Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society
Vol. 19, No. 1 pp. 537-545, 2018

https://doi.org/10.5762/KAIS.2018.19.1.537
ISSN 1975-4701 / eISSN 2288-4688

NA-Seq를 이용한 제주산 메밀의 발아초기 전사체 프로파일 분석

한송이[1], 정성진[4], 오대주[3], 정용환[3], 김찬식[2], 김재훈[1,2*]
[1]제주대학교 아열대 · 열대생물유전자은행센터, [2]제주대학교 생명공학부,
[3](재)제주테크노파크 생물종다양성연구소, [4](주)제롬바이오메디슨

Transcriptomic Profile Analysis of Jeju Buckwheat using RNA-Seq Data

Song-I Han[1], Sung Jin Chung[4], Dae-Ju Oh[3], Yong-Hwan Jung[3], Chan-Shick Kim[2], Jae-hoon Kim[1,2*]

[1]**Subtropical/tropical Organism Gene Bank, Jeju National University**
[2]**Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Science, SARI, Jeju Naional University**
[3]**Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Technopark**
[4]**JeromBiomedicine Co.,ltd**

요 약 요 약 본 연구에서는 메밀의 발아초기에 발현되는 전사체의 다양한 정보 수집을 위해 양절메밀과 대관 3-3호의 RNA를 추출하여 전사체 분석을 수행하였다. 제주산 양절메밀과 대관3-3호의 종자 및 발아 후 12, 24, 36시간별로 total RNA를 추출하고, llumina Hiseq 2000 플랫폼을 사용하여 시퀀싱 하였다. SolexaQA package의 DynamicTrim과 LengthsORT 프로그램으로 이용하여 raw 데이터 분석을 실시한 후, 어셈블리(assembly)와 annotation을 수행하였다. RNA-seq raw 데이터로부터 약 84.2%, 81.5%에 해당하는 16.5Gb, 16.2Gb의 transcriptome 데이터를 확보하였다. 47Mb에 해당하는 43,494개의 대표적인 전사체(representative transcripts)를 확보하였고, 그 중에서 annotation DB와 서열 유사도를 갖는 서열은 23,165개로 확인되었다. 메밀의 representative transcripts 유전자의 유전자 온톨로지(gene ontology) 분석결과, biological process는 metabolic process (49.49%)에서, cellular components는 cell (46.12%)에서, molecular function은 catalyltic activity (80.43%)에서 유전자가 많이 분포되어 있는 것을 확인하였다. 종자의 발아에 관련된 gibberellin receptor GID1C의 경우에는 양절메밀, 대관 3-3호의 발현양이 모두 시간이 지남에 따라 증가되는 것을 확인할 수 있었으며, gibberellin 20-oxidase1의 경우에는 양절메밀에서는 발아 후 12 시간이내에 증가되었으나, 대관 3-3호에서는 36시간까지 유전자 발현양 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 제주산 메밀의 발아초기 단계별 전사체 분석 데이터는 종간의 기능적, 형태학적 차이를 일으키는 메커니즘 규명에 도움을 줄 것으로 사료된다.

Abstract Abstract In this study, transcriptome analysis was conducted to collect various information from Fagopyrum esculentum and Fagopyrum tataricum during the early germination stage. Total RNA was extracted from the seeds and at 12, 24, and 36 hrs after germination of Jeju native Fagopyrum esculentum and Fagopyrum tataricum and sequenced using the Illumina Hiseq 2000 platform. Raw data analysis was conducted using the Dynamic Trim and Lengths ORT programs in the SolexaQA package, and assembly and annotation were performed. Based on RNA-seq raw data, we obtained 16.5 Gb and 16.2 Gb of transcriptome data corresponding to about 84.2% and 81.5% of raw data, respectively. De novo assembly and annotation revealed 43,494 representative transcripts corresponding to 47.5Mb. Among them, 23,165 sequences were shown to have similar sequences with annotation DB. Moreover, Gene Ontology (GO) analysis of buckwheat representative transcripts confirmed that the gene is involved in metabolic processes (49.49%) of biological processes, as well as cell function (46.12%) in metabolic process, and catalytic activity (80.43%) in molecular function In the case of gibberellin receptor GID1C, which is related to germination of seeds, the expression levels increased with time after germination in both F. esculentum and F. tataricum. The expression levels of gibberellin 20-oxidase 1 were increased within 12 hrs of gemination in F. esculentum but continuously until 36 hrs in F. tataricum. This buckwheat transcriptome profile analysis of the early germination stage will help to identify the mechanism causing functional and morphological differences between species.

