(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0067977
(43) 공개일자 2015년06월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01H 5/00 (2006.01) *A01H 1/02* (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0153642
(22) 출원일자 2013년12월11일
심사청구일자 2013년12월11일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
임용표
대전광역시 유성구 상대남로 26, 903동 1602호 (상대동, 도안신도시9블록 트리풀시티아파트)
박종태
세종특별자치시 누리로 59, 503동 1301호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

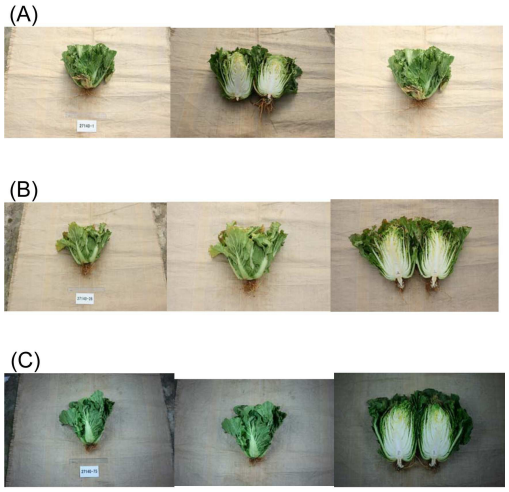
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **비타민 C 함량이 증가된 배추 품종 및 이의 육종방법**

(57) 요 약

본 발명은 비타민 C 함량이 증가된 배추 품종 및 이의 육종방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 배추 품종은 비타민 C의 함량이 기존의 배추에 비해 현저히 높은바, 일상적으로 다량 섭취하는 배추를 통해 비타민 C의 항산화 효과를 얻을 수 있도록 하는 데 중요하게 응용될 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 본 발명에 따른 육종 방법을 통해 비타민 C 함량이 크게 향상된 고기능성, 고부가가치의 배추품종의 개발이 가능한바, 농가의 수익 창출에도 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도3



(72) 발명자

최수련

대전광역시 중구 태평로 55 삼부아파트4단지 408동 141호

조만현

충청남도 천안시 서북구 봉서산로 85 호반리젠시빌아파트 109동 801호

함인기

충청남도 천안시 서북구 충무로 124-24 현대홈타운아이파크아파트 115동 1102호

김태일

충청남도 논산시 체육로 30 놀뫼아파트 2동 606호

이은모

대전광역시 서구 청사로 70 누리아파트 109동 708호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ007992
부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 식물분자육종사업단
연구사업명 차세대바이오그린21 사업
연구과제명 배추 수집단을 이용한 SNP 마커개발 및 GWAS 연구를 통한 유용형질 탐색
기 여 율 8/10
주관기관 충남대학교
연구기간 2013.07.25 ~ 2022.05.02이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2009-0062558
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 연구소재지원사업
연구과제명 한국배추게놈소재은행
기 여 율 2/10
주관기관 충남대학교
연구기간 2009.04.01 ~ 2014.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

비타민 C의 함량이 증가된 배추(*Brassica rapa*) 식물체로서, 상기 식물체는 수탁번호 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 배추 식물체.

청구항 2

제1항에 있어서, 비타민 C의 함량이 식물 건조중량 1g당 5mg 이상인 것을 특징으로 하는 배추 식물체.

청구항 3

제1항에 따른 배추 식물체의 배아, 분열조직, 떡잎, 화분, 잎, 꽃밥, 뿌리, 근단(root tip), 암술, 꽃, 종자 및 대로 구성된 군으로부터 선택되는 배추 식물의 일부.

청구항 4

제3항에 따른 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물.

청구항 5

제1항에 따른 배추 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는, 비타민 C의 함량이 증가된 식물체 종자의 제조 방법.

