

F812

멧누에(*B. mandarina*) 난각 단백질 유전자(*Hc*)의 클로닝 및 구조해석과 진화적 유연관계의 규명

김기세¹, 전형욱¹, 김종길², 김삼은², 문준욱³, 이병순³, 서동상¹

¹성균관대학교 유전공학과, ²농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부, ³전주대학교 생물학과

집누에(*Bombyx mori*) 난각은 150여종의 단백질로 구성되어 있다. 난각 단백질을 암호화하는 chorion 유전자는 2번 염색체에 superfamily로 이루어져 있으며 난각 형성시 발현 시기나 염기서열의 유사성으로 *A*, *B*, *C*, *Hc-A*, *Hc-B*로 구분되어진다. Late chorion locus인 *Hc-A*, *Hc-B* 유전자는 각각이 하나의 쌍이 되어 15개의 mutigene families를 이루며 약 140 kb를 거쳐서 존재한다. 멧누에(*Bombyx mandarina*)의 난각 구성단백질은 구조적으로 형태적으로 집누에와 뚜렷한 차이를 보이지만 아직 분자적 수준에서 유전자의 구조해석은 아직 이루어지지 않았다. 본 연구에서는 한국산 멧누에의 난각 형성시 최종적으로 발현되며, 구조나 강도에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려진 High cystein 단백질의 유전자(*Hc genes*)를 cloning하여 염기서열분석을 통해 그 구조를 해석하고 진화적 유연관계를 규명하고자 한다. 멧누에의 *Hc* 유전자는 집누에의 *Hc* 유전자의 염기서열을 바탕으로 보존된 영역에서 primer를 작성하여 멧누에 genomic DNA에서 1.6kb의 PCR 산물을 cloning 한 후, 이미 구축한 멧누에 genomic library에서 30개의 positive clones를 얻었다. 이후 southern hybridization 및 PCR 분석을 통해 7종의 서로 다른 genomic clones를 확보하였으며, 이를 기초로 하여 집누에의 보존된 영역에서 primer를 이용하여 5개의 clones에서 8개의 *Hc* 유전자 클론을 subcloning 하고, 각각의 clone 염기서열을 결정하였다. 전체 염기서열 분석을 토대로 멧누에의 chorion 유전자 구조를 해석하고 이를 바탕으로 집누에와 진화적 관계를 추정하고자한다.

F813

Development of RFLP Marker from Domesticated Silkworm (*Bombyx mori*)

Jin-Sung Lee¹, Jae-Sam Hwang², Hyung-Wook Jeon¹, Sang-Mong Lee³ and Dong-Sang Suh¹

¹Dept. of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University, ²National Institute of Agricultural Science and ³Dept. of Seriericultural Science, Miryang National University

To construct RFLP linkage map of silkworm (*Bombyx mori*), as a preliminary step, we assessed the efficiency for single or low copy sequences from silkworm genomic DNA. A genomic DNA plasmid library was constructed using *EcoRI*-digested 0.3 to 5 kb DNA fragments of Il-111 strain. As results of two step screening (reverse colony hybridization and reverse southern hybridization) using a total genomic DNA as a probe, about 6% (70/1,200) of clones examined was estimated single or low copy sequences. At least 80% of total clones contained middle or high repetitive sequences. These results indicate that *B. mori* genome has a lot of high repetitive sequences. However, analysis for its precise copy number in the genome remain to be elucidated. Although low efficiency of single copy sequence for constructing linkage map, the obtained 70 single-sequence s will be useful molecular markers to study silkworm genomic analysis in the near future.