Keywords : Buckwheat, Fagopyrum esculentum, Fagopyrum tataricum, RNA-seq, Transcriptome assembly

본 논문은 농림축산식품부 농생명산업기술개발사업(315027-4) 연구과제로 수행되었음.
*Corresponding Author : Jae-Hoon Kim (Jeju National Univ.)
Tel: +82-64-754-8275 email: kimjh@jejunu.ac.kr
Received December 20, 2017 Revised (1st January 3, 2018, 2nd January 4, 2018)
Accepted January 5, 2018 Published January 31, 2018

1. 서론

메밀은 마디풀과의 한해살이풀로서 옥수수 알의 반 정도 크기의 검은 갈색 혹은 회색의 종자를 가지고 있다. 현재 우리나라의 메밀은 산간지역에서 주로 생산되고 있으며, 특히 우리나라 메밀의 최대 산지는 제주도로 한해 전국 생산량의 30%가 넘는다. 메밀은 양절메밀(*Fagopyrum esculentum*)과 타타리 메밀(*Fagopyrum tata ricum*)로 나누어지며 우리나라에서는 양절메밀이 주로 재배되고 있다. 메밀은 미네랄, 비타민, 플라보노이드 등이 풍부하여 항산화, 항노화, 항염증 등의 생리활성효과에 효능을 보이는 것으로 많은 연구를 통해 보고되었다 [1-4]. 특히 메밀의 주성분인 루틴(rutin)은 모세혈관을 강화시켜 동맥경화, 고혈압과 같은 심장계 질환을 예방하고, 당뇨병과 비만에도 효과가 있다. 또한 루틴은 쿼세틴(quercetin)과 유사한 성질로 항암성, 항염증성, 항알러지성 등을 가지는 것으로 보고되었다 [5-9]. 발아는 휴면상태의 효소 활성화로 인해 생화학적, 영양학적 특성의 중요한 변화가 발생되는 복잡한 과정으로 발아된 메밀에 대한 플라보노이드 및 항산화 연구가 많이 보고되었다. 메밀이 발아되면 메밀 종자 보다 라이신 함량과 루틴의 함량이 높아지고 [10] 단백질의 품질을 향상시키며 지방산 조성의 영양 가치가 종자 발아되는 동안에 증진되어 진다 [11, 12]. 또한 메밀의 초기발아 단계에서 메밀의 영양 및 항산화 특성에 대한 연구가 보고되었다 [13]. 이러한 메밀의 발아에 대한 기능성 성분 분석의 중요성은 더욱 강조되고 있다. 하지만 발아단계별 메밀의 분자생물학적 연구 기반은 미흡한 실정이다.

차세대 시퀀싱(NGS) 기술은 전통적인 방법들에 비해 많은 양의 DNA 및 RNA 정보를 높은 정확성과 저비용으로 분석할 수 있는 기술이다. NGS 기법을 응용한 방법들 중 하나인 고처리량 RNA 시퀀싱(High-throughput mRNA sequencing, RNA-seq)은 전사체로부터 얻어진 cDNA를 시퀀싱 하는 기술로서, 새로운 유전자와 전사체(transcripts)를 발견하고 동시에 유전자 발현을 정량화할 수 있다. RNA-seq기술의 개발로 인해 동물, 식물 등 많은 종의 전사체 데이터를 분석할 수 있게 되었다. 양절메밀의 draft genome과 chloroplast genome sequence가 최근 보고되었으며, 양절메밀과 타타리메밀 꽃의 전사체 분석을 통한 특성분석 연구와 타타리메밀의 게놈 전반의 전사체 분석 및 알루미늄 내성 기작에 대한 연구가 보고되었다 [14-17]. 하지만 현재까지 양절메밀과 타타리 메밀의 발아초기 단계별 전사체 분석에 대한 연구는 보고되지 않았다. 메밀의 발아 초기 전사체 분석 연구를 통해 발아초기에 관련된 유전자를 탐색하고 기능연구를 하고자 한다. 이에 따라 본 연구에서는 제주산 메밀인 양절메밀과 대관 3-3호의 발아 초기 단계별 전사체 분석을 수행하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1 제주산 메밀

본 실험에 사용된 제주산 메밀인 양절메밀 (*Fagopyrum esculentum*)과 타타리 메밀 품종 중 하나인 대관 3-3호 (*Fagopyrum tataricum*)는 제주농업기술원으로부터 시료를 확보하였다. 양절메밀과 대관 3-3호를 1% 과산화수소로 표면 살균하였다. 멸균된 배양용기 안에 메밀 종자를 넣고, 30℃에서 암조건에서 배양한 후, 12, 24, 36 시간마다 종자를 꺼내 -80℃냉동고에 보관하여 total RNA를 분리하였다.

2.2 RNA 추출

양절메밀과 대관 3-3호의 종자, 발아 후 12, 24, 36시간까지의 시료들을 막자사발에 넣고 액체질소로 급속 동결시킨 후 미세한 분말이 되도록 분쇄하였다. 분쇄한 시료를 CTAB 추출 방법을 변형하여 사용하여 total RNA를 추출하였고, 형광분광광도계(Colibri Microvolume Spectro-meter, Berthold Titertek, Pforzheim, Germany)와 Agilent Bioanalyzer 2100 system (Agilent Technologies, CA, USA) 분석을 통해 추출한 total RNA의 순도와 농도를 확인하였다 [18].

Fig. 1은 양절메밀과 대관 3-3호의 전체적인 분석 모식도를 나타내는 그림이다.

