATTAAGATGATGACTGTGTTGGCTAAGTGAATATACTATAGAGCTTGAAGATTTTATGAGTATATTC  
GAATTTGTTGCTACTACTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGAGATTTGTTAATGAGGCCAAGGCTGAGCATTTGCTGCAACCGAAGAACTAGCCCTCTGTGGGAGATCTGTGGCT  
CGCGTAAATCCCGTGTGGACAGCCCTCTTTGTGCAAGAGTGGTTGCGAAGGTGTGATGTTTGTCCATCTGTGCGATGCGCACTACCAAGAACTGGGGATAACTCCGGCTCTGCTTTATCAGGAGTGTGTTGA  
GCTGCTAAATCTCTCAGATCAAGATGAACATCAGCTGTGAGCTGATGTTTCCCTTTGTTTCTGTTTGGTGTGCAAGTATGAGTGTGCAACAACTTTGATATCTGTTGGTGTGCTGTTATCTGTTGCTGATTT  
TGCTGCTGTACATAGATTTGTTGTTTCTTACATCTGTTACCAGAACTCCCATATGATATAGGGAATAAGCTAGTGTAGAGCTGTGATATATACGGGGAGATTTACTGATAGTTTCACTGTACTTTAGGTA  
CTTCTGTTCCCTGCTGGCAAAAATATAATAGTGTTTTATCATCTCTATATCTTTGATCTATAATTTGATATCTTTGACAGAAATTAATAGATATCCAGGATGTTTGTATGACAGGACTGCTGTATCTCA  
TGACCCGCTACTTGTCTTTGCTGGATGAGTTGTTGCAAGATGGGCTAAGCGTACTTACAGGAACCTTACAGTGTGCTTCCGAGAAATTTGATATCTTACCTTTAGCTTTGAAATATATGTTTCTGAGGCC  
GTATATGATCTTTAAATATGGCTCTCAGATAGCTTTGAAACGAAAGGATGAAGCAAGCTTGGTGTGATAGCTTCTCAAGTATTCGAAACAAGTTCGGGATATTTAGTGTGGTGAAGTTATGGAATCGAAC  
AAGGGCTGTTTCCACTCAGCTTCAAGAGTGTGCAAGGCTTGGGAGAACTTTGAAAAAACAAGAGGCTGAGCTAAGATTTTCTATTTCCATTTACATCCCACTCAGCTTTTCAAAAAGTATGCTTAAATTTACTA  
TATTACTTATTTTCTACAGGCTTCCAAATAAGTGTAGTACTGCTCAAGAAATTTACTATTTAGTAAATGAAAGACAGTATTTAGATTTATGAAAGACAGCATATTTAGCTTACATCTGCGCTGTTTAAACCTGTCTG  
TGATATCACCATTCTGCTGCTGACAAAGAGTGTTTAACTACATCAGCTCTTGTGTTTTGGTGTGCAAGTATGAGTATGAGTGTGCAAGTATGAGTGTGCAAGTATGAGTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT  
CATAAAGACAGGTTTCCGAAAGATGTGAGCTCTGCTGATCTACTTTCACTTCCAGTGTGAGGCTGTGATCTTGAAGAAATGAGTAAATGAGTAAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGT  
AATGTACAGGTTGCTTTCTTTTATCGAGGATGCGTTTCAAAAATCTGAAAGAGGAGCAGAGTACAGTCAAGACATAGGGGACAGACTAGATGTTGGATGTTTGCAGAACAGATGAGAGATCAATCTTAGGTTCC  
AAATAGAGGGAATTTAGAGTCTTATCCATTTGAGAGCTTGTAGAACTGCGCGTGCATTTCTTTTTACAGGCGAGTTGAGATTTGGTGTGCGAAGCAAGCAATTTGATCTCTTCACTTTATCTCTCATATTTCT  
GCTTTTAAATACTCATATAAAGTATACCTTCCCATGTTTTTTTTTATTTATTCGATGGTTTCCCTTACCCAGGATATAGTTTCTTTTATTTACCTGTTTGTATCAGCATTTGGACTGCCCTGAGAAATTTGGGAAGC  
ATAGATGATTTTGGCTACTTTTGGCGTATCCAGACACTCGTTGCTGGAGTCTTTTGTATTTTTATCTTCGATGATCCCTCAGAGGAGGCACTCCAGTACCTTTTGTACATTTCCCAAGGGATAAACATATAGAA  
ATATGATTTATGTTGCTACTTTTGGCGTATCCCAACAACTTTTAAACAGTTGTAGTATTTTCAATTTTATATCAGAGGCTTCCCAAAATTTTATATCAGGAGCAATTTGATGAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAG  
AAGCTGTTTGAAGGGAATAACCTGGAACAGTCTTATAGGTTGTGCGTTGCTGAGTCTGTGTTGGGATCAAGAACTGGTTTCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAGTGTGCAAG  
GAGTGAAGCATACCAATACCAAGGCTCCTGCTTGAAGTGAAGGAAATAAATTTGAAATAATGGAGTGTGAAAGATGTTCTGAT  
GTTCTGCTGCTTATGATATGAGGAAAGCTGGTTGATAGAACTAGTGTGCTGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAAATGAGGAA  
CTTCTGGTTGCTTCTTCAAGTAAAGTAAATTTAATCTTCAATTTAAATCAAGTTCACTTGAACAACATGTTGCCCCCGAGAGTACGTTTGAATAAGTAAATACACACTTGAACCTCCAGAGCTGTAAAG  
ATATATGATGTTAGAAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTAATAGCTCATCCAATACATAGTATGTTTGGTGTGCAAGTATGAGTATGAGTGTGCAAGTATGAGTGTGCAAGTATGAGTGTGCAAGTATGAGTGTGCAAG  
AACGAGGCAAGGTTAAGCATAACCCGCTGCTTAAATTTCTGGAAACTTGTCTTTTGTATATTTATATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGTTGTTTGTGCTGCAAGCTTCCCGTTACATCCAGGCA  
CCAAGTCTGATTTAAGCTCCAGAGTATGTCAGAGAGTTTCTGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATGCTCAGAAATGCGATCAGAGACTTGGAGGAAGAATTTAGTTGTAAGTTATTTGTTCCAGCC  
CTTTCTTTGTACAAGTGTATCTTCTCTTGGCTTTAGTGTCTTGTAGCTTATGCTTGCAGGATTTGCTGACATTTTGAATCTTAAATATACTATCTGGAATGTTACTTGTATTTGGCTATTTGAACT  
ATCTGTTGTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATCTTCCAGGATTTCCAGAGCAGCAAGTGTAGATCTGGAACAATTTCTGAAAGTGAAGATGACTTGAAGAGCAAGAAATCGATCTTCTTCC  
GATGCGCAACAACCTGATATGATTTCCCTCTACTAATAATCTCGTATTTCTCCAAAGGGCTAACAGCAGCTGGCGCTAGAGAGCCAGTGGCTAATAAGAGGACACTCTTTTCAACCCGCTGTTGATAGGAAAC  
CTTCCCATGGAAAGTTATGCAACCGCAATATGAGGACAAACGAGTGAAGCTAGAAAGCATAACCAAGCACTTGAATTTCCGGTGTGAAGCGTCCACACCGTTCAGAGCTTTAACAGAGCTGTGGAAGCAGCC  
GCTCAAAGGACAGAGCTGCTGTGAACACTGTCGCGTACTTTGTTGATTTGGATGATCCAATGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTTCTCTTTTATAAACCATTTGTGTTACCGTTTGGTTGCAATAAG  
AGTGGCTTCAATCTTATGTCCTAACCTGTTAAATTTGTAATTTCAATGAAATGTTAGCTTCAAGGACACAACAATGCTTGGCTACTGAGAGCAGAAATAACAGTGGGGGATTGAGGTGGCGTTCCAGATGAAGCA  
GCAATGAGGAAGATGAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTCCGTTCCATGCCGTTAAGGGAAGGAGGACCGCTAGATTCGCTGAAGATGA

HOS11. HT03 GAGGGAGAAGATGGATACGAATCGACAATAAATCAATGGTTACGCCCTCCGCGCGAGATCCATGCTCTCCGAAGCAGCCTCATTACAATAGCAAGCCTGTTCAAGCTCTCCCTTCTCTCTCCCTAACTTCT  
HOS11. HT04 GAGGGAGAAGATGGATACGAATCGACAATAAATCAATGGTTACGCCCTCCGCGCGAGATCCATGCTCTCCGAAGCAGCCTCATTACAATAGCAAGCCTGTTCAAGCTCTCCCTTCTCTCTCCCTAACTTCT  
HOS11. HT02 GAGGGAGAAGATGGATACGAATCGACAATAAATCAATGGTTACGCCCTCCGCGCGAGATCCATGCTCTCCGAAGCAGCCTCATTACAATAGCAAGCCTGTTCAAGCTCTCCCTTCTCTCTCCCTAACTTCT  
HOS11. RN2 GAGGGAGAAGATGGATACGAATCGACAATAAATCAATGGTTACGCCCTCCGCGCGAGATCCATGCTCTCCGAAGCAGCCTCATTACAATAGCAAGCCTGTTCAAGCTCTCCCTTCTCTCTCCCTAACTTCT  
HOS11. HT01 GAGGGAGAAGATGGATACGAATCGACAATAAATCAATGGTTACGCCCTCCGCGCGAGATCCATGCTCTCCGAAGCAGCCTCATTACAATAGCAAGCCTGTTCAAGCTCTCCCTTCTCTCTCCCTAACTTCT  
HOS1L\_BN1 \*\*\*\*\*

HOS11. HT03 CCTTCCCTCTAAATATCTTTTTCTTTTTGGGTTTTGCTACTCGTCTATAGCTCTTGCCATATATGCTCTACAAGCATCCCTCGGTTCTCAGTGTACAAAAGTTCAATCTTTTTATTTAT  
HOS11. HT04 CCTTCCCTCTAAATATCTTTTTCTTTTTGGGTTTTGCTACTCGTCTATAGCTCTTGCCATATATGCTCTACAAGCATCCCTCGGTTCTCAGTGTACAAAAGTTCAATCTTTTTATTTAT  
HOS11. HT02 CCTTCCCTCTAAATATCTTTTTCTTTTTGGGTTTTGCTACTCGTCTATAGCTCTTGCCATATATGCTCTACAAGCATCCCTCGGTTCTCAGTGTACAAAAGTTCAATCTTTTTATTTAT  
HOS11. RN2 CCTTCCCTCTAAATATCTTTTTCTTTTTGGGTTTTGCTACTCGTCTATAGCTCTTGCCATATATGCTCTACAAGCATCCCTCGGTTCTCAGTGTACAAAAGTTCAATCTTTTTATTTAT  
HOS11. HT01 CCTTCCCTCTAAATATCTTTTTCTTTTTGGGTTTTGCTACTCGTCTATAGCTCTTGCCATATATGCTCTACAAGCATCCCTCGGTTCTCAGTGTACAAAAGTTCAATCTTTTTATTTAT  
HOS1L\_BN1 \*\*\*\*\*

HOS11. HT03 TTCTTAATGGGTAGCATATGTAACAAATGTAATAGTGGTGAAGTTGTAATTTGTTGTTTCCAATCACTTTGCTCTAACCTGTTTACATTTCAAGTGAATAATTAAGATGATGACTGTGTTG  
HOS11. HT04 TTCTTAATGGGTAGCATATGTAACAAATGTAATAGTGGTGAAGTTGTAATTTGTTGTTTCCAATCACTTTGCTCTAACCTGTTTACATTTCAAGTGAATAATTAAGATGATGACTGTGTTG  
HOS11. HT01 TTCTTAATGGGTAGCATATGTAACAAATGTAATAGTGGTGAAGTTGTAATTTGTTGTTTCCAATCACTTTGCTCTAACCTGTTTACATTTCAAGTGAATAATTAAGATGATGACTGTGTTG  
HOS11. RN2 TTCTTAATGGGTAGCATATGTAACAAATGTAATAGTGGTGAAGTTGTAATTTGTTGTTTCCAATCACTTTGCTCTAACCTGTTTACATTTCAAGTGAATAATTAAGATGATGACTGTGTTG  
HOS11. HT01 TTCTTAATGGGTAGCATATGTAACAAATGTAATAGTGGTGAAGTTGTAATTTGTTGTTTCCAATCACTTTGCTCTAACCTGTTTACATTTCAAGTGAATAATTAAGATGATGACTGTGTTG  
HOS1L\_BN1 TTCTTAATGGGTAGCATATGTAACAAATGTAATAGTGGTGAAGTTGTAATTTGTTGTTTCCAATCACTTTGCTCTAACCTGTTTACATTTCAAGTGAATAATTAAGATGATGACTGTGTTG  
\*\*\*\*\*

HOS11. HT03 GCTAAGTGAAGTAACTATAGAGCTTAGAATTTTTATGAGTATATTCAGAATTTGTTGCTTACTACTTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGGAGTTGTTGTAATG  
HOS11. HT04 GCTAAGTGAAGTAACTATAGAGCTTAGAATTTTTATGAGTATATTCAGAATTTGTTGCTTACTACTTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGGAGTTGTTGTAATG  
HOS11. HT02 GCTAAGTGAAGTAACTATAGAGCTTAGAATTTTTATGAGTATATTCAGAATTTGTTGCTTACTACTTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGGAGTTGTTGTAATG  
HOS11. RN2 GCTAAGTGAAGTAACTATAGAGCTTAGAATTTTTATGAGTATATTCAGAATTTGTTGCTTACTACTTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGGAGTTGTTGTAATG  
HOS11. HT01 GCTAAGTGAAGTAACTATAGAGCTTAGAATTTTTATGAGTATATTCAGAATTTGTTGCTTACTACTTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGGAGTTGTTGTAATG  
HOS1L\_BN1 GCTAAGTGAAGTAACTATAGAGCTTAGAATTTTTATGAGTATATTCAGAATTTGTTGCTTACTACTTACAGGAGGCGTTGAGGCATTTAGCATCTTCAACCTCAGGGAGTTGTTGTAATG  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 AGGCCAAGGCTGACATTTGCTGTCACACAGAACTTAGCCCTCTGGGAGATCTGTGCGCTACCGGTTAACTCCGTTGGGACAGCCCTCTTGTGCAAGAGTGTGTTGCGAAGGTTG







HOS1L\_HT01 TGCTCTCTATCTTCAAGTAAAGTAAATGTAACCTTCACTTCTTAAATCAAGTTCACCTTGAACAACATGTTGCCCGGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATACAACACTTGAACCTCCAGAGC  
HOS1L\_BN1 TGCTCTCTATCTTCAAGTAAAGTAAATGTAACCTTCACTTCTTAAATCAAGTTCACCTTGAACAACATGTTGCCCGGAGAGTAGCTTTAGAAAAGTCAAATACAACACTTGAACCTCCAGAGC  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TGTAAGCTATATATGTAGTTTGAATAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTATTAGCTCATCCAACACATACATGATGTTTTCTCGTATGTGCTATCTGGGCTAATAGTCTCTTTAT  
HOS1L\_HT04 TGTAAGCTATATATGTAGTTTGAATAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTATTAGCTCATCCAACACATACATGATGTTTTCTCGTATGTGCTATCTGGGCTAATAGTCTCTTTAT  
HOS1L\_HT02 TGTAAGCTATATATGTAGTTTGAATAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTATTAGCTCATCCAACACATACATGATGTTTTCTCGTATGTGCTATCTGGGCTAATAGTCTCTTTAT  
HOS1L\_HT01 TGTAAGCTATATATGTAGTTTGAATAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTATTAGCTCATCCAACACATACATGATGTTTTCTCGTATGTGCTATCTGGGCTAATAGTCTCTTTAT  
HOS1L\_BN1 TGTAAGCTATATATGTAGTTTGAATAATATGAAATTTATAGTAAGGGATTTATTAGCTCATCCAACACATACATGATGTTTTCTCGTATGTGCTATCTGGGCTAATAGTCTCTTTAT  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 AATTCGAGCTTAAATGTAGTCTAACACGAGGCAAGTTAAGCACTACAACCGCTGCTTAAATTCGGAAACTTTGCTTTTGTATATTATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGGT  
HOS1L\_HT04 AATTCGAGCTTAAATGTAGTCTAACACGAGGCAAGTTAAGCACTACAACCGCTGCTTAAATTCGGAAACTTTGCTTTTGTATATTATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGGT  
HOS1L\_HT02 AATTCGAGCTTAAATGTAGTCTAACACGAGGCAAGTTAAGCACTACAACCGCTGCTTAAATTCGGAAACTTTGCTTTTGTATATTATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGGT  
HOS1L\_HT01 AATTCGAGCTTAAATGTAGTCTAACACGAGGCAAGTTAAGCACTACAACCGCTGCTTAAATTCGGAAACTTTGCTTTTGTATATTATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGGT  
HOS1L\_BN1 AATTCGAGCTTAAATGTAGTCTAACACGAGGCAAGTTAAGCACTACAACCGCTGCTTAAATTCGGAAACTTTGCTTTTGTATATTATCTATTTTTTAACTGGAAACTACTGGT  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TGTTTGCATTTGCTGAGCGCTACCGTTACATCCAGGCATACCAAGTCGATCTTAAAGCTCCAGAGTATTCAGAGAGTTTCGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATGTCAGAA  
HOS1L\_HT04 TGTTTGCATTTGCTGAGCGCTACCGTTACATCCAGGCATACCAAGTCGATCTTAAAGCTCCAGAGTATTCAGAGAGTTTCGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATGTCAGAA  
HOS1L\_HT02 TGTTTGCATTTGCTGAGCGCTACCGTTACATCCAGGCATACCAAGTCGATCTTAAAGCTCCAGAGTATTCAGAGAGTTTCGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATGTCAGAA  
HOS1L\_HT01 TGTTTGCATTTGCTGAGCGCTACCGTTACATCCAGGCATACCAAGTCGATCTTAAAGCTCCAGAGTATTCAGAGAGTTTCGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATGTCAGAA  
HOS1L\_BN1 TGTTTGCATTTGCTGAGCGCTACCGTTACATCCAGGCATACCAAGTCGATCTTAAAGCTCCAGAGTATTCAGAGAGTTTCGATCTGAAAATCGAAATGGGGAAGAAGTAAATGTCAGAA  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TGCGATCAGAGAGTATTGGGGAAGAAGTAAAGTGTAAAGTATTGTTCCAGCCACCTTCTTTGTACAAGTGTATCCCTCCCTTTCGCTTTTGTAGTCTAGTTAGCCTCATGATGCTTG  
HOS1L\_HT04 TGCGATCAGAGAGTATTGGGGAAGAAGTAAAGTGTAAAGTATTGTTCCAGCCACCTTCTTTGTACAAGTGTATCCCTCCCTTTCGCTTTTGTAGTCTAGTTAGCCTCATGATGCTTG  
HOS1L\_HT02 TGCGATCAGAGAGTATTGGGGAAGAAGTAAAGTGTAAAGTATTGTTCCAGCCACCTTCTTTGTACAAGTGTATCCCTCCCTTTCGCTTTTGTAGTCTAGTTAGCCTCATGATGCTTG  
HOS1L\_HT01 TGCGATCAGAGAGTATTGGGGAAGAAGTAAAGTGTAAAGTATTGTTCCAGCCACCTTCTTTGTACAAGTGTATCCCTCCCTTTCGCTTTTGTAGTCTAGTTAGCCTCATGATGCTTG  
HOS1L\_BN1 TGCGATCAGAGAGTATTGGGGAAGAAGTAAAGTGTAAAGTATTGTTCCAGCCACCTTCTTTGTACAAGTGTATCCCTCCCTTTCGCTTTTGTAGTCTAGTTAGCCTCATGATGCTTG  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 CAGGATTTGCTGACATTTTGAATCTTAAATATACTATCTGGAATGGTACTTGATATTGGCTATTGAACTATCCCTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACT  
HOS1L\_HT04 CAGGATTTGCTGACATTTTGAATCTTAAATATACTATCTGGAATGGTACTTGATATTGGCTATTGAACTATCCCTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACT  
HOS1L\_HT02 CAGGATTTGCTGACATTTTGAATCTTAAATATACTATCTGGAATGGTACTTGATATTGGCTATTGAACTATCCCTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACT  
HOS1L\_HT01 CAGGATTTGCTGACATTTTGAATCTTAAATATACTATCTGGAATGGTACTTGATATTGGCTATTGAACTATCCCTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACT  
HOS1L\_BN1 CAGGATTTGCTGACATTTTGAATCTTAAATATACTATCTGGAATGGTACTTGATATTGGCTATTGAACTATCCCTGTTTCTGTTACTTTGAAACAAGATGAAGCCATAGATATACT  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TCCAGCGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGACAATTTCTGAAAGTGGGAAGATACCTCTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCCGTATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCA  
HOS1L\_HT04 TCCAGCGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGACAATTTCTGAAAGTGGGAAGATACCTCTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCCGTATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCA  
HOS1L\_HT02 TCCAGCGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGACAATTTCTGAAAGTGGGAAGATACCTCTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCCGTATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCA  
HOS1L\_HT01 TCCAGCGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGACAATTTCTGAAAGTGGGAAGATACCTCTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCCGTATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCA  
HOS1L\_BN1 TCCAGCGATTACAGCAGCAGCAAGTCAGATCTGGACAATTTCTGAAAGTGGGAAGATACCTCTGAAGCAGCAAGAACTCTGATCTTCCGTATGCGCAACAACCTGATATGATTTCTCTCA  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TACTAATTCGGTATTTCTCCAAGGGCTAACGACGCTGGCGCTAGAGAGCCAGTGGCTAATAATGGCAGCACTCCCTTTCAACCCGGTCTGTTGATAGGAAACCGTCTCCCATGGAAAGTT  
HOS1L\_HT04 TACTAATTCGGTATTTCTCCAAGGGCTAACGACGCTGGCGCTAGAGAGCCAGTGGCTAATAATGGCAGCACTCCCTTTCAACCCGGTCTGTTGATAGGAAACCGTCTCCCATGGAAAGTT  
HOS1L\_HT02 TACTAATTCGGTATTTCTCCAAGGGCTAACGACGCTGGCGCTAGAGAGCCAGTGGCTAATAATGGCAGCACTCCCTTTCAACCCGGTCTGTTGATAGGAAACCGTCTCCCATGGAAAGTT  
HOS1L\_HT01 TACTAATTCGGTATTTCTCCAAGGGCTAACGACGCTGGCGCTAGAGAGCCAGTGGCTAATAATGGCAGCACTCCCTTTCAACCCGGTCTGTTGATAGGAAACCGTCTCCCATGGAAAGTT  
HOS1L\_BN1 TACTAATTCGGTATTTCTCCAAGGGCTAACGACGCTGGCGCTAGAGAGCCAGTGGCTAATAATGGCAGCACTCCCTTTCAACCCGGTCTGTTGATAGGAAACCGTCTCCCATGGAAAGTT  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 ATTGACAACCCGAAATAGAGGACAACAGAGTGAAGCTAGAAGCATAACCAAGACTCTGAAAATTCGGTGGTGAAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCA  
HOS1L\_HT04 ATTGACAACCCGAAATAGAGGACAACAGAGTGAAGCTAGAAGCATAACCAAGACTCTGAAAATTCGGTGGTGAAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCA  
HOS1L\_HT02 ATTGACAACCCGAAATAGAGGACAACAGAGTGAAGCTAGAAGCATAACCAAGACTCTGAAAATTCGGTGGTGAAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCA  
HOS1L\_HT01 ATTGACAACCCGAAATAGAGGACAACAGAGTGAAGCTAGAAGCATAACCAAGACTCTGAAAATTCGGTGGTGAAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCA  
HOS1L\_BN1 ATTGACAACCCGAAATAGAGGACAACAGAGTGAAGCTAGAAGCATAACCAAGACTCTGAAAATTCGGTGGTGAAGCGTCCACACCGTTCAAAGATCTTAAACAGAGCTCGTGTGAACAGCCA  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 GCTCAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCGTCCCGTGACTTTGTTGATTTGGATGATCCAAATGGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTCTCTTTTATAAACCACTTGTGTTACCG  
HOS1L\_HT04 GCTCAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCGTCCCGTGACTTTGTTGATTTGGATGATCCAAATGGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTCTCTTTTATAAACCACTTGTGTTACCG  
HOS1L\_HT02 GCTCAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCGTCCCGTGACTTTGTTGATTTGGATGATCCAAATGGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTCTCTTTTATAAACCACTTGTGTTACCG  
HOS1L\_HT01 GCTCAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCGTCCCGTGACTTTGTTGATTTGGATGATCCAAATGGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTCTCTTTTATAAACCACTTGTGTTACCG  
HOS1L\_BN1 GCTCAAAGGACAGAGCTCGTGTGAACACTCGTCCCGTGACTTTGTTGATTTGGATGATCCAAATGGATTTGCTTCAAGGTACATTTAATCTCTCTTTTATAAACCACTTGTGTTACCG  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TTTGGTTGTCATAAGAAGTGCAGTTCAACTATTATGTCCTAATCCCTGTTAATTTGATATTTCAATGATGTTAGCTTCAAGGACAACAACAATGCTTGGCCACTGAGAGCAGAAAACAG  
HOS1L\_HT04 TTTGGTTGTCATAAGAAGTGCAGTTCAACTATTATGTCCTAATCCCTGTTAATTTGATATTTCAATGATGTTAGCTTCAAGGACAACAACAATGCTTGGCCACTGAGAGCAGAAAACAG  
HOS1L\_HT02 TTTGGTTGTCATAAGAAGTGCAGTTCAACTATTATGTCCTAATCCCTGTTAATTTGATATTTCAATGATGTTAGCTTCAAGGACAACAACAATGCTTGGCCACTGAGAGCAGAAAACAG  
HOS1L\_HT01 TTTGGTTGTCATAAGAAGTGCAGTTCAACTATTATGTCCTAATCCCTGTTAATTTGATATTTCAATGATGTTAGCTTCAAGGACAACAACAATGCTTGGCCACTGAGAGCAGAAAACAG  
HOS1L\_BN1 TTTGGTTGTCATAAGAAGTGCAGTTCAACTATTATGTCCTAATCCCTGTTAATTTGATATTTCAATGATGTTAGCTTCAAGGACAACAACAATGCTTGGCCACTGAGAGCAGAAAACAG  
\*\*\*\*\*

