

F815

Restriction endonuclease mapping of mitochondrial DNA in silkworms

최강준*, 문정수, 성승현, 서동상
성균관대학교 유전공학과

미토콘드리아 DNA는 핵 DNA처럼 histone과 같은 단백질과 결합되어 있지 않은 형태로 DNA 변이 축적률이 핵 DNA보다 적어도 10배 이상 된다는 보고가 있고, 세포질 유전으로 모계유전되는 진화적 특징에 의해 많은 생물 종에서 그 염기순서가 연구되어졌다. 그러나 산업곤충으로 실크를 생산하는 누에에 대한 유전자 분석은 거의 초보단계이고 미토콘드리아 DNA에 대한 연구도 아직 되어있지 못한 상태이다. 본연구에서는 산업적으로 사용되고 있는 누에나방 속의 누에나방과 같은 과의 맷누에나방 속의 맷누에나방 그리고 계통적으로는 먼 거리에 있지만 견사를 생산하여 고치를 만드는 산누에나방상과의 참나무산누에나방 속·참나무산누에나방의 미토콘드리아 DNA를 추출하고 이의 제한 효소지도를 작성하여 각각을 비교, 분석하고자 한다. 견사곤충의 미토콘드리아 DNA를 알칼리 방법으로 추출한 다음 다시 Lambda phage vector를 이용하여 미토콘드리아 DNA 전체를 cloning하여 미토콘드리아 DNA를 대량 확보할 수 있게 하였다. 전체 미토콘드리아 DNA를 이용하여 RFLP를 분석하였고 보다 자세한 분석을 위해서 플라스미드에 subcloning하여 보다 세밀한 제한효소지도를 작성하고 견사곤충간의 유연관계를 분석하고자 한다.

F816

*In situ hybridization*방법을 이용한 누에 유전자의 염색체 상의 위치 결정

이 혜정*, 서 동상
성균관대학교 생명자원과학대학 유전공학과

집누에(*Bombyx mori*)의 경우 다른 생물종과 달리 중기 염색체의 크기가 작고 갯수가 많으며 점모양으로 나타나기 때문에 염색체의 동정이 불가능하였으나, 감수분열 시기의 길이가 길고 특징적인 band pattern을 나타내는 태사기 염색체를 이용하여 핵형 분석을 시도하였다.

3령3일과 4령의 2일에서 3일째 유충의 정소로부터 염색체 표본을 작성하여 Giemsa 염색을 한 후 G-banding pattern과 각 염색체의 상대적 길이를 바탕으로 각 염색체의 특징을 도형화하여 나타낸 idiogram을 작성하였다. 현재 알려져 있는 누에의 특정 유전자 (*Bombyxin*, *Fibroin*, *Chorion gene*, 28S rDNA, 18S rDNA 등)와 전체 genome중 RFLP를 나타내는 DNA fragment를 probe로 이용하여 염색체에 *in situ hybridization*을 실시하여 특정 유전자의 염색체내 위치를 결정한다.

*In situ hybridization*방법은 probe를 biotin으로 표식하여 다단계의 immunoreaction을 통해 특정 유전자의 위치를 확인한다.

이런 일련의 실험과정을 통해 염색체내에 특정 유전자의 위치를 결정함으로 특정 유전자의 cytological map을 작성한다.