2.3 cDNA 라이브러리 구축 및 시퀀싱

Illumina TruSeq RNA 샘플 키트 v2 (카탈로그 #RS-122-2001, Illumina, San Diego, CA)를 사용하여 양절메밀과 대관 3-3호의 고품질 RNA-seq 라이브러리를 구축하였다. 구축된 라이브러리는 Illumina Hiseq 2000 플랫폼을 사용하여 시퀀싱 하였다.

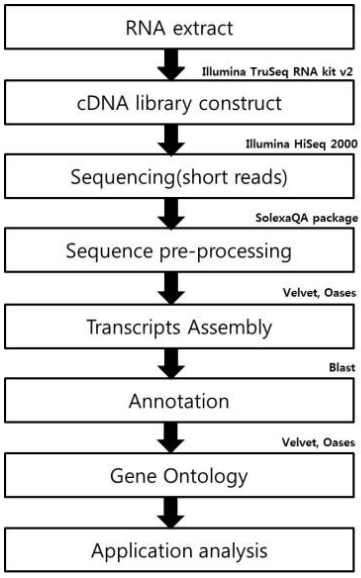

Fig. 1. Analysis diagram

2.4 short read의 전처리 및 Assembly

염기서열 분석이 완료된 short reads의 전처리과정을 위해 SolexaQA package의 DynamicTrim과 LengthsORT 프로그램을 사용하였다 [19]. 전처리 과정을 통과한 cleaned reads를 이용해 Velvet(version 1.2.08)과 Oases (version 0.2.08) 프로그램의 protocol에 따라 assembly를 수행하였다 [20, 21].

2.5 Annotation과 read mapping

NCBI NR의 plant DB의 아미노산 서열과 BLASTP를 통해 annotation을 수행하였다. 유전자 온톨로지(Gene Ontology)는 DB에서 제공하는 서열을 이용하여 유사서열 정리(alignment)를 수행하였으며, Thresholds는 기능별 유전자 총 유전자의 수가 counts ≥ 1 이상을 사용하였으며, 유전자 온톨로지 depth는 1로 지정하여 3가지 functional category인 BP (Biological Process), CC (Cellular Component), MF (Molecular Function)로 분류하였다 [22].

Mapping은 bowtie2 (v2.1.0) software (mismatch ≤ 2bp, penalty 방식으로 계산)를 사용하였으며, 발현값은 각 유전자에 mapping된 reads의 총 수로 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1 RNA-seq data의 전처리 및 read mapping 분석

전사체 분석을 위해 제주산 양절메밀과 대관 3-3호의 종자, 발아 후 12, 24, 36시간까지의 시료들로부터 추출한 RNA를 이용하여 메밀의 발아단계별 및 품종별 전사체 분석을 illumina Hiseq을 활용하여 수행하였다. 양절메밀과 대관 3-3는 약 19Gb의 RNA-seq raw data를 확보하였고, data trimming 분석을 통하여 raw data의 각각 84.2%에 해당하는 16.5Gb,. 83.5%에 해당하는 16.2Gb의 transcriptome data를 확보하였다. 각각의 메밀 시료로부터 확보한 raw sequencing data의 quality 체크 및 trimming 작업을 진행한 후 요약한 내용은 다음과 같다 (Table 1). 양절메밀의 종자, 12, 24, 36시간의 clean reads 수는 22,681,819 (90.88%), 18,769,322 (90.91%), 22,555,484 (91.53%), 24,476,647 (91.57%) 개이며 대관 3-3호의 종자, 12, 24, 36시간의 clean reads

Table 1. Summary of RNA-seq and read mapped to the reference transcriptome

Summary	*Fagopyrum esculentum*				*Fagopyrum tataricum*			
	0hr	12hr	24hr	36hr	0hr	12hr	24hr	36hr
Total raw reads	24,958,669	20,646,607	24,643,447	26,730,228	21,259,295	26,378,937	23,353,481	24,752,476
Total clean reads	22,681,819 (90.88%)	18,769,322 (90.91%)	22,555,484 (91.53%)	24,476,647 (91.57%)	19,141,252 (90.04%)	23,975,499 (90.89%)	21,264,245 (91.05%)	22,519,503 (90.98%)
Mapped reads	20,866,876 (92%)	18,060,237 (96.22%)	21,595,923 (95.75%)	22,772,737 (93.04%)	17,021,644 (88.93%)	21,335,181 (88.99%)	18,770,575 (91.05%)	20,667,958 (91.78%)
Unique match	3,620,627	3,471,180	4,582,323	5,085,253	2,964,335	3,788,223	4,509,937	5,168,682
Multi match	8,029,323	8,420,326	9,892,937	10,213,242	8,401,215	8,919,538	10,013,322	11,113,829
Unmapped reads	9,216,926	6,168,731	7,120,663	7,474,242	5,656,094	8,627,420	4,247,316	4,385,447

Table 2. Assembly results of buckwheat RNA sequencing data

Hash length	Data	no. transcripts	Length (bp) of transcripts				
			Sum. of bp	Min	Max	Average	N50
K-mer=65	Total Transcripts	89,118	149,834,177	200	17,607	1,681	2,563
	Representative transcripts	43,494	47,552,980	200	16,863	1,093	1,923

수는 19,141,252 (90.04%), 23,975,499 (90.89%), 21,264,245 (91.05%), 22,519,503 (90.98%)개이다. 또한 mapping된 reads 수는 양절메밀은 평균 20,823,943 (94.25%)개 이며 대관 3-3호는 평균 19,448,839 (89.49%)개이다. 발아단계별 양절메밀과 대관 3-3호는 전체적으로 90%이상에 해당하는 data를 확보 하였다.