HOS1L\_HT03 TGGGGGATAGAGTGGCGTTACAGATGAAGCAGCAATGAGGAGAGTGAAGTGAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCGGTTCATGCGCGTTAAGGGGAAGGAGGACGCTAGATTCGC

```

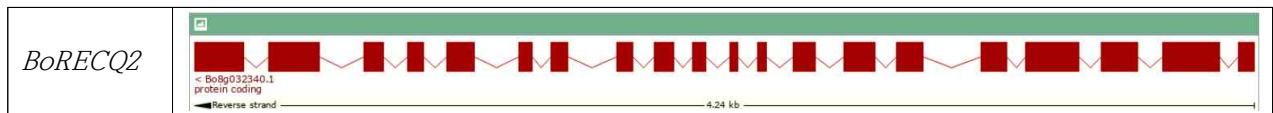
HOS1L_HT04 TGGGGGATTGAGGTGGCGTTCAGATGAAGCAAGCAATGAGGAAGATGAACTGAAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCGGTTCCATGCCGGTTAAGGGAAGGAGGACGCGTAGATTCCG
HOS1L_HT02 TGGGGGATTGAGGTGGCGTTCAGATGAAGCAAGCAATGAGGAAGATGAACTGAAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCGGTTCCATGCCGGTTAAGGGAAGGAGGACGCGTAGATTCCG
HOS1L_BN1 TGGGGGATTGAGGTGGCGTTCAGATGAAGCAAGCAATGAGGAAGATGAACTGAAAGTGGGACATGGAACCAACTAGTTTCGGTTCCATGCCGGTTAAGGGAAGGAGGACGCGTAGATTCCG
*****
HOS1L_HT03 TGTAAGATGA
HOS1L_HT04 TGTAAGATGA
HOS1L_HT02 TGTAAGATGA
HOS1L_BN2 TGTAAGATGA
HOS1L_HT01 TGTAAGATGA
HOS1L_BN1 TGTAAGATGA
*****
Shaded region: exon
HOS1-B: 아시아종묘 2계통과 조은종묘 유래 4계통의 유전자가 4,450 bp가 100% 동일함: incredible

```

### BoRECQ2 유전자

① 선택이유: 유전자 안정성에 관여하고 특히 기후 변화시 DNA repair와 관련이 있기 때문에 내서성과도 연관이 예상됨.

② 양배추 유전자: Bo8g032340: 707 amino acids,



③ Primer sequences for genomic DNA cloning:

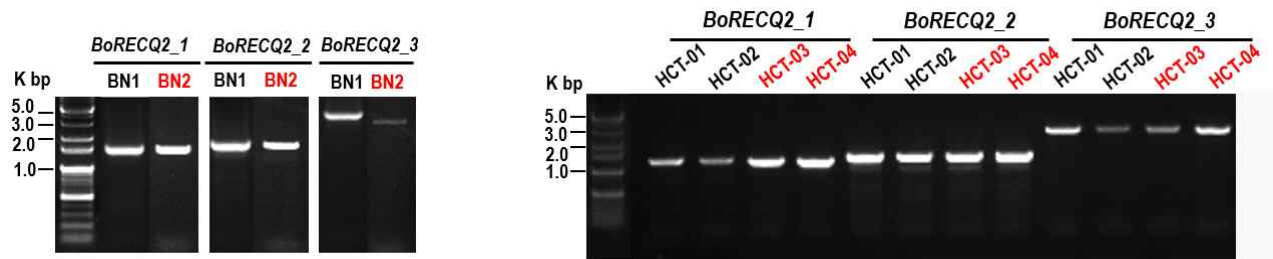
```

RECQ2-F1: 5'-ACCGGTGAACCAATGGAAAGTGA
RECQ2-F2: 5'-GCAACTGCTACACAGAAGGTCCA
RECQ2-R2: 5'-GCAACTGCTACACAGAAGGTCCA

RECQ2-R1: 5'-TGGACCTTCTGTGTAGCAGTTGC
RECQ2-R2: 5'-TGCAATCTTGTGACGGCTCTCC
RECQ2-R3: 5'-CGGTTTGCCGACGACCTGAAAT

```

④ PCR 결과: 아시아종묘 양배추 2계통 (BN1, 내서성강; BN2, 내서성 약)과 조은종묘 4계통 (HCT-01, HCT-02: 내서성 강)(HCT-03, HCT-04: 내서성 약)을 이용하였음



⑤ Genomic DNA 클로닝과 염기서열 분석 결과: 자세한 내용은 마지막 부분 (부록)에 넣음  
- Polymorphisms found between HT-01/02 and HT-03/04

SNP		SSR		InDel	
Exon	Intron	Exon	Intron	Exon	Intron
12	26	0	4	1	4

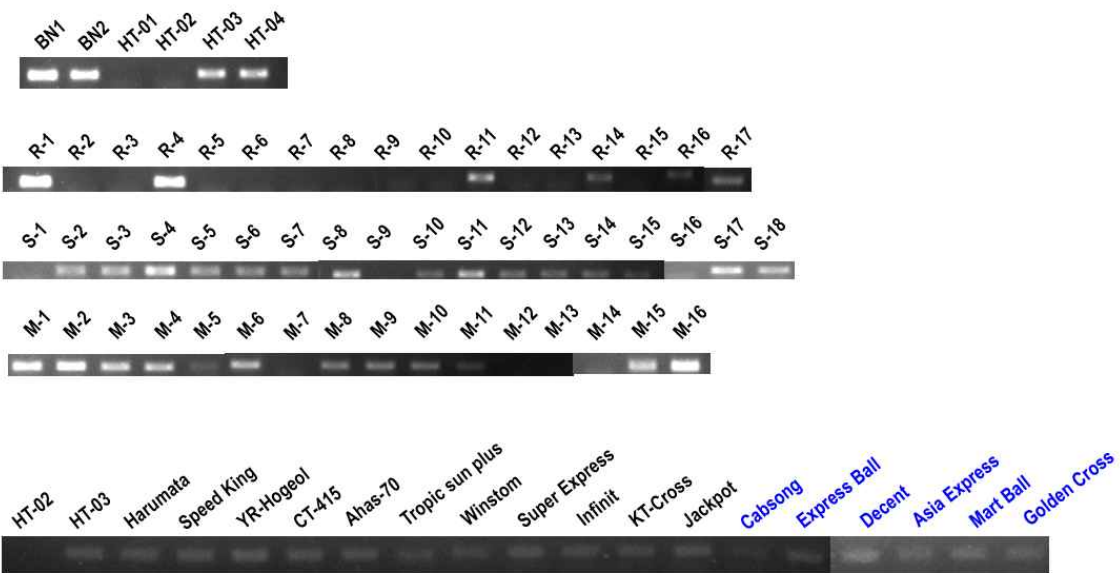
아미노산 변화: 8개

⑥ 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성과 그 결과:

Marker Validation			
Forward primer	Reverse primer	Size	Remarks
RECQ2-RF1: 5'-CCAGAGAGAAGTAAGTTGCTTCTGCT	RECQ2-RR1: 5'- GCTGATAGCAAAGACTCTTCCCCC	160	exon2 -exon 3
RECQ2-SF1: 5'-GAGCTAACCAGAGAGAAGTAAGTTGCTTT	RECQ2-SR1: 5'- AAGCTGATAGCAAAGACTCTTCCCCAC		
RECQ2-F2: 5'-CCTTTCTCCGTCCTGTTACATTCTG	RECQ2-R2: 5'-GCAGTTGCCTGCATCAGAGAC	200	size difference
RECQ2-RF3: 5'-GAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTA	RECQ2-R3: 5'-GGTTGCCGACGACCTGAAAT	140	Exon 20
RECQ2-SF3: 5'-GATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTA			

- 두 세트에서만 증폭이 가능하였음

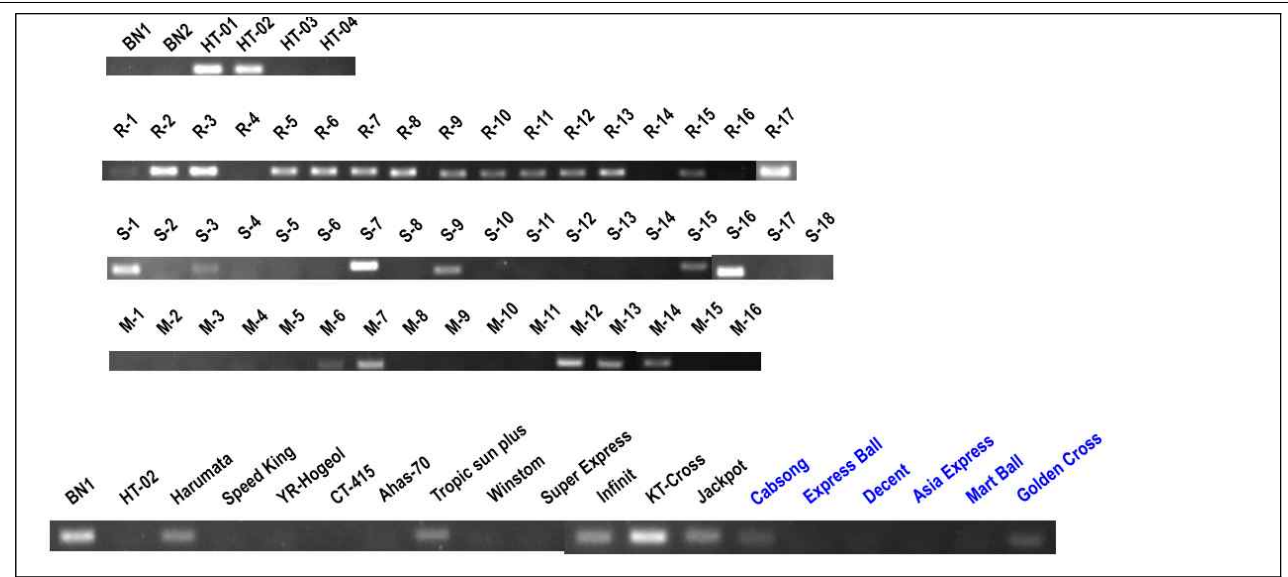
SF1 x SR1: 70°C



- 민감성은 94% 색출하나, 저항성의 35%가 민감성으로 나옴
- 민감성 마커로 활용이 가능할 것임

RF2 x R3: 68°C

- 저항성 계통 76%를 적중하고, 민감성은 33%를 잘못 적중함.
- 프라이머 조작과 조건변화를 통하여 마커로 활용이 가능할 것임.



⑦ 클로닝한 서열과 분석결과 (부록)

**BoRECQ2: Bo8g032340**

```
>RRCQ2. BN1
ACCCGGTGAACCAATGGAAAGTGAAGCGATTCCAGGACGAGCTTCAAAGCTTAGAGCTCGAGATCAAAGATGTTCAAGGTTTACACTTGTCCGTTCTTCGAAATTCAGTCTCAGGTTGCTT
TGATTTTGAATTCGAATCATTGTTATAGGTCAGATAAGTGCTTTGATAGAGCATCAAGACAGGTTGTACGAGAGAAAGTCTGAGCTTAAGACATTTGTTAAAAGCAGTTGCAGCTTCAGT
ACACCTGTCCGATCTTCTTGTCCCTGGTGGCTCGAGTGTCTGTGGAGAATTTGGTCCGAGCCATTCGAGTGGGATTCACGCCGTGATGACATTAGGTTTAAACATTTTGGCATATCCAAATA
AGAGCTAACAGAGAGAAGTAAAGTTGCTTTTGTCTTCTGCAATTTGCTTTATGCTTTTCAAGAAAGCAACAACATGATGACGTTTCAATCTTGTTCCTTTGGATAACACGACAGATAGTTA
CGCTATAATGGCTGGTAGAGATGACTGGTGTATCATGGCAGCAGGTGGTGGGAAGAGCTTTGCTATCAGCTTCCCTGCTATACTTCGTGGTGGTACAACCTCTTGTGTTCAGCCCTTAC
TTCACCTATTCCAGGATCAGGTACACAACCTATTAACCTTCAAACCTACTTCTTTATATATGGAGTGATACAAGTGTTTAGTTTACTTATTGTTAATGATTGGTTCCAGGTTATGGGTTTGAC
GCTCTAGGGATTTACAGCTTACATGCTGACTTCTACTTCTGGCAAGGAGAATGAGAAGTTTGTGTACAAGGCCTTGAAAAGGGTGAAGATGACCTCAAGTACTTTATGTGACACCTGAA
AAGGTATCAAAGAGTAAAAGATTCAATGTCGAAGCTTGA AAAAGTGTCAACAATGCTGGTGGCTCTCTCTTATTTCAATTGATGTAAGTCCCTTCCCTGCTTTTAAATTTCTTACTTTGTAACC
ATACTTGAATGTTTAAATTTCTACTTTATTTGCAGGAGGCTCATTGTTGTAGTCAGTGGGGTCAAGTATTTCCGGCTGATTACAAGAACCTTGAGCATTCTTAAACTCAGTTTCCCAAAG
TTCCCATGGTGGCTTTAACCGTACGTTCTTTTCTCTTTTATTTGTGTCATCCTTCTCCGCTCTGTTTACATTCCTGAGAGAGAGAGTTTAAAGCAATCAACACTGGGAGCTTGTTC
ACCTTACTATGCTTATCAGAATGTAACAATTTCAATCTAAGTTGATCTCTCCCATCTTTCATATGTTTTGAATATTTCAATTTTTTACTATGCTCTGATGCAAGGCAACTGCTACACAG
AGGTCCAAAATGATCTGATAGAGATGCTGCATATTCCTAAATGCGTCAAATTTGTTAGCAGTGTAAACAGGCCAAATCTCTTTTACTCGGTACTCTTTAGTAATTTTTTATAGTAGAC
ATTTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAAACATGAGCAATAAATTTGCTTTCAGGTCGCGAGAAAAGTCCGCTGGTTGGTAAAGCTGTGGTTGATGAGATCCGAGAGTTTCAACGGGA
TCATATTTCTAACCAATGAAATCTGGAATAGTTTATGTTTCTCCGGAAGGAGTGTGATGATGCTTCCCATCTTCAATGTTTTGAATATTTCAATTTTTTACTATGCTCTGATGCAAGGCAACTGCTACACAG
TCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTCACTTATAATCAATGGTGTATAGATTCAGGAGAACTACGAGCAAGAGGATCTCTGCTGATTATACCACGCAAGAAATGAATGTA
ATATGCGGAGAAAAGTTTCAATGCGGTAAGGTCAGCTTTGATGAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTGATTTAGTGGTGTGCAATTTGACGCGTTTCTTAAAGATGGTTGTTTTTCT
TGTTACAGATGGAGTAAGAACAAGTTTGCAGGTCATTTGTTGAAACAGTATGTTGATTTCCCTGTTAATCAATTCGATTTATTTTGAATGTAAGTCCCTTCCCTGCTTTTAAATTTCTTACTTTGTAACC
GCAGGTTGCTTCCGATGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCTTACATTTTTGTAATCACCAGTTTTATTTCCCTTTTCAAACCTGATACAT
GGGGCATTTTTGTAGTCAAGTTTGTATCCACACAGTTTAAAGCAATCAATGGAGACTTACTATCAGGTTCTAGTCACTTGTCCACTAAACATAGATGGGTTATGAGGTTGCTTCTT
TTTTGGTGGCTTTAAGGTCGTTGATTTTGAATGTTCTAAAATGTTATGATATCTTATGAACCTTCCGTTCTGAAATCCCTTGTGTCAGTCAAAAACAAAATGTCGTCGAAAGTCTTTTTT
CGTCAATTTTGGAGAGCGTCAACAAGTTGCAACCGTATCTTGTGTTGTAAGTGGTACCACCTACATTTGATTTCTAGATTTTCTGATCATTATTTTGGCATTAATGTTAGGAAATGTCGAA
AACTGTGCTTGTCAAGTGAAGTCAAGGAAGTTGATGCTCGGGTATGATGTCCTTACATTCGATGATGTTTCTTTGGACATCATTCTTGTGTTGAAATAGCTTGAACCTTTG
TTTTTGTGCTGCCAAAAGTTTTTCTCTAGTAAATTTTAAAGTAAAGTATCTGCTATATGTTGAATAATCAATGATGAGTTTGGGGTCAAGCTTTTGCAGACCTAGCTAAGCTCGTGG
TTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAAGAGTGACAATGTTGCAAGCTGGGTGACAACTGAGAACTAAGCACAAGGATCTAAGTTAGTTTCTTCTTACTTTGAATTTGCA
ACAATCTTAAATGCTTAAATCTCTGTTTATGATTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAAGAGAGAAGAGATAGAACATCTCTGATGATAAACTGATTTGTTGACT
GGTATTTGGTAAGATCGTTGCTTATGTTTCTGTCAGATGATCTGACACATGATAAACAGCTCAAGACAGCTGATCTGAGTTTGTGTTGTTGTTGTCAGAAAAGAAAGAAATCCAA
CACACACCACTACTGACAAACCGCTTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAACCAATTTGCAAGGTAAAGGAGTTGTAATGAAATGCTTCACTATATAGGCTTCCAGGATCTGAAATAGAAG
CATAAGAAACAGTCAATTTTGAAGAATAATATTAATGTTATGTTGCTTATTAAGTTGTTGCTCGGCACTCATAGATAAACTCTGAAAGAAAACCTGCTTCACTGATGATCTGGAACA
GAAGAAAGACGATCAAACCGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAAACAAGAAATGCAAAAAGAAAGATGTTCAATTTTCTGGATTAGAATCCAAGCTTTGACAGCTAAGGAAAAGAGATATCTGCT
CTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGAATAGTTCCCAAGAAACAGATTTCAATTAAGAGGTTGAGTTACTTTTTTCTGTTATATAACCCGGAT
TTCAATGGTGTGTTGATATCTACTCTCTCTGTTCAAGCTGCTTTATTTGGTTGGATTTTTGCAAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAACCTGAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAG
AGTGATAAGACATGATACGTTCTGAAACAACCTGTTGAAGATGCAACAAGAAAGAGACATGTTGTAAGCAGATCAAGTAAAAGAGCTAAGACAAGAAAGAAATGTTGTTTGTAG
GAGCAGCAAGAAAGAAAGCTTGACGAATCCGGTTTGGAAAAATTCAGTCTGTCGCAAAACCG
```

```
>RRCQ2. BN2
ACCCGGTGAACCAATGGAAAGTGAAGCGATTCCAGGACGAGCTTCAAAGCTTAGAGCTCGAGATCAAAGATGTTCAAGGTTTACACTTGTCCGTTCTTCGAAATTCAGTCTCAGGTTGCTT
TGATTTTGAATTCGAATCATTGTTATAGGTCAGATAAGTGCTTTGATAGAGCATCAAGACAGGTTGTACGAGAGAAAGTCTGAGCTTAAGACATTTGTTAAAAGCAGTTGCAGCTTCAGT
ACACCTGTCCGATCTTCTTGTCCCTGGTGGCTCGAGTGTCTGTGGAGAATTTGGTCCGAGCCATTCGAGTGGGATTCACGCCGTGATGACATTAGGTTTAAACATTTTGGCATATCCAAATA
AGAGCTAACAGAGAGAAGTAAAGTTGCTTTTGTCTTCTGCAATTTGCTTTATGCTTTTCAAGAAAGCAACAACATGATGACGTTTCAATCTTGTTCCTTTGGATAACACGACAGATAGTTA
CGCTATAATGGCTGGTAGAGATGACTGGTGTATCATGGCAGCAGGTGGTGGGAAGAGCTTTGCTATCAGCTTCCCTGCTATACTTCGTGGTGGTACAACCTCTTGTGTTCAGCCCTTAC
TTCACCTATTCCAGGATCAGGTACACAACCTATTAACCTTCAAACCTACTTCTTTATATATGGAGTGATACAAGTGTTTAGTTTACTTATTGTTAATGATTGGTTCCAGGTTATGGGTTTGAC
GCTCTAGGGATTTACAGCTTACATGCTGACTTCTACTTCTGGCAAGGAGAATGAGAAGTTTGTGTACAAGGCCTTGAAAAGGGTGAAGATGACCTCAAGTACTTTATGTGACACCTGAA
AAGGTATCAAAGAGTAAAAGATTCAATGTCGAAGCTTGA AAAAGTGTCAACAATGCTGGTGGCTCTCTCTTATTTCAATTGATGTAAGTCCCTTCCCTGCTTTTAAATTTCTTACTTTGTAACC
ATACTTGAATGTTTAAATTTCTACTTTATTTTGCAGGAGGCTCATTGTTGTAGTCAGTGGGGTCAAGTATTTCCGGCTGATTTCAGGCTTACTTGAATCTTAAACACTGGGAGCTTCCCAAAG
TTCCCATGGTGGCTTTAACCGTACGTTCTTTTCTCTTTTATTTGTGTCATCCTTCTCCGCTCTGTTTACATTCCTGAGAGAGAGAGTTTAAAGCAATCAACACTGGGAGCTTGTTC
ACCTTACTATGCTTATCAGAATGTAACAATTTCAATCTAAGTTGATCTCTCCCATCTTTCATATGTTTTGAATATTTCAATTTTTTACTATGCTCTGATGCAAGGCAACTGCTACACAG
AGGTCCAAAATGATCTGATAGAGATGCTGCATATTCCTAAATGCGTCAAATTTGTTAGCAGTGTAAACAGGCCAAATCTCTTTTACTCGGTACTCTTTTATGTAATTTTTTATAGTAGAC
```











