

형광다각체를 형성하는 재조합바이러스 제작 및 그 특성

강석우, 우수동¹, 윤은영, 구태원

농업과학기술원 잠사곤충부, ¹서울대학교 생명과학대학

생물체에서 유래한 유전자의 발현 분석이나 유용물질의 생산 도구로 곤충 배컬로바이러스 발현계가 많이 이용되고 있다. 그러나 재조합 배컬로바이러스에 감염된 곤충배양세포나 유충에서 발현된 외래 단백질은 각 기주의 발현 단백질과 혼재되어 있어 순수분리가 곤란할 뿐 아니라 발현산물의 양이 적거나 분자량이 작은 물질의 발현 여부를 검정하는데 상당한 어려움이 있다.

따라서 본 연구는 누에 핵다각체병 바이러스에 재조합된 외래유전자의 신속한 발현 여부 확인 및 순수분리가 용이하도록 다각체 형태로 발현 시키기 위해 pBml0 발현백터를 개량하였다. 이를 위해 pBml0 백터의 p10 프로모터 하류에 다각체 유전자의 1 ~ 110개 아미노산을 포함하는 부분 유전자를 PCR로 증폭한 후 클로닝 하였으며, 그 하류에 표지유전자로 GFP유전자를 연결하여 pBml0pol-GFP 백터를 구축하였다. 구축한 백터와 바이러스 DNA를 동시전이한 Bm5 세포를 형광현미경으로 관찰한 결과 일부 세포에서 형광 다각체 형성을 확인할 수 있었으며, 선발한 재조합 바이러스로부터 형성된 형광다각체는 형태 및 크기에 있어서 야생형 바이러스와 큰 차이가 없었다. 또한 순수분리한 형광다각체의 구성단백질을 SDS-PAGE로 분석한 결과 감염 세포에서는 31 kDa의 다각체, 27 kDa의 GFP 및 다각체와 GFP가 융합된 41 kDa의 단백질이 관찰된 반면 순수분리한 형광 다각체는 31 kDa의 다각체 및 41 kDa의 융합단백질이 관찰되었다.