3.2 Assembly

Table 1에서 확보된 data를 기초로 de novo transcriptome assembly를 진행한 결과, 최적의 k-mer는 65로 나타났으며 자세한 assembly 정보는 Table 2에서 보여주고 있다. 전체 전사체(total transcripts)는 89,118개로 전체 전사체의 사이즈는 149.8Mb, 유전자의 평균 길이는 1.68kb, 그리고 N50은 2,563bp인 것을 확인하였다. 전체 전사체에서 중복서열을 제거한 대표적인 전사체(representative transcripts)는 43,494개로, 전체 전사체의 사이즈는 47.5Mb, 유전자의 평균길이는 1.09kb, 그리고 N50은 1,923bp로 나타났다. 대표적인 전사체(representative transcripts)의 길이별 분포도를 보면, 대표적인 전사체(representative transcripts)는 18,885개로 다른 길이보다 많은 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 또한 4.5kb 이상의 transcripts는 683개로 4.0~4.5kb 구간의 유전자보다 2배 이상 확보된 것으로 보인다. 최근 염처리가 발아메밀에 미치는 영향에 대해 보고된 논문에서는 unigene의 개수는 57,921개, 전체사이즈는 44.5Mb, N50은 1,400bp로 본 연구에서 확보된 유전자의 개수, 전체 사이즈 및 N50 사이즈와 비교해 보았을 때, unigene의 개수는 더 많지만, 전체 사이즈와 N50은 작은 것을 확인할 수 있었다 [23].

Table 3. Distribution of total and representative transcripts length

Length (bp)	Total transcripts	Representative transcripts
200 ~ 500	22,132	18,885
501 ~ 1000	14,133	8,473
1001 ~ 1500	12,085	4,854
1501 ~ 2000	11,144	3,898
2001 ~ 2500	9,141	2,745
2501 ~ 3000	6,831	1,786
3001 ~ 3500	4,622	1,112
3501 ~ 4000	3,078	660
4001 ~ 4500	1,974	398
4501 ~	3,975	683
Total	**89,115**	**43,494**

3.3 Functional Annotation

Assembly를 통해 확보된 메밀 유전자의 대표적인 전사체(representative transcripts)의 수는 43,494개로 gene annotation을 위해 NCBI NR의 plant DB의 amino acid sequence와 BLASTP (filter기준: e-value ≤ 1e-10, Best hits), Phytozome v9, GO의 amino acid sequence와 BLASTX (filter기준: e-value ≤ 1e-10, Best hits)를 이용하여 gene annotation을 수행하였다. 43,494개의 대표적인 전사체(representative transcripts) 중에 23,165 (53.26%)개가 annotation 되었으며, Genebank NR은 21,691 (49.87%)개가 특이적으로 일치한 것을 확인하였다 (Table 4).

Phytozome, KOG, KEGG, GO는 각각 22,433 (51.61%), 21,091 (48.49%), 4,285 (9.84%), 20,931

Table 4. Summary of functional annotation

Data	NR plant	Phytozome	KOG	KEGG	GO	Total annotation
representative transcripts	21,691 (49.87%)	22,433 (51.61%)	21,091 (48.49%)	4,284 (9.84%)	20,931 (48.12%)	23,165 (53.26%)

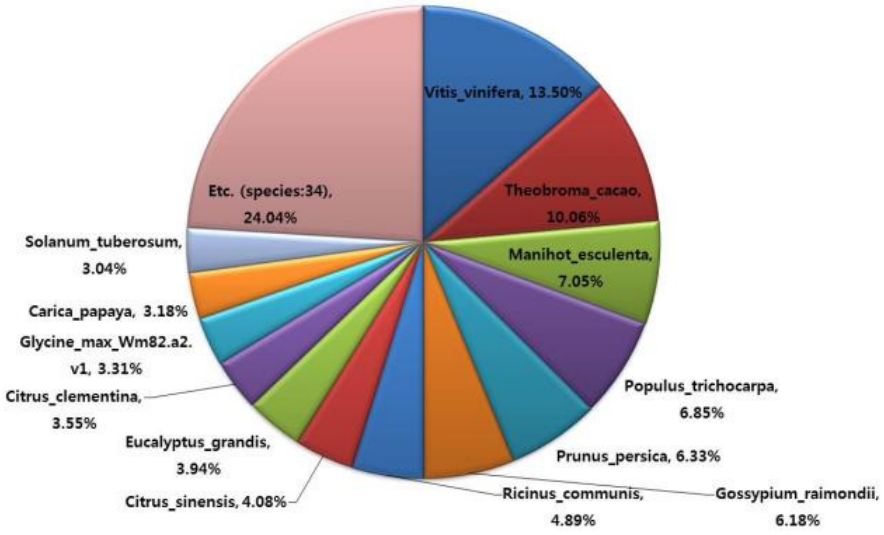

Fig. 2. Species distribution of the matched transcriptome sequences in Phytozome.

