

## F201

이십일 무우(*Raphanus sativus* L. var *sativus*)로부터 Chalcone Synthase 와 Chalcone Isomerase의 Genomic Cloning

이재선\*, 심응섭<sup>1</sup>, 안정선

서울대학교 자연과학대학 생물학과, <sup>1</sup>고려대학교 이과대학 생물학과

이십일 무우로부터 분리한 게놈 DNA ( $0.526 \times 10^9$  bp)를 *Sau3AI*으로 부분절단한 후 EMBL3에 클로닝하여 genomic library를 작성하였다. Genomic library로부터  $0.9 \times 10^6$  개의 파아지 클론을 *Arabidopsis* chalcone synthase (CHS) 유전자의 genomic probe와 chalcone isomerase (CHI) 유전자의 cDNA probe로 screening하였다. Screening 결과 얻은 잠정적인 CHS와 CHI 유전자의 클론들은 Southern hybridization을 통해 재차 선별하고 선별된 클론들을 몇몇 제한 효소로 절단하여 Southern hybridization 한 결과 CHS 와 CHI에 대해 각각 한 종류의 클론을 얻었으며 CHS 와 CHI를 포함하는 제한효소 절편들을 규명하였다. 완전한 CHS 와 CHI 유전자를 포함하는 재조합 플라스미드를 제조하기 위해 CHS 클론의 6.6 kb *KpnI* 절편과 CHI 클론의 4.1 kb *SaI*I 절편을 pBluescriptKS+로 subcloning하였으며 이들을 각각 pCSK26과 pCIS13이라 명명하였다.

## F202

보리수나무 (*Elaeagnus umbellata*)로부터 뿌리혹 특이적인 cysteine protease cDNA의 cloning

김 호 방\*, 안 정 선

서울대학교 자연과학대학 생물학과

보리수나무 뿌리혹에서 특이적으로 발현되는 cDNA 클론들을 선별하기 위하여 뿌리혹에서 분리한 poly(A) RNA를 이용하여 cDNA library를 작성하고, 차별 혼성화 및 heterologous probe를 이용한 혼성화를 수행하였다. 작성된 뿌리혹 cDNA library의 plaque forming unit는  $5.5 \times 10^5$ 이었으며, 재조합 plaque 형성 효율은 95% 정도였다. <sup>32</sup>P로 표지된 뿌리혹 cDNA probe와 뿌리에서 분리한 다량의 전체 RNA를 이용한 차별 혼성화 결과 약 200 개의 잠정적인 뿌리혹 특이적인 클론들을 얻었다. *Alnus glutinosa*에서 뿌리혹 특이적으로 발현됨이 확인된 AgNOD-CP1 (cysteine protease)을 이용하여 게놈 혼성화 반응을 수행한 결과 보리수나무 게놈상에 AgNOD-CP1 유사서열이 존재함을 확인하였고, cDNA library로부터 잠정적인 cysteine protease 클론들을 선별하였다.