

## 창의연구사업

### Creative Research Program

종특이성 방사선 회복시스템 규명 및 활용연구

Identification and Application of Species-specific Recovery  
Systems for Radiation-induced Damages

*KAERI*

한국원자력연구원

과학기술정보통신부



## 제 출 문

과학기술정보통신부 장관 귀하

이 보고서를 “창의연구사업” 과제 단위과제 “종특이성 방사선 회복시  
스템 규명 및 활용 연구”의 연구보고서로 제출합니다.

2018년 1월 26일

주관연구기관명	한국원자력연구원
주관연구책임자	김진홍
연구원	김진규 이승식 이성범 정광우 최승희 고영삼 류태호 홍성현 손윤석 임승주



## 보고서 요약서

과제고유번호	527720-17	해당단계 연구기간	2015.01.01 2017.12.31	단계구분	1/1	
연구사업명	중사업명	주요사업				
	세부과제명	창의연구사업				
연구과제명	대과제명	창의연구사업				
	세부과제명	종특이성 방사선 회복시스템 규명 및 활용 연구				
연구책임자	김진홍	해당단계	총 16명	해당단계 연구비	정부	1,790,599 천원
		참여	내부 8명		기업	천원
		연구원수	외부 8명		계	1,790,599 천원
		총연구기간	총 16명	총 연구비	정부	1,790,599 천원
		참여	내부 8명		기업	천원
		연구원수	외부 8명		계	1,790,599 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국원자력연구원 생명공학연구부			참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국 연구기관명 :			
위탁연구	연구기관명 :		연구책임자 :			
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내로 작성합니다.)				보고서 면수	p.	
<p>과제의 연구내용은 방사선 회복/방어 유전자 공동발현 네트워크 해석, 후성인자의 방사선 회복/방어 역할 규명, 종특이적 방사선 회복/방어 분자지표 개발, 방사선 회복/방어 분자지표의 분자선량평가 활용, 방사선 회복/방어 유전자의 이종발현 및 활용을 포함하며, 2017년 연구결과는 다음과 같다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다양한 유전독성 처리에 따른 DNA 손상 반응 유전자 발현 양상 해석</li> <li>○ SOG1과 NAC103을 포함하는 DNA 손상 회복 기작 모델 확립</li> <li>○ 감마선 유도 전사인자 3종의 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석</li> <li>○ DNA 손상 회복의 homologous recombination에 DDM1의 후성유전적 역할 규명</li> <li>○ 전사체 기반 phytodosimetry 분자지표의 민감도 및 신뢰도 검증</li> <li>○ 전사체 기반 방사선 선량평가 모델 확립 및 활용성 검증</li> <li>○ <i>DcPrx</i> 과발현체의 환경스트레스 내성 검증</li> </ul>						
색인어 (각 5개 이상)	한글	식물선량평가, DNA 손상 반응, 후성유전체, 환경 모니터링, 환경스트레스 내성				
	영어	Phytodosimetry, DNA damage response, epigenome, environmental monitoring, environmental stress tolerance				



---

# 요 약 문

---

## I. 제 목

종특이성 방사선 회복시스템 규명 및 활용연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 연구개발의 목적

- 방사선의 생물영향 평가 및 활용을 위한 세계선도 원천기술을 개발함으로써 국제적 기술 신인도를 제고하여 국가 원자력 관련시설의 안정적 관리 및 국민의 불안감 해소에 기여
- 방사선 내성인자 중간 활용기술 개발을 통해 방사선 생명공학 핵심기술을 제공함으로써 국내 방사선 생물산업의 국제 경쟁력 향상에 기여

### 2. 연구개발의 필요성

- 방사선 생물방호에 대한 국제기구의 가이드라인 변화와 방사선의 생물학적 환경안정성 평가에 대한 국민적 요구에 대응 필요
- 국내 방사선 산업의 발전, 특히 방사선 의학 및 농생물산업의 세계 경쟁력 제고를 위한 방사선 생명공학 원천기술 및 선도기술 개발 필요

## III. 연구개발의 내용 및 범위

### 1. 방사선 회복/방어 유전자 공동발현 네트워크 해석

- 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립: 종특이성 방사선 회복/방어 유전자의 공동발현 네트워크 분석결과를 종합해 이들 유전자의 조절기작 및 경로를 해석하고 생리적 역할 모델 제시

### 2. 후성인자의 방사선 회복/방어 역할 규명

- 방사선의 DSB 유발과 회복에 후성인자의 역할 규명: 방사선에 의한 유전독성의 대표적

유형인 DSB의 발생과 회복에서 에피지놈의 영향과 역할을 지난 2년간의 연구에서 제작/확보한 다양한 애기장대 변이체 및 형질전환체를 이용하여 chromatin remodeling, DNA methylation, microRNA 측면에서 규명. 또한 방사선 회복/방어 유전자 발현 조절에 후성인자, 전사조절자의 분자기능 제안

### 3. 종특이적 방사선 회복/방어 분자지표 개발

○ 방사선 회복/방어 평가용 식물 유전자/단백질 지표 개발: 방사선 회복/방어 시스템의 변화와 연계된 식물 유전체/단백질체 지표에 대한 탐색 확대 및 분자지표로서의 범위와 가능성 검증. 이를 위한 방사선 회복/방어 관련 전사체 기반의 분자지표 탐색 및 선발

### 4. 방사선 회복/방어 분자지표의 분자선량평가 활용

○ 종특이적 분자지표의 식물 방사선 민감도 평가 활용: 모델식물에서 지난 2년간 발굴한 유전체/에피지놈/전사체/단백질체 분자지표를 활용하여 유전독성 민감도를 평가하고 표현형 등의 기존 분석기법과 비교하여 분자선량평가에서의 적합성 확인. 특히 2016년 전사체 비교 분석을 통해 선발한 종특이적 방사선 분자지표의 민감도와 신뢰도 검증

### 5. 방사선 회복/방어 유전자의 이종발현 및 활용

○ *DcPrx* 도입 애기장대 개발 및 환경스트레스 내성 검증: 방사선 저항성 미생물인 *Deinococcus radiodurans*의 방사선 스트레스 회복/방어 관련 *DcPrx* 유전자를 애기장대에 도입하여 환경스트레스 내성 검증을 통해 세포내 생리적 기능 및 분자기작 규명

## IV. 연구개발결과

### 1. 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립

- UV-B, MMS, HU 처리 식물의 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교
- UV-B와 유전독성에 의한 *NAC103* 유전자 발현 유도
- *nac103* 기능제거 돌연변이체 제작 및 선발
- 유전독성에 대한 *nac103* 기능제거 돌연변이체의 표현형 해석
- 야생형과 *nac103* 기능제거 돌연변이체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교
- 야생형과 *NAC103* 과발현체의 DNA 손상 회복 관련 유전자 발현 비교



- 유전독성에 대한 *NAC103* 과발현체의 표현형 해석
- DNA 회복 관련 유전자에 대한 *NAC103*의 전사활성화 분석
- *sog1* 돌연변이체에서 *NAC103*과 *NAC103-GFP* 과발현 효과 비교
- *NAC103*과 DNA 회복 관련 유전자 프로모터와 *SOG1*과의 결합 분석
- 식물의 DNA 손상 반응과 ER 스트레스의 상관관계 해석
- 감마선과 유전독성에 의한 *At5g60250*, *NAC44*, *NAC85* 유전자 발현 유도
- *At5g60250-GFP* 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석
- *NAC44-GFP* 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석
- *NAC85-GFP* 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석

## 2. 방사선의 DSB 유발과 회복에 후성인자의 역할 규명

- 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 표현형 검증
- 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 DNA 손상 규명
- 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 DNA 손상 원인 규명
- 감마선 조사 후 RAD51 foci 분석
- *DRD1* 과발현체 제작 및 선발
- 감마선 조사 후 *drd1* 돌연변이체와 과발현체의 표현형 검증

## 3. 방사선 회복/방어 평가용 식물 유전자/단백질 지표 개발

- 단일세포 겔 전기영동(SCGE)법을 이용한 감마선 선량평가 범위 검증
- $\gamma$ -H2AX 분석을 통한 감마선 선량평가 범위 검증
- 감마선 반응 전사체 기반의 방사선 선량평가 모델 확립

## 4. 종특이적 분자지표의 식물 방사선 민감도 평가 활용

- 저선량 방사선 조사 후 감마선 반응 유전자들의 선량-반응 해석
- 식물 방사선 선량평가에서 선량률 영향 규명
- 방사선 반응 전사체 기반의 선량평가 모델의 활용성 검증

## 5. *DcPrx* 도입 애기장대 개발 및 환경스트레스 내성 검증

- *DcPrx* 과발현체의 건조스트레스 내성 검증
- *DcPrx* 과발현체의 염스트레스 내성 검증

- *DcPrx* 과발현체의 열스트레스 내성 검증
- *DcPrx* 과발현체의 biotic stress 내성 검증
- *DcPrx* 과발현체의 강광스트레스 내성 검증
- *DcPrx* 과발현체의 UV-B 스트레스 내성 검증

## V. 연구개발결과의 활용계획

### 1. 과학기술적 활용

- 방사선 손상 회복/방어에 후성인자의 역할 규명을 위한 후속 연구 촉진
- 다양한 방사선 내성 인자를 활용한 환경스트레스 내성 식물 개발에 활용
- 방사선의 농산물 및 의학산업 활용을 위한 기반기술 개발에 활용

### 2. 사회·경제적 활용

- 원자력 및 방사선 시설의 안정적 관리와 국민적 신뢰도 제고에 활용
- 농업 생산성 향상과 국가 농산물 산업 경쟁력 제고에 활용
- 원자력 및 방사선 기술에 대한 국민 수용성 증진과 관련 산업 발전에 활용

KAERI

---

# SUMMARY

---

## I. Project Title

Identification and application of species-specific recovery systems for radiation-induced damages

## II. Objective and Importance of the Project

### 1. Objective of the project

○ This project aims to develop a global leading-edge technology for evaluation (biodosimetry) and application of biological effects of ionizing radiation.

### 2. Importance of the project

○ This project contributes to deal with changed guidelines of IAEA and ICRP for radiation bioprotection and to cope with increasing public demands for evaluation of eco-safety of national nuclear facilities by heightening the international trust of radiation biotechnology in Korea.

## III. Scope and Contents of Project

### 1. Interpretation of co-expression networks of radiation-induced damage repair/defense genes

○ Establishment of a working model for interpretation of plant radiation-induced damage repair/defense mechanisms: integrated analysis of co-expression data of species-specific radiation-induced damage repair/defense genes to elucidate the physiological roles of these genes as well as their regulation mechanism and signaling pathway

## **2. Elucidation of epigenetic regulation of radiation-induced damage repair/defense systems**

○ Elucidation of roles of epigenetic factors on occurrence and repair of radiation-induced double-strand breaks: Elucidation of effects and roles of epigenomes on occurrence and repair of DSBs, the main radiation-induced genotoxic event, in terms of chromatin remodeling, DNA methylation, and microRNA using various *Arabidopsis* mutants and transformants.

## **3. Development of molecular markers for species-specific radiation-induced damage repair/defense systems**

○ Development of plant genome/epigenome/transcriptome/proteome parameters for evaluation of radiation-induced damage repair/defense activities: Extensive search and verification of plant genome/epigenome/transcriptome/proteome parameters associated with radiation-induced damage repair/defense systems as molecular markers for radiation phytodosimetry

## **4. Application of molecular markers for phytodosimetry of radiation-induced damages in plants**

○ Application of species-specific radiation-responsive molecular markers for evaluation of plant radiation sensitivity: Sensitivity test of previously identified genome/epigenome/transcriptome/proteome molecular markers to genotoxicity and verification of applicability of these markers in radiation phytodosimetry

## **5. Inter-species expression and application of radiation-induced damage repair/defense genes**

○ Verification of environmental stress tolerance of *DcPrx*-overexpressing plants: Investigation of environmental stress tolerance in a transgenic *Arabidopsis* overexpressing *DcPrx*, a radiation-induced damage repair/defense-related gene of *Deinococcus radiodurans*, under various stress conditions

## IV. Result of Project

1. Establishment of a working model for interpretation of plant radiation-induced damage repair/defense mechanisms through comparative analysis of DNA damage response gene expression in various overexpressing and knockout lines for *SOG1* and *NAC103*
2. Elucidation of roles of epigenetic factors on occurrence and repair of radiation-induced double-strand breaks by analyzing homologous recombination repair in *ddm1* mutants
3. Development of plant genome/epigenome/transcriptome/proteome parameters for evaluation of radiation-induced damage repair/defense activities by comparing with the traditional cytogenetic methods such as comet and  $\gamma$ -H2AX assays for radiation biodosimetry
4. Application of species-specific radiation-responsive molecular markers for evaluation of plant radiation sensitivity in various ecotypes of a model plant, *Arabidopsis*, after exposure to low-dose gamma radiation of different doses and dose rates
5. Verification of environmental stress tolerance of *DcPrx*-overexpressing plants by investigating their phenotypes and photosynthetic abilities under drought, salinity, heat, pathogen, high intensity light, and UV-B stresses

## V. Proposal for Applications

### 1. Scientific application

- Promotion of further research for functional elucidation of epigenetic factors in radiation-induced damage repair/defense systems
- Application of various epigenetic factors associated with radiation-induced damage tolerance in development of environmental stress-tolerant plants
- Development of a leading-edge technology for application of ionizing radiation in agrobiological or medical industry

## 2. Socioeconomic application

- Improving secure management and public confidence of nuclear and radiation-related facilities
- Increasing agricultural productivity and international competitiveness of agrobiological industry
- Improving public acceptance and industrial application of nuclear and radiation-related technologies



---

# CONTENTS

---

<b>SUMMARY</b> .....	9
<b>Chapter 1. Outline of research and development</b> .....	19
<b>Chapter 2. Current status of research and development</b> .....	25
<b>Chapter 3 Contents and result of project</b> .....	29
Section 1 Identification of species-specific radiation-induced damage repair/defense systems .....	31
1. Interpretation of co-expression networks of radiation-induced damage repair/defense genes .....	31
2. Elucidation of epigenetic regulation of radiation-induced damage repair/defense systems .....	43
3. Development of molecular markers for species-specific radiation-induced damage repair/defense systems .....	49
Section 2 Application of species-specific radiation-induced damage repair/defense systems .....	54
1. Application of molecular markers for phytodosimetry of radiation-induced damages in plants .....	54
2. Inter-species expression and application of radiation-induced damage repair/defense genes .....	57
<b>Chapter 4. Achievement of project objectives</b> .....	63
<b>Chapter 5. Plans for application of the results</b> .....	67
<b>Chapter 6. Reference</b> .....	71
<b>BIBLIOGRAPHIC INFORMATION SHEET</b> .....	76

---

# 목 차

---

요약문 .....	5
제1장 연구개발 과제의 개요 .....	19
제2장 국내외 기술개발 현황 .....	25
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	29
제1절 종특이성 방사선 회복/방어 시스템 규명 .....	31
1. 방사선 회복/방어 유전자 공동발현 네트워크 해석 .....	31
가. 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립 .....	31
2. 후성인자의 방사선 회복/방어 역할 규명 .....	43
가. 방사선의 DSB 유발과 회복에 후성인자의 역할 규명 .....	43
3. 종특이적 방사선 회복/방어 분자지표 개발 .....	49
가. 방사선 회복/방어 평가용 식물 유전자/단백질 지표 개발 .....	50
제2절 방사선 회복/방어 시스템 활용 기술 개발 .....	54
1. 방사선 회복/방어 분자지표의 분자선량 평가 활용 .....	54
가. 종특이적 분자지표의 식물 방사선 민감도 평가 활용 .....	54
2. 방사선 회복/방어 유전자의 이종발현 및 활용 .....	57
가. <i>DcPrx</i> 도입 애기장대 개발 및 환경스트레스 내성 검증 .....	57
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	63
제5장 연구개발 결과의 활용계획 .....	67
제6장 참고문헌 .....	71
서지정보양식 .....	75



---

## 표 목차

---

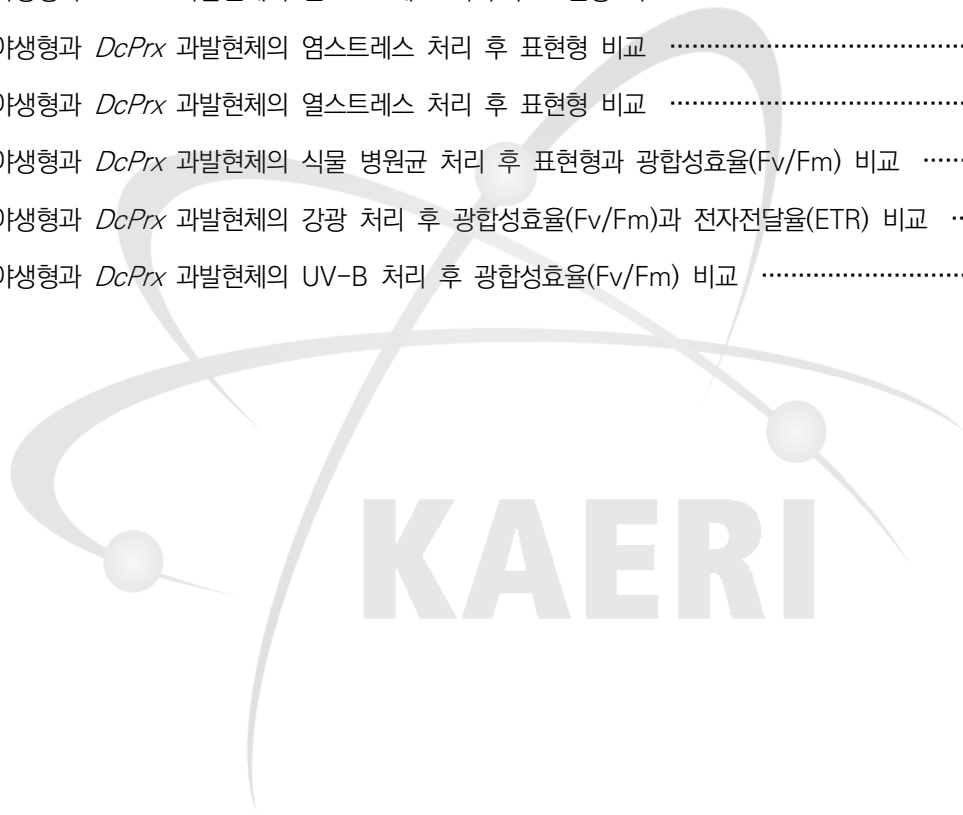
표 1. 2017년 핵심목표 달성 내역 ..... 65



## 그림 목차

그림 1. UV-B와 유전독성물질(MMS, HU)에 의한 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교 .....	32
그림 2. UV-B와 유전독성물질(MMS, HU)에 의한 <i>NAC103</i> 발현 비교 .....	32
그림 3. <i>NAC103</i> 염기서열 분석을 통한 <i>nac103</i> 기능제거 돌연변이체 확인 .....	33
그림 4. 야생형(Col-0), <i>sog1</i> , <i>nac103</i> 돌연변이체의 zeocin 처리 후 표현형 비교 .....	34
그림 5. 야생형(Col-0), <i>sog1</i> , <i>nac103</i> 돌연변이체의 zeocin 처리 후 세포사멸 비교 .....	34
그림 6. 야생형과 <i>nac103</i> 돌연변이체의 감마선과 zeocin에 의한 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교 .....	35
그림 7. <i>NAC103</i> 과발현체 제작 및 야생형과 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교 .....	35
그림 8. Zeocin 처리 후 <i>NAC103</i> 과발현 야생형과 <i>sog1</i> 돌연변이체의 표현형 비교 .....	36
그림 9. Zeocin 처리 후 <i>NAC103</i> 과발현 야생형과 <i>sog1</i> 돌연변이체의 세포사멸 비교 .....	37
그림 10. <i>NAC103</i> -tagging 단백질에 따른 DNA 회복 유전자 전사활성화 비교 .....	37
그림 11. <i>NAC103</i> 과 <i>NAC103-GFP</i> 과발현 <i>sog1</i> 돌연변이체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교 .....	38
그림 12. <i>SOG1-GFP</i> 과발현체의 <i>NAC103</i> 과 DNA 회복 관련 유전자 프로모터 ChIP-qPCR 분석 .....	39
그림 13. 야생형과 <i>NAC103</i> 과발현체에서 DNA 회복과 ER stress 관련 유전자의 발현 비교 .....	40
그림 14. 감마선과 bleomycin에 의한 전사인자 유전자 발현 유도 분석 .....	40
그림 15. <i>At5g60250-GFP</i> 과발현 벡터 및 과발현체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 양상 .....	41
그림 16. <i>NAC44-GFP</i> 과발현 벡터 및 과발현체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 양상 .....	42
그림 17. <i>NAC85-GFP</i> 과발현 벡터 및 과발현체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 양상 .....	42
그림 18. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 표현형 비교 .....	43
그림 19. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 DNA 손상(DSB) 비교 .....	44
그림 20. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 시간별 DNA 손상 변화 .....	45
그림 21. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 DNA 회복 유전자 발현 비교 .....	46
그림 22. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 HRF 비교 .....	46
그림 23. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 $\gamma$ -H2AX 비교 .....	47
그림 24. 야생형(Col-0)과 <i>dsm1</i> 돌연변이체의 감마선 조사 후 RAD51 비교 .....	47
그림 25. 감마선 조사후 RAD51 foci 형성 .....	48
그림 26. <i>DRD1</i> 과발현체의 선발 및 확인 .....	48
그림 27. 감마선 조사 후 <i>drd1</i> 돌연변이체와 과발현체의 표현형 비교 .....	49
그림 28. SCGE 분석에 의한 감마선 선량별 DNA 손상 비교 .....	50

