

가시오갈피(*Acanthopanax senticosus*)에서 유래된 신규 SSR 마커 특성  
및 오갈피(*A. sessiliflorus*)로의 전이성 연구

농촌진흥청 농업유전자원센터 : 이기안, 이명철, 이정로, 고호철, 김정곤, 마경호  
강원도농업기술원 : 안용진, 함진관,

Isolation and characterization of new microsatellite loci in *Acanthopanax senticosus* and  
cross-amplification in *A. sessiliflorus*

Gi-An Lee<sup>1</sup>, Myung-Chul Lee<sup>1</sup>, Yong-Jin An<sup>2</sup>, Jin-Kwan Ham<sup>2</sup>, Jung-Ro Lee<sup>1</sup>, Ho-Cheol  
Ko<sup>1</sup>, Chung-Kon Kim<sup>1</sup> and Kyung-Ho Ma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Agrobiodiversity Center, National Academy of Agricultural Science, RDA, 88-20,  
Seodun-Dong, Suwon, Gyunggi-do, 441-707, Korea

<sup>2</sup>Ginseng & Medicinal Plants Experiment Station, Gangwon Provincial ARES, 276-4,  
Cheongyang-6Ri, Gimhwa, Cheolwon, Gangwon-do, 269-833, Korea

Objectives

가시오갈피(*Acanthopanax senticosus*, syn. *Eleutherococcus senticosus*)는 한국, 중  
국, 일본 등 아시아의 동북부 지역에 널리 분포하고 있으며 줄기와 뿌리부분은 예로부터  
천연약용재료로 이 지역들에서 전통적으로 이용되어왔다. 약리효과를 나타내는 물질들에  
대한 진행된 연구들에 따르면 가시오갈피의 추출물에는 페놀화합물, 당류, 리그난 등 다  
양한 생리활성 물질이 관찰되었다. 분자유전학적인 평가법은 해당 작물의 유전적 다양성  
이나 집단구조 연구를 가능하게 해줌으로서 지속적인 자원 다양성 보존과 활용에 도움을  
줄 수 있다. 이중 SSR 마커는 다른 비특이적 분자표지시스템과 비교하여 높은 다양성 수  
준을 유지하면서 재현성이 높고 검출이 쉬운 장점을 갖지만 초기 개발이 필요하다는 단  
점이 있다. 이번 연구에서는 가시오갈피에서 적용 가능한 다형성을 보이는 SSR 분자표지  
에 대한 최종 선발 결과와 가까운 유연관계를 보이는 오갈피(*A. sessiliflorus*)로에의 전이  
성(transferability) 연구를 수행하였다.

Materials and Methods

강원도농업기술원 인삼약초 시험장에서 보유하고 있는 가시오갈피(*A. senticosus*)/오갈  
피(*A. sessiliflorus*) 유전자원 20 점을 연구에 사용하였으며 변형된 CTAB법을 활용하여  
DNA를 추출하였다. Biotin-streptavidin 포획법을 변형하여 microsatellite-motif enriched  
library를 구축한 후 711개의 흰색 콜로니를 picking하여 sequencing을 수행하였다. 이로  
부터 얻어진 sequence 정보들에 기반하여 SSR 부위를 포함하는 프라이머 쌍을 190개 디  
자인(SSR Manager)하고 이중 이번 연구에 사용된 20점에서 다형성을 보이는 21 프라이머  
쌍을 최종적으로 선발하였다.

Results

구축된 SSR-enriched genomic DNA library로부터 얻어진 711개 클론 sequence 중 47클  
론(6.6%)가 중복이 되었고 남은 664개 클론 중 470개의 클론(70.8%)에서 SSR motif가

-----  
주저자: 이기안, E-mail : gknt11@korea.kr, Tel : 031-299-1887

관찰되었다. Di-nucleotide형이 301클론(64%)로 가장 많았으며 GT/AC형이 65.1% 로 di-nucleotide형중 가장 높은 빈도를 보였고 GA/TC형이 32.2%로 그 뒤를 이었다. Tri-nucleotide형은 166클론(35.3%)이 관찰되었고 CAA/TTG형과 GAA/TTC 형이 81.3%, 9% 로 그 중 높은 빈도를 보였으며 multi-nucleotide형은 3개(0.6%)만이 관찰되었다.

