



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0021821
(43) 공개일자 2021년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01H 1/02 (2006.01) A01H 6/46 (2018.01)
C12Q 1/6895 (2018.01)
(52) CPC특허분류
A01H 1/02 (2021.01)
A01H 6/4678 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2019-0101256
(22) 출원일자 2019년08월19일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
이호정
서울특별시 관악구 관악로 125, 103동 1604호 (봉천동, 서울대입구삼성아파트)
이원제
서울특별시 마포구 마포대로7길 22, 302동 404호 (공덕동, 래미안 공덕3차)
뚜롱 하이안
서울특별시 성북구 보문로14길 39 (안암동4가)
(74) 대리인
특허법인 남앤남

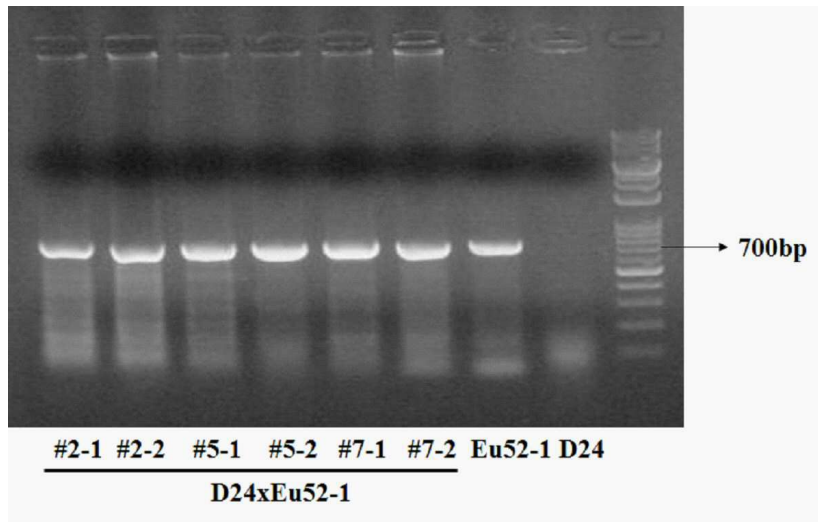
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 6배체 합성밀의 육종 방법 및 그의 판별 마커

(57) 요약

본 발명의 다양한 실시예에 따른 4배체인 듀럼밀과 2배체인 염소풀을 교배하여 6배체 합성밀을 육종하는 방법은, 스파이크를 잘라내고 고정하여 제웅(EMASCULATION)하는 단계; 3개 이상의 스파이크를 가진 Ae.tauschii 밀을 수분을 수분하는 단계; 수분 시킨 꽃에서 곡물을 꺼내고 종자를 세척하는 단계; 상기 일부 곡물에서 미성숙한 배아를 추출하는 단계; 상기 배아를 뿌리 배지에 옮기는 단계; 상기 배아를 발아시키는 단계; 및 발아된 식물을 화분에 옮기고 콜히친(COLCHICINE) 처리하는 단계;를 포함할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 1/6895 (2018.05)

C12Q 2600/136 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	PJ0124962019
부처명	고려대학교 산학협력단
과제관리(전문)기관명	생명자원연구소
연구사업명	농업공동연구_농업기후변화대응체계구축_농업분야 기후변화대응 기술개발
연구과제명	기후변화 대비 내재해 다수성 합성밀 육종소재 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2017.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

스파이크를 잘라내고 고정하여 제웅(EMASCULATION)하는 단계;

3개 이상의 스파이크를 가진 *Ae.tauschii* 밀을 수분을 수분하는 단계;

수분 시킨 꽃에서 곡물을 꺼내고 종자를 세척하는 단계;

상기 일부 곡물에서 미성숙한 배아를 추출하는 단계;

상기 배아를 뿌리 배지에 옮기는 단계;

상기 배아를 발아시키는 단계; 및

발아된 식물을 화분에 옮기고 콜히친(COLCHICINE) 처리하는 단계;를 포함하는 4배체인 듀럼밀과 2배체인 염소풀을 교배하여 6배체 합성밀을 육종하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 6배체 합성밀은 GCTGGTTCACAAAAGCAAA 또는 GGCTGGTTCCTTAGATAGGTC의 염기서열을 가지는 것을 특징으로 하는 6배체 합성밀을 육종하는 방법.