그림 29. 감마선 조사선량에 따른 $\gamma$ -H2AX 생성 비교 .....	51
그림 30. 저선량 감마선의 선량별, 시간별 DNA 손상 반응 유전자 발현 비교 .....	51
그림 31. 저선량 감마선 조사 직후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 선량의존성 .....	52
그림 32. 저선량 감마선 조사 24시간 후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 선량의존성 .....	53
그림 33. 저선량 감마선 조사 직후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 평균적인 선량-반응 유형 .....	55
그림 34. 저선량 감마선 조사 24시간 후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 평균적인 선량-반응 유형 .....	55
그림 35. 감마선 선량률에 따른 DNA 손상 반응 유전자 발현 비교 .....	56
그림 36. 애기장대 생태형에 따른 DNA 손상 반응 유전자 발현의 선량의존성 비교 .....	56
그림 37. 야생형과 <i>DcPrx</i> 과발현체의 건조스트레스 처리 후 표현형 비교 .....	58
그림 38. 야생형과 <i>DcPrx</i> 과발현체의 염스트레스 처리 후 표현형 비교 .....	58
그림 39. 야생형과 <i>DcPrx</i> 과발현체의 열스트레스 처리 후 표현형 비교 .....	59
그림 40. 야생형과 <i>DcPrx</i> 과발현체의 식물 병원균 처리 후 표현형과 광합성효율(Fv/Fm) 비교 .....	59
그림 41. 야생형과 <i>DcPrx</i> 과발현체의 강광 처리 후 광합성효율(Fv/Fm)과 전자전달율(ETR) 비교 .....	60
그림 42. 야생형과 <i>DcPrx</i> 과발현체의 UV-B 처리 후 광합성효율(Fv/Fm) 비교 .....	61





# 제 1 장

## 연구개발 과제의 개요

제1절 연구개발의 필요성

제2절 연구개발의 목적

제3절 연구개발의 기대효과

KAERI



---

## 제1장 연구개발 과제의 개요

---

본 보고서는 주요사업 창의연구사업(팀형)의 “종특이성 방사선 회복시스템 규명 및 활용 연구”과제에서 2017년에 수행한 연구개발 내용을 기술하고 있는 연차 연구보고서이다. 본 보고서에는 과제의 성과지표인 종특이성 방사선 회복/방어 시스템 규명 및 방사선 회복/방어 시스템 활용 기술 개발에 관한 세부 연구내용과 주요 연구결과들이 기술된다.

### 제1절 연구개발의 필요성

#### 1. 방사선의 생물학적 영향평가 및 활용에 대한 필요성 증대

○ 국제원자력기구, 국제방사선방호위원회 등은 방사선 생물방호를 위한 새로운 개념으로 저선량 영역을 포함하고, 참조생물상으로 식물을 포함해 12종을 제안하는 등 변화된 가이드라인을 제시하므로 이에 부합하는 국가적 연구가 요구된다[1].

○ 국내외적으로 원전과 방폐장 등에 대한 환경안정성 평가와 원전 사고지역에 대한 생물학적 환경영향 평가에 대한 대중의 요구가 크게 증가하고 있다.

○ 대규모 환경재해에 따른 예기치 못한 원자력 사고, 핵 테러 및 원자력/방사선 비상시에 방사선에 의한 환경영향을 평가하고 해석하기 위한 식물기반의 생물학적 영향평가 기술의 개발과 국제기구 (IAEA, EU, WHO, NATO 등)의 다자간 협력연구에 대한 대응이 필요하다.

○ IAEA 등의 국제기구는 방사선의 환경영향 평가를 위한 생물학적 선량평가 연구를 권고함에도 불구하고 아직 국제 수준의 기술적 표준은 제시하지 않고 있다.

○ 인체에 대한 방사선의 생물영향 연구는 한국원자력의학원, 방사선보건원(한국수력원자력) 및 일부 대학에서 진행 중이지만 식물을 포함한 환경생물에 대한 방사선 영향 및 선량평가 (phytodosimetry) 연구는 본 과제가 유일하다.

○ 따라서 본 과제의 미추진시 원전 또는 방폐장 시설에 대한 환경안정성 평가기술과 원전 사고 지역의 생물학적 환경영향 평가기술의 확보가 어려우며 이를 위한 국제공조에도 참여하기 어려울 것으로 예상된다.

○ 세계적으로 방사선 돌연변이 육종, 방사선이용 식품/식물 검역, 방사선이용 농수산물 제품의 품질관리 등에서 방사선의 산업적 활용과 수요가 증가함에 따라 방사선 식물영양 평가와 생물학적 효용성 증대를 위한 핵심기술 개발이 필요하다.

## 2. 국내 최초의 방사선연구 전문기관으로써 첨단방사선연구소 미션 강화

○ 한국원자력연구원은 국가 원자력 기술개발 및 방사선 연구의 주체로써 방사선 생물방호의 근간이 되는 방사선 생물선량 평가와 방사선 생물영양 해석을 위한 기반기술 개발의 의무가 있다.

○ 국내 최초의 방사선 연구 전문기관인 첨단방사선연구소는 한국원자력연구원 내 방사선 관련 연구의 주체로써 방사선의 생물학적 영향과 작용을 규명하기 위한 연구는 고유의 미션에 해당하므로 향후 지속적 확대가 요구된다.

## 3. 방사선 생명공학 원천기술 개발을 위한 창의적이고 도전적인 연구 확대 필요

○ 방사선 회복/방어 시스템은 방사선의 생물영양을 결정하는 핵심요소로써 다른 환경스트레스나 유전독성 화학물질들에 대한 반응과 구별된다. 이 시스템은 생물종의 방사선 민감도를 결정하는 주요 요인으로 종간 유사성과 특이성을 함께 가지는 것으로 알려져 있다. 따라서 방사선 회복/방어 시스템 규명은 방사선의 생물영양 및 선량평가 기술 개발을 위해 필수적인 연구이다.

○ 방사선 회복/방어 시스템은 생물학적 방사선 환경영양 평가를 위한 분자지표로 활용될 뿐 아니라 방사선 유도 돌연변이 기작에 대한 기술적 근거를 제공한다. 또한 관련 유전자의 이종발현을 통해 환경스트레스 내성 식물의 개발 등 방사선 생명공학 핵심기술 개발에 활용될 수 있다.

○ 미래 생명과학 선도 분야인 후성유전체학을 통한 방사선 회복/방어 시스템 연구는 의학, 농업, 생물, 환경 및 우주산업에서 요구되는 차세대 생명과학 원천기술 개발을 위한 도전적 연구이다.

○ 국내 최초의 방사선 연구 전문기관인 첨단방사선연구소는 한국원자력연구원 내 방사선 관련 연구의 주체로써 방사선의 생물학적 영향과 작용을 규명하기 위한 연구는 기관 미션에 해당하므로 향후 지속적 확대가 요구된다.



#### 4. 방사선 생명공학 선도 기술 개발을 통한 방사선 기술의 실용화 요구 증대

○ 세계 방사선 산업은 2010년 1조 1,000억불에서 2020년 1조 8,000억불까지 매년 5%이상 성장이 예상된다. 하지만 방사선 산업에서 농식품 및 의료분야 규모는 미국(52%), 일본(44%)에 비해 한국은 24%로 취약하다. 따라서 방사선의 의학 및 농생명 산업 활용을 위한 기초원천 기술 기반의 방사선 생명공학 선도 기술 개발이 요구된다.

### 제2절 연구개발의 목적

○ 환경생물의 방사선 생체영향 평가 표준화 체계 확립을 통해 방사선의 생물영향 평가 및 활용을 위한 세계선도 원천기술을 개발하여 국제적 기술 신인도를 제고한다.

○ 이를 통한 국가 원자력 관련시설의 안정적 관리 및 국민의 불안감 해소에 기여한다.

○ 환경생물의 방사선 내성인자 중간 활용기술 개발을 통해 방사선 생명공학 핵심기술을 제공함으로써 국내 방사선 생물산업의 국제 경쟁력 향상에 기여한다.

### 제3절 연구개발의 기대효과

#### 1. 결과 활용 분야

○ 유전독성 평가 및 활용을 위한 새로운 분자선량평가 기술 개발: 종특이성 방사선 회복/방어 시스템을 이용한 방사선의 생물학적 영향평가 연구는 의학, 농업, 환경 등의 분야에서 보다 정확하고 표준화된 분자선량평가 기술을 제공함으로써 유전독성에 의한 인체/생태환경 영향 평가나 유전독성을 이용한 신규 생물자원 개발에 새로운 기술적 기반을 제공할 것으로 기대된다.

○ 방사선 손상 회복/방어 유전자를 활용한 지구 환경위협 대응 식물 생산성 향상 기술 개발: 미생물의 종특이적인 방사선유도 항산화 유전자를 식물에 도입하여 고온 등의 환경스트레스 저항성 개선에 활용함으로써 전 지구적 환경위협에 대응하는 식물의 생산성 향상 신기술 개발에 기여할 것으로 기대된다.

○ 유전자 이중발현 연구를 통해 국가 생물산업 분야 기술 혁신: 종특이성 방사선 회복/방어 유전자의 이중발현 연구는 관련 유전자의 알려진 기능은 물론 이중에서의 새로운 생물학적 역할을 제안하고 활용함으로써 방사선 생명공학 원천기술 개발에 기여할 뿐만 아니라 차세대 국가 성장 동력인 생물산업 분야에서 방사선 기술이 새로운 기술적 패러다임이 되는데 기여할 것이다.

## 2. 과학기술/사회/경제적 파급효과

○ 방사선 생명공학 원천기술 개발과 방사선 기술 이용 확대에 기여: 방사선 회복/방어 시스템은 방사선의 생물학적 영향을 결정하는 핵심 요인으로 에피지놈과 연계한 생물종, 개체, 환경에 따른 특이성과 변이성을 규명함으로써 방사선 생명공학 원천기술 개발에 활용할 수 있으며, 새로운 에피지놈의 발굴과 생물학적 역할 규명으로 생명과학 타 분야로의 파급성도 높을 것으로 기대된다.

○ 국내 방사선 기술의 국민적 이해와 신뢰도 제고 및 국제 경쟁력 확보: 방사선 회복/방어 시스템을 이용한 방사선 생명공학 원천기술 개발 연구는 방사선의 방호, 관리, 및 생물 산업 활용에 대한 국민적 이해와 신뢰도 증진에 기여하고 국제사회의 방사선 연구 패러다임 변화를 주도함으로써 국내 방사선 기술 수준의 국제적 신뢰도 제고에도 일조할 것으로 기대된다.

○ 방사선 기술의 의학, 농업, 환경 분야의 산업적 활용 증진에 기여: 의학, 농업, 환경 분야의 세계선도 방사선 생명공학원천 기술 개발로 국내 생물 산업의 세계화와 국가경제 발전에 크게 기여할 수 있음. 특히 신기술은 유전독성의 생태환경평가나 식물분자육종 분야에서 작물의 생산성과 기능성 향상을 추구하고 동시에 농산물 안전성 확보 및 환경 위해성 평가에 활용될 수 있다.

## 제2장

# 국내외 기술개발 현황

제1절 국내현황

제2절 국외현황

제3절 세계 유사분야 기관과의 비교

KAERI



---

## 제2장 국내외 기술개발 현황

---

### 제1절 국내현황

○ 산업계 동향: 지금까지의 생명산업에서 방사선 연구는 대부분 실용기술 개발 또는 사안 대응을 염두에 둔 연구개발이 주류를 이루고 있었으나 장기적 산업경쟁력과 직결되는 기초원천 기술개발이 매우 취약한 상태이다.

○ 학계동향: 여러 대학교가 방사선생물학 연구를 수행하고 있으나 대부분 방사선치료와 관련된 연구 또는 단순 방사선 조사이용 연구에 국한되어 있다. 특히 방사선의 생물학적 선량평가 연구는 인체에 국한되어 있다.

○ 연구계 동향: 한국원자력연구원을 중심으로 방사선의 생물반응 기작 규명과 생물산업 활용을 위한 기초 원천기술 개발 연구가 진행중이며 환경생물에 대한 방사선의 생물학적 영향 및 선량평가 연구가 최근에 시작되고 있다.

### 제2절 국외현황

○ 국제원자력기구, 국제방사선방호위원회 등은 방사선 생물방호를 위한 새로운 개념으로 저선량 영역을 포함하고, 참조 생물상으로 식물을 포함해 12종을 제안하는 등 변화된 가이드라인을 제시하고 있다[1].

○ 후쿠시마 원전사고로 대규모 환경재해에 따른 예기치 못한 원자력 사고, 핵 테러 및 원자력/방사선 비상시에 방사선에 의한 환경영향을 평가하고 해석하기 위한 식물기반의 생물학적 영향평가 기술 개발이 중요해지고 있다.

○ 세계 원전 해체 시장의 규모가 2014년말 기준으로 440조원에 이를 것으로 전망됨에 따라 원전 해체 기술뿐만 아니라 방사선에 의한 생물학적 환경영향 평가 및 모니터 기술에 대한 필요성이 증가하고 있다.

○ 방사선 산업에서 농식품 및 의료분야의 규모가 미국 52%, 일본 44%에 이르며 방사선의 생명산업 활용을 위한 원천기술 개발이 활발하다.

### 제3절 세계 유사분야 기관과의 비교

○ 국외기관: 스페인 DRRI는 방사선생물반응 조절에 관한 연구를 수행. 러시아 MRRC는 방사선의 의학적 작용규명과 활용 연구 및 이온화 방사선과 비방사선 요인의 복합작용 연구를 수행. 인도 BARC는 방사선생물학 전분야에서 방사선에 대한 동식물 효소계 반응 및 생리·유전반응 연구를 수행. 일본 IES는 방사성 핵종의 환경과 인체 영향을 저선량 방사선과 동물을 이용해 연구를 수행. 생물학적 선량평가 연구는 EU-FP를 중심으로 하는 MultiDose 프로그램이 다국공동과제로 진행. 네덜란드, 독일, 폴란드, 헝거리 등이 수행하고 있는 BioDose, Melodi/DoReMi 등의 다자간 협력연구도 진행. 식물에 기반한 방사선의 생물학적 선량 평가는 방사선육종 분야에서 진행되어왔으나 방사선 환경영향 평가를 위한 생물학적 지표 개발과 연계되지 못함. 세계적으로 기능유전자의 식물내 이중발현을 통한 환경스트레스 내성 식물개발 연구는 농생명 관련 연구소나 대학 등에서 활발히 진행.

○ 한국원자력연구원: 식물을 포함한 환경생물의 방사선 생물영향을 평가할 수 있는 국제수준의 경험과 기술을 보유. 세계수준의 방사선생물학 관련 전문인력을 보유. 방사선생물학 연구에 적합한 세계수준의 조사시설과 첨단 분석기기를 보유. BARC, MRRC, NIRS, DRRI, LUMC 등 선진그룹과 긴밀한 협력관계를 유지하여 조속한 격차해소가 가능. 본 과제에서 시도하는 식물의 후성인자에 기반한 종특이성 회복/방어 시스템 규명 및 활용 연구는 선진그룹에서도 시도하지 못한 독창적인 연구 분야. 방사선 반응 유전자(특히 미생물 유전자)를 활용한 환경스트레스 내성 식물개발은 세계 최초.

## 제3장

# 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 종특이성 방사선 회복/방어 시스템 규명

제2절 방사선 회복/방어 시스템 활용 기술 개발

KAERI





---

## 제3장 연구개발수행 내용 및 결과

---

### 제1절 종특이성 방사선 회복/방어 시스템 규명

본 과제에서는 후성유전체 기반의 방사선 회복/방어 시스템 규명을 통해 방사선 생체영향 평가 원천기술을 개발하고자 하였으며, 이를 통해 향후 ‘방사선 생체영향 평가 표준화 체계 개발’ 및 ‘방사선 손상/회복 증장기 예측 기술 개발’을 위한 기반 기술 확보에 기여할 수 있다.

#### 1. 방사선 회복/방어 유전자 공동발현 네트워크 해석

다양한 방사선 생물반응 관련 전사체 데이터베이스를 활용하여 방사선의 생물반응에서 공통 또는 특이적으로 변화되는 방사선 회복/방어 유전자들을 탐색하고 이들과 함께 발현하는 기능 유전체를 분석함으로써 방사선의 생물학적 영향을 결정하는 방사선 회복/방어 유전자의 공동 발현 네트워크를 규명하였다.

##### 가. 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립

종특이성 방사선 회복/방어 유전자의 공동발현 네트워크 분석결과를 종합하고 방사선 반응 전사체의 시간별 공동발현 변화 양상을 해석함으로써 이들 유전자의 조절기작 및 경로와 생리적 역할 모델을 확립하고자 하였다.

##### (1) UV-B, MMS, HU 처리 식물의 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교

이전 연구에서 감마선에 반응하는 13개 유전자를 선별하였고[2], 이들 유전자의 발현을 UV-B, methyl methanesulfonate(MMS), hydroxyurea(HU) 처리 후 조사하였다.  $2 \text{ W m}^{-2}$  UV-B 처리 후 *AGO2*, *Rad51*, *SOG1*, *CIPK11*, *GRG*, *RPA1E*, *GMI1*, *BRCA1*, *WEE1*, *PARP1*, *CDKB1;1* 유전자는 발현이 2~50배 이상 증가하였고, 반면에 *ATM*, *ATR* 유전자의 발현은 유의적으로 변화되지 않았다(그림 1A). 5mM MMS 또는 HU를 처리할 경우 *RAD51*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 발현이 공통적으로 2~8배 이상 증가하였으나 나머지 유전자는 변화가 적거나 유의적이지 않았다(그림 1B). 이러한 결과는 많은 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현이 다양한 유전독성에 공통적으로 유도되지만 일부는 개별적인 유전독성에 특이적으로 반응함을 의미한다.



그림 1. UV-B와 유전독성물질(MMS, HU)에 의한 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교

(2) UV-B와 유전독성에 의한 *NAC103* 유전자 발현 유도

감마선에 의한 *NAC103* 유전자의 발현 증가가 DNA 손상에 의한 것인지를 확인하기 위해, UV-B, MMS, HU를 2주된 애기장대 유묘에 처리하고 *NAC103*의 발현 변화를 분석하였다.  $2 \text{ W m}^{-2}$  UV-B, 5mM MMS, 5mM HU를 각각 4, 2, 24시간 처리하였을 때, *NAC103*의 발현은 UV-B와 HU에 의해 증가하였지만 MMS에는 변화를 보이지 않았다(그림 2). 이러한 결과는 *NAC103*의 발현이 다양한 유전독성에서 차이를 보이며 DNA 손상 유형에 따라 기능적 역할의 중요성이 달라질 수 있음을 의미한다.

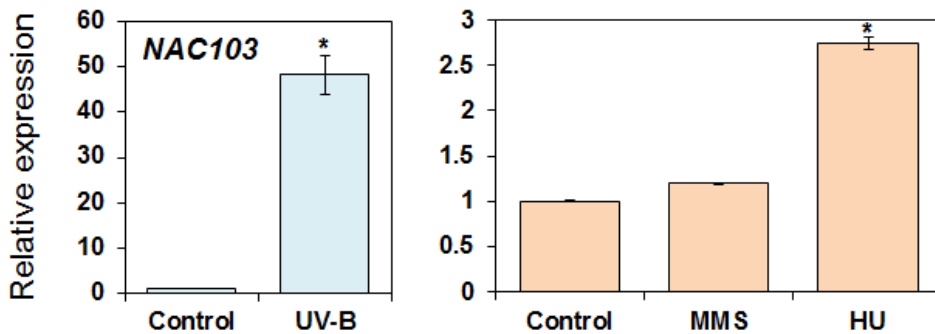


그림 2. UV-B와 유전독성물질(MMS, HU)에 의한 *NAC103* 발현 비교

### (3) *nac103* 기능제거 돌연변이체 제작 및 선발

2016년에 CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 *nac103* 기능제거 돌연변이체를 제작하였으며 [3], 올해 T2 라인에서 genomic DNA를 추출하여 *NAC103* 유전자의 염기서열을 분석하였다. 최종적으로 *NAC103* 유전자의 염기서열이 야생형과 달리 일부 상실되거나 변형된 *nac103* 기능제거 돌연변이체를 선발하여 T3 homo 라인을 확보하였다(그림 3).

