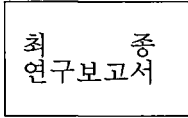


T002601d



GOVP1200819463

## 돌김 품종개량을 위한 유전자원 확보 및 분석

연구기관  
전남대학교

해양수산부

# 제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “돌김 품종개량을 위한 유전자원 확보 및 분석에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008 년 5 월 26 일

주관연구기관명 : 전남대학교

주관연구책임자 : 최 동 욱

세부연구책임자 : ○ ○ ○

연 구 원 : 김 의 철

연 구 원 : 문 현 덕

연 구 원 : ○ ○ ○

협동연구기관명 : ○ ○ ○

협동연구책임자 : ○ ○ ○

협동연구기관명 : ○ ○ ○

협동연구책임자 : ○ ○ ○

# 요 약 문

I. 제 목: 돌김 품종개량을 위한 유전자원 확보 및 분석

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 김은 식용으로뿐만 아니라 여러 가지 치료제, 산업용 원료를 생산하는 중요한 생물자원이며 유전자원임, 김은 미역과 함께 가장 많이 생산되는 해조류이며 대부분 양식을 통해 생산되고 있음
- 2009년부터는 신품종보호제도가 해조류를 포함한 전 작물로 확대될 예정임. 김은 일본으로부터 들여온 품종이 많으므로 향후 로열티의 대외지급 발생이 예상되며, 이를 극복하기 위해서는 국내 고유의 해조류 신품종 개발이 요구됨.
- 분자육종 방법을 이용한 김 신품종 개발을 위한 첫 단계는 형질전환 시스템 구축과 함께 유용 유전자의 확보임. 그러나 우리나라에서 김 유전자원에 관한 연구는 거의 없는 실정임. 따라서 본 과제는 EST를 기반으로 김 유전자원을 확보하고, 이를 통해 유용 유전자를 선별하고자 함

## III. 연구개발 내용 및 범위

- 김 유전자원 확보 및 분석을 위해 우리나라에서 독자적으로 개발되어 많이 양식되고 있는 돌김인 “잇바디돌김”의 cDNA library를 제작함
- 제작된 김 cDNA library로부터 총 2,000개 이상의 김 ESTs (expressed sequence tags)를 생산함
- 생산된 김 ESTs를 database화 하고 ESTs 분석을 통해 유용 유전자들을 선별함

#### IV. 연구개발 결과

- 김 cDNA library를 제작
  - 잇바디돌김 cDNA library를 제작함;
    - 잇바디돌김 엽상체로부터 cDNA library 제작함
    - 벡터는 lambda plex 사용함
- 김 ESTs 생성 및 분석
  - 잇바디 돌김 cDNA library를 이용하여 2,016개의 clone 염기서열 결정
  - 생성된 ESTs clustering을 통해 unique 김 cDNA들을 선별하고, blast 프로그램을 이용하여 각 cDNA의 기능을 분석함

#### V. 연구개발 결과의 활용계획

- 생산된 ESTs 분석을 통해 저온이나 고온 생장 등에 관련된 유전자들을 선별함
- 기타 유용 유전자들을 선별하고 기능 연구를 수행함 또 국내 관련 연구자들에게 정보를 공개하고 유전자를 제공함

## SUMMARY

### (영문 요약문)

*Porphyra* is one of the major economic marine red alga used as sources of food. Recently *Porphyra* has been recognized as a useful model plant for fundamental and applied studies in marine sciences. Although more than one hundred species of *Porphyra* have been reported from all over the world, only several species including *P. yezoensis*, and *P. tenera* have been cultivated in aquaculture industries of Japan and Korea. In Korea, other two *Porphyra* species, *P. seriata* and *P. dentate* have been cultivated. To create a *Porphyra* gene resource, we are generating ESTs from several *Porphyra* species. At the first step, 1,437 ESTs were generated from *P. seriata*. Among the ESTs, 598 were singleton and remaining 839 ESTs grouped into 216 contigs. A total of 814 unique cDNAs were generated, database search of 814 unique cDNA by program blastX shows that only 16.8% of cDNA have similarity to known gene in nr database. This ESTs will be used as gene resource to select the genes involved in biotic or abiotic stress tolerance or biosynthesis of secondary metabolites.

## CONTENTS

Preface

Summary (in Korean)

Summary

Contents

Contents (in Korean)

Chapter 1. Scope of the study

Chapter 2, Current status of technique development

Chapter 3. Research contents and results

1) construction of the cDNA library from *P. seriata*

2) *P. seriata* ESTs generation

3) Analysis of *P. seriata* ESTs

Chapter 4. Achievement and contribution to related fields

Chapter 5. Application plans of the results

Chapter 6. References

## 목 차

제출문

요약문

Summary

Contents

목차

제 1 장 연구개발과제의 개요

- 1) 기술적 측면
- 2) 경제 산업적 측면
- 3) 사회 문화적 측면

제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

- 1) 돌김 cDNA library 제작
- 2) 돌김 ESTs 생성
- 3) 돌김 ESTs의 분석

제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 6 장 참고문헌

별 첨 자체평가의견서

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 1) 기술적 측면

- 김은 식용으로뿐만 아니라 여러 가지 치료제, 산업용 원료를 생산하는 중요한 생물자원이며 유전자원임
- 양식에 이용되는 김은 일반김과 돌김으로 구분되며, 일반김에는 참김과 방사무늬김이 포함되고 돌김에는 잇바디돌김과 모무늬돌김이 포함됨. 일본에서는 주로 일반김만이 그리고 우리나라에서는 일반김과 함께 돌김이 양식 대상종으로 개발되어 재배되고 있음.
- 양식에 사용되는 돌김 중 잇바디돌김은 부드럽고 성장이 빠르나 질병에 약해 양식 시 많은 문제점이 있으며, 모무늬돌김은 질병에는 강하나 성장속도가 느림
- 새로운 품종 개발을 위한 방법으로 최근에는 유전자 도입에 의한 분자육종 방법이 많이 사용되고 있음. 분자육종기술을 이용한 신품종 개발을 위해서는 유전자 도입 기술과 함께 유용 유전자의 확보가 중요함
- 김 ESTs의 생산은 여러 가지 내병성 및 속성장 김 품종 개발을 위한 유전자원 뿐만 아니라 생물 산업용 소재로 사용가능한 다양한 물질 생산에 관련된 유전자 정보를 제공할 것임
- 유전자 발굴 방법은 여러 가지 방법이 사용되고 있으나, ESTs는 가장 경제적이고 빠르게 원하는 생물체의 유전자원을 확보하고 분석할 수 있는 방법임. 특히 김과 같이 유전학적 연구가 미비한 해조류의 유전자원 확보를 위한 방법으로는 ESTs가 가장 적합함
- 내병성, 고온이나 건조와 같은 환경 저항성, 유용 이차대사물 생합성 관련 유전자원 선별을 위해서는 다양한 품종 및 조직으로부터 cDNA library를 구축하고 이로부터 대량의 ESTs 생성이 필요함. ESTs 분석을 통해 선별된 유전자는 그 기능 확인과 함께 특허화 하여 보호될 수 있음. 현대 생물산업에서 유용 유전자 확보는 가장 핵



심적임.

- 확보된 ESTs는 고전적 육종 방법을 이용한 품종 개량에서도 자손의 형질 예측에 필요한 DNA marker 개발을 위해 사용될 수 있을 것임. 또 전체 genome 서열을 결정하고 분석할 경우, genome내 유전자의 예측을 위해서도 필수적이고 기초적인 정보를 제공할 것임

## 2) 경제·산업적 측면

- 김은 미역과 함께 가장 많이 생산되는 해조류이며 대부분 양식을 통해 생산되고 있음.
- 고흥, 장흥, 완도, 진도, 해남, 신안, 무안 등 전라남도의 해안지역에서 김 양식은 지역 경제의 주요 산업중 하나임
- 전남지역에서 양식되고 있는 김은 참김, 방사무늬김과 같은 일반김 뿐 아니라 잇바디돌김, 모무늬돌김과 같은 돌김도 포함되어 있는데, 일본에서 주로 생산되는 방사무늬김과는 달리, 돌김 양식은 우리나라에서 개발되어 양식되고 있음
- 잇바디돌김은 성장 속도가 빠르고 맛이 좋아 소비자들이 선호하지만 11월부터 생산되어 12월 중순이면 대부분의 업체가 탈락되어 채취 기간이 너무 짧고 병에 약한 단점을 가지고 있음
- 반면에 모무늬돌김은 병저항성이 높고 3월 말까지 채취가 가능하나 성장 속도가 느려 생산량이 낮은 단점을 가지고 있음
- 위와 같은 이유로 양식되고 있는 김의 새로운 품종을 개발하려는 연구가 꾸준히 진행되고 있음
- 2009년부터는 신품종보호제도가 해조류를 포함한 전 작물로 확대될 예정임. 현재 양식에 사용되고 있는 김은 일본으로부터 들여온 품종이 많으므로 향후 로열티의 대외지급 발생이 예상되며, 이를 극복하기 위해서는 국내 고유의 해조류 신품종 개발이 요구됨.

