

천잠 후부 건사선 유래 발현 유전자 꼬리표 작성 및 분석

윤은영 · 구태원 · 강석우* · 이해원 · 황재삼 · 김호락

농업과학기술원 잠사곤충부

Analysis of Expressed Sequence Tags Generated from the Posterior Silk gland cDNA Clones of *Antheraea yamamai*

Eun Young Yun, Tae Won Goo, Seok Woo Kang*, Hae Won Lee, Jae Sam Hwang and Ho Rak Kim

Dept. of Sericulture and Entomology, NIAST, RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

In order to understand molecular events during silk synthesis and provide genetic resources for molecular breeding, we had analyzed the cDNA library constructed from the posterior silk gland of *Antheraea yamamai* and partially sequenced 276 randomly selected genes from the cDNA library. Database comparisons of the expressed sequence tags (ESTs) revealed that 26 non-redundant clones showed a high similarity with previously identified genes. Among them, 17 clones exhibited a homology with previously identified insect genes and 9 clones were identical to genes that were previously identified from other organisms. A functional categorization showed that silk synthesis-, defense- or stress-related genes, as well as genes involved in the metabolic pathways and in the transcriptional or translational apparatus are represented. In this report, the clone (AY479) which had high similarity with fibroin from *A. pernyi* was particularly analyzed in detail. The AY479 clone was carboxyl terminal region of fibroin. The 472 bp cDNA has 123 amino acids that shared 85% homology with the fibroin from *A. pernyi* and its deduced peptide had unique feature, that is, sites of alanine rich residues.

Key words – ESTs (expressed sequence tags), *Antheraea yamamai*, cDNA library, fibroin

서 론

발현 유전자들을 모두 포함하는 cDNA 유전자 은행으로부터 임의로 선발한 클론들을 5'- 또는 3'- 한쪽 방향으로 부분 염기서열 분석한 후, 기존 데이터베이스를 통한 상동성 분석에 의한 유전자들의 잠정적인 기능을 추정하는 방

법인 발현 유전자 꼬리표 (expressed sequence tags : ESTs) 분석은 유전정보 및 유전자원의 대량 확보 차원에서 효과적이고 획기적인 방법이다. 그리고 이러한 부분 염기서열 분석은 전체 유전자의 염기서열 분석, 유전자 지도 작성 및 각각의 유전자들에 대한 기능해석을 가능하게 하며, 나아가서는 유전질병 예방 및 치료에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

발현 유전자 꼬리표 (ESTs) 분석은 조직특이 (tissue specific) 또는 발육단계특이 (stage specific)적으로 발현되는 유전자들에 대한 방대한 양의 정보를 줄 수 있는 효과적인

*To whom all correspondence should be addressed
Phone : 82-331-290-8545, Fax : 82-331-290-8420
E-mail : kangsw@niast.go.kr

분석방법으로 판명되었다[5,6,9,15]. 비록 부분적인 cDNA 염기서열분석 (ESTs)이 최근 미국을 중심으로 수행되고 있는 인간을 비롯한 다양한 생물체의 게놈 프로젝트에 비하여 제한된 정보를 제공받는다라는 단점은 있지만 저렴한 비용으로 전사된 유전자에 대한 상당한 양의 정보를 제공할 수 있으며, 그리고 새로운 유전자의 동정, 염색체 지도 작성 및 게놈 유전자 분석에도 유용하게 이용될 수 있다는 장점을 갖고 있다. 이러한 장점으로 인해 발현유전자 꼬리표 (ESTs)의 분석은 사람[1,2]과 선충 (*Caenorhabditis elegans*) [7]에서 시작된 후, 벼[10,14], *Brassica napus*[4,9], 옥수수[11]와 *Arabidopsis* [3,8] 등에서 유전정보 및 대량 유전자원 확보를 위하여 수행되어졌으며, 현재에는 자동염기서열 분석 장치의 발달로 그 대상 생물체의 범위가 더욱 더 확대되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 견사곤충 중 대표적인 가잠 (*Bombyx mori*), 야잠 (*B. mandarina*), 천잠 (*Antheraea yamamai*) 및 작잠 (*A. pernyi*) 중에서 다른 견사충류에 비하여 보다 고부가가치의 견을 생산하는 천잠의 실크합성 관련 유전자의 분자생물학적 메카니즘의 이해에 목적을 두었다. 천잠 실크가 시간적 (temporal) · 공간적 (spatial)으로 특이적으로 발현되는 종령 천잠의 후부견사선으로부터 cDNA 유전자 은행을 작성하고 그것으로부터 발현 유전자 꼬리표 (ESTs)를 분석하여, 실크합성 관련 유전자 및 견사충류의 생명현상에 관련된 유전자를 발굴하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