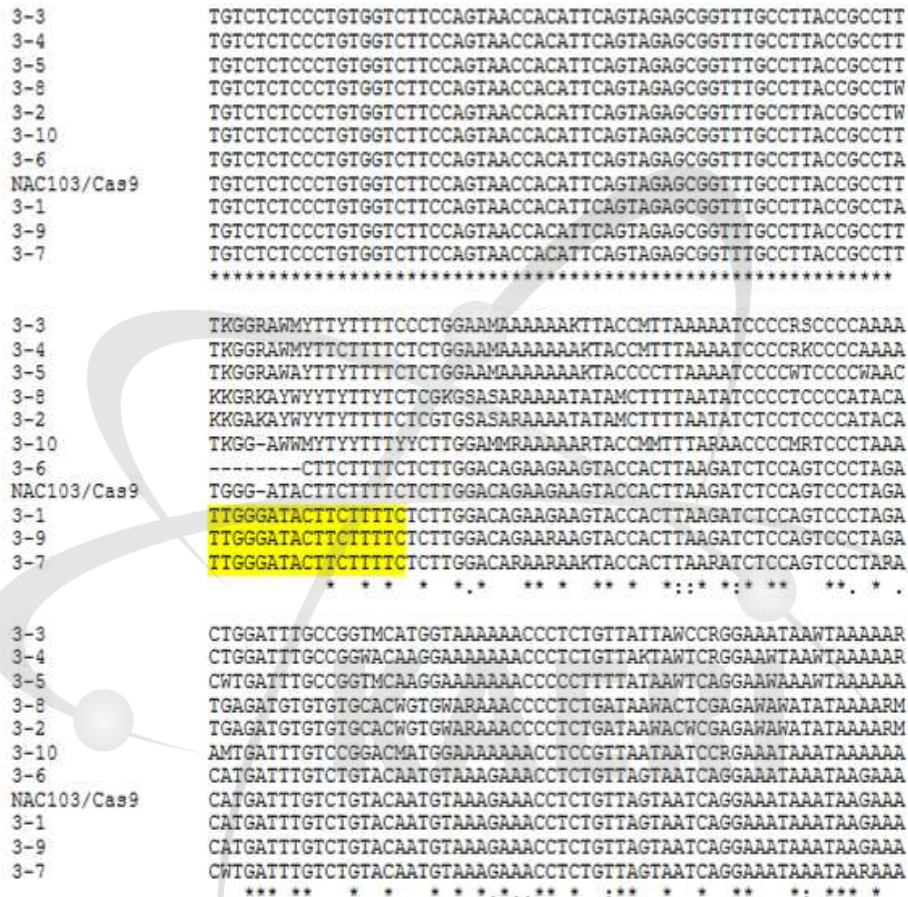


그림 3. *NAC103* 염기서열 분석을 통한 *nac103* 기능제거 돌연변이체 확인

### (4) 유전독성에 대한 *nac103* 기능제거 돌연변이체의 표현형 해석

SOG1은 DNA 손상 반응 유전자들의 전사인자로 *sog1* 돌연변이체는 이들 유전자의 발현이 억제되고 감마선을 조사할 경우 본엽(true leaf) 생성이나 뿌리 세포사멸(root cell death)과 같은 DNA 손상 반응 표현형이 나타나지 않는다[4]. 따라서 *nac103* 기능제거 돌연변이체의 유전독성에 대한 표현형 변화를 조사하기 위해 야생형(Col-0), *sog1-1*, *nac103-1*, *nac103-2* 돌연변이체에서 true leaf assay와 root cell death assay를 수행하였다. 30  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 의 zeocin이 포함된 1/2 MS 배지에서 야생형은 10일 후 37.5%만 본엽이 생성되었으나,

*sog1-1*, *nac103-1*, *nac103-2* 돌연변이체는 각각 100, 75, 85.4%의 식물체에서 본엽이 관찰되었다(그림 4). 1/2 MS 배지에서 5일간 배양한 식물체를  $30 \mu\text{g ml}^{-1}$ 의 zeocin이 포함된 배지에 옮기고, 하루 뒤 뿌리의 말단을 propidium iodide(PI) 용액으로 염색하고 형광현미경으로 검경하였을 때, *sog1-1*은 야생형과 달리 세포사멸이 전혀 관찰되지 않았으며, *nac103-1*과 *nac103-2*는 야생형에 비해 세포사멸이 유의적으로 감소되었다(그림 5). 이와 같이 *sog1*과 *nac103* 기능제거 돌연변이체는 DSB 유도 유전독성물질인 zeocin 처리 후 유사한 표현형을 나타내었다. 이러한 결과는 NAC103이 SOG1처럼 DNA 손상 반응에 관계할 수 있음을 의미한다.

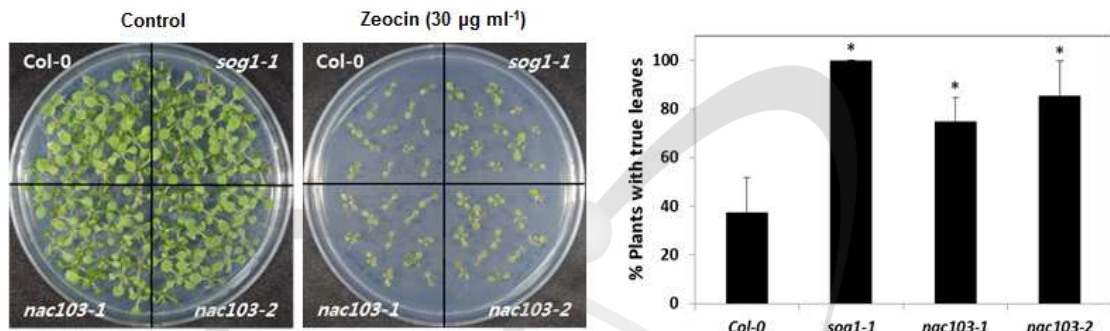


그림 4. 야생형(Col-0), *sog1*, *nac103* 돌연변이체의 zeocin 처리 후 표현형 비교

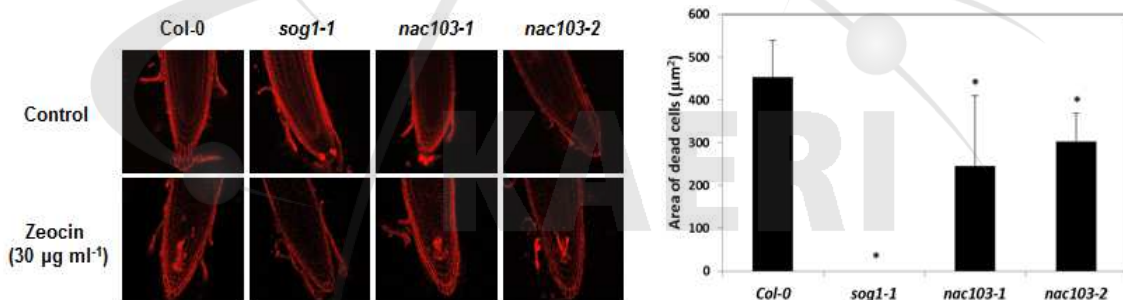


그림 5. 야생형(Col-0), *sog1*, *nac103* 돌연변이체의 zeocin 처리 후 세포사멸 비교

#### (5) 야생형과 *nac103* 기능제거 돌연변이체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교

앞서 *nac103* 돌연변이체는 유전독성에 대해 *sog1* 돌연변이체와 유사한 표현형을 보여주었다. *sog1* 돌연변이체는 유전독성 처리에서 DNA 손상 반응 유전자의 발현이 억제되므로[4], 감마선과 zeocin 처리한 후 *nac103* 돌연변이체에서 DNA 손상 반응, 특히 DNA 회복 관련 *RAD51*, *GRG*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 발현을 조사하였다. 감마선과 zeocin 처리 후 *nac103* 돌연변이체는 야생형에 비해 DNA 회복 관련 유전자의 발현 유도가 약 20~50% 정도 낮았다(그림 6A와 B). 이러한 결과는 SOG1뿐만 아니라 NAC103이 DNA 손상 반응 유전자의 발현조절에 관계함을 의미한다.

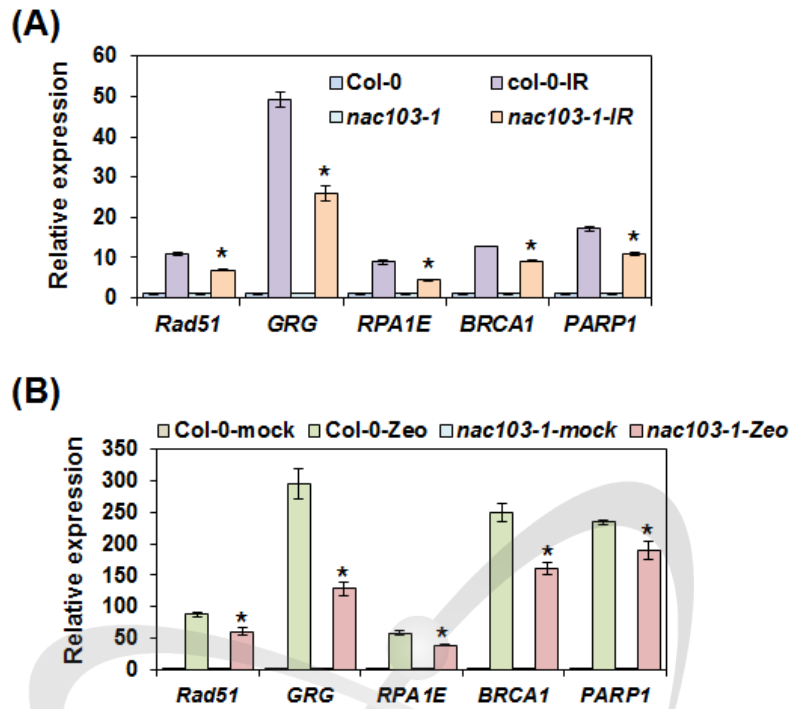


그림 6. 야생형과 *nac103* 돌연변이체의 감마선과 zeocin에 의한 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교

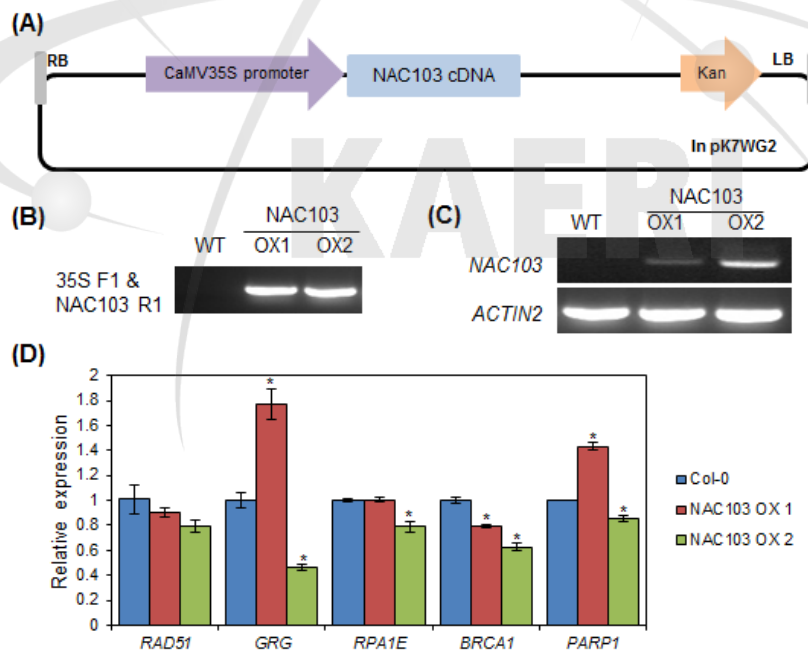


그림 7. *NAC103* 과발현체 제작 및 야생형과 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교

(6) 야생형과 *NAC103* 과발현체의 DNA 손상 회복 관련 유전자 발현 비교

2016년에 제작한 *NAC103-GFP* 과발현체에서 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현이 증가



함을 확인하였다. 추가적인 검증을 위해 tagging 유전자 없이 *NAC103* 과발현체를 제작 및 선발하였다(그림 7A-C). *NAC103* 과발현체는 2016년 보고한 *NAC103-GFP* 과발현체와 달리 DNA 손상 회복 관련 *RAD51*, *GRG*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 발현에 큰 차이를 보이지 않았다(그림 7D). 이러한 결과는 *NAC103*이 직접적인 전사인자로 DNA 손상 반응 유전자의 발현을 유도할 수 없으며, GFP tagging이 *NAC103*의 전사조절 활성을 증가시킬 수 있음을 의미한다.

### (7) 유전독성에 대한 *NAC103* 과발현체의 표현형 해석

DNA 손상 회복 기작에 *NAC103*과 *SOG1*의 연관성을 조사하기 위해, 야생형과 *sog1* 돌연변이체에 *NAC103* 또는 *NAC103-GFP*를 형질전환하여 다수의 *NAC103* 과발현체(*NAC103 OE*, *NAC103-GFP OE*, *NAC103 OE/sog1-1*, *NAC103-GFP OE/sog1-1*)를 제작하였다. 이들 과발현체에 30  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 의 zeocin을 처리한 후 true leaf assay와 root cell death assay를 수행하였다. 야생형에 *NAC103* 또는 *NAC103-GFP* 과발현의 경우 본엽 생성에 유의적인 차이를 보이지 않았지만, *sog1*에 *NAC103-GFP* 과발현은 본엽 생성을 작지만 유의적으로 저해하였다(그림 8).

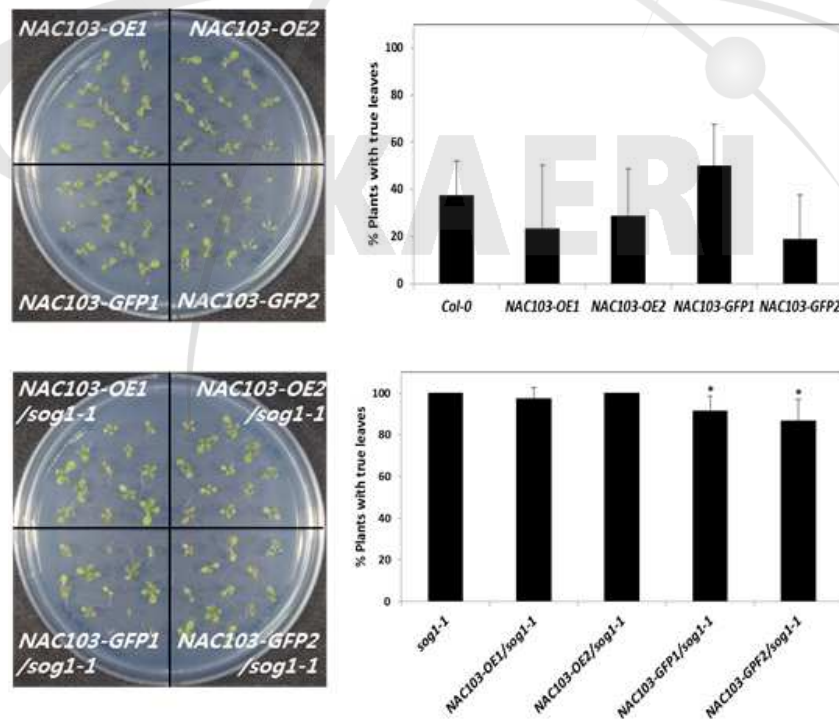


그림 8. Zeocin 처리 후 *NAC103* 과발현 야생형과 *sog1* 돌연변이체의 표현형 비교

유사하게, 야생형에 *NAC103* 또는 *NAC103-GFP* 과발현은 세포사멸에 유의적인 영향을 미치지 않았지만, *sog1*에 *NAC103-GFP* 과발현은 작지만 세포사멸을 유도하였다(그림 9). 이러

한 결과는 SOG1이 존재할 때 *NAC103*의 과발현은 DNA 손상 반응에 큰 영향을 미치지 않지만, SOG1이 없을 경우 부분적으로 DNA 손상 반응을 회복시킬 수 있음을 의미한다.

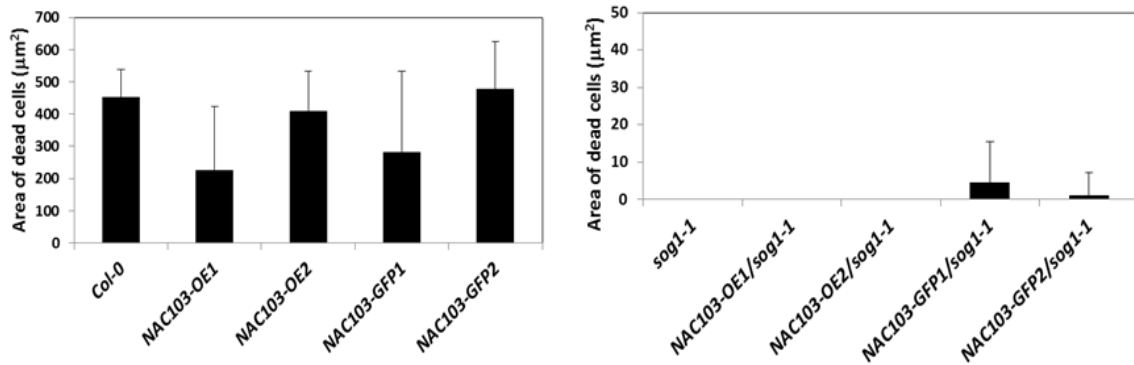


그림 9. Zeocin 처리 후 *NAC103* 과발현 야생형과 *sog1* 돌연변이체의 세포사멸 비교

(8) DNA 회복 관련 유전자에 대한 *NAC103*의 전사활성화 분석

2016년 연구에서 *GRG*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 프로모터에 *NAC103*-GFP가 결합하여 2배 이상 전사를 활성화시키는 것을 확인하였다. 동일한 실험을 tagging 단백질이 없는 *NAC103*으로 수행하였을 때, *NAC103*-GFP와는 달리 *GRG*를 제외한 DNA 손상 회복 유전자의 전사에 유의적인 영향을 미치지 않았다(그림 10A). 따라서 tagging 단백질에 의한 영향을 조사하기 위해 *NAC103*-RFP, *NAC103*-HA, *NAC103*-MYC을 이용하여 동일한 실험을 수행하였고, GFP나 RFP와 같은 큰 단백질이 *NAC103*에 결합되어 있을 때 전사 활성화가 유도됨을 확인하였다(그림 10B). 이러한 결과는 DNA 손상 반응 유전자의 전사 조절에서 *NAC103*의 역할이 간접적이거나 제한적일 수 있음을 의미한다.

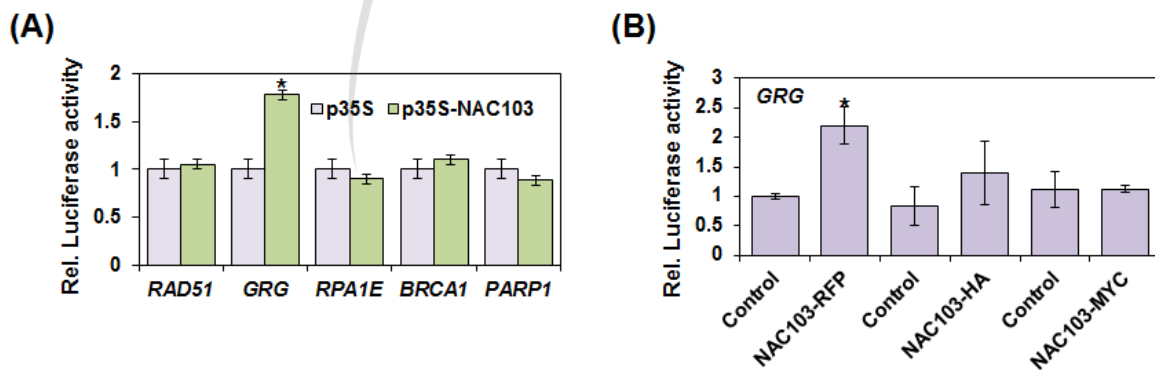


그림 10. *NAC103*-tagging 단백질에 따른 DNA 회복 유전자 전사활성화 비교

(9) *sog1* 돌연변이체에서 *NAC103*과 *NAC103*-GFP 과발현 효과 비교

DNA 손상 회복 유전자 발현 조절에 *NAC103*과 SOG1의 연관성을 조사하기 위해, *sog1*

돌연변이체에 *NAC103* 또는 *NAC103-GFP*를 형질전환한 과발현체(*NAC103 OE/sog1-1*, *NAC103-GFP OE/sog1-1*)에서 DNA 손상 회복 관련 *RAD51*, *GRG*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 발현을 비교하였다(그림 11A와 B). *NAC103* 또는 *NAC103-GFP* 과발현은 *sog1* 돌연변이체의 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현을 실질적으로 회복시켰으며, 특히 zeocin 처리 후 2~50배 까지 발현이 증가하였다. 이러한 결과는 DNA 손상 반응 신호전달 경로에서 *NAC103*이 *SOG1*의 하위에서 DNA 손상 회복 관련 유전자의 전사조절에 관계하며, tagging 단백질의 존재에 따라 *NAC103*의 이러한 기능적 역할이 강화될 수 있음을 의미한다.