### 3) 사회·문화적 측면(공공성 포함)

- 우리나라는 해조류를 식용 및 다양한 용도로 사용하는 대표적인 국가로 해조류 양식은 남해안의 많은 인구의 주된 산업으로 자리 잡고 있으나, 양식에 사용되는 많은 종묘가 외국으로부터 들여온 것임.
- 돌김 양식은 우리나라에서 개발된 것으로, 이 분야에서는 세계적인 경쟁력을 가지고 있음.
- 해조류는 식용 및 다양한 생물산업 재료로 뿐만 아니라 산소를 공급하고 CO2 감축 하는 등 현재 인류가 직면해 있는 온난화와 같은 환경 문제 해결을 위한 재료로도 많은 관심을 가지고 있음.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보

- 해조류 유전자원 분석 및 확보에 관한 연구는 일본을 중심으로 여러국가에서 수행되고 있음. 일본은 우리나라와 비슷하게 가장 많이 해조류는 양식하고 또 산업용 재료로뿐만 아니라 식용으로 사용하는 국가로, 2000년 초에 김으로부터 약 20,000개의 ESTs를 생산하였으며, 단세포 홍조류인 *Cyanidilschyzon merolae*의 전체 genome 서열을 분석하였으며, 최근 김의 전체 genome 분석을 검토하고 있는 것으로 알려지고 있음
- 아래 그림 1은 2008년 3월 NCBI에 등록된 생물체별 생성 EST 정보를 요약한 것으로 총 3000만개 이상의 EST가 등록되어 있음. 이중 해조류의 결의 홍조류가 약 40,000개 갈조류가 약 5,600개 그리고 녹조류가 약 225,000개가 등록되어 있음. 녹조류의 경우도 단세포 조류인 *chlamydomonas*의 약 180,000개를 제외하면 약 42,000개 정도임. 이러한 정보는 해조류가 다양하고 중요한 생물자원이고 유전자원임에도 불구하고 유전자 발굴에 관한 연구는 매우 미약함을 의미함
- 일본 연구팀은 주로 김을 중심으로 홍조류를 대상으로 유전체 연구를 수행하고 있으며, 최근 프랑스 및 말레시아 연구팀들이 산업용 재료로 사용되는 해조류 및 갈조류 유용자원 확보에 관한 연구를 수행하고 있음
- 미국과 중국 그리고 캐나다등도 해조류 ESTs 분석 등의 방법을 사용한 해조류 유전체 연구 및 유용자원 확보를 위한 연구를 시도하고 있음
- 국내 소수 연구자들에 의해 김 및 감태의 유전자원 발굴에 관한 연구가 시도된바 있음. 부경대학교 (해양수산대)의 연구팀이 김으로부터 소수의 ESTs를 생산한 바 있음
- 해조류의 다양한 유전자원 정보에 비해 아직 해조류로부터 유전자원을 발굴하고자하는 연구는 이제 시작단계에 있음
- 육상생물의 경우 다양한 식물 및 동물등 자원으로부터 유전자원을 확보하고 관리되고 있음. 이러한 연구는 정부 지원하에 다양한 생물 자원을 대상으로 각각 유전자소재은행이 지정되어 유전자원이 발굴되고 관리되고 있음.

- 해조류는 식용뿐만 아니라 다양한 생물산업 재료로 사용되고 있으며, 그 종류 및 표현형이 매우 다양한 중요한 유전자원임. 또 현재 지구가 직면해 있는 온난화 문제의 주 원인인 중 하나인 CO2 감축을 위한 좋은 재료로 제시되고 있음.
- 다가오는 생물산업 시대에서 가장 중요한 것은 유전자원이며, 따라서 해조류 유전자원에 관한 관심 및 연구를 점차 증대되고 확대될 것임.



dbEST: database of  
"Expressed Sequence Tags"

dbEST release 031408

Summary by Organism - March 14, 2008

Number of public entries: 50,622,371

<i>Homo sapiens</i> (human)	8,136,592
<i>Mus musculus</i> + <i>domesticus</i> (mouse)	4,850,245
<i>Arabidopsis thaliana</i> (thale cress)	1,526,133
<i>Bos taurus</i> (cattle)	1,517,053
<i>Sus scrofa</i> (pig)	1,475,889
<i>Zea mays</i> (maize)	1,462,607
<i>Danio rerio</i> (zebrafish)	1,379,829
<i>Xenopus tropicalis</i> (western clawed frog)	1,271,375
<i>Oryza sativa</i> (rice)	1,220,261
<i>Triticum aestivum</i> (wheat)	1,051,279
<i>Rattus norvegicus</i> + sp. (rat)	895,884
<i>Clona intestinalis</i>	686,396
<i>Xenopus laevis</i> (African clawed frog)	677,784
<i>Gallus gallus</i> (chicken)	599,383
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	571,259
<i>Brassica napus</i> (oilseed rape)	567,177
<i>Hordeum vulgare</i> + subsp. <i>vulgare</i> (barley)	478,682
<i>Salmo salar</i> (Atlantic salmon)	433,119
<i>Glycine max</i> (soybean)	394,370
<i>Canis familiaris</i> (dog)	365,909
<i>Vitis vinifera</i> (wine grape)	352,984
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode)	346,107
<i>Oryzias latipes</i> (Japanese medaka)	343,846
<i>Branchiostoma floridae</i> (Florida lancelet)	334,502
<i>Pinus taeda</i> (loblolly pine)	328,628
<i>Physcomitrella patens</i> subsp. <i>patens</i>	305,606
<i>Aedes aegypti</i> (yellow fever mosquito)	298,060
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (three spined stickleback)	276,992
<i>Picea glauca</i> (white spruce)	272,464
<i>Gossypium hirsutum</i> (upland cotton)	265,815
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (rainbow trout)	260,887
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	257,641
<i>Malus x domestica</i> (apple tree)	255,544
<i>Lottia gigantea</i>	252,091
<i>Pimephales promelas</i>	249,941
<i>Medicago truncatula</i> (barrel medic)	249,450
<i>Saccharum officinarum</i> (sugarcane)	246,301

그림 1. NCBI에 등록된 생물종별 ESTs 현황

### 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

#### 1) 김 cDNA library 제작

- 유전자 발굴 방법은 여러 가지 방법이 사용되고 있으나, ESTs(Expressed Sequence Tags)는 가장 경제적이고 빠르게 원하는 생물체의 유전자원을 확보하고 분석할 수 있는 방법임. 특히 김과 같이 유전학적 연구가 미비한 해조류의 유전자원 확보를 위한 방법으로는 ESTs가 가장 적합함.
- ESTs 생성을 위해 우리나라에서 양식 품종으로 사용하고 있는 모무늬돌김 (*Phopyra seriata*)의 엽상체로부터 cDNA library 제작함. cDNA 합성을 Smart cDNA synthesis kit(Clontec)을 사용하였으며, 합성된 cDNA는 Gel filtration을 이용하여 0.5kb 이하의 cDNA는 제거 하였음.
- 제작된 김 cDNA library의 정보는 다음 페이지에 정리되었다.
- 합성된 cDNA는 lambda Triplex2벡터에 ligation한 후 packaging extract (Gigapack Gold III)를 사용하여 packaging 하였음. 이렇게 제작된 cDNA library는 1ug의 벡터 DNA당  $7 \times 10^5$  puf의 titer를 보임.

