

04-1-51

화분측 자가불화합성 S15 haplotype SP11 유전자의 게놈구성과 전사체의 특징

박종인¹, Watanabe Masao¹, 정효진², 노일섭^{2*}

이와테대학 농학부¹, 순천대학교 식물생산과학부²

목적

자가불화합성 S15 haplotype SP11 유전자의 genomic 구성과 전사체의 특징을 분석하여 자가불화합성 활력이 낮은 이유를 검토하고자 함.

재료 및 방법

1. 공시재료

B. oleracea에 있어서 class II S haplotype에 속하는 S15 호모계통, #102(NongWoo Seed Co., Seoul, Korea)와 TCS15(Takii Seed Co. Kyoto, Japan)를 이용하였다.

2. 방법

SP11의 게놈구조를 결정하기 위하여, class II SP11 특이적 primer들을 합성하였다. 증폭된 PCR 단편들은 pGEM-T Easy vector (Promega, Madison, USA)에 cloning하였고, dideoxy-chain termination법에 의해 염기서열을 결정하였다. 염기서열 분석은 GENETYX (Software Development, Tokyo, Japan)와 DNASIS(Hitachi Software, Tokyo, Japan)를 이용하여 행하였다. 또한 S15 haplotype의 duplication된 SP11 유전자들의 전사체를 분석하기 위하여, S15-SP11a probe를 이용하여 RNA gel blot를 수행하였다.

결과 및 고찰

S15-SP11을 포함하는 2종류의 게놈 단편들(0.4와 0.9 kb)은 class II SP11 유전자들을 특이적으로 증폭시킬 수 있는 primer조합에 의해 B. oleracea S15 호모계통의 genomic DNA로부터 증폭되었다. 증폭된 2개의 단편들을 cloning 및 염기서열을 결정한 결과, 0.4-kb 단편(S15-SP11a)과 0.9-kb 단편(S15-SP11a, S15-SP11b)들이 동정되었다. 또한, S15-SP11a의 5-upstream 영역을 증폭하여 염기서열을 결정한 결과, 추정되는 TATA-box element와 class-II S60-SP11의 5-promoter 영역에 유사한 염기들이 동정되었다.

RNA gel blot를 수행한 결과 2 종류의 SP11 전사체(1.4 kb and 0.65 kb)들은 약 조직에서 특이적으로 발현하였다. 개화 3일에서 6일전에 점차적으로 강하게 발현되었으며, 0.65-kb 전사체의 양이 1.4-kb 전사체의 양보다 훨씬 많았다. 또한 RT-PCR과 5-RACE 산물들의 염기서열 분석에 의해 SP11 전사체들을 특징지었다. 증폭된 SP11 전사체들은 산물들의 길이에 기초하여 0.65-kb 전사체와 1.4-kb 전사체 2개의 group으로 분류되었다.

S15-SP11 영역내의 염기 유사성을 Harr plot에 의해 분석한 결과, Plot은 S15-SP11 영역내에서 유사한 염기들이 길게 늘어선 것을 나타내었다. 이것은 S15 haplotype에서 유전자 duplication event가 일어났다는 것을 암시한다. 이와 같은 증거들은 duplication 그리고 conversion event들이 S15 haplotype에서 빈번하게 일어났다는 것을 시사한다. S15 haplotype에서 duplication된 SP11 유전자는 전장의 S15-SP11a, S15-SP11b, 부분적 S15-SP11b'를 포함하는 1.4-kb 전사체를 생산한다는 것을 보였다. 이 1.4-kb 전사체가 비록 SP11 단백질을 생산할 가능성이 있다 하더라도, 전사체는 비기능적일 것으로 생각되었다.