Total 및 poly A+ RNA 분리

본 연구에 사용된 공시곤충은 농업과학기술원 잠사곤충부 잠사양봉과로부터 분양받은 천잠 (*Antheraea yamamai*)을 사용하였다. 종령의 천잠을 해부하여 후부견사선만을 분리한 후 액체 질소로 급속 냉동시켜서 유발에 마쇄하여 이로부터 total RNA는 RNagents Total RNA Isolation System (Promega Co.)을 이용하여 분리하였다. 분리한 total RNA는 전기영동으로 그 양상을 확인하고, 파장 260 nm에서 UV 분광광도계로 정량하여 poly A+ RNA 분리에 사용하였다. Poly A+ RNA는 total RNA로부터 poly(A) Quik mRNA Isolation Kit (Stratagene Co.)를 이용하여 oligo (dT)-셀룰로오스 크로마토그래피에 의해 분리한 후 cDNA

유전자 은행 작성에 사용하였다.

cDNA 유전자 은행 제작

cDNA 유전자 은행 제작을 위해 Stratagene사 (CA, U.S.A.)의 Uni-ZAP XR Vector Kit와 Gigapack Packaging Extract를 사용하였다. 실험방법은 제조회사의 제시방법에 따라 poly A+ RNA로부터 *Xho*I linker primer와 역전사 효소를 이용하여 cDNA를 평활말단으로 만들었다. 그리고 *Eco*RI adaptor를 부착시킨 후 *Xho*I으로 절단하고 size fractionation을 거쳐 적당한 크기의 단편만을 취하였다. 이러한 cDNA를 Uni-ZAP XR 벡터에 결합시켜 삽입한 후 완전한 bacteriophage 상태가 되도록 coat protein으로 패키징하여 cDNA 유전자 은행을 제작하고 기주세포 (XL1-blue MRF' strain) 내에 감염시킨 후 cDNA 농도를 적정하고 이를 적당한 농도로 증폭하여 본 실험에 사용하였다.

염기서열 분석 및 데이터 베이스 검색

염기서열 분석은 cDNA 유전자 은행에서 Short 등 (1988)의 방법으로 *in vivo* excision한 후 자동염기서열 분석장치 (Perkin Elmer Co., ABI 377)를 이용하여 수행하였다. *In vivo* excision후 부분염기서열 분석은 Wizard Plus SV Miniprep DNA Purification System (Promega Co.)을 이용하여 분리한 DNA (200 ng)를 T3 혹은 T7 프라이머 (3.2 pmole)를 혼합한 후 Termination Reaction Mix (Perkin Elmer Co.)로 혼합한 후 PCR (polymerase chain reaction) 반응을 수행하였다. PCR 산물은 4.5% polyacrylamide 겔에 전기영동 후 DNA Sequencing Analysis Software (Perkin Elmer Co.)에 의해 분석되었다. 그후 얻어진 염기서열은 GenBank 데이터베이스를 통하여 상동성을 분석하고 DDBJ 국제 유전자은행에 등록하였다.

결과 및 고찰

천잠 후부 견사선의 poly A+ RNA 분리와 cDNA 유전자 은행 작성

천잠의 cDNA 유전자 은행을 작성하기 위해 천잠을 해부하여 천잠 실크가 특이적으로 발현되는 종령의 후부견사선만을 분리한 후 액체 질소로 급속 냉동시켜 마쇄한 후 total RNA를 분리하고 1.2% formaldehyde 겔에 전기영동

