

## DNA 보존을 위한 FTA 카드의 관속식물 분류군별 적용성 조사

김상태\*

성신여자대학교 생물학과

(2016년 10월 2일 접수; 2016년 12월 13일 수정; 2016년 12월 15일 채택)

### Test of DNA Preservation with FTA Card in Various Tracheophytes

Sangtae Kim\*

Dept. of Biology, Sungshin Women's Univ., Seoul 01133, Rep. of Korea

(Received 2 October 2016; Revised 13 December 2016; Accepted 15 December 2016)

#### Abstract

The FTA card is a quick and easy method to preserve DNA from plant tissues. Its applicability has only been tested in some economically important plants and in research model plants such as rice, potato, tomato, and *Arabidopsis*. Therefore, DNA preservation with FTA cards in various tracheophytes (196 taxa) was tested in this study based on PCR using DNA barcoding primers. The results indicated that DNAs were successfully preserved with FTA cards in 76.74% of the tested samples and each taxon showed a different preservation rate. Especially, most families in monocots showed high preservation rates (100%) while Asteraceae showed low preservation rate (28.57%) compared to other families. Stored FTA cards were tested again after five years under the same experimental conditions as the previous test. The results showed that DNA was preserved in 54.26% of the samples, indicating that 29.9% of DNA-preserved samples are degraded after five years. However, Araceae, Amaryllidaceae, Asparagaceae, Liliaceae, Melanthiaceae, Brassicaceae, Araliaceae, and Asteraceae samples, of which DNA preservation was confirmed five years earlier showed a 100% preservation rate. This study suggests that the FTA card is a useful tool for DNA preservation in various plant taxa, of which preservation is confirmed in this study (or closely related taxa) and is applicable in the field of population genetics, phylogeny, identifications, inspections, etc.

**Keywords:** FTA card, DNA preservation, Asteraceae, monocots

## 1. 서 론

식물의 집단유전, 계통 연구 및 검역 등의 분야에 있어서 많은 시료들의 유전자를 빠르게 수집하여 간편하고 신뢰성 있게 보존하는 것은 연구의 성패를 좌우할 수 있다. 이러한 관점에서 FTA<sup>®</sup>(Flinders Technology Associates) 카드는 빠르고 간편하게 DNA를 수집하고 보존하여 이를 이용하여 후속 연구 및 검사를 수행할 수 있는 좋은 도구이다(www.watman.com). Whatman사가 특허를 보유하고 있는 FTA 카드는 종이 재질에 흡수된 혈액, 구강세포 시료, 식물 잎 조직 및 박테리아 등의 생물시료를 보존할 수 있는 기술이다(Rogers and Burgoyne, 1997; Hide *et al.*, 2003;

Lampel *et al.*, 2004). FTA 카드에 시료를 짓겨 묻히면 시료는 단백질의 비활성화와 함께 유리기(free radical)가 제거되며, FTA 카드에 스며든 DNA는 물리적으로 포획되는데, 이렇게 포획된 DNA는 DNase, 산화, UV, 박테리아, 곰팡이 등에 의한 DNA파괴로부터 보호되어 상온에서 장기간 보존이 가능하게 된다(Kubo and Fujita, 2006). DNA가 보존된 FTA 카드는 천공기를 이용하여 작은 조각으로 만든 후(그림 1) 유기물을 이용하지 않는 간단한 과정에 의해 이 조각에 포함된 DNA를 정제할 수 있고, 이 카드 조각을 PCR에 직접 이용할 수 있어 보존된 카드로부터의 후속 연구 및 검사가 매우 간편하게 진행될 수 있다(www.watman.com; FTA plantsaver card protocol 참조).

개발 초기에 FTA 카드는 주로 혈액시료를 보존하

\*Corresponding Author: Tel: +82-(0)2-920-7699  
e-mail: amborella@sungshin.ac.kr

여 병의 진단 및 법의학적 적용에 이용되었고(Becker et al., 2004), 이후 다른 동물세포와 박테리아로부터의 DNA보존에 이용되어 유전자감식, 제약산업, 생물종 감별, 검역, 계통연구 등의 분야에서 광범위하게 활용되고 있다(Rogers and Burgoyne, 1997; Becker et al., 2004). 그러나 식물분야에 있어서의 이용은 현재까지 매우 제한적으로, 주로 토마토, 담배, 벼, 옥수수 등과 같은 작물의 연구나 애기장대와 같이 연구를 위한 모델식물에서의 적용을 주 대상으로 할 뿐(Lin et al., 2000), 분류, 계통학적 측면에서 다양한 식물군에서의 FTA card의 적용성은 아직 테스트 된 적이 없다. 간편하고 쉬운 이용, 그리고 소량의 조직으로 DNA를 보존할 수 있다는 장점으로 FTA card는 다양한 식물군의 분류, 계통, 진화 연구와 멸종위기종 식물의 유전다양성, 집단유전 및 보존 연구 등에 활용될 수 있는 무한한 가능성을 지니고 있다.

본 연구에서는 지구 표면을 우점하고 있는 다양한 관속식물들에 대한 시료수집을 통하여 다양한 분류군들에서 FTA card에 의한 DNA 보존을 테스트하여 분류군 특성에 따른 활용성을 파악하고자 하며, 또한 상온에서의 보존 연한에 따른 보존 지속성도 평가하고자 한다. FTA card는 그 활용성이 확인된 분류군

에 대해서는 분류, 계통, 진화, 유전다양성 보존 및 검역 분야의 연구 및 이용에 있어서 강력한 도구로 사용될 수 있을 것이다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재료

본 연구에 사용된 재료는 한국 자생종들을 중심으로 무작위적으로 선택한 관속식물 78과 175속 196분류군으로 2011년 3월부터 10월까지 자생지에서의 채집 및 천리포수목원에 식재되어 있는 식물들을 이용하였다(표 1). 채집하여 이용한 시료들은 확정표본을 남겨 성신여자대학교 표본관(SWU)에 보관하였으며, 천리포수목원에 식재되어 있는 식물들의 이용 시에는 천리포수목원의 관리번호를 기록하였다(표 1). 실험에 사용된 모든 재료는 생체를 채집하여 Whatmann 사의 식물 전용 FTA plantsaver 카드(Cat. No. WB120065)를 이용하여 1 cm<sup>2</sup> 정도의 잎 조직을 문질러 파쇄시키면서 카드에 흡수시켰고(그림 1), 완전히 건조시킨 후 실리카겔을 넣은 지퍼백에 넣어 17~24도의 상온에 보관하였다. FTA 카드에 의한 DNA 보존성을 건조 보존한 식물의 잎 조직과 비교하기 위하여 실험을 위

**Table 1.** List of taxa included in this study and the result of PCR with plant DNA preserved on FTA cards

Taxa (number of families included)	Detection of PCR bands			Voucher information <sup>a</sup>	Sample ID
	FTA card (2011)	Extracted DNA from dried leaves	FTA card (2016)		
<b>PTERIDOPHYTES (6)</b>					
Selaginellaceae					
<i>Selaginella involvens</i> (Sw.) Spring 바위손	○		×	S. Kim 2010-5052 (SWU)	A-001
Equisetaceae					
<i>Equisetum hyemale</i> L. 속새* <sup>#</sup>	○		○	S. Kim 2010001 (SWU)	A-002
Osmundaceae					
<i>Osmunda japonica</i> Thunb. 고비	×	×	×	S. Kim 2010-5002 (SWU)	A-003
Pteridaceae					
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>latiusculum</i> (Desv.) Underw. 고사리	×	×	×	S. Kim 2010-5021 (SWU)	A-004
Aspidaceae					
<i>Onoclea sensibilis</i> var. <i>interrupta</i> Maxim. 아산고비	×	×	×	S. Kim 2010-5048 (SWU)	A-006
<i>Polystichum polyblepharum</i> (Roem.) C. Presl 나도히초미	×	×	×	S. Kim 2010-5004 (SWU)	A-005
Polypodiaceae					
<i>Pyrosia lingua</i> (Thunb.) Farw. 석위	×	×	×	CHOL 2007-0599	A-007
<b>GYMNOSPERMS (5)</b>					
Cycadaceae					
<i>Cycas revoluta</i> Thunb. 소철*	○		○	S. Kim 2010002 (SWU)	A-008
Ginkgoaceae					
<i>Ginkgo biloba</i> L. 은행나무	×	○	×	CHOL 2005-0561	A-009
Taxaceae					
<i>Taxus cuspidata</i> Siebold & Zucc. 주목	×	×	×	S. Kim 2010003 (SWU)	A-011
<i>Torreya nucifera</i> (L.) Siebold & Zucc. 비자나무	×	○	×	CHOL 1979-0004	A-010
Pinaceae					
<i>Cedrus deodara</i> (Roxb.) Loudon 개잎갈나무	×	×	×	CHOL 1985-0298	A-014
<i>Pinus parviflora</i> Siebold & Zucc. 설갯나무	×	×	×	S. Kim 2010004 (SWU)	A-012
<i>Pinus densiflora</i> Siebold & Zucc. 소나무	×	×	×	S. Kim 2010005 (SWU)	A-013
Cupressaceae					
<i>Juniperus chinensis</i> L. 향나무	○		×	S. Kim 2010-5075 (SWU)	A-134