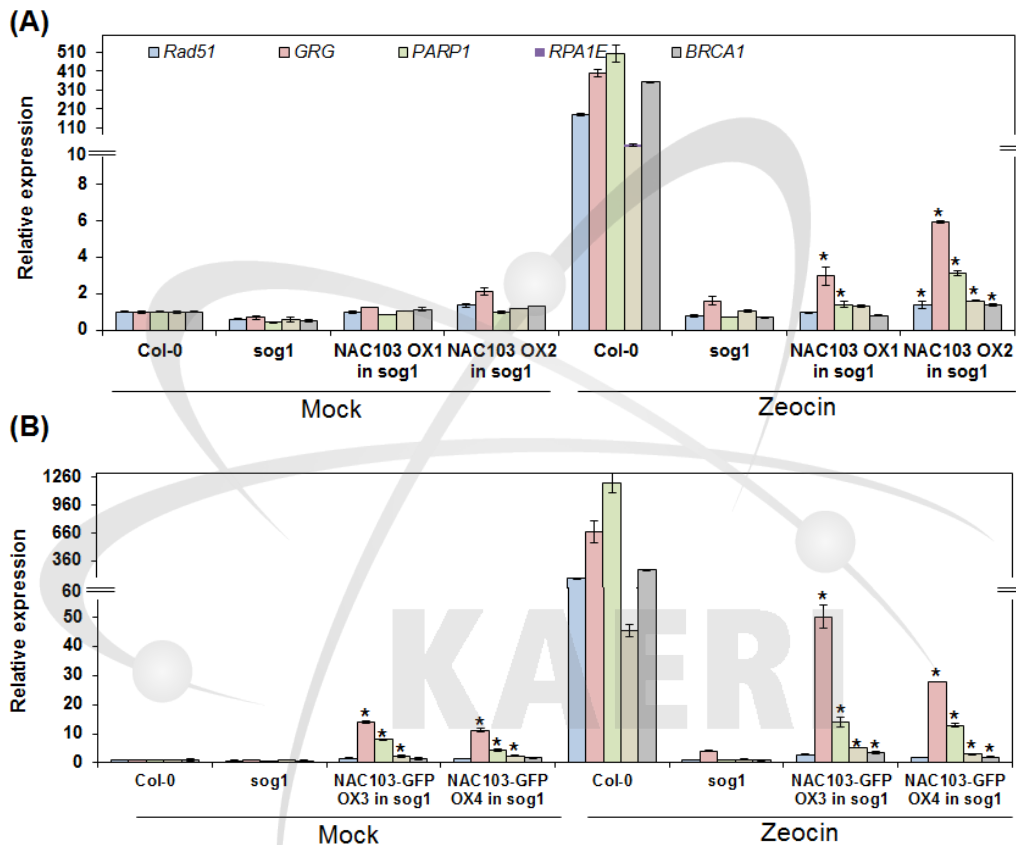


그림 11. *NAC103*과 *NAC103-GFP* 과발현 *sog1* 돌연변이체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 비교

#### (10) *NAC103*과 DNA 회복 관련 유전자 프로모터와 *SOG1*과의 결합 분석

*NAC103*과 DNA 손상 회복 관련 유전자의 프로모터에 *SOG1*이 결합할 수 있는 cis-element를 PLACE(Plant cis-acting regulatory DNA elements) 프로그램을 이용하여 분석하였지만, 특이적으로 결합하는 cis-element가 존재하지 않았다. 따라서 각 유전자의 1.5 kb 프로모터에서 임의로 위치를 선정하여 ChIP-qPCR 수행을 위한 프라이머를 제작하였다(그림 12A). 전사인자로서 *SOG1*은 먼저 유전독성에 의해 활성화 되는 ATM/ATR에 의해 인산화 되어하므로[5], zeocin 처리 후 *SOG1-GFP* 과발현체에서 GFP 항체를 이용해



*NAC103*, *RAD51*, *GRG*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 프로모터에 대해 ChIP-qPCR 수행하였다. 결과적으로 SOG1-GFP는 *NAC103* 뿐만 아니라 *RAD51*, *GRG*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 프로모터에도 2~30배 정도 증가되어 있었다(그림 12B). 이러한 결과는 SOG1이 *NAC103*을 포함하는 다수의 DNA 손상 반응 유전자의 프로모터에 결합하여 직접적인 전사조절인자로 작용할 수 있음을 의미한다.

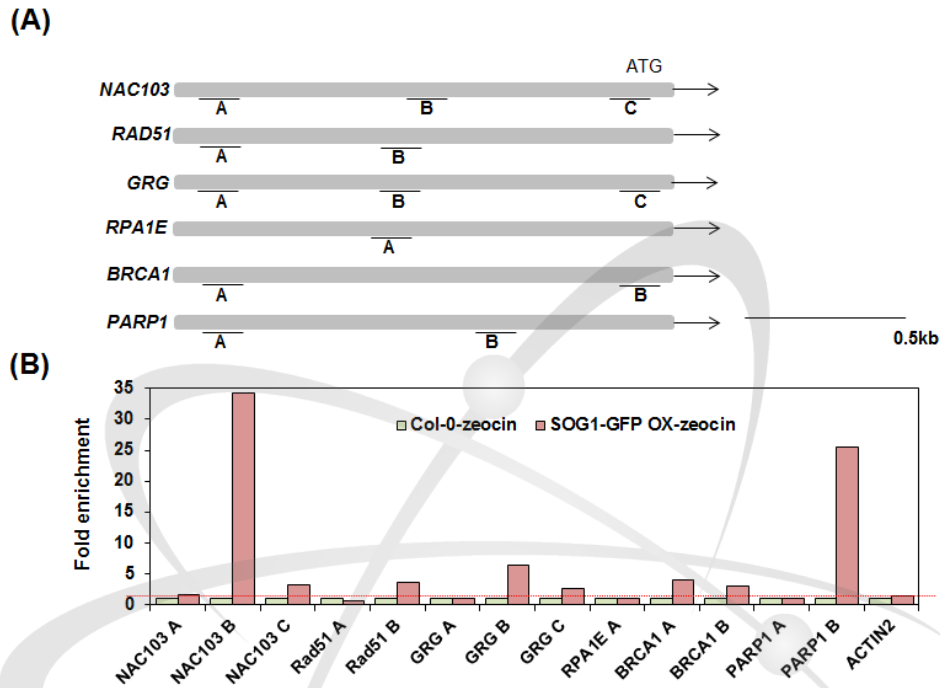


그림 12. *SOG1-GFP* 과발현체의 *NAC103*과 DNA 회복 관련 유전자 프로모터 ChIP-qPCR 분석

### (11) 식물의 DNA 손상 반응과 ER 스트레스의 상관관계 해석

*NAC103*은 ER 스트레스에 의해 발현이 증가하고, bZIP60이 발현을 직접 조절한다[6]. *NAC103*은 유전독성에 의해서도 발현이 증가하며, 이때는 SOG1에 의해 발현이 조절되는 것으로 알려져 있다[4]. *NAC103*의 발현이 서로 다른 스트레스에 의해 유도되므로, 이에 영향을 받는 ER 스트레스 관련 *CRT1*, *CNX1*, *PDI5*, *UBC32* 유전자와 DNA 손상 반응 *RAD51*, *GRG*, *PARP1* 유전자의 발현을 각각 유전독성 또는 ER 스트레스 처리 후 조사하였다. 두 스트레스에 모두 발현이 증가하는 *NAC103*과 달리 유전독성 또는 ER 스트레스 관련 유전자의 발현은 다른 스트레스에 크게 영향을 받지 않았다(그림 13A). 또한 *NAC103-GFP* 과발현체에서는 ER 스트레스 관련 유전자 발현이 크게 증가하였지만, *NAC103* 과발현체는 이러한 유전자 발현에 큰 차이를 보이지 않았다(그림 13B). 이러한 결과는 *NAC103*의 발현이 SOG1과 bZIP60에 의해 유전독성과 ER 스트레스 특이적으로 조절되며, DNA 손상 반응과 ER 스트레스 관련 유전자 발현에서 *NAC103*의 전사인자로서의 역할이 독립적이지 않음을 의미한다.

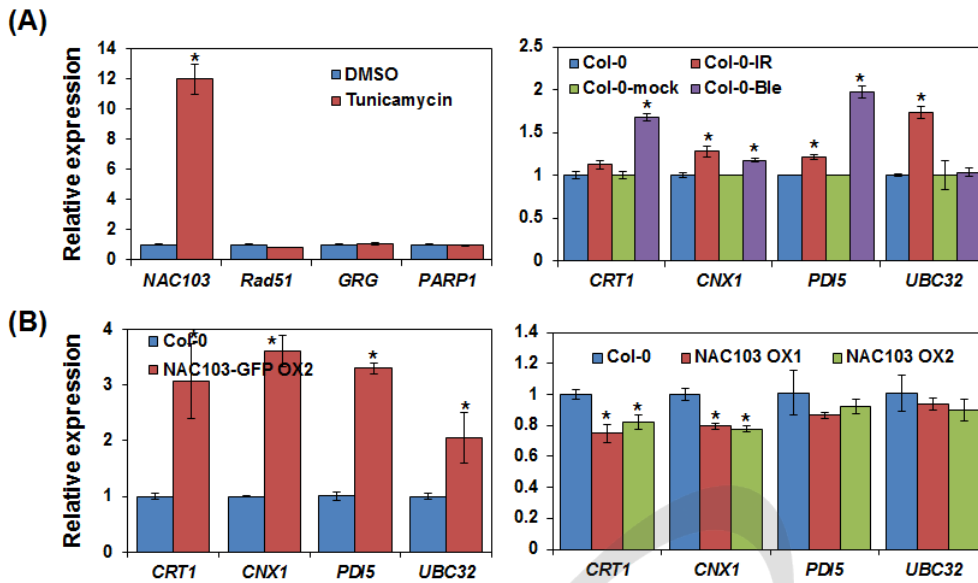


그림 13. 야생형과 *NAC103* 과발현체에서 DNA 회복과 ER stress 관련 유전자의 발현 비교

(12) 감마선과 유전독성에 의한 *At5g60250*, *NAC44*, *NAC85* 유전자 발현 유도

공동발현네트워크 분석에서 *NAC103* 이외에 *At5g60250*, *NAC44*, *NAC85* 유전자가 유전 독성에 의해 유도되는 전사인자로 제안되었다. 따라서 감마선과 bleomycin 처리 후 이들 유전자의 발현을 확인하였다. 그 결과, *NAC103*과 비슷하게 감마선에 의해 세 유전자의 발현이 2~16배 정도 증가하였고, bleomycin에 의해서는 30~250배까지 증가하였다(그림 14). 이러한 결과는 *At5g60250*, *NAC44*, *NAC85*가 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현에 관계하는 잠재적인 전사인자일 수도 있음을 의미한다.

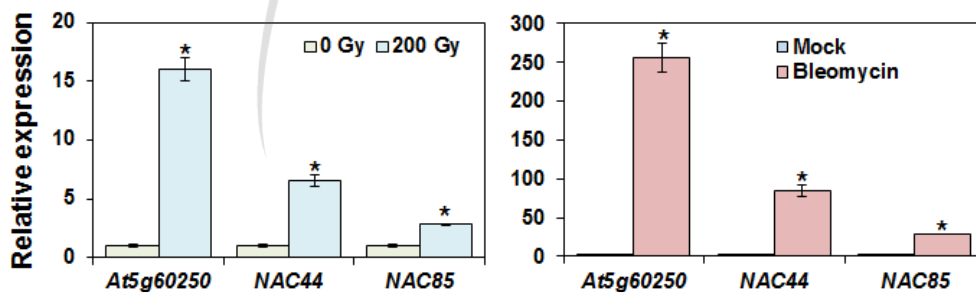


그림 14. 감마선과 bleomycin에 의한 전사인자 유전자 발현 유도 분석

(13) *At5g60250-GFP* 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석

*At5g60250-GFP* 과발현체를 제작하기 위해 애기장대의 *At5g60250* cDNA를 식물 형질전환용 pK7FWG2 게이트웨이 벡터에 클로닝하고 *Agrobacteria*를 이용하여 형질전환 하였다

(그림 15A). 형질전환체를 kanamycin이 들어있는 1/2MS 배지에 파종하여 2주간 키운 후 과발현체를 선발하였다. *At5g60250* 과발현이 DNA 손상 회복 기작에 미치는 영향을 조사하기 위해 선발된 *At5g60250-GFP* 과발현체에서 DNA 손상 회복 관련 *RAD51*, *GRG*, *BRCA1*, *PARP1*, *CDKB1;1* 유전자의 발현을 분석하였다. *At5g60250-GFP* 과발현체는 야생형(Col-0)과 비교할 때 *At5g60250*의 발현이 3~5배 이상 증가하였지만 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현에는 차이가 없거나 오히려 감소하였다(그림 15B). 이러한 결과는 *At5g60250* 유전자의 산물이 유전독성에 의해 유도되지만 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현에는 관계하지 않거나 또는 전사저해제로써 작용할 수 있음을 의미한다.

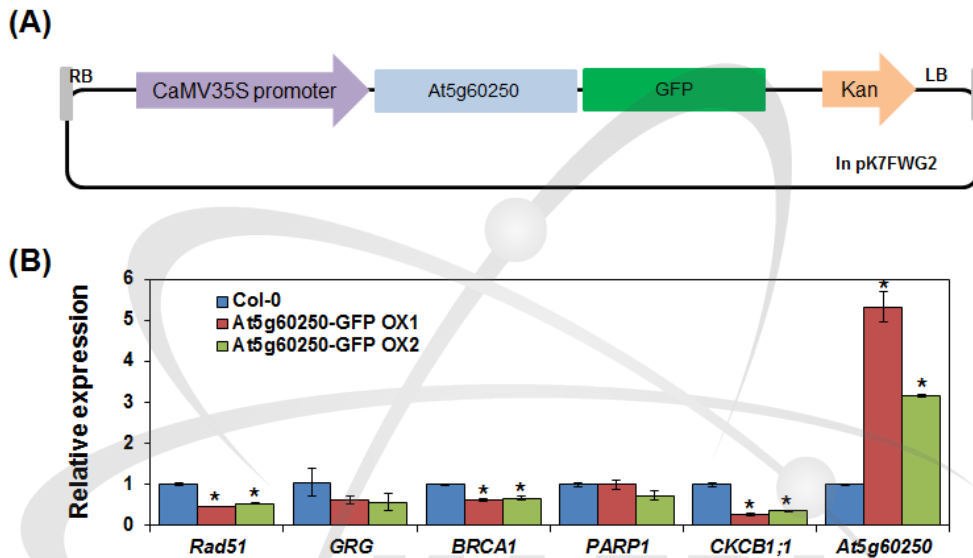


그림 15. *At5g60250-GFP* 과발현 벡터 및 과발현체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 양상

#### (14) *NAC44* 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석

*NAC44-GFP* 과발현체를 제작하기 위해 애기장대의 *NAC44* cDNA를 식물 형질전환용 pK7FWG2 게이트웨이 벡터에 클로닝하고 *Agrobacteria*를 이용하여 형질전환 하였다(그림 16A). 형질전환체를 kanamycin이 들어있는 1/2MS 배지에 파종하여 2주간 키운 후 과발현체를 선발하였다. *NAC44* 과발현이 DNA 손상 회복 기작에 미치는 영향을 조사하기 위해 선발된 *NAC44-GFP* 과발현체에서 DNA 손상 회복 관련 *RAD51*, *GRG*, *RPA1E*, *BRCA1*, *PARP1* 유전자의 발현을 분석하였다. *NAC44-GFP* 과발현체는 야생형(Col-0)과 비교할 때 *NAC44*의 발현이 500~1500 배 이상 증가하였지만 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현에는 큰 차이가 없었다(그림 16B). 이러한 결과는 *NAC44* 유전자의 산물이 유전독성에 의해 유도되지만 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현에는 관계하지 않음을 의미한다.

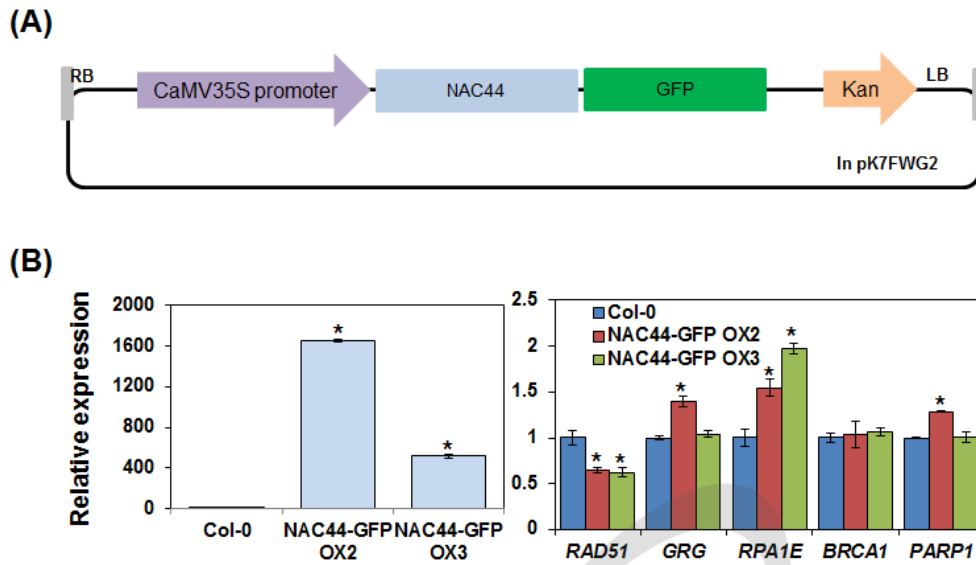


그림 16. *NAC44-GFP* 과발현 벡터 및 과발현체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 양상

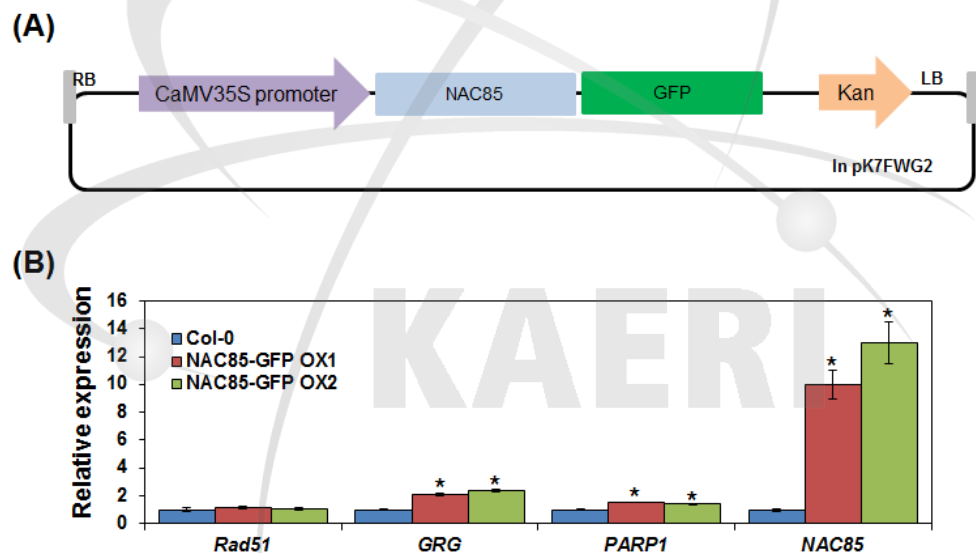


그림 17. *NAC85-GFP* 과발현 벡터 및 과발현체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 양상

#### (15) *NAC85* 과발현체 제작 및 DNA 회복 관련 유전자 발현 분석

*NAC85-GFP* 과발현체를 제작하기 위해 애기장대의 *NAC85* cDNA를 식물 형질전환용 pK7FWG2 게이트웨이 벡터에 클로닝하고 *Agrobacteria*를 이용하여 형질전환 하였다(그림 17A). 형질전환체를 kanamycin이 들어있는 1/2MS 배지에 파종하여 2주간 키운 후 과발현체를 선발하였다. *NAC85-GFP* 과발현이 DNA 손상 회복 기작에 미치는 영향을 조사하기 위해 선발된 *NAC85-GFP* 과발현체에서 DNA 손상 회복 관련 *RAD51*, *GRG*, *PARP1* 유전자의 발현을 분석하였다. *NAC85-GFP* 과발현체는 야생형(Col-0)과 비교할 때 *NAC44*의 발현

이 10~12 배 이상 증가하였지만 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현은 큰 차이가 없었거나 2배 이하로 증가하였다(그림 17B). 이러한 결과는 *NAC85* 유전자의 산물이 유전독성에 의해 유도되지만 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현에는 크게 기여하지 못함을 의미한다.