으로 확인하였다. 분리한 total RNA로부터 poly A+ RNA를 순수 분리하였다. 그리고 순수하게 분리한 poly A+ RNA를 이용하여 cDNA를 합성하였다. poly A+ RNA로부터 합성한 cDNA는 5'과 3' 말단에 EcoRI과 XhoI 인식부위를 각각 부여하였으며, 이 cDNA를 pBluescript SK⁻ plasmid를 포함하는 lambda ZAP II 벡터에 방향성 있게 클로닝하였다. 재조합된 DNA를 *in vitro* packaging하여 cDNA 유전자 은행을 제작하였다. 그리고 cDNA 유전자 은행은 plaque forming unit (pfu), 절편의 삽입율 (insert ratio) 및 삽입절편의 크기로 그 제작효율을 판단할 수 있는데 [13], large-scale EST 분석시 pfu는 주요한 요소로 판단되어지며 절편의 크기는 항상 5'이나 3'의 non-coding 염기서열이 포함되어져 있으므로 한쪽방향으로의 부분염기서열 분석에 있어서 번역개시나 종결신호를 포함할만큼 충분히 길어야 더 많은 정보를 줄 수 있다. 여기에는 제작한 천잠 후부견사선의 pfu는 약 1.1×10^6 였으며, 제작된 cDNA 유전자 은행에서 벡터내에 삽입된 cDNA 크기를 확인하기 위하여 무작위로 선발한 과아지를 *in vivo* excision하여 pBluescript SK⁻ 즉 플라스미드로 전환하였다. 전환된 플라스미드를 EcoRI와 XhoI 제한효소로 절단하여 삽입절편의 유무 및 크기를 확인한 결과, 모든 클론들의 절편 크기는 0.5-1.5kb였으므로, 이 cDNA 유전자 은행은 ESTs 분석에는 적합한 것으로 판단되었다. 또한 시간적 (temporal) · 공간적 (spatial) 으로 특이적으로 발현되는 후부견사선으로부터 cDNA 유전자 은행을 작성하였으므로 천잠의 fibroin 및 sericin 등 실크합성단계에 발현되는 유전자들을 포함하는 것으로 생각되었다.

부분염기서열 결정을 통한 발현 유전자 꼬리표 생산

천잠 후부견사선의 cDNA 유전자 은행으로부터 무작위로 *in vivo* excision하여 얻은 박테리아 콜로니로부터 DNA 염기서열을 결정하였다. 본 연구 결과에서는 276개의 클론의 부분염기서열을 결정하고 발현유전자 꼬리표 (ESTs)를 작성한 후 DDBJ 국제 유전자 은행에 등록하였다. 각 클론

들은 평균 498 bp의 염기서열을 판독할 수 있었으므로 276개의 부분염기서열 분석을 통하여 천잠 후부견사선 cDNA로부터 분석한 염기서열은 모두 약 137.4 kb로 추정된다 (Table 1). DDBJ에 등록된 276개의 클론들은 GenBank의 BLAST를 통해 상동성을 검색한 결과 45개의 클론이 데이터베이스 상의 기존의 유전자들과 상동성이 있었으며, 이때 BLAST score는 중요한 상동성의 기준으로 판단되어지는 80 이상의 것을 취하였다 [8]. 분석된 결과에서 한 개 이상의 EST 염기서열이 동일한 클론들, 즉 동일한 accession number의 클론들과 상동성이 있으면 그 클론들 중 가장 높은 BLAST score를 가진 클론을 대표 클론으로 간주하였다. 이러한 분석을 통하여 26개의 클론들이 서로 중복되지 않은 독립적인 클론임을 확인하였다. 이러한 클론들의 상동성 검색결과, 기존의 데이터들과의 상동성이 있는 클론과의 비교 부위가 평균 220 bp이상이고 평균 상동성은 90.6%로 기존 데이터와 유의할 만한 상동성을 나타내었으며, 45개 클론 중 29개가 곤충 유래 유전자들과 상동성이 있었다. 곤충 유래 유전자와 상동성이 없는 16개 클론들은 식물과 4 (AY342, AY361, AY957, AY989), 포유동물과 1 (AY676), 양서류와 1 (AY1133), 미생물과 9 (AY59, AY189, AY264, AY335, AY425, AY562, AY563, AY943, AY969, AY1062)개의 클론들이 상동성이 있었다 (Table 2).