Exon 7  
RECQ2\_BN2 GTACTCTTTTAGTAATTTTTTTAGTAGACGATTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAACATGAGCAATAAATGTCTTGCAGGTGCGAGAAAAGTCGCTGGTGGTAAAGCTGT  
RECQ2\_HT04 GTACTCTTTTAGTAATTTTTTTAGTAGACGATTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAACATGAGCAATAAATGTCTTGCAGGTGCGAGAAAAGTCGCTGGTGGTAAAGCTGT  
RECQ2\_HT03 GTACTCTTTTAGTAATTTTTTTAGTAGACGATTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAACATGAGCAATAAATGTCTTGCAGGTGCGAGAAAAGTCGCTGGTGGTAAAGCTGT  
RECQ2\_BN1 GTACTCTTTTAGTAATTTTTTTAGTAGACGATTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAACATGAGCAATAAATGTCTTGCAGGTGCGAGAAAAGTCGCTGGTGGTAAAGCTGT  
RECQ2\_HT01 GTACTCTTTTAGTAATTTTTTTAGTAGACGATTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAACATGAGCAATAAATGTCTTGCAGGTGCGAGAAAAGTCGCTGGTGGTAAAGCTGT  
RECQ2\_HT02 GTACTCTTTTAGTAATTTTTTTAGTAGACGATTCTCATGCTGTGATAGTTTGTAGGCTTTAACATGAGCAATAAATGTCTTGCAGGTGCGAGAAAAGTCGCTGGTGGTAAAGCTGT  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 GGTGTGATGAGATCCGAGAGTTTCATACGGGAATCATATTTCTAACAAATGAATCTGGAATAGTTTATTTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGGTTTGCACCTAGAATTGACACATCATCAT  
RECQ2\_HT04 GGTGTGATGAGATCCGAGAGTTTCATACGGGAATCATATTTCTAACAAATGAATCTGGAATAGTTTATTTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGGTTTGCACCTAGAATTGACACATCATCAT  
RECQ2\_HT03 GGTGTGATGAGATCCGAGAGTTTCATACGGGAATCATATTTCTAACAAATGAATCTGGAATAGTTTATTTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGGTTTGCACCTAGAATTGACACATCATCAT  
RECQ2\_BN1 GGTGTGATGAGATCCGAGAGTTTCATACGGGAATCATATTTCTAACAAATGAATCTGGAATAGTTTATTTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGGTTTGCACCTAGAATTGACACATCATCAT  
RECQ2\_HT01 GGTGTGATGAGATCCGAGAGTTTCATACGGGAATCATATTTCTAACAAATGAATCTGGAATAGTTTATTTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGGTTTGCACCTAGAATTGACACATCATCAT  
RECQ2\_HT02 GGTGTGATGAGATCCGAGAGTTTCATACGGGAATCATATTTCTAACAAATGAATCTGGAATAGTTTATTTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGGTTTGCACCTAGAATTGACACATCATCAT  
\*\*\*\*\*

Exon 8  
RECQ2\_BN2 ATGTTCTGACCTCACCATCATGTTGTTATTTGCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTTCACCTTATAATCAATGGTGTAGATTGACAGGAGAATACGAGCAAGAGGGATCTCT  
RECQ2\_HT04 ATGTTCTGACCTCACCATCATGTTGTTATTTGCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTTCACCTTATAATCAATGGTGTAGATTGACAGGAGAATACGAGCAAGAGGGATCTCT  
RECQ2\_HT03 ATGTTCTGACCTCACCATCATGTTGTTATTTGCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTTCACCTTATAATCAATGGTGTAGATTGACAGGAGAATACGAGCAAGAGGGATCTCT  
RECQ2\_BN1 ATGTTCTGACCTCACCATCATGTTGTTATTTGCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTTCACCTTATAATCAATGGTGTAGATTGACAGGAGAATACGAGCAAGAGGGATCTCT  
RECQ2\_HT01 ATGTTCTGACCTCACCATCATGTTGTTATTTGCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTTCACCTTATAATCAATGGTGTAGATTGACAGGAGAATACGAGCAAGAGGGATCTCT  
RECQ2\_HT02 ATGTTCTGACCTCACCATCATGTTGTTATTTGCTTGGACTGGGGAGGAAAATCTTTCATATTTTCACCTTATAATCAATGGTGTAGATTGACAGGAGAATACGAGCAAGAGGGATCTCT  
\*\*\*\*\*

N/D Y/N  
RECQ2\_BN2 GCTGATATTACCACGAGAAAATGAATGTAATATGCGAGAAAAGTTTCATATGCGGTAAAGGTTCCAGCTTGTGTAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTCAGTTAGTGGTGC  
RECQ2\_HT04 GCTGATATTACCACGAGAAAATGAATGTAATATGCGAGAAAAGTTTCATATGCGGTAAAGGTTCCAGCTTGTGTAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTCAGTTAGTGGTGC  
RECQ2\_HT03 GCTGATATTACCACGAGAAAATGAATGTAATATGCGAGAAAAGTTTCATATGCGGTAAAGGTTCCAGCTTGTGTAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTCAGTTAGTGGTGC  
RECQ2\_BN1 GCTGATATTACCACGAGAAAATGAATGTAATATGCGAGAAAAGTTTCATATGCGGTAAAGGTTCCAGCTTGTGTAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTCAGTTAGTGGTGC  
RECQ2\_HT01 GCTGATATTACCACGAGAAAATGAATGTAATATGCGAGAAAAGTTTCATATGCGGTAAAGGTTCCAGCTTGTGTAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTCAGTTAGTGGTGC  
RECQ2\_HT02 GCTGATATTACCACGAGAAAATGAATGTAATATGCGAGAAAAGTTTCATATGCGGTAAAGGTTCCAGCTTGTGTAAGCATGACTCTGGGCTTAAATGATTCAGTTAGTGGTGC  
\*\*\*\*\*

Exon 9  
RECQ2\_BN2 TGCAGCGTTTCCCTAAG-ATGGTTGTTTTTTCATGTTCCACAGATGGAGTAAAGCAAGTTGACAGGTCATTTGTTGGAACAGTATGTTATTCCTCCCTGTAATCATTCGATTTATTTTGTAA  
RECQ2\_HT04 TGCAGCGTTTCCCTAAG-ATGGTTGTTTTTTCATGTTCCACAGATGGAGTAAAGCAAGTTGACAGGTCATTTGTTGGAACAGTATGTTATTCCTCCCTGTAATCATTCGATTTATTTTGTAA  
RECQ2\_HT03 TGCAGCGTTTCCCTAAG-ATGGTTGTTTTTTCATGTTCCACAGATGGAGTAAAGCAAGTTGACAGGTCATTTGTTGGAACAGTATGTTATTCCTCCCTGTAATCATTCGATTTATTTTGTAA  
RECQ2\_BN1 TGCAGCGTTTCCCTAAG-ATGGTTGTTTTTTCATGTTCCACAGATGGAGTAAAGCAAGTTGACAGGTCATTTGTTGGAACAGTATGTTATTCCTCCCTGTAATCATTCGATTTATTTTGTAA  
RECQ2\_HT01 TGCAGCGTTTCCCTAAG-ATGGTTGTTTTTTCATGTTCCACAGATGGAGTAAAGCAAGTTGACAGGTCATTTGTTGGAACAGTATGTTATTCCTCCCTGTAATCATTCGATTTATTTTGTAA  
RECQ2\_HT02 TGCAGCGTTTCCCTAAG-ATGGTTGTTTTTTCATGTTCCACAGATGGAGTAAAGCAAGTTGACAGGTCATTTGTTGGAACAGTATGTTATTCCTCCCTGTAATCATTCGATTTATTTTGTAA  
\*\*\*\*\*

Exon 10  
RECQ2\_BN2 GTACACCTATCAACTCTTCTTATTTATGCTTGGCAGGTTGCCCTCGGCATGGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCCCTCACAATTTTGTAAATCAC  
RECQ2\_HT04 GTACACCTATCAACTCTTCTTATTTATGCTTGGCAGGTTGCCCTCGGCATGGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCCCTCACAATTTTGTAAATCAC  
RECQ2\_HT03 GTACACCTATCAACTCTTCTTATTTATGCTTGGCAGGTTGCCCTCGGCATGGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCCCTCACAATTTTGTAAATCAC  
RECQ2\_BN1 GTACACCTATCAACTCTTCTTATTTATGCTTGGCAGGTTGCCCTCGGCATGGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCCCTCACAATTTTGTAAATCAC  
RECQ2\_HT01 GTACACCTATCAACTCTTCTTATTTATGCTTGGCAGGTTGCCCTCGGCATGGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCCCTCACAATTTTGTAAATCAC  
RECQ2\_HT02 GTACACCTATCAACTCTTCTTATTTATGCTTGGCAGGTTGCCCTCGGCATGGGAATCAACAACCTGATGGTTAGTAGTCTAAGCTCTGATCACCCTCCCTCACAATTTTGTAAATCAC  
\*\*\*\*\*

Exon 11  
RECQ2\_BN2 CGATTTTATTTCCCTTTTCCAACGTATACATGGGGGCATTTTGTAGTCAGGTTGTTATCCACCACAGTTTAAAGCAAATCAATGGAGACTTACTACAGGTTCTAGTCACTGTGCCACT  
RECQ2\_HT04 CGATTTTATTTCCCTTTTCCAACGTATACATGGGGGCATTTTGTAGTCAGGTTGTTATCCACCACAGTTTAAAGCAAATCAATGGAGACTTACTACAGGTTCTAGTCACTGTGCCACT  
RECQ2\_HT03 CGATTTTATTTCCCTTTTCCAACGTATACATGGGGGCATTTTGTAGTCAGGTTGTTATCCACCACAGTTTAAAGCAAATCAATGGAGACTTACTACAGGTTCTAGTCACTGTGCCACT  
RECQ2\_BN1 CGATTTTATTTCCCTTTTCCAACGTATACATGGGGGCATTTTGTAGTCAGGTTGTTATCCACCACAGTTTAAAGCAAATCAATGGAGACTTACTACAGGTTCTAGTCACTGTGCCACT  
RECQ2\_HT01 CGATTTTATTTCCCTTTTCCAACGTATACATGGGGGCATTTTGTAGTCAGGTTGTTATCCACCACAGTTTAAAGCAAATCAATGGAGACTTACTACAGGTTCTAGTCACTGTGCCACT  
RECQ2\_HT02 CGATTTTATTTCCCTTTTCCAACGTATACATGGGGGCATTTTGTAGTCAGGTTGTTATCCACCACAGTTTAAAGCAAATCAATGGAGACTTACTACAGGTTCTAGTCACTGTGCCACT  
\*\*\*\*\*

Exon 12  
RECQ2\_BN2 AAAAAGTAGATGTGGTTATGAGGTTGCTTCTATCACCATTACTTATACTGACAGGAGAGTGGTCTGCTGGTGGTATGACCTCCCATCTGAGTGGCTCTTTTTCCGTTCCGGGTGAT  
RECQ2\_HT04 AAAAAGTAGATGTGGTTATGAGGTTGCTTCTATCACCATTACTTATACTGACAGGAGAGTGGTCTGCTGGTGGTATGACCTCCCATCTGAGTGGCTCTTTTTCCGTTCCGGGTGAT  
RECQ2\_HT03 AAAAAGTAGATGTGGTTATGAGGTTGCTTCTATCACCATTACTTATACTGACAGGAGAGTGGTCTGCTGGTGGTATGACCTCCCATCTGAGTGGCTCTTTTTCCGTTCCGGGTGAT  
RECQ2\_BN1 AAAAAGTAGATGTGGTTATGAGGTTGCTTCTATCACCATTACTTATACTGACAGGAGAGTGGTCTGCTGGTGGTATGACCTCCCATCTGAGTGGCTCTTTTTCCGTTCCGGGTGAT  
RECQ2\_HT01 AAAAAGTAGATGTGGTTATGAGGTTGCTTCTATCACCATTACTTATACTGACAGGAGAGTGGTCTGCTGGTGGTATGACCTCCCATCTGAGTGGCTCTTTTTCCGTTCCGGGTGAT  
RECQ2\_HT02 AAAAAGTAGATGTGGTTATGAGGTTGCTTCTATCACCATTACTTATACTGACAGGAGAGTGGTCTGCTGGTGGTATGACCTCCCATCTGAGTGGCTCTTTTTCCGTTCCGGGTGAT  
\*\*\*\*\*

Exon 13  
RECQ2\_BN2 GTTCCCAGGCAGGTAAGCATCAATTTACTCCAACCTGCTTATTTGTTGATAAAAACATTTCTAAAATTTGCAATTTGATGCTTTTGTCTTCTGTTACACAGAGTCCATGGTCTTCTACAGGTA  
RECQ2\_HT04 GTTCCCAGGCAGGTAAGCATCAATTTACTCCAACCTGCTTATTTGTTGATAAAAACATTTCTAAAATTTGCAATTTGATGCTTTTGTCTTCTGTTACACAGAGTCCATGGTCTTCTACAGGTA  
RECQ2\_HT03 GTTCCCAGGCAGGTAAGCATCAATTTACTCCAACCTGCTTATTTGTTGATAAAAACATTTCTAAAATTTGCAATTTGATGCTTTTGTCTTCTGTTACACAGAGTCCATGGTCTTCTACAGGTA  
RECQ2\_BN1 GTTCCCAGGCAGGTAAGCATCAATTTACTCCAACCTGCTTATTTGTTGATAAAAACATTTCTAAAATTTGCAATTTGATGCTTTTGTCTTCTGTTACACAGAGTCCATGGTCTTCTACAGGTA  
RECQ2\_HT01 GTTCCCAGGCAGGTAAGCATCAATTTACTCCAACCTGCTTATTTGTTGATAAAAACATTTCTAAAATTTGCAATTTGATGCTTTTGTCTTCTGTTACACAGAGTCCATGGTCTTCTACAGGTA  
RECQ2\_HT02 GTTCCCAGGCAGGTAAGCATCAATTTACTCCAACCTGCTTATTTGTTGATAAAAACATTTCTAAAATTTGCAATTTGATGCTTTTGTCTTCTGTTACACAGAGTCCATGGTCTTCTACAGGTA  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 TTCTGGTCTGACAGAACTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGGTACCCAGTTTCTTCTCTTCTTGAAGATTGCAATTCGTTATTCATGTAAATCTGGAGAAAACCTGTAATCT  
RECQ2\_HT04 TTCTGGTCTGACAGAACTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGGTACCCAGTTTCTTCTCTTCTTGAAGATTGCAATTCGTTATTCATGTAAATCTGGAGAAAACCTGTAATCT  
RECQ2\_HT03 TTCTGGTCTGACAGAACTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGGTACCCAGTTTCTTCTCTTCTTGAAGATTGCAATTCGTTATTCATGTAAATCTGGAGAAAACCTGTAATCT  
RECQ2\_BN1 TTCTGGTCTGACAGAACTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGGTACCCAGTTTCTTCTCTTCTTGAAGATTGCAATTCGTTATTCATGTAAATCTGGAGAAAACCTGTAATCT  
RECQ2\_HT01 TTCTGGTCTGACAGAACTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGGTACCCAGTTTCTTCTCTTCTTGAAGATTGCAATTCGTTATTCATGTAAATCTGGAGAAAACCTGTAATCT  
RECQ2\_HT02 TTCTGGTCTGACAGAACTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGGTACCCAGTTTCTTCTCTTCTTGAAGATTGCAATTCGTTATTCATGTAAATCTGGAGAAAACCTGTAATCT  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 AGGCCGCTCTGGAGTGAATGTTTCTTTTGGTGGCTTAAAGGTCGTTGTTGAAATGTTCTAAAATGATGATATCTTATGAACATCTGTTTCTGAATTCCTTGTGTCAGT  
RECQ2\_HT04 AGGCCGCTCTGGAGTGAATGTTTCTTTTGGTGGCTTAAAGGTCGTTGTTGAAATGTTCTAAAATGATGATATCTTATGAACATCTGTTTCTGAATTCCTTGTGTCAGT  
RECQ2\_HT03 AGGCCGCTCTGGAGTGAATGTTTCTTTTGGTGGCTTAAAGGTCGTTGTTGAAATGTTCTAAAATGATGATATCTTATGAACATCTGTTTCTGAATTCCTTGTGTCAGT  
RECQ2\_BN1 AGGCCGCTCTGGAGTGAATGTTTCTTTTGGTGGCTTAAAGGTCGTTGTTGAAATGTTCTAAAATGATGATATCTTATGAACATCTGTTTCTGAATTCCTTGTGTCAGT  
RECQ2\_HT01 AGGCCGCTCTGGAGTGAATGTTTCTTTTGGTGGCTTAAAGGTCGTTGTTGAAATGTTCTAAAATGATGATATCTTATGAACATCTGTTTCTGAATTCCTTGTGTCAGT  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_HT02 AGGCCGCTCTGGAGTGACTTGAATGTTTTCTTTGGTGGCTTAAAGGGCTGATTTTGAATGTTCTAAAATGATGATATCTTAAGAATCATCGTTTCTGAAATCCCTTGTGTCAGT  
\*\*\*\*\*

Exon 14

RECQ2\_BN2 CGAAAACAAAATGTCGTCGAAGTGCTTTTTCCGTCATTTGGAGAGCCGTCACAAGATTGCAACGGTATTTCTGTTTGTAGAATTTGGTACCACCTACATTTAGATTTTCTGATC  
RECQ2\_HT04 CGAAAACAAAATGTCGTCGAAGTGCTTTTTCCGTCATTTGGAGAGCCGTCACAAGATTGCAACGGTATTTCTGTTTGTAGAATTTGGTACCACCTACATTTAGATTTTCTGATC  
RECQ2\_HT03 CGAAAACAAAATGTCGTCGAAGTGCTTTTTCCGTCATTTGGAGAGCCGTCACAAGATTGCAACGGTATTTCTGTTTGTAGAATTTGGTACCACCTACATTTAGATTTTCTGATC  
RECQ2\_BN1 CGAAAACAAAATGTCGTCGAAGTGCTTTTTCCGTCATTTGGAGAGCCGTCACAAGATTGCAACGGTATTTCTGTTTGTAGAATTTGGTACCACCTACATTTAGATTTTCTGATC  
RECQ2\_HT02 CGAAAACAAAATGTCGTCGAAGTGCTTTTTCCGTCATTTGGAGAGCCGTCACAAGATTGCAACGGTATTTCTGTTTGTAGAATTTGGTACCACCTACATTTAGATTTTCTGATC  
\*\*\*\*\*

Exon 15

RECQ2\_BN2 ATATTTTGGCATTATGTTAGGAATGTGCGACAACCTGTGCCCTTGTCAAGTGAGGTCAAGGAAGTTGATGTCTCGGGTATGTATGTCGCCACTTACATTCGCATGTAGTTTCTTTGGACATC  
RECQ2\_HT04 ATATTTTGGCATTATGTTAGGAATGTGCGACAACCTGTGCCCTTGTCAAGTGAGGTCAAGGAAGTTGATGTCTCGGGTATGTATGTCGCCACTTACATTCGCATGTAGTTTCTTTGGACATC  
RECQ2\_HT03 ATATTTTGGCATTATGTTAGGAATGTGCGACAACCTGTGCCCTTGTCAAGTGAGGTCAAGGAAGTTGATGTCTCGGGTATGTATGTCGCCACTTACATTCGCATGTAGTTTCTTTGGACATC  
RECQ2\_BN1 ATATTTTGGCATTATGTTAGGAATGTGCGACAACCTGTGCCCTTGTCAAGTGAGGTCAAGGAAGTTGATGTCTCGGGTATGTATGTCGCCACTTACATTCGCATGTAGTTTCTTTGGACATC  
RECQ2\_HT01 ATATTTTGGCATTATGTTAGGAATGTGCGACAACCTGTGCCCTTGTCAAGTGAGGTCAAGGAAGTTGATGTCTCGGGTATGTATGTCGCCACTTACATTCGCATGTAGTTTCTTTGGACATC  
RECQ2\_HT02 ATATTTTGGCATTATGTTAGGAATGTGCGACAACCTGTGCCCTTGTCAAGTGAGGTCAAGGAAGTTGATGTCTCGGGTATGTATGTCGCCACTTACATTCGCATGTAGTTTCTTTGGACATC  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 ATTCCTGTTTGAATAAAGCTTGAACCTTTGTTTTTTGGTGCACAAAGTTTTTCTCTAGTAATTTTATAAGTAAGTATCTGCCCTATATGTAATAATATCATGATGAGTTTT-GGGGTC  
RECQ2\_HT04 ATTCCTGTTTGAATAAAGCTTGAACCTTTGTTTTTTGGTGCACAAAGTTTTTCTCTAGTAATTTTATAAGTAAGTATCTGCCCTATATGTAATAATATCATGATGAGTTTT-GGGGTC  
RECQ2\_HT03 ATTCCTGTTTGAATAAAGCTTGAACCTTTGTTTTTTGGTGCACAAAGTTTTTCTCTAGTAATTTTATAAGTAAGTATCTGCCCTATATGTAATAATATCATGATGAGTTTT-GGGGTC  
RECQ2\_BN1 ATTCCTGTTTGAATAAAGCTTGAACCTTTGTTTTTTGGTGCACAAAGTTTTTCTCTAGTAATTTTATAAGTAAGTATCTGCCCTATATGTAATAATATCATGATGAGTTTT-GGGGTC  
RECQ2\_HT01 ATTCCTGTTTGAATAAAGCTTGAACCTTTGTTTTTTGGTGCACAAAGTTTTTCTCTAGTAATTTTATAAGTAAGTATCTGCCCTATATGTAATAATATCATGATGAGTTTT-GGGGTC  
RECQ2\_HT02 ATTCCTGTTTGAATAAAGCTTGAACCTTTGTTTTTTGGTGCACAAAGTTTTTCTCTAGTAATTTTATAAGTAAGTATCTGCCCTATATGTAATAATATCATGATGAGTTTT-GGGGTC  
\*\*\*\*\*