<b>ANGIOSPERMS (65)</b>						
<b>BASAL ANGIOSPERMS (5)</b>						
Austrobaileyales						
Schisandraceae						
	<i>Illicium anisatum</i> L. 붓순나무	×	×	×	CHOL 1980-0069	A-015
	<i>Kadsura japonica</i> (L.) Dunal 남오미자	×	×	×	CHOL 1977-1137	A-017
	<i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill. 오미자	×	×	×	S. Kim 2010-5011 (SWU)	A-016
Chloranthales						
Chloranthaceae						
	<i>Chloranthus japonicus</i> Siebold 홀아비꽃대	×	×	×	S. Kim 2010-5050 (SWU)	A-018
<b>MAGNOLIIDS (3)</b>						
Piperales						
Aristolochiaceae						
	<i>Asarum sieboldii</i> Miq. 죽도리풀	×	×	×	S. Kim 2010-5057 (SWU)	A-024
Saururaceae						
	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb. 약모밀*	○		○	S. Kim 2010-5056 (SWU)	A-022
	<i>Saururus chinensis</i> (Lour.) Baill. 삼백초	×	×	×	S. Kim 2010-5057 (SWU)	A-023
Magnoliales						
Magnoliaceae						
	<i>Magnolia biondii</i> Pamp. 비온디목련	○		×	S. Kim 2010-5054 (SWU)	A-020
	<i>Magnolia obovata</i> Thunb. 일본목련	×	×	×	S. Kim 2010-5053 (SWU)	A-019
	<i>Magnolia virginiana</i> L. 버지니아목련	×	×	×	S. Kim 2010-5055 (SWU)	A-021
<b>MONOCOTS (11)</b>						
Alismatales						
Araceae						
	<i>Acorus calamus</i> L. 창포	×	○	×	S. Kim 2010-5017 (SWU)	A-027
	<i>Arisaema amurense</i> f. <i>serratum</i> (Nakai) Kitagausa 천남성	○		○	S. Kim 2010-5016 (SWU)	A-026
	<i>Symplocarpus renifolius</i> Schott ex Miq. 얇은부채	○		○	S. Kim 2010007 (SWU)	A-025
Asparagales						
Amaryllidaceae						
	<i>Allium fistulosum</i> L. 파*	○		○	CHOL 2001-1209	A-045
	<i>Allium microdictyon</i> Prokh. 산마늘#	○		○	CHOL 1986-0285	A-038
	<i>Allium sacculiferum</i> Maxim. 참산부추	○		○	CHOL 1986-0237	A-041
	<i>Lycoris chinensis</i> var. <i>sinuolata</i> K. H. Tae & S. C. Ko 진노랑상사화	○		○	CHOL 1997-0122	A-029
	<i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i> Roem. 수선화	○		○	CHOL 1987-0314	A-028
Asparagaceae						
	<i>Asparagus officinalis</i> L. 아스파라가스	○		○	S. Kim 2010009 (SWU)	A-039
	<i>Liriope platyphylla</i> F. T. Wang & T. Tang 맥문동	○		○	S. Kim 2010008 (SWU)	A-036
	<i>Polygonatum odoratum</i> var. <i>pluriflorum</i> (Miq.) Ohwi 등골레*	○		○	S. Kim 2010-5007 (SWU)	A-035
	<i>Smilacina japonica</i> A. Gray 풀솜대	○		○	S. Kim 2010-5019 (SWU)	A-047
	<i>Yucca gloriosa</i> L. 유카	○		○	CHOL 1979-0086	A-030
Asphodelaceae						
	<i>Hemerocallis middendorffii</i> Trautv. & C. A. Mey. 큰원추리	○		○	CHOL 20A-1089	A-043
Iridaceae						
	<i>Crocus sativus</i> L. 샐프란	○		○	CHOL 2003-0998	A-031
	<i>Belamcanda chinensis</i> (L.) DC. 범부채	○		○	S. Kim 2010-5013 (SWU)	A-032
Orchidaceae						
	<i>Cymbidium goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f. 보춘화	○		○	CHOL 1983-0185	A-033
Dioscoreales						
Dioscoreaceae						
	<i>Dioscorea quinqueloba</i> Thunb. 단풍마	×	○	×	S. Kim 2010-5015 (SWU)	A-034
Liliales						
Liliaceae						
	<i>Erythronium japonicum</i> (Baker) Decne. 얼레지	○		○	CHOL 2005-0572	A-040
	<i>Fritillaria ussuriensis</i> Maxim. 패모	○		○	CHOL 2001-0526	A-046
	<i>Lilium longiflorum</i> Thunb. 백합	○		○	CHOL 2007-0325	A-037
	<i>Lilium tigrinum</i> Ker-Gawl. 참나리	○		×	S. Kim 2010-5001 (SWU)	A-051
	<i>Lilium tsingtauense</i> Gilg 하늘말나리	○		○	S. Kim 2010-5006 (SWU)	A-050
	<i>Tulipa gesneriana</i> L. 튜울립	○		○	S. Kim 2010010 (SWU)	A-044
Melanthiaceae						
	<i>Heloniopsis koreana</i> Fuse, N. S. Lee & M. N. Tamura 처녀치마	○		○	CHOL 1999-0034	A-042
	<i>Paris verticillata</i> M. Bieb. 샷갓나물	○		○	S. Kim 2010-5051 (SWU)	A-049
	<i>Veratrum maackii</i> var. <i>japonicum</i> (Baker) T. Shimizu 여로	○		○	S. Kim 2010-5044 (SWU)	A-048
<b>COMMELINIDS (2)</b>						
Poales						
Juncaceae						
	<i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> Buchenau 꼴풀*	○		○	S. Kim 2012-0342 (SWU)	A-052
Poaceae(Graminae)						
	<i>Digitaria diliaris</i> (Retz.) Koel. 마랭이	○		×	S. Kim 2010011 (SWU)	A-053
<b>EUDICOTS (46)</b>						
<b>Basal eudicots (4)</b>						
Ranunculales						
Berberidaceae						
	<i>Epimedium koreanum</i> Nakai 삼지구엽초	×	×	×	S. Kim 2010-5022 (SWU)	A-057