기능적인 측면에서 분석해보면 실크와 관련해서는 유일하게 하나의 클론 (AY479)만이 상동성이 있었으며, 그 외에 전사 (transcription)와 번역 (translation), 자기방어, 대사작용, 단백질 분해 및 근육형성 등에 관련된 유전자들로 분류할 수 있었다 (Table 3). 전사 (transcription)와 번역 (translation)에 관련하는 것들로는 28S rRNA (AY67), elongation factor alpha (AY94, AY191, AY263, AY276, AY841, AY1023, AY1024, AY1129) 및 elongation factor beta (AY559, AY871), 18S rRNA (AY307)가 있었고, 자기방어 및 스트레스 관련 유전자로는 heat shock 70 (AY59, AY264), DNA repair protein (AY224), disulphide isomerase 유사 단백질 (AY296), interferon receptor (AY676), chilling inducible

Table 1. Characterization of *Antheraea yamamai* posterior silk gland ESTs

cDNA libraries	No. of ESTs	Database matched ESTs	Average length (bp)	Sequence examined (kb)
<i>Antheraea yamamai</i> posterior silk gland	276	45	498	137.4

Table 2. Inventory of *Antheraea yamamai* ESTs isolated from posterior silk gland cDNA libraries

Clone (DDBJ Acc. No)	Putative identification	Species ^a	ID ^b (%)	Overlap (length)	Score	Acc. ^c No.
AY59(AT001906)	heat shock protein 70	<i>C. parvum</i>	98.0	178	327	U69698
AY67(AT001909)	28S rRNA	<i>M. sexta</i>	95.0	290	422	X93408
AY94(AT001918)	elongation factor-1 alpha	<i>A. pernyi</i>	93.0	350	432	AF015070
AY140(AT001933)	ribosomal protein L19	<i>D. melanogaster</i>	88.0	103	88	X74776
AY189(AT001949)	3-ketoacyl-ACP synthase (Kas4)	<i>C. hookeriana</i>	94.0	79	111	AF060519
AY191(AT001950)	elongation factor 1 alpha	<i>B. mori</i>	87.0	362	345	D13338
AY204(AT001956)	ribosomal protein S6	<i>M. sexta</i>	82.0	339	200	U64795
AY210(AT003090)	ribosomal protein L5 (L5)	<i>B. mori</i>	85.0	121	121	AF008229
AY224(AT001963)	DNA repair protein (AP3)	<i>D. melanogaster</i>	82.0	173	115	AF220939
AY263(AT001973)	elongation factor 1 alpha	<i>B. mori</i>	86.0	383	343	D13338
AY264(AT001974)	heat shock protein 70	<i>C. parvum</i>	98.0	64	113	U69698
AY276(AT001980)	elongation factor-1 alpha	<i>A. pernyi</i>	96.0	332	494	AF015070
AY296(AT001992)	disulphide isomerase like protein	<i>A. pernyi</i>	93.0	286	359	AB022013
AY307(AT001997)	18S ribosomal RNA	<i>G. mellonella</i>	95.0	285	414	X89491
AY335(AT003091)	D253 genomic DNA (clone AG13)	<i>Calothrix</i>	98.0	246	432	Z47172
AY342(AT002016)	chilling-inducible protein	<i>O. sativa</i>	96.0	106	178	Z54153
AY361(AT002020)	AGAMOUS homologue	<i>Z. maize</i>	96.0	83	139	L81162
AY367(AT003092)	QM protein	<i>B. mandarina</i>	85.0	226	188	AF099012
AY373(AT002025)	QM protein	<i>B. mandarina</i>	84.0	322	232	AF099012
AY380(AT002028)	ubiquitin-hybrid (UB3-D)	<i>D. melanogaster</i>	87.0	149	157	M22536
AY397(AT002036)	actA3a	<i>H. armigera</i>	88.0	323	327	X97614
AY425(AT002042)	chromosomal region from 67.4 to 76.0	<i>E. coli K-12</i>	94.0	419	525	U18997
AY479(AT002046)	fibroin	<i>A. pernyi</i>	93.0	172	256	D83241
AY497(AT002051)	QM protein	<i>B. mandarina</i>	85.0	363	303	AF099012
AY559(AT002262)	elongation factor 1 beta'	<i>B. mori</i>	82.0	253	131	D13339
AY562(AT002263)	D253 genomic DNA (clone AG13)	<i>Calothrix</i>	95.0	197	299	Z47172
AY563(AT002264)	D253 genomic DNA (clone AG5)	<i>Calothrix</i>	97.0	152	254	Z47158
AY571(AT002267)	P1 DS00464 (D115)	<i>D. melanogaster</i>	88.0	311	317	AC004266
AY608(AT002275)	QM protein	<i>B. mandarina</i>	86.0	292	272	AF099012
AY676(AT002295)	type I interferon receptor, IFNaR2 subunit	<i>M. musculus</i>	97.0	126	232	Y09813
AY684(AT002298)	cytochrome oxidase subunit I (COI)	<i>E. marcellus</i>	85.0	320	256	AF044022
AY783(AT002525)	ubiquitin/79aa fusion protein	<i>B. mori</i>	87.0	102	111	AB021973
AY841(AT002539)	elongation factor 1 alpha	<i>B. mori</i>	85.0	342	157	D13338
AY871(AT002549)	elongation factor 1 beta'	<i>B. mori</i>	82.0	241	117	D13339
AY943(AT002565)	D253 genomic DNA (clone AG13)	<i>Calothrix</i>	98.0	192	339	Z47172
AY957(AT002570)	chilling-inducible protein	<i>O. sativa</i>	96.0	89	143	Z54153
AY969(AT002576)	D253 genomic DNA (clone AG13)	<i>Calothrix</i>	97.0	192	349	Z47172
AY989(AT002585)	chilling-inducible protein	<i>O. sativa</i>	97.0	105	167	Z54153
AY1023(AT002595)	elongation factor 1 alpha	<i>B. mori</i>	85.0	128	82	D13338
AY1024(AT002596)	elongation factor 1 alpha	<i>B. mori</i>	85.0	293	192	D13338
AY1047(AT002608)	ribosomal protein S6	<i>M. sexta</i>	85.0	97	89.7	U64795
AY1062(AT002616)	D253 genomic DNA (clone AG5)	<i>Calothrix</i>	97.0	149	240	Z47158
AY1106(AT002631)	QM protein	<i>B. mandarina</i>	85.0	213	167	AF099012
AY1129(AT002639)	elongation factor 1 alpha	<i>B. mori</i>	85.0	336	172	D13338
AY1133(AT002642)	cortical granule lectin	<i>X. laevis</i>	100.0	44	88	X82626