청구항 3

GCTGGTTCACAAAAGCAAA 또는 GGCTGGTTCCTTAGATAGGTC의 염기서열을 가지는 6배체 합성밀의 판별 마커.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 4배체인 듀럼밀과 2배체인 염소풀을 인공적으로 교배하여 6배체 밀을 육종하는 방법 및 합성밀의 판별 마커에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 정부 정책 및 소비자의 의식변화로 국산밀 재배면적과 생산량은 점차 증가하고 있지만, 수입밀에 비하여 가격이 두 배 이상 높아 가격경쟁력이 떨어지므로, 자급률 향상 및 소비에는 한계가 있다. 따라서 국산밀의 경쟁력 향상을 위해서는 생산농가와 가공업체의 소득보장이 매우 중요하므로 기존 품종과는 차별화된 밀 품종개발이 필요하다. 즉, 단위면적당 생산량 증대를 통해 생산 농가의 생산비를 낮추고, 가공업체는 낮은 가격으로 국산밀 제품을 만들 수 있는 획기적인 초다수성 밀 품종개발이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명의 목적은 4배체인 듀럼밀과 2배체인 염소풀 간의 중간 인공교배를 통해 6배체 밀을 생산할 수 있는 방법을 제공하고자 한다.

[0004] 또한, 본 발명은 신규한 6배체 합성밀을 판별할 수 있는 판별 분자마커를 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 4배체인 듀럼밀과 2배체인 염소풀을 교배하여 6배체 합성밀을 육종하는 방법은, 스파이크를 잘라내고 고정하여 제웅(EMASCULATION)하는 단계; 3개 이상의 스파이크를 가진 Ae.tauschii 밀을 수분을 수분하는 단계; 수분 시킨 꽃에서 곡물을 꺼내고 종자를 세척하는 단계; 상기 일부 곡물에서 미성숙한 배아를 추출하는 단계; 상기 배아를 뿌리 배지에 옮기는 단계; 상기 배아를 발아시키는 단계; 및 발아된 식물을 화분에 옮기고 콜히친(COLCHICINE) 처리하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0006] 상기 6배체 합성밀은 GCTGGTTCACAAAAGCAAA 또는 GGCTGGTTCCTTAGATAGGTC의 염기서열을 가지는 것을 특징으로 한다.

[0007] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 6배체 합성밀의 판별 마커는 GCTGGTTCACAAAAGCAAA 또는 GGCTGGTTCCTTAGATAGGTC의 염기서열을 가지는 6배체 합성밀을 판별할 수 있다.

발명의 효과

[0008] 본 발명은 추후 국산밀의 품종 계량을 위한 육종 소재로 이용 가능하다. 본 발명의 6배체 합성밀 육종 방법을 통해 중간 인공교배 후 미성숙 배아를 확보할 수 있고 성공적으로 증식시킬 수 있다. 또한, 본 발명의 신규 6배체 합성밀의 판별 분자마커를 통해 신규 6배체 합성밀을 신뢰도 높게 판별할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 실험 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0011] 이하에서 본 발명을 첨부 도면을 참고하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0012] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 4배체인 듀럼밀과 2배체인 염소풀을 교배하여 6배체 합성밀을 육종하는 방법은, 스파이크를 잘라내고 고정하여 제웅(EMASCULATION)하는 단계; 3개 이상의 스파이크를 가진 Ae.tauschii 밀을 수분을 수분하는 단계; 수분 시킨 꽃에서 곡물을 꺼내고 종자를 세척하는 단계; 상기 일부 곡물에서 미성숙한 배아를 추출하는 단계; 상기 배아를 뿌리 배지에 옮기는 단계; 상기 배아를 발아시키는 단계; 및 발아된 식물을 화분에 옮기고 콜히친(COLCHICINE) 처리하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0013] 상기 6배체 합성밀은 GCTGGTTCACAAAAGCAAA 또는 GGCTGGTTCCTTAGATAGGTC의 염기서열을 가지는 것을 특징으로 한다.

[0014] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 6배체 합성밀의 판별 마커는 GCTGGTTCACAAAAGCAAA 또는 GGCTGGTTCCTTAGATAGGTC의 염기서열을 가지는 6배체 합성밀을 판별할 수 있다.