## 2. 후성인자의 방사선 회복/방어 역할 규명

방사선의 생물학적 영향 연구는 대부분 유전체 수준에서 진행되어왔지만 방사선은 유전체의 구조적 불안정성과 염색체 변이를 초래하므로 방사선 회복/방어 시스템에서 히스톤 변형, DNA 메틸화, 마이크로 RNA 등과 같은 후성유전체(에피지놈)의 역할을 규명함으로써 방사선 생물반응에 대한 새로운 정보를 제공하고자 하였다.

### 가. 방사선의 DSB 유발과 회복에 후성인자의 역할 규명

최근에 방사선에 의한 유전독성의 대표적 유형인 DSB의 발생과 회복에서 후성인자의 영향과 역할에 대한 가능성이 식물에서도 보고되고 있다[7,8]. 따라서 지난 2년간의 연구에서 제작/확보한 다양한 애기장대 돌연변이체 및 형질전환체를 이용하여 후성적 요인, 특히 염색질리 모델링과 DSB 발생 및 회복과의 연관성을 조사하였다. 이를 통해 방사선 회복/방어 유전자의 발현 조절에 후성인자의 잠재적인 역할을 규명하고자 한다.

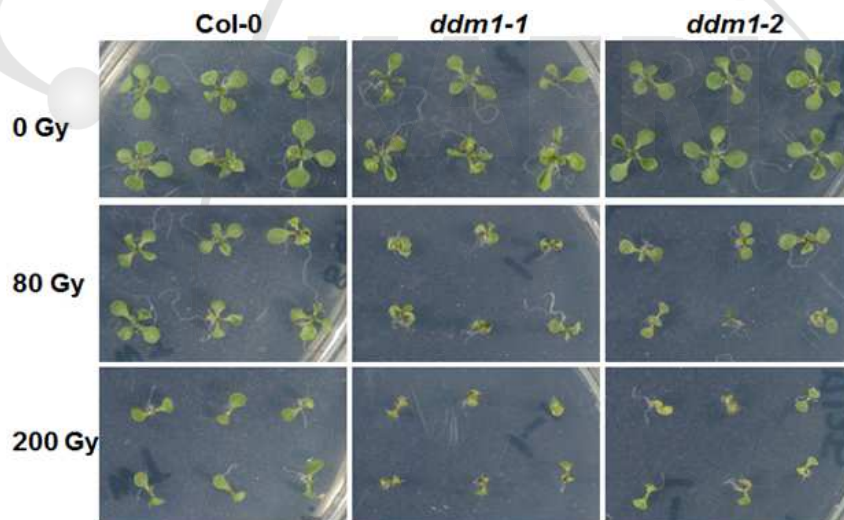


그림 18. 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후 표현형 비교

#### (1) 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 표현형 검증

애기장대에서 DNA 메틸화는 RNA directed DNA methylation (RdDM) pathway에 의해 이루어지며, 감마선 조사 후 non-CG DNA 메틸화가 감소하는 것으로 알려져 있다[7]. 본

연구에서는 RdDM 돌연변이체를 이용해 DNA 메틸화가 방사선 손상 회복/방어에 미치는 영향을 조사하였으며, DNA 메틸화 보다는 염색질리모델링이 방사선 손상 회복/방어에 영향을 미친다는 사실을 확인하였다. 5일된 *ddm1* 돌연변이체에 10분 동안 80, 200 Gy의 감마선을 조사한 후 14일 뒤 표현형을 관찰하였을 때, 0 Gy에서는 *ddm1* 돌연변이체가 야생형(Col-0)과 큰 차이가 없었지만 80 Gy의 경우에는 *ddm1* 돌연변이체의 지상부가 야생형에 비해 현저히 작았고 200 Gy에서는 생장이 거의 억제되었다(그림 18). 따라서 다른 RdDM 관련 유전자와 달리 염색질리모델링에 관계하는 DDM1 유전자에 변이가 일어날 경우에 염색질 구조변화를 통해 방사선 손상 회복/방어 기작에 영향을 미칠 수 있으며, 최종적으로 방사선 민감성 표현형을 보이는 것으로 생각된다.

## (2) 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 DNA 손상 규명

### ① 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 DNA 이중가닥절단(DSB) 분석

*ddm1* 돌연변이체에 감마선 조사 후 neutral 버전의 comet assay or single cell gel electrophoresis(SCGE)를 수행하여 DNA 이중가닥절단(DSB)의 생성과 회복을 조사하였다. DNA in tail(%)는 DNA 손상을 보여주는 지표로서 수치가 높을수록 single cell 수준의 DNA 손상이 크다. 각각 150개 이상의 세포를 이용한 세 번의 독립적인 실험에서 *ddm1* 돌연변이체는 야생형(Col-0)에 비해 감마선 조사 후 2시간째 더 높은 DNA 손상을 보여 주었다(그림 19). 이러한 결과는 *ddm1* 돌연변이체가 야생형에 비해 감마선에 의한 DNA 손상을 더 많이 받거나 손상된 DSB의 회복이 지연됨을 의미한다.

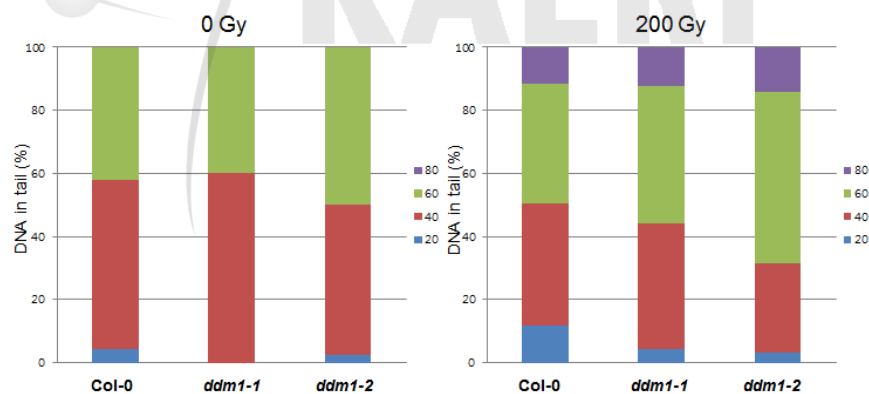


그림 19. 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후 DNA 손상(DSB) 비교

### ② 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 global DNA 손상 분석

*ddm1* 돌연변이체에 감마선 조사 후 alkaline 버전의 comet assay 또는 SCGE를 수행하여 global DNA의 손상 및 회복을 시간별로 분석하였다. Alkaline 버전의 comet assay는 DNA 단일가닥절단(SSB)을 포함해 전체적인 DNA 손상을 반영한다. 각각 150개 이상의 세포



를 이용한 세 번의 독립적인 실험에서 *ddm1* 돌연변이체는 야생형(Col-0)에 비해 감마선 조사 후 6시간째 더 높은 DNA 손상을 나타냈으며, 24시간 후에는 야생형과 유사한 수준으로 회복되었다(그림 20). 이러한 결과는 *ddm1* 돌연변이체가 DNA 손상을 더 많이 받거나 지연된 회복을 보이지만 24시간째에 비슷한 수준으로 회복되며, 이러한 차이가 앞서 밝혀진 방사선 민감성 표현형과 연관될 수 있음을 의미한다.

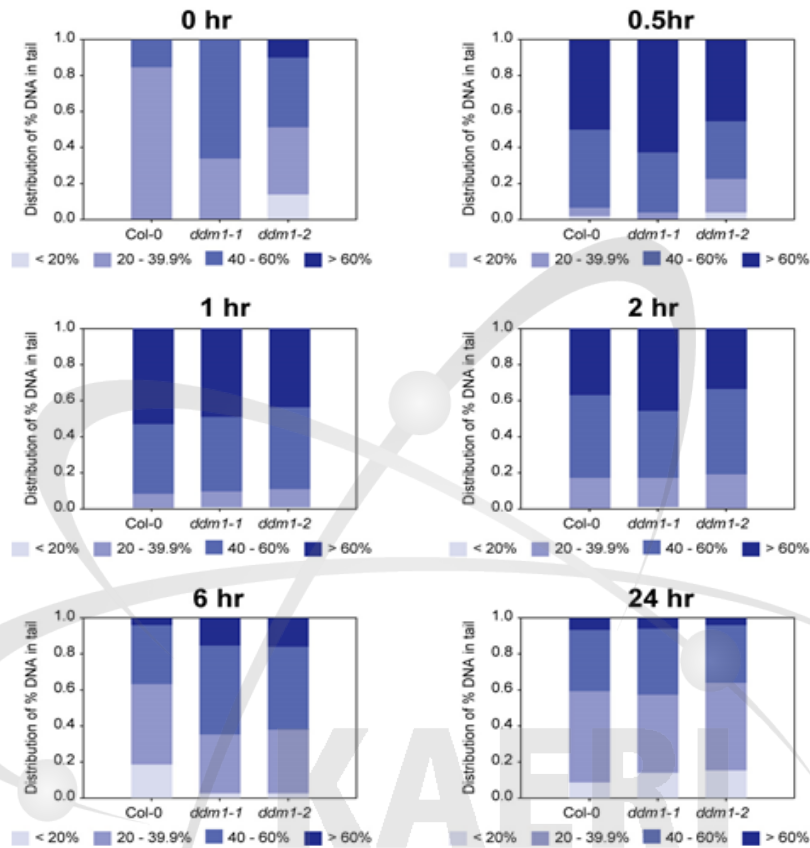


그림 20. 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후 시간별 DNA 손상 변화

### (3) 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 DNA 손상 원인 규명

#### ① 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 DNA 회복 관련 유전자 발현 변화 분석

염색질리모델링 후성인자 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 민감성 표현형이 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현과 관계있는지를 확인하기 위해 5일된 식물체에 4시간동안 200 Gy 감마선을 조사한 후 야생형(Col-0)에서의 발현 수준과 비교하였다. HR 회복 관련 *BRCA1*, *RAD51*, *RPA1E* 유전자와 BER/SSB 회복 관련 *PARP1* 유전자는 모두 야생형과 *ddm1* 돌연변이체에서 큰 차이를 보이지 않았다(그림 21). 이러한 결과는 방사선 손상 회복/방어 기작에서 염색질리모델링 패밀리에 속해있는 DDM1 후성인자가 DNA 손상 회복 관련 유전자의 발현 조절을 통해 방사선 민감도에 관계하는 것이 아님을 의미한다.

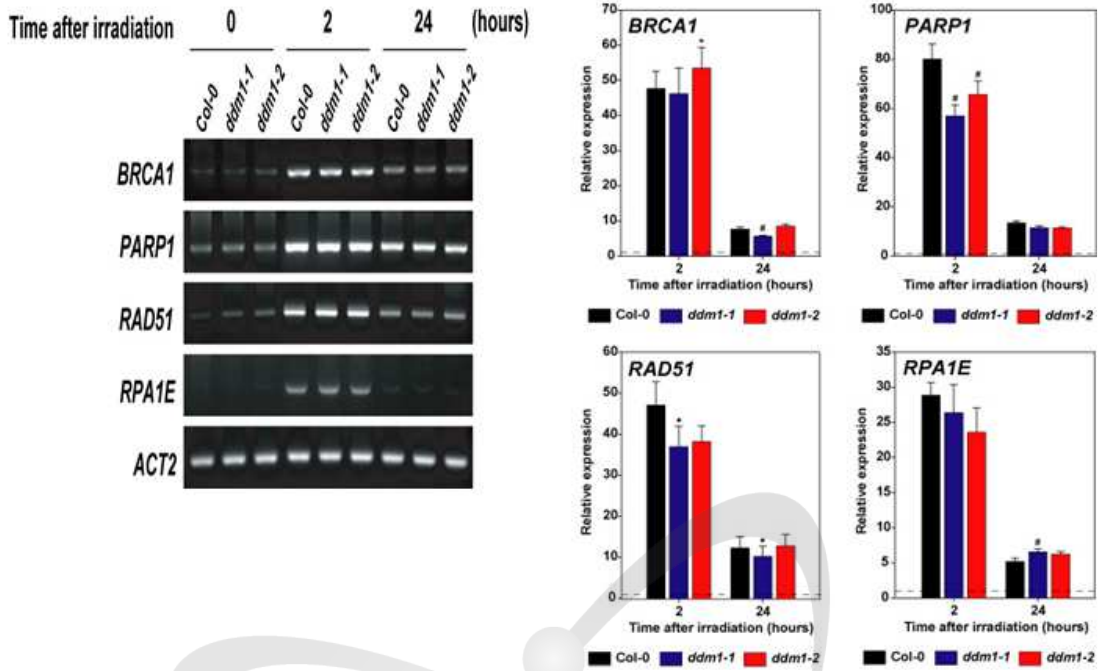


그림 21. 야생형(Col-0)와 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후 DNA 회복 유전자 발현 비교

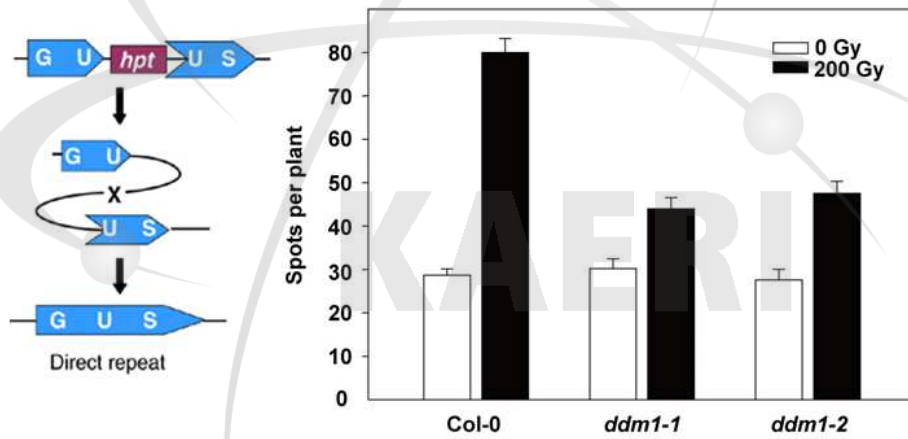


그림 22. 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후 HRF 비교

② 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 homologous recombination frequency 분석

식물의 DDM1과 유사한 yeast RAD54(yRAD54)는 DNA 이중가닥절단(DSB)의 HR repair를 위한 염색질리모델링을 유도한다[9]. 따라서 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 민감성 표현형이 homologous recombination(HR) repair의 결함에 기인하는지를 조사하였다. 이를 위해 HR frequency(HRF)를 확인할 수 있는 DGU.US 라인을 사용하였으며[10], 이 라인과 *ddm1* 돌연변이체를 교배하여 만든 이중 돌연변이체를 야생형(Col-0)과 교배한 대조군 비교하여 감마선 조사 전후 HRF의 차이를 조사하였다. 감마선 조사 전 HRF는 야생형과 *ddm1* 돌연변이체에서 30개 정도로 유사하였으나, 감마선 조사 후에는 야생형 80개에 비해 *ddm1* 돌연변이



체는 45개로 유의적으로 감소된 HRF를 보여주었다(그림 22). 이러한 결과는 야생형에 비해 *ddm1* 돌연변이체에서 감마선에 의해 발생한 DSB의 HR repair 효율이 낮으며, 이러한 차이가 앞서 밝혀진 방사선 민감성 표현형과 연관될 수 있음을 의미한다.

### ③ 감마선 조사 후 *ddm1* 돌연변이체의 $\gamma$ -H2AX 분석

H2AX는 H2A의 variant로써 인산화 될 경우  $\gamma$ -H2AX라고 지칭하며,  $\gamma$ -H2AX assay는 DNA 이중가닥절단(DSB)을 표지함으로써 방사선에 의한 DNA 손상 및 회복 연구에 널리 사용된다[11].  $\gamma$ -H2AX로 표지된 DSB는 다양한 회복 기구들이 참여하는 homologous recombination(HR) 또는 nonhomologous end joining(NHEJ)에 의해 복구가 된다. 식물에서는  $\gamma$ -H2AX 항체가 제한적이고 상용화되지 않아 널리 활용되지 못하였으나 최근에 시판된 동물용  $\gamma$ -H2AX 항체(Sigma-aldrich, H5912)가 애기장대의  $\gamma$ -H2AX에 반응성을 보였다. 따라서 이를 이용해 감마선 조사 전후 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의  $\gamma$ -H2AX 수준을 비교하였으며, 감마선 조사 후 야생형에 비해 *ddm1* 돌연변이체의  $\gamma$ -H2AX 수준이 훨씬 낮다는 사실을 확인하였다(그림 23). 이러한 결과는 *ddm1* 돌연변이체에서  $\gamma$ -H2AX 생성에 결함이 있음을 나타내는 것으로, 식물에 존재하는 SWI2/SNF2 염색질리모델링 후성인자 DDM1이 DNA 손상 반응에서  $\gamma$ -H2AX 생성에 관여함을 의미한다.

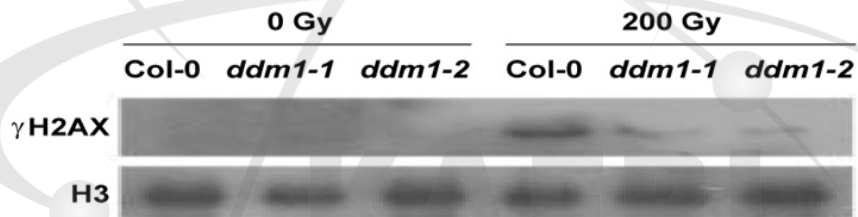


그림 23. 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후  $\gamma$ -H2AX 비교

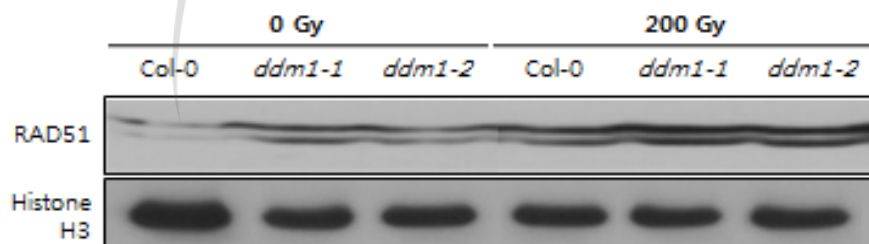


그림 24. 야생형(Col-0)과 *ddm1* 돌연변이체의 감마선 조사 후 RAD51 비교

### ④ 감마선 조사 후 DDM1 돌연변이체의 RAD51 단백질 양 분석

RAD51은 HR repair가 일어날 때 homologous DNA template를 찾아내고 단일가닥 DNA를 그곳으로 안내하는 역할을 한다[12]. 따라서 *ddm1* 돌연변이체에서 감소된 HRF가 RAD51의 변화에 기인하는지를 감마선 조사 전후에 확인하였다. 야생형(Col-0)은 RAD51이

감마선 조사 후 증가한 반면, *ddm1* 돌연변이체는 감마선 조사 전후 모두 RAD51이 야생형에 비해 크게 증가되어 있었다(그림 24). 이러한 결과는 *RAD51*의 유전자 발현과 달리 단백질 수준에서는 야생형과 *ddm1* 돌연변이체의 차이가 있음을 의미하며, 추가적인 확인을 위해 DNA 손상 부위에 형성되는 RAD51 foci를 조사할 필요가 있다.

#### (4) 감마선 조사 후 RAD51 foci 분석

최근에 cisplatin과 같은 유전독성물질을 식물에 처리할 때 DNA 손상부위에 RAD51 foci 형성의 중요성이 보고되었다[12]. RAD51은 HR repair를 매개하는 핵심 단백질이므로 *ddm1* 돌연변이체에서 RAD51 foci 형성을 분석할 필요가 있다. 식물 RAD51에 특이적인 항체가 존재하지 않으므로 보고된 논문을 바탕으로 시판된 동물용 RAD51 항체(Abcam, ab46981)를 이용해 면역염색법을 수행하여, 감마선 조사 후 핵에서 RAD51 foci가 형성됨을 확인하였다(그림 25). 이를 이용해 향후 야생형과 *ddm1* 돌연변이체에서 RAD51 foci 패턴의 변화를 비교 분석할 계획이다.

