

## 긴잎돌김 *Porphyra pseudolinearis*의 장단체형간 18S-rDNA 염기서열비교

김형근 · Long-Guo JIN\* · 김영대\*\* · 홍용기\*

강릉대학교 수산자원개발학과, \*부경대학교 생물공학과, \*\*수산진흥원 동해수산연구소

### 서론

김(*Porphyra*)속 식물은 색깔, 체형, 크기, 촉감 등의 식별형질에 근거하여 분류가 시작되었고, Kurogi는 일본산 김속 식물의 분류학적 연구를 개괄하면서 김속의 식별형질로서 엽체의 세포층수, 거치상 돌기의 유무, 생식유형, 정자낭반의 형태, 정자낭 및 과포자낭 분열형식, 무성포자의 형성 유무, 지리적 분포, 각포자의 형태 및 생태적 특성 등을 종합하였다. 그러나 전통적인 분류 특징을 가지고 70종이나 되는 김을 분류한다는 것은 지금까지 불충분하여왔다. 본 연구에서는 이러한 phylogenetic 관점을 바탕으로 하여 강원도 안인지역에서 채집한 긴잎돌김 (*Pophyra pseudolinearis*)에서 조직양종 발생된 서로 다른 type 즉 엽체 길이가 긴 전형적인 긴잎돌김의 long type과 상대적으로 엽체장이 짧은 short type이 종내의 유전적 변이에 의하여 발생되어진 것인지의 여부를 확인하고자 강원도 주문진 소돌 지역의 긴잎돌김과도 함께 18S-rDNA 유전자의 염기서열을 비교해보았다.

### 재료 및 방법

#### 1. 시료채집 및 전처리

긴잎돌김은 강원도 안인지역에서 채집하여 protoplast를 만든다음 PES배지에서 실내 조직배양을 하였으며, 비교 실험으로 주문진 소돌에서 채집한 엽체는 실험실에서 무균화처리 (Park et al., 1997)를 행한다음 DNA를 추출하였다.

#### 2. DNA 추출 및 DNA 정량

긴잎돌김 조직으로부터 total genomic DNA의 추출은 LiCl방법 (Hong et al., 1995)에 따라 추출하였다. 추출한 DNA는 Mini Fluorometer (Hoefler, Model TKO 100)로 정량하였다.

#### 3. PCR 증폭 및 Agarose gel 전기영동

PCR 증폭은 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Cetus)를 사용하여 수행하였다. 부

분적인 18S-rDNA 영역을 증폭하기 위하여 specific한 primer인 NS5 와 NS6 을 사용하였다 (White et al., 1990). PCR product는 0.5  $\mu\text{g/ml}$ 의 EtBr가 포함된 2% agarose gel 상에서 TAE buffer 로서 100 V 전압으로 30분간 행하였다(Sambrook et al., 1989).

#### 4. DNA ligation, 형질전환, Plasmid 추출, 제한효소 처리, DNA 염기서열 분석

DNA ligation과 형질전환은 Invitrogen사의 Topo TA cloning kit의 protocol에 따라 진행하였다. Plasmid 추출은 Boehringer Mannheim사의 plasmid isolation kit의 protocol에 따라 추출하였다. 제한효소 처리는 plasmid를 추출한 다음 EcoRI 제한효소로 분해하여 DNA 삽입을 확인하였다. DNA 염기서열은 DNA Auto Sequencer (ABI PRISM 377, Perkin Elmer Co.)로 분석하였으며, 염기 상동성은 NCBI의 BLAS search 프로그램을 이용하여 비교하였다.

## 결과 및 요약

### DNA 염기서열 비교

한국산 전체 긴잎돌김(*Porphyra pseudolinearis*)의 18S rDNA는 약 2.4Kb의 크를 가지고 있으며 약 600bp크기의 intron을 가지고 있었으며 전체 18S rDNA 중에서 NS5+NS6 부분만 비교하였을 때 안인 A type, 안인 B type, 주문진 소돌 세 개의 type은 모두 매우 유사한 염기서열을 가지고 있었다. 이것은 18S rDNA의 보존도가 매우 높기 때문이거나 혹은 매우 적은 유사한 부분만 비교를 하였기 때문에 나타난 결과일수도 있다. 긴잎돌김 (*Porphyra pseudolinearis*)의 조직배 중 나타난 서로 다른 형태 type의 엽체들을 대상으로하여 이들 엽체 조직의 핵내 18S-rDNA 유전자중 일부분을 PCR방법으로 증폭하여 그 염기서열을 비교하였다. 18S-rDNA의 일부 염기서열을 비교하였을 때 조직배양중인 안인 A type이나 안인 B type은 동일한 염기서열을 지녔으며, 자연산의 주문진 소돌 지역의 긴잎돌김과는 매우 유사한 염기서열을 가지고 있었다.

## 참고문헌

- Hong, Y.K., S.D. Kim, M. Polne-Fuller, and A. Gibor 1995. DNA extraction conditions from *Porphyra perforata* using LiCl. *J. Appl. Phycol.*, 7, 101-107.
- Park Ji Won, Yong chul Cho, Bo-Hye Nam, Hyung-Joo Jin, Chul Hyun Shon, and Yong-Ki Hong. 1997. RAPD identification of genetic variation in seaweed *Hizikia fusiformis* (Fucales, Phaeophyta)
- Kurogi M (1972) Systematics of *Porphyra* in Japan. In: Abbott IA, Kurogi M (eds). Contributions to the systematics of benthic marine algae of the North Pacific. Japanese Society of Phycology, Kobe, PP 167-191
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 18.88pp.