^aSpecies indicates the source of the protein that exhibits homology to the *Antheraea yamamai* ESTs.

^bThe numbers in the columns designated "ID" refer to the percent of nucleotide sequence identity in a continuous region (Overlap).

^cAcc. No. indicates its genbank accession number.

protein (AY957, AY989) 및 lectin (AY1133)이 존재하였다. 또한 대사에 관련하는 클론으로는 cytochrome oxidase subunit (AY684)와 상동성을 가지는 것이 있었고, 단백질 분해와 관련해서 ubiquitin 관련 유전자 (AY380, AY783)가 존재하였다. 그리고 근육형성과 상동성을 나타내는 것들 중에는 QM protein (AY367, AY373, AY497)과 상동성을 나타내는 것과 actA3a (AY397)와 상동성을 내는 것들이 확인되었으며, 그 외에 기능적인 측면으로 분류하지 못한 클론

들이 있었다 (Table 3).

피브로인 (fibroin) 유전자의 특성 분석

작성한 발현 유전자 꼬리표 중에서 실크합성 관련 유전자인 작잠의 피브로인 유전자와 상동성을 보이는 AY479 클론에 대해 염기서열을 모두 밝히고 그 특성을 분석해 보았다 (DDBJ acc. No. AT002046) (Fig. 1). AY479는 총 472 bp의 염기로 구성되어져 있었고 이 cDNA로부터 123개의