Exon 16

RECQ2\_BN2 ACGACTTTTTGACAGCCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGACAATGTTGACGCTGGGTGACAACCTGAGAAGCTAAGCACAAGGATCT  
RECQ2\_HT04 ACGACTTTTTGACAGCCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGACAATGTTGACGCTGGGTGACAACCTGAGAAGCTAAGCACAAGGATCT  
RECQ2\_HT03 ACGACTTTTTGACAGCCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGACAATGTTGACGCTGGGTGACAACCTGAGAAGCTAAGCACAAGGATCT  
RECQ2\_BN1 ACGACTTTTTGACAGCCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGACAATGTTGACGCTGGGTGACAACCTGAGAAGCTAAGCACAAGGATCT  
RECQ2\_HT01 ACGACTTTTTGACAGCCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGACAATGTTGACGCTGGGTGACAACCTGAGAAGCTAAGCACAAGGATCT  
RECQ2\_HT02 ACGACTTTTTGACAGCCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGTTGCAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGACAATGTTGACGCTGGGTGACAACCTGAGAAGCTAAGCACAAGGATCT  
\*\*\*\*\*

Exon 17

RECQ2\_BN2 AAGTTAGTTTTCATTTTCTTACTTTGAATTTGCAACAATCTTTAATGCCTTAATCTCTCGTTCTATGATTTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAGAGAGAAGAGAT  
RECQ2\_HT04 AAGTTAGTTTTCATTTTCTTACTTTGAATTTGCAACAATCTTTAATGCCTTAATCTCTCGTTCTATGATTTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAGAGAGAAGAGAT  
RECQ2\_HT03 AAGTTAGTTTTCATTTTCTTACTTTGAATTTGCAACAATCTTTAATGCCTTAATCTCTCGTTCTATGATTTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAGAGAGAAGAGAT  
RECQ2\_BN1 AAGTTAGTTTTCATTTTCTTACTTTGAATTTGCAACAATCTTTAATGCCTTAATCTCTCGTTCTATGATTTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAGAGAGAAGAGAT  
RECQ2\_HT01 AAGTTAGTTTTCATTTTCTTACTTTGAATTTGCAACAATCTTTAATGCCTTAATCTCTCGTTCTATGATTTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAGAGAGAAGAGAT  
RECQ2\_HT02 AAGTTAGTTTTCATTTTCTTACTTTGAATTTGCAACAATCTTTAATGCCTTAATCTCTCGTTCTATGATTTTTTTGGTTGTTGTTGATCGGCTAGGTGCTGAGCTAAGAGAGAAGAGAT  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 AGAACATCTCGTGATAAAACTGATTTGACTCGGTATTTGGTAAAGATCGTTGTCATGTTTCTGTCAGATTGTATCTGACACATGATAAACACAGCTCAAGACAGCTGTATCTGAGTTTT  
RECQ2\_HT04 AGAACATCTCGTGATAAAACTGATTTGACTCGGTATTTGGTAAAGATCGTTGTCATGTTTCTGTCAGATTGTATCTGACACATGATAAACACAGCTCAAGACAGCTGTATCTGAGTTTT  
RECQ2\_HT03 AGAACATCTCGTGATAAAACTGATTTGACTCGGTATTTGGTAAAGATCGTTGTCATGTTTCTGTCAGATTGTATCTGACACATGATAAACACAGCTCAAGACAGCTGTATCTGAGTTTT  
RECQ2\_BN1 AGAACATCTCGTGATAAAACTGATTTGACTCGGTATTTGGTAAAGATCGTTGTCATGTTTCTGTCAGATTGTATCTGACACATGATAAACACAGCTCAAGACAGCTGTATCTGAGTTTT  
RECQ2\_HT01 AGAACATCTCGTGATAAAACTGATTTGACTCGGTATTTGGTAAAGATCGTTGTCATGTTTCTGTCAGATTGTATCTGACACATGATAAACACAGCTCAAGACAGCTGTATCTGAGTTTT  
RECQ2\_HT02 AGAACATCTCGTGATAAAACTGATTTGACTCGGTATTTGGTAAAGATCGTTGTCATGTTTCTGTCAGATTGTATCTGACACATGATAAACACAGCTCAAGACAGCTGTATCTGAGTTTT  
\*\*\*\*\*

Exon 18 Q/L

RECQ2\_BN2 TGTCTGTTTTTGTGACAGAAAGAAGAAATCCAGCACACACCATACTCGACAACCGCTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAAAACCAATTTGTCAGAGTAAGGAGTTGTAATGAATGGCC  
RECQ2\_HT04 TGTCTGTTTTTGTGACAGAAAGAAGAAATCCAGCACACACCATACTCGACAACCGCTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAAAACCAATTTGTCAGAGTAAGGAGTTGTAATGAATGGCC  
RECQ2\_HT03 TGTCTGTTTTTGTGACAGAAAGAAGAAATCCAGCACACACCATACTCGACAACCGCTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAAAACCAATTTGTCAGAGTAAGGAGTTGTAATGAATGGCC  
RECQ2\_BN1 TGTCTGTTTTTGTGACAGAAAGAAGAAATCCAGCACACACCATACTCGACAACCGCTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAAAACCAATTTGTCAGAGTAAGGAGTTGTAATGAATGGCC  
RECQ2\_HT01 -GTTCTGTTTTTGTGACAGAAAGAAGAAATCCAGCACACACCATACTCGACAACCGCTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAAAACCAATTTGTCAGAGTAAGGAGTTGTAATGAATGGCC  
RECQ2\_HT02 -GTTCTGTTTTTGTGACAGAAAGAAGAAATCCAGCACACACCATACTCGACAACCGCTATGTAACAACGGGACCGTTGGCAAAACCAATTTGTCAGAGTAAGGAGTTGTAATGAATGGCC  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 TTCATCTATAGGCTTCAGGATCTGAATAGAAGTCATAAGAAACAGTCAATTTAGAAGAAATATATTAATGTTATGTTGTCATTTACTTGGTTGCTCGGCACCTCATAGATAAAAACCTCTGA  
RECQ2\_HT04 TTCATCTATAGGCTTCAGGATCTGAATAGAAGTCATAAGAAACAGTCAATTTAGAAGAAATATATTAATGTTATGTTGTCATTTACTTGGTTGCTCGGCACCTCATAGATAAAAACCTCTGA  
RECQ2\_HT03 TTCATCTATAGGCTTCAGGATCTGAATAGAAGTCATAAGAAACAGTCAATTTAGAAGAAATATATTAATGTTATGTTGTCATTTACTTGGTTGCTCGGCACCTCATAGATAAAAACCTCTGA  
RECQ2\_BN1 TTCATCTATAGGCTTCAGGATCTGAATAGAAGTCATAAGAAACAGTCAATTTAGAAGAAATATATTAATGTTATGTTGTCATTTACTTGGTTGCTCGGCACCTCATAGATAAAAACCTCTGA  
RECQ2\_HT01 TTCATCTATAGGCTTCAGGATCTGAATAGAAGTCATAAGAAACAGTCAATTTAGAAGAAATATATTAATGTTATGTTGTCATTTACTTGGTTGCTCGGCACCTCATAGATAAAAACCTCTGA  
RECQ2\_HT02 TTCATCTATAGGCTTCAGGATCTGAATAGAAGTCATAAGAAACAGTCAATTTAGAAGAAATATATTAATGTTATGTTGTCATTTACTTGGTTGCTCGGCACCTCATAGATAAAAACCTCTGA  
\*\*\*\*\*

Exon 19

RECQ2\_BN2 AAGAAAACCTTGTCTACATGTGATCTGGAACAGGAAGAAAGACGATCAAAACGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAGTAGTTTCATTTCTGGATTAGAATCCA  
RECQ2\_HT04 AAGAAAACCTTGTCTACATGTGATCTGGAACAGGAAGAAAGACGATCAAAACGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAGTAGTTTCATTTCTGGATTAGAATCCA  
RECQ2\_HT03 AAGAAAACCTTGTCTACATGTGATCTGGAACAGGAAGAAAGACGATCAAAACGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAGTAGTTTCATTTCTGGATTAGAATCCA  
RECQ2\_BN1 AAGAAAACCTTGTCTACATGTGATCTGGAACAGGAAGAAAGACGATCAAAACGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAGTAGTTTCATTTCTGGATTAGAATCCA  
RECQ2\_HT01 AAGAAAACCTTGTCTACATGTGATCTGGAACAGGAAGAAAGACGATCAAAACGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAGTAGTTTCATTTCTGGATTAGAATCCA  
RECQ2\_HT02 AAGAAAACCTTGTCTACATGTGATCTGGAACAGGAAGAAAGACGATCAAAACGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAGTAGTTTCATTTCTGGATTAGAATCCA  
\*\*\*\*\*

RECQ2\_BN2 AGCTTGACGAGCTAAGGAAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGATAAGTTCCGAGAAACCCAGATTCATTACAAGAGG  
RECQ2\_HT04 AGCTTGACGAGCTAAGGAAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGATAAGTTCCGAGAAACCCAGATTCATTACAAGAGG  
RECQ2\_HT03 AGCTTGACGAGCTAAGGAAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGATAAGTTCCGAGAAACCCAGATTCATTACAAGAGG  
RECQ2\_BN1 AGCTTGACGAGCTAAGGAAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGATAAGTTCCGAGAAACCCAGATTCATTACAAGAGG  
RECQ2\_HT01 AGCTTGACGAGCTAAGGAAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGATAAGTTCCGAGAAACCCAGATTCATTACAAGAGG  
RECQ2\_HT02 AGCTTGACGAGCTAAGGAAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGATAAGTTCCGAGAAACCCAGATTCATTACAAGAGG  
\*\*\*\*\*

Exon 20

RECQ2\_BN2 TGAGTTATCTTTTTCTGATATAACCCGGATTTTCAATTTGGTGTGTTGATATATCTACTCTCTCTGTTCAAGCTGCTTTATTGGTTGGATTTTGGCAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAACCT  
RECQ2\_HT04 TGAGTTATCTTTTTCTGATATAACCCGGATTTTCAATTTGGTGTGTTGATATATCTACTCTCTCTGTTCAAGCTGCTTTATTGGTTGGATTTTGGCAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAACCT  
RECQ2\_HT03 TGAGTTATCTTTTTCTGATATAACCCGGATTTTCAATTTGGTGTGTTGATATATCTACTCTCTCTGTTCAAGCTGCTTTATTGGTTGGATTTTGGCAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAACCT  
\*\*\*\*\*



RECQ2\_BN1 TGAGTTATCTTTTTCTGTATATAACCCGGATTTTCATTGGTGTGGTATATCTACTCCTCTCTGTTCAGCTGCTTTATTGGTTGGATTTTTCAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAAC  
RECQ2\_HT01 TGAGTTATCTTTTTCTGTATATAACCCGGATTTTCATTGGTGTGGTATATCTACTCCTCTCTGTTCAGCTGCTTTATTGGTTGGATTTTTCAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAAC  
RECQ2\_HT02 TGAGTTATCTTTTTCTGTATATAACCCGGATTTTCATTGGTGTGGTATATCTACTCCTCTCTGTTCAGCTGCTTTATTGGTTGGATTTTTCAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAAC  
\*\*\*\*\*

RECQ2-SF3: 5'-GATGCAACAAAGGAAGAGACATGTTGTA

I/M

C/-

RECQ2\_BN2 GAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGATAAGACATGATACGGTCTCTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTAAAAGCAGATCAAGTAAAAG  
RECQ2\_HT04 GAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGATAAGACATGATACGGTCTCTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTAAAAGCAGATCAAGTAAAAG  
RECQ2\_HT03 GAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGATAAGACATGATACGGTCTCTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTAAAAGCAGATCAAGTAAAAG  
RECQ2\_BN1 GAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGATAAGACATGATACGGTCTCTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTAAAAGCAGATCAAGTAAAAG  
RECQ2\_HT01 GAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGATAAGACATGATACGGTCTCTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTAAAAGCAGATCAAGTAAAAG  
RECQ2\_HT02 GAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGATAAGACATGATACGGTCTCTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGAGACATGTTGTAAAAGCAGATCAAGTAAAAG  
\*\*\*\*\*

RECQ2-RF3: 5'-GAAGATGCAACAAAGGAAGAGACATGTA

K/O

RECQ2\_BN2 AGCTAAGACAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT CGAATCCGGTTTGGAAAAATTTTCAGGTCGTCGGCAACCCG  
RECQ2\_HT04 AGCTAAGACAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT CGAATCCGGTTTGGAAAAATTTTCAGGTCGTCGGCAACCCG  
RECQ2\_HT03 AGCTAAGACAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT CGAATCCGGTTTGGAAAAATTTTCAGGTCGTCGGCAACCCG  
RECQ2\_BN1 AGCTAAGACAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT CGAATCCGGTTTGGAAAAATTTTCAGGTCGTCGGCAACCCG  
RECQ2\_HT01 AGCTAAGACAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT CGAATCCGGTTTGGAAAAATTTTCAGGTCGTCGGCAACCCG  
RECQ2\_HT02 AGCTAAGACAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT CGAATCCGGTTTGGAAAAATTTTCAGGTCGTCGGCAACCCG  
\*\*\*\*\*

RECQ2-R3: 5'-GGTTGCGCAGCAGCTGAAAT

Red color: SNP, Green color: InDel, Yellow color: SSR

GAAAGTGAAGCGATTCCAGGACGACTTCAAGCTTAGAGCTCGAGATCAAGATGTTCAAGGTCAGATTAAGTGCCTTGTAGAGCATCAAGACAGGTTGTACGAGAGAAAGTCTGAG  
CTTAAGACATTTGTTAAAAGCAGTTGACAGCTTTCAGTAACACCTGTGCGCATCTTCTTGTCCCTGGTGGCTCGAGTGTGTGGAGAATTTGGTCCGAGCCATTCCAGTGGGATTCACGCGCTGA  
GACATTTAGGTTTAAACATTTTGGCATAATCCAAATACAGAGCTAACCCAGAGAGAAATAGTTAACGCTATAATGGCTGGTAGAGATGTAATGCTGATCAATGGCAGCAGGTTGGGAGAG  
CTTTGCTATCAGCTTCTGCTATACTTCGTTGGTGGTACAACCTTGTGTCAGCCCTTACTTTCCTACTCATTCCAGGATCAGGTTATGGGTTTGGCCGCTCAGGGATTTACGCTTACAT  
CTGACTTCTACTTCTGGCAAGGAAGATGAGAAGTTTGTGTACAAGGCACTTGAAGAAGGTTGAAGATGACCTCAAGAAATCTTTATGTGACACCTGAAAAGGTTATCAAAGAGTAAAAGATT  
ATGTCGAAAGCTTGAAGAAGTGTCACAATGCTGGTGGCTCTCTCTTATTTCAATGATGAGGCTCATTTGTTGATGAGTGGGTTTGTGATGAGTGGGTTTCCAGGCTGATTTCAAGAACTTGAGCAT  
CTTAAAACCTCAGTTTCCCAAAGTTCCCATGGTGGCTTTAACCGCAACTGCTACACAGAAGGTTCCAAAATGATCTGATAGAGATGCTGCATATTTCCATAATGCGTCAAAATTTGTTAGCAG  
GTTAACAGGCCAAATCTCTTTTACTCGGTGCGAGAAAAGTCCGCTGGTTGGTAAAGCTGTGGTTGATGAGATCGCAGAGTTCAACGCGGAATCATATTTCAACAATGAATCTGGAATAGTT  
TATTGTTCTCTCGGAAGGAGTGTGAACAGATTGCAAGGAGAATACAGGACAGAGGATCTCTGCTGATTTATCCACGCGAGAAAATGAATGATATAATGCGAGAAAAGTTTCAATATGCG  
TGGAGTAAGAACAAGTTGCAAGGCTGATTTGGAACAGTTGCTTCCGCAATGGGAATCAACAACCTGATGTCAGGTTTGTATATCCACACAGTTTAAAGCAATCAATGGAGACTTACTA  
CAGGAGAGTGGTCTGGTGGCTGGCTGGCTCCCATCTGAGTGGCTCTCTTTTCCGTTCCGGTGGTATGTTCCAGGACAGGTTCCCATGGCTTCTTACAGATATTTCTGGTCTGCAAGAA  
CTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGTCTGAAAACAAAATGTCGTCGAAAGTGGCTTTTCCGCTCATTTTGGAGAGCCGTCACAAGATTTGCAACGGAAATGTCGACAACTGTGCTTGTCT  
AGTGGGTCACAGGAAGTTGATGTCCTCGGACCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGGTGAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGAACAATGTTGACAGCTGGGTGACAACTGAGAAC  
AAGCACAAAGGATCTAAGTCTGAGCTAAAGAGAGAAGAGATAGAACATCTCGTGAATAAACTGATTTGTGACTCGGATTTGAAGAAGGATTTCCAGCACACATCTCGACAAACCG  
TATGTAACAACCGGACCGTTGGCAACCAATTTGTCAGGAAGAAGAAGACGATCAAAACCGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAAGTATGTTCTTCTGGATT  
GAATCCAAGCTTACGAGCTAAGGAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGAATGTTCCAGAAACCCAGATTCATT  
CAAGAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAACCTGAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGAATGAGATGATACGCTCTTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGA  
ACATGTTGTAAGCAGATCAAGTAAAAGAGCTAAGACAAAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT

Red color: 아미노산을 바꾸는 SNP

MFEFAIQDFI.QSI.FI.FTKDVOGOTS.IA.I.FHODRI.VFRKSEI.KTI.I.KAVAAASVTPVASSCPGGSSAVFNWSEPFWFNDSRADDTRFNTFGTISKYRANRQRTVNAIMAGRDI.VTMAAGGGK  
I.CYQI.PATI.RGGTTI.VVSP.I.SI.IQDQVMGI.TAI.GTSAYMI.TSTSGKNEKFKVYKAI.EKGFDDI.KTI.VVTPKVKSKRFRMSKI.EKCHNAGRI.SI.ISTDEAHCCSSOWGHDFRPDYKNI.S  
LKTQFPKVPVMAI.TATATQKVNDL.IEMLHI.PKCVKFSVSSVNRNPI.FVSVREKSLVGKAVVDEIAEF.IRESVSNSESGI.VYCFSRKECEQI.AGELRARGISADYVYHAEHNVYMRKVMHI  
WSKNKI.QVTVGTVAFGMGINKPQVRFV.I.HHSI.SKSMETVYQESGRAGRDG.PSRCVI.FFRSGVDVPRQSSMVFEYVSGI.QNI.YDI.VRYCQSKTKCRSAFFRHFGRPSQDCNMGDCNCAI.  
SEVKEVDSI.AKI.VVSMVODMLOSTQVMI.QI.GDKI.RTKHKDI.SAFI.KRFET.FHI.VDKI.I.VDSVI.KFEPHOHTPYSTNAEVVTTGPI.ANOI.I.QGRKTI.KTFETSSROINKKSRSSFSFI  
ESKLDLRKELSAHGSMLPHTVLQDRI.ISSQKPLDLELESIIKGLTKDYGVKILIV.IRHDTVSEQLVEDATKEETCKRSRCKRATKNNVLLLESSEEEEA\*

Resistance

GAAAGTGAAGCGATTCCAGGACGACTTCAAGCTTAGAGCTCGAGATCAAGATGTTCAAGGTCAGATTAAGTGCCTTGTAGAGCATCAAGACAGGTTGTACGAGAGAAAGTCTGAG  
GCTTAAGACATTTGTTAAAAGCAGTTGACAGCTTTCAGTAACACCTGTGCGCATCTTCTTGTCCCTGGTGGCTCGAGTGTGTGGAGAATTTGGTCCGAGCCATTCCAGTGGGATTCACGCGCTGA  
TGACATTTAGGTTTAAACATTTTGGCATAATCCAAATACAGAGCTAACCCAGAGAGAAATAGTTAACGCTATAATGGCTGGTAGAGATGTAATGCTGATCAATGGCAGCAGGTTGGGAGAG  
CTTTTGGCTATCAGCTTCTGCTATACTTCGTTGGTGGTACAACCTTGTGTCAGCCCTTACTTTCCTACTCATTCCAGGATCAGGTTATGGGTTTGGCCGCTCAGGGATTTACGCTTACA  
GCTGACTTCTACTTCTGGCAAGGAAGATGAGAAGTTTGTGTACAAGGCACTTGAAGAAGGTTGAAGATGACCTCAAGATCTTTATGTGACACCTGAAAAGGTTATCAAAGAGTAAAAGATT  
CATGTCGAAAGCTTGAAGAAGTGTCACAATGCTGGTGGCTCTCTCTTATTTCAATGATGAGGCTCATTTGTTGATGAGTGGGTTTGTGATGAGTGGGTTTCCAGGCTGATTTCAAGAACTTGAGCA  
TCTTAAAACCTCAGTTTCCCAAAGTTCCCATGGTGGCTTTAACCGCAACTGCTACACAGAAGGTTCCAAAATGATCTGATAGAGATGCTGCATATTTCCATAATGCGTCAAAATTTGTTAGCA  
TCAGGAGAGTGGTCTGGTGGCTGGCTGGCTCCCATCTGAGTGGCTCTCTTTTCCGTTCCGGTGGTATGTTCCAGGACAGGTTCCCATGGCTTCTTACAGATATTTCTGGTCTGCAAGAA  
TCTCTACGATATAGTACGATACTGTCAGTCTGAAAACAAAATGTCGTCGAAAGTGGCTTTTCCGCTCATTTTGGAGAGCCGTCACAAGATTTGCAACGGAAATGTCGACAACTGTGCTTGT  
AAGTGAAGTCAAGGAAGTTGATGATCTCGGACCTAGCTAAGCTCGTGGTTTCTATGGTGAAGACATGCAAGCTAAGGATCAAGAGTGAACAATGTTGACGCTGGGTGACAACTGAGAA  
TAAGCACAAAGGATCTAAGTCTGAGCTAAGAGAGAGAAGAGATAGAACATCTCGTGAATAAACTGATTTGTGACTCGGATTTGAAGAAGGATTTCCAGCACACATCTCGACAAACCG  
CTATGTAACAACCGGACCGTTGGCAACCAATTTGTCAGGAAGAAGAAGACGATCAAAACCGGAAACCTCAAGCAGACAAAATAACAAGAAATCGAAAAGAAAGTATGTTCTTCTGGATT  
AGAATCCAAGCTTACGAGCTAAGGAAGAGATATCTGCTGCTCATGGAAGCATGCTCCCTCACACTGCTCTCAACACAGCAGATTTGGCTTGAATGTTCCAGAAACCCAGATTCATT  
CAAGAGTTGGAGAGCATAATAGGAAAACCTGAAAACAGACAAGTACGGAGACAAGATTTCTAGAAGTGAATGAGATGATACGCTCTTGAACAACCTTGTGAAGATGCAACAAGGAAGA  
GACATGTTAAAAGCAGATCAAGTAAAAGAGCTAAGACAAAAGAAGATGTTGTTTGTAGAGAGCAGCGAAGAAGAAGAAGCT

MFEFAIQDFI.QSI.FI.FTKDVOGOTS.IA.I.FHODRI.VFRKSEI.KTI.I.KAVAAASVTPVASSCPGGSSAVFNWSEPFWFNDSRADDTRFNTFGTISKYRANRQRTVNAIMAGRDI.VTMAAGGGK  
I.CYQI.PATI.RGGTTI.VVSP.I.SI.IQDQVMGI.AAI.GTSAYMI.TSTSGKNEKFKVYKAI.EKGFDDI.KTI.VVTPKVKSKRFRMSKI.EKCHNAGRI.SI.ISTDEAHCCSSOWGHDFRPDYKNI.S  
I.KTQFPKVPVMAI.TATATQKVNDI.I.FMI.HI.PKCVKFSVSSVNRNPI.FVSVREKSLVGKAVVDEIAEF.IRESVSNSESGI.VYCFSRKECEQI.AGELRARGISADYVYHAEHNVYMRKVMHI  
WSKNLQVTVGTVAFGMGINKPQVRFV.I.HHSLSKSMETVYQESGRAGRDGLPSECVL.FFRSGVDVPRQSSMVFEYVSGI.QNI.YDI.VRYCQSKTKCRSAFFRHFGRPSQDCNMGDCNCAI.