(48.12%) annotation 되었다. Phytozome을 이용하여 대표적인 전사체(representative transcripts)를 annotation 하는데 사용된 표준 유전자의 종별 유전자 비율을 살펴보면, *vitis vinifera*가 13.5%로 다른 종들에 비해 상동성이 높은 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2).

메밀 대표적인 전사체(representative transcripts) 유전자 온톨로지(Gene ontology) 분석 결과는 Fig. 3에 표시되어 있다. Biological Process (BP)의 경우 metabolic process (49.49%), developmental process (17.23%), localization (16.72%)의 순으로 유전자 분포가 되었으며, Cellular Components (CC)는 cell (46.12%), organelle (36.75%), membrane (15.83%)의 순으로 나타났고, Molecular Function (MF)은 catalytic activity (80.43%), transporter activity (13.23%), structural molecule activity (4.82%)의 순으로 분포되는 것으로 확인되었다.

3.4 종자발아 관련 유전자 발현

종자의 발아는 식물 성장을 위한 매우 중요한 단계로 유전적, 환경적 요인에 의해 규제되는 복잡한 과정이다. 종자가 발아되는 과정은 빛, 습도, 온도와 같은 외부환경과 내부성장조절자인 지베렐린(GA) 및 abscisic acid (ABA), histone acetylation에 의해 조절된다. GA와 ABA는 중요한 식물호르몬으로 종자발아, 줄기생장, 종자발달 및 abiotic 스트레스에 대한 적응과 같은 역할을 한다 [24, 25]. 또한 histone acetylation은 종자발아의 성장속도에 영향을 미친다 [26]. 확보된 메밀 유전자 중 GA, ABA, histone acetyltransferase와 관련된 유전자는 30개로 확인되었으며, 대부분의 유전자가 발아됨에 따라 유전자 발현양이 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 4). 그 중 gibbrellin receptor GID1 유전자는 식물호르몬 신호전달 pathway에 관여하며, 전사조절자인 DELLA 단백질의 분해를 촉진하여 유전자 발현을 조절한다고 알려져 있다 [27]. 시간별 양절메밀, 대관 3-3호 (0, 12, 24, 36 시간)의 유전자 발현 양상을 살펴보면, 양절메밀의 경우 발아 후 24시간에 약 4배 발현양이 증가하고, 대관 3-3호의 경우 36시간에 약 18배의 발현증가량을 확인할 수 있었다. GA 생합성 pathway에서 연속적으로 산화를 촉매 하는 gibberellin 20-oxidase 1의 경우 양절메밀에서는 12시간이내에 많이 증가하였고, 대관 3-3호에서는 시간이 지남에 따라 발현양이 지속적으로 증가하였다. 식물의 MAPK signaling pathway에 관여하는 abscisic acid receptor PYL8은 양절메밀은 24 시간 내에 발현양이 최대치에 도달하며, 대관 3-3호는 시간이 지남에 따라 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다 [28]. 그리고 histone과 transcription factor의 acetylation을 조절하는 histone acetyltransferase HAC1 유전자 [29]의 발현양상은 양절메밀에서는 12시간에서 최고치에 도달하였고, 대관 3-3호는 24시간에 최고치에 도달하는 것을 확인하였다.

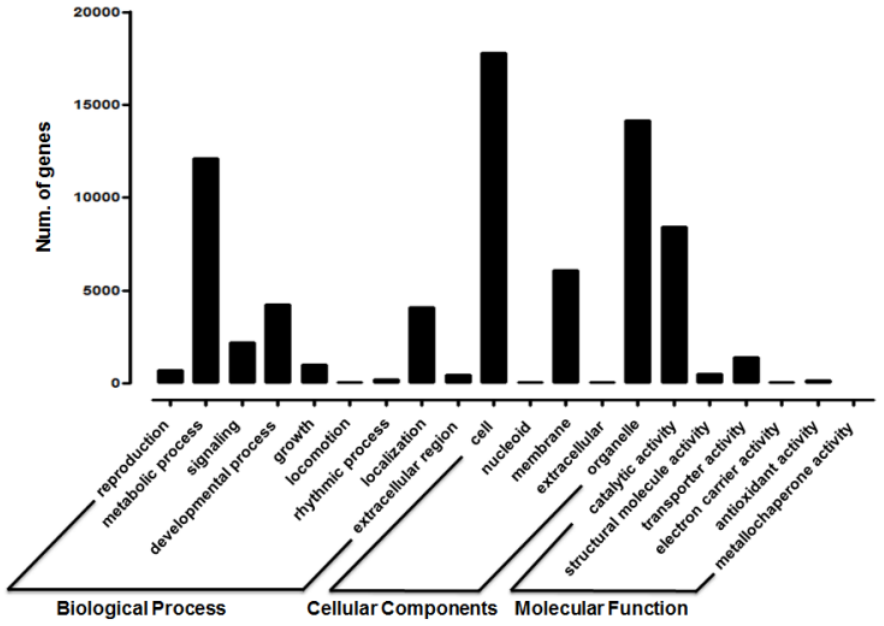

Fig. 3. **Gene ontology (GO) classification of buckwheat transcriptome.** Unique transcripts were annotated in 3 categories : biological process, cellular components, and molecular function.