Table 3. Functional catalogue of posterior silk gland ESTs

Transcription/translation		Defense/Stress	
AY67	28S rRNA	AY59	heat shock protein 70
AY94	elongation factor-1 alpha	AY224	DNA repair protein (AP3)
AY140	ribosomal protein L19	AY264	heat shock protein 70
AY191	elongation factor 1 alpha	AY296	disulphide isomerase like protein
AY204	ribosomal protein S6	AY676	type I interferon receptor, IFN α R2 subunit
AY210	ribosomal protein L5 (L5)	AY957	chilling-inducible protein
AY263	elongation factor 1 alpha	AY989	chilling-inducible protein
AY276	elongation factor-1 alpha	AY1133	cortical granule lectin
AY307	18S ribosomal RNA		
AY559	elongation factor 1 beta'		
AY841	elongation factor 1 alpha		
AY871	elongation factor 1 beta'		
AY1023	elongation factor 1 alpha		
AY1024	elongation factor 1 alpha		
AY1047	ribosomal protein S6		
AY1129	elongation factor 1 alpha		
Metabolism		Protein modification/Degradation	
AY684	cytochrome oxidase subunit I (COI)	AY380	ubiquitin-hybrid (UB3-D)
		AY783	ubiquitin/79aa fusion protein
Cytoskeleton/Structure		Unclear classification	
AY367	QM protein	AY189	3-ketoacyl-ACP synthase (Kas4)
AY373	QM protein	AY335	D253 genomic DNA (clone AG13)
AY397	actA3a	AY361	AGAMOUS homologue
AY497	QM protein	AY425	chromosomal region from 67.4 to 76.0
		AY562	D253 genomic DNA (clone AG13)
		AY563	D253 genomic DNA (clone AG5)
		AY571	P1 DS00464 (D115)
		AY943	D253 genomic DNA (clone AG13)
		AY969	D253 genomic DNA (clone AG13)
		AY1062	D253 genomic DNA (clone AG5)
Silk synthesis			
AY479	fibroin		

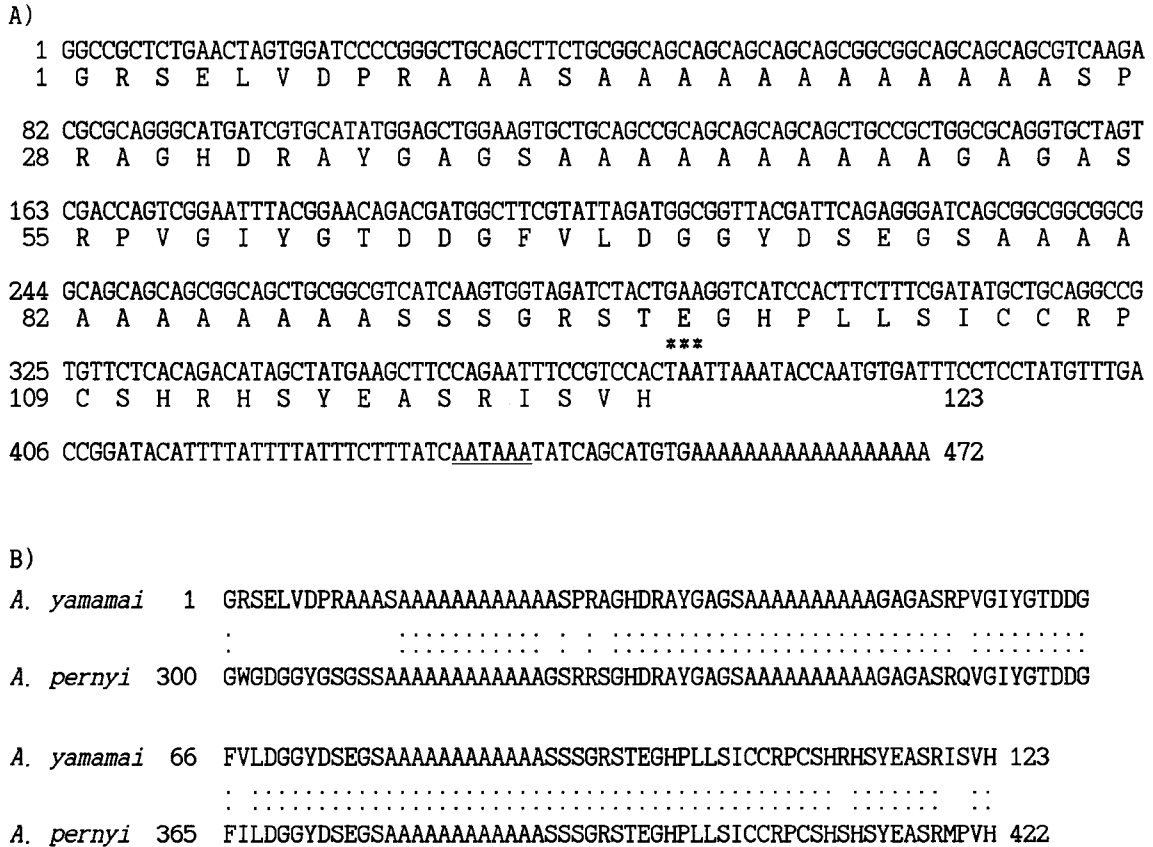


Fig. 1. The nucleotide sequence and the predicted amino acid sequence of AY479 (DDBJ accession No. AT002046). The underlined nucleotide sequences and asterisks indicate the putative polyadenylational signal and translation stop codon, respectively (A). Alignment of the amino acid sequences between *Antheraea yamamai* fibroin and *A. pernyi* fibroin. The comparison was done by using the Blast search of NCBI; the double dots indicate identical amino acid sequences (B).