청구항 6

(a) 품종명이 녹항S5(綠抗S5)인 배추의 F1 종자를 수집하는 단계;

(b) 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생하는 단계; 및

(c) 상기 (b)단계에서 재생된 식물체 중 비타민 C 함량이 건조중량 1g당 5mg 이상인 식물체를 선별하는 단계를 포함하는, 비타민 C 함량이 증가된 배추 식물체의 육종 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 (c) 단계에서 선별된 식물체는 수탁번호 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P로 이루어진 군에서 선택되는 배추(*Brassica rapa*)인 것을 특징으로 하는, 비타민 C 함량이 증가된 배추 식물체의 육종 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 비타민 C 함량이 증가된 배추 품종 및 이의 육종방법에 관한 것으로, 구체적으로는 비타민 C 함량이 증가된 배추 식물체, 상기 식물의 일부, 상기 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물, 상기 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는 비타민 C 함량이 증가된 식물체 종자의 제조방법 및 비타민 C 함량이 증가된 식물체의 육종방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 배추과(Brassicaceae family)는 350속(genera)에 속하는 약 3,700종(species)을 포함하며, 다양한 배추과 식물이 농업적으로 중요한 채소, 양념, 사료 및 유지 작물로 이용되고 있다. 경제적으로 볼 때 배추과 식물은 세계 채소 생산량의 약 10%와 식용유 생산량의 약 12%를 담당하고 있다. 배추과는 13~19개의 족(族)으로 구분할 수 있는데, 배추족(Brassiceae tribe)은 약 240개 종을 포함한다. 작물로서 중요한 종들은 채소작물인 배추(*Brassica rapa*)와 양배추(*B. oleracea*), 유지작물인 유채(*B. napus*)와 갓(*B. juncea*), 그리고 양념작물인 흑

겨자(*B. nigra*) 등이 있다. 배추과 식물은 현재 이용되는 것 외에도 종간 교잡 등을 통한 새로운 채소작물의 개발은 물론 산업용 오일 등 물질 생산을 위한 분자농업 (molecular farming) 기주식물로도 이용되고 있다. 또한 야생종들은 핵 및 세포질 웅성불임, 병충 저항성, 기상 스트레스 저항성 등 농업적으로 유용한 형질을 보유하고 있는 중요한 자원이다.

[0003] 한국인의 식생활에 중요한 위치를 차지하는 김치의 주재료는 배추이다. 김치 제조과정 또는 저장과정 중 다양하게 변화되며 비타민 성분 중에서도 비타민 C는 김치에 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 비타민 C(vitamin C)는 괴혈병(scurvy)을 방지하는 물질이며, 아스코르브산(ascorbic acid)이란 용어는 항괴혈병 역할에서 유래되었다. 비타민 C의 항산화 물질로 신체를 활성산소로부터 보호하여, 암, 동맥경화 및 류머티즘 등을 예방해 주며, 면역체계도 강화시킨다. 또한 비타민 C는 위궤양 및 십이지장궤양의 원인인 헬리코박터 파이로리균의 번식을 억제하며, 노인의 인지 능력과 기억력 유지를 돕고, 알츠하이머병(치매) 예방에도 도움이 된다고 알려져 있다.

[0004] 한편, 한국등록특허 제1076208호에는 '붉은 배추를 이용한 안토시아닌 김치의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 안토시아닌 김치'가 개시되어 있고, 한국등록특허 제1248548에는 '곰보 배추 추출물, 플라바논 화합물 및 그 제조방법, 이로부터 제조된 화장료 조성물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 비타민 C 함량이 증가된 배추 품종 및 이의 육종방법에 대해서는 개시된 바가 전혀 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명에서는 품종명이 녹항S5(綠抗S5)인 배추의 F1 종자를 수집하고, 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생한 후, 재생된 식물체 중 비타민 C 함량이 건조중량 1g당 5mg 이상인 식물체를 선별함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 수탁번호 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P로 이루어진 군에서 선택되는, 비타민 C의 함량이 증가된 배추 식물체를 제공한다.

[0007] 또한, 본 발명은 상기 비타민 C 함량이 증진된 배추 식물체의 배아, 분열조직, 떡잎, 화분, 잎, 꽃밥, 뿌리 근단, 암술, 꽃, 종자 및 대로 구성된 군으로부터 선택되는 식물의 일부를 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 배추 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는 비타민 C 함량이 증가된 식물체 종자의 제조 방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은

[0011] (a) 품종명이 녹항S5(綠抗S5)인 배추의 F1 종자를 수집하는 단계;

[0012] (b) 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생하는 단계; 및

[0013] (c) 상기 (b)단계에서 재생된 식물체 중 비타민 C 함량이 건조중량 1g당 5mg 이상인 식물체를 선별하는 단계를 포함하는, 비타민 C 함량이 증가된 식물체의 육종 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명에 따른 배추 품종은 비타민 C의 함량이 기존의 배추에 비해 현저히 높은바, 일상적으로 다량 섭취하는 배추를 통해 비타민 C의 항산화 효과를 얻을 수 있도록 하는 데 중요하게 응용될 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 본 발명에 따른 육종 방법을 통해 비타민 C 함량이 크게 향상된 고기능성, 고부가가치의 배추품종의 개발이 가능한바, 농가의 수익 창출에도 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 배추 소포자 배양법의 과정을 도시한 흐름도이다.