SEVKFVDVSDI.AKI.VVSMVODMOAKDORVTMI.OI.GDKI.RTKHKDI.SAFI.KREFTEHI.VIKI.IVDSVI.KFEFI.HTPVSTNAVVTGGPI.ANOI.I.QGRKTIKTETSSROTNKSKRSSSFSGI  
ESKLDLDELRIKSAAHGSMPLPHTVLSSTQIQIGL.ISSQKPDLSLQLESI.IGKLTDKYGDKILEVMRHDVSEQLVEDATKEETCKSRSSKRAKTQKNVVLLSESSEEEEA\*

>S

MESEFATODFI.QSI.FI.FTKDVOGOTSAL.IEHODRI.VPRKSEI.KTI.I.KAVAASVTPVASSCPGGSSAVENWSEPFPEWDRADDIRFNI.FGTSKYRANOREI.VNAIMAGRDLV.VTMAAGGGKSL.CYOI.PATI.RGGTTI.  
VSP.I.I.SI.TODQVMGI.TAI.GTSAYMI.TSTSGKFNKFPVKAI.FKGGDDI.KTI.VVTPKVKSKRFMSKI.FKCHNAGRI.SI.TSIDRAHCCSQWGHDFRPDYKNI.SI.KTOPPKVPMVAI.TATATOKVONDI.TEMI.HI  
KCVKFSVSVNRPNL.FVSVREKSI.VGKAVVDEIAEFIRESYNNESGI.VVCFSRKECEQI.AGEL.RARGI.SADYVHAEMVVMREKVMRWSKNKI.OVI.VGTVAFGMGTNKPDVRFV.IHHSI.SKSMETVYQESGRAGI  
DGI.PSECVI.FFRSGDVPROSSMVVYVYSGI.OVI.VDITVRYCOSKTKCRRSAFFRHFGEPSONCNGMCDNCAI.SSEVKFVDVSDI.AKI.VVSMVODMOAKDORVTMI.OI.GDKI.RTKHKDI.SAFI.KREFTEHI.VIKI.IV  
SVI.KFEFI.HTPVSTNAVVTGGPI.ANOI.I.QGRKTIKTETSSRQINKSKRSSSFSGL.ESKLDLDELRIKSAAHGSMPLPHTVLSSTQIQIGL.ISSQKPDLSLQLESI.IGKLTDKYGDKILEVMRHDVSEQLVEDATKE  
TCKSRSSKRAKTQKNVVLLSESSEEEEA

>R

MESEAIODELQSL.ELI.KDVOGOTSAL.IEHODRI.VERKSEL.KTLL.KAVAASVTPVASSCPDSSAVENWSEPFPEWDRADDIRFNI.FGTSKYRANOREI.VNAIMAGRDLV.VTMAAGGGKSL.CYOI.PATI.RGGTTI.  
VSP.I.I.SI.TODQVMGI.AAI.GTSAYMI.TSTSGKFNKFPVKAI.FKGGDDI.KTI.VVTPKVKSKRFMSKI.FKCHNAGRI.SI.TSIDRAHCCSQWGHDFRPDYKNI.SI.KTOPPKVPMVAI.TATATOKVONDI.TEMI.HI  
KCVKFSVSVNRPNL.FVSVREKSI.VGKAVVDEIAEFIRESYNNESGI.VVCFSRKECEQI.AGEL.RARGI.SADYVHAEMVVMREKVMRWSKNKI.OVI.VGTVAFGMGTNKPDVRFV.IHHSI.SKSMETVYQESGRAGI  
DGI.PSECVI.FFRSGDVPROSSMVVYVYSGI.OVI.VDITVRYCOSKTKCRRSAFFRHFGEPSONCNGMCDNCAI.SSEVKFVDVSDI.AKI.VVSMVODMOAKDORVTMI.OI.GDKI.RTKHKDI.SAFI.KREFTEHI.VIKI.IV  
SVI.KFEFI.HTPVSTNAVVTGGPI.ANOI.I.QGRKTIKTETSSRQINKSKRSSSFSGL.ESKLDLDELRIKSAAHGSMPLPHTVLSSTQIQIGL.ISSQKPDLSLQLESI.IGKLTDKYGDKILEVMRHDVSEQLVEDATKE  
TCKSRSSKRAKTQKNVVLLSESSEEEEA

HTS MESEAIODELQSL.ELI.KDVOGOTSAL.IEHODRI.VERKSEL.KTLL.KAVAASVTPVASSCPDSSAVENWSEPFPEWDRADDIRFNI.FGTSKYRANOREI.VNAIMAGRDLV.VTMAAGGGKSL  
HTR MESEFATODFI.QSI.FI.FTKDVOGOTSAL.IEHODRI.VPRKSEI.KTI.I.KAVAASVTPVASSCPGGSSAVENWSEPFPEWDRADDIRFNI.FGTSKYRANOREI.VNAIMAGRDLV.VTMAAGGGKSL  
\*\*\*\*\*

HTS LCYOI.PATI.RGGTTI.VVSP.I.I.SI.TODQVMGI.TAI.GTSAYMI.TSTSGKFNKFPVKAI.FKGGDDI.KTI.VVTPKVKSKRFMSKI.FKCHNAGRI.SI.TSIDRAHCCSQWGHDFRPDYKNI.SI  
HTR I.CYOI.PATI.RGGTTI.VVSP.I.I.SI.TODQVMGI.AAI.GTSAYMI.TSTSGKFNKFPVKAI.FKGGDDI.KTI.VVTPKVKSKRFMSKI.FKCHNAGRI.SI.TSIDRAHCCSQWGHDFRPDYKNI.SI  
\*\*\*\*\*

HTS I.KTOPPKVPMVAI.TATATOKVONDI.TEMI.HI.KCVKFSVSVNRPNL.FVSVREKSI.VGKAVVDEIAEFIRESYNNESGI.VVCFSRKECEQI.AGEL.RARGI.SADYVHAEMVVMREKVMR  
HTR L.KTOPPKVPMVAI.TATATOKVONDI.TEMI.HI.KCVKFSVSVNRPNL.FVSVREKSI.VGKAVVDEIAEFIRESYNNESGI.VVCFSRKECEQI.AGEL.RARGI.SADYVHAEMVVMREKVMR  
\*\*\*\*\*

HTS WSKNKI.OVI.VGTVAFGMGTNKPDVRFV.IHHSI.SKSMETVYQESGRAGI.DGI.PSECVI.FFRSGDVPROSSMVVYVYSGI.OVI.VDITVRYCOSKTKCRRSAFFRHFGEPSONCNGMCDNCAI.S  
HTR WSKNKI.OVI.VGTVAFGMGTNKPDVRFV.IHHSI.SKSMETVYQESGRAGI.DGI.PSECVI.FFRSGDVPROSSMVVYVYSGI.OVI.VDITVRYCOSKTKCRRSAFFRHFGEPSONCNGMCDNCAI.S  
\*\*\*\*\*

HTS SEVKFVDVSDI.AKI.VVSMVODMOAKDORVTMI.OI.GDKI.RTKHKDI.SAFI.KREFTEHI.VIKI.IVDSVI.KFEFI.HTPVSTNAVVTGGPI.ANOI.I.QGRKTIKTETSSROTNKSKRSSSFSGI.  
HTR SEVKFVDVSDI.AKI.VVSMVODMOAKDORVTMI.OI.GDKI.RTKHKDI.SAFI.KREFTEHI.VIKI.IVDSVI.KFEFI.HTPVSTNAVVTGGPI.ANOI.I.QGRKTIKTETSSROTNKSKRSSSFSGI.  
\*\*\*\*\*

HTS ESKI.DELRIKSAAHGSMPLPHTVLSSTQIQIGL.ISSQKPDLSLQLESI.IGKLTDKYGDKILEVMRHDVSEQLVEDATKEETCKSRSSKRAKTQKNVVLLSESSEEEEA  
HTR ESKI.DELRIKSAAHGSMPLPHTVLSSTQIQIGL.ISSQKPDLSLQLESI.IGKLTDKYGDKILEVMRHDVSEQLVEDATKEETCKSRSSKRAKTQKNVVLLSESSEEEEA  
\*\*\*\*\*

## BoHSFA2 유전자

### ① 선택 이유:

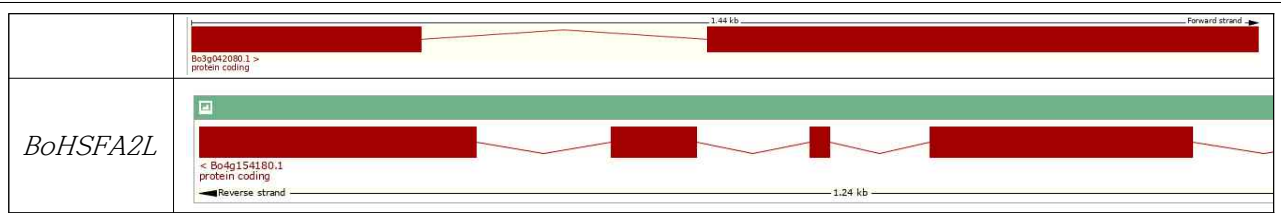
- 연구동기: 배추의 지부(내서성 약)와 권심(내서성 강) 사이에는 *BrHSFA2*의 alternative splicing에 의한 truncated form이 만들어지는가에 따라 내서성이 결정됨. AS는 mini-exon (27 bp)를 사이에 두고 일어남 (즉 mini-exon이 전사체에 들어가면 stop codon 때문에 truncated form이 만들어짐)
- 양배추에도 배추와 가장 가까운 유전자인 C3염색체 유전자는 mini-exon을 가지고 있음. 그러나 아직 알려지지 않은 비교적 상동서이 떨어지는 유전자 (C4 염색체 유전자)는 RsTT8처럼 작은 exon (19 bp)을 가지고 있음. AS에 의한 형질조절이 가능할 것으로 판단됨.
- 따라서 두 유전자 모두를 양배추에서 클로닝하여 서열분석을 해 볼 필요가 있음

② 양배추 유전자: 애기장대 *AtHSFA2*와 서열이 가장 비슷한 양배추 유전자를 BoHSFA2로 명명하고 비슷한 유전자를 *BoHSFA2L*로 명명하였음.

Bo3g042080 (*BoHSFA2*)

Bo4g154180 (unknown gene)

BoHSFA2



③ Primer sequences for genomic DNA cloning: - For genomic DNA cloning

BoHSFA2-F: 5'-CAGAGTCAGTCTTTTGGCCTATGGA  
 BoHSFA2-R: 5'-AGTGAGATGTGCTCGAGCTGTA (TACAGCTCGAGCACATCTCACT) 1,491 bp

BoHSFA2L-F: 5'-CGGCCTAACTCCTTTGTTCTCCA  
 BoHSFA2L-R: 5'-CCTTATTAGGCACGAACTACTCACTCA (TGAGTGAGTAGTTTCGTGCCTAATAAGG): 1,288 bp

- For expression study

BoHSFA2RT-F: 5'-CTCCAGCTTCATTTCGTCAGCTC  
 BoHSFA2RT-R: 5'-GACATACCTGATCCTGATCCTTGCTG

BoHSFA2LRT-F: CTCTCCTTCCTCGCTACTTCAGGA  
 BoHSFA2LRT-R: 5'-GCAACCTGATTCTGATCCTTGCTG

④ PCR 결과: 아시아종묘 양배추 2계통 (BN1, 내서성강; BN2, 내서성 약)과 조은종묘 4계통 (HCT-01, HCT-02: 내서성 강)(HCT-03, HCT-04: 내서성 약)을 이용하였음  
 사진은 첨부하지 않음

⑤ Genomic DNA 클로닝과 염기서열 분석 결과: 자세한 내용은 마지막 부분 (부록)에 넣음

⑥ 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성과 그 결과:

Primer set for marker validation:  
 BoHSFA2L-SF1: 5'-GGTATTCTCACAAGTTCTTCACCACTCT  
 BoHSFA2L-SR1: 5'-CCAACTTCTACACATGACATACCTGATCC 400 bp

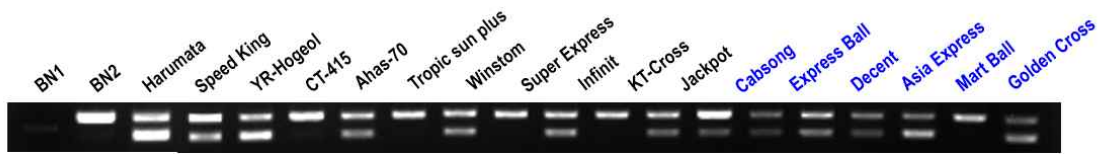
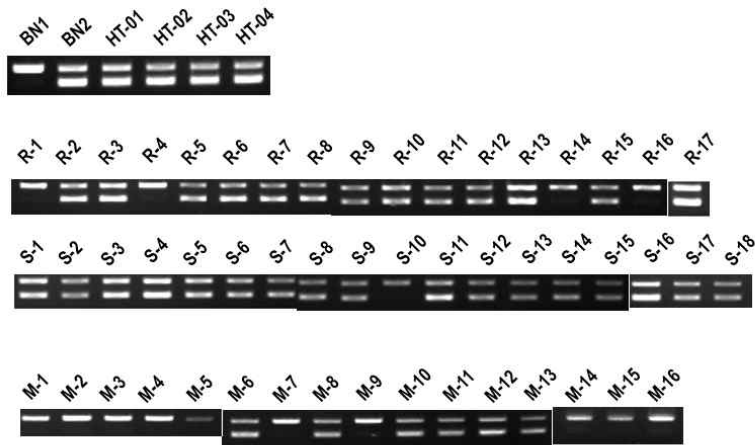
BoHSFA2L-RF1: 5'-GCTTCATGTCTTGGTATTCTCACACC  
 BoHSFA2L-RR1: 5'-CCCAACTTCTACACATGACATACCTGATTC 400 bp

- BN1과 BN2 서열의 차이를 이용하고자 하였음.

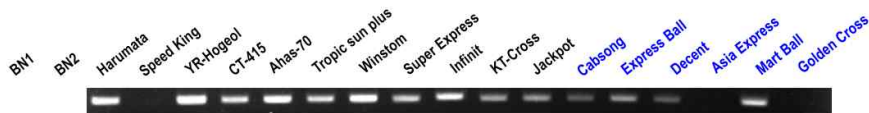
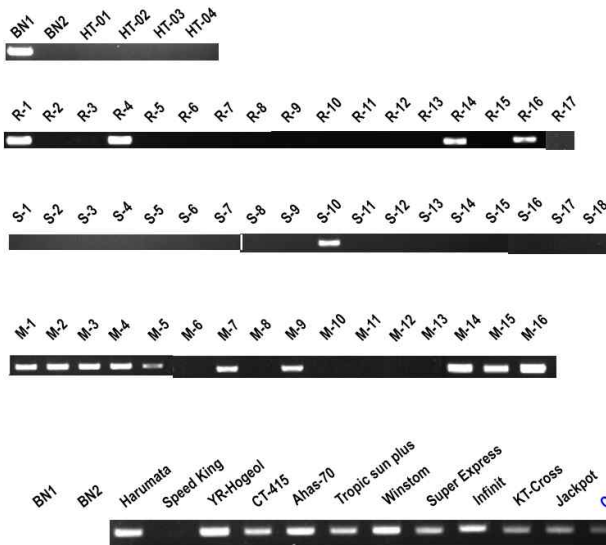
SF1 x SR1: 60°C --- 민감성 색출마커

- 저항성에서도 탐지되므로 프라이머 제작을 다시하고 조건을 확립해야 됨  
 - 아시아 양배추 소재이므로 BoTPPI 마커로 검증할 필요가 있음  
 -





RF1 x RR1: 60°C --- 저항성 색출 마커



- 민감성과 마찬가지로 프라이머 제작과 조건확립을 다시 해야 됨
- BoTPPI 마커와 비교할 필요가 있음.-

⑦ 클로닝한 서열과 분석결과

**BoHSFA2: Bo3g042080: 1,435 bp**

- 애기장대와 배추의 비교



AGAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTAGTTTGGCCCTTGCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTTGAAACTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAA  
GATCTCTTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTATTGCAGGGATTGAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGA  
GGAGAAACATGGGTTTGCAGACTAGTGAATACAGCAAGGATCAGGATCAGGTAATGTTCTTGTGGAGAGTCCGGCAATACGGTTTTGCAAGGGGAGGTAGAGAGCATGAAAGGGACCATAGCTACTCTGAGTCTG  
GGTAGTTAGGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAGATCAAGTTGCAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGACAGCAGCAAAATGATCGCTTCCCGCAAGGGCTTGAACAAATCCAACCTT  
GTTCAACAGTTCCGGCTAATAGCAAAAGAGAAAGGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGAGCGGGAGGTTACTTCTAGTCCAGCTTGGGACATCAGGAGAGAGGTTGGCATGATCAGGAGTCCGAT  
GAATGAAGGATGATGGAGAGCTTACTTCTGTCAGCCATAGATGATGAGGCGAATTAATTTGGTGGCCCTAGTAAGGATGAACAATGTTTTGGAAGCTTAGAAATGTTGTTAGAGCCAG  
GATAGATGCAAGTGGAAAGATTGGTAGCTTCCAGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACAGACATTTGTCATCAATGGGTTTTCTGGATCAGAACCTTGATTATACAGCTCGAGCAGATCTCACT