아미노산을 연역할 수 있었다. 또한 작잠 피브로인과의 비교를 통하여 370번째 염기 위치에서 번역 종결 코돈을 확인할 수 있었고, 435번째 위치에서 잠정 전사종결 신호인 'AATAAA'를 확인할 수 있었다 (Fig. 1A). AY479의 연역 아미노산을 작잠의 피브로인과 비교한 결과 아미노산 수준에서 약 85%의 상동성을 가짐으로 매우 유사함을 알 수 있었으며, 기존에 등록된 작잠과 마찬가지로 alanine 잔기가 매우 풍부하게 존재하는 특성을 가짐을 알 수 있었다 (Fig. 1B). 따라서 AY479 클론이 천잠의 피브로인 유전자로 추정되며, 비록 부분적이지만 천잠 후부전사선으로부터 최초로 발현 유전자 꼬리표 (ESTs) 분석을 통하여 유전자를 발굴한 것은 상당히 가치있는 것이며, 추후에 전체적인 유전자의 특성을 분석하고자 한다.

요 약

다른 전사충류에 비하여 보다 고부가가치의 견을 생산하는 천잠의 실크합성 관련 유전자의 분자생물학적 메커니즘의 이해 및 분자유종에 대한 유전자원 공급을 위하여 천잠 실크가 특이적으로 발현되는 종령천잠의 후부전사선으로부터 cDNA 유전자 은행을 작성하고, 그것으로부터 276개의 발현 유전자 꼬리표 (ESTs)를 분석하였다. 분석된 276개의 발현 유전자 꼬리표 중에는 45개의 클론이 기존에 등록된 유전자들과 높은 상동성을 가졌으며, 이 중 29개 클론들은 곤충유래 유전자들과 그리고 16개는 그 외 다른 종으로부터의 유전자들과 상동성을 나타내었다. 기능적인 측면에서 분석해보면 실크합성, 전사 (transcription)와 번역