470개의 SSR 클론중 SSR 부분을 포함하는 190개의 프라이머쌍을 최종적으로 디자인하였고 최종적으로 시험집단에서 다형성을 보이는 21개의 프라이머쌍을 선발하였으며 오갈 피로의 전이성을 더불어 조사하였다. 개별 locus별 다형성은 allele 수, observed heterozygosity (HO), expected heterozygosity(HE), polymorphism information content(PIC) 값을 통해 측정하였고 그 결과 요약은 Table-1과 같았다. 개발된 21개의 SSR profiling 결과에 기반하여 계산된 유전적 거리를 바탕으로 NJ방법을 통하여 consensus tree를 그려 자원간 유연관계를 분석한 결과 자원간-중간 차이에 따라 구분되었다.

Table 1. Characteristics of the 21 microsatellite loci in *A. senticosus* and *A. sessiliflorus*

Marker	Product size (bp)	MAF	NA			HE	HO	PIC		
			S-1	S-2	Total			S-1	S-2	Total
GB-ES-4*	207 ~ 217	0.725	4	1	4	0.446	0.05	0.507	0	0.416
GB-ES-25	237 ~ 287	0.5	6	3	8	0.708	0.611	0.521	0.582	0.686
GB-ES-27*	203 ~ 213	0.667	2	3	4	0.508	0.167	0.132	0.548	0.464
GB-ES-36*	234 ~ 250	0.75	1	1	2	0.375	0	0	0	0.305
GB-ES-48*	199 ~ 211	0.733	1	3	4	0.436	0	0	0.555	0.407
GB-ES-76	158 ~ 172	0.853	1	3	3	0.258	0.176	0	0.492	0.236
GB-ES-79*	271 ~ 299	0.474	2	3	5	0.677	0.737	0.354	0.492	0.629
GB-ES-80*	199 ~ 202	0.765	1	3	3	0.381	0	0	0.499	0.34
GB-ES-104	207 ~ 255	0.344	3	7	10	0.777	0.625	0.543	0.825	0.748
GB-ES-109	204 ~ 222	0.294	6	4	8	0.796	0.647	0.741	0.535	0.768
GB-ES-112*	254 ~ 314	0.6	2	1	3	0.555	0	0.269	0	0.491
GB-ES-124	298 ~ 316	0.237	5	2	7	0.825	0.737	0.726	0.305	0.802
GB-ES-133	300 ~ 306	0.7	2	1	2	0.42	0.6	0.365	0	0.332
GB-ES-138*	275 ~ 281	0.722	1	1	2	0.401	0	0	0	0.321
GB-ES-143*	251 ~ 268	0.525	2	4	6	0.651	0.7	0.332	0.581	0.608
GB-ES-146	179 ~ 203	0.25	6	5	11	0.853	0.9	0.739	0.642	0.836
GB-ES-148*	256 ~ 276	0.725	2	5	6	0.453	0.15	0.062	0.642	0.429
GB-ES-159*	161 ~ 167	0.75	1	1	2	0.375	0	0	0	0.305
GB-ES-161*	272 ~ 290	0.425	5	3	7	0.735	0.6	0.554	0.563	0.7
GB-ES-175	244 ~ 266	0.275	7	3	10	0.835	0.9	0.716	0.492	0.816
GB-ES-181	260 ~ 274	0.525	3	3	5	0.664	0.5	0.467	0.563	0.628
<b>Mean</b>		<b>0.564</b>	<b>3</b>	<b>2.857</b>	<b>5.333</b>	<b>0.578</b>	<b>0.386</b>	<b>0.335</b>	<b>0.396</b>	<b>0.537</b>

# 약어 : S-1;A. senticosus, S-2;A. sessiliflorus, MAF;major allele frequency, NA; number of alleles, HE; expected heterozygosity, HO; observed heterozygosity, PIC; polymorphic information content

\* Loci with significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (P<0.001)

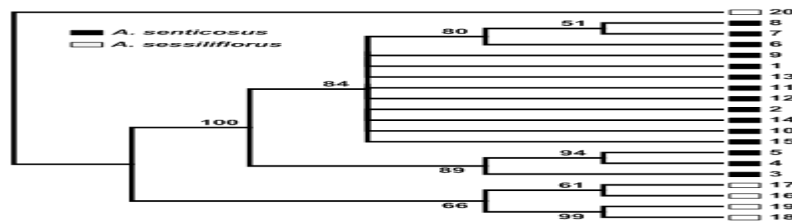


Figure 1: A consensus tree was constructed using genotyping results from the 21 new microsatellite markers using the neighbor-joining method; the genetic distance was measured by the “Nei1973” method, and values <50% are not shown in the tree.