

The Past, Present, and Future of Maize Improvement: Domestication, Genomics, and Functional Genomic Routes toward Crop Enhancement

중부작물과 농업연구사 고영삼

Introduction

- 세계 3대 식량작물 중 하나인 옥수수(*Zea mays* L.)가 테오신트(*Zea mays* ssp. *parviglumis*)에서 유래되었다는 사실이 현재 보편적으로 받아들여지고 있음
- 옥수수는 테오신트와 2~4%(774 유전자)의 유전적 차이를 가지고 있고 이러한 차이로 인해 형태적 변화가 발생한 것으로 추정됨(Table 1.)

Gene	Phenotype	Functional annotation	Selection type	References
<i>tb1</i>	Plant architecture	TCP transcription factor	Increased expression	Doebley et al., 1997; Studer et al., 2011
<i>gt1</i>	Plant architecture	Homeodomain leucine zipper	Increased expression	Whipple et al., 2011; Wilts et al., 2013
<i>tru1</i>	Plant architecture	BTB/POZ ankyrin repeat protein	Increased expression	Dong et al., 2017
<i>tga1</i>	Hardened fruitcase	SBP-domain transcription factor	Protein function	Wang et al., 2005
<i>ZmSWEET4c</i>	Seed filling	Hexose transporter	Increased expression	Sosso et al., 2015
<i>UB3</i>	Kernel row number	SBP-box transcription factor	Altered expression	
<i>ids1/Ts6</i>	Kernel row number	AP2 transcription factor	Increased expression	Wang et al., 2019
<i>ZmSh1-1</i> <i>ZmSh1-5.1+ZmSh1-5.2</i>	Shattering	YABBY transcription factor	Protein function	Lin et al., 2012
<i>ra1</i>	Inflorescence architecture	Transcription factor	Altered expression	Simion and Vollbrecht, 2010

Table 1. Key Domestication Genes Cloned in Maize.

- *Teosinte branched 1 (tb1)*, *teosinte glume architecture 1 (tga1)*은 테오신트가 옥수수로 전환되는데 가장 중요한 형질로 작용한다고 보고되었음
- NGS, population-scale genome resequencing, ChIA-PET 등과 같은 최신 기술은 미래에 유용한 옥수수 형질을 개선하는데 활용될 수 있을 것으로 제안됨

Results

Maize Functional Genomics Research Resources

Reference genome sequences

- * B73 RefGen_v1 : 2009년도에 처음으로 시퀀싱된 B73 옥수수 Genome 데이터 자료
- * High-density SNPs : 다양한 옥수수 라인들의 Resequencing을 수행하여 확인, 중요한 형질 발견, 유용한 형질을 육종하기 위한 옥수수 SNP array 제작
- * Maize genome sequences : 2016년(PH207), 2017년(mexicana, Mo17), 2018년(W22), 2019년(HZS, SK)에 시퀀싱 됨, high-quality assemblies 수행(Table 2)

Mutant libraries : 돌연변이는 식물의 유전적 기능을 밝히는 중요한 자원임

- * 옥수수 돌연변이 database : *Mu* array, *RescueMu*, UniformMu 등이 널리 사용됨

Genome	Assembly size (Mb)	No. of scaffolds	Scaffold N50	Contig N50	No. of gene models	References
B73	2106	625	9.56 Mb	1.18 Mb	39 324	Jiao et al., 2017
Mo17 (CAU)	2183	2560	10.2 Mb	1.48 Mb	38 620	Sun et al., 2018
W22	2134	306	35.52 Mb	72.4 kb	40 789	Springer et al., 2018
SK	2161	708	73.24 Mb	15.78 Mb	43 271	Yang et al., 2019a
PH207	2102	127 488	654 kb	5.3 kb	37 613	Hirsch et al., 2016
Mo17 (Yan)	2042	48 268	3.00 Mb	60.5 kb	40 003	Yang et al., 2017a
mexicana	1204	107 418	108 kb	26.6 kb	31 387	Yang et al., 2017a
HZS	2209	12	223.93 Mb	78.2 kb	40 893	Li et al., 2019a

Table 2. Summary of Released Maize (Teosinte) Genomes.