(translation), 자기방어, 대사작용, 단백질 분해 및 근육형성 등에 관련한 유전자들로 분류할 수 있었으며, 이 중 특히 실크합성과 관련된 클론 (AY479)을 선발하여 염기서열 분석을 수행한 결과 작잠 피브로인과 염기 및 아미노산 수준에서 상동성이 매우 높음을 알 수 있었고, 또한 작잠 피브로인과 마찬가지로 alanine 잔기가 풍부하게 존재함을 확인함으로써 천잠의 피브로인 유전자임을 추정할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 1998년도 과학기술부 G7 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Adams, M. D., M. Dubnick, A. R. Kerlavage, R. Moreno, J. M. Kelly, T. R. Utterback, J. W. Nagle, C. Fields and C. Venter. 1992. Sequence identification of 2375 human brain genes. *Nature* **355**, 632-634.
- Adams, M. D., A. R. Kerlavage, C. Fields and C. Venter. 1993. 3400 new expressed sequence tags identify diversity of transcripts in human brain. *Nature Genet.* **4**, 256-267.
- Cooke, R., M. Raynal, M. Laudie, F. Grellet, M. Delseny, P. C. Morris, D. Guerrier, J. Giraudat, F. Quigley, G. Clabault, Y. F. Li, R. Mache, M. Krivitzky, I. J. Gy, M. Kreis, A. Lecharny, Y. Parmentier, J. Marbach, J. Fleck, B. Clement, G. Philipps, C. Herve, C. Bardet, D. Tremousaygue, B. Lescure, C. Lacomme, D. Roby, M. F. Jourjon, P. Chabrier, J. L. Charpentreau, T. Desprez, J. Amselem, H. Chiapello and H. Hofte. 1996. Further progress towards a catalogue of all *Arabidopsis* genes: analysis of a set of 5000 nonredundant ESTs. *Plant J.* **9**, 101-124.
- Kwak, J. M., S. A. Kim, M. S. Soh, Y. S. Park, E. S. Shin, Y. J. Kim, I. C. Kwun and H. G. Nam. 1996. Characterization of 475 expressed sequence tags generated from root cDNA clones of *Brassica napus* by single-pass sequencing. *Mol. Cells* **6**, 563-570.
- Lim, C. O., H. Y. Kim, M. G. Kim, S. I. Lee, W. S. Chung, S. H. Park, I. Hwang and M. J. Cho. 1996. Expressed sequence tags of Chinese cabbage flower bud cDNA. *Plant Physiol.* **111**, 577-588.
- Liu, J., C. Hara, M. Umeda, Y. Zhao, T. W. Okita and H. Uchimiya. 1995. Analysis of randomly isolated cDNAs from developing endosperm of rice (*Oryza sativa* L.): Evaluation of expressed sequence tags, and expression levels of mRNAs. *Plant Mol. Biol.* **29**, 685-689.
- W. R. McCombie, M. D. Adams, J. M. Kelley, M. G. FitzGerald, T. R. Utterback, M. Khan, M. Dubnick, A. R. Kerlavage, J. C. Venter and C. Fields. 1992. *Caenorhabditis elegans* expressed sequence tags identify gene families and potential disease gene homologues. *Nature Genet.* **1**, 124-131.
- Newman, T., F. J. de Bruijin, P. Green, K. Keegstra, H. Kende, L. McIntosh, J. Ohlrogge, N. Raikhel, S. Somerville, M. Thomashow, E. Retzel and C. Somerville. 1994. Genes galore: A summary of methods for accessing results from large-scale partial sequencing of anonymous *Arabidopsis* cDNA clones. *Plant Physiol.* **106**, 1241-1255.
- Park, Y. S., J. M. Kwak, O.-Y. Kwon, Y. S. Kim, D. S. Lee, M. J. Cho, H. H. Lee and H. G. Nam. 1993. Generation of expressed sequence tags of random root cDNA clones of *Brassica napus* by single-run partial sequencing. *Plant Physiol.* **103**, 359-370.
- Sasaaki, T., J. Song, Y. Koga-Ban, E. Matsui, F. Fang, H. Higo, H. Nagasaki, M. Hori, M. Miya, E. Murayama-Kayano, T. Takiguchi, A. Takasuga, T. Niki, K. Ishimaru, H. Ikeda, Y. Yamamoto, Y. Mukai, I. Ohta, N. Miyadara, I. Havukkala and Y. Minobe. 1994. Toward cataloguing all rice genes: large-scale sequencing of randomly chosen rice cDNAs from a callus cDNA library. *Plant J.* **6**, 615-624.
- Shen, B., N. Carneiro, I. Torres-Jerez, B. Stevenson, T. McCreery, C. Baysdorfer, E. Almira, R. J. Ferl, J. E. Habben and B. Larkins. 1994. Partial sequencing and mapping of clones from two maize cDNA libraries. *Plant Mol. Biol.* **26**, 1085-1101.
- Short, J. M., J. M. Fernandez, J. A. Sorge and W. D. Huse. 1988. λ ZAP: A bacteriophage λ expression vector with *in vivo* excision properties. *Nucleic Acids Res.* **16**, 7583-7600.
- Sung, S. K., D. H. Jeong, J. M. Nam, S. H. Kim, S. R. Kim and G. H. An. 1998. Expressed sequence tags of fruits, peels, and carpels and analysis of mRNA expression levels of the tagged cDNAs of fruits from the fuji apple. *Mol. Cells* **8**, 565-577.

14. Uchimiya, H., S. I. Kidou, T. Shimazaki, A. Aotsuka, S. Takamatsu, R. Nishi, H. Hashimoto, Y. Matsubayashi, N. Kidou, M. Umeda and A. Kato. 1992. Random sequencing of cDNA libraries reveals a variety of expressed genes on cultured cells of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant J.* **2**, 1005-1009.
15. van de Loo, F. J., S. Turner and S. Somerville. 1995. Expressed sequence tags from developing castor seeds. *Plant Physiol.* **108**, 1141-1150.