

신 바이오디젤 원료 작물인 *Camelina*의 cDNA library 제작 및 유전자 특성

박 원* · 장영석** · 안성주*†

*전남대학교 농업생명과학대학 바이오에너지 공학과, ** 국립식량과학원 바이오에너지작물센터

Construction and Characterization of a cDNA Library from the *Camelina sativa* L. as an Alternative Oil-Seed Crop

Won Park*, Young-Seok Jang**, and Sung-Ju Ahn*†

*Dept. of Bioenergy Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

**Bioenergy Crop Research Center, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Muan 534-833, Korea

ABSTRACT *Camelina sativa* L., known as popular names “gold-of-pleasure” or “false flax” is an alternative oilseed crop that can be grown under different climatic and soil conditions. Up to date, however, the genomic information of *Camelina* has not been studied in detail. Therefore, a cDNA library was constructed and characterized from young leaves. The constructed cDNA library incorporated of 1334 cDNA clones and the size of the insertion fragments average was 736 base pair. We generated a total of 1269 high-quality expressed sequence tags (ESTs) sequences. The result of cluster analysis of EST sequences showed that the number of unigene was 851. According to subsequent analysis, the 476 (55.9%) unigenes were highly homologous to known function genes and the other 375 (44.1%) unigenes were unknown. Remaining 63 (7.4%) unigenes had no homology with any other peptide in NCBI database, indicating that these seemed to be novel genes expressed in leaves of *Camelina*. The database-matched ESTs were further classified into 17 categories according to their functional annotation. The most abundant of categories were “protein with binding function or cofactor requirement (27%)”, “metabolism (11%)”, “subcellular localization (11%)”, “cellular transport, transport facilities and transport routes (7%)”, “energy (6%)”, “regulation of metabolism and protein function (6%)”. Our result in this study provides an overview of mRNA expression profile and a basal genetic information of *Camelina* as an oilseed crop.

Keywords : *Camelina sativa* L., biodiesel, expressed sequence tag, false flax, gold-of-pleasure, oilseed crop, cDNA library

현재의 에너지 소비율이 지속된다면 전 세계에 매장된 화석 연료의 양은 2050년에 거의 고갈될 것으로 추정된다 (Demirbas, 2009; Saxena *et al.*, 2009). 이러한 염려와 더불어, 지구온난화와 환경오염, 급속한 도시화, 인구 증가 그리고 높아진 삶의 질은 인류로 하여금 대체 에너지를 위한 자원 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있으며, 재생가능하고 지속할 수 있는 친환경적인 에너지 생산 개발이 시급하다 (Patil *et al.*, 2009). 그 중에서 식물에서 추출한 기름은 자연적으로 재생가능하고 친환경적이며, 수입하지 않고 자국에서도 생산될 수 있기 때문에 잠재성이 있는 대체 에너지로 급부상하고 있다.

양구슬냉이 (*Camelina sativa* L.)는 십자화과에 속하는 고대 작물로서, 유럽에서는 ‘false flax’ 또는 ‘Gold-of Pleasure’ 이라고 불려지고 있고, 고고학적 발굴에 따르면 선사시대 이후부터 기름을 생산하기 위해 재배되어 왔으며, 19세기부터는 유럽과 러시아에서 광범위하게 재배되었다(Knogerger, 1978). 그러나 밀, 유채 등과 같은 작물이 재배되기 시작하면서 양구슬냉이의 재배는 쇠퇴하기 시작하여 제2차 세계 대전 이후에는 거의 재배되지 않았으며, 그 후로는 잡초로 취급되었다(Zubr, 1997). 하지만 최근에는 유럽과 북아메리카에서 양구슬냉이의 관심은 다시 새로워 지고 있다. 그 이유는 양구슬냉이의 짧은 생육기간(성숙기 까지 약 80일)과, 재배 시 질소 요구도가 매우 낮아 유채나 옥수수 그리고 콩 등과 같은 다른 기름 작물에 비해 상대적으로 생산 비용이 적게 요구되기 때문에 경제적인 가치가 있어 바이오 연료 작물로서 적합하다. 양구슬냉이의 기름성분은 90% 이상이 불포화지방산으로, 필수 다중불포화 지방산(linoleic acid, 18:2n-6, α-linolenic acid, 18:3n-3)이 전체 지방산의 50%를

†Corresponding author: +82-62-530-2052

(E-mail) asjsuse@chonnam.ac.kr <Received April 21, 2010 >

차지하며, linolenic acid는 지방산 중 가장 많은 양(35-40%)를 차지한다고 알려져 있다. 그러므로 양구슬냉이 기름은 인간의 영양적인 면과 화장품과 같은 피부용품의 제조 원료로서 Ω -3 지방산의 가장 좋은 생산원료인 것이다(Pilgeram *et al.*, 2007; Zubr, 1997). 그러나 높은 함량의 다중불포화 지방산이 기름의 산화에 더욱 민감하게 만들어서 바이오 디젤연료에 좋지 않은 영향을 끼칠 수도 있다.

양구슬냉이는 넓은 기후 범위에 적응하는 작물임에 불구하고 양구슬냉이의 명확한 환경 스트레스에 대한 내성에 관한 지식이 부족하여 생산과 이용이 제한적으로 이루어지고 있다. 전통적으로, 십자화가 기름작물들은 육종이나 생명과학기술을 통해 유전적 향상을 이끌어 왔다 (Downey & Craig, 1964; Kinney, 1996; Lu, C. & J. Kang, 2008). 이러한 연구를 양구슬냉이에 적용하기 위해서는 유전자 정보를 알아내는 것이 무엇보다 중요하다. 흥미롭게도 양구슬냉이에 대한 유전자 정보는 거의 알려진 것이 없다. 2010년 2월까지 GenBank에 등록된 양구슬냉이의 유전자수는 14개에 불과하고, 이들 역시 대부분 부분 유전자에 관한 정보이다. 우리가 알고 있는 지식으로는 양구슬냉이 유전자 전체에 관한 연구는 아직 시작되지 않고 있다고 볼 수 있다.