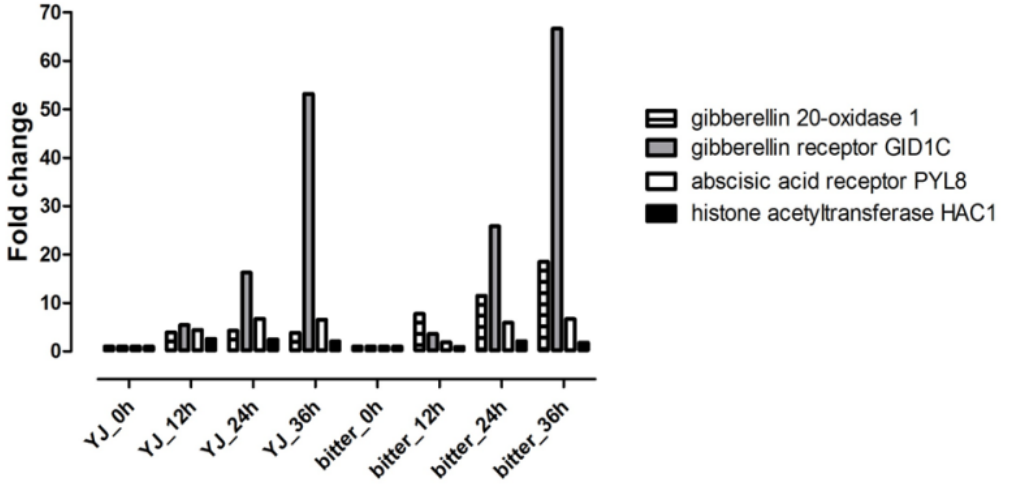

Fig. 4. Analysis of gene expression on germination related genes

4. 결론

본 연구에서는 제주 양절메밀과 대관 3-3호의 발아초기 단계별 유전자 발현양상을 파악하기 위해 종자, 12, 24, 36시간에서 total RNA를 추출하여 시퀀싱을 진행하였다. Illumina Hiseq 2000을 이용하여 RNA-seq를 수행한 결과, 양절메밀은 91.2%, 대관 3-3호는 90.7%에 해당하는 clean reads 수를 확보하였다. Transcriptome data를 활용하여 assembly를 수행한 결과 43,494 대표적인 전사체(representative transcripts)를 확보하였고, 전

사체 분석 결과 최장 16.8kb, 평균치는 1,093bp이며 N50은 1,929로 확인되었다. 또한 최종 assembly된 전사체(transcripts)의 길이별 분포도를 작성하였고, 유전자 동정을 위해 phytozome에 공개된 표준 유전체 정보를 사용하여 분석하였다. 이를 바탕으로 본 연구는 제주산 양절메밀과 대관 3-3호의 발아초기 단계에서의 유전자 발현분석에 이용하는 reference로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

References

[1] HS Lee, JM LEE, YH Yoon, EJ Cho, S Lee, "The protective Effects of Common and Tartary Buckwheats against Oxidative Stress and Gastric Cancer", *Cancer Prevention Research*, vol. 16, no. 3, pp. 249-254, 2011.

[2] KJ Chang, GS Seo, YS, Kim, DS Huang, JI Park, JJ Park, YS Lim, BJ Park, CH Park, MH Lee, "Components and Biological Effects of Fermented Extract from Tartary Buckwheat Sprouts", *Korean J. Plant Res*, vol. 23, no. 2, pp. 131-137, 2010.

[3] ZL Zhang, ML Zhou, Y Tang, FL Li, YX Tang, JR Shao, WT Xue, YM Wu, "Bioactive Compounds in Functional Buckwheat Food", *Food Research International*, vol. 49, pp. 389-395, 2012.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.035

[4] JA Gimenez-Bastida, H Zielinsk, M Piskula, D Zielinska, D Szawara-Nowak, "Buckwheat Bioactive Compounds, Their Derived Phenolic Metabolites and Their Health Benefits", *Mol. Nutr. Food Res*, vol. 61, no. 7, 2017.
DOI: https://doi.org/10.1002/mnfr.201600475

[5] Q Tian, D Li, BS Patil, "Identification and Determination of Flavonoids in Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench, Polygonaceae) by High-performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionisation Mass Spectrometry and Photodiode Arrat Ultraviolet Detection", *Phytochemical Analysis*, vol. 13, pp. 251-256, 2002.
DOI: https://doi.org/10.1002/pca.649

[6] N Fanbjan, J Rode, IJ Kosir, Z Wang, Z Zhang, I Kreft. "Tartary Buckwheat (Fagopyrum tataricum Gaertn.) as a Source of Dietary Rutin and Quercitrin", *J. Agric Food Chem*, vol. 51, no. 22, pp. 6452-6455, 2003.
DOI: https://doi.org/10.1021/jf034543e