#### 2) 돌김 ESTs 생성

- ESTs 생성의 전체적인 과정은 그림3에 간단히 정리하였다.
- 제작된 모무늬돌김 cDNA library를 이용하여 EST를 생성함. 이를 위해 lambda phage는 BM25.8 bacteria에서 phagemid pTtiplex로 전환하고, X-gal이 첨가된 선별배지에서 white colony만을 선별함. picking 된 bacteria들은 96 well plate에서 배양하였으며, 동일한 bacteria plate가 추후 colony 분양 및 관리를 목적으로 bacteria master plate로 보관함.

- 선별된 colony로부터 plasmid DNA를 96 well plasmid prep kit를 사용하여 추출하여 DNA 염기 서열 결정을 위한 시료로 사용하였음.
- DNA 염기서열 결정은 Sanger등의 방법으로 5'-end에서 한쪽 방향으로만 결정하였으며, sequencing 반응 산물은 ABI3734를 이용하여 분리하였다.
- library로부터 cDNA의 정제 및 염기서열 결정은 2번에 걸쳐 수행하였음. 1차에서 총 1056개의 clone이 그리고 2차에서 약 1200개의 cDNA clone으로부터 plasmid DNA를 추출하여 염기서열을 결정함

## Green Laver (*Porphyra seriata*) cDNA Library.

### Source of RNA :

- Plant : Green Laver (*Porphyra seriata*)
- Type of tissue : Total plant supplied by Dr. Hwang at NFRDI
- Total RNA purification : RNeasy plant Mini Kit (QIAGEN)
- Poly (A)<sup>+</sup> purification method : Poly ATtract mRNA isolation System (Promega)
- cDNA synthesis method : SMART cDNA Library Construction Kit (Clontech)

### Name of vector : $\lambda$ TriplEx2 vector (Clontech)

- $\lambda$ TriplEx2 vector allows *in vivo* excision

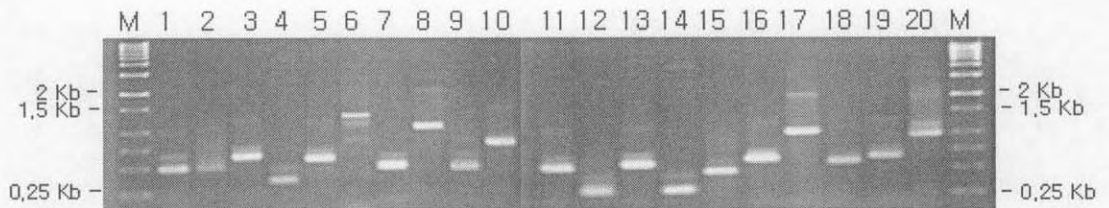
### Description of Inserts :

- cDNAs were directionally cloned with *Sfi* I A on the 5' and *Sfi* I B on the 3' end
- cDNAs larger than 0.5 kb were selected by size fractionation via gel filtration

### Primary Lambda phage Library :

- Vector ligation : 100ng of cDNA and 500ng of  $\lambda$ TriplEx2 vector
- Packaging : Gigapack III Gold Packaging Extract (Stratagene)
- Lambda ZAP yield :  $3.5 \times 10^5$  pfu /  $0.5\mu\text{g}$  of vector DNA (  $7 \times 10^5$  pfu / ml )
- Non-recombinant percent : 0 from 20 randomly chosen plaques  
Blue / White Screen : 50 / 3392 (1.45%)
- Insert size distribution : 0.3 ~ 1.3 kb





**Figure 2** . Insert size determination. Twenty plaques are randomly picked and insert DNA are PCR amplified with T7 and pTriplEx2 primer. PCR products were electrophoresed on a 1% TBE agarose gel. Lane M : 1kb plus DNA ladder (Stratagene), lane 1-20 : PCR products

- 지금까지 총 2016개 이상의 clone으로부터 plasmid DNA가 분리되고 염기서열이 결정되어 본 과제에서 목표로하는 2000개의 EST 생산 목표를 달성하였음. (표 1)
- 아래 표1은 지금까지의 돌김 EST 생성 과정을 보여준다. base calling 시 phred scor는 20 이상을 사용하였으며, vector trimming 후 100 bp 이하의 cDNA는 제거하였다. 총 2,016개의 cDNA가 sequence되었으며, 1437개의 high quality EST가 확보되었다.
- 그림 3은 돌김 EST 생산 과정을 간략히 flow chart로 나타낸 것이다.

	Range	Base Calling	Vector Trimming	Contam Screening	Repeat Masking
		Phred No.	Crossmatch No.	SeqClean No.	RepeatMasker No.
Success (Quality 20 & Seq Length 100bp Over (Vector Trimming))	>800	335	277	24	24
	700~800	613	614	109	109
	600~700	232	259	131	131
	500~600	107	105	133	133
	400~500	111	110	188	188
	300~400	100	105	258	258
	200~300	64	63	329	329
	100~200	60	61	265	265
subtotal		1622	1594	1437	1437
Fail	<100	94	108	0	0
	0	300	314	579	579
subtotal		394	422	579	579
total		2016	2016	2016	2016

표1. 돌김 EST 생성

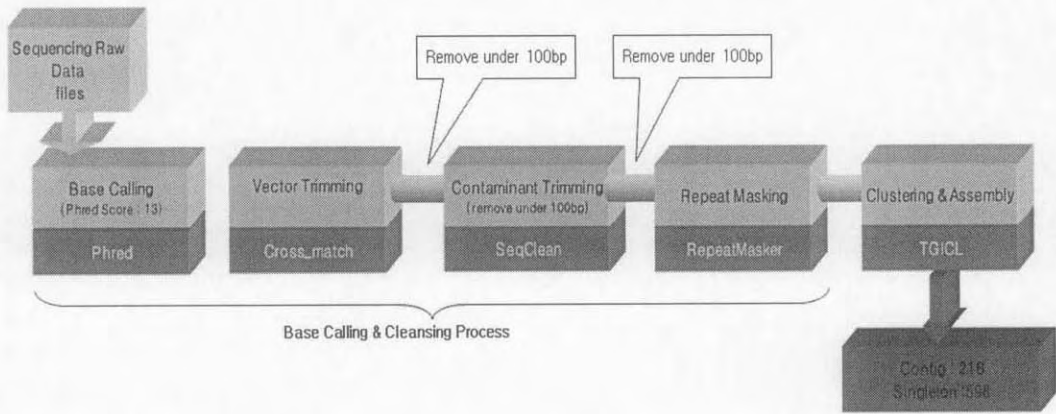


그림 3. 김 ESTs 생성을 과정

### 3) 돌김 ESTs 분석

- 생성된 김 ESTs의 clustering 결과 총 623개의 EST가 216개의 contig를 형성하였으며, 나머지 598개의 ESTs는 singleton으로 존재하였다. 이러한 결과는 지금까지 생성된 1,437개의 ESTs는 약 814개의 unique cDNA로부터 생성되었음을 의미 한다 (표 2)
- 위 표 3는 623개의 ESTs에 의해 구성된 각 contig의 구성을 보여준다. contig 1은 102개의 sister로 구성되어 가장 abundant한 형태로 존재하였으며 두 번째로 많은 유전자 (22개의 sister로 구성)와도 큰 차이를 보였다. 나머지는 모두 20개 이하의 sister로 구성되어있고 대부분 (123개)이 2개의 sister로 구성되어 있음을 보여준다.
- Highly abundant한 유전자는 unknown 유전자로 판단되며, sister의 구성은 그림 4와 같이 나타나 이 유전자는 특정 clone의 오염에 의해 생성된 것으로 보이지는 않는다.