현재 자동염기서열분석장치를 이용하여 단시간 내에 대량의 유전자 분석이 가능해짐에 따라 동·식물의 특정 기관이나 성장 단계별 Expressed Sequence Tags(EST) 분석이 성행하고 있다(Hua *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2009). 이 EST는 일반적으로 poly (A)+ RNA로부터 얻어진 150 bp 이상의 cDNA 단편 염기서열을 일컬으며, 'single-pass sequence reads' 방식으로 얻어진 각 clone에 대한 부분염기서열은 대개 300~500 bp 정도로 짧다 (Adams *et al.*, 1991; Boguski *et al.*, 1993; Hays & Skinner, 2001). 이러한 EST는 발현된 유전자의 exon 부위만을 포함하기 때문에 게놈 염기서열의 주석, 발생 단계별 또는 특정 조직에 관련된 유전자의 선별 및 분석에 효과적으로 이용된다(Adams *et al.*, 1992; Uchimiya *et al.*, 1992; Boguski *et al.*, 1995; Park *et al.*, 1993; White *et al.*, 2000). EST 또는 기타 부분유전자는 분자육종이나 유용물질의 생산에 직접 이용할 수 없으나 부분유전자 정보를 이용하여 다시 전체유전자를 클로닝할 수 있으며 분자육종, 분자생물학, 분자유전학 관련 분야의 연구에 활용할 수 있다는 장점이 있다.

본 연구는 양구슬냉이의 분자생물학적 연구의 기초 자료를 제공할 목적으로 잎의 mRNA로부터 cDNA를 합성하여 library를 구축하였고, 각 clone에 대한 부분염기서열을 토대로 유전자의 기능을 분류하였으며, 양구슬냉이에 대한 연구의 다양한 유전적 자원을 제공하고자 수행되었다.

재료 및 방법

식물 재료 및 생장 조건

양구슬냉이 (*Camelina sativa* L., Crant) 종자를 코코피트, 피트모스, 펄라이트, 지오라이트 와 6:1:1:1로 혼합된 바이오베스트상토(홍농종묘)를 담은 포트에 심었다. 그 포트를 4°C 에서 1일 동안 춘화처리를 한 후, 장일조건, 즉16/8-시간 낮/밤 주기로 200 μ mol m⁻²s⁻¹ 빛과 22 \pm 1°C 온도와 38 \pm 1% 습도가 유지되는 생육 챔버로 옮겨 재배하였다. 4주된 양구슬냉이의 잎을 채취하여 즉시 액체질소로 급속 냉동 후 -80°C 저온 냉동고에 보관하거나 바로 실험에 사용하였다.

RNA분리와 cDNA 라이브러리 제작

장일조건에서 4주간 자란 양구슬냉이의 잎으로부터 total RNA를 Plant RNeasy Mini kit(Qiagen)을 사용하여 추출하였다. 추출한 RNA에 RNase-free DNase-I (Ambion, Austin, TX)을 설명서에 따라 37°C에 45분간 처리하여 남아있는 DNA를 제거하였다. 그리고 RNA의 질과 농도는 NanoDrop (ND-1000) UV-Vis 분광광도계로 측정하였고 1%의 agarose gel을 사용한 전기영동으로 확인하였다. mRNA는 PolyA Tract mRNA Isolation Systems IV (Promega, Madison, WI, USA)을 사용하여 분리, 정제하였고, ZAP-cDNA synthesis kit (Stratagene, La Jolla, USA)을 사용하여 3.3 μ g의 mRNA로부터 이중가닥 cDNA는 합성되었다. 무딘 이중가닥의 cDNA 말단에 EcoRI adapters을 연결시킨 후, 그 끝은 인산화시켰다, 그리고 제한 효소인 *Xho*I으로 절단하였다. 절단된 cDNA의 크기를 0.5~4Kb로 분별하여 미리 동일한 제한효소로 절단된 Uni-ZAP XR vector에 연결하였다. cDNA 절편들이 연결된 vector들은 Gigapack Gold Packaging Extract (stratagene)을 이용하여 packaging을 수행하였으며, cDNA library의 농도를 측정하고 증폭한 후 cDNA의 삽입 효율을 계산하였다. DNA 염기서열 분석을 위해, mass excision을 수행하였고 증폭된 phage library로부터 삽입된 cDNA들은 SOLR 대장균(Stratagene)에 pBluescript phagemid로 복구되었다.

DNA 염기서열 결정 및 데이터 분석

cDNA library 클론들은 100 μ g/ml의 ampicillin항생제가 첨가된 LB 플레이트에서 배양되었다. 그 클론들을 무작위로 선택하여 ampicillin이 첨가된 1ml의 LB media 96-well 마이크로티터 플레이트로 옮겼다. 그리고 220rpm으로 37°C에서 12~16시간 배양하였다. 플라스미드 DNA는 QIAprep 96 Turbo Miniprep Kit (Qiagen)을 사용하여 분리하였다.

DNA염기서열은 ABI PRISM BigDye Terminator Kit (Applied Biosystem)와 자동 대량 염기서열분석 시스템(ABI PRISM 3730 DNA Analyzer)을 이용하여 ‘single-pass sequence reads’ 방식으로 얻었다. 이러한 염기서열 중 200bp보다 적거나 poor quality의 염기서