[0016] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0018] EMASCULATION

[0019] 중앙에 위치한 작은 꽃을 미세 핀셋으로 제거 하고 1차 및 2차 꽃을 남긴다. 남겨둔 1차, 2차 꽃의 암술머리를 드러내기 위해 날카로운 가위로 작은 꽃의 윗부분을 잘라낸다. 핀셋으로 꽃밥을 제거하고 그리고 나서 스파이크의 윗부분을 잘라낸다. 스파이크를 폴리에틸렌 백으로 덮어 고정한다.

[0021] POLLINATION

[0022] 며칠 후 3개 이상의 스파이크를 가진 Ae.tauschii 밀을 수분한다. 수분하기 위해서 많은 수의 꽃가루가 필요하

다. 만약 수분되지 않으면 다음 날 다시 진행할 수 있다.

[0024] EMBRYO RESCUE

[0025] 수분 후 14-20일 쯤에 수분 시킨 작은 꽃에서 곡물을 꺼내 유리병에 모아 넣고 CLOROX 세척액으로 종자를 세척한다. 잘 흔들어 준 후 15분 동안 인큐베이션 한다. 세척된 곡물을 다른 살균 유리병에 옮긴다. 멸균된 DW로 곡물을 3번 씻어낸다. 2배의 현미경에 멸균된 필터 용지를 놓고 일부 곡물을 멸균된 필터 종이에 옮긴다. 2배의 현미경으로 관찰하여 미성숙한 배아를 곡물에서 추출한다. 발견한 배아를 뿌리 배지에 옮겨 놓는다 (페트리 접시 1개당 10개의 배아). 배아를 옮긴 페트리 접시를 봉하여 어두운 곳에 놓고 (2-3일) 매일 발아를 확인 한다 (대안으로, 배아는 25° C, 12 시간 길이, 5000 렉스 광 강도에서 배양 될 수 있다). 발아가 되면 RT 또는 시원한 (20° C) 챔버 (연속 조명)에 페트리 접시를 놓는다. 식물이 충분히 커지면 화분에 옮긴다. 콜히친 처리를 위해 식물이 충분히 커질수 있도록 몇 주 동안 키운다.

[0027] COLCHICINE TREATMENT

[0028] 작거나 약한 것을 제외하고 식물을 화분에서 꺼내어 뿌리를 물로 씻어 흙을 제거한다. 30분 동안 건조 시킨다. 식물을 콜히친 용액에 담그고 6시간 동안 공기가 통하게 유지한다. 30분동안 물로 린스 해준다. 콜히친 처리된 식물을 다시 화분에 다시 심는다. 15일 후에 잎을 자르면 성장이 촉진되고 성장한 줄기도 제거한다.

[0030] 상기 실시예에서 필요한 시약들은 다음과 같다.

[0032] 1) CLOROX cleaning solution

[0033] - Prepare 500 mL beaker

[0034] - 30 mL of chlorox

[0035] - 70 mL of DW

[0036] - Shake well

[0037] - The concentration of Cl⁻ in the stock Clorox is 6%. The final concentration in Clorox cleaning solution is 1.8%

[0038] 2) The Rooting Medium

[0039] - Prepare a 1L jar

[0040] - 300 ML of DW

[0041] - 25 mL of MS Basal Salt Macronutrient Solution 10x (Sigma: M0654)

[0042] - 50 mL of MS Basal Salt Micronutrient Solution 10X (Sigma: M0529)

[0043] - 0.5 mL of MS Vitamin Solution 1000x (Sigma: M3900)

[0044] - 0.5 mL of NAA 1mg/mL; Sigma: N1641)

[0045] - 10 g sucrose

[0046] - Dissolve with a magnetic bar

[0047] - Adjust pH to 5.8 using KOH (0.5M) or HCl (0.5M). Add only one drop at a time (The pH will be dramatically changed)

[0048] - Remove the magnetic bar

[0049] - Add the remaining DW to raise the quantity to 500 mL

- [0050] - 2.5 g of phytogel powder (Sigma p-8169)
- [0051] - Cover the top of the jar with aluminum foil
- [0052] - Autoclave the jar under 120° for 20m
- [0053] - Pour the medium into the petri dishes (500 mL would be enough to make 20 plates)
- [0054] 3) Colchicines solution
- [0055] - Prepare 1L jar
- [0056] - 500 mL of DW
- [0057] - 250 mg of colchicines powder
- [0058] - 10 mL of DMSO (Dimethyl sulfoxide)
- [0059] - Dissolve well
- [0060] - Store in 4° C

[0062] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1