High quality ESTs	Contig	singletone	unique	Unique (%)
1,437	216	598	814	56.6

표 2. 김 ESTs의 clustering 분석

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
No. Sister	102	22	19	16	14	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
No. contig	1	1	1	2	1	2	3	4	1	5	5	9	23	35	123

표 3. contig의 구성

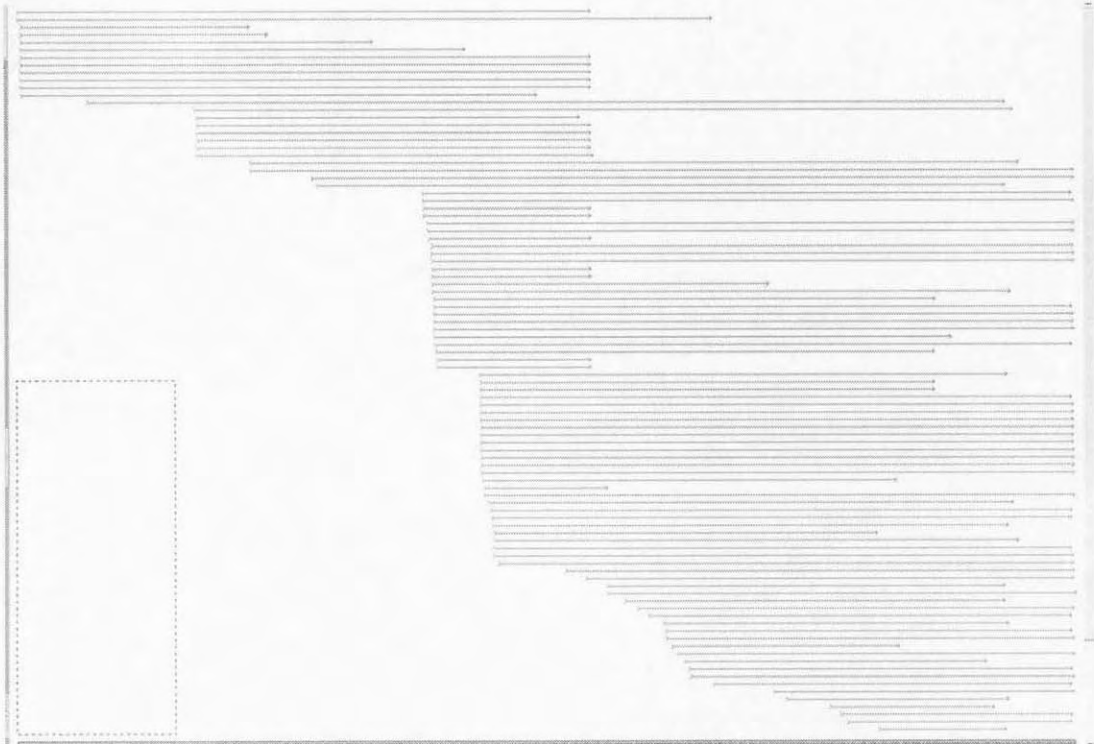


그림 4. contig1의 sister 구성

- Unique ESTs를 대상으로 tblastX를 이용하여 보고된 유전자와 돌김 각 cDNA의 유사도를 조사한 결과 87%의 돌김 cDNA는 지금까지 보고된 어떤 유전자와도 유사하지 않았다 (그림 5). 이러한 결과는 생성된 대부분의 유전자가 새로운 유전자임을 의미한다.
- 또 대부분의 유전자가 unknown으로 분류되는 이유는 표 1에서 보여준 바와 같이 지금까지 김 유전자원 정보가 너무 없기 때문일 수 있다. 또는 김 유전자의 염기서열 또는 아미노산 서열이 지금까지 많은 연구가 진행된 생물체의 그것과는 많은 차이가 있기 때문으로 추측할 수도 있다. 따라서 해조류에서 김의 중요성을 감안하여 이분야에 대한 보다 많은 연구와 투자가 요구된다. 또 한편으로는 genbank에 등록된 많은 유전자들과 김의 유전자 서열의 유사도가 낮기 때문일 수 있을 것으로 사료된다.
- 생산된 ESTs의 생리적 기능을 분석하기 위해 ESTs를 nr database를 대상으로 tblastX 프로그램을 이용하여 분석하고 상위 ranking의 contig의 가상적 생리적 기능을 아래 표5에 정리하였다.
- 표5는 가장 많은 sister로 구성된 contig 1과 유사한 유전자가 없는 unknown 유전자로 앞으로 이들의 생리적 기능의 연구는 김 유전자 특성 및 생리적 기능의 이해에 기초적 정보를 제공할 것으로 기대된다.
- tblastX 결과 지금까지 알려진 유전자로부터 유도된 아미노산과 유사성을 보이는(E-value, 1.0E-10 이하) ESTs들은 아래 표 6에 정리하였다.
- 김 양식에 있어서 당면한 과제중 하나는 병저항성의 증가와 함께 온난화에 의한 수온상승에 적응력이 있는 품종의 개발이다. program



tblastX를 이용하여 얻어진 결과를 대상으로 key word searching 결과 heat stress 저항에 관여하는 heat shock protein 유전자 및 병저항성과 관련된 유전자들을 볼 수 있었다.

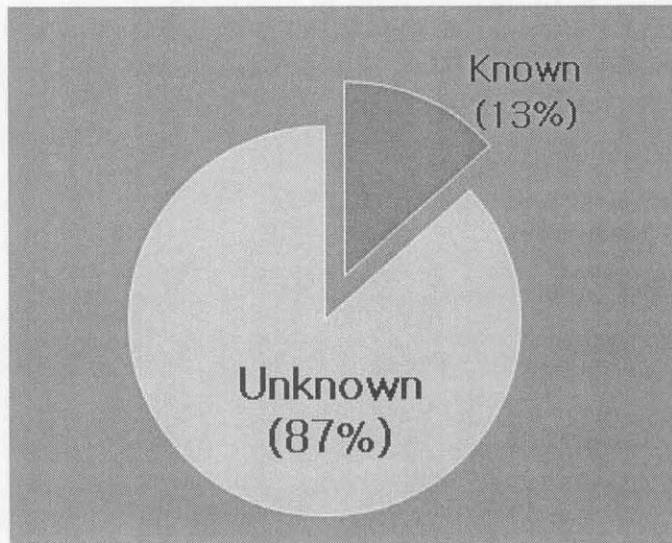


그림 5. 김 ESTs의 분석. 표2의 479개의 unique cDNA를 program blastX를 이용하여 database에 등록된 유전자와의 유사도를 조하함. known은 score value가 40이상으로 정의함

Contig	Read No.	Contig length	tBlastX	
			subject ID	annotation
Contig1(6)	102	1474	Unknown	Unknown
Contig2(22)	22	1079	AV429393	Porphyraezoensis TU-1 EST
Contig3(28)	19	857	AV431769	Porphyraezoensis TU-1 EST
Contig4(9)	16	790	Unknown	Unknown
Contig5(25)	16	689	Unknown	Unknown
Contig6(29)	14	681	EST00533	Porphyraezoensis TU-1 EST
Contig7(34)	11	726	py613 PY	Porphyraezoensis TU-1 EST
Contig8(35)	11	713	Unknown	Unknown
Contig9(12)	10	571	Unknown	Unknown
Contig10(30)	10	347	Unknown	Unknown
Contig11(36)	10	624	Unknown	Unknown
Contig12	9	841	AF517880.1	Griffithsia japonica photosystemII 12kD extrinsic protein mRNA
Contig13	9	743	unknown	unknown
Contig14	9	528	unknown	unknown
Contig15	9	665	AB016473.1	Porphyra seriata small subunit rRNA gene
Contig16	8	311	BT019174.1	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
Contig17	7	318	unknown	unknown
Contig18	7	858	DQ662228.1	Porphyra haitanensis isolate Gulei 18S ribosomal RNA gene
Contig19	7	245	unknown	unknown
Contig20	7	464	unknown	unknown