도 2는 배추 소포자 배양 시 소포자의 발달 단계를 나타낸 그림이다.

도 3은 실시예에 따라 생산된 증가된 비타민 C 함량을 갖는 배추의 생육 사진이다. (A) KACC98028P 품종, (B) KACC98029P 품종, (C) KACC98030P 품종

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 비타민 C의 함량이 증가된 배추(*Brassica rapa*) 식물체로서, 상기 식물체는 수탁번호 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 배추 식물체를 제공한다.

[0017] 본 발명의 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P 품종은 녹항S5(綠抗S5) 품종의 소포자 배양을 이용하여 육종한 품종이다. 일반적으로 교배를 통해 유전적으로 균일한 계통을 만들기 위해서는 4~5년 정도의 시간이 소요되는데 비해, 이러한 반수체를 동질배수화를 유도하여 유전적으로 고정된 이배체를 만드는 방법을 이용한 육종은 단시일내에 순수한 계통을 만들 수 있는 장점이 있다.

[0018] 본 발명의 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P 품종은 종래의 상업 배추 품종의 평균 비타민 C 함량의 4배 이상이 증가된 배추 품종이다(실시예 2 참조). 상기 3가지 품종을 국립농업과학원 농업유전자원센터(Korean Agricultural Culture Collection)에 2013년 10월 15일자로 기탁하였다.

[0019] 본 발명의 일 구현 예에 따른 상기 식물체에 있어서, 상기 비타민 C의 함량은 식물 건조중량 1g당 5mg 이상일 수 있으며, 바람직하게는 5~8mg일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0020] 또한, 본 발명은 상기 배추 식물체의 배아, 분열조직, 떡잎, 화분, 잎, 꽃밥, 뿌리, 근단(root tip), 암술, 꽃, 종자 및 대로 구성된 군으로부터 선택되는 배추 식물의 일부를 제공한다.

[0021] 또한, 본 발명은 상기 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는, 비타민 C의 함량이 증가된 식물체 종자의 제조 방법을 제공한다.

[0023] 본 발명의 일 구현 예에 따른 제조 방법에 있어서, 상기 다른 배추과 식물체는 배추, 청경채, 겨자채, 흑겨자, 적채, 갓, 양배추, 브로콜리, 케일, 유채, 열무 및 무일 수 있고, 바람직하게는 배추일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0024] 또한, 본 발명은

[0025] (a) 품종명이 녹항S5(綠抗S5)인 배추의 F1 종자를 수집하는 단계;

[0026] (b) 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생하는 단계; 및

[0027] (c) 상기 (b)단계에서 재생된 식물체 중 비타민 C 함량이 건조중량 1g당 5mg 이상인 식물체를 선별하는 단계를 포함하는, 비타민 C 함량이 증가된 식물체의 육종 방법을 제공한다.

[0028] 본 발명의 일 구현 예에 따른 육종 방법에서, 상기 (c) 단계에서 선별된 식물체는 종자 수탁번호 KACC98028P, KACC98029P 및 KACC98030P로 이루어진 군에서 선택되는 기탁된 배추(*Brassica rapa*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0030] **실시예 1. 소포자 배양법을 이용한 배추 품종 육종**

[0031] 중국 심양지역에서 녹항S5(綠抗S5) 품종의 자원을 도입하여 그 F1 종자를 유전자원으로 이용하였다. 상기 F1 유전자원을 소포자 배양법을 이용하여 식물체를 채종하였다. 상기 소포자 배양법의 대략적인 과정은 도 1에 나타난 것과 같이 진행하였다.