<i>Jeffersonia dubia</i> (Maxim.) Benth. & Hook. f. 깽깽이풀	○		○	CHOL 1984-0251	A-055
<i>Leontice microrrhyncha</i> S. Moore 한계령풀	○		○	CHOL 2005-0640	A-056
<b>Papaveraceae</b>					
<i>Chelidonium majus</i> var. <i>asiaticum</i> (Hara) Ohwi 애기뿔풀	×	○	×	S. Kim 2010-5043 (SWU)	A-059
<i>Corydalis speciosa</i> Maxim. 산괴불주머니	○		○	S. Kim 2010012 (SWU)	A-062
<i>Corydalis ternata</i> Nakai 들현호색	○		○	CHOL 1991-0345	A-061
<i>Dicentra spectabilis</i> (L.) Lem. 금낭화*#	○		○	S. Kim 2010-5018 (SWU)	A-060
<i>Hylomecon vernalis</i> Maxim. 피나무	○		×	S. Kim 2010-5028 (SWU)	A-058
<b>Ranunculaceae</b>					
<i>Aconitum ciliare</i> DC. 늦깎이꽃나물	×	○	×	CHOL 1977-1038	A-064
<i>Aconitum pseudolaeve</i> Nakai 진범	×	×	×	S. Kim 2010-5023 (SWU)	A-073
<i>Adonis pseudoamurensis</i> W. T. Wang 개복수초	○		○	S. Kim 2010013 (SWU)	A-068
<i>Aquilegia buergeriana</i> var. <i>oxysepala</i> (Trautv. & Meyer) Kitam. 매발톱	○		○	S. Kim 2010-5014 (SWU)	A-071
<i>Caltha palustris</i> L. 동의나물	×	○	×	S. Kim 2010-5046 (SWU)	A-065
<i>Cimicifuga heracleifolia</i> var. <i>heracleifolia</i> Kom. 승마	×	×	×	S. Kim 2010-5005 (SWU)	A-074
<i>Hepatica asiatica</i> Nakai 노루귀	○		×	CHOL 1978-1020	A-063
<i>Pulsatilla cernua</i> var. <i>koreana</i> (Yabe ex Nakai) U.C. La 활미꽃	×	○	×	S. Kim 2010-5036 (SWU)	A-067
<i>Thalictrum actaeifolium</i> var. <i>brevistylum</i> Nakai 은평의다리	○		○	S. Kim 2010-5047 (SWU)	A-069
<i>Trollius hondoensis</i> Nakai 금매화	○		×	S. Kim 2010-5012 (SWU)	A-070
<b>Buxales</b>					
<b>Buxaceae</b>					
<i>Buxus koreana</i> Nakai ex T. H. Chung & al. 회향목	○		○	CHOL 1978-0003	A-054
<b>CORE EUDICOTS (42)</b>					
<b>Basal Core eudicots (4/19)</b>					
<b>Saxifragales</b>					
<b>Crassulaceae</b>					
<i>Hylotelephium spectabile</i> (Boreau) H. Ohba 큰평의비름	○		○	CHOL 1990-0114	A-086
<i>Sedum kamtschaticum</i> Fisch. & Mey. 기린초	×	×	×	S. Kim 2010-5032 (SWU)	A-087
<i>Sedum sarmentosum</i> Bunge 돌나물*	○		○	S. Kim 2010014 (SWU)	A-085
<b>Hamamelidaceae</b>					
<i>Corylopsis coreana</i> Uyeki 히어리	×	×	×	CHOL 1995-0239 (SWU)	A-088
<b>Paeoniaceae</b>					
<i>Paeonia japonica</i> (Makino) Miyabe & Takeda 백작약	×	○	×	S. Kim 2010-5030 (SWU)	A-072
<i>Paeonia suffruticosa</i> Andr. 모란	×	×	×	S. Kim 2010-5020 (SWU)	A-066
<b>Saxifragaceae</b>					
<i>Mukdenia rossii</i> (Oliv.) Koidz. 돌단풍	×	×	×	S. Kim 2010015 (SWU)	A-089
<i>Rodgersia podophylla</i> A. Gray 도깨비부채	×	×	×	S. Kim 2010-5049 (SWU)	A-090
<b>ROSIDS (22)</b>					
<b>ROSIDS I / FABIDAE (10)</b>					
<b>Celastrales</b>					
<b>Celastraceae</b>					
<i>Euonymus japonicus</i> Thunb. 사철나무	×	×	×	S. Kim 2010017 (SWU)	A-094
<b>Oxalidales</b>					
<b>Oxalidaceae</b>					
<i>Oxalis corniculata</i> L. 꿩이밥	×	○	×	S. Kim 2010-5034 (SWU)	A-103
<b>Malpighiales</b>					
<b>Euphorbiaceae</b>					
<i>Daphniphyllum macropodum</i> Miq. 굴거리나무	○		×	CHOL 1978-0482	A-101
<b>Violaceae</b>					
<i>Viola rossii</i> Hemsl. 고깔제비꽃	×	×	×	S. Kim 2010021 (SWU)	A-102
<b>Fabales</b>					
<b>Fabaceae</b>					
<i>Cassia mimosoides</i> var. <i>nomame</i> Makino 차풀	×	×	×	S. Kim 2010-5045 (SWU)	A-097
<i>Kummerowia striata</i> (Thunb.) Schindl. 매듭풀	×	×	×	S. Kim 2010-5025 (SWU)	A-098
<i>Sophora flavescens</i> Solander ex Aiton 고삼	○		×	S. Kim 2010-5037 (SWU)	A-099
<i>Trifolium repens</i> L. 토끼풀*	○		○	S. Kim 2010019 (SWU)	A-096
<i>Wisteria floribunda</i> (Willd.) DC. 등	×	○	×	S. Kim 2010018 (SWU)	A-095
<b>Fagales</b>					
<b>Fagaceae</b>					
<i>Fagus engleriana</i> Seem. ex Diels 너도밤나무	×	×	×	S. Kim 2010020 (SWU)	A-100
<b>Rosales</b>					
<b>Elaeagnaceae</b>					
<i>Elaeagnus glabra</i> Thunb. 보리장나무	○		×	CHOL 1979-1152 (SWU)	A-104
<b>Moraceae</b>					
<i>Ficus elastica</i> Roxb. 인도고무나무	×	×	×	S. Kim 2010021 (SWU)	A-105
<b>Rosaceae</b>					
<i>Agrimonia pilosa</i> Ledeb. 짚신나물#	○		○	CHOL 1996-0367	A-111
<i>Filipendula palmata</i> (Pall.) Maxim. 단풍터리풀	○		○	S. Kim 2010-5003 (SWU)	A-108
<i>Kerria japonica</i> (L.) DC. 황매화	×	×	×	CHOL 2001-0320	A-112
<i>Malus baccata</i> Borkh. 야광나무	○		○	CHOL 1980-0639	A-110
<i>Potentilla anemonefolia</i> Lehm. 가락지나물*	○		×	S. Kim 2010-5009 (SWU)	A-114
<i>Prunus mandshurica</i> var. <i>glabra</i> Nakai 개살구나무	×	×	×	S. Kim 2010-5010 (SWU)	A-116
<i>Raphiolepis indica</i> var. <i>umbellata</i> (Thunb.) Ohashi 다정큼나무	×	○	×	S. Kim 2010022 (SWU)	A-107
<i>Raphiolepis umbellata</i> var. <i>integerrima</i> Rehder 둥근잎다정큼나무	×	×	×	CHOL 1971-0022	A-109
<i>Sanguisorba officinalis</i> L. 오이풀	×	○	×	S. Kim 2010-5033 (SWU)	A-113
<i>Stephanandra incisa</i> (Thunb.) Zabel 국수나무	○		○	CHOL 1997-0283	A-106