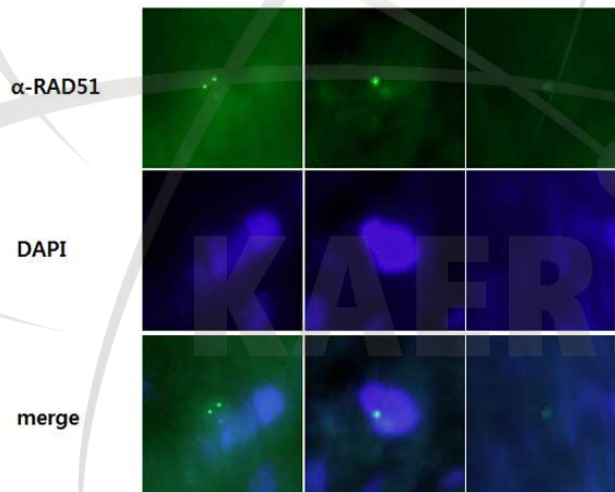


그림 25. 감마선 조사후 RAD51 foci 형성

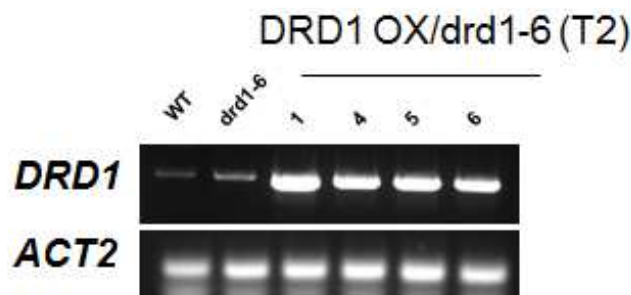


그림 26. *DRD1* 과발현체의 선발 및 확인

### (5) DRD1 과발현체 제작 및 선발

2016년 연구에서 *ddm1-2* 돌연변이체와 유사하게 감마선 민감성을 보였던 *drd1-6* 돌연변이체에 대한 기능연구를 위해 DRD1 과발현 *drd1-6* 돌연변이체(DRD1 OX/*drd1-6*)를 제작하여 선발하였다(그림 26). 그림에서 보듯이 야생형(WT)에 비해 DRD1 유전자 발현양이 크게 증가하였음을 확인하였다.

### (6) 감마선 조사 후 *drd1* 돌연변이체와 과발현체의 표현형 검증

앞서 제작한 DRD1 과발현 *drd1-6* 돌연변이체를 5일간 생육한 뒤 4시간동안 200, 500 Gy 감마선을 조사하고 21일 뒤 야생형(WT), *drd1-6* 돌연변이체와 표현형을 비교하였다. 200 Gy에서 *drd1-6* 돌연변이체는 야생형에 비해 지상부가 다소 작고 황백화 되어 있고 뿌리 발달이 억제된 반면에, DRD1 과발현 *drd1-6* 돌연변이체는 야생형과 유사한 표현형을 보였다(그림 27). 그러나 500 Gy에서는 야생형, *drd1-6* 돌연변이체, DRD1 과발현 *drd1-6* 돌연변이체의 표현형에 차이가 없었다. 이러한 결과는 DRD1 과발현이 *drd1-6* 돌연변이체의 감마선 민감성을 완화하는 것으로 해석되며, DDM1과 같이 DRD1도 방사선 손상 및 회복 기작에 기능적 역할을 하고 있음을 의미한다.

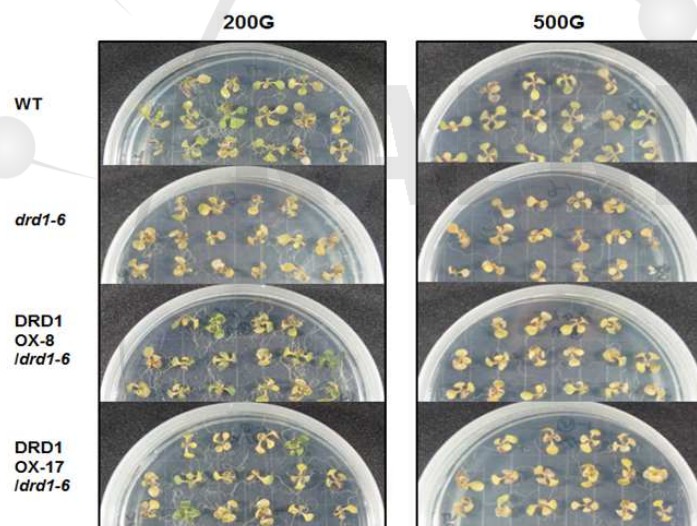


그림 27. 감마선 조사 후 *drd1* 돌연변이체와 과발현체의 표현형 비교

## 3. 종특이성 방사선 회복/방어 분자지표 개발

방사선의 생물학적 효과는 종과 개체에 따른 특이성과 변이성이 매우 크고 환경요인에 대한 의존성이 높다. 방사선 회복/방어 시스템은 이러한 방사선 효과를 결정하는 핵심요인으로 본

과제에서는 유전체 구조의 불안정성과 염색체 변이 및 에피지놈 변화로부터 방사선 회복/방어 시스템 기반의 신개념의 분자선량 지표를 개발하고자 하였다.

### 가. 방사선 회복/방어 평가용 식물 유전자/단백질 지표 개발

방사선 회복/방어 시스템의 변화와 연계된 식물 유전체/단백질체 지표에 대한 탐색을 확대하고 분자지표로서의 범위와 가능성을 검증하고자 하였으며, 이를 위해 방사선 회복/방어 관련 전사체 기반의 분자지표를 탐색 및 선별하고 시간별 선량률 의존성을 확인하였다. 본 연구 결과는 최근에 국제학술지에 게재되었다[13].

#### (1) 단일세포 겔 전기영동(SCGE)법을 이용한 감마선 선량평가 범위 검증

Comet assay로 불리는 단일세포 겔 전기영동(Single cell gel electrophoresis, SCGE) 분석법은 방사선이나 유전독성물질에 의해 발생하는 동·식물의 DNA 손상 평가에 널리 사용되어 왔다[11]. 따라서 SCGE assay를 통해 애기장대에서 저선량 감마선의 선량별 DNA 손상 정도를 비교하여 식물의 방사선 선량평가를 위한 유효성을 확인하고자 하였다. 14일된 애기장대에 0 ~ 48 Gy까지 감마선을 조사하고 DNA 단일가닥절단(SSB)과 이중가닥절단(DSB)을 모두 검출할 수 있는 알칼리 방법의 SCGE 분석법을 수행하였을 때, DNA 손상 정도를 의미하는 olive tail moment(OTM) 지표는 모든 감마선 조사구에서 대조군에 비해 증가되었다(그림 28). 그러나 이러한 DNA 손상은 3, 6 Gy까지 선량 의존적으로 증가하였지만 12 Gy부터는 더 이상 유의적으로 증가하지 않았다. 이러한 결과는 SCGE 분석법을 이용한 식물의 방사선 선량평가는 10 Gy 이하의 범위에서만 부분적으로 유효함을 의미한다.

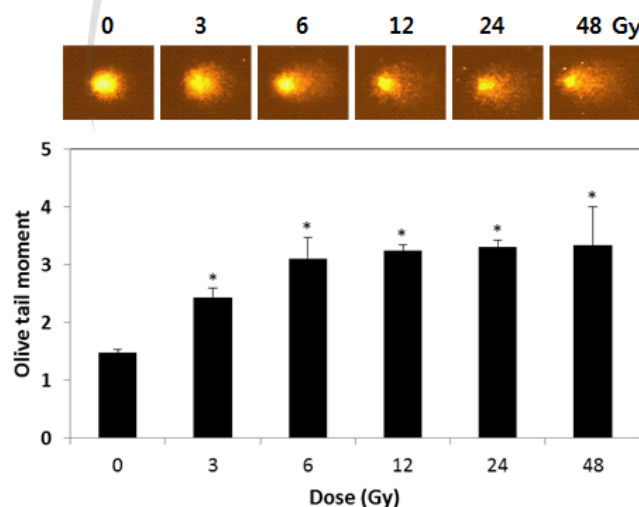


그림 28. SCGE 분석에 의한 감마선 선량별 DNA 손상 비교

(2)  $\gamma$ -H2AX 분석을 통한 감마선 선량평가 범위 검증

DNA 이중가닥절단(DSB)에 의한 초기 반응인 히스톤 H2AX의 인산화( $\gamma$ -H2AX)를 측정하기 위해 애기장대에 저선량 감마선 조사 후 선량별  $\gamma$ -H2AX를 분석하였다.  $\gamma$ -H2AX 단백질은 0, 3, 6, 12, 24, 48 Gy의 감마선 선량에 비례해 증가하였으며, 선량-반응 곡선은 이차선형 곡선 모델인  $y = 0.0067x^2 + 0.3896x + 0.6020$  ( $R^2=0.99$ )의 관계식을 따랐다(그림 29). 이러한 결과는 SCGE assay에 비해  $\gamma$ -H2AX assay가 식물의 방사선 선량평가를 위한 유효선량 범위가 넓다는 것을 의미한다.

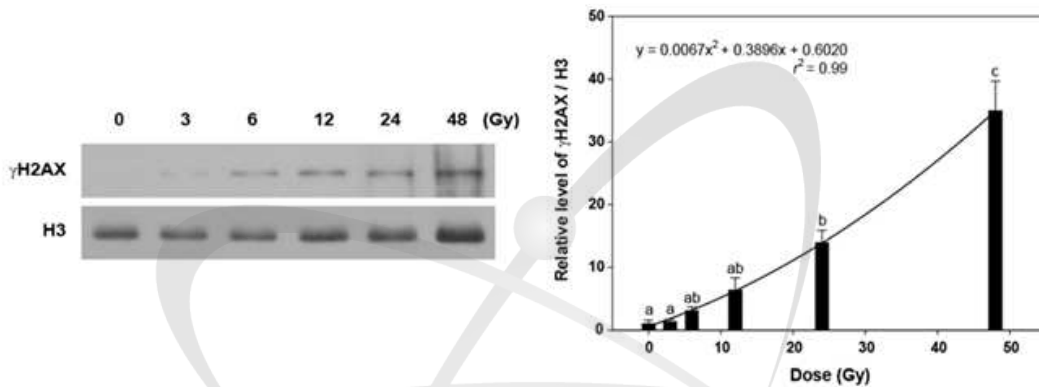


그림 29. 감마선 조사선량에 따른  $\gamma$ -H2AX 생성 비교

(3) 감마선 반응 전사체 기반의 방사선 선량평가 모델 확립

방사선 반응 전사체에 기반한 분자지표를 확립하기 위해 감마선 유도 유전자 중에 저선량 범위에서 선량 의존적으로 발현이 증가되는 *AGO2*, *BRCA1*, *GRG*, *PARP1*, *RAD17*, *RAD51*, *RPA1E* 유전자를 선발하였다. 이 유전자들은 감마선 조사 후 24시간이 지나면 발현 수준이 감소되지만 여전히 높은 선량의존성을 보였다(그림 30).

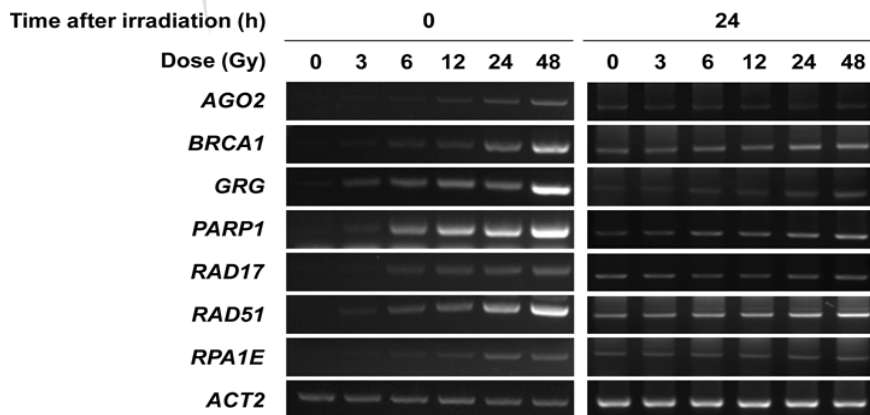


그림 30. 저선량 감마선의 선량별, 시간별 DNA 손상 반응 유전자 발현 비교

각 유전자 발현의 선량의존성을 정량적으로 비교하기 위해 애기장대에 0~48 Gy의 감마선을 조사한 직후에 qRT-PCR을 수행하였다. *AGO2*, *BRCA1*, *GRG*, *PARP1*은  $\gamma$ -H2AX와 유사한 이차선행의 선량-반응 곡선을 보였고, 특히 12 Gy 이상에서도 유전자 발현의 선량의존성이 높았다. 반면에 *RAD17*, *RAD51*, *RPA1E*는 선량이 증가할수록 유전자 발현이 증가하였지만 그 증가 폭이 감소하는 초선형의 선량-반응 곡선이 나타냈다(그림 31).

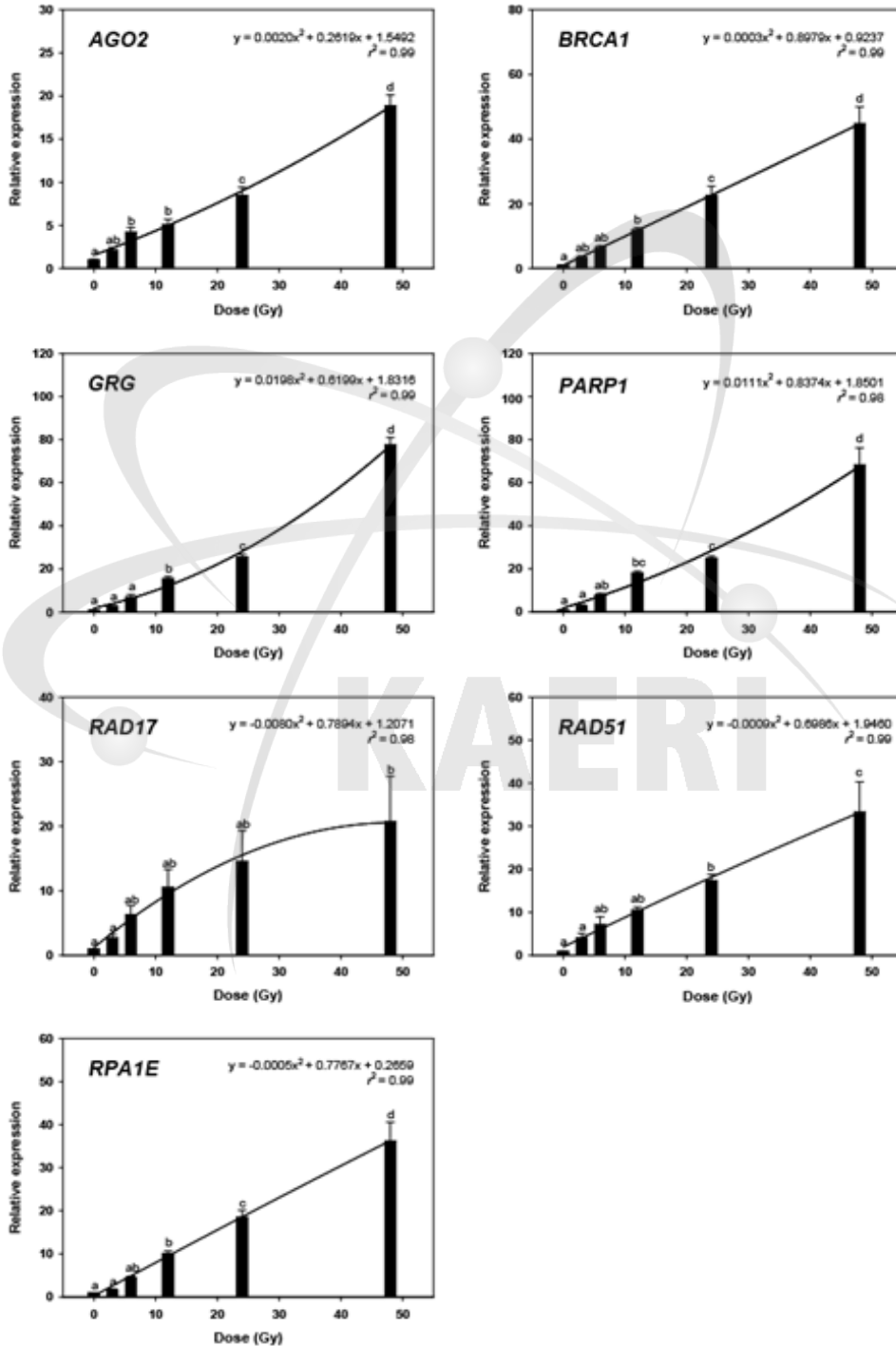


그림 31. 저선량 감마선 조사 직후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 선량의존성

0~48 Gy의 감마선을 조사한 24시간 후에 qRT-PCR을 수행하였을 때에도 *BRCA1*, *GRG*, *PARP1*, *RAD17*, *RAD51*의 발현은 여전히 높은 선량의존성을 보였으며, 특히 48 Gy에서의 유의성이 높았다(그림 32). 이러한 결과는 *BRCA1*, *GRG*, *PARP1*, *RAD17*, *RAD51* 같은 DNA 손상 반응 관련 유전자의 발현 변화가 24시간 후에도 이차선형의 선량-반응 곡선을 유지하므로 이들이 식물의 방사선 선량평가를 위한 분자지표로 활용될 수 있음을 의미한다.

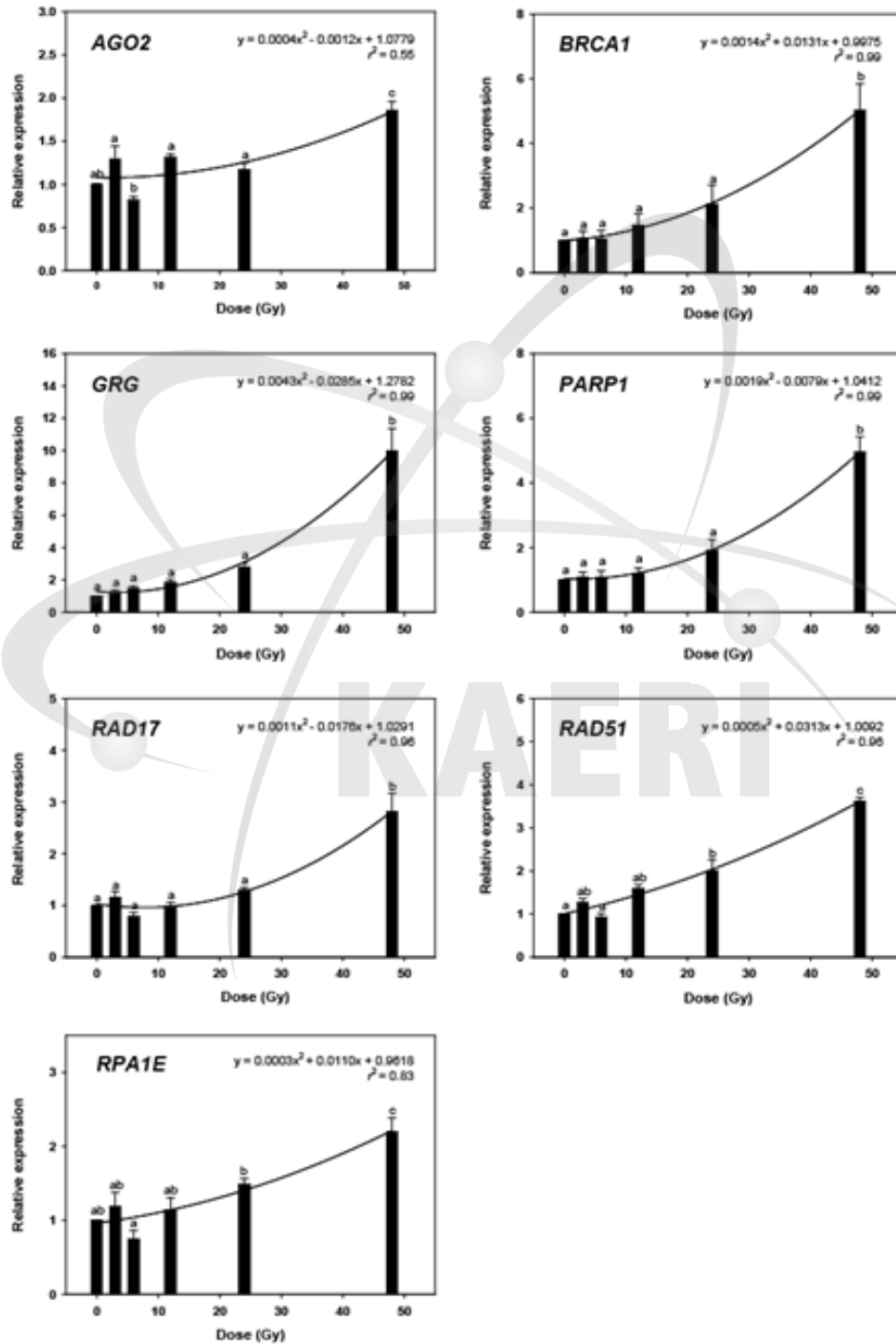


그림 32. 저선량 감마선 조사 24시간 후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 선량의존성



## 제2절 방사선 회복/방어 시스템 활용 기술 개발

본 과제에서는 후성유전체 기반의 방사선 회복/방어 시스템 규명을 통한 방사선 생체영향 평가 원천기술 개발과 함께 방사선 회복/방어 시스템을 활용한 방사선 생명공학 핵심기술 개발을 목표로 하였다. 따라서 새로운 방사선 생명공학 핵심기술 개발을 위해 환경스트레스 내성 식물 개발에 미생물의 방사선 손상 방어 유전자를 활용하여 ‘방사선 내성 인자의 중간 활용 기술’을 개발하고자 하였다.

