

F209

Oryza sativa L. 종 내에서 Polymorphism을 보이는
rRNA 유전자의 Cloning 및 Sequencing

조명수*, 김한집
아주대학교 자연과학대학 생명과학과

벼에 있어서 rRNA 유전자는 아종들 간에서는 물론 아종 내에서도 품종사이에 서로 다른 길이의 rDNA repeat unit가 존재하는 것을 볼 수 있으며 이는 rDNA repeat unit 사이의 많은 변이가 일어났음을 의미한다. 이러한 rRNA 유전자를 이용하여 각 아종간 또는 아종들 사이에서 rDNA의 restriction fragment phenotype을 구분할 수 있으며 이에 따른 염기 변화와 유전자 변이를 알아낼 수 있다. 이러한 실험들을 실행하고 결과를 확인하는데 있어서는 실제로 벼의 rDNA에 대한 유전정보가 필요하며, 보다 쉽고 빠르게 많은 양의 rDNA가 필요하다. 이를 위해 본 실험실에서는 실제로 벼에 있어서 full length의 rDNA repeat unit를 cloning하고 부분적으로 sequencing을 하고자 하였다. rDNA의 full length는 *EcoRI*에 의하여 digestion했을 때, 8-9kb를 가지며 밀의 rDNA probe로 Southern hybridization을 하여 확인된 부분을 elution하여 λ -*ZapII* vector에 삽입한 후, packaging하여 plaque *in-situ* hybridization을 통해 selection하였다. 이렇게 얻은 rDNA가 삽입된 λ -*ZapII*를 *in-vivo* excision하여 *E.coli* SOLR strain에 transformation시켜 많은 수의 colony를 얻어 낼 수 있었으며 colony hybridization을 통해 rDNA가 제대로 삽입되어졌는지 확인하였다. rDNA가 삽입된 vector는 λ -*ZapII*에서 excision된 pBluescript SK(-) Phagemid로 여러 제한효소에 대한 restriction site를 가지며 여러 가지의 primer binding site를 가지고 있다. 또한 *LacZ* gene과 ampicilline resistance gene 등으로 손쉽게 selection 할 수 있다.

F210

Molecular Cloning of Genes Expressed During
Flower Differentiation in Potato.

지재웅*, 김한집
아주대학교 자연과학대학 생명과학과

Total RNAs were isolated from both potato leaves and flower buds at the early stage after floral evocation. Lambda ZAP II cDNA libraries containing sequences complementary to poly A⁺ RNA were constructed from both type of tissues. The cDNA library of the potato leave was hybridized to the rice cDNA clone encoding *rbcS* for an authenticity of the library. Differential display reverse transcription polymerase chain reaction(DDRT-PCR) will be carried out to generate tissue-specific products using total RNAs from both type of tissues, four anchored oligo d(T) primers plus several arbitrary primers. Tissue-specific products will be eluted from 8% acrylamide sequencing gel, reamplified, cloned for further studies such as southern and norton hybridization and sequencing. Homologies between tissue-specific clones isolated by DDRT-PCR and other flower-specific genes reported such as floral organ and meristem identity genes will be analyzed using BLAST and FASTA as means of homology search.