Urticaceae						
<i>Laportea bulbifera</i> (Siebold & Zucc.) Wedd. 흑썩기풀	×	×	×	S. Kim 2010-5027 (SWU)	A-117	
<b>ROSIDS II / MALVIDAE (12)</b>						
Geraniales						
Geraniaceae						
<i>Geranium thunbergii</i> Siebold & Zucc. 이질풀	×	×	×	S. Kim 2010-5035 (SWU)	A-092	
<i>Pelargonium inquinans</i> Aiton 제라늄	○		○	S. Kim 2010016 (SWU)	A-091	
Myrtales						
Lythraceae						
<i>Lythrum anceps</i> (Koehne) Makino 부처꽃	×	×	×	S. Kim 2010-5041 (SWU)	A-093	
Brassicales						
Brassicaceae						
<i>Cardamine flexuosa</i> With. 황새냉이	○		○	S. Kim 2010-5061 (SWU)	A-120	
<i>Cardamine leucantha</i> (Tausch) O.E. Schulz 마나리냉이*	○		○	S. Kim 2010-5060 (SWU)	A-119	
<i>Draba nemorosa</i> L. 꽃다지	○		○	S. Kim 2010-5059 (SWU)	A-118	
Malvales						
Thymelaeaceae						
<i>Daphne kiusiana</i> Miq. 백서향	○		○	S. Kim 2010-5062 (SWU)	A-121	
Sapindales						
Aceraceae						
<i>Acer palmatum</i> Thunb. 단풍나무*	○		○	S. Kim 2010-5066 (SWU)	A-125	
Anacardiaceae						
<i>Rhus chinensis</i> Mill. 붉나무	×	○	×	S. Kim 2010-5063 (SWU)	A-122	
Rutaceae						
<i>Dictamnus dasycarpus</i> Turcz. 백선*	○		○	S. Kim 2010-5064 (SWU)	A-123	
Sapindaceae						
<i>Koelreuteria paniculata</i> Laxmann 모감주나무	×	○	×	S. Kim 2010-5065 (SWU)	A-124	
Caryophyllales						
Amaranthaceae						
<i>Achyranthes japonica</i> (Miq.) Nakai 쇠무릎	×	○	×	S. Kim 2010-5024 (SWU)	A-075	
Phytolaccaceae						
<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb. 자리공	○		○	S. Kim 2010-5031 (SWU)	A-076	
Polygonaceae						
<i>Aconogonon alpinum</i> (All.) Schur 싱아	×	×	×	S. Kim 2010-5038 (SWU)	A-082	
<i>Bistorta manshuriensis</i> (Petrov ex Kom.) Kom. 범꼬리	○		×	S. Kim 2010-5039 (SWU)	A-077	
<i>Fallopia japonica</i> (Houtt.) Ronse Decr. 호장근	×	○	×	S. Kim 2010-5008 (SWU)	A-080	
<i>Persicaria filiformis</i> (Thunb.) Nakai ex Mori 이삭여뀌	○		×	S. Kim 2010-5040 (SWU)	A-081	
<i>Persicaria perfoliata</i> (L.) H. Gross 머느리베짚	○		×	S. Kim 2010-5042 (SWU)	A-083	
<i>Rumex acetosa</i> L. 수영	○		×	S. Kim 2010-5026 (SWU)	A-079	
<i>Rumex crispus</i> L. 소리쟁이	○		○	CHOL 20A-1262	A-078	
Portulacaceae						
<i>Portulaca oleracea</i> L. 쇠비름	○		○	S. Kim 2010-5029 (SWU)	A-084	
<b>ASTERIDS (16)</b>						
<b>Basal Asterids (5)</b>						
Cornales						
Cornaceae						
<i>Cornus kousa</i> F. Buerger ex Miq. 산딸나무	×	×	×	S. Kim 2010-5067 (SWU)	A-126	
<i>Cornus officinalis</i> Siebold & Zucc. 산수유	×	×	×	S. Kim 2010-5068 (SWU)	A-127	
Ericales						
Ericaceae						
<i>Rhododendron mucromulatum</i> Turcz. 진달래	×	○	×	S. Kim 2010-5069 (SWU)	A-128	
Primulaceae						
<i>Lysimachia barystachys</i> Bunge 까치수염	×	×	×	S. Kim 2010-5073 (SWU)	A-132	
<i>Lysimachia davurica</i> Ledeb. 홑쌀풀	×	×	×	S. Kim 2010-5072 (SWU)	A-131	
<i>Primula sieboldii</i> E. Morren 앵초	×	×	×	S. Kim 2010-5071 (SWU)	A-130	
Pyrolaceae						
<i>Pyrola japonica</i> Klenze ex Alef. 노루발	×	○	×	S. Kim 2010-5070 (SWU)	A-129	
Theaceae						
<i>Camellia japonica</i> L. 동백나무	×	○	×	S. Kim 2010-5074 (SWU)	A-133	
<b>ASTERID I / LAMIIDS (9)</b>						
Boraginales						
Boraginaceae						
<i>Symphytum officinale</i> L. 썩프리	×	×	×	S. Kim 2010-5077 (SWU)	A-136	
<i>Trigonotis peduncularis</i> (Trevis.) Benth. ex Hemsl. 꽃마리	×	×	×	S. Kim 2010-5076 (SWU)	A-135	
Gentianales						
Gentianaceae						
<i>Gentiana squarrosa</i> Ledeb. 구슬봉이*	○		○	S. Kim 2010-5078 (SWU)	A-137	
Lamiales						
Lamiaceae						
<i>Lamium amplexicaule</i> L. 광대나물	○		×	S. Kim 2010-5079 (SWU)	A-138	
<i>Lamium purpureum</i> L. 자주광대나물	○		×	S. Kim 2010-5081 (SWU)	A-140	
<i>Lycopus lucidus</i> Turcz. 쇠싸리	×	×	×	S. Kim 2010-5082 (SWU)	A-141	
<i>Meehania urticifolia</i> (Miq.) Makino 벌개똥굴	○		○	S. Kim 2010-5080 (SWU)	A-139	
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudô 소엽#	×	×	×	S. Kim 2010-5084 (SWU)	A-143	
<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz. 속단	○		×	S. Kim 2010-5086 (SWU)	A-145	
<i>Savia chanryoenica</i> Nakai 참배암차즈기	×	×	×	S. Kim 2010-5087 (SWU)	A-146	

<i>Scutellaria insignis</i> Nakai 광릉골무꽃	×	○	×	S. Kim 2010-5085 (SWU)	A-144
<i>Stachys japonica</i> Miq. 적삼풀	○		×	S. Kim 2010-5083 (SWU)	A-142
<b>Oleaceae</b>					
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance 물푸레나무*	○		×	S. Kim 2010-5089 (SWU)	A-148
<i>Ligustrum japonicum</i> Thunb. 팽나무	×	○	×	S. Kim 2010-5088 (SWU)	A-147
<b>Phrymaceae</b>					
<i>Phryma leptostachya</i> var. <i>asiatica</i> H.Hara 파리풀	×	○	×	S. Kim 2010-5090 (SWU)	A-149
<b>Plantaginaceae</b>					
<i>Plantago asiatica</i> L. 절경이	○		×	S. Kim 2010-5091 (SWU)	A-150
<b>Scrophulariaceae</b>					
<i>Antirrhinum majus</i> L. 금어초	○		×	S. Kim 2010-5092 (SWU)	A-151
<i>Veronica persica</i> Poir. 큰개불알풀	○		○	S. Kim 2010-5093 (SWU)	A-152
<b>Verbenaceae</b>					
<i>Clerodendrum trichotomum</i> Thunb. 누리장나무	○		○	S. Kim 2010-5094 (SWU)	A-153
<b>Solanales</b>					
<b>Solanaceae</b>					
<i>Scopolia japonica</i> Maxim. 미치광이풀	○		○	S. Kim 2010-5095 (SWU)	A-154
<b>ASTERID II / CAMPANULIDS (7)</b>					
<b>Apiales</b>					
<b>Apiaceae(Umbelliferae)</b>					
<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm) Benth. & Hook.f. 구릿대*	○		○	S. Kim 2010-5097 (SWU)	A-156
<i>Angelica gigas</i> Nakai 참당귀*	○		×	S. Kim 2010-5100 (SWU)	A-159
<i>Angelica purpuraeifolia</i> T.H.Chung 지리강황	○		○	S. Kim 2010-5099 (SWU)	A-158
<i>Angelica tenuissima</i> Nakai 고본	×	×	×	S. Kim 2010-5096 (SWU)	A-155
<i>Bupleurum falcatum</i> L. 시호	×	○	×	S. Kim 2010-5102 (SWU)	A-161
<i>Cnidium officinale</i> Makino 천궁	×	×	×	S. Kim 2010-5103 (SWU)	A-162
<i>Pimpinella brachycarpa</i> (Kom.) Nakai 참나물	×	×	×	S. Kim 2010-5101 (SWU)	A-160
<i>Sanicula chinensis</i> Bunge 참반디	○		×	S. Kim 2010-5098 (SWU)	A-157
<b>Araliaceae</b>					
<i>Aralia continentalis</i> Kitagawa 독활	×	○	×	S. Kim 2010-5104 (SWU)	A-164
<i>Fatsia japonica</i> (Thunb.) Decne. & Planch. 팔손이나무	○		○	S. Kim 2010-5106 (SWU)	A-166
<i>Hedera rhombea</i> (Miq.) Bean 송악	○		○	S. Kim 2010-5105 (SWU)	A-165
<i>Kalopanax pictus</i> (Thunb.) Nakai 읍나무	×	×	×	S. Kim 2010-5107 (SWU)	A-167
<b>Aquifoliales</b>					
<b>Aquifoliaceae</b>					
<i>Ilex cornuta</i> Lindl. & Paxton 호랑가시나무	○		○	S. Kim 2010-5108 (SWU)	A-168
<b>Asterales</b>					
<b>Asteraceae(Compositae)</b>					
<i>Arctium lappa</i> L. 우엉*	○		×	S. Kim 2010-5127 (SWU)	A-187
<i>Artemisia japonica</i> Thunb. 제비쑥	×	○	×	S. Kim 2010-5119 (SWU)	A-179
<i>Artemisia selengensis</i> Turcz. ex Besser 물쑥	×	×	×	S. Kim 2010-5121 (SWU)	A-181
<i>Artemisia stolonifera</i> (Maxim.) Kom. 넓은잎외잎쑥	×	×	×	S. Kim 2010-5123 (SWU)	A-183
<i>Aster scaber</i> Thunb. 참취	×	×	×	S. Kim 2010-5126 (SWU)	A-186
<i>Atractylodes japonica</i> Koidz. 삼주*	○		○	S. Kim 2010-5117 (SWU)	A-177
<i>Cacalia firma</i> Kom. 병풍쌈	×	×	×	S. Kim 2010-5115 (SWU)	A-175
<i>Carpesium macrocephalum</i> Franch. & Sav. 여우오줌	×	×	×	S. Kim 2010-5124 (SWU)	A-184
<i>Chrysanthemum boreale</i> Makino 산국	×	×	×	S. Kim 2010-5116 (SWU)	A-176
<i>Crepidiastrum lanceolatum</i> (Houtt.) Nakai 갯고들빼기	×	○	×	S. Kim 2010-5109 (SWU)	A-169
<i>Farfugium japonicum</i> (L.) Kitam. 털머위	×	×	×	S. Kim 2010-5120 (SWU)	A-180
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav. 벌꽃아재비	×	×	×	S. Kim 2010-5125 (SWU)	A-185
<i>Ligularia fischeri</i> (Ledeb.) Turcz. 곱취	×	×	×	S. Kim 2010-5110 (SWU)	A-170
<i>Parasenecio auriculatus</i> (DC.) H.Koyama 귀박쥐나물	×	○	×	S. Kim 2010-5111 (SWU)	A-171
<i>Petasites japonicus</i> (Siebold & Zucc.) Maxim. 머위	×	×	×	S. Kim 2010-5112 (SWU)	A-172
<i>Syneilesis palmata</i> (Thunb.) Maxim. 우산나물	×	○	×	S. Kim 2010-5122 (SWU)	A-182
<i>Symurus deltoides</i> (Aiton) Nakai 수리취	×	×	×	S. Kim 2010-5118 (SWU)	A-178
<i>Tagetes minuta</i> L. 만수국아재비	×	○	×	S. Kim 2010-5113 (SWU)	A-173
<i>Taraxacum platycarpum</i> Dahlst. 민들레	×	×	×	S. Kim 2010-5114 (SWU)	A-174
<b>Campanulaceae</b>					
<i>Adenophora erecta</i> S.T.Lee, J.G.Lee & S.T.Kim 선모시대	○		○	S. Kim 2010-5131 (SWU)	A-191
<i>Adenophora remotiflora</i> (Siebold & Zucc.) Miq. 모시대	○		×	S. Kim 2010-5133 (SWU)	A-193
<i>Asyneuma japonicum</i> (Miq.) Briq. 영아자	○		○	S. Kim 2010-5128 (SWU)	A-188
<i>Campanula punctata</i> Lam. 초롱꽃	○		○	S. Kim 2010-5130 (SWU)	A-190
<i>Campanula takesimana</i> Nakai 섬초롱꽃*	○		○	S. Kim 2010-5129 (SWU)	A-189
<i>Codonopsis ussuriensis</i> (Rupr. & Maxim.) Hemsl. 소경불알	○		○	S. Kim 2010-5132 (SWU)	A-192
<b>Dipsacales</b>					
<b>Caprifoliaceae</b>					
<i>Viburnum wrightii</i> Miq. 산가막살나무	×	×	×	S. Kim 2010-5135 (SWU)	A-195
<i>Weigela subsessilis</i> (Nakai) L.H.Bailey 병꽃나무	○		×	S. Kim 2010-5134 (SWU)	A-194
<b>Valerianaceae</b>					
<i>Patrinia scabiosaefolia</i> Fisch. ex Trevir. 마타리	×	×	×	S. Kim 2010-5137 (SWU)	A-197
<i>Valeriana fauriei</i> Briq. 쥐오줌풀	○		×	S. Kim 2010-5136 (SWU)	A-196

<sup>a</sup>SWU, Herbarium of Sungshin Women's University; CHOL, accession number of plants in the Chollipo Arboretum

\*Taxa, of which DNA sequences of PCR bands are determined

<sup>#</sup>Taxa, of which PCR tests have performed seven times independently



**Figure 1.** The FTA Plant card and punching tool. Plant leaves are squashed on the card and DNA is preserved in the card at room temperature. PCR can be performed with a piece of punched card after the DNA purification step inside the PCR tube (arrow).

해 채집한 모든 시료는 따로 실리카겔과 함께 지퍼백에 넣어서 건조하여 상온에 보관하였다(그림 2).

## 2.2. 방법

채집 즉시 FTA 카드에 보존된 시료는 1~6개월 이후 일률적으로 DNA 추출 및 PCR을 실시하여 DNA의 보존성 및 분류군별 활용성을 확인하였다. 재료가 보존된 FTA 카드는 직경 1.5 mm의 Harris Uni-Core (Ted Pella, Inc. USA) 전용 펀치(그림 1)를 이용하여 카드 조각으로 잘라 내어 200  $\mu$ l PCR tube에 넣어 DNA 추출과 PCR 반응을 위한 전처리를 실시하였다. 전처리는 FTA plantsaver 카드의 사용자 지침서 대로 수행하였는데, 이는 천공된 카드를 1) 200  $\mu$ l의 FTA Purification Reagent (Whatman, Cat. No. 806806019)에서 4분간 처리하여 이물질들을 씻어내는 과정을 2회 실시하고, 2) 200  $\mu$ l의 TE<sub>0.1</sub>(10 mM Tris, 0.1 mM EDTA) 용액으로 2회 씻어낸 후 완전히 건조시키는 과정이다. PCR tube 안에서 전처리를 실시한 FTA 카드 조각으로 이후 즉시 PCR 과정을 수행 하였다.

분류군별 시료에 따른 FTA 카드의 DNA 보존성을 테스트 하고자 보존된 시료에 대하여 식물 분야의 계통 및 DNA 바코드 연구에 많이 이용되는 엽록체 유전체의 *atpF~atpH* intergenic spacer 구간(Pennisi, 2007)을 PCR로 증폭하였다(그림 2). PCR에 이용한 primer들은 관속식물에 대한 universal primer로 알려져 있는 Lahye *et al.* (2008)의 ATPF (5'-ACTCGCACACTCCCTTCC-3')와 ATPH (5'-GCTTTTATGG

AAGCTTTAACAAT-3')이다. PCR은 PCR master mix (Geneall, Seoul, Korea)를 이용하여 20  $\mu$ l 부피로 수행하였는데, 각각의 반응은 1) 전처리를 거친 천공된 FTA 카드조각과, 2) 10  $\mu$ l의 2X mastermix, 3) 각각 1  $\mu$ l씩의 primer들(10 mM), 4) 8  $\mu$ l의 deionized water를 포함한다. PCR 온도조건은 95°C에서 3분간 pre-denaturation 후, 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 45초의 반응을 35회 반복하고, 이후 72°C에서 7분간 반응시켜 완전한 double strand product를 만들어 냈다. 이 반응은 Mastercycler(BioRad, Hercules, USA)를 이용하여 수행하였다. PCR product들은 1.5% agarose gel에서 15분간 전기영동을 실시하여 사진촬영 후 반응의 성공 여부를 기록하고, 이를 이용하여 분류군별 보존성을 파악하였다.

PCR에 실패한 시료가 FTA 카드에 의한 DNA 보존이 이루어지지 않아서인지 아니면 primer 서열의 불일치 등의 다른 요인 때문인지를 파악하기 위해서 다음과 같은 추가 실험을 실시하였다(그림 2). PCR이 실패한 분류군들에 대해서 생체를 건조하여 보존한 잎 조직을 이용하여 DNA를 추출하고, 추출한 DNA에 의해 FTA 카드 시료와 같은 조건의 PCR을 실시하였다. 이들 시료에 대한 DNA 추출은 GENEALL Plant SV mini kit (GeneAll, Seoul, Korea)를 이용하였으며, 추출한 DNA는 Nanodrop (Thermo Scientific, USA)을 이용하여 10 ng/ $\mu$ l 농도로 희석하여 FTA 카드에 보존된 시료의 PCR 조건에서 1  $\mu$ l의 deionized water 대신 1  $\mu$ l의 DNA를 넣어 PCR을 실시하였다.

FTA 카드에 의한 식물 DNA의 보존 연한을 테스트 하고자 FTA 카드에 시료를 흡착하여 상온 보존한 시료들에 대하여 이후 약 5년이 지난 2016년 7월에 같은 조건의 PCR을 실시하였다. Band를 형성한 PCR 반응물들이 실제 엽록체 유전체의 *atpF~atpH* interspacer 구간인지 진위를 파악하고자 무작위로 선택된 20개의 시료에 대하여 염기서열을 결정 한 후 (표 1; \*로 표시) 이들 염기서열을 GenBank에서 Blast search를 통하여 최상위 검색 점수를 갖는 염기서열이 같은 종 또는 속에 해당하는 분류군인지 확인 하였다. DNA 염기서열 결정은 AB 3730 DNA analyzer에 의해 수행하였으며, 분석결과는 SEQUENCHER (ver. 4.8; Gene Codes, Co., USA)를 이용하여 forward와 reverse 염기서열을 비교하고, chromatogram의 질을 확인 후 최종 염기서열을 결정하였다.

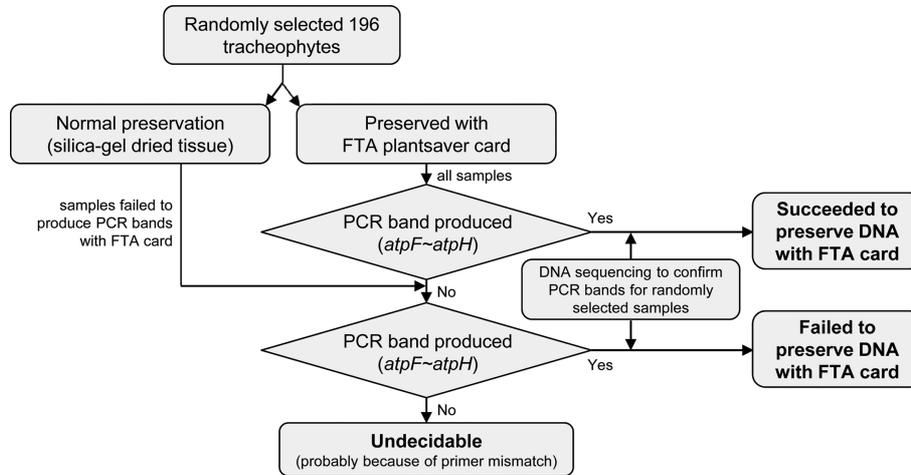


Figure 2. Workflow for the evaluation of DNA preservation for plant samples stored using the FTA card.

### 3. 결과 및 토의

FTA 카드로 관속식물 196 분류군의 시료채취가 이루어진 이후 약 1~6개월이 지난 2011년 10월에 PCR 테스트를 실시한 결과 99개의 분류군에서 *atpF~atpH* 구간의 PCR product가 확인되었다(표 1, 2). PCR에 실패한 분류군은 97개로서 이들 분류군들이 DNA 보존이 실패한 것인지 아니면 PCR primer 염기서열의 불일치에 의한 것인지 확인하여야 함으로 이들 분류군들에 대하여 실리카겔에 보존된 잎 조직에서 추출된 DNA를 이용한 같은 조건의 PCR을 시도하였다. 그 결과 이들 중 30 분류군에서 성공적으로 band가 형성되었으나, 67 분류군에서는 여전히 band를 형성하지 못하여 이들 분류군에서 최초의 PCR 반응 실패는 FTA 카드에 의한 DNA 보존 실패에 의함이 아니라 사용 프라이머의 염기서열 불일치 등 다른 원인 때문일 가능성을 제시하고 있다. 그러므로 196시료에 대하여 67 분류군을 제외한 129 분류군을 모수로 이들 중 99 시료에서 PCR이 성공하였으므로 전체 테스트한 시료에 대하여 FTA 카드에 의해 DNA가 잘 보존된 비율은 76.74%이며, 23.26%의 시료에서는 DNA 보존에 실패하였음을 확인 하였다(표 1, 2).

분류군별 DNA 보존성을 살펴보면, 전체 고사리류에서는 100%의 값을 갖지만(표 2; 그림 3C), 포함된 일곱 시료들 중 PCR 반응에 실패한 다섯 시료에서 실리카겔에 의해 정상적으로 보존된 후 정제된 DNA에 의한 PCR도 실패하여 결과적으로 두 분류군 만

이 의미 있는 데이터를 생성였다. 그러므로 고사리류에서의 결과는 FTA 카드에 의한 DNA 보존성을 파악하기에는 부족하였다. 그러나 본 결과는 Lahye *et al.* (2008)가 제시한 *atpF~atpH* 구간에 대한 primer들은 고사리류에서 작동하지 않을 가능성이 많음을 제시하고 있다. 나자식물은 50.00%의 분류군에서 DNA가 보존되었으며, 전체 피자식물에서는 71.58%다(표 2; 그림 3C).

FTA 카드에 의한 DNA의 보존은 1) 최초로 FTA 카드에 조직을 파쇄시켜 묻힐 때 DNA의 흡착이 잘 이루어 지는 지와, 2) 흡착이 일어난 이후에 DNA가 잘 보존되는지로 구분하여 생각할 수 있다. 전자는 각 분류군의 특성에 따라 다양하게 존재하는 이차대 사산물 등의 세포 내용물질이 DNA 흡착 방해물질이 존재하는지 여부가, 그리고 후자에서는 흡착된 DNA를 파괴시키는 요소들을 얼마나 포함하는지가 DNA 보존성에 영향을 미칠 것이다.

최신 피자식물 분류체계인 APG IV 분류 체계(APG, 2016)에서 인식하고 있는 주요 분류군들에 있어서 FTA 카드에 의한 분류군별 DNA 보존성을 살펴보면, 진정쌍자엽류(eudicots)가 71.74%이고, 진정쌍자엽류 내의 주요 분류군인 콩류(rosids I; Fabids), 아욱류(rosids II; Malvids), 꿀풀류(asterids I; Lamiids), 초롱꽃류(asterids II; Campanulids)에서는 69.23~80.00% 정도의 보존성을 보이는데, 특히 단자엽류(monocots)에서는 93.10%에 이르는 매우 높은 보존성을 보인다(표 2). 시료의 수가 3개 이상으로 의미 있는 값을 제공할 수 있는 과들의 비교에서는 단자엽류의 수선

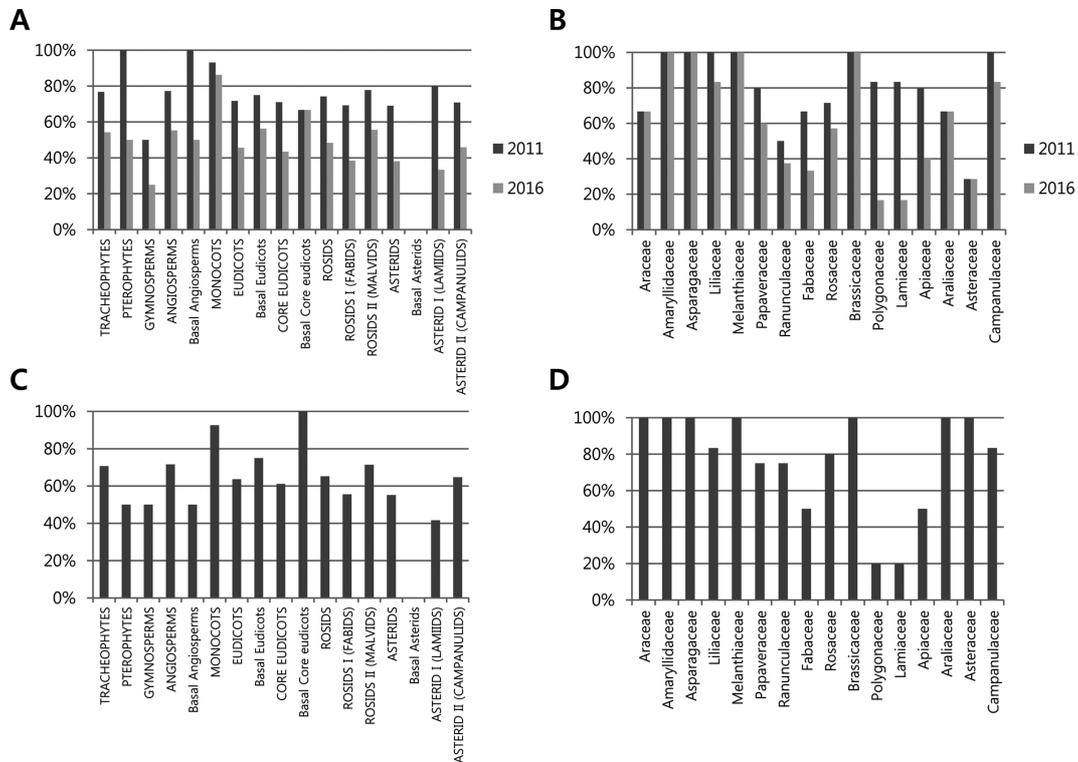
**Table 2.** Success rate of DNA preservation with FTA cards for various taxa and DNA survival rates after five years

	Taxa	Year		DNA preservation rate after five years	
		2011	2016		
Higher ranks	<b>TRACHEOPHYTES</b>	76.74%	54.26%	70.71%	
	<b>PTEROPHYTES</b>	100.00%	50.00%	50.00%	
	<b>GYMNOSPERMS</b>	50.00%	25.00%	50.00%	
	<b>ANGIOSPERMS</b>	77.24%	55.28%	71.58%	
	Basal Angiosperms	100.00%	50.00%	50.00%	
	<b>MONOCOTS</b>	93.10%	86.21%	92.59%	
	<b>EUDICOTS</b>	71.74%	45.65%	63.64%	
	Basal Eudicots	75.00%	56.25%	75.00%	
	<b>CORE EUDICOTS</b>	71.05%	43.42%	61.11%	
	Basal Core eudicots	66.67%	66.67%	100.00%	
	<b>ROSIDS</b>	74.19%	48.39%	65.22%	
	ROSIDS I (FABIDS)	69.23%	38.46%	55.56%	
	ROSIDS II (MALVIDS)	77.78%	55.56%	71.43%	
	<b>ASTERIDS</b>	69.05%	38.10%	55.17%	
	Basal Asterids	0.00%	0.00%	0.00%	
	ASTERID I (LAMIIDS)	80.00%	33.33%	41.67%	
	ASTERID II (CAMPANULIDS)	70.83%	45.83%	64.71%	
	Families	Araceae	66.67%	66.67%	100.00%
		Amaryllidaceae	100.00%	100.00%	100.00%
Asparagaceae		100.00%	100.00%	100.00%	
Liliaceae		100.00%	83.33%	83.33%	
Melanthiaceae		100.00%	100.00%	100.00%	
Papaveraceae		80.00%	60.00%	75.00%	
Ranunculaceae		50.00%	37.50%	75.00%	
Fabaceae		66.67%	33.33%	50.00%	
Rosaceae		71.43%	57.14%	80.00%	
Brassicaceae		100.00%	100.00%	100.00%	
Polygonaceae		83.33%	16.67%	20.00%	
Lamiaceae		83.33%	16.67%	20.00%	
Apiaceae		80.00%	40.00%	50.00%	
Araliaceae		66.67%	66.67%	100.00%	
Asteraceae		28.57%	28.57%	100.00%	
Campanulaceae	100.00%	83.33%	83.33%		

화과(Amaryllidaceae), 비짜루과(Asparagaceae), 백합과(Liliaceae), 멜란지움과(Melanthiaceae)와 함께 십자화과(Brassicaceae), 초롱꽃과(Campanulaceae)가 100%의 높은 보존성을 보이고 있었다. 이는 FTA카드에 의한 DNA 보존성 테스트가 이루어지지 않은 분류군이라도 위의 과에 해당하는 식물들은 성공적 DNA 보존이 이루어질 가능성이 높음을 제시하고 있다. 국화과(Asteraceae) 식물들은 28.57%의 매우 낮은 보존성을 보이고 있었다(표 2). 국화과 식물들은 일반적으로 polyacetylene, terpenoid, sesquiterpene lactone과 같은 이차대사산물들을 많이 갖고 있어(Jude *et al.*, 2016)

이들이 FTA 카드에 의한 DNA의 낮은 보존성과 연관이 있을 가능성이 있으며, 테스트가 이루어지지 않은 국화과 식물들의 FTA 카드 사용은 지양되어야 할 것이다.

최초의 실험이 있던 2011년 이후 5년 간 상온에서 FTA 카드를 보존하였고, 2016년 7월에 2011년과 동일한 실험을 반복하여 흡착된 DNA의 보존성을 실험하였다(그림 4). 그 결과 실험에 사용한 전체 관속식물에 대하여 54.26%만이 FTA 카드에 의한 DNA 보존이 확인되어 최초 실험 대비 70.71%가 보존되었고, 5년의 기간 동안 29.29%의 시료에서는 DNA의 de-

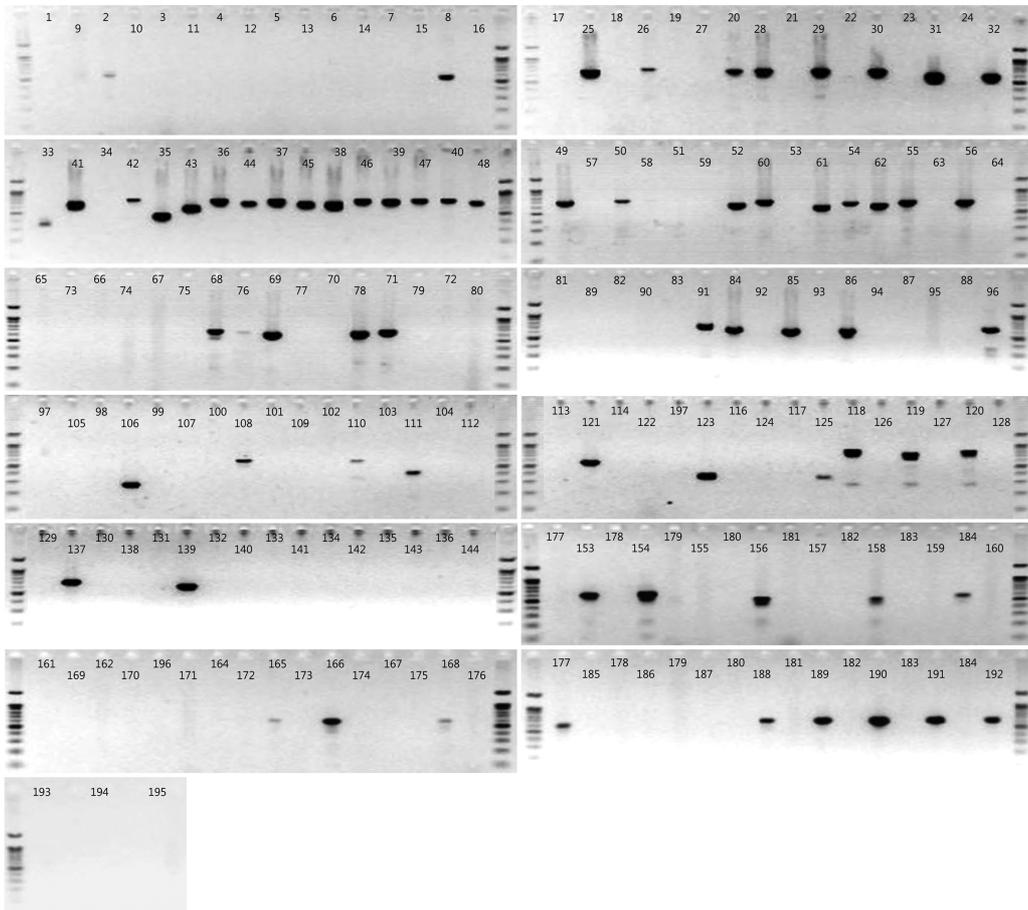


**Figure 3.** A and B, rate of successful DNA preservation using FTA card for taxonomic groups higher than the orders (A) and families (B) of the APG IV system (APG, 2016). C and D, rate of DNA samples that survived after five years. Families with more than three samples were selected (B and D).

gradation이 이루어 졌음을 확인하였다(표 2; 그림 2B). 최초 실험에서 높은 보존성을 보인 단자엽 식물에 있어서는 5년 후 86.21%가 보존되어 최초 실험 대비 92.59%의 높은 시간적 보존성을 보이고 있다(표 2; 그림 2B). 과별 비교에 있어서는 전체 관속식물이 최초 실험 대비 5년 후 전반적으로 75% 이상의 비교적 높은 보존성을 보이고 있지만, 콩과(Fabaceae)는 50%, 마디풀과(Polygonaceae)는 20%, 꿀풀과(Lamiaceae)는 20%, 산형과(Apiaceae)는 50%만의 보존성을 보여 이들 분류군에 있어서는 다른 분류군들 보다 DNA의 빠른 분해가 이루어지고 있음을 제시하고 있다(표 2; 그림 2B). 이에 반해 5년 전 천남성과(Araceae), 수선화과(Amaryllidaceae), 비짜루과(Asparagaceae), 백합과(Liliaceae), 멜란지움과(Melanthiaceae), 십자화과(Brassicaceae), 두릅나무과(Araliaceae), 국화과(Asteraceae) 시료들 중 DNA 흡착 및 보존이 확인된 시료들은 5년 동안 100% DNA 보존이 이루어 짐을 확인할 수 있었다(표 2; 그림 2B). 이 결과는 이들 분류군에서는 FTA 카드에

DNA 흡착이 잘 이루어진 이후에는 높은 보존 연한을 보임을 제시하고 있다.

위의 실험과는 별도로 실험 결과에 대한 신뢰성을 높이고자 FTA 카드에 의한 식물 DNA의 보존이 각각의 시료에서 일정하게 일어나는지를 테스트 하였다. 2011년과 2016년 실험에서 무작위로 선별된 다섯 분류군에 대하여(표 1, #로 표시) 분류군 당 일곱 번의 동일한 실험을 실시하였는데, 그 결과 각각의 분류군에서 독립적인 일곱 번 모두 동일한 수준의 단일 PCR band를 형성하여 한 시료 내에서의 DNA 보존성은 동일함을 확인하였다(data not shown). 엽록체의 *trnH-psbA* 구간에 대한 primer들은 DNA 바코딩에 이용하는 universal primer들이어서(Lahye *et al.*, 2008; Pennisi, 2007) 결과에서 보여주는 생성된 PCR band가 엽록체의 *trnH-psbA* 구간이 아닐 가능성은 매우 낮다고 판단되지만, 본 연구에서는 생성된 PCR band에 대하여 무작위로 20개를 선택하여 이들의 염기서열을 결정하였다. 생성된 염기서열에 대한 blast 검색 결과 테스트에 사용된 모든 염기서열이 GenBank에



**Figure 4.** An example of agarose-gel electrophoresis pictures of PCR products to confirm DNA preservation status for various tracheophytes samples stored using the FTA card. PCRs of the chloroplast *atpF*-*atpH* region performed using FTA cards stored for five years at room temperature (18~25°C). Numbers indicated on each lane are matched with the “sample ID” in table 1.

등록된 해당 식물과로부터 유래된 염기서열과 가장 높은 유사도를 보였다. 이는 PCR 결과에서 제시된 band의 유무로 FTA 카드에 의한 DNA 보존성을 보여주는 데 대한 신뢰성을 높이는 결과이다.

식물 시료의 FTA 카드에 의한 DNA 보존성은 지금까지 애기장대(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.), 대마(*Cannabis sativa* L.), 카사바(*Manihot esculenta* Crantz), 코카(*Erythroxylum coca* Lam.), 옥수수(*Zea mays* L.), 난과식물(*Orchid* sp.), 파파야(*Carica papaya* L.), 페튜니아(*Petunia* sp.), 양귀비(*Papaver somniferum* L.), 감자(*Solanum tuberosum* L.), 벼(*Orzya sativa* L.), 콩(*Glycine max* L.), 사탕무(*Beta vulgaris* L.), 사탕수수(*Saccharum officinarum* L.), 담배(*Nicotiana tabacum* L.), 토마토(*Solanum lycopersicum* L.)에서 성공적으로

확인된 바 있는데(Lin *et al.*, 2000), 이들은 모두 경제적으로 중요한 작물 또는 연구를 위한 모델식물들이다. 본 연구에서는 다양한 관속식물에 대하여 FTA 카드에 의한 DNA 보존성 및 보존 연한 테스트의 결과를 제시하였다. 테스트가 이루어진 분류군 또는 이들의 근연 분류군들에 있어서 FTA 카드는 향후 분류, 계통, 보존 연구에 있어서 바로 사용할 수 있는 강력한 도구가 될 것으로 생각된다. FTA 카드에 의한 DNA 보존은 1) 전수조사가 필요하여 많은 수의 시료가 필요하고, 또한 2) 한 시료당 채취할 수 있는 조직이 제한되어 있는 희귀식물 또는 멸종위기식물의 분류, 계통, 진화 연구에 있어서 널리 활용될 수 있을 것이다.

## 4. 결 론

FTA 카드는 식물 조직에 포함된 DNA를 빠르고 간편하게 보존할 수 있는 방법이다. 그러나 지금까지 FTA 카드에 의한 DNA 보존성은 벼, 감자, 토마토 같은 몇몇 경제작물 및 애기장대와 같은 모델식물에 서만이 이루어졌다. 본 연구에서는 다양한 관속식물 196분류군에 대하여 DNA 바코드 프라이머에 의한 PCR을 이용해 FTA 카드를 이용한 DNA 보존이 이루어질 수 있는지 검사하였다. 그 결과 실험에 이용된 전체 관속식물의 76.74%의 분류군에서 성공적인 DNA 보존이 이루어졌고, 분류군별로 DNA 보존성에 대한 차이를 확인 하였다. 특히 단자엽식물들은 대부분의 과에서 100%의 매우 높은 보존율을 보였고, 국화과 식물들에 있어서는 28.57%의 낮은 보존성을 나타내었다. FTA 카드에 의한 DNA 보존 연한을 검사하고자 시료가 묻은 FTA 카드를 5년 간 보존한 후 동일한 실험을 한 결과 DNA 보존율은 54.26%로서 5년 전 대비 29.9%의 시료에서 DNA가 분해되었음을 보여주었다. 그러나 5년 전 성공적 DNA 보존이 확인된 수선화과, 비짜루과, 멜란지움과, 십자화과, 두릅나무과, 국화과 식물들의 시료에 있어서는 5년 후에도 100%의 보존성을 보였다. 관속식물의 집단유전, 계통, 진화연구 및 감별, 검역과 같은 이용에 있어서 FTA 카드에 의한 DNA 보존성에 대한 분류군별 특성을 보여주는 본 실험 결과는 향후 동일 분류군 및 근연 분류군에 대한 FTA 카드 활용을 판단할 수 있는 자료를 제공하고 있다.

## 감사의 글

본 연구는 2014년도 성신여자대학교 학술연구조성비에 의해 지원받았음을 밝힙니다. 본 연구의 재료수집과 자료정리에 도움을 주신 이정은, 박지은, 노은숙님께 감사 드리며, 또한 다양한 식물 재료수집을 허락해 주신 천리포수목원에 감사 드립니다.

## References

- APG (The Angiosperm Phylogeny Group). 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181: 1-20.
- Becker S., Franco, J. R., Simarro, P. P., Stich, A., Abel, P. M., and Steverding, D. 2004. Real-time PCR for detecting *Trypanosoma brucei* in human blood samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 50: 193-199.
- Hide, G., Hughes, J. M., and McNuff, R. 2003. A rapid and simple method of detection of *Blepharisma japonicum* using PCR and immobilisation on FTA paper. *BMC Ecology* 3: 7.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., and Donoghue M. J. 2016. *Plant Systematics—A Phylogenetic Approach*. 4<sup>th</sup> ed. Sinauer, Sunderland. Pp 541-542.
- Kubo S. and Fujita, Y. 2006. Application of FTA technology to extraction of sperm DNA from mixed body fluids containing semen. *Legal Medicine* 8: 43-47.
- Lahaye, R., van der Bank, M., Bogarin, D., Warmer, J., Bupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T. G., and Savolainen, V. 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of National Academy of Science, USA* 105: 2923-2928.
- Lampel, K. A., Dyer, D., Kornegay, L., and Orlandi, P. A. 2004. Detection of *Bacillus* spores using PCR and FTA Filters. *J. Food Protection* 67: 1036-1038.
- Lin, J.-J., Fleming, R., Kuo, J., Matthews, B. F., and Saunders, J. A. 2000. Detection of plant genes using a rapid, nonorganic DNA purification method. *BioTechniques* 28: 364-350.
- Pennisi, E. 2007. A Barcode for Plants. *Science* 318: 190-191.
- Rogers, C. and Burgoyne, L. 1997. Bacterial typing: storing and processing of stabilized reference bacteria for polymerase chain reaction with preparing DNA—an example of automatable procedure. *Analytical Chemistry* 247: 223-227.