### 1. 방사선 회복/방어 분자지표의 분자선량 평가 활용

$\gamma$ -H2AX 분석 등의 기존의 방사선 손상 분석기술에 기반한 식물 방사선 선량평가 기술 개발과 평가지표 1.3으로부터 개발된 종특이적 방사선 회복/방어 분자지표를 활용하여 유전독성에 대한 신개념의 분자선량 평가 기술을 개발하고자 하였다.

#### 가. 종특이적 분자지표의 식물 방사선 민감도 평가 활용

모델식물에서 지난 2년간 발굴한 유전체/에피지놈/전사체/단백질체 분자지표를 활용하여 유전독성 민감도를 평가하고 표현형 등의 기존 분석기법과 비교하여 분자선량평가에서의 적합성을 확인하고자 하였다. 이를 위해 2016년 전사체 비교 분석을 통해 선발한 종특이적 방사선 분자지표를 대상으로 민감도와 신뢰도를 검증하였다. 본 연구결과는 최근에 국제학술지에 게재되었다[13].

#### (1) 저선량 방사선 조사 후 감마선 반응 유전자들의 선량-반응 해석

애기장대에서 감마선 조사 직후 7개 유전자의 선량-반응 곡선을 2개의 그룹으로 나누어 평균 선량-반응 관계식을 구하였다. 첫 번째 그룹은 *AGO2*, *BRCA1*, *GRG*, *PARP1*의 유전자 발현을 평균한 것으로  $y = 0.0083x^2 + 0.6543x + 1.5387$ 의 이차선형모델로 표현되며  $\gamma$ -H2AX 선량-반응 모델과 유사하였다(그림 33). 반면에 *RAD17*, *RAD51*, *RPA1E*로 이루어진 두 번째 그룹은  $y = -0.0032x^2 + 0.7549x + 1.1397$ 의 관계식으로 초선형모델을 따랐다. 감마선 조사 24시간 후에는 7개 유전자의 선량-반응 곡선이 모두 비슷하여 이를 통합하면  $y = 0.0014x^2 + 0.0002x + 1.0564$ 의 관계식과 이차선형모델이 산출된다(그림 34). 흥미롭게도 *BRCA1*은 점선으로 표시된 상하향 95% 신뢰구간의 모든 선량에 공통적으로 위치하였다. 이러한 결과는 *BRCA1* 유전자가 감마선 반응 전사체 기반의 식물 방사선 선량평가에서 가장 신뢰할만한 분자지표임을 의미한다. 그러나 현장 적용시의 편차를 고려할 때 단일 분자지표로



는 충분한 통계적 유의성을 확보하기 어려울 수 있기 때문에 *BRCA1* 이외에 다른 6개 유전자를 함께 지표로 활용하는 것이 유리할 수 있다. 또한 다양한 방사선 선량과 방사선 조사 후 시간대에서 추가적인 전사체 기반의 분자지표 개발이 필요하다.

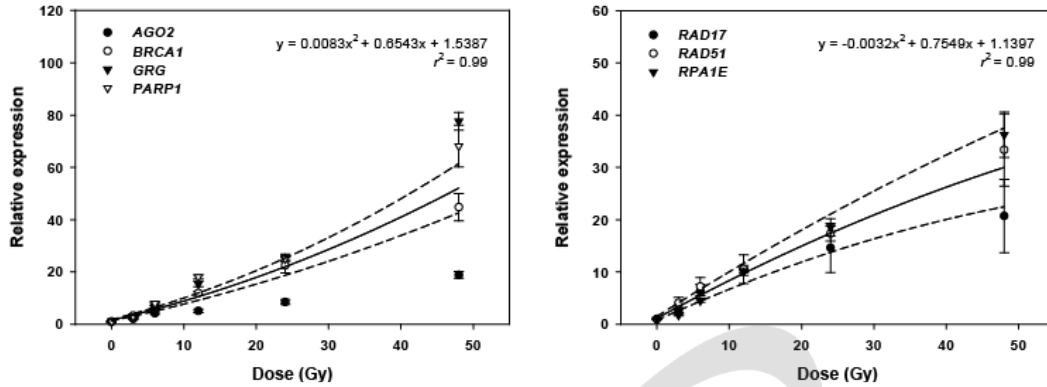


그림 33. 저선량 감마선 조사 직후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 평균적인 선량-반응 유형

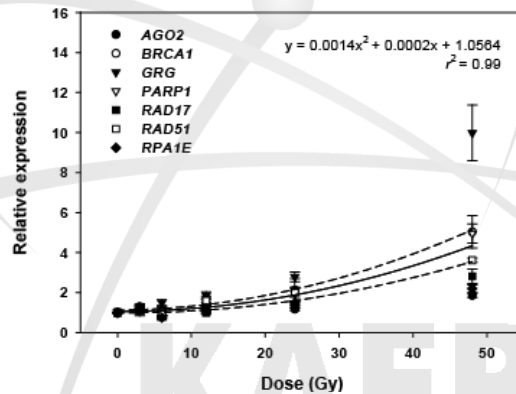


그림 34. 저선량 감마선 조사 24시간 후 DNA 손상 반응 유전자 발현의 평균적인 선량-반응 유형

## (2) 식물 방사선 선량평가에서 선량률 영향 규명

방사선 반응 유전자의 발현에 방사선 선량률 영향을 조사하기 위해 14일된 애기장대에 6 Gy의 감마선을 3가지 다른 선량률로 조사한 후 qRT-PCR을 수행하였다. 이를 위해 감마파이토포론에서 100 mGy h<sup>-1</sup>의 선량률로 60시간 동안 조사(하루에 800 mGy씩 7.5일)하거나 50 mGy h<sup>-1</sup>의 선량률로 120시간 동안 조사(하루에 120 mGy씩 5일)하고, 저준위 감마선 조사시설에서 1,500 mGy h<sup>-1</sup>의 선량률로 4시간 동안 감마선을 조사하였다. 결과적으로 7개 감마선 반응 유전자의 발현은 선량률에 따라 모두 증가하였지만 *AGO2*, *BRCA1*, *RAD17*, *RAD51*의 발현 증가는 1,500 mGy h<sup>-1</sup>의 선량률에서만 통계적으로 유의적이었다(그림 35). 이러한 결과는 전사체 기반의 식물 방사선 선량평가에서 방사선 선량과 선량률 모두가 선량반의 결정요인으로써 고려되어야 함을 의미한다.

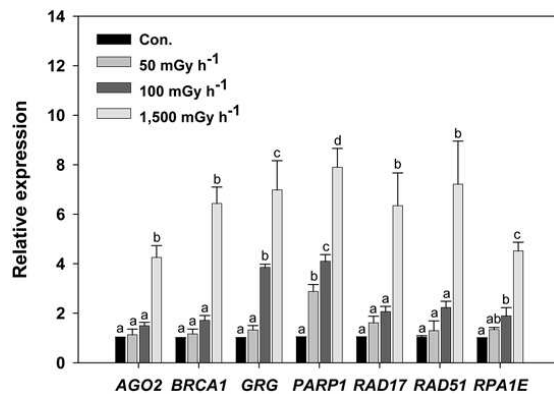


그림 35. 감마선 선량률에 따른 DNA 손상 반응 유전자 발현 비교

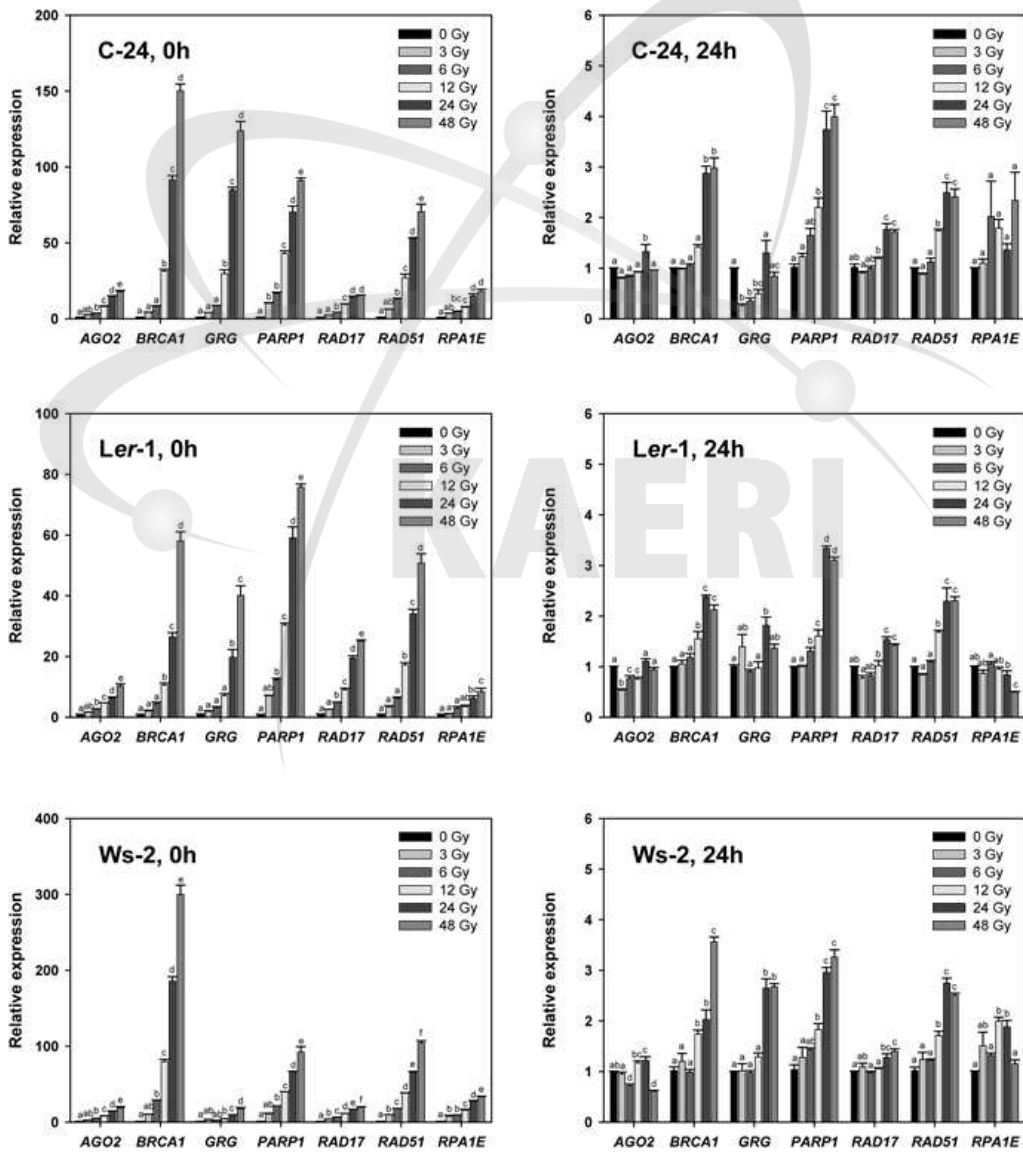


그림 36. 애기장대 생태형에 따른 DNA 손상 반응 유전자 발현의 선량의존성 비교

### (3) 방사선 반응 전사체 기반의 선량평가 모델의 활용성 검증

전 세계적으로 7,000가지 이상의 애기장대 야생형이 보고되어 있으며, 그 중에 C24, Ler-1, Ws-2, Col-0는 식물 연구에 널리 활용되고 있다. 전사체 기반의 식물 방사선 선량평가 모델의 활용성을 검증하기 위해 추가적으로 애기장대의 3가지 야생형(C24, Ler-1, Ws-2)에 감마선 조사 후 7개 유전자 발현의 선량의존성을 비교하였다. 감마선 조사 직후 7개 유전자는 모든 야생형에서 선량 의존적으로 발현이 증가하였지만, 24시간 후에는 *AGO2*, *GRG*, *RPA1E* 유전자의 발현이 대조군 수준으로 감소하거나 선량의존성을 보이지 않았다(그림 36). 또한 야생형에 따라 감마선에 의한 각 유전자 발현의 영향이 달랐는데, Ws-2는 다른 야생형에 비해 특이적으로 *BRCA1* 발현이 매우 높고, 반면에 *GRG* 발현은 매우 낮았다. 따라서 전사체 기반의 식물 방사선 선량평가 모델을 현장에서 활용하기 위해서는 야생형의 특징을 고려한 다양한 전사체 분자지표를 선별하고 이들을 통합적으로 분석 및 해석하는 것이 필요하다.

## 2. 방사선 회복/방어 유전자의 이종발현 및 활용

유전자의 이종발현은 작물 생산성 증진, 환경대응, 바이오연료, 바이오플라스틱, 바이오신약 생산 식물의 개발을 위해 주로 연구되어 왔다. 그러나 단일 유전자의 이종발현은 본래의 유전자 기능이 상실되거나 도입종의 표현형과 연관되는 경우가 드물었다. 본 과제에서는 미생물의 방사선 회복/방어 시스템을 구성하는 항산화스트레스 유전자를 모델식물인 애기장대에 도입한 후 환경스트레스 내성 검증을 통해 이종발현 유전자의 세포내 새로운 역할과 분자기작을 규명함으로써 종특이성 방사선 회복/방어 유전자의 이종간 활용을 증진시키고자 하였다.

### 가. *DcPrx* 도입 애기장대 개발 및 환경스트레스 내성 검증

방사선 저항성 미생물인 *Deinococcus radiodurans*의 방사선 스트레스 회복/방어 관련 *DcPrx* 유전자를 애기장대에 도입하여 환경스트레스 내성 검증을 통해 세포내 생리적 기능 및 분자기작 규명하고자 하였다.

#### (1) *DcPrx* 과발현체의 건조스트레스 내성 검증

애기장대 *DcPrx* 과발현체의 건조스트레스에 대한 내성을 조사하기 위해 2주간 1/2 MS 배지에서 키운 야생형(WT)과 *DcPrx* 과발현체를 각각 2시간과 4시간 동안 filter paper 위에 두어 건조스트레스를 유도하였다. 이후 수분을 공급하고 3일간 회복시켜 표현형의 변화를 비교하였다. 2시간과 4시간 건조스트레스를 처리한 경우 모두 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 표현

형 차이는 나타나지 않았다(그림 37). 이러한 결과는 애기장대의 *DcPrx* 과발현이 건조스트레스에 대한 내성을 유도하지 않음을 의미한다.

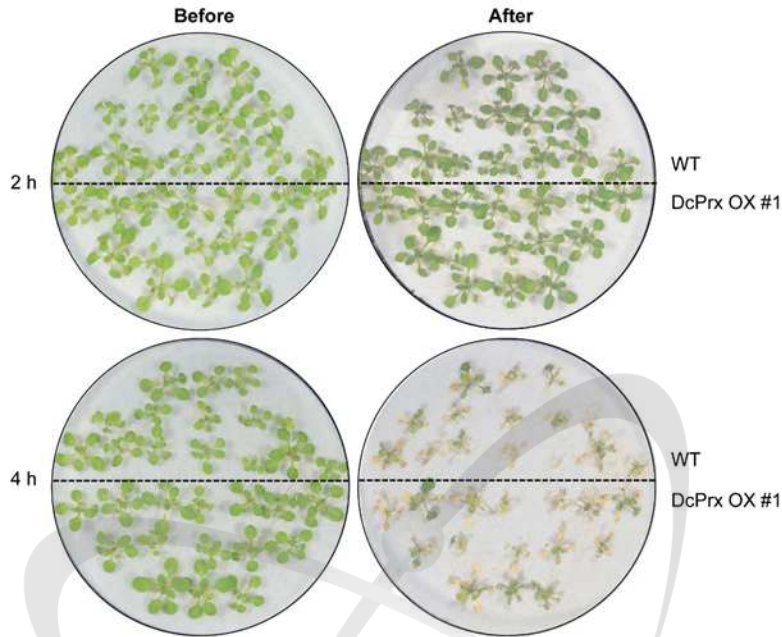


그림 37. 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 건조스트레스 처리 후 표현형 비교

## (2) *DcPrx* 과발현체의 염스트레스 내성 검증

애기장대 *DcPrx* 과발현체의 염스트레스 내성을 조사하기 위해 8일간 1/2 MS 배지에서 세로로 키운 야생형(WT)과 *DcPrx* 과발현체를 각각 50, 100, 그리고 120 mM NaCl이 첨가된 1/2 MS 배지로 옮겨 5일간 염스트레스를 유도하고 표현형 변화를 비교하였다. 야생형과 *DcPrx* 과발현체 모두 뿌리 및 전반적인 생육이 억제되었으며, 둘 사이에 유의적인 차이는 관찰되지 않았다(그림 38). 이러한 결과는 애기장대의 *DcPrx* 과발현이 염스트레스에 대한 내성을 유도하지 않음을 의미한다.

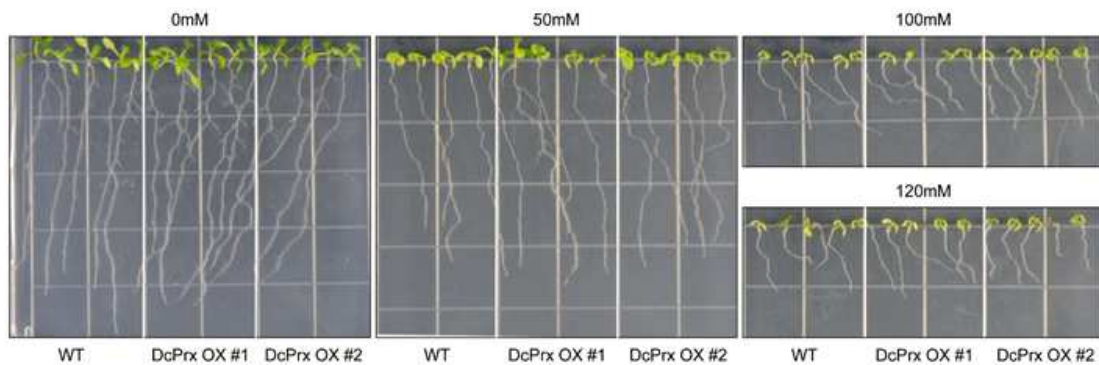


그림 38. 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 염스트레스 처리 후 표현형 비교

### (3) *DcPrx* 과발현체의 열스트레스 내성 검증

애기장대 *DcPrx* 과발현체의 열스트레스 내성을 조사하기 위해 23°C에서 3주간 자란 야생형(WT)과 *DcPrx* 과발현체를 37°C에서 4일간 열스트레스를 처리하고 23°C에서 2일간 회복시킨 후 표현형 변화를 비교하였다. 열스트레스 처리 전 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 생육상태는 유사하였지만, 열스트레스 처리 후 2일간 회복시킨 *DcPrx* 과발현체는 야생형에 비해 높은 생존율을 보였다(그림 39). 이러한 결과는 애기장대의 *DcPrx* 과발현이 열스트레스에 대한 내성을 유도할 수 있음을 의미한다.