[7] CC Lee, SR Shen, YJ Lai, SC Wu, "Rutin and Quercetin, Bioactive Compounds from Tartary Buckwheat, Prevent Liver Inflammatory Injury", *Food Funct*, vol. 4, no. 5, pp. 794-802, 2013.
DOI: https://doi.org/10.1039/c3fo30389f

[8] X Zhou, Q Wang, Y Yang, Y Zhou, W Tang, Z Li, "Anti-infection Effects of Buckwheat Flavonoid Extracts (BWFEs) from Germinated Sprouts", *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 6, no. 1, pp. 24-29, 2011.
DOI: https://doi.org/10.5897/JMPR11.535

[9] CB Cui, EY Lee, SS Ham, DS Lee, "Antimutagenic and Cytotoxic Effects of an Ethanol Extract of Buckwheat Sprout", *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*, vol. 51, no. 3, pp. 212-218, 2008.

[10] G Zhang, Z Xu, Y Gao, X Huang, Y Zou, T Yang, "Effects of Germination on the Nutritional Properties, Phenolic Profiles, and Antioxidant Activities of Buckwheat", *Journal of Food Science*, vol. 80, no. 5, pp. 1111~1119, 2015.
DOI: https://doi.org/10.1111/1750-3841.12830

[11] K Christa, M Soral-Smietana, "Buckwheat Grains and Buckwheat Products-Nutritional and Prophylactic Value of their Components - a Review", *Czech J. Food Sci*, vol. 26, no. 3, pp. 153-162, 2008.

[12] SC Ren, JT Sun, "Changes in Phenolic Content, Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL) Activity, and Antioxidant Capacity of Two Buckwheat Sprouts in Relation to Germination", *Journal of Functional Foods*, vol. 7, pp. 298-304, 2014.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.01.031

[13] M Koyama, C Nakamura, K Nakamura, "Changes in Phenols Contents from Buckwheat Sprouts during Growth Stage", *J Food Sci Technol*, vol. 50, no. 1, pp. 86-93, 2013.
DOI: https://doi.org/10.1007/s13197-011-0316-1

[14] H Zhu, H Wang, Y Zhu, J Zou, FJ Zhao, CF Huang, "Genome-wide Transcriptomic and Phylogenetic Analyses Reveal Distinct Aluminum-tolerance Mechanisms in the Aluminum-accumulating Species Buckwheat (Fagopyrum tataricum)", *BMC Plant Biol*, vol. 15, no. 16, 2015.
DOI: https://doi.org/10.1186/s12870-014-0395-z

[15] JA Gim, HS Kim, "Development of an Economic-trait Genetic Marker by Applying Next-generation Sequencing Technologies in a Whole Genome", *Journal of Life Science*, vol. 24, no. 11, pp. 1258-1267, 2014.
DOI: https://doi.org/10.5352/JLS.2014.24.11.1258

[16] JM Xu, W Fan, JF Jin, HQ Lou, WW Chen, JL Yang, SJ Zheng, "Transcriptome Analysis of Al-Induced Genes in Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) Root Apex: New Insight into Al Toxicity and Resistance Mechanisms in an Al Accumulating Species", *Frontiers in Plant Science*, vol. 8, pp. 1141, 2017.
DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01141

[17] MD Logacheva, AS Kasianov, DV Vinogradov, TH Samigullin, MS Gelfand, VJ Makeev, AA Penin, "De Novo Sequencing and Characterization of Floral Transcriptome in Two Species of Buckwheat (Fagopyrum)", *BMC Genomics*, vol. 12, no. 30, 2011.
DOI: https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-30

[18] I Bekesiova, JP Nap, L Mlynarova, "Isolation of High Quality DNA and RNA from Leaves of the Carnivorous Plant Drosera rotundifolia", *Plant Molecular Biology Reporter*, vol. 17, no. 3, pp. 269-277, 1999.
DOI: https://doi.org/10.1023/A:1007627509824

[19] MP Cox, DA Peterson, PJ Biggs, "SolexaQA: At-a-glance Quality Assessment of Illumina Second-generation Sequencing Data", *BMC Bioinformatics*, vol. 11, pp. 485, 2010.
DOI: https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-485

[20] DR Zerbino, E Birney, "Velvet: Algorithms for De Novo

Short Read Assembly using De Bruijin Graphs", *Genome Research*, vol. 18, no. 5, pp. 821-829, 2008. DOI: https://doi.org/10.1101/gr.074492.107

[21] MH Schulz, DR Zerbino, M Vingron, E Birney, "Oases: Robust De Novo RNA-seq Assembly across the Dynamic Range of Expression Levels", *Bioinformatics*, vol. 28, no. 8, pp. 1086-1092, 2012. DOI: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts094

[22] M Ashburner, CA Ball, JA Blake, D Botstein, H Butler, JM Cherry, AP Davis, K Dolinski, SS Dwight, JT Eppig, MA Harris, DP Hill, L Issel-Tarver, A Kasarskis, S Lewis, JC Matese, JE Richardson, M Ringwald, GM Rubin, G Sherlock, "Gene Ontology: Tool for The Unification of Biology, *Nat Genet*, vol. 25, no. 1, pp. 25-29, 2000. DOI: https://doi.org/10.1038/75556