BoHSFA2\_HT03 CAGAGTCAGTCTTTGGCCATGGATTAGAAATGGAACAACCTGAAAGTGGAAATGGAGGAAGAGACGGTGACCTACGGTGGCTCAGCGGCAGCTTCTCGTCTGTTGGTTCGTCATCGTC  
BoHSFA2\_HT04 CAGAGTCAGTCTTTGGCCATGGATTAGAAATGGAACAACCTGAAAGTGGAAATGGAGGAAGAGACGGTGACCTACGGTGGCTCAGCGGCAGCTTCTCGTCTGTTGGTTCGTCATCGTC  
BoHSFA2\_BN2 CAGAGTCAGTCTTTGGCCATGGATTAGAAATGGAACAACCTGAAAGTGGAAATGGAGGAAGAGACGGTGACCTACGGTGGCTCAGCGGCAGCTTCTCGTCTGTTGGTTCGTCATCGTC  
BoHSFA2\_BN1 CAGAGTCAGTCTTTGGCCATGGATTAGAAATGGAACAACCTGAAAGTGGAAATGGAGGAAGAGACGGTGACCTACGGTGGCTCAGCGGCAGCTTCTCGTCTGTTGGTTCGTCATCGTC  
BoHSFA2\_HT01 CAGAGTCAGTCTTTGGCCATGGATTAGAAATGGAACAACCTGAAAGTGGAAATGGAGGAAGAGACGGTGACCTACGGTGGCTCAGCGGCAGCTTCTCGTCTGTTGGTTCGTCATCGTC  
BoHSFA2\_HT02 CAGAGTCAGTCTTTGGCCATGGATTAGAAATGGAACAACCTGAAAGTGGAAATGGAGGAAGAGACGGTGACCTACGGTGGCTCAGCGGCAGCTTCTCGTCTGTTGGTTCGTCATCGTC  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 ACCGAGACCAATGGAAGGGCTTACCGAGACAGGGCCACCGCGTTTTCTGACAAAGACTTACGACATGGTGGAGGATCCGGCAACGGACACGGTGGTGTCTTGGAGCAGTGGTCTAACAG  
BoHSFA2\_HT04 ACCGAGACCAATGGAAGGGCTTACCGAGACAGGGCCACCGCGTTTTCTGACAAAGACTTACGACATGGTGGAGGATCCGGCAACGGACACGGTGGTGTCTTGGAGCAGTGGTCTAACAG  
BoHSFA2\_BN2 ACCGAGACCAATGGAAGGGCTTACCGAGACAGGGCCACCGCGTTTTCTGACAAAGACTTACGACATGGTGGAGGATCCGGCAACGGACACGGTGGTGTCTTGGAGCAGTGGTCTAACAG  
BoHSFA2\_BN1 ACCGAGACCAATGGAAGGGCTTACCGAGACAGGGCCACCGCGTTTTCTGACAAAGACTTACGACATGGTGGAGGATCCGGCAACGGACACGGTGGTGTCTTGGAGCAGTGGTCTAACAG  
BoHSFA2\_HT01 ACCGAGACCAATGGAAGGGCTTACCGAGACAGGGCCACCGCGTTTTCTGACAAAGACTTACGACATGGTGGAGGATCCGGCAACGGACACGGTGGTGTCTTGGAGCAGTGGTCTAACAG  
BoHSFA2\_HT02 ACCGAGACCAATGGAAGGGCTTACCGAGACAGGGCCACCGCGTTTTCTGACAAAGACTTACGACATGGTGGAGGATCCGGCAACGGACACGGTGGTGTCTTGGAGCAGTGGTCTAACAG  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 TTTTCATCGTTGGGATTTCTCACAATTTCCACCACCTTCTCTTCTCGCTACTTCAAGCATAGCAATTTCTCCAGCTTCAATCGTCAGCTCAACACTTATGTAAGTCTTCCCTCTTCACT  
BoHSFA2\_HT04 TTTTCATCGTTGGGATTTCTCACAATTTCCACCACCTTCTCTTCTCGCTACTTCAAGCATAGCAATTTCTCCAGCTTCAATCGTCAGCTCAACACTTATGTAAGTCTTCCCTCTTCACT  
BoHSFA2\_BN2 TTTTCATCGTTGGGATTTCTCACAATTTCCACCACCTTCTCTTCTCGCTACTTCAAGCATAGCAATTTCTCCAGCTTCAATCGTCAGCTCAACACTTATGTAAGTCTTCCCTCTTCACT  
BoHSFA2\_BN1 TTTTCATCGTTGGGATTTCTCACAATTTCCACCACCTTCTCTTCTCGCTACTTCAAGCATAGCAATTTCTCCAGCTTCAATCGTCAGCTCAACACTTATGTAAGTCTTCCCTCTTCACT  
BoHSFA2\_HT01 TTTTCATCGTTGGGATTTCTCACAATTTCCACCACCTTCTCTTCTCGCTACTTCAAGCATAGCAATTTCTCCAGCTTCAATCGTCAGCTCAACACTTATGTAAGTCTTCCCTCTTCACT  
BoHSFA2\_HT02 TTTTCATCGTTGGGATTTCTCACAATTTCCACCACCTTCTCTTCTCGCTACTTCAAGCATAGCAATTTCTCCAGCTTCAATCGTCAGCTCAACACTTATGTAAGTCTTCCCTCTTCACT  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 ACCTCCTCGCTTCTTGTCTTTTGTGTTTTCTAATCTCGACTTTGGATTTCTTAGATCGGTGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGCTCTTTGTGCTTTCTGACAACATAAAATATC  
BoHSFA2\_HT04 ACCTCCTCGCTTCTTGTCTTTTGTGTTTTCTAATCTCGACTTTGGATTTCTTAGATCGGTGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGCTCTTTGTGCTTTCTGACAACATAAAATATC  
BoHSFA2\_BN2 ACCTCCTCGCTTCTTGTCTTTTGTGTTTTCTAATCTCGACTTTGGATTTCTTAGATCGGTGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGCTCTTTGTGCTTTCTGACAACATAAAATATC  
BoHSFA2\_BN1 ACCTCCTCGCTTCTTGTCTTTTGTGTTTTCTAATCTCGACTTTGGATTTCTTAGATCGGTGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGCTCTTTGTGCTTTCTGACAACATAAAATATC  
BoHSFA2\_HT01 ACCTCCTCGCTTCTTGTCTTTTGTGTTTTCTAATCTCGACTTTGGATTTCTTAGATCGGTGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGCTCTTTGTGCTTTCTGACAACATAAAATATC  
BoHSFA2\_HT02 ACCTCCTCGCTTCTTGTCTTTTGTGTTTTCTAATCTCGACTTTGGATTTCTTAGATCGGTGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGCTCTTTGTGCTTTCTGACAACATAAAATATC  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 AAATGGGTTTCTCAAAGTTTGTCTTGGTTACATCAGACCTATCTTCTGCTTTAAATGTGACAAGAAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTTA  
BoHSFA2\_HT04 AAATGGGTTTCTCAAAGTTTGTCTTGGTTACATCAGACCTATCTTCTGCTTTAAATGTGACAAGAAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTTA  
BoHSFA2\_BN2 AAATGGGTTTCTCAAAGTTTGTCTTGGTTACATCAGACCTATCTTCTGCTTTAAATGTGACAAGAAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTTA  
BoHSFA2\_BN1 AAATGGGTTTCTCAAAGTTTGTCTTGGTTACATCAGACCTATCTTCTGCTTTAAATGTGACAAGAAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTTA  
BoHSFA2\_HT01 AAATGGGTTTCTCAAAGTTTGTCTTGGTTACATCAGACCTATCTTCTGCTTTAAATGTGACAAGAAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTTA  
BoHSFA2\_HT02 AAATGGGTTTCTCAAAGTTTGTCTTGGTTACATCAGACCTATCTTCTGCTTTAAATGTGACAAGAAATCTATAGAATATGGCATGTAACCAATCAGTTAAGTGCATGTTCTTTTTTA  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 GTTTTGGCCCTTGTCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTGAACCTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAAGGATCTTCTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTAT  
BoHSFA2\_HT04 GTTTTGGCCCTTGTCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTGAACCTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAAGGATCTTCTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTAT  
BoHSFA2\_BN2 GTTTTGGCCCTTGTCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTGAACCTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAAGGATCTTCTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTAT  
BoHSFA2\_BN1 GTTTTGGCCCTTGTCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTGAACCTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAAGGATCTTCTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTAT  
BoHSFA2\_HT01 GTTTTGGCCCTTGTCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTGAACCTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAAGGATCTTCTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTAT  
BoHSFA2\_HT02 GTTTTGGCCCTTGTCTTTTGTACTAGTCCGGTCTGCTGTTTGAACCTTAGAAATAGAATCTTAGACGGTAAGGAAGGATCTTCTGTCCCGTTCTGAAGAACTTGTCTTGTAT  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 TGCAGGGATTAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGAAAGGAGAAACATGGGTTTGCAGACTG  
BoHSFA2\_HT04 TGCAGGGATTAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGAAAGGAGAAACATGGGTTTGCAGACTG  
BoHSFA2\_BN2 TGCAGGGATTAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGAAAGGAGAAACATGGGTTTGCAGACTG  
BoHSFA2\_BN1 TGCAGGGATTAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGAAAGGAGAAACATGGGTTTGCAGACTG  
BoHSFA2\_HT01 TGCAGGGATTAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGAAAGGAGAAACATGGGTTTGCAGACTG  
BoHSFA2\_HT02 TGCAGGGATTAGAAAGATCGATCCGGACAGATGGGAGTTCCGGCAACGAAAGGGTTTTGGCCGGGAGAGCATCTCTGAGAGCATAAAACGAAAGGAGAAACATGGGTTTGCAGACTG  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 TAGTGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGCTTGTGGAAAGTCCGGCAATACGGTTTTCGAAAGGGGAGGTAGAGAGACTGAAAAGGGACCATAGCCTACTCTAGCTGAGGTAGTTA  
BoHSFA2\_HT04 TAGTGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGCTTGTGGAAAGTCCGGCAATACGGTTTTCGAAAGGGGAGGTAGAGAGACTGAAAAGGGACCATAGCCTACTCTAGCTGAGGTAGTTA  
BoHSFA2\_BN2 TAGTGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGCTTGTGGAAAGTCCGGCAATACGGTTTTCGAAAGGGGAGGTAGAGAGACTGAAAAGGGACCATAGCCTACTCTAGCTGAGGTAGTTA  
BoHSFA2\_BN1 TAGTGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGCTTGTGGAAAGTCCGGCAATACGGTTTTCGAAAGGGGAGGTAGAGAGACTGAAAAGGGACCATAGCCTACTCTAGCTGAGGTAGTTA  
BoHSFA2\_HT01 TAGTGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGCTTGTGGAAAGTCCGGCAATACGGTTTTCGAAAGGGGAGGTAGAGAGACTGAAAAGGGACCATAGCCTACTCTAGCTGAGGTAGTTA  
BoHSFA2\_HT02 TAGTGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGCTTGTGGAAAGTCCGGCAATACGGTTTTCGAAAGGGGAGGTAGAGAGACTGAAAAGGGACCATAGCCTACTCTAGCTGAGGTAGTTA  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 GGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAAGAGTCAAGTTCCGAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGAGACAGCAGCAAAATGATGACGTTCTCCGCAAGGGCTTGAACAATC  
BoHSFA2\_HT04 GGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAAGAGTCAAGTTCCGAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGAGACAGCAGCAAAATGATGACGTTCTCCGCAAGGGCTTGAACAATC  
BoHSFA2\_BN2 GGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAAGAGTCAAGTTCCGAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGAGACAGCAGCAAAATGATGACGTTCTCCGCAAGGGCTTGAACAATC  
BoHSFA2\_BN1 GGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAAGAGTCAAGTTCCGAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGAGACAGCAGCAAAATGATGACGTTCTCCGCAAGGGCTTGAACAATC  
BoHSFA2\_HT01 GGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAAGAGTCAAGTTCCGAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGAGACAGCAGCAAAATGATGACGTTCTCCGCAAGGGCTTGAACAATC  
BoHSFA2\_HT02 GGCTGAGACAGCAGCAACATAAATCCAAAGAGTCAAGTTCCGAGAAATGGAGCAACGTTTGTCTAGTTACAGAGAAAGAGACAGCAGCAAAATGATGACGTTCTCCGCAAGGGCTTGAACAATC  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 CAAACTTTGTTCAACAGTTCCGGCTAATGAGCAAAGAGAAAGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGGAAGCCGGAGGCTTACTTCTAGTCCAAGCTTGGGGACTATCGAGGAGAGAG  
BoHSFA2\_HT04 CAAACTTTGTTCAACAGTTCCGGCTAATGAGCAAAGAGAAAGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGGAAGCCGGAGGCTTACTTCTAGTCCAAGCTTGGGGACTATCGAGGAGAGAG  
BoHSFA2\_BN2 CAAACTTTGTTCAACAGTTCCGGCTAATGAGCAAAGAGAAAGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGGAAGCCGGAGGCTTACTTCTAGTCCAAGCTTGGGGACTATCGAGGAGAGAG  
BoHSFA2\_BN1 CAAACTTTGTTCAACAGTTCCGGCTAATGAGCAAAGAGAAAGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGGAAGCCGGAGGCTTACTTCTAGTCCAAGCTTGGGGACTATCGAGGAGAGAG  
BoHSFA2\_HT01 CAAACTTTGTTCAACAGTTCCGGCTAATGAGCAAAGAGAAAGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGGAAGCCGGAGGCTTACTTCTAGTCCAAGCTTGGGGACTATCGAGGAGAGAG  
BoHSFA2\_HT02 CAAACTTTGTTCAACAGTTCCGGCTAATGAGCAAAGAGAAAGGGTTTTGTTCCGTTCCGATGTTGGTAGGAAGCCGGAGGCTTACTTCTAGTCCAAGCTTGGGGACTATCGAGGAGAGAG  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 TGTTCATGATCAGGAGTTCGATAGAATGAAGGATGATATGGAGACGTTACTTGCAGCCATAGATGATGAGGCGAGTAAATTTGGTGGCCCGCTAGTAAGGATGAACAATGTTTGGAAAG  
BoHSFA2\_HT04 TGTTCATGATCAGGAGTTCGATAGAATGAAGGATGATATGGAGACGTTACTTGCAGCCATAGATGATGAGGCGAGTAAATTTGGTGGCCCGCTAGTAAGGATGAACAATGTTTGGAAAG  
BoHSFA2\_BN2 TGTTCATGATCAGGAGTTCGATAGAATGAAGGATGATATGGAGACGTTACTTGCAGCCATAGATGATGAGGCGAGTAAATTTGGTGGCCCGCTAGTAAGGATGAACAATGTTTGGAAAG  
BoHSFA2\_BN1 TGTTCATGATCAGGAGTTCGATAGAATGAAGGATGATATGGAGACGTTACTTGCAGCCATAGATGATGAGGCGAGTAAATTTGGTGGCCCGCTAGTAAGGATGAACAATGTTTGGAAAG  
BoHSFA2\_HT01 TGTTCATGATCAGGAGTTCGATAGAATGAAGGATGATATGGAGACGTTACTTGCAGCCATAGATGATGAGGCGAGTAAATTTGGTGGCCCGCTAGTAAGGATGAACAATGTTTGGAAAG  
BoHSFA2\_HT02 TGTTCATGATCAGGAGTTCGATAGAATGAAGGATGATATGGAGACGTTACTTGCAGCCATAGATGATGAGGCGAGTAAATTTGGTGGCCCGCTAGTAAGGATGAACAATGTTTGGAAAG  
\*\*\*\*\*

I./F

BoHSFA2\_HT03 CTATGAATGTGATGATGGAAGATGGTTCCTTTAGAGCCAGAGATAGATGTCAAAGTGGAAAGATTTGGTAGCTTCCACCGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACACGACATTTGTCGATCAAA  
BoHSFA2\_HT04 CTATGAATGTGATGATGGAAGATGGTTCCTTTAGAGCCAGAGATAGATGTCAAAGTGGAAAGATTTGGTAGCTTCCACCGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACACGACATTTGTCGATCAAA  
BoHSFA2\_BN2 CTATGAATGTGATGATGGAAGATGGTTCCTTTAGAGCCAGAGATAGATGTCAAAGTGGAAAGATTTGGTAGCTTCCACCGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACACGACATTTGTCGATCAAA  
BoHSFA2\_BN1 CTATGAATGTGATGATGGAAGATGGTTCCTTTAGAGCCAGAGATAGATGTCAAAGTGGAAAGATTTGGTAGCTTCCACCGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACACGACATTTGTCGATCAAA  
BoHSFA2\_HT01 CTATGAATGTGATGATGGAAGATGGTTCCTTTAGAGCCAGAGATAGATGTCAAAGTGGAAAGATTTGGTAGCTTCCACCGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACACGACATTTGTCGATCAAA  
BoHSFA2\_HT02 CTATGAATGTGATGATGGAAGATGGTTCCTTTAGAGCCAGAGATAGATGTCAAAGTGGAAAGATTTGGTAGCTTCCACCGTTGGATTGGGGCAGTGAGGACCTACACGACATTTGTCGATCAAA  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT03 TGGGTTTTCTTGGATCAGAACCCTTGATTATACAGCTCGAGCACATCTCACT  
BoHSFA2\_HT04 TGGGTTTTCTTGGATCAGAACCCTTGATTATACAGCTCGAGCACATCTCACT  
BoHSFA2\_BN2 TGGGTTTTCTTGGATCAGAACCCTTGATTATACAGCTCGAGCACATCTCACT  
BoHSFA2\_BN1 TGGGTTTTCTTGGATCAGAACCCTTGATTATACAGCTCGAGCACATCTCACT  
BoHSFA2\_HT01 TGGGTTTTCTTGGATCAGAACCCTTGATTATACAGCTCGAGCACATCTCACT  
BoHSFA2\_HT02 TGGGTTTTCTTGGATCAGAACCCTTGATTATACAGCTCGAGCACATCTCACT  
\*\*\*\*\*

### Shaded region: exon

BoHSFA2\_HT01 MFOI.KVFI.FEFTVTVYGGSAASASSVGSSSSPRPMRGI.NFTGPPPPPI.TKYVDMVEDPATDVTVSWSSGRNSFTVWDSHKFSTTI.I.PRVFKHSNFSSFTROI.NTYGFRKIDPDRWFANRPF  
BoHSFA2\_HT03 MFOI.KVFI.FEFTVTVYGGSAASASSVGSSSSPRPMRGI.NFTGPPPPPI.TKYVDMVEDPATDVTVSWSSGRNSFTVWDSHKFSTTI.I.PRVFKHSNFSSFTROI.NTYGFRKIDPDRWFANRPF  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT01 I.AGQKHI.KSKTRRRNMGLOTVVNOQSGSGMSCVFVGOVGFEGEVRRI.KRDHSL.I.VAEVVR.I.RQQOHKSQSOVAFMFOR.I.VTEKROOQMMTFLAKALNNPNFVOQFALMSKFKKGI.FG  
BoHSFA2\_HT03 I.AGQKHL.KSKTRRRNMGLOTVVNOQSGSGMSCVFVGOVGFEGEVRRI.KRDHSL.I.VAEVVR.I.RQQOHKSQSOVAFMFOR.I.VTEKROOQMMTFLAKALNNPNFVOQFALMSKFKKGI.FG  
\*\*\*\*\*

BoHSFA2\_HT01 SDVGRKRI.TSSPSI.GTIFERVI.HDQFDRMKDDMETI.I.AAATDDEASNI.VAASKDROCI.FAMNVMMFDGSI.FPFTDVKVDFVVASPI.DWGSFDI.HDITVDOMGPI.GSFP  
BoHSFA2\_HT03 SDVGRKRI.TSSPSI.GTIFERVI.HDQFDRMKDDMETI.I.AAATDDEASNI.VAASKDROCI.FAMNVMMFDGSI.FPFTDVKVDFI.VASPI.DWGSFDI.HDITVDOMGPI.GSFP  
\*\*\*\*\*

- 서열이 거의 같음

## BoHSFA2L: Bo4g154180 (unknown gene): 1,236 bp

>BoHSFA2L\_BN1  
CGGCCTAACCTCTTGTTCCTCCATTTCACTGAATAGGTCGAGTGCAATATCCATCTTCTCTCCTAAAGAGATGACGATATCGTACTCTGCGAGTCAACAGTTTACTGAACTCGTCCACCCAAACGCAAAACGCAAA  
CGCAACCTCATCGTCTCCGATTTGGCTTCAGCTGATTTGGGTTCTTCGCAATCTCTCTGTAAAATTTCAAGCAAGCCCTAAGAAGACACATAAAGTGTAAATAAGAAAAATTTGTGATAAAGATTTTAGGAGACTT  
ACAATCAATTTTAGTTAAAAAATAGTAGAGATGATGTTAATTTGAAGATACTTAGAAATTAATAAATTAACCTAATCTGTATATATGTTCTCGTAGAATACATCATCTCCCTCCTCACCAAGCCACACTCTCTCTCCA  
ATCAACCCACCTCA  
AAGTTCCTCACCACCTCA  
TCAACTTTGGATTTCTTTAGATGAATTTCTTAAAAGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGTCTGTGTCTCTCAACGACTACACTCAAACGGGTTTCTCAAATTTGTCTTTTTTTACGTTAAACATACCTTT  
TGATCTTAATAAAAATAAATAGTATAGAAGATAAACCACTCTTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACAATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGATATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATA  
ATATTTGAAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGTTGACAAGGTAGCAACATAAACCACAGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCGCTCTGCTCGTTACGGAG  
AGCCCTCGCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCCTAATAGGCAAGAGAAGAAGGGGTTGTCCTGTTAGATGTTGTAGGAAACAGGCTTACTTCAAGTCCAAGCTTGGGGACTATT  
AGGAAAGAATGTCACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAACATTTGCTGCTGCGACTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCTGCTCAATAAGG

>BoHSFA2L\_BN2  
CGGCCTAACCTCTTGTTCCTCCATTTCACTGAATAGGTCGAGTGCAATATCCATCTTCTCTCCTAAAGAGATGACGATATCGTACTCTGCGAGTCAACAGTTTACTGAACTCGTCCACCCAAACGCAAAACGCAAA  
CGCAACCTCATCGTCTCCGATTTGGCTTCAGCTGATTTGGGTTCTTCGCAATCTCTCTGTAAAATTTCAAGCAAGCCCTAAGAAGACACATAAAGTGTAAATAAGAAAAATTTGTGATAAAGATTTTAGGAGACTT  
ACAATCAATTTTAGTTAAAAAATAGTAGAGATGATGTTAATTTGAAGATACTTAGAAATTAATAAATTAACCTAATCTGTATATATGTTCTCGTAGAATACATCATCTCCCTCCTCACCAAGCCACACTCTCTCTCCA  
ATCAACCCACCTCA  
AAGTTCCTCACCACCTCA  
TCAACTTTGGATTTCTTTAGATGAATTTCTTAAAAGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGTCTGTGTCTCTCAACGACTACACTCAAACGGGTTTCTCAAATTTGTCTTTTTTTACGTTAAACATACCTTT  
TGATCTTAATAAAAATAAATAGTATAGAAGATAAACCACTCTTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACAATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGATATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATA  
ATATTTGAAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGTTGACAAGGTAGCAACATAAACCACAGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCGCTCTGCTCGTTACGGAG  
AGCCCTCGCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCCTAATAGGCAAGAGAAGAAGGGGTTGTCCTGTTAGATGTTGTAGGAAACAGGCTTACTTCAAGTCCAAGCTTGGGGACTATT  
AGGAAAGAATGTCACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAACATTTGCTGCTGCGACTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCTGCTCAATAAGG

>BoHSFA2L\_HT01  
CGGCCTAACCTCTTGTTCCTCCATTTCACTGAATAGGTCGAGTGCAATATCCATCTTCTCTCCTAAAGAGATGACGATATCGTACTCTGCGAGTCAACAGTTTACTGAACTCGTCCACCCAAACGCAAAACGCAAA  
CGCAACCTCATCGTCTCCGATTTGGCTTCAGCTGATTTGGGTTCTTCGCAATCTCTCTGTAAAATTTCAAGCAAGCCCTAAGAAGACACATAAAGTGTAAATAAGAAAAATTTGTGATAAAGATTTTAGGAGACTT  
ACAATCAATTTTAGTTAAAAAATAGTAGAGATGATGTTAATTTGAAGATACTTAGAAATTAATAAATTAACCTAATCTGTATATATGTTCTCGTAGAATACATCATCTCCCTCCTCACCAAGCCACACTCTCTCTCCA  
ATCAACCCACCTCA  
AAGTTCCTCACCACCTCA  
TCAACTTTGGATTTCTTTAGATGAATTTCTTAAAAGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGTCTGTGTCTCTCAACGACTACACTCAAACGGGTTTCTCAAATTTGTCTTTTTTTACGTTAAACATACCTTT  
TGATCTTAATAAAAATAAATAGTATAGAAGATAAACCACTCTTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACAATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGATATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATA  
ATATTTGAAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGTTGACAAGGTAGCAACATAAACCACAGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCGCTCTGCTCGTTACGGAG  
AGCCCTCGCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCCTAATAGGCAAGAGAAGAAGGGGTTGTCCTGTTAGATGTTGTAGGAAACAGGCTTACTTCAAGTCCAAGCTTGGGGACTATT  
AGGAAAGAATGTCACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAACATTTGCTGCTGCGACTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCTGCTCAATAAGG

>BoHSFA2L\_HT02  
CGGCCTAACCTCTTGTTCCTCCATTTCACTGAATAGGTCGAGTGCAATATCCATCTTCTCTCCTAAAGAGATGACGATATCGTACTCTGCGAGTCAACAGTTTACTGAACTCGTCCACCCAAACGCAAAACGCAAA  
CGCAACCTCATCGTCTCCGATTTGGCTTCAGCTGATTTGGGTTCTTCGCAATCTCTCTGTAAAATTTCAAGCAAGCCCTAAGAAGACACATAAAGTGTAAATAAGAAAAATTTGTGATAAAGATTTTAGGAGACTT  
ACAATCAATTTTAGTTAAAAAATAGTAGAGATGATGTTAATTTGAAGATACTTAGAAATTAATAAATTAACCTAATCTGTATATATGTTCTCGTAGAATACATCATCTCCCTCCTCACCAAGCCACACTCTCTCTCCA  
ATCAACCCACCTCA  
AAGTTCCTCACCACCTCA  
TCAACTTTGGATTTCTTTAGATGAATTTCTTAAAAGGTTAGTCTCAGCTTAAAGGTTAGTCTGTGTCTCTCAACGACTACACTCAAACGGGTTTCTCAAATTTGTCTTTTTTTACGTTAAACATACCTTT  
TGATCTTAATAAAAATAAATAGTATAGAAGATAAACCACTCTTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACAATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGATATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATA  
ATATTTGAAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGTTGACAAGGTAGCAACATAAACCACAGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCGCTCTGCTCGTTACGGAG  
AGCCCTCGCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCCTAATAGGCAAGAGAAGAAGGGGTTGTCCTGTTAGATGTTGTAGGAAACAGGCTTACTTCAAGTCCAAGCTTGGGGACTATT  
AGGAAAGAATGTCACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAACATTTGCTGCTGCGACTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCTGCTCAATAAGG





```

BoHSFA2L_HT02 TAGAAGATAAACCACTCCTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATACATATTTG
BoHSFA2L_HT03 TAGAAGATAAACCACTCCTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATACATATTTG
BoHSFA2L_HT04 TAGAAGATAAACCACTCCTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATACATATTTG
BoHSFA2L_HT01 TAGAAGATAAACCACTCCTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATACATATTTG
BoHSFA2I_RN2 TAGAAGATAAACCACTCCTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATACATATTTG
BoHSFA2L_BN1 TAGAAGATAAACCACTCCTAAAGAGAATAAAGCGGAGGAGGAACATGGGTTTGCAGACTATGAATCAGCAAGGATCAGGATCAGGTATGTCATGTGTAGAAGTTGGGAAATACATATTTG
*****
BoHSFA2I_Sr1 : 5' -CCCACTTCTACACATGACATACCTGTATCC
BoHSFA2L_RR1 : 5' -CCCACTTCTACACATGACATACCTGTATCC

BoHSFA2I_HT02 AAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGGTTGACAAAGTAGCAACATAACCCACGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCCTCTGCTCG
BoHSFA2I_HT03 AAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGGTTGACAAAGTAGCAACATAACCCACGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCCTCTGCTCG
BoHSFA2L_HT04 AAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGGTTGACAAAGTAGCAACATAACCCACGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCCTCTGCTCG
BoHSFA2I_HT01 AAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGGTTGACAAAGTAGCAACATAACCCACGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCCTCTGCTCG
BoHSFA2I_RN2 AAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGGTTGACAAAGTAGCAACATAACCCACGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCCTCTGCTCG
BoHSFA2L_BN1 AAGGGGAGGTAGAGAGGCTGAAGAGGACCATAGCGTACTTGTAGCTGAGGTGGTTAGGTTGACAAAGTAGCAACATAACCCACGAGCCAGGTTGCAGAAATGGAGCAGCCTCTGCTCG
*****

BoHSFA2I_HT02 TTACGGAGAAGCCCTCGCCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCACATAATGAGCAAGAGAGAAGAGGGGTTGTTCCGTTTCAGATGTTGGTAGGAAACGAGGCTTACT
BoHSFA2I_HT03 TTACGGAGAAGCCCTCGCCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCACATAATGAGCAAGAGAGAAGAGGGGTTGTTCCGTTTCAGATGTTGGTAGGAAACGAGGCTTACT
BoHSFA2L_HT04 TTACGGAGAAGCCCTCGCCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCACATAATGAGCAAGAGAGAAGAGGGGTTGTTCCGTTTCAGATGTTGGTAGGAAACGAGGCTTACT
BoHSFA2I_HT01 TTACGGAGAAGCCCTCGCCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCACATAATGAGCAAGAGAGAAGAGGGGTTGTTCCGTTTCAGATGTTGGTAGGAAACGAGGCTTACT
BoHSFA2I_RN2 TTACGGAGAAGCCCTCGCCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCACATAATGAGCAAGAGAGAAGAGGGGTTGTTCCGTTTCAGATGTTGGTAGGAAACGAGGCTTACT
BoHSFA2L_BN1 TTACGGAGAAGCCCTCGCCAAGGCTCTGAACAATCCAAATTTTGTTCACAGTTTGCACATAATGAGCAAGAGAGAAGAGGGGTTGTTCCGTTTCAGATGTTGGTAGGAAACGAGGCTTACT
*****

BoHSFA2I_HT02 TCAAGTCCAAGCTTGGGACTATTGAGGAAAGAATGTACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAAACATTGCTGGCTGCAGCTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCCG
BoHSFA2L_HT03 TCAAGTCCAAGCTTGGGACTATTGAGGAAAGAATGTACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAAACATTGCTGGCTGCAGCTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCCG
BoHSFA2I_HT04 TCAAGTCCAAGCTTGGGACTATTGAGGAAAGAATGTACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAAACATTGCTGGCTGCAGCTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCCG
BoHSFA2I_HT01 TCAAGTCCAAGCTTGGGACTATTGAGGAAAGAATGTACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAAACATTGCTGGCTGCAGCTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCCG
BoHSFA2L_BN2 TCAAGTCCAAGCTTGGGACTATTGAGGAAAGAATGTACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAAACATTGCTGGCTGCAGCTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCCG
BoHSFA2L_BN1 TCAAGTCCAAGCTTGGGACTATTGAGGAAAGAATGTACATGATCAGTAGTTTACAGGACGAAAGATGATATGGAAACATTGCTGGCTGCAGCTACAGATAATGAGTGAGTAGTTTCCG
*****

BoHSFA2I_HT02 TGCCTAATAAGG
BoHSFA2I_HT03 TGCCTAATAAGG
BoHSFA2I_HT04 TGCCTAATAAGG
BoHSFA2I_HT01 TGCCTAATAAGG
BoHSFA2I_RN2 TGCCTAATAAGG
BoHSFA2L_BN1 TGCCTAATAAGG
*****

Shaded region: exon

BoHSFA2L_BN1 MTTISYSCSQOFTLVHPNANANANLIVSDLASADWVSSQSLCKIQASPKKTHKNYIISSSPSHTLFPSTPPLPLSSSPPFMTKKYDVMEDPTDVTVCWRNGRNSFMSWYSH---TTLL
BoHSFA2L_BN2 MTTISYSCSQOFTLVHPNANANANLIVSDLASADWVSSQSLCKIQASPKKTHKNYIISSSPSHTLFPSTPPLPLSSSPPFMTKKYDVMEDPATDVTVCWRNGRNSFMSWYSHKFFTTLL
*****

BoHSFA2I_BN1 PRVFRNIIFPRFROFTIVVSPQI.KEDKPI.I.KRIKRRRNMGI.OTMNOOGSFGSCRNGAASARYGFAI.AKAI.NNPNFVQOFAL.MSKFKKGI.FRSDVGRKRLI.OVOAWGI.I.RKECHMTSSP
BoHSFA2L_BN2 PRVFRNIIFPRFROFTIVVSPQL.KEDKPLL.KRIKRRRNMGI.OTMNOOGSFGSCRNGAASARYGFAI.AKAI.NNPNFVQOFAL.MSKFKKGI.FRSDVGRKRLI.OVOAWGLI.RKECHMTSSP
*****

BoHSFA2I_BN1 TGRKMTWKHCWI.QI.OTMSF
BoHSFA2L_BN2 TGRKMTWKHCWI.QI.OTMSF
*****

```

## 자. 연구개발 성과

### (1) 특허

지식재산권 [발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별)로 기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]

구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명특허	프로고이트린 저 함량 양배추 선별 용 SNP 마커 및 이의 용도	대한민국	-	-	-	김혜란 이정여	2017.04.03	10-1724372	
발명특허	자색 양배추 품종	대한민국	허윤강	2017.05.23	10-2017-006	허윤강	2018.03.02	10-1836109	



	을 선발하기 위한 분자마커 및 이의 용도		이명진 노일섭		3460				
발명특허	글루코브라시신 고함량 양배추 판별용 SNP 마커 및 이의 용도	대한민국	김혜란, 이정여, 노영희	2018.09.06	10-2018-0106299	김혜란 이정여 노영희	2019.06.03	10-1987278	
발명특허	배추과 작물의 검은썩음병균 race 4를 판별할 수 있는 특이적 분자마커 및 이를 이용한 검은썩음병균 race 4 판별방법	대한민국	박종인, 노일섭, 김희택, 루벨 메헤디 하산	2018.10.04	10-2018-0118442	박종인 노일섭 김희택 루벨 메헤디 하산	2020.03.03	10-2086769	분할등록
						박종인 노일섭 김희택 루벨 메헤디 하산	2020.05.08	10-2110907	분할등록
발명특허	양배추 TPPI 유전자를 이용한 내서성 품종의 선별을 위한 트이 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	허윤강 송하영 이명진	2018.10.05	10-2018-0118697	허윤강 송하영 이명진	2019.11.27	10-2051578	
발명특허	저온 내성 양배추 품종 선별용 분자마커 및 이의 용도	대한민국	허윤강 송하영	2020.09.16	10-2020-0119053				
발명특허	저온에서 안토시아닌 축적을 판별할 수 있는 양배추 유래 REV5 유전자 기반 분자마커 및 이의 용도	대한민국	허윤강 안주영	2021.02.15	10-2021-0019729				
발명특허	인트론이 유지된 부 유래의 RsMYB1 전사체 또는 RsTT8 전사체 및 이의 용도	대한민국	허윤강 김소윤	2021.04.02	10-2021-0043117				
발명특허	시니그린 저함량 양배추 판별용 SNP 마커 및 이의 용도	대한민국	김혜란 노영희	2021.10.13	10-2021-0135699				

(2) 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Race- and isolate-specific	Plant Pathology	정지윤	34(6):	대한민국	KOREAN	SCI

	molecular marker development through genome-realignment enables detection of Korean <i>Plasmodiophora brassicae</i> isolates, causal agents of clubroot disease	Journal		506-513		SOC PLANT PATHOLOGY	
2	Glucosinolate Profile and Glucosinolate Biosynthesis and Breakdown Gene Expression Manifested by Black Rot Disease Infection in Cabbage	Plants	Mehede Hassan Rubel	9(9), 1121	스위스	MDPI	SCIE
3	Environmentally friendly fertilizers can enhance yield and bioactive compounds in Chinese cabbage ( <i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i> )	Turkish Journal of Agriculture and Forestry	이정여	43	터키	터키	SCI
4	Effect of methyl jasmonate on the glucosinolate contents and whole genome expression in <i>Brassica oleracea</i>	Journal of Plant Biotechnology	이정여	46	대한민국	대한민국	비SCI
5	Genome-wide analysis of gene expression to distinguish photoperiod-dependent and -independent flowering in Brassicaceae	Genes & Genomics	송하영	39	대한민국	Springer	SCI
6	Purple <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i> is due to the loss of <i>BoMYBL2-1</i> expression	BMC Plant Biology	송하영	18	영국	Biomed Central Ltd.	SCI
7	Allelic variation in <i>Brassica oleracea</i> CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 ( <i>BoCCA1</i> ) is associated with freezing tolerance	Hortic. Environ. Biotechnol	송하영	59	한국	한국원예학회	SCI
8	Transcriptomic analysis of contrasting inbred lines and F <sub>2</sub> segregant of Chinese cabbage provides valuable information on leaf morphology	Genes & Genomics	이상무	41	한국	Springer	SCI
9	SNP in <i>DFR1</i> coding sequence is tightly associated with anthocyanin accumulation in cabbage ( <i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>alba</i> ) at low temperature	Agronomy	송하영	10	스위스	MDPI	SCI
10	Development and application of a PCR-based molecular marker for the identification of high temperature tolerant cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> ) genotype	Agronomy	송하영	10	스위스	MDPI	SCI
11	Natural variation in glycine-rich region of <i>Brassica oleracea</i> Cold Shock Domain Protein 5 ( <i>BoCSDP5</i> ) is associated with low temperature tolerance	Genes & Genomics	송하영	42	한국	Springer	SCI
12	Disruption of the <i>LBD37</i> -like gene by a 136 bp insertion is associated with anthocyanin accumulation in cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> )	Genes & Genomics	안주영	43	한국	Springer	SCI
13	Intron-retained radish ( <i>Raphanus sativus</i> L.) <i>RsMYB1</i> transcripts found in colored-taproot lines enhance anthocyanin accumulation in transgenic Arabidopsis plants	Plant Cell Reports	김소윤	40	독일	Springer	SCI
14	Polymorphisms found in <i>Brassica oleracea</i> <i>REVEILLE5/LHY/CCA1-LIKE 4</i> ( <i>BoRVE5/BoLCL4</i> ) are associated with anthocyanin accumulation in cabbage	Euphytica	안주영	217	네덜란드	Springer	SCI

(3) 분자마커

분자마커 개발

번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도
1	검은썩음병균 race 4 동정용 분자마커	2	검은썩음병균 race 4를 특이적으로 검출할 수 있는 분자마커임	2018~현재
2	<i>X. campestri</i> s pv. <i>incanae</i> 동정용 분자마커	6	<i>X. campestri</i> s pv. <i>incanae</i> 특이적으로 검출할 수 있는 분자마커	2018~현재
3	자색(적)양배추를 구분하는 분자마커	3	<i>BoMYBL2-1</i> 유전자의 InDel을 이용하여 PCR용 마커	2018
			<i>BoLBD37L</i> 유전자에 삽입된 136 bp DNA 서열을 이용하여 자색양배추를 구분함	2019
			<i>BoRVE5</i> 유전자의 다형성을 이용한 PCR 마커	2020
4	저온에서도 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 판별용 마커	2	<i>BoDFR1</i> 유전자의 SNP를 이용한 마커	2019
			<i>BoRVE5</i> 유전자의 유전적 다형성을 이용한 분자마커	2020
5	내서성 양배추 선발용 마커	2	<i>BoTPPI</i> 유전자의 다형성을 이용한 내서성 판별용 마커	2019
			<i>BoPIF4L</i> 유전자의 다형성을 이용한 내서성 판별용 마커	2021
6	내한성 양배추 판별용 마커	2	<i>BoCCA1</i> 유전자의 다형성을 활용한 분자마커	2019
			<i>BoCSDP5</i> 유전자의 다형성을 이용한 내한성 판별용 분자마커	2020

(4) 생명정보자원

번호	품목	내용	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	양배추	<i>B. oleracea</i> genome (assembled genome sequence)	김혜란	2017.09.27	KBRS20170927_0000001	

#### (5) 기술적 성과

- 양배추 유전체 지도, 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL, 유전체 및 SNP정보: 양배추 형질 연구, 분자마커 개발 기반 구축
- 검은썩음병균 RACE 4 동정용 분자마커 개발: 검은썩음병 동정, 저항성 연구 기반 기술 구축
- 양배추 주요 병 저항성 검정법 확립으로 병 저항성 연구와 저항성 품종 개발에 필수 기술 확립
- 양배추 주요 형질 연관 분자마커: 효율적이고 신속 정확한 양배추 분자유종에 활용되어 유용형질 검정, 선발을 위한 기술 확립
- 마커개발을 위한 시간 단축과 확실성을 부여하는 기술로 유전자 선발 방법을 확립함
- 원예형질이 다른 양배추로부터 유전적 다형성을 찾아가는 기술을 확립하고 적용하여 분자마커 개발의 시간을 단축할 수 있는 방법을 구축함
- SNP와 InDel을 기반으로 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성기술은 분자마커 개발에 대한 성공법을 제공하는 기술이 될 것임
- HRM, SNP, mismatch primer 이용은 분자마커 검증의 다양한 방법을 제공하는 기술로 사용하며 유용성이 확인됨

#### (6) 경제적 성과

- 양배추 육종에 활용될 수 있는 분자마커들이 사업단에 제공되어 품종 육종 시 선발 효율을 높이는 효과를 얻음
- 자색양배추 선발 분자마커의 활용은 건강식품으로 각광을 받아가는 자색(적)양배추 육종에 박차를 가하여 적양배추의 수출경쟁력과 종자수출에 도움을 줄 것임
- 저온노출시 안토시아닌의 축적이 일어나지 않아 진한 녹색을 유지할 수 있는 양배추 품종을 개발하는 활용할 수 있는 2개의 마커는 중국시장을 겨냥하는 양배추 종자수출에 크게 도움이 될 것임
- 내한성 및 내서성 구분 양배추 분자마커는 국내외 최초로 개발한 것으로 이를 이용하여 양배추 품종을 육성하였을 경우 국제종자시장에서 우위를 점유하여 종자수출에 크게 기여할 것임

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

- 양배추 세균병 및 균류병 저항성 관련 유전자 동정 및 연관 분자마커 개발
- 양배추 글루코시놀레이트 성분별 함량 연관 분자마커 개발
- 열구 관련 분자마커 개발
- 양배추 엽색 관련 분자마커 개발
- 양배추 내한성, 내서성 관련 분자마커 개발

○ 육종 소재 유용성분 함량 분석 및 종자 순도 분석 지원

3-2. 목표 달성여부

가. 연차별 연구개발의 목표, 개발내용 및 관련분야 기술발전 기여도 (요약서 내용 정비)

연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도	관련분야 기술발전 기여도
양배추 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 양배추 뿌리혹병 저항성 QTL 영역에 위치하는 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자 동정, 분자마커 디자인 및 디자인된 분자마커들을 이용한 다형성 확인, 유전자형과 표현형의 일치율 검정</li> <li>- 뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 병저항성 이병성 계통 선발을 통해 향후 병저항성 연구 기반으로 활용</li> <li>- 병 검정법은 육종 현장 및 향후 추가 연구시 활용</li> <li>- 병저항성 분자마커 개발 전략 및 실효성 검증</li> <li>- 병저항성 양배추 품종 개발에 있어 선발 효율 및 육종 속도 향상에 기여</li> <li>- 병저항성 연구 및 검정시 병균 동정에 균주특이 마커 활용으로 효율화</li> </ul>
양배추 검은썩음병 저항성 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 검은썩음병 race별 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성</li> <li>- 검은썩음병균 race 4 특이적 마커 개발</li> <li>- 제주도 양배추 재배지역의 검은썩음병균 race 검정</li> </ul>	100%	
양배추 둥근무늬병 저항성 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 둥근무늬병 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성</li> <li>- 양배추 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자들 동정, 분자마커 디자인</li> <li>- 디자인된 분자마커들을 이용하여 다형성 확인 및 유전자형과 표현형의 일치율 검정</li> </ul>	100%	
전사체, 유전체 및 유전자 지도 통합 분석 기반 글루코시놀레이트 함량 관련 주요 유전자 동정 및 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 글루코이베린, 프로그로이트린, 글루코라파닌, 시니그린, 글루코브라시신 함량 연관 분자마커 개발</li> <li>- 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 동정 및 연관 SNP 분자마커 대량 발굴</li> <li>- 양배추 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 발굴</li> <li>- 양배추 유전자 지도 작성 및 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping</li> <li>- 양배추 글루코시놀레이트 함량 분석법 확립 및 육종 소재 성분 분석 지원</li> </ul>	100%	

			한 전략 제공
열구 관련 분자마커 개발	- 열구 강 및 약 계통을 이용한 F <sub>1</sub> 작성 및 F <sub>2</sub> 작성 - F <sub>2</sub> 집단을 이용한 RAD-seq. 수행 및 분석	100%	- 열구 저항성 감수성 계통, F <sub>2</sub> 집단 제공을 통해 연구 기반 제공 - RAD-seq을 통한 분자마커 개발 전략 제공
자색(적)양배추를 구분하는 분자마커 3건 개발	- <i>BoMYBL2-1</i> 유전자의 InDel을 이용하여 PCR용 마커 - <i>BoLBD37L</i> 유전자의 InDel을 이용한 마커 - <i>BoRVE5</i> 유전자의 SNP와 InDel을 이용한 마커	100%	- 유전자 기반 분자마커 개발 전략 제공 - 각 형질별 주요 관련 유전자 제공
저온에서도 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 판별용 마커 2건 개발	- <i>BoDFR1</i> 유전자의 SNP를 이용한 마커 - <i>BoRVE5</i> 유전자의 SNP와 InDel 이용한 마커	100%	- 양배추의 주요 원예형질인 저온 안토시아닌 축적, 내서성, 내한성 관련 분자마커를 개발하여 양배추 육종 시 선발 효율과 육종연한 단축에 기여
내서성 양배추 선발용 분자마커 2건 개발	- <i>BoTPPI</i> 유전자의 InDel을 이용한 내서성 판별용 마커 - <i>BoPIF4L</i> 유전자의 SNP와 InDel을 이용한 내서성 판별용 마커	100%	
내한성 양배추 선발용 분자마커	- <i>BoCCAI</i> 유전자의 SNP를 활용한 분자마커 - <i>BoCSDP5</i> 유전자의 InDel을 이용한 내한성 판별용 분자마커	100%	

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등): 해당사항 없음

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

가. 연구성과의 활용 분야 및 방안

- 양배추의 유용형질 검정법과 개발된 분자표지를 이용한 양배추 골든시드 개발 지원
- 양배추 육종효율 증진을 통한 신품종 개발 연한 단축
- 양배추 병저항성 및 고품질 품종 선발에 활용
- 분자표지 연구 결과 논문 투고 및 특허 등록
- 뿌리혹병 균주 특이적 마커는 국내 배추과 작물 재배지역의 뿌리혹병 균주 판별에 활용할 계획임
- 양배추 검은썩음병균 race 4 동정용 분자마커는 국내 배추과 작물 재배지역의 검은썩음병균 race 판별에 활용할 계획임
- 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 유전자 지도 및 유전체 정보: 논문 발표를 통해 정보를 공유하며, 양배추의 유용성분 연관 후속 연구 시 기반 결과로 활용



- 양배추 글루코시놀레이트 함량 측정법: 양배추 및 양배추류 신품종 개발시 소재 탐색 또는 선발에 활용
- 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커 중 progoitrin, glucoiberin, sinigrin 함량 연관 마커는 특허 출원 또는 등록이 된 마커로서, 실용화 재단 등 연관 기업 기술이전을 통한 양배추 신품종개발에 직접 활용 되도록 함

나. 기업화 추진 방안 및 기술이전

- 본 연구에서 개발된 양배추의 병균 race 검정 분자마커, 병저항성 분자마커, 글루코시놀레이트 함량 연관 분자마커, 안토시아닌 축적 연관 분자마커, 내한성, 내서성 분자마커는 활용 가능한 종자회사, 실용화재단 등으로 기술이전 추진 필요성이 있음

## 붙임. 참고문헌

- Alvarez-Suarez JM, Cuadrado C, Redondo IB, Giampieri F, González-Paramás AM, Santos-Buelga C (2021) Novel approaches in anthocyanin research – Plant fortification and bioavailability issues. *Trends Food Sci Technol* 117: 92-105.
- Arias T, Niederhuth CE, McSteen P, Pires JC (2021) The molecular basis of kale domestication: Transcriptional profiling of developing leaves provides new insights into the evolution of a *Brassica oleracea* vegetative morphotype. *Front. Plant Sci.* 12: 637115.
- Bakowska-Barczak A (2005) Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants—A review. *Polish J Food Nutrit Sci* 14/55: 107-116
- Chiu LW, Li L (2012) Characterization of the regulatory network of BoMYB2 in controlling anthocyanin biosynthesis in purple cauliflower. *Planta* 236: 1153-1164
- Chiu LW, Zhou X, Burke S, Wu X, Prior RL, Li L (2010) The purple cauliflower arises from activation of a MYB transcription factor. *Plant Physiol* 154: 1470-1480.
- Feng X, Zhang Y, Wang H, tian Z, Xin S, Zhu P (2021) The dihydroflavonol 4-reductase BoDFR1 drives anthocyanin accumulation in pink-leaved ornamental kale. *Theor. Appl. Genet.* 134: 159-169.
- Gao LW, Lyu SW, Tang J, Zhou DY, Bonnema G, Xiao D, Hou XL, Zhang CW (2017) Genome-wide analysis of auxin transport genes identifies the hormone responsive patterns of associated with leaf head formation in Chinese cabbage. *Sci. Rep. &*; 42229.
- Jacob P, Hirt H, Bendahmane A (2017) The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnol. J.* 15: 405-414.
- Janmohammadi M, Zolla L, Rinalducci S (2015) Low temperature tolerance in plants: Changes at the protein level. *Phytochemistry* 117: 76-89.
- Jiang J, Ma S, Ye N, Jiang M, Cao J, Zhang J (2017) WRKY transcription factors in plant responses to stresses. *J. Integr. Plant Biol.* 59: 86-101.
- Karamat U, Sun X, Li N, Zhao J (2021) Genetic regulators of leaf size in *Brassica* crops. *Hortic. Res.* 8: 91.
- Liu X, Zhang B, Wu J, Li Z, Han F, Fang Z, Yang L, Zhuang M, Lv H, Liu Y, Li Z, Yu H, Li X, Zhang Y (2020) Pigment variation and transcription response of the pigment synthesis pathway in the S2309 triple-color ornamental kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) line. *Genomics*: 112: 2658-2665.
- Naing AH, Kim CK (2021) Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: Their role in tolerance to abiotic stresses. *Physiol. Plant.* 172: 1711-1723.
- Nesi N, Debeaujon I, Jond C, Pelletier G, Caboche M, Lepiniec L (2000) The *TT8* gene encodes a basic helix-loop-helix domain protein required for expression of *DFR* and *BAN* genes in *Arabidopsis* siliques. *Plant Cell* 12: 1863-1878.
- Rodriguez-Amaya DB (2019) Update on natural food pigments – A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Res Intl.* 124: 200-205.
- Sharma d, Nanjundan J, Singh L, Singh SP, Parmar N, Kumar MSS, Singh KH, Mishra AK, Singh r, Verma KS, thakur AK (2020) Genetic diversity in leafy mustard (*Brassica juncea* var. *rugosa*) as revealed by agro-morphological traits and SSR markers. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 26: 2005-2018.

- Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A (2008) Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.* 54: 733-749.
- Wang Y, Wu F, Bai J, He Y (2014) *BrpSPL9* (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis* *SPL9*) controls the earliness of heading time in Chinese cabbage. *Plant Biotechnol. J.* 12: 312-321.
- Yuan Y, Chiu LW, Li L (2009) Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in red cabbage. *Planta* 230: 1141-1153.
- Zhang B, Hu Z, Zhang Y, Li Ym, Zhou S, Chen G (2012) A putative functional MYB transcription factor involved by low temperature regulates anthocyanin biosynthesis in purple kale (*Brassica oleracea* var. *acephala* f. *tricolor*). *Plant Cell Rep.* 31: 281-289.
- Zhang F, Gonzalez A, Zhao M, Payne CT, Lloyd A (2003) A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of *Arabidopsis*. *Development* 130: 4859-4869.

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 양배추 병저항성 및 원예형질 관련 분자마커 개발			
	(영문) Development of molecular markers linked to disease resistance and horticultural traits in cabbage			
프로젝트 연구기관	한국생명공학연구원	프로젝트연구 책임자	(소속) 한국생명공학연구원	
참여기업	-		(성명) 김혜란	
총연구개발비 (1,233,300천원)	계	1,233,300,000	총연구기간	2017.01.01. ~ 2021.12.31.(5년)
	정부출연 연구개발비	1,233,300,000	총인원	64명
	기업부담금	-	총참여 연구원 수	내부인원 64명
	연구기관부담금	-		외부인원 -

○ 연구개발 목표 및 성과

1. 연구개발 목표

경제적이고 효율적으로 양배추의 신품종 개발을 위해 선발 효율을 높이고 신속 정확 육종에 사용될 양배추 주요 병저항성 6점, 원예형질 5점 이상의 분자마커 개발

- ① 양배추 세균병(뿌리혹병, 검은썩음병) 저항성 연관 분자마커 개발
- ② 양배추 곰팡이병(등근무늬병) 저항성 연관 분자마커 개발
- ③ 양배추 주요 원예형질 연관 분자마커 개발
  - 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커
  - 열구 관련 분자마커 개발
  - 양배추 엽색 관련 분자마커 개발
  - 양배추 내한성, 내서성 관련 분자마커 개발

2. 연구개발 성과

- ① 양배추 뿌리혹병, 검은썩음병, 등근무늬병 저항성 관련 유전자 동정 및 분자마커 개발
- ② 뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발
- ③ 검은썩음병균 race 4 특이적 마커 개발
- ④ 글루코이베린, 프로그이트린, 글루코라파닌, 시니그린, 글루코브라시신 함량 연관 분자마커 개발
- ⑤ 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 발굴 및 연관 SNP 대량 발굴
- ⑥ 양배추 유전자 지도 작성 및 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping
- ⑦ 양배추 글루코시놀레이트 함량 분석법 확립 및 육종 소재 성분 분석 지원
- ⑧ 열구 관련 분자마커 개발 기반 구축
- ⑨ *BoMYBL2-1*, *BoLBD37L*, *BoRVE5* 유전자 기반 자색(적)양배추를 구분하는 분자마커 개발
- ⑩ *BoDFR1*, *BoRVE5* 유전자 기반 저온에서도 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 판별용 마커 개발

- ⑪ *BoTPPI*, *BoPIF4L* 유전자 기반 내서성 양배추 선발용 분자마커 개발
- ⑫ *BoCCA1*, *BoCSDP5* 유전자 기반 내한성 양배추 선발용 분자마커
- ⑬ 논문, 특허 출원, 특허등록, 생명정보 등록, 학회발표, 분자마커 개발, 인력양성

○ 연구내용 및 결과

1. 양배추 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발

- ① 양배추 뿌리혹병 저항성 QTL 영역에 위치하는 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자 동정, 분자마커 디자인 및 디자인된 분자마커들을 이용한 다형성 확인, 유전자형과 표현형의 일치율 검정

- ② 뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발

2. 양배추 검은썩음병 저항성 분자마커 개발

- ① 검은썩음병 race별 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성

- ② 검은썩음병균 race 4 특이적 마커 개발

- ③ 제주도 양배추 재배지역의 검은썩음병균 race 검정

3. 양배추 둥근무늬병 저항성 분자마커 개발

- ① 둥근무늬병 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 집단 작성

- ② 양배추 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자들 동정, 분자마커 디자인

- ③ 디자인된 분자마커들을 이용하여 다형성 확인 및 유전자형과 표현형의 일치율 검정

4. 전사체, 유전체 및 유전자지도 통합 분석 기반 글루코시놀레이트 함량 관련 주요 유전자 동정 및 분자마커 개발

- ① 글루코이베린, 프로그로이트린, 글루코라파닌, 시니그린, 글루코브라시신 함량 연관 분자마커 개발

- ② 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 동정 및 연관 SNP 분자마커 대량 발굴

- ③ 양배추 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 발굴

- ④ 양배추 유전자 지도 작성 및 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL mapping

- ⑤ 양배추 글루코시놀레이트 함량 분석법 확립 및 육종 소재 성분 분석 지원

5. 열구 관련 분자마커 개발

- ① 열구 강 및 약 계통을 이용한 F<sub>1</sub> 작성 및 F<sub>2</sub> 작성

- ② F<sub>2</sub> 집단을 이용한 RAD-seq. 수행 및 분석

6. 자색(적)양배추를 구분하는 분자마커 3건 개발

- ① *BoMYBL2-1* 유전자의 InDel을 이용하여 PCR용 마커

- ② *BoLBD37L* 유전자의 InDel을 이용한 마커

- ③ *BoRVE5* 유전자의 SNP와 InDel을 이용한 마커

7. 저온에서도 안토시아닌 축적이 일어나지 않는 양배추 판별용 마커 2건 개발

- ① *BoDFR1* 유전자의 SNP를 이용한 마커

- ② *BoRVE5* 유전자의 SNP와 InDel 이용한 마커

8. 내서성 양배추 선발용 분자마커 2건 개발

- ① *BoTPPI* 유전자의 InDel을 이용한 내서성 판별용 마커

- ② *BoPIF4L* 유전자의 SNP와 InDel을 이용한 내서성 판별용 마커

9. 내한성 양배추 선발용 분자마커

- ① *BoCCA1* 유전자의 SNP를 활용한 분자마커

- ② *BoCSDP5* 유전자의 InDel을 이용한 내한성 판별용 분자마커

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 병 저항성 및 주요 원예형질 판별 분자마커는 사업단 서비스부분에 이전하여 현장 적용해 왔으며, 사업 종료 후에는 관련 분자마커 서비스 가능 기관에 이전하여 조기 선발, 선발 효율 증진, 정밀 육종을 위해 활용 하고자 함
2. 글루코시놀레이트 함량 측정법은 육종소재 탐색에 활용되며 총 231점의 육종 소재 탐색이 활용됨.
3. 선행연구를 통해 개발된 양배추 종자순도검정 마커를 384점의 양배추 순도 검정에 활용됨
4. 병 저항성 및 주요 원예형질 판별 분자마커는 사업단 서비스부분에 이전하여 현장 적용해 왔으며, 사업 종료 후에는 관련 분자마커 서비스 가능 기관에 이전하여 조기 선발, 선발 효율 증진, 정밀 육종을 위해 활용 하고자 함
5. 뿌리혹병 균주 특이적 마커, 양배추 검은썩음병균 race 4 동정용 분자마커는 국내 배추과 작물 재배지역의 뿌리혹병, 검은썩음병 균주 판별에 활용할 계획임
6. 양배추 글루코시놀레이트 함량 연관 유전자 지도 및 유전체 정보: 논문 발표를 통해 정보를 공유하며, 양배추의 유용성분 연관 후속 연구 시 기반 결과로 활용
7. 양배추 글루코시놀레이트 함량 측정법: 양배추 및 양배추류 신품종 개발시 소재 탐색 또는 선발에 활용
8. 개발된 분자마커는 관련 기업에 기술이전하여 육종현장에 활용되도록 할 계획임



## 자체평가보고서

사업단명	GSP원예종자사업단	과제번호	213007-05-5-CG60 0		
프로젝트명	양배추 병저항성 및 원예형질 관련 분자마커 개발				
프로젝트연구기관	한국생명공학연구원				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	김혜란			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	충남대학교 산학협력단	성명	허윤강
연구기간	총기간	2017.01 ~ 2021. 12		당해연도기간	2021.01~2021.12
연구비(천원)	총규모	1,233,300		당해연도규모	244,650

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행     
  계획대로 진행     
  계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상외 성과 얻음     
  어느 정도 얻음     
  얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표			6	4	10	4	2		1					5
연구기간 내 달성실적			8	6	13*	1*	9		1					5
달성율(%)			133	150	100	100	450		100					100

\*비SCI논문 목표 3편은 SCI 논문 3편으로 대체 달성

3. 연구개발 성과 세부 내용

### 3-1 기술적 성과

- 양배추 유전체 지도, 글루코시놀레이트 함량 연관 QTL, 유전체 및 SNP정보: 양배추 형질 연구, 분자마커 개발 기반 구축
- 검은썩음병균 RACE 4 동정용 분자마커 개발: 검은썩음병 동정, 저항성 연구 기반 기술 구축
- 양배추 주요 병 저항성 검정법 확립으로 병 저항성 연구와 저항성 품종 개발에 필수 기술 확립
- 양배추 주요 형질 연관 분자마커: 효율적이고 신속 정확한 양배추 분자유종에 활용되어 유용 형질 검정, 선발을 위한 기술 확립
- 마커개발을 위한 시간 단축과 확실성을 부여하는 기술로 유전자 선발 방법을 확립함
- 원예형질이 다른 양배추로부터 유전적 다형성을 찾아가는 기술을 확립하고 적용하여 분자마커 개발의 시간을 단축할 수 있는 방법을 구축함
- SNP와 InDel을 기반으로 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성기술은 분자마커 개발에 대한 정공법을 제공하는 기술이 될 것임
- HRM, SNP, mismatch primer 이용은 분자마커 검증의 다양한 방법을 제공하는 기술로 사용하며 유용성이 확인됨

### 3-2 과학적 성과

- 14편의 연구 논문을 발표하여 과학계에 새로운 과학적 정보를 제공함

### 3-3 경제적 성과

- 양배추 육종에 활용될 수 있는 분자마커들이 사업단에 제공되어 품종 육종 시 선발 효율을 높이는 효과를 얻음
- 자색양배추 선발 분자마커의 활용은 건강식품으로 각광을 받아가는 자색(적)양배추 육종에 박차를 가하여 적양배추의 수출경쟁력과 종자수출에 도움을 줄 것임
- 저온노출시 안토시아닌의 축적이 일어나지 않아 진한 녹색을 유지할 수 있는 양배추 품종을 개발하는 활용할 수 있는 2개의 마커는 중국시장을 겨냥하는 양배추 종자수출에 크게 도움이 될 것임
- 내한성 및 내서성 구분 양배추 분자마커는 국내외 최초로 개발한 것으로 이를 이용하여 양배추 품종을 육성하였을 경우 국제종자시장에서 우위를 점유하여 종자수출에 크게 기여할 것임

### 3-4 사회적 성과

- 양배추 품종개발 효율성 향상에 기여하여 국위 선양, 시장점유율 향상에 기여할 수 있을 것으로 기대됨
- 본 연구수행을 통해 양성된 인력은 효율적인 양배추 품종개발 분야에 종사하게 될 것으로 기대됨

### 3-5 인프라 성과

- 본 연구를 통해 작성된 분자마커 개발을 위한 유전자지도, 유전체 정보, SNP 등 genome variant 데이터, QTLs
- 병 검정법 등 양배추의 유용 표현형 검정법, 목표형질 연관 저항성 감수성 소재

4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음                       현재로서 불투명함                       그렇지 않음

5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음                       현재로서 불투명함                       그렇지 않음

6. 얻어진 성과와 발표상황

6-1 경제적 효과

- 기술료 등 수익                      수 익 :  
 기업 등애의 기술이전                      기업명 :  
 기술지도 등                      기업명 :

6-2 산업·지식재산권 등

- 국내출원/등록                      출원 8 건,                      등록 6 건  
 해외출원/등록                      출원    건,                      등록    건

6-3 논문게재·발표 등

- 국내 학술지 게재                      1건  
 해외 학술지 게재                      13건  
 국내 학·협회 발표                      10건  
 국내 세미나 발표                      건  
 기 타                      건

6-4 인력양성효과

- 석 사                      3 명  
 박 사                      2 명  
 기 타                      10 명

6-5 수상 등

- 있다                      상 명칭 및 일시 :  
 없다

6-6 매스컴 등의 PR

있다

건

없다

7. 연구개발 착수 이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

없다

약간 감소되었다

크게 감소되었다

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오.

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

없다

약간 조정필요

전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

- 연구 선정당시의 성과에 대한 인정기준이 연구 수행 도중 변경되었음 (예: 연구 선정당시 인력 양성은 학부 졸업도 인정되었으나, 수행도중 석사이상으로 변경됨)
- 연구 도중 연구비의 감액은 연구 효율을 낮출 우려가 있으므로, 선정당시 계획에 따른 연구비의 변경은 없었으면 함
- 연구비 지급, 연구 협약기간은 최대한 더 앞당겨서 1월 1일 시작의 연구기간에 맞추었으면 합니다.

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	한국생명공학연구원	책임연구원	김혜란 <i>김혜란</i>

[별첨 2]

## 연구성과 활용계획서 (2017~2021)

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
프로젝트명	양배추 병 저항성 및 원예형질 관련 분자마커 개발			
프로젝트 연구기관	한국생명공학연구원	프로젝트연구책임자	김 혜 란	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	1,233,300,000			1,233,300,000
연구개발기간	2017.01.01. ~ 2021.12.12			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타 (사업단 이전 활용 ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유: )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 양배추 뿌리혹병 저항성 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 뿌리혹병 저항성 QTL 영역에 위치하는 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자 동정, 분자마커 디자인 및 디자인된 분자마커들을 이용한 다형성 확인, 유전자형과 표현형의 일치율 검정</li> <li>○ 뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발</li> </ul>
② 양배추 검은썩음병 저항성 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 검은썩음병 race별 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F1 및 F2 집단 작성</li> <li>○ 검은썩음병균 race 4 특이적 마커 개발</li> <li>○ 제주도 양배추 재배지역의 검은썩음병균 race 검정</li> </ul>
③ 양배추 둥근무늬병 저항성 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 둥근무늬병 저항성 및 이병성 계통을 이용한 F1 및 F2 집단 작성</li> <li>○ 양배추 병 저항성 관련 유전자 LBS-LRR 유전자들 동정, 분자마커 디자인</li> <li>○ 디자인된 분자마커들을 이용하여 다형성 확인 및 유전자형과 표현형의 일치율 검정</li> </ul>
④ 열구 관련 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 열구 강 및 약 계통을 이용한 F1 작성 및 F2 작성</li> <li>○ F2 집단을 이용한 RAD-seq. 수행 및 분석</li> </ul>
⑤ 글루코시놀레이트 함량 연관 주요 유전자 동정 및 SNP 대량 발굴	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 글루코시놀레이트 생합성 및 생분해 경로 유전자 발굴</li> </ul>

	○ 글루코시놀레이트 성분 함량 고/저 계통 선발, re-sequencing, SNP 대량 발굴 ○ SNP 기반 함량 연관 유전자 발굴 ○ 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 QTL spanning 유전자 발굴
⑥ 글루코시놀레이트 함량 연관 유전자 지도 작성 및 QTL mapping	○ 글루코시놀레이트 함량 연관 양배추 집단과 TBDH 집단을 이용한 유전자 지도 3건 작성 ○ 글루코시놀레이트 성분 6개 (glucoiberin, progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, 4-methoxyglucobrassicin) 와 total glucosinolate 함량 연관 QTL 11 loci mapping
⑦ 글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커 개발	○ progoitrin, glucoiberin, glucoraphanin, gluconapin, sinigrin 함량 연관 분자 마커 개발
⑧ 염색관련 분자마커 1건 개발	○ 염색관련 분자마커 4건 개발
⑨ 내한성관련 분자마커 1건 개발	○ 내한성관련 분자마커 2건 개발
⑩ 내서성관련 분자마커 1건 개발	○ 내서성관련 분자마커 2건개발

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

### 3. 연구비 집행실적 (2017~2021)

구분	금액		계획금액	사용액	잔액	비고
	세부프로젝트명					
양배추	양배추 1( 양배추 주요 병 저항성 미 원예형질 연관 분자마커 개발)	826,300,000	826,300,000	826,300,000	0	
	양배추 2 (양배추 염색, 숙기 및 종/아종 구분 관련 분자마커 개발)	407,000,000	404,899,627	404,899,627	2,100,373	인건비 잔액 반납
총계		1,233,300,000	1,233,300,000	1,233,300,000	0	

### 4. 연구목표 대비 성과

성과지표구분	단위	최종			1차년도			2차년도			3차년도			4차년도			5차년도		
		실적	목표	달성률	실적	목표	달성률	실적	목표	달성률	실적	목표	달성률	실적	목표	달성률	실적	목표	달성률
제품경쟁력	논문 SCI*	13*	10	100*	1	2	50	3	2	150	2	2	100	4	2	200	3	2	150
	논문 비SCI*	1*	4	100*				0	1	0	1	1	100	0	1	0	0	1	0
	마커개발	9	2	450				1	0	초과	4	1	400	3	1	300	1	0	초과
	분자마커, 성분분석 서비스	615	0	초과	384	0	초과	151	0	초과	70	0	초과	10	0	초과			
	생명정보 자원 등록	1	1	100	1	1	100												



	학술대회 발표		10	5	200	3	1	300	2	1	200	3	1	400	1	1	100	1	1	100	
권리 확보	특허출원	건	8	6	133	1	1	100	3	2	150				1	2	50	3	1	300	
	특허등록		6	4	150	1	0	초과	1	0	초과	2	1	200	2	2	100	0	1	0	
생산역량 강화	인력양성	건	5	5	100	1	1	100	0	1	0	0	1	0	2	1	200	2	1	200	
	중간모본육성																				
	종자발아력 검정																				
	기술이전																				
	생산량검정																				
	종구보급	만구																			
	무병묘품종수(원원종)	건																			

### 5. 핵심기술

구분	핵심기술 명
①	검은씩음병균 race 4 특이적 마커 개발
②	뿌리혹병 균주 특이적 분자마커 개발
③	글루코시놀레이트 함량 연관 유전자 지도 및 QTL
④	글루코시놀레이트 함량 연관 SNP 대량 발굴
⑤	글루코시놀레이트 성분 함량 연관 분자마커
⑥	유전체 분석과 표적유전자 탐색 기술
⑦	마커 디자인과 검증 기술
⑧	유전집단 양성 기술

### 6. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	v					v				
②의 기술		v								
③의 기술			V							
④의 기술			V							

⑤의 기술					V	V				
⑥의 기술					v	v		v		
⑦의 기술					v	v		v		
⑧의 기술					v			v		

\* 각 해당란에 v 표시

### 7. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	양배추 검은썩음병균 race 4 동정용 분자마커는 국내 배추과 작물 재배지역의 검은썩음병균 race 판별에 활용할 계획임
②의 기술	뿌리혹병 균주 특이적 마커는 국내 배추과 작물 재배지역의 뿌리혹병 균주 판별에 활용할 계획임
③의 기술	논문 발표를 통해 정보를 공유하며, 양배추 유용성분 연관 후속 연구 시 기반 자료로 활용
④의 기술	
⑤의 기술	특허 출원 또는 등록이 된 마커로서 실용화재단 등 연관 기업 기술이전을 통해 조기 선발, 선발효율증진, 정밀 육종기반의 양배추 신품종개발에 직접 활용 계획
⑥의 기술	국내 연구자들에게 전수하여 활용하도록 함
⑦의 기술	국내 연구자들에게 전수하여 활용하도록 함
⑧의 기술	국내 연구자들에게 전수하여 활용하도록 함

### 8. 연구종류 후 성과창출 계획: 없음

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내 매출액	중자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표			6	4	10	4	2		1					5
연구기간 내 달성실적			8	6	13*	1*	9		1					5
연구종료 후 성과창출 계획														

\*비SCI논문 목표 3편은 SCI 논문 3편으로 대체 달성

### 9. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함): 해당사항 없음



## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.