

참돔 lipoprotein lipase 유전자의 silent point mutation polymorphism

°장요순, 홍경표, 노충환, 명정구, 김종만
한국해양연구원 해양생물자원연구본부 바다목장센터

서론

Lipoprotein lipase (LPL)는 lipid 및 lipoprotein metabolism에 있어 중요한 regulator로서, 모든 조직에서 합성되고, 조직특이적인 방법으로 지방 및 에너지 대사에 관여하며, 비만과 동맥경화 발생에 작용하는 것으로 알려져 있다. 포유류, 조류 및 어류의 LPL 유전자가 밝혀졌으며, 사람의 LPL 유전자는 전체 30 kb에 걸쳐 10개의 exon과 9개의 intron으로 구성되어 있고, 448개의 아미노산을 암호화 한다. 참돔의 LPL 전체 유전자는 약 6.3 kb 크기로, 511개의 아미노산을 암호화하며, 10개의 exon과 9개의 intron으로 구성되어 있는 것으로 보고 되었다. 사람의 LPL 유전자에 관한 연구가 활발하며, 비만 등 metabolic syndrom과 관련이 있는 LPL 유전자내의 다형성이 보고 된 바 있다.

본 연구는 어류의 근육성장에 관여하는 유전자를 규명하기 위한 기초연구로 지방 및 에너지 대사에 관여하는 유전자 중 LPL 유전자를 후보 유전자로 선정하여 다형성을 분석하였으며, 한국산 참돔과 일본산 참돔을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

실험 재료는 통영 가두리에서 사육중인 한국산 참돔 및 일본산 참돔의 혈액을 이용하였다. 참돔에서 혈액을 채혈하여 0.5M EDTA와 혼합한 후, Blin 및 Stafford의 방법을 다소 변형하여 genomic DNA를 분리하였다. 참돔의 LPL 유전자를 증폭하기 위한 primer를 Oku 등이 발표한 LPL 유전자 (GenBank Accession No. AB054063) 염기서열을 토대로 제작하였으며, genomic DNA 50ng, LPL-1451U (5'-AGGAGATACTACGTATCACG-3')와 LPL-2541L (5'-TATCTGCACTTTATGACTC-3') primer 및 TaKaRa EX TaqTM DNA polymerase (TaKaRa Co., Japan) 0.5U을 사용하여 증폭하였다.

PCR 산물에 제한효소 *Msp* I 및 *Alu* I을 첨가하여 전체 반응액을 10 μ l로 조정된 후, 37°C에서 3시간 반응시켰다. 제한효소에 의해 절단된 DNA 단편을 확인한 후, 유전자형 및 대립유전자 빈도를 분석하였다. pGEM[®] T-easy Vector System을 이용하여 PCR 산물을 cloning하였고, BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit을 사용하여 염기서열을 결정하였으며, DNASTAR (DNASTAR, Inc., USA) softwear를 이용하여 분석하였다.

결과 및 요약

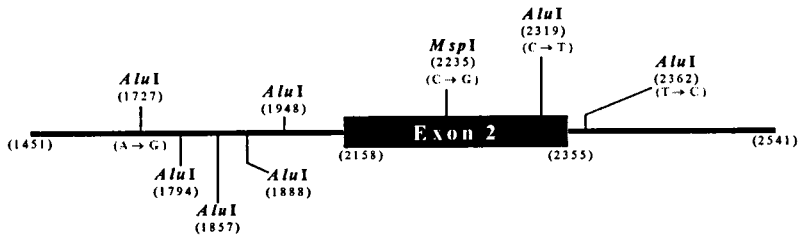


Figure 1. The diagram outlines the partial genomic structure of the red sea bream *LPL* (lipoprotein lipase) gene including parts of intron 1, exon 2 and intron 2 as amplified by PCR.

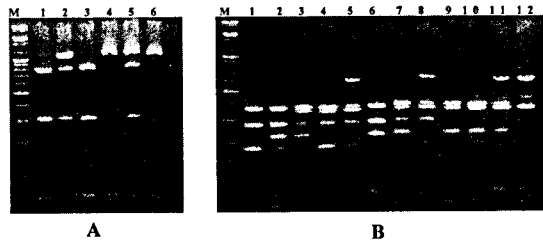


Figure 2. PCR-RFLP patterns in intron 1, exon 2 and intron 2 of the red sea bream *LPL* gene. (A) *Msp* I PCR-RFLP analysis. (B) *Alu* I PCR-RFLP analysis.

GT	AAC	TTC	CTC	GAC	CCT	CTG	AAA	GAC	TTG	ATT	GAA	CAC	AAG	GAT	GAC	GCC
	N	F	L	D	P	L	K	D	L	I	E	H	K	D	D	A
AAT	CAA	ACC	GTT	GCC	AAA	TTC	TCC	CTC	CGG	AAA	CCG	TCC	CAT	CCT	GAT	GAC
	N	Q	T	V	A	K	F	S	L	R	K	P	S	H	P	D
GAC	CTG	TGC	TAC	ATC	GTT	CCT	GGC	AAA	CCT	GAC	TCC	CTG	GCA	GCC	TGC	ACC
	D	L	C	Y	I	V	P	G	K	P	D	S	L	A	A	C
TTC	AAC	AGC	TCC	TCC	AAA	ACC	TTC	CTA	GTG	ATC	CAC	GGA	TGG	ACG		
	F	N	S	S	S	K	T	F	L	V	I	H	G	W	T	

Figure 3. Nucleotide sequence and deduced amino sequences of exon 2 of the red sea bream *LPL* gene.

참고문헌

- Blin, N. and Stafford, D. W. 1976. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acids Res.* 3: 2303-2308.
- Oku H, Ogata HY, Liang XF. 2002 Organization of the lipoprotein lipase gene of red sea bream *Pagrus major*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 131(4):775-785.