

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) chlorophyll a/b binding protein(CAB) 유전자 염기서열 비교

이범수¹⁾, 인준교¹⁾, 김진주²⁾, 양덕춘^{2)*}

(주)바이오파아¹⁾, 경희대학교 한방재료가공학과²⁾

연구목적

식물에 이용되는 대부분의 광 에너지는 엽록수 a/b에 의해 흡수되는데 이 엽록소는 엽록체 내의 틸라코이드 막에 단백질과 비공유결합되어 엽록소-단백질 복합체 형태로 존재한다. 엽록소-단백질 복합체는 photosystem I과 photosystem II를 구성하고 있다. 각 광계의 반응 중심에는 LHC(light-harvesting complex)로 둘러싸여 있으며, 이 복합체는 핵 내의 CAB(chlorophyll a/b binding protein) 유전자에 의해 발현된다. 인삼은 반 음지성 작물로서 자연광의 5-10% 정도의 저광도에서 안정적으로 광합성을 하여 생육하며 30% 이상의 고광도에서는 엽소현상으로 잎이 말라죽는 피해를 입게 된다. 고광도에서는 너무 많은 광에너지의 흡수로 광합성 과정에서 광반응계 전자전달기작의 과부하로 생성되는 singlet oxygen에 의해 엽록소 및 엽육세포가 파괴되어 나타나는 것이다. 따라서 본 연구에서는 인삼 cDNA의 유전자은행을 작성한 후 에너지 변환에 핵심적인 역할을 하고 있는 유전자 중 CAB 유전자의 현황을 파악하고자 한다.

재료 및 방법

본 실험의 재료는 인삼연초연구원에서 재배된 인삼의 잎을 사용하였다. RNA 추출은 aqueous phenol extraction 방법을 사용하여 추출하였다. cDNA를 합성하는 과정은 매뉴얼을 따라 cDNA synthesis kit (Clontech, SMART cDNA library construction kit)를 이용하여 수행하였다.

무작위로 선별된 cDNA insert들을 automatic sequencer (ABI prism 3700)로 sequencing 하였다. 결정된 염기서열의 유사성 분석은 NCBI에서 제공하는 BLAST 2.0 프로그램을 사용하였다. 서열분석은 결정된 염기서열을 여섯 개의 frame으로 번역해 이미 보고된 아미노산 서열과 비교 분석하는 BLASTX를 이용하였고 database와 유사성을 분석한 결과 score 값이 80 이상인 경우 유의한 것으로 판단하였다. 아미노산 서열간의 보존 부위의 분석을 위한 multiple alignment는 CLUSTALW version 1.7을 사용하였다.

결과 및 고찰

인삼 잎에서 추출·정제한 mRNA로 제작된 full length cDNA Library로부터 2898개의 EST분석을 실시하였고 1624개의 parental clone을 확보하였다. 이들을 NCBI(National

Center for Biotechnology Information)의 blastx 프로그램을 이용하여 검색한 결과, 259개의 EST clone이 CAB 유전자와 높은 상동성을 나타내었다. 인삼의 잎에서 분리된 CAB 유전자들은 type I이 89.9%, type II가 6.2%, type III가 3.9%의 출현빈도를 보였다. *CAB I* 유전자는 245-257 bp의 염기서열로 구성되어 있고 *CAB II* 유전자는 270 bp의 염기서열로 구성되어 있으며, *CAB III*는 273-277 bp의 염기서열 크기로 구성되어 있다. *CAB I* 유전자는 *Lycopersicon esculentum*에서 G+C content가 52.0%로 가장 높았다. 또한 *CAB I*는 G+C content가 49.0-51.0%로 종간의 차이가 있음을 나타냈다. 한편, 인삼의 계통학적 위치는 *CAB I*의 계통수에서 *Lactuca sativa*, *Flaveria pringlei*, *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Helianthus annuus*, *Spinacia oleracea* 분지군과 다른 분지군에 포함되는 것으로 나타났다. 이는 인삼이 다른 종의 *CAB I*과 근연관계가 차이가 있음을 보여준다.