

PA-033

고염분 및 저온 스트레스에서 카멜리나 CsRCI2 단백질들의 내포작용 분석

김세희¹, 김현성¹, 안성주^{1*}Sehee Kim¹, Hyun-Sung Kim¹, Sung-Ju Ahn^{1*}¹전남대학교 바이오에너지공학과¹Department of Bioenergy Science and Technology, Collage of Agriculture and Life Science, Chonnam National University, Gwangju 61186, Republic of Korea

[서론]

카멜리나(*Camelina sativa* L.)는 짧은 생육주기와 높은 불포화지방산을 함유한 종자가 특징인 바이오에너지 작물이다. CsRCI2(Rare Cold Induible 2) 단백질은 약 200bp 정도의 크기로, 두 개의 transmembrane domain을 가지고 있으며 저온 뿐만 아니라 염분이나 가뭄 스트레스 등 다양한 환경 스트레스 조건에서 발현이 유도되어 내성 증진에 관여하는 것으로 보고되어 있다. 그러나 CsRCI2 단백질의 세포 내 세부 기작은 아직 연구가 부족하다. 이전 연구에 따르면 CsRCI2 단백질들이 APQs와 같은 다른 막 단백질과 상호작용하며 내포작용과 관련되어 있을 것으로 추측되고 있다. 따라서 본 연구에서는 고염분 및 저온 스트레스 하에서 CsRCI2 단백질들의 내포작용을 분석하였다.

[재료 및 방법]

CsRCI2A/B/C/E/F/G 유전자들을 p35SFAST-eYFP vector에 삽입하여 Agrobacterium GV3101에 형질전환 한 후 담배 잎에 접종하였다. 접종 36시간 후 confocal microscope를 이용하여 subcellular localization을 확인하였다. 7일간 키운 카멜리나 유묘에 각각 24시간 동안 150mM NaCl 또는 4°C 저온을 처리한 후, 막 단백질을 분리하였다. 총 8층의 sucrose gradient (15%~50%)에 각각의 샘플을 쌓은 후, 원심분리를 통해 14개의 fraction(FR)을 추출하였다. 분리된 단백질들의 발현은 western-blot을 통해 확인하였다.

[결과 및 고찰]

담배 잎에서 eYFP-CsRCI2s의 subcellular localization을 관찰하였을 때, 원형질막 뿐만 아니라 세포 내 소낭에도 위치하는 것을 확인할 수 있었다. CsRCI2의 세포 내막별 분포를 확인하기 위해 sucrose density gradient를 이용하여 막 단백질을 밀도 별로 분리한 후, western blot 분석으로 단백질의 축적을 관찰하였다. 이 결과에서 plasma membrane(PM), endoplasmic reticulum(ER), tonoplast의 marker로 각각 PM H⁺-ATPase, BiP, V-ATPase 단백질이 사용 되었으며, 고염분 및 저온 스트레스 처리 유무에 따른 분포의 변화가 관찰되지 않았다. 고염분 스트레스 하에서 CsRCI2D와 CsRCI2F가 원형질막 단백질이 주로 분포된 FR11에서부터 낮은 밀도인 FR7-8로 이동되어 발현되었으며, 저온 스트레스 하에서는 CsRCI2D와 CsRCI2G가 낮은 밀도인 FR8-9로 이동되었다. CsRCI2 단백질들이 고염분 및 저온 스트레스에 의해 발현이 유도되며, 낮은 밀도로 단백질의 축적이 이동한 것은 내포작용에 의한 소낭 형태의 이동 때문일 것이며, PM으로부터 다른 막으로 내재화 되는 것과 관련되어 있음을 시사한다.

[사서]

본 연구는 국토교통부물관리연구사업(사업번호: 17AWMP-B114119-02)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

*주저자: Tel. +82-62-530-2052, E-mail. asjsuse@jnu.ac.kr