

(05-1-80)

아황산가스(SO_2) 처리한 현사시의 유전자발현 분석

인준교¹, 이범수¹, 최용의¹, 양덕춘²

(주)바이오피아, 강원대학교 산림과학대학¹, 경희대학교 한방재료가공학과²)

Objectives

식물체에서 유황 대사와 관련된 일련의 여러 유전자들은 환경오염 및 스트레스 저항기작에 가장 밀접하게 관련되어 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 현사시에 아황산(SO_2)가스를 처리하여 유황대사 관련 유전자의 발현양상(expression profiling)을 EST 분석을 통하여 조사하고 이들 중 유용유전자를 선별하여 이를 현사시에 재도입함으로서 환경내성 임목을 개발하고자 실시하였다.

Materials and Methods

1. Material: 기내배양한 현사시 (*Populus alba × glandulosa*)

2. Methods:

아황산 가스(500ppb)를 처리한 현사시로부터 cDNA library 를 제작하기 위하여 추출한 500 ug 의 total RNA 를 oligo(dT) column 을 사용하여 mRNA 만을 분리·정제하였다. 정제된 0.5 ug mRNA 을 사용하여 SMART cDNA library Construction Kit(Clontech)을 사용하여 full length cDNA library 를 제작하였고 무작위로 550 개의 clone 을 선별하여 EST 분석을 하였다. 분석된 EST clone 들은 NCBI 의 blastx 프로그램을 사용하여 homology 검색을 실시하였으며, MIPS 에 따라서 기능별로 분류하였다.

Results and Discussion

제작된 cDNA library 로부터 무작위로 550 개의 clone 을 선별하여 EST 분석을 실시한 결과 523 개의 유효한 clone 을 확보하였고, 이들은 NCBI 의 GenBank 에 등록[Accession number:DN483584-DN484106]하였다. 유황처리한 현사시의 EST clone 을 11 개의 카테고리로 나누어 기능별로 분류한 결과 에너지 관련 유전자가 24%로 납(0.4%)이나 오존(3%) 처리구에 비하여 상당히 높게 분포하였으며, cell rescue and defense 의 경우 7%로 납(46.6%)이나 오존(12%) 처리구에 비하여 적었다. 특이한 점은 아황산가스 처리한 현사시의 경우에는 unclassified protein(34%)의 비율이 납(18.9%)이나 오존(5%)처리구에 비하여 상당히 높은 비율로 나타났다. 또한 오존 처리구의 경우는 metallothionein, wound-inducible protein 과 Al-induced protein 등 다발현 유전자가 많이 관찰되었는데 비하여 아황산 가스 처리한 현사시의 경우에는 다발현 유전자보다는 다양한 유전자가 관찰이 되어 오존가스와 다른 반응양상을 나타내었다. 아황산 가스 처리한 현사시로부터 5 개의 환경저항성 증진 가능성 있는 유용유전자 5 개(cold-regulated LTCOR12, metallothionein (3a, 3b), stable protein 1, WRKY transcription factor 30)를 선별하였고 이들을 현사시에 재도입하기 위해서 식물형질전환벡터를 제작하고 담배에 도입하여 유황대사 및 환경스트레스 저항성 증대 가능성에 대한 연구를 진행 중에 있다.

*Corresponding author : 인준교, Tel : 031-281-5434, E-mail : jgin@ibiopia.com