- * UniformMu : 옥수수 유전자 30%정도만 돌연변이가 되어있음
- * Point mutation : EMS을 처리하여 돌연변이 제작 후 high-throughput method or NGS을 이용하여 시퀀싱 함, 옥수수 유전자 80% 이상의 돌연변이 제작
- Nurtured and natural populations
 - * IBM(interminated B73-Mo17) : intermated RIL(recombinant inbred line) 집단을 활용
 - * NAM(nested association mapping) : B73을 공통의 부·모친으로 가진 25개의 RIL 집단으로 구성
 - * GWASs(genome-wide association studies) : natural 집단, 302 계통의 전체 유전체 분석
 - * 기타 : Illumina MaizeSNP50 Array, GBS(genotyping-by-sequencing), maize HapMap3
- Database and datasets
 - * MaizeGDB(Maize Genetics and Genomics Database) : 옥수수 연구자 소통을 위한 데이터베이스
 - * MODEM : HapMap1(3백만개 SNP·InDel), HapMap2(5천5백만개 SNP), HapMap3(1200 계통의 NGS)
 - * Gene-expression profiling : deep RNA-seq을 활용하여 옥수수 생육, 종자 발달 등 연구

○ Genes Underlying Important Quantitative Traits : 464개 유전자 연구(Table3)

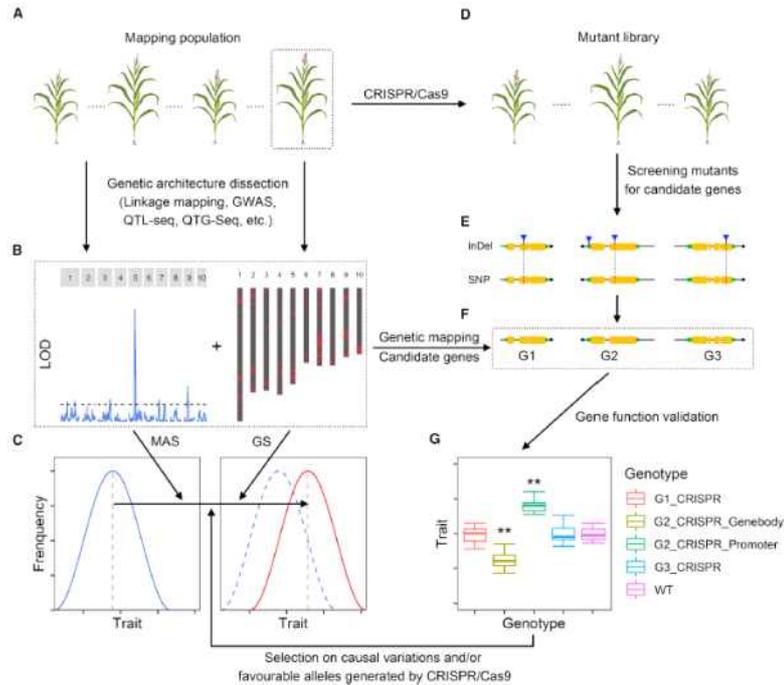
Gene	Phenotype	Functional annotation	Causal variation	References
<i>ZmRap2.7</i>	Flowering time	AP2-like transcription factor	MITE TE ~70 kb upstream of this gene	Salvi et al., 2007; Castelletti et al., 2014
<i>ZmCCT10</i>	Flowering time Disease resistance	CCT transcription factor	CACTA-like TE ~2.5 kb upstream of this gene	Hung et al., 2012; Yang et al., 2013; Wang et al., 2017
<i>ZmCCT9</i>	Flowering time	CCT transcription factor	Harbinger-like TE ~57 kb upstream of this gene	Huang et al., 2018
<i>ZmCLA4</i>	Leaf angle	Ortholog of <i>LAZY1</i> in rice	-	Zhang et al., 2014
<i>ZmRAVL1</i>	Leaf angle	B3 domain-containing protein	2-bp InDel ~9.5 kb upstream of this gene	Tian et al., 2019
<i>brd1</i>	Leaf angle	Brassinosteroid C-6 oxidase	-	Tian et al., 2019
<i>ZmGA3ox2</i>	Plant height	GA3 β-hydroxylase	Two small InDels in the promoter	Teng et al., 2013
<i>qph1</i>	Plant height	ABC transporter	A mis-sense SNP	Xing et al., 2015
<i>UB3</i>	Kernel row number	SBP-box transcription factor	1.2-kb transposon-containing insertion located ~60 kb downstream of this gene	Liu et al., 2015b
<i>ids1/Ts6</i>	Kernel row number	AP2 transcription factor	-	Wang et al., 2019
<i>ZmBAM1d</i>	Kernel size and weight	CLV1/BAM-related receptor kinase-like protein	-	Yang et al., 2019a
<i>DGAT1-2</i>	Oil content and composition	Diacylglycerol acyltransferase	Extra phenylalanine insertion	Zheng et al., 2008
<i>Zmfatb</i>	Palmitic acid	Acyl-ACP thioesterase	11-bp InDel in the sixth exon	Li et al., 2011
<i>ZmPORB2</i>	Tocopherol concentration	Protochlorophyllide oxidoreductase	A small InDel in 5' UTR	Zhan et al., 2019
<i>ZmAuxRP1</i>	Disease resistance	Domain of unknown function 966	-	Ye et al., 2019
<i>ZmPLA1/MTL/NLD</i>	Haploid induction rate	Phospholipase A	A 4-bp insertion led to a frame shift	Gilles et al., 2017; Keilther et al., 2017; Liu et al., 2017a
<i>ZmDMP</i>	Haploid induction rate	DUF679 domain membrane protein	One single-nucleotide change	Zhong et al., 2019

Table 3. Positionally Cloned Maize Genes Related to Important Quantitative Traits.