표5. contig 1-20까지 각 contig를 구성하는 sister의 수 및 예상되는 기능

Query ID	E-value	Annotation
Contig001	1.00E-43	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig002	1.00E-46	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig003	1.00E-52	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig004	5.00E-38	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig005	5.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed leaves
Contig007	6.00E-49	GSU012759 Galdieria sulphuraria mRNA for light-harvesting protein
Contig008	1.00E-39	Populus EST from severe drought-stressed leaves
Contig009	2.00E-21	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig011	3.00E-43	Porphyra seriata small subunit rRNA gene, partial sequence
Contig013	1.00E-27	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig014	2.00E-30	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig015	2.00E-27	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig016	1.00E-36	Populus EST from severe drought-stressed leaves
Contig017	2.00E-35	Populus EST from severe drought-stressed leaves
Contig018	2.00E-11	Populus EST from leave
Contig019	3.00E-26	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig022	2.00E-32	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig024	6.00E-26	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig065	3.00E-33	Porphyra purpurea cysteine synthase (CS) mRNA, complete cds
Contig071	1.00E-40	EHU07787 Epipactis helleborine mannose binding lectin mRNA, complete cds
Contig072	1.00E-42	Porphyra yezoensis mRNA for vacuolar-ATPase c subunit, complete cds
Contig086	7.00E-25	Oryza sativa (indica cultivar-group) cDNA clone:OSIGCPI021K08, fullinsert sequence
Contig135	5.00E-24	GSU012759 Galdieria sulphuraria mRNA for light-harvesting protein
Contig143	1.00E-13	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 4, complete genome, complete sequence
Contig183	1.00E-14	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 17, complete genome, complete sequence
Contig190	1.00E-41	Bangia atropurpurea large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Contig025	1.00E-25	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
Contig027	1.00E-30	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig041	3.00E-45	Hordeum vulgare subsp. vulgare cDNA clone: FLbaf89o03, mRNA sequence
Contig049	4.00E-28	Griffithsia japonica isolate Gj411 light-harvest protein mRNA, partial cds
Contig058	0.00E+00	Porphyra sp. DN002 genes for SSU rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ,
Contig076	7.00E-11	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig088	1.00E-150	Porphyra sp. LLG037 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Contig132	1.00E-87	Porphyra purpurea adenosine 5'-phosphosulfate kinase (APSK) mRNA, complete cds
Contig184	1.00E-13	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 13, complete genome, complete sequence
Contig066	6.00E-11	Monosiga brevicollis clone JGIACYI-73A7, complete sequence
Contig074	9.00E-21	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 11, complete genome, complete sequence
Contig096	4.00E-35	Picea sitchensis clone WS02737_P02 unknown mRNA
Contig117	2.00E-20	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 20, complete genome,

		completesequene
Contig188	3.00E-36	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig196	1.00E-35	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 17, complete genome, completesequene
Contig216	4.00E-21	Sphaerius sp. APV-2005 partial mRNA for ribosomal protein L22e(rpl22e gene)
Contig028	5.00E-22	Pseudoalteromonas atlantica T6c, complete genome
Contig047	4.00E-14	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L38(LOC681502), mRNA
Contig078	4.00E-27	Hordeum vulgare subsp. vulgare cDNA clone: FLbaf78I08, mRNAsequence
Contig094	3.00E-48	Hordeum vulgare subsp. vulgare cDNA clone: FLbaf85e22, mRNAsequence
Contig101	6.00E-20	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 12, complete genome, completesequene
Contig139	1.00E-13	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig147	5.00E-21	Porphyra haitanensis clone PH-19 microsatellite sequence
Contig154	8.00E-17	Hyaloperonospora parasitica isolate Maks9 PPAT5 (Ppat5) gene,complete cds
Contig173	1.00E-19	Debaryomyces hanseni CBS767 hypothetical protein (DEHA0B13970g)partial mRNA
Contig179	2.00E-78	Chimonanthus praecox S-adenosyl-L-methionine:salicylic acidcarboxyl methyltransferase (SAMT) mRNA,
Contig189	8.00E-12	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig195	2.00E-36	Ustilago maydis 521 hypothetical protein (UM02684.1) partial mRNA
Contig053	1.00E-21	Arabidopsis thaliana UBQ6 (ubiquitin 6); protein binding (UBQ6)mRNA, complete cds
Contig056	4.00E-73	Hemiselmis anderseni rps23 (HAN_2g282) mRNA, complete cds
Contig069	1.00E-25	AF069318 Mesembryanthemum crystallinum geranylgeranyl hydrogenase mRNA,
Contig095	1.00E-75	Ostreococcus lucimarinus CCE9901 Ribosomal protein L27aB,
Contig170	5.00E-31	AGAP007643-PB (AgaP_AGAP007643) mRNA, complete cds
Contig034	1.00E-15	Porphyra haitanensis isolate Gulei 18S ribosomal RNA gene, gene, partial sequence
Contig048	2.00E-16	Porphyra yezoensis calmodulin mRNA, complete cds
Contig052	1.00E-66	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 16, complete genome, completesequene
Contig055	3.00E-84	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 13, complete genome, completesequene
Contig061	2.00E-43	Argopecten irradians cyclophilin A mRNA, complete cds
Contig102	1.00E-77	Francisella tularensis subsp. holarctica FTA, complete genome
Contig134	5.00E-46	Porphyra yezoensis cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPC) mRNA,
Contig162	1.00E-145	Porphyra yezoensis 6-phosphogluconate dehydrogenase (gnd) mRNA,partial cds
Contig186	1.00E-51	Griffithsia japonica isolate GJ513 light-harvest protein mRNA,complete cds
Contig031	4.00E-33	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
Contig032	2.00E-19	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
Contig043	5.00E-30	Griffithsia japonica isolate GJ536 photosystem II 12kD extrinsicprotein mRNA, complete cds
Contig050	4.00E-14	Danio rerio zqc:66282 (zqc:66282), mRNAqb
Contig063	2.00E-29	Populus EST from mild drought-stressed leaves
Contig075	2.00E-25	Tetraselmis chui high affinity phosphate transporter (Pho) mRNA,complete cds
Contig089	2.00E-15	Tuber borchii putative mitochondrial fission protein Tbfis1p

		gene,complete cds
Contig111	3.00E-50	CNS019IQ Botrytis cinerea strain T4 cDNA library
Contig131	2.00E-52	Porphyra yezoensis dbEST AV432933chloroplast fructose-1,6-bisphosphatase (FBP)
PS01-3-2a_G06	3.00E-37	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-2a_E16	7.00E-54	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-2a_C20	3.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-2a_A20	5.00E-17	Griffithsia japonica vacuolar proton ATPase 100 kDa subunit mRNA,partial cds
PS01-3-2a_A18	3.00E-65	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 12, complete genome, complete sequence
PS01-3-2a_A02	8.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-1a_O23	4.00E-58	SLMACT5 P.polycephalum actin (Ppa5) mRNA, complete cds
PS01-3-1a_O11	7.00E-47	Vibrio cholerae O395 chromosome 2, complete genome
PS01-3-1a_O07	1.00E-31	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-3-1a_M21	1.00E-14	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-1a_M15	4.00E-12	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-1a_M07	4.00E-15	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-1a_K21	2.00E-56	Porphyra yezoensis mRNA for putative ascorbate peroxidase, complete cds
PS01-3-1a_I13	2.00E-94	Porphyra sp. DN002 gene for SSU rRNA, ITS1, partial sequence, isolate: sample #69
PS01-3-1a_G19	4.00E-21	Nasonia vitripennis , ubiquitin activating enzyme 1-like protein (LOC100116289),
PS01-3-1a_G09	5.00E-14	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-1a_E17	3.00E-33	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-1a_E03	8.00E-17	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-3-1a_E01	2.00E-36	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
PS01-3-1a_C21	3.00E-11	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-1a_C19	1.00E-109	Porphyra sp. LLG037 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
PS01-3-1a_C13	6.00E-18	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-1a_C09	3.00E-40	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-1a_C07	8.00E-31	Coccidioides immitis RS 78 kDa glucose-regulated protein homolog precursor
PS01-3-1a_A19	2.00E-37	Picea sitchensis clone WS02729_K09 unknown mRNA
PS01-2-4a_N12	1.00E-41	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-4a_N08	3.00E-15	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-4a_N02	3.00E-67	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 19, complete genome, complete sequence
PS01-2-4a_J06	9.00E-19	Galdieria sulphuraria ascorbate peroxidase (Apx02) mRNA, complete cds
PS01-2-4a_H08	3.00E-47	Zea mays clone Contig482.F mRNA sequence
PS01-2-4a_H04	6.00E-15	Strongylocentrotus purpuratus similar to nonclathrin coat protein zeta1-COP (LOC579955)
PS01-2-4a_F16	1.00E-49	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-4a_D10	5.00E-28	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-2-4a_D06	3.00E-48	Zea mays PCO106969 mRNA sequence
PS01-2-4a_D04	6.00E-18	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
PS01-2-4a_B16	4.00E-35	Zea mays PCO155238 mRNA sequence
PS01-2-3a_P05	1.00E-109	Porphyra seriata small subunit rRNA gene, partial sequence
PS01-2-3a_L09	4.00E-37	Picea sitchensis clone WS02729_K09 unknown mRNA
PS01-2-3a_J23	1.00E-16	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-2-3a_J17	1.00E-35	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-3a_J07	4.00E-29	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood

PS01-2-3a_F13	8.00E-30	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 17, complete genome, complete sequence
PS01-2-3a F11	8.00E-32	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-3a D11	1.00E-98	Populus EST from leaf
PS01-2-3a B21	2.00E-22	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-2-3a B15	2.00E-28	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-3a_B07	5.00E-25	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 19, complete genome, complete sequence
PS01-2-2a M02	4.00E-36	Chlamydomonas reinhardtii strain CC-503 cw92 mt+
PS01-2-2a K14	2.00E-11	Zea mays PCO138774 mRNA sequence
PS01-2-2a_K06	2.00E-18	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 8, complete genome, complete sequence
PS01-2-2a G24	8.00E-52	Zea mays clone Contig482.F mRNA sequence
PS01-2-2a C22	1.00E-23	Griffithsia japonica ribosomal S29-like protein mRNA, complete cds
PS01-2-2a_C20	1.00E-13	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-2a A12	4.00E-62	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-2-1a M07	2.00E-11	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-2-1a_K17	1.00E-109	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 8, complete genome, complete sequence
PS01-2-1a_I17	1.00E-18	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 1, complete genome, complete sequence
PS01-2-1a I13	9.00E-21	Arabidopsis thaliana At5q58180 SNARE protein-like protein
PS01-2-1a_G23	8.00E-43	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-1a E15	2.00E-36	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-2-1a_A03	2.00E-36	Griffithsia japonica isolate Gj75 ubiquitin-conjugating enzyme mRNA, complete cds
PS01-1-4a J16	3.00E-49	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
PS01-1-4a J08	1.00E-14	Zea mays clone 20026 mRNA sequence
PS01-1-4a H22	1.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-1-4a H16	6.00E-15	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-4a H14	4.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-1-4a H04	2.00E-38	Ciona intestinalis cDNA, clone:cieg055o11, full insert sequence
PS01-1-4a D22	1.00E-39	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-4a_B12	1.00E-22	Galdieria sulphuraria myo-inositol dehydrogenase precursor, mRNA,
PS01-1-4a_P24	3.00E-84	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 13, complete genome, complete sequence
PS01-1-4a P10	2.00E-33	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-4a P06	5.00E-34	Oxyuranus scutellatus proteasome-like protein mRNA, partial cds
PS01-1-4a_N24	4.00E-76	Porphyra sp. DN002 gene for SSU rRNA, ITS1, partial sequence, isolate: sample #69
PS01-1-4a_N10	1.00E-17	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-4a_N06	1.00E-13	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-1-4a N02	1.00E-31	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-1-3a_P19	6.00E-11	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-3a P09	2.00E-21	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-3a J21	4.00E-46	Hemiselmis andersenii rps23 (HAN_2q282) mRNA, complete cds
PS01-1-3a_J17	5.00E-11	PREDICTED: Danio rerio hypothetical protein LOC100004407(LOC100004407), mRNA
PS01-1-3a H19	5.00E-23	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-1-3a H05	5.00E-54	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-3a_B19	1.00E-43	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 17, complete genome, complete sequence
PS01-1-3a_B07	6.00E-24	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-2a_I06	2.00E-13	Suberites domuncula S27 mRNA, complete cds

PS01-1-2a_G18	3.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-2a_G08	3.00E-23	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-1-2a_G04	6.00E-15	Picea sitchensis clone WS02716_F09 unknown mRNA
PS01-1-2a_E22	8.00E-24	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-1-2a_E04	2.00E-28	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
PS01-1-2a_C08	3.00E-15	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-2a_M14	3.00E-29	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-2a_K14	8.00E-30	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-1-1a_O15	6.00E-13	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-1-1a_I13	1.00E-47	Ophiophagus hannah ribosomal protein L35 mRNA, complete cds
PS01-1-1a_G23	1.00E-47	Ophiophagus hannah ribosomal protein L35 mRNA, complete cds
PS01-1-1a_G09	3.00E-43	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-1-1a_E01	5.00E-16	Arabidopsis thaliana mRNA for putative protein, partial cds, clone:RAFL22-69-A01
PS01-1-1a_A23	2.00E-65	Oryza sativa (indica cultivar-group) cDNA clone:OSIGCEA050G19, fullinsert sequence
PS01-3-2a_M22	2.00E-55	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-3-2a_O08	2.00E-36	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-3-2a_O24	2.00E-34	Yarrowia lipolytica chromosome B of strain CLIB122 of Yarrowia lipolytica
PS01-3-3a_B17	1.00E-13	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_D15	8.00E-21	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_D17	8.00E-31	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_D21	1.00E-61	Schistosoma japonicum SJCHGC05125 protein mRNA, partial cds
PS01-3-3a_F01	1.00E-39	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 12, complete genome, complete sequence
PS01-3-3a_F09	3.00E-30	CNS08CVL a full-length cDNA clone made from Anopheles gambiae total adult females.
PS01-3-3a_F11	1.00E-44	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_F19	4.00E-48	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_H19	2.00E-42	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_H21	4.00E-62	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-3a_L15	5.00E-28	Griffithsia japonica isolate Gj411 light-harvest protein mRNA, partial cds
PS01-3-3a_L19	2.00E-31	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-3a_N23	1.00E-42	Ostreococcus lucimarinus CCE9901 predicted protein (OSTLU_12468)mRNA, complete cds
PS01-3-3a_P07	2.00E-52	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-3-3a_P17	4.00E-41	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-4a_B16	7.00E-12	PREDICTED: Danio rerio similar to centrin (LOC795513), partial mRNA
PS01-3-4a_B20	2.00E-22	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-4a_D10	4.00E-14	Porphyra sp. DN002 gene for SSU rRNA, partial sequence, isolate:sample #74
PS01-3-4a_D20	6.00E-67	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 14, complete genome, complete sequence
PS01-3-4a_F06	1.00E-22	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 16, complete genome, complete sequence
PS01-3-4a_J16	1.00E-29	Zea mays clone Contig844.F mRNA sequence
PS01-3-4a_L14	6.00E-43	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-3-4a_N02	3.00E-20	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-3-4a_P08	2.00E-20	Porphyra haitanensis gene for small subunit ribosomal RNA, country:Japan: Ehime, Yuge
PS01-3-4a_P12	4.00E-31	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-3-4a_P22	6.00E-11	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-1a_A07	2.00E-27	Populus EST from mild drought-stressed leaves



PS01-4-1a_A21	2.00E-76	DYGORAB1 Discopyge ommata GTP-binding protein (o-rab1) mRNA, complete cds
PS01-4-1a_A23	2.00E-31	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-1a_E03	8.00E-36	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-1a_E17	4.00E-20	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-1a_E19	9.00E-11	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-4-1a_G17	2.00E-32	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-1a_I05	1.00E-15	Neosartorya fischeri NRRL 181 sodium/calcium transporter,
PS01-4-1a_K19	2.00E-34	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-1a_K23	2.00E-53	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-1a_M01	5.00E-32	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-1a_M21	5.00E-28	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-2a_A04	3.00E-27	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-2a_A06	5.00E-35	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-2a_A08	3.00E-22	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-2a_A18	1.00E-16	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-2a_A22	4.00E-14	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-2a_C02	7.00E-21	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-2a_C06	2.00E-17	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-4-2a_E04	3.00E-18	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-2a_G04	4.00E-18	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-2a_G20	5.00E-39	Arabidopsis thaliana MMZ1; ubiquitin-proteinligase (MMZ1) mRNA, complete cds
PS01-4-2a_I14	4.00E-50	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-2a_M04	1.00E-30	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-4-2a_M18	1.00E-72	HBATPB H.brasiliensis mRNA for mitochondrial ATP synthase beta-subunit
PS01-4-2a_M24	8.00E-46	PREDICTED: Tribolium castaneum similar to CG10652-PA, isoform A(LOC659206), mRNA
PS01-4-3a_D07	2.00E-37	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-4-3a_F03	4.00E-31	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-3a_F09	1.00E-21	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-3a_F15	3.00E-41	Zea mays clone 6734 mRNA sequence
PS01-4-3a_H13	3.00E-42	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-3a_J01	6.00E-46	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-3a_N07	1.00E-19	Populus EST from leaf
PS01-4-3a_N09	2.00E-18	Porphyra yezoensis translation initiation factor mRNA, complete cds
PS01-4-3a_N23	3.00E-36	Populus EST from leaf
PS01-4-3a_P17	7.00E-11	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_B02	1.00E-37	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_B14	3.00E-58	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 4, complete genome, complete sequence
PS01-4-4a_B24	9.00E-37	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_D18	1.00E-25	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_H04	3.00E-12	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_H06	9.00E-21	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 8, complete genome, complete sequence
PS01-4-4a_H12	5.00E-18	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-4-4a_H14	7.00E-39	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_L22	1.00E-14	Platynereis dumerilii EST IB0AAA19AH12EM1
PS01-4-4a_N04	4.00E-35	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-4a_N08	2.00E-37	Picea sitchensis clone WS02729_K09 unknown mRNA
PS01-4-4a_N10	5.00E-43	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-4-4a_N20	8.00E-41	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-4-4a_P18	2.00E-21	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood

PS01-5-1a_A09	4.00E-13	Populus EST from leave
PS01-5-1a_C03	8.00E-83	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 5, complete genome, complete sequence
PS01-5-1a_C07	2.00E-52	Platynereis dumerilii EST IB0AAA20AF02EM1
PS01-5-1a_G21	4.00E-95	Hordeum vulgare subsp. vulgare cDNA clone: FLbaf16o16, mRNA sequence
PS01-5-1a_I01	2.00E-21	Picea sitchensis clone WS02737_P02 unknown mRNA
PS01-5-1a_I17	2.00E-13	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-5-1a_M05	2.00E-27	Symbiodinium sp. clade C3 unknown mRNA
PS01-5-1a_O01	6.00E-45	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-5-1a_O07	2.00E-46	Picea sitchensis clone WS0282_O11 unknown mRNA
PS01-5-1a_O09	2.00E-13	Zea mays clone Contig91.F mRNA sequence
PS01-5-1a_O21	6.00E-38	PPU08840 Porphyra purpurea serine protease-like protein mRNA, complete cds
PS01-5-2a_A16	2.00E-14	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-5-2a_A22	7.00E-22	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-5-2a_C04	1.00E-24	Bryum tenuisetum large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
PS01-5-2a_E18	6.00E-40	Nematostella vectensis predicted protein (NEMVEDRAFT_v1g172583) mRNA, complete cds
PS01-5-2a_I10	2.00E-62	Synechococcus elongatus PCC 6301 DNA, complete genome
PS01-5-2a_I18	2.00E-19	PREDICTED: Nasonia vitripennis similar to ribosomal protein S15(LOC100113507), mRNA
PS01-5-2a_K10	6.00E-25	Populus EST from leave
PS01-5-2a_M18	3.00E-17	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-5-2a_O22	4.00E-11	Cyanidioschyzon merolae DNA, chromosome 9, complete genome, complete sequence
PS01-5-3a_F05	2.00E-34	Porphyra yezoensis actin depolymerizing factor (adf) mRNA, complete cds
PS01-5-3a_H09	9.00E-35	Porphyra yezoensis beta-tubulin (TubB1) gene, complete cds
PS01-5-3a_L07	2.00E-50	Porphyra sp. DN002 gene for SSU rRNA, ITS1, partial sequence, isolate: sample #69
PS01-5-3a_L17	7.00E-13	PTRNA01 Porphyra tenera 5S rRNA sequence
PS01-5-3a_L23	3.00E-49	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-5-3a_N09	3.00E-26	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-5-3a_N11	3.00E-38	SYNBLSKMV BlueScribe SK Minus cloning vector
PS01-5-3a_P19	3.00E-24	Zea mays clone Contig123.F mRNA sequence
PS01-5-4a_B08	4.00E-60	Porphyra yezoensis EF-1a mRNA for elongation factor 1-alpha, complete cds
PS01-5-4a_H18	7.00E-22	Populus EST from severe drought-stressed opposite wood
PS01-5-4a_J12	2.00E-12	Zea mays clone EL01N0506B01.c mRNA sequence
PS01-5-4a_L10	4.00E-14	Populus EST from mild drought-stressed leaves
PS01-5-4a_N04	4.00E-41	Populus EST from severe drought-stressed leaves
PS01-6-1a_I23	3.00E-12	Anavitrinellapampinariacytochrome c oxidase I subunit (COI) gene, partial cds; mitochondrial

## ⌘ 6. putative annotation of known ESTs

#### 제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

- 본 연구과제의 목표는 돌김 유전자원 발굴을 위해 돌김 cDNA library를 제작하고, 제작된 cDNA library를 이용하여 약 2,000개의 EST를 생산, 분석하여 유용유전자를 선별하는 것임
- 김 ESTs 생산 목적으로 모무늬 돌김 엽상체로부터 cDNA library를 제작하였음 (김 cDNA library 제작 목표가 달성됨), 김 cDNA library 제작을 통해 김 (다량의 polysaccharide 포함)으로부터 total RNA 추출의 문제점을 발견하고 그 해결책을 강구하였음.
- 모무늬 돌김 cDNA library로부터 2,016개 clone으로부터 cDNA를 추출하고 염기서열을 결정하여 본 과제에서 목표로 하는 김 library 제작 및 2000개의 EST 생산 목표를 달성하였음.
- 지금까지의 연구과제 수행을 통해 김 EST의 대량 생산을 위한 기반 시스템을 갖추었음. 생산된 ESTs는 김 유용 유전자의 선별뿐만 아니라 김 유전자의 분자적 특징 및 마커 개발을 위해 사용될 수 있을 것임
- 본 과제는 주어진 과제 수행기간동안 목표로 하는 소정의 목표를 달성하였다 고 판단하며, 아래 기재한 과제 평가위원들의 평가 내용과 같이 품종개발을 위한 자원으로 활용되기 위해서는 지속적으로 추가적인 연구가 필요하다고 생각함
- 본과제의 평가 위원 평가 내용; “해양환경의 변화와 UPOV와 관련 국내 수산업의 보호와 양식어업인의 경쟁력 제고를 위해 적정한 시점의 사업으로 평가됨.” “지구온난화와 2009년도부터 시행되는 품종 보호제에 따라 국내 해조류 중 1위인 김에 대한 품종개발 연구는 시의 적절하다고 판단됨. 한편 연구 결과에 따라 국내 고유 품종개발이 이루어진다면 경제적 가치 창출의 효과가 클 것으로 기대되는 바임.” “그러나 최근 소비 트렌드가 돌김에서 재래 김으로 빠르게 확산되고 있어 돌김에 대한 품종개발도 의의가 있으나 앞으로는 소비동향에 맞는 연구개발 및 필요성이 제기되는 바임.” “김 품종의 국내 품종의 개발로 대다수 어업인이 종사하고 있는 김양식 산업에 필수

적인 사항임. 2009년도부터 품종에 대한 로열티를 지급해야 하는 시대적 긴박성을 볼 때 서둘러서 개발되어야 할 사항임.”

