C5. Isolation of wounding or low temperature inducible genes in *Glycin max*. L. (콩에서 스트레스에 유발되는 유전자 클로닝)

Seong-Whan Park, Kee-Young Kim, Ja-Woong Kim, Min-Ho Hwang, Young-Soo Chung, and Jai-Heon Lee[*1)]

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714

실험목적

스트레스 처리에 의해 유발되는 유전자들을 분리하여, 그 특성을 밝히고, 농업적으로 유용한 유전자를 클로닝하여, 고 기능성물질 함유 대두 개발을 목적으로 함.

재료 및 방법

공시재료 : 신팔달2호

RNA 분리 : 처리후 0, 3, 6, 12, 24시간째 채취한 잎으로부터 분리

SSH : Clontech PCR-select cDNA subtraction kit를 이용

결과 및 고찰

○ SSH 방법을 이용하여 2000여개의 wounding-inducible 또는 low temperature inducible clone을 확보하였고, Dot blot hybridization을 통해 이들로부터 50개의 wounding inducible gene과 100개의 low temperature inducible gene을 선별하였다. 이들의 염기서열을 분석하여 database search를 통해 각 유전자들의 기능을 유추하였다.

○ W23 clone (heat shock-like protein homologue)은 상처 처리 후 3시간에서 6시간 사이에 강하게 발현되며 salt처리에 의해서도 강하게 발현 유도 되었다.

○ W51 clone(cytokinin-repressed protein CR9 homologue)은 상처 처리 후 6시간 전후에 강하게 발현되며, 건조 처리 시에도 발현이 유도되었다.

○ W114 clone(lipoxigenase L-5 homologue)은 systemic wounding 처리 잎에서만 특이적으로 발현이 유도되었다.

○ W143 clone(DFR-like protein homologue)은 일주기에 따라 발현이 조절되며, 건조와 salt처리에 의해 발현이 유도되었다.

○ Low temperature inducible gene에 대한 northern분석과, 각 clone들의 full sequence를 얻기 위한 RACE 실험이 현재 진행 중에 있다.

1) 연락처 전화 : 051-200-7592 E-mail: jhlee@mail.donga.ac.kr

Table 1. Wounding inducible clones

Clone #	Homology to (% identity)	Clone #	Homology to (%identity)
W12	pathogenesis related protein [H. vulgare] (48%)	W157	CCAAT-binding transcription factor subunit B [N. tabacum] (70%)
W23	heat shock-like protein [P. glauca] (45%)	W179	Similar to receptor-like serine/threonine kinase [A. thaliana] (50%)
W33	beta-amyrin synthase [G. glabra] (93%)	W244	Pentameric polyubiquitin [N. tabacum] (98%)
W37	Zinc metallothionein class II homolog [P. hybrida] (40%)	W274	Vegetative storage protein [G. max] (98%)
W51	Cytokinin-repressed protein CR9 [C. sativus] (74%)	W313	Retrovirus-like element calypso2-2 [G. max] (93%)
W86	putative alanine aminotransferase [A. thaliana] (74%)	W320	Retroelement diaspora gag-pol polyprotein [G. max] (85%)
W107	Proline-rich protein [A. thaliana] (42%)	W328	Cell wall protein (SbPRP3) precursor [G. max] (100%)
W114	Lipoxygenase L-5 [G. max] (84%)	W463	Nodulin-26 [G. max] (93%)
W123	Oligouridylate binding protein [N. plumbaginifolia] (61%)	W646	Putative glycine dehydrogenase [A. thaliana] (93%)
W139	Acyl-CoA synthetase [B. napus] (62%)	W732	Histon H2A [A. thaliana] (96%)
W143	Dihydroflavonol 4-reductase-like [A. thaliana] (67%)		

Table 2. Low temperature inducible clones

Clone #	Homology to (% identity)	Clone #	Homology to (%identity)
LT3	Putative retroelement pol polyprotein [A. thaliana] (33%)	LT211	p80 TNF-alpha receptor [M. musculus] (44%)
LT39	Vegetative storage protein [G. max] (96%)	LT216	ATPase a subunit [L. japonicus] (94%)
LT50	Retrovirus-like element Calypso2-1 [G. max] (87%)	LT222	Cytochrome P450 CYP93D1 [G. max] (64%)
LT66	Cold stress protein SRC1 [G. max] (85%)	LT248	RNA helicase, putative [A. thaliana] (73%)
LT80	Putative transposase [Oriza sativa] (45%)	LT253	Nodulin-like protein [A. thaliana] (56%)
LT98	Putative ABC transporter [A. thaliana] (81%)	LT258	Glycolate oxidase [L. esculentum] (88%)
LT100	eEF-1a [G. max] (97%)	LT375	Nonsymbiotic hemoglobin [G. max]
LT108	Putative senescence-associated protein [P. sativum] (97%)	LT383	Putative MYB family transcription factor [A. thaliana] (51%)
LT110	Acetyl CoA beta-carboxyltransferase subunit [G. max] (97%)	LT410	Granule-bound starch synthase [P. frutescens] (82%)
LT114	Metalloproteinase [G. max] (36%)	LT479	Fructose-bisphosphatase [P. sativum] (98%)
LT121	Retroelement pol polyprotein-like [A. thaliana] (82%)	LT629	Cold stress protein Peaci11.8 [P. sativum] (74%)
LT171	Rubisco activase [M. domestica] (91%)	LT667	Nodulin-26 [G. max] (93%)
LT182	l-asparaginase [A. thaliana] (91%)	LT731	Translation elongation factor EF-G [G. max] (99%)
LT199	Phloem specific protein [V. faba] (36%)		
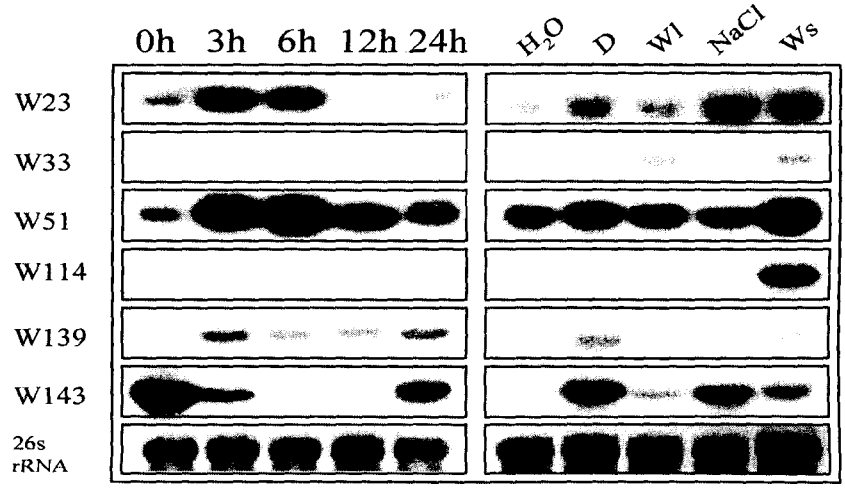
Figure 1. Northern blot analysis of wounding inducible genes.