- Flowering time-related genes
 - * *Vgt1*(Vegetative to generative transition 1) : AP2-like transcription factor, *ZmRap2.7*
 - * *ZmCCT* : 개화에 관련되어 있는 QTL, *ZmCCT9* & *ZmCCT10*이 주로 관여함
- genes regulating plant architecture
 - * *ZmCLA4* : 잎의 각도(15°)를 결정하는 유전자, 유전자 발현이 증가하면 각도 감소
 - * *UPA*(Upright Plant Architecture) : 잎의 형태와 관련된 QTL, *brd1* & *ZmRAVL1* 유전자
 - * *qPH3.1* & *qph1* : 초장에 관련되어 있는 QTL, *ZmGA3ox2* & *qph1*이 주로 관여함
- Yield-related genes
 - * *KRN1* & *KRN4* : 이삭과 종자 형성에 관련되어 있는 QTL, *UB3(unbranched3)*, *ids/Ts6* (*indeterminate spikelet 1/Tassel seed 6*), *ZmBAM1d*이 주로 관여함
- Disease resistance-related genes
 - * *qRfg1* & *qRfg2* : 내병성에 관련되어 있는 QTL, *ZmCCT10* & *ZmAusRP1*이 주로 관여함
- Nutrition-related genes
 - * *DGAT1-2* : 종자(배 부분)의 오일 함량을 증가시키는 유전자
 - * *Zmfatb* : 포화 지방산인 palmitic acid(16:0) 생합성에 관여하는 유전자
 - * *ZmPORB2* : 토코페롤과 비타민E 함량을 조절하는 유전자
- Lessons learned from characterization of positionally cloned genes : 그림
 - * 유용한 형질을 가진 옥수수를 선발한 후 Linkage mapping, GWAS, QTL-seq 등을 활용하여 전체 유전체 시퀀싱을 한 후, 기본식물과의 유전체 차이를 비교 분석(MAS, marker-assisted selection & GS, genomic selection을 통해 재확인)
 - * CRISPR/Cas9을 이용하여 유용한 형질을 가진 돌연변이체를 제작하고, 유용한 형질이 도입된 식물체의 유전체 분석과 표현형을 관찰을 통하여 재확인(InDel & SNP mutation)

■ Perspectives

- The Need for Additional Whole Genome Sequences from Diverse Maize Lines
 - Population-scale genome project을 통해 인간은 1000개, 애기장대는 1001개, 벼는 3000개의 genome을 해석하였지만, 지금까지 옥수수는 인간보다 유전적 다양성이 10배는 높지만, 극히 일부 옥수수 계통(B73 등 10개 이하)만 genome 분석이 완료되어 있기 때문에 더 많은 계통의 분석이 요구됨
- Technologies
 - 옥수수는 애기장대와 벼에 비해서 낮은 형질전환 때문에 유전자 연구가 미흡하였지만, 최근에 *Zm-PLTP*(phospholipid transferase protein)와 *Zm-Axig* (Aux/IAA transcription factor) 프로모토에 *Baby Boom(Bbm)*과 *Wuschel2 (Wus2)* 유전자를 발현시켜 높은 형질전환을 옥수수에 적용함



- CRISPR/Cas9 : Guide RNA를 이용하여 목표 유전자의 시퀀스를 변화시켜(insertion & deletion) 정상적인 단백질이 생성되지 못하도록 하는 기술
- QTL-seq & QTG-seq : NGS를 이용하여 다양한 분리세대를 분석하는데 유용함 (예: *ZmPLAI* 유전자가 변형되면 반수체 생성 비율이 높아짐)

○ Diversified Breeding Goals

- 시대의 흐름에 따라 옥수수 육종이 변화하기 때문에 다양한 형질을 꾸준히 연구·개발해야 함
- * 1990년대 ~: 찰옥수수, 2000년대 ~: 사일리지, 2010년대 ~: 바이오연료, 2020년대 ~: 초당옥수수

○ Reuse of Wild relatives

- 옥수수는 야생옥수수(*Zea mays ssp. parviglumis*)의 유전자의 83%를 보유하고 있으며, 최근 유용한 형질(내재해성 등)을 야생옥수수에서 도입하여 간편·신속·저비용으로 인간이 필요로 하는 옥수수를 육종할 수 있는 기술이 개발됨(GWAS 등)

■ References

- Liu et al., 2020. The Past, Present, and Future of Maize Improvement: Domestication, Genomics, and Functional Genomic Routes toward Crop Enhancement. *Plant Comm.* **review article.**