[0032] 1-1. 소포자의 추출

[0033] 먼저 수집된 유전자원을 토양에 심고, 식물을 5℃ 저온실에서 약 30일 동안 춘화처리한 후 큰 화분에 정식하여 온실(비닐하우스)에서 재배하면서 개화를 유도하였다. 소포자의 추출을 위해, 유도된 꽃봉오리를 채취하여 주두가 꽃잎보다 긴 꽃봉오리(화뢰)만을 선별하였다. 선별된 꽃봉오리를 1% 차아염소산 나트륨 용액(Sodium Hypochlorite Solution)에서 15분 동안 표면살균 한 후, 멸균수로 3분씩 3회 이상 헹구어 주었다. 소독한 꽃봉오리를 막자사발에 넣고 수크로오스가 13% 첨가된 B5배지 2~3㎖와 함께 부드럽게 간 후 45㎛ 체에 소포자 용액을 여과하였다. 여과된 용액에 13% 수크로오스가 첨가된 B5배지를 더 첨가하여 10㎖씩 부피를 맞춰 튜브에 넣고, 1,000rpm에서 3분 동안 원심분리한 후 상등액을 버리고 다시 B5배지로 세정하는 과정을 2회 반복하였다. 세정을 마친 소포자 용액을 50㎖ 튜브로 옮겨 10% 수크로오스가 첨가된 NLN(Lichter, 1982) 액체배지(대량요소만 1/2농도)로 부피 30㎖로 맞추고, 잘 혼합된 소포자 용액은 피펫으로 페트리디시(60×15 mm)에 3㎖씩 분주한 다음 파라필름(Parafilm)으로 1중 감고, 3M 마이크로포어(Micropore)로 2중으로 감아 밀봉하여 주었다.

[0034] 1-2. 식물체로의 재생

[0035] 추출을 마친 소포자 용액들을 암처리하였는데, 이는 초기배양온도 32.5℃에서 1일간 처리하여 준 후, 25℃ 상온에서 9일 동안 배의 발생을 유도하여 주었다. 암배양을 마친 소포자 용액들은 배의 발생여부를 확인한 후, 진탕배양기로 옮겨 70~80rpm 명상태로 10일 동안 추가로 배양하여 주었다. 형성된 배는 0.25% 젤라이트가 첨가된 MS(Murashige and Skoog, 1962) 기본 고체배지에 옮겨 25±2℃에서 16시간/일 광주기로 3~4주 배양하여 유식물체를 유도하였다. 유도된 유식물체는 원예용 상토가 든 8cm 화분에 심고, 순화상(119cm×35cm×74cm)을 이용하여 3주간 순화를 시켰다.

[0036] 1-3. 정식 및 채종

[0037] 순화된 식물체는 개화를 유도하기 위하여 5℃에서 30일 동안 저온 처리한 후, 원예용 상토를 넣은 큰 화분(30.5cm×26.2cm×20cm)에 정식하여 비닐하우스에서 재배하면서, 개화된 개체중 화분이 있는 개체를 선발하여 뇌수분으로 자식시킨 후 임성 여부를 조사한 다음 채종하였다.

[0038] **실시예 2. 비타민 C 함량이 증가된 배추 품종 선별**

[0039] 상기 소포자 배양법으로 육종된 실시예 1의 채종 종자들을 노지에 정식하고 재배하였다(도 3). 각 품종당 3포기 이상의 배추를 확보하여 잘게 썰어 동결건조한 후, 전체 비타민 C의 함량을 하기와 같은 방법으로 2회 이상 반복 측정하였다.

[0040] 2-1. 시료의 전처리

[0041] 15㎖ 튜브에 블랜더를 이용해 잘게 파쇄한 배추 0.5g을 담고, 3% TCA(Trichloroacetic acid) 용액 5㎖을 첨가한 뒤 볼텍싱하고 5% 메타인산(metaphosphoric acid) 용액 100㎕ 첨가한 뒤 볼텍싱해 준다. 그 뒤 원심분리를 4℃, 10,000×g에서 15분 동안 진행하고 얻은 상등액에 5% 메타인산 용액으로 10배 희석한 뒤 원심분리 4℃, 10,000×g에서 5분 동안 진행하여 얻은 상층액을 필터(PTFE, 13 JP, 0.2㎛; Advantec, 미국)를 통과시켜 최종적으로 분석시료를 준비하였다.