[23] Q Wu, X Bai, W Zhao, D Xiang, Y Wan, J Yan, L Zou, G Zhao, "De Novo Assembly and Analysis of Tartary buckwheat (Fagopyrum tataricum Garetn.) Transcriptome Discloses Key Regulators Involved in Salt-Stress Response", *Genes(Basel)*, vol. 8, no. 10, pp. 255, 2017. DOI: https://doi.org/10.3390/genes8100255

[24] SL Kim, SK Kim, CH Park, "Introduction and Nutritional Evaluation of Buckwheat Sprouts as a New Vegetable", *Food Research International*, vol. 37, no. 4, pp. 319-327, 2004. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.12.008

[25] M Ogawa, A Hanada, Y Yamauchi, A Kuwahara, Y, Kamiya, S Yamaguchi, "Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed germination", *The Plant Cell*, vol. 15, no. 7, pp. 1591-1604, 2003. DOI: https://doi.org/10.1105/tpc.011650

[26] Y Bao, WM Song, J Pan, CM Jiang, R Srivastava, B Li, LY Zhu, HY Su, XS Gao, H Liu, X Yu, L Yang, XH Cheng, HX Zhang, "Overexpression of the NDR1/HIN1-like Gene NHL6 Modifies Seed Germination in Response to Abscisic Acid and Abiotic Stresses in Arabidopsis", *PLOS ONE*, vol. 5, no. 11, 2016. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148572

[27] J Griffiths, K Murase, I Rieu, R Zentella, ZL Zhang, SJ Powers, F Gong, AL Phillips, P Hedden, TP Sun, SG Thomas, "Genetic Characterization and Functional Analysis of the GID1 Gibberellin Receptors in Arabidopsis", *The Plant Cell*, vol. 18, no. 12, pp. 3399-3414, 2006. DOI: https://doi.org/10.1105/tpc.106.047415

[28] X Qin, JH Liu, WS Zhao, XJ Chen, ZJ Guo, YL Peng, "Gibberellin 20-Oxidase Gene OsGA20ox3 Regulates Plant Stature and Disease Development in Rice", *Mol Plant Microbe Interact*, vol. 26, no. 2, pp. 227-239, 2013. DOI: https://doi.org/10.1094/MPMI-05-12-0138-R

[29] I Boycheva, V Vassileva, M Revalska, G Zehirov, A Iantcheva, "Different Functions of the Histone Acetyltransferase HAC1 Gene Traced in the Model Species Medicago truncatula, Lotus japonicus, and Arabidopsis thaliana", *Protoplasma*, vol. 254, no. 2, pp. 697-711, 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/s00709-016-0983-x

한 송 이(Song-I Han) **[정회원]**

- 2012년 8월 : 제주대학교 일반대학원 생명공학과 (이학석사)
- 2017년 8월 : 제주대학교 일반대학원 생명공학과 (이학박사)
- 2017년 9월 ~ 현재: 제주대학교 아열대·열대생물유전자은행센터 박사후 연구원

<관심분야>
생명공학, 단백질공학

정 성 진(Sung Jin Chung) **[정회원]**

- 1999년 2월 : 배재대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
- 2005년 9월 : 일본 쿠마모토대학 물질생명공학 (이학박사)
- 2017년 7월 ~ 현재 : (주)제롬바이오메디슨 기업부설연구소 연구소장

<관심분야>
생명공학, 분자유전학

오 대 주(Dae-Ju Oh) **[정회원]**

- 2006년 2월 : 제주대학교 일반대학원 생물학과 (이학석사)
- 2012년 8월 : 제주대학교 일반대학원 생물학과 (이학박사)
- 2006년 1월 ~ 현재 : (재)제주테크노파크 생물종다양성연구소 선임연구원

<관심분야>
분자계통유전학

정 용 환(Yong-Hwan Jung) **[정회원]**

- 1998년 2월 : 제주대학교 일반대학교 생물학과 (이학석사)
- 2002년 2월 : 제주대학교 일반대학원 생물학과 (이학박사)
- 2002년 3월 ~ 2004년 11월 : 농촌진흥청 박사후연구원
- 2004년 11월 ~ 현재 : (재)제주테크노파크 수석연구원

<관심분야>
유전학, 천연물소재, 한방바이오

김 찬 식(Chan-Shick Kim) **[정회원]**

- 1982년 2월 : 고려대학교 대학원 식품공학과 (농학석사)
- 1990년 3월 : 경도대학교 대학원 농학연구과 (농학박사)
- 1991년 3월 ~ 현재 : 제주대학교 생명공학부 교수

<관심분야>
생명공학, 유전공학

김 재 훈(Jae-Hoon Kim) **[정회원]**

- 1993년 2월 : 서울대학교 대학원 화학과 (이학석사)
- 1998년 4월 : 동경대학교 생물화학과 (이학박사)
- 2000년 6월 ~ 2004년 2월 : 한국생명공학연구원 선임연구원
- 2004년 3월 ~ 현재 : 제주대학교 생명공학부 교수

<관심분야>
생명공학, 생화학