

(05-1-86)

배(*pyrus*) 수송당 sorbitol의 합성과 분해관련 효소인 sorbitol-6-phosphate dehydrogenase(S-6-PDH) 및 nicotinamide adenine dinucleotide sorbitol dehydrogenase(NAD-SDH)의 gene cloning

Hwa Young Kim, Jun Cheul Ahn^{1,2}, Baik Hwang

Department of Biology, Chonnam National University, Gwangju, 500-757, South Korea

¹ Department of Life Sciences, Seonam University, Namwon, South Korea, ² SMBIO, Gwangju

Objectives

배(*pyrus*)의 품종인 신고와 황금에서의 주요당인 잎에서의 sorbitol 합성에 관여하는 key enzyme은 sorbitol-6-phosphatedehydrogenase(S-6-PDH)이고, 과실 내 당축적 및 대사조절에 관여하는 key enzyme은 Nicotinamide adenine dinucleotide sorbitol dehydrogenase (NAD-SDH)분해 및 합성을 조절하는 key enzyme(잎에서의 sorbitol 합성에 관여하는 key enzyme)을 gene cloning 하고자 실시하였다.

Materials and Methods

1. Material

Plant : 배(*pyrus*)의 품종인 신고와 황금(2005. 04. 21 에 채취 ; 나주배연구소)

Competent Cell : DH5

Vector : p-GEM-Teasy Vector

2. Methods:

RNA 추출방법 : RNeasy mini kit사용, Plant RNA Isolation Aid 사용

Gene cloning 방법 : pGEM-T Easy Vector에 ligation 후 DH5 에 transformation 후 sequencing

Results and Discussion

신고, 황금의 잎을 액체 질소를 이용해서 잘 마쇄한 다음 RNeasy mini kit를 이용하여 RNA를 추출하였다. 배에 있는 polysaccharide를 제거 하기 위해 Plant RNA Aid buffer를 첨가하여 추출한 결과 A260nm에서 신고의 RNA는 0.572 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 가 나왔고, 황금의 RNA는 1.175 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 가 나왔다.

그 결과, 신고와 황금 모두 cDNA를 합성하였고 gene homology가 가장 유사한 사과(*malus*)의 gene sequence을 이용하여 신고와 황금의 primer를 제작하였다. S-6-PDH는 cDNA RACE를 한 뒤 pGEM-T Easy Vector에 cloning 후 miniprep을 하여 p-DNA를 추출한 뒤 이를 sequencing을 하였으며, NAD-SDH는 *malus*와 *pyrus*의 gene을 비교하여 primer를 제작한 뒤 RACE 없이 PCR을 통해 full gene을 알아보게 되었다.