[0042] 2-2. 액체크로마토그래피를 이용한 비타민C 정량분석

[0043] 비타민 C 함량은 역상컬럼(XTerra C18 5 μm, 3.9×150 mm; Waters, 미국)을 장착한 액체크로마토그래피 시스템(Waters 2489; Waters, 미국)을 이용하여 분석하여 정량하였다. 이동상 A는 0.05M 제1인산칼륨(Potassium Phosphate Monobasic)을, B는 100% 아세토니트릴(acetonitrile)을 이용하였다. 분리조건은 0~5분, 20% B; 5~5.01분, 80% B; 5.01~10분, 80% B; 10~10.01분, 20% B; 10.01~20분, 20% B; 로 하였으며 유속은 분당 0.8㎖로 하였다. 정량을 위한 표준품은 L-아스코르빈산(Sigma-Aldrich Co., 미국)을 이용하였고 254nm에서 흡광도를 측정하여 전체 비타민 C의 함량을 정량하였다.

[0044] 그 결과, 11644 품종(KACC98028P), 11655 품종(KACC98029P) 및 11664 품종(KACC98030P)의 비타민 C의 함량이 각각 식물 건조중량 1g당 5.25, 5.06 및 5.18mg 임을 확인할 수 있었다. 즉, 본 발명에 따른 식물체는 비타민 C의 함량이 식물 건조중량 1g당 5mg 이상으로, 종래의 상업품종의 평균 비타민 C 함량보다 최소 4배 증가하였음을 확인할 수 있었다. 상기 결과로부터, 본 발명에 따른 식물체, 즉 배추 품종은 비타민 C의 함량이 기존의 배추에 비해 현저히 높은바, 이를 섭취하면 항산화효과를 유용하게 얻을 수 있음을 알 수 있었다(표 1).

표 1

[0045] 소포자 배양법에 의해 육종된 품종들의 비타민 C 함량

순번	품종	농도(mg/g dry matter)
1	11636	1.41
2	11637	1.34
3	**11644** (KACC98028P)	**5.25**
4	11645	1.73
5	11646	5.06
6	11647	2.34
7	11648	3.07
8	11649	4.32
9	11650	3.22
10	11651	1.56
11	11652	1.31
12	11653	4.28
13	11654	1.55
14	**11655** (KACC98029P)	**5.06**
15	11656	3.67
16	11657	1.46
17	11658	3.30
18	11659	1.88
19	11660	1.59
20	11661	1.84
21	11662	2.04
22	11663	2.26
23	**11664** (KACC98030P)	**5.18**
24	11665	1.33
25	11666	3.33
26	11667	3.56
27	11668	3.99
28	11669	3.83
29	11670	3.47
30	11671	3.97

수탁번호

[0046]

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC98028P

수탁일자 : 20131015

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC98029P

수탁일자 : 20131015

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC98030P

수탁일자 : 20131015

도면

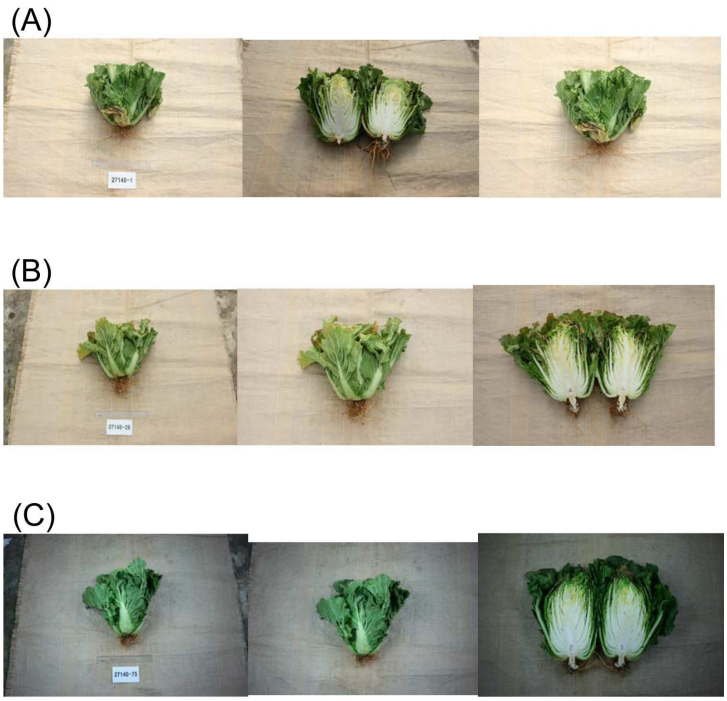
도면1



도면2


Plants derived from microspore
1 week later
2 weeks later
3 weeks later
4 weeks later

도면3


(A)
(B)
(C)