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- \* 추가연구의 필요성, 타연구에의 응용, 기업화 추진방안을 기술
- \* 연구기획사업 등 사업별 특성에 따라 목차는 변경 가능함
- 확보된 김 ESTs는 김 품종 개량을 위한 유용 유전자 선별 및 marker 개발을 위한 기초 자료로 사용 될 수 있음

## 제 6 장 참고문헌

\* 보고서 작성시 인용된 모든 참고문헌을 열거

- Asamizu E., Nakajima M., Kitade Y., Saga N., Nakamura Y. & Tabata A. 2003. COMPARISON OF RNA EXPRESSION PROFILES BETWEEN THE TWO GENERATIONS OF PORPHYRA YEZOENSIS(RHODOPHYTA), BASED ON EXPRESSED SEQUENCE TAG FREQUENCY ANALYSIS. J. Phycol. 39:923-930.
- ASAMIZU E., NAKAMURA Y., SATO S., FUKUZAWA H., & TABATA S. 1999. A Large Scale Structural Analysis of cDNAs in a Unicellular Green Alga, *Chlamydomonas reinhardtii*. I. Generation of 3433 Non-redundant Expressed Sequence Tags. DNA RESEARCH. 6:369-373.
- Becker B., Feja N., Melkonian M. 2001. Analysis of Expressed Sequence Tags (ESTs) from the Scaly Green Flagellate *Scherffelia dubia* Pascher emend. Melkonian et Preisig. Protist. 152:139-147.
- Collin J., Roeder V., Rousvoal S., Collin O., Kloareg B. & Boyen C. 2006. AN EXPRESSED SEQUENCE TAG ANALYSIS OF THALLUS AND REGENERATING PROTOPLASTS OF *CHONDRUS CRISPUS* (GIGARTINALES, RHODOPHYCEAE). J. Phycol. 42:104-112.
- Lluisma1 A. O. & Ragan M. A. 1997. Expressed sequence tags (ESTs) from the marine red alga *Gracilaria gracilis*. Journal of Applied Phycology. 9:287-293.
- NIKAIDO I., ASAMIZU E., NAKAJIMA M., NAKAMURA Y., SAGA N. & TABATA S. 2000. Generation of 10,154 Expressed Sequence Tags from a Leafy Gametophyte of a Marine Red Alga, *Porphyra yezoensis*. DNA RESEARCH. 7:223-227.

- O'Brien E. A., Koski L. B., Zhang Y., Yang L. S., Wang E., Gray M W., Burger G. & Lang B. F. 2007. TBestDB: a taxonomically broad database of expressed sequence tags (ESTs). *Nucleic Acids Research*. 35:D445D451.
- Roeder V., Collin J., Rousvoal S., Corre E., Leblanc C. & Boyen C. 2005. IDENTIFICATION OF STRESS GENE TRANSCRIPTS IN LAMINARIA DIGITATA (PHAEOPHYCEAE) PROTOPLAST CULTURES BY EXPRESSED SEQUENCE TAG ANALYSIS. *J. Phycol.* 41:12271235.
- Stanley M.S., Perry R.M., Callow J.A. 2005. ANALYSIS OF EXPRESSED SEQUENCE TAGS FROM THE GREEN ALGA ULVA LINZA(CHLOROPHYTA). *J. Phycol.* 41:12191226.
- Wong T.K., Ho C.L., Lee W.W., Rahim R.A, Phang S.M. 2007. ANALYSES OF EXPRESSED SEQUENCE TAGS FROM SARGASSUM BINDERI(PHAEOPHYTA). *J. Phycol.* 43:528534.

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

					과제코드	
사업구분						
과제구분	(총괄,세부,단위)	(주관,협동)	과제성격	(기초,응용,개발)		
총괄과제명						
주관기관			주관연구책임자			
과제명	돌김 품종개량을 위한 유전자원 확보 및 분석					
연구기관	전남대학교		연구책임자		최동욱	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계	
	1차년도	2007.8.1 -2008.4.30	180,00		180,000	
	2차년도					
	3차년도					
	4차년도					
	5차년도					
	계	2007.8.1 -2008.4.30	180,00		180,000	
참여기업						
상대국			상대국연구기관			

2. 평가일 : 2008. 4

3. 평가자(연구책임자)

소속	직위	성명
전남대학교	조교수	최동욱

#### 4. 평가자(연구책임자) 확인

- 본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본자료가 전문위원회 및 사업조정관 평가시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--



## I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 본 과제 수행을 통해 돌 김 cDNA library를 제작하고 제작된 cDNA library를 이용하여 약 2,000개의 EST를 생산함으로써 본 과제의 목표를 100% 달성함.
- 생성된 EST의 분석 결과는 대부분(80% 이상)의 김 유전자들이 기존에 알려진 유전자와는 다른 새로운 유전자임을 보임. 따라서 생성된 EST들은 대부분 새로 발굴된 유전자라 할 수 있음
- 이러한 결과는 김 유전자원 발굴의 필요성 및 시급함을 보여주며, 본 과제는 그 시작 및 기반 기술을 확보하는 의미를 갖음

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 지금까지의 연구과제 수행을 통해 김 EST의 대량 생산을 위한 기반 시스템을 갖추었음.
- 확립된 유전정보 생산 시스템은 김뿐만 아니라 다른 해조류에 그대로 적용할 수 있음
- 본 과제 수행을 통해 생성된 김 ESTs는 김 신품종 개발을 위한 유용 유전자 선별에 직접 사용될 수 있으며, 선별된 유전자들은 관련 연구자들에게 제공함으로써 이 분야에 관한 연구를 보다 활성화 시킬 수 있음. 또 관련 연구자들에게 관심 있는 유전자의 제공은 연구비 절감 효과도 기대할 수 있음
- 2009년부터는 품종보호 제도가 김을 포함한 해조류에도 적용됨. 이에 대비하기 위해서는 고유의 신품종 개발이 필요하며, 유전자도입을 이용한 신품종 개발을 위해서는 유용 유전자의 확보가 가장 중요함, 본 과제 결과는 유용 유전자 확보에 중심적인 역할을 할 것임

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 김 양식에 있어서 당면한 과제중 하나는 갯병과 같은 질병에 저항성의 높은 품종 및 온난화에 의한 수온상승에 적응력이 있는 품종의 개발임
- 생산된 ESTs는 위와 같이 병저항성 관련 또는 고온 생장 품종 개발을 위한 유용 유전자의 선별에 사용될 수 있음.
- 또 생산된 ESTs는 김 유전자의 분자적 특징 및 마커 개발을 위해 사용될 수 있음
- 선별된 유전자들은 관련 연구자들에게 제공될 수 있음

### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 본 과제의 재료 쉽게 배양하거나 야생으로부터 확보할 수 없음, 따라서 본 연구 수행을 위해 미리 준비해야함. 또 재료는 RNA 추출에 어려움이 있음.
- 위와 같은 조건에서도, 주어진 기간 내에 계획한 목표를 달성한 성실함과 숨은 노력이 있음

### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 산업재산권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 본 과제 수행 결과는 국제 SCI급 저널에 발표하기 위해 준비 중에 있음.
- 또 선별 유전자들은 각각 그 기능에 관련된 연구를 수행할 것이며, 기능 연구가 완료되면 각 유전자들은 그 기능과 관련 SCI 저널 발표를 위한 논문을 쓸 계획임. 또 유전자의 기능에 따라 각 유전자들은 특허화 할 수 있음.

## II. 연구목표 달성도

번호	세부연구목표 (연구계획서상에 기술된 연구목표)	달성내용	달성도 (%)
1	돌김 cDNA library 제작	모무늬 돌김 cDNA library를 제작함	100
2	EST 생성	목표로한 2,000개의 EST를 생성함	100
3	EST 분석	생성한 EST를 분석함	100
4	유용 유전자 선별	생성된 ESTs data 분석을 통해 고온 저항성 및 병 저항성에 관련된 cDNA들을 선별함	100
5			

## III. 종합의견

### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

<ul style="list-style-type: none"> <li>- 김은 우리나라에서 양식되는 해조류 시장의 50% 이상을 차지하는 중요한 해조류임</li> <li>- 본 과제 수행결과의 분석 결과 대부분의 김 유전자들은 지금까지 보고된 유전자와는 다른 새로운 유전자로 판단됨. 따라서 보다 적극적인 유전자원 생산 연구가 진행될 필요가 있다고 판단됨</li> <li>- 김 신품종 개발을 위한 유전자는 육상 식물 또는 육상 생물종으로부터 확보된 유전자를 그대로 사용할 수 없음. 따라서 해조류의 유전자원 확보 및 분석이 시급히 요구됨</li> </ul>
--

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 특이사항 없음

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 생성된 ESTs 분석을 상세히 수행하여, 신제품 개발에 활용될 수 있는 유전자들을 선별할 것임. 그리고 선별된 유전자들은 관심 있는 연구자들에게 분양 할 것임
- ESTs 추가적으로 생산할 수 있는 방안을 계획할 것임

## IV. 보안성 검토

- o 해양수산연구개발사업보안관리지침에서 정하는 바에 따라 작성
- o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

### 1. 연구책임자의 의견

### 2. 연구기관 자체의 검토결과