

천연기념물 어름치 (*Hemibarbus mylodon*)로부터 발현 유전자의 탐색 및 발굴

방인철¹, 조영선, 최별님, 이상윤, 김동수, 남윤권*

순천향대학교 생명과학부¹, 부경대학교 양식학과

서 론

우리나라의 수계와 같이 단위 면적당 다양한 생물상을 보유하고 있는 경우 신규 유전자 자원의 활용이라는 측면에서 매우 중요시되나 최근 유전자원의 체계적인 관리 부재와 날로 악화되는 환경 파괴등으로 인해 우리나라 담수 생물자원의 다양성은 급감하고 있으며 가까운 미래에 일부 멸종위기종 유전자원의 지속적인 활용이 문제시된다. 따라서 수해양생물종 다양성 보전을 위해, 특히 현재 멸종 위기종 및 보호종을 중심으로 한 체계적인 장내 및 장외 복원 및 보전 전략이 반드시 요구되며 특히 장외 복원의 경우 생물체 자체를 유지/보존활용하는 전략과 함께 이들이 보유하고 있는 유용 유전자(체) 소재를 발굴, 필요시 이들의 활용을 가능케 하는 기반 기술이 확보되어야 한다. 이에 본 연구는 우리나라 고유 담수어류 유전자 banking의 일환으로 천연기념물 멸종위기종인 어름치로부터 유전자 소재를 대량 발굴하고 이들의 활용 기반을 정립하고자 하였다.

재료 및 방법

1) cDNA library 구축 및 평가

- 대상조직: 뇌, 신장, 소화관, 간, 근육
- cDNA library 제작: oligo d(T) priming
- cDNA library banking: amplified & excised stock
- cDNA library 평가: insert size, diversity 및 sacle

2) 염기서열 분석 및 생물정보 수집

- Random clone selection 및 5' single pass sequencing
- Sequence trimming & editing
- GenBank search (homology analysis and organism analysis)
- Functional clustering and contig analysis
- Database construction

결과 및 고찰

Contig의 size distribution을 조사하고 이로부터 abundantly expressed 클론 및 singleton들의 조직내 및 조직간 발현 양상을 분석하였다. 조직별로 singleton의 %는 49.6 (muscle)에서 95.3 (brain)으로 다양하게 나타남으로써 brain, intestine 및 kidney에서 비교적 높은 diversity를 보인 반면 liver와 muscle에서는 특정 유전자들의 중복 검출 빈도가 높게 나타나 normalization의 필요성이 관찰되었다. 전체 얻어진 클론의 분석결과를 통합하여 상동성 별로 재배치 시켰을 때 no-match 및 낮은 상동성을 보이는 (e-values > 10^{-10})이 36.6%를 차지하였고 e-values < 10^{-100} 이상인 클론들의 경우 19.6%를 차지하는 것으로 나타났다. 또한 각 EST 클론 분석 결과에 의해 best-matched 유전자들의 organism분석을 수행한 결과 어류 유전자들의 51.3%는 fish orthologues와 가장 높은 homology를 보였고 그 외 human (3.5%) 및 기타 포유류 (4.1%)와도 best-matched 상동성을 나타내었다. BALST 검색을 통해 얻어진 best matched 유전자 (BALSTx)에 대해서 functional clustering을 수행하였다. Clustering을 위한 category는 4개의 대분류 (I) Information Storage and Processing, (II) Cellular Processes, (III) Metabolism 및 (IV) Poorly Characterized로 구성하여 다음과 같이 하위 분류에 속하는 유전자들을 대분류 category에 넣어 library별 양상을 분석하였다. 그 결과 뇌 (brain) 조직으로부터 발굴된 EST는 I (28%), II (33%), III (17%) 및 IV (22%)로 나타나 no match or poorly matched sequence들을 제외할 때 category II에서 속하는 transcript들이 가장 많이 발현하고 있음을 알 수 있었다. 반면 intestine 및 kidney library 역시 유사한 양상을 나타내었으나 II (cellular process) 항목 뿐만 아니라 III (metabolism)에서도 높은 빈도의 유전자 발현이 이루어지고 있음이 관찰되었다. 그러나 liver 조직의 경우 절반 이상의 transcript들이 metabolism에 해당하는 III 항목에서 가장 높은 빈도로 유전자가 발현하고 있어 본 조직이 다양한 생물 대사와 관련하고 있는 특징을 잘 나타내고 있다. 또한 근육 (muscle) 조직의 경우 근육의 주 성분을 이루는 cytoskeleton들의 발현과 에너지 공급을 위한 creatine kinase 발현이 유의적으로 높게 나타남으로써 II 및 III 항목이 I 및 IV에 비해 유의적으로 높은 발현 비율을 보임으로써 근육 조직의 특징을 잘 반영하고 있다.