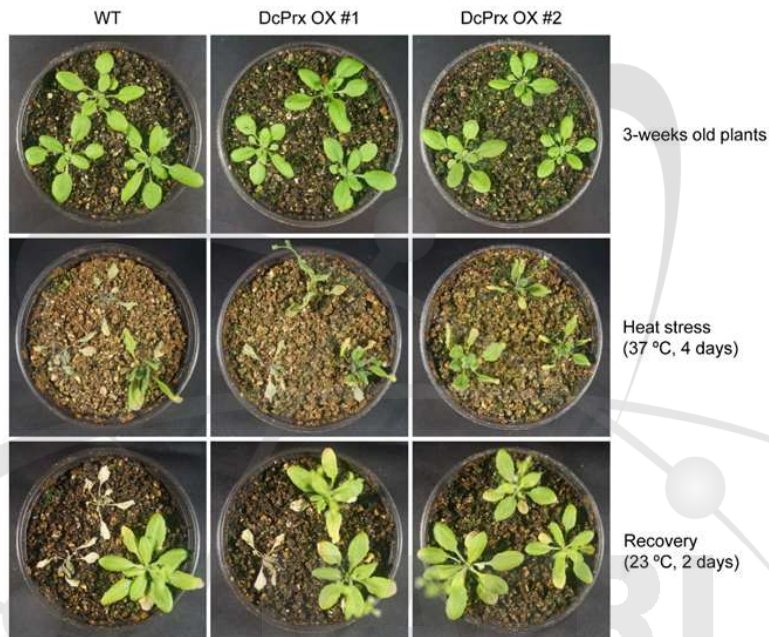


그림 39. 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 열스트레스 처리 후 표현형 비교

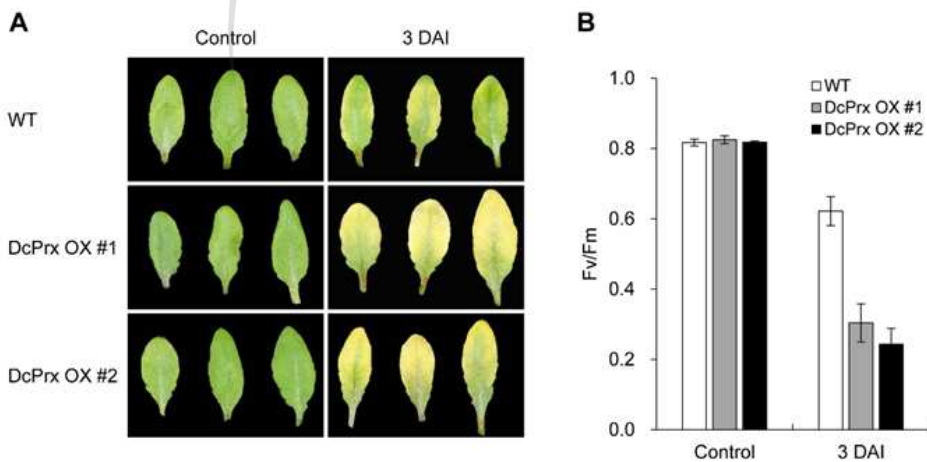


그림 40. 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 식물 병원균 처리 후 표현형과 광합성효율(Fv/Fm) 비교

#### (4) *DcPrx* 과발현체의 biotic stress 내성 검증

애기장대 *DcPrx* 과발현체의 생물스트레스 내성을 조사하기 위해 23°C에서 3주간 자란 식물체 잎에  $1 \times 10^6$  cfu 농도로 식물 병원균(DC3000)을 희석하여 주입하고 3일 후 표현형을 관찰하고 광합성효율(Fv/Fm)을 측정하였다. *DcPrx* 과발현체는 야생형에 비해 잎의 황백화가 많이 진행되었으며, 광합성효율의 감소가 컸다(그림 40). 이러한 결과는 애기장대의 *DcPrx* 과발현이 생물스트레스에 대한 민감성을 유도할 수 있음을 의미한다.

#### (5) *DcPrx* 과발현체의 강광스트레스 내성 검증

애기장대 *DcPrx* 과발현체의 강광스트레스 내성을 조사하기 위해 23°C에서 3주간 자란 식물체 잎을 물에 띄워  $600 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 세기로 3시간 동안 강광스트레스를 유도하고 스트레스 처리 후엽록소 형광분석법을 통해 광합성효율(Fv/Fm)과 전자전달률(ETR)을 측정하였다. 강광스트레스 처리 후 야생형(WT)과 *DcPrx* 과발현체는 광합성효율에서는 차이를 보이지 않았다(그림 41A). 반면에, 전자전달률은 강광스트레스 처리 후 *DcPrx* 과발현체가 야생형보다 현저히 높았다(그림 41B). 이러한 결과는 애기장대의 *DcPrx* 과발현이 부분적으로 강광스트레스에 대한 내성을 유도할 수 있음을 의미한다.

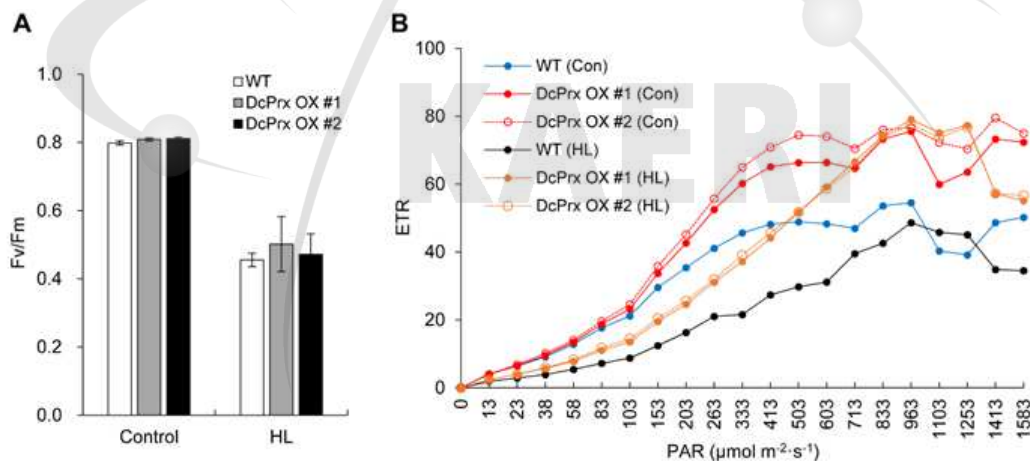


그림 41. 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 강광 처리 후 광합성효율(Fv/Fm)과 전자전달율(ETR) 비교

#### (6) *DcPrx* 과발현체의 UV-B 스트레스 내성 검증

애기장대 *DcPrx* 과발현체의 UV-B 스트레스 내성을 조사하기 위해 23°C에서 3주간 자란 식물체에 UV-B를  $21 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  세기로 처리하면서 시간에 따라 광합성효율(Fv/Fm)을 측정하였다. 시간이 지남에 따라 야생형(WT)과 *DcPrx* 과발현체 모두 광합성효율이 감소하였으며, 처리 3시간 이후부터 *DcPrx* 과발현체의 광합성효율이 야생형보다 높게 유지되었다(그

림 42). 그러나 5시간 이후에는 야생형과 *DcPrx* 과발현체 모두 광합성효율의 측정이 불가능하였다. 이러한 결과는 애기장대의 *DcPrx* 과발현이 부분적으로 UV-B 스트레스 대한 내성을 유도할 수 있음을 의미한다.

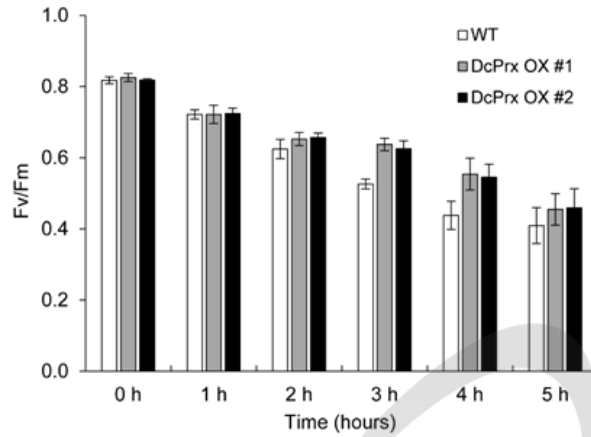


그림 42. 야생형과 *DcPrx* 과발현체의 UV-B 처리 후 광합성효율(Fv/Fm) 비교

KAERI







## 제4장

# 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

---

제1절 목표 달성도

제2절 관련분야 기여도

KAERI



## 제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제1절 목표 달성도

○ 2017년에는 지난 2년간의 연구결과를 바탕으로 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립, 방사선의 DSB 유발과 회복에 후성인자의 역할 규명, 방사선 회복/방어 평가용 식물 유전자/단백질 지표 개발, 종특이적 분자지표의 식물 방사선 민감도 평가 활용, 그리고 *DcPrx* 도입 애기장대 개발 및 환경스트레스 내성 검증 등의 연구를 완료하였다. 따라서 계획한 당해년도 목표를 100% 달성하였으며, 3년간의 연구결과를 종합할 때 최종목표를 충실히 (100%) 달성한 것으로 판단된다(표 1).

표 1. 2017년 핵심목표 달성 내역. 주) '합계'란의 (a) 및 (b)는 각 성과목표의 가중치에 당해목표달성도 및 최종목표달성도를 곱하여 산출한 값의 합계임.

성과목표		당해 목표달성도		최종 목표달성도	
성과목표명	가중치	점수	가중점수	점수	가중점수
1. 방사선 회복/방어 유전자 공동발현 네트워크 해석	15%	100	15	100	15
2. 후성인자의 방사선 회복/방어 역할 규명	35%	100	35	100	35
3. 종특이적 방사선 회복/방어 분자지표 개발	15%	100	15	100	15
4. 방사선 회복/방어 분자지표의 분자선량평가 활용	10%	100	10	100	10
5. 방사선 회복/방어 유전자의 이중발현 및 활용	25%	100	25	100	25
합 계	100%		(a) 100		(b) 100

### 제2절 관련분야 기여도

#### 1. 방사선 식물학(radiation botany) 연구 분야

○ 이온화 방사선에 대한 식물반응 연구는 최근에 들어서 유전체 분야로 확대되고 있지만 후성유전체를 통한 방사선 손상 회복/방어 연구는 본 과제에서 처음 시도되었다. 본 과제에서는 2015년에 감마선 민감성/내성 후성돌연변이체를 확보하였고, 2016년에는 방사선 손상 회

복/방어 관련 후성조절인자, 전사조절인자, 그리고 microRNA 유전자의 과발현/기능제거 형질전환체를 자체 제작하였다. 2017년에는 이를 활용해 방사선 손상 회복/방어 시스템의 역할과 조절 기작에 대한 모델을 확립하였으며, 향후 방사선의 식물작용을 규명하는데 새로운 방향성을 제공할 것으로 기대된다.

## 2. 방사선의 생물학적 선량평가(biodosimetry) 연구 분야

○ 방사선의 생물선량 평가 기술은 원자력관련 시설의 환경영향 평가에 필수적이지만 현재까지는 인체 및 일부 모델동물에서만 제한적으로 연구가 진행되었다. 본 과제에서는 지난 3년간 방사선 반응, 특히 방사선 손상/회복 관련 전사체 기반의 식물 방사선 선량평가(phytodosimetry) 기술을 개발하였으며, 최종적으로 기존의 세포유전학적 방법보다 빠르고 저비용이면서도 신뢰도가 높은 선량평가 모델을 확립하였다. 이러한 모델은 방사선의 생물학적 선량평가 기술의 범위를 확대하여 식물을 포함한 환경생물 전반에 대한 방사선 환경영향 평가를 가능하게 할 것으로 기대된다.

The logo for KAERI (Korea Atomic Energy Research Institute) is centered on the page. It features a stylized atomic symbol with three elliptical orbits and three spheres representing protons and neutrons. Below the symbol, the word "KAERI" is written in a bold, sans-serif font.

## 제5장

# 연구개발 결과의 활용계획

제1절 과학기술적 활용

제2절 사회·경제적 활용

KAERI



---

## 제5장 연구개발결과의 활용계획

---

### 제1절 과학기술적 활용

○ SOG1과 NAC103을 포함하는 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립: 방사선 손상 회복/방어 관련 주요 유전자들의 발현 조절 핵심 전사조절인자를 규명하여 방사선 및 유전독성 환경에 대한 phytodosimetry 또는 phytoremediation용 식물 개발에 활용

○ 방사선 반응 전사체 기반의 식물 방사선 선량평가 모델 확립: 농산물 산업의 위험관리를 위한 다양한 환경스트레스 반응 유전자를 활용한 생태환경 모니터링 기반기술 개발에 활용

○ 방사선 손상 방어유전자(DcPrx) 과발현 식물의 환경스트레스 내성 검증: 다양한 방사선 내성 인자를 활용한 환경스트레스 내성 식물 개발 및 평가에 활용

### 제2절 사회·경제적 활용

○ 방사선의 환경생물 영향 및 선량평가 기술 선진화를 통해 원자력 및 방사선 시설의 안정적인 관리와 국민적 신뢰도 제고에 활용

○ 방사선 환경의 감시와 정확화를 위한 기반 기술 확보를 통해 원자력과 방사선 기술에 대한 국민 수용성 증진과 관련 산업 발전에 활용

○ 간척지 등 척박한 농경지의 생산성 향상과 국가 농산물 산업 경쟁력 제고를 위한 환경스트레스 내성 식물 개발 및 신규 생물자원 확보에 활용

○ 국민 친화적인 방사선 생명공학 기술의 확대를 원자력 및 방사선 기술에 대한 국민 수용성 증진과 관련 산업 발전에 활용





## 제6장

### 참고문헌



KAERI



---

## 제6장 참고문헌

---

- [1] ICRP, "Environmental Protection - the Concept and Use of Reference Animals and Plants," *ICRP Publication 108. Ann. ICRP 38* (4-6), Aug. 2008.
- [2] J.-H. Kim et al. "Integrated analysis of diverse transcriptomic data *Arabidopsis* reveals genetic markers that reliably and reproducibly respond to ionizing radiation," *Gene* vol. 518, pp. 273-279, Feb. 2013.
- [3] Z. Feng et al. "Multigeneration analysis reveals the inheritance, specificity, and patterns of CRISPR/Cas-induced gene modifications in *Arabidopsis*," *PNAS* vol. 111, pp. 4632-4637, Mar. 2014.
- [4] K. Yoshiyama et al. "Suppressor of gamma response 1 (*SOG1*) encodes a putative transcription factor governing multiple responses to DNA damage," *PNAS* vol. 106, pp. 12843-12848, Aug. 2009.
- [5] K. Yoshiyama et al. "ATM-mediated phosphorylation of *SOG1* is essential for the DNA damage response in *Arabidopsis*," *EMBO Rep.* vol. 14, pp. 817-822, Aug. 2013.
- [6] L. Sun et al. "The plant-specific transcription factor gene *NAC103* is induced by bZIP60 through a new *cis*-regulatory element to modulate the unfolded protein response in *Arabidopsis*," *Plant J.* vol. 76, pp. 274-286, Jul. 2013.
- [7] J.E. Kim et al. "Characterization of non-CG genomic hypomethylation associated with gamma-ray-induced suppression of *CMT3* transcription in *Arabidopsis thaliana*," *Radiat. Res.* vol. 180, pp. 638-648, Nov. 2013.
- [8] S. Mondal et al. "Characterization of histone modifications associated with DNA damage repair genes upon exposure to gamma rays in *Arabidopsis* seedlings," *J. Radiat. Res.* vol. 57, pp. 646-654, Aug. 2016.
- [9] T.L.R. Tan et al. "Mouse *Rad54* affects DNA conformation and DNA-damage-induced *Rad51* foci formation," *Curr. Biol.* vol. 9, pp. 325-328, Mar. 1999.
- [10] J. Moreno-Romero et al. "CK2-defective *Arabidopsis* plants exhibit enhanced double-strand break repair rates and reduced survival after exposure to ionizing radiation," *Plant J.* vol. 71, pp. 627-638, Jun. 2012.
- [11] J.D. Friesner et al. "Ionizing radiation-dependent  $\gamma$ -H2AX focus formation requires ataxia telangiectasia mutated and ataxia telangiectasia mutated and *Rad3*-related," *Mol. Biol. Cell* vol. 16, pp. 2566-2576, May 2005.
- [12] A.K. Weimer et al. "The plant-specific CDKB1-CYCB1 complex mediates homologous recombination repair in *Arabidopsis*," *EMBO Rep.* vol. 35, pp. 2068-2086, Aug. 2016.
- [13] T.H. Ryu et al. "Transcriptome-based biological dosimetry of gamma radiation in *Arabidopsis* using DNA damage response genes," *J. Environ. Radioactiv.* vol. 181, pp. 94-101, Jan. 2018.



## 서지정보양식

KAERI보고서번호	KAREI/RR-4266/2017	보고서 종류	연구보고서
제 목 / 부 제	종특이성 방사선 회복시스템 규명 및 활용연구		
연구 책임자 및 부서명	김진홍 / 생명공학연구부		
연구자 및 부서명	김진규, 이승식, 이성범, 정광우, 최승희, 고영삼, 류태호, 홍성현 / 생명공학연구부, 손윤석, 임승주 / 공업환경연구부		
출 판 지	대전	발 행 일	2018.01.26
공 개 여 부	공개( O ), 비공개( )		총 페이지
비 밀 여 부	대외비( ), _ 급 비밀		76p.
INIS 공개여부	공개( O ), 비공개( )		
참고사항			
표( 1 )개, 그림( 42 )개, 참고문헌( 13 )개			
초록 (15-20줄 내외)			
<p>최근 들어 방사선 생물방호에 대한 국제기구의 가이드라인 변화와 방사선의 생물학적 환경안정성 평가에 대한 국민적 요구가 증가하고 있고, 방사선 의학 및 농생물 산업의 세계 경쟁력 제고를 위한 방사선 생명공학 원천기술 및 선도기술 개발이 요구되고 있다. 본 과제에서는 방사선의 생물영향 평가 및 활용을 위한 세계선도 원천기술을 개발함으로써 국제적 기술 신인도를 제고하여 국가 원자력 관련시설의 안정적 관리 및 국민의 불안감 해소에 기여하고 방사선 내성인자 중간 활용기술 개발을 통해 방사선 생명공학 핵심기술을 제공함으로써 국내 방사선 생물산업의 국제 경쟁력 향상에 기여하고자 한다. 이를 위한 연구내용으로는 1) 방사선 회복/방어 유전자 공동발현 네트워크 해석, 2) 후성인자의 방사선 회복/방어 역할 규명, 3) 종특이적 방사선 회복/방어 분자지표 개발, 4) 방사선 회복/방어 분자지표의 분자선량평가 활용, 5) 방사선 회복/방어 유전자의 이중발현 및 활용을 포함한다. 2017년 주요 연구결과로는 식물 방사선 회복/방어 기작 해석 및 모델 확립, 방사선의 DSB 유발과 회복에 후성인자의 역할 규명, 방사선 회복/방어 평가용 식물 유전자/단백질 지표 개발, 종특이적 분자지표의 식물 방사선 민감도 평가 활용, 그리고 <i>DcPrx</i> 도입 애기장대 개발 및 환경스트레스 내성 검증 등이 있다. 본 과제의 연구결과는 방사선 손상 회복/방어기작에 후성인자의 역할 규명을 촉진하고, 다양한 방사선 내성 인자를 이용한 환경스트레스 내성 식물 개발과 방사선의 농생물 및 의학산업 적용을 위한 기반기술 개발에 활용될 것이다. 또한 원자력 및 방사선 시설의 안정적 관리와 국민적 신뢰도 제고, 농업 생산성 향상과 국가 농생물 산업 경쟁력 제고, 원자력 및 방사선 기술에 대한 국민 수용성 증진과 관련 산업 발전에 기여할 수 있다.</p>			
주제명키워드 (10단어내외)	식물선량평가, DNA 손상 반응, 후성유전체, 환경 모니터링, 환경스트레스 내성		

## BIBLIOGRAPHIC INFORMATION SHEET

KAERI Report No.	KAREI/RR-4266/2017	Report Type	Research Report		
Title / Subtitle	Identification and application of species-specific recovery systems for radiation-induced damages				
Project Manager and Department	Kim, Jin-Hong / Biotechnology Research Division				
Researcher and Department	Kim, Jin Kyu; Lee, Seung Sik; Lee, Sungbeom; Jung, Kwang Woo, Choi, Seung Hee; Go, Young Sam; Ryu, Tae Ho; Hong, Sung Hyun / Biotechnology Research Division; Son, Yun Seok; Lim, Seung Ju / Industry and Environment Research Division				
Publication Place	Daejeon	Date of Publication	2018.01.26	Total number of page	76p.
Open	Open( O ), Closed ( )		Reference	Tabs. ( 1 ) Figs. ( 42 ) Refs. ( 13 )	
Classified	Restricted( ), __Class Document				
INIS Open	Open( O ), Closed ( )				
<b>Abstract (15-20 Lines)</b>					
<p>Recently, it has been needed to deal with changed guidelines of IAEA and ICRP for radiation bioprotection and to cope with increasing public demands for evaluation of eco-safety of national nuclear facilities by heightening the international trust of radiation biotechnology in Korea. This project aims to develop a global leading-edge technology for evaluation (biodosimetry) and application of biological effects of ionizing radiation. The scope and contents of the project are as follow: 1) Interpretation of co-expression networks of radiation-induced damage repair/defense genes, 2) Elucidation of epigenetic regulation of radiation-induced damage repair/defense systems, 3) Development of molecular markers for species-specific radiation-induced damage repair/defense systems, 4) Application of molecular markers for phytodosimetry of radiation-induced damages in plants, and 5) Inter-species expression and application of radiation-induced damage repair/defense genes. In 2017, we accomplished establishment of a working model for plant radiation-induced damage repair/defense mechanisms, elucidation of roles of epigenetic factors on occurrence and repair of radiation-induced DSBs, development of plant transcriptome parameters for evaluation of radiation-induced damage repair/defense activities, application of species-specific radiation-responsive molecular markers for evaluation of plant radiation sensitivity, and verification of environmental stress tolerance of <i>DcPrx</i>-overexpressing plants. These results will contribute to development of a leading-edge technology for application of ionizing radiation in agrobiological or medical industry, and improvement of secure management and public acceptance of nuclear and radiation-related facilities.</p>					
Subject Keywords (About 10 words)	Phytodosimetry, DNA damage response, epigenome, environmental monitoring, environmental stress tolerance				

## 주 의

1. 이 보고서는 과학기술정보통신부에서 시행한 원자력연구개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 과학기술정보통신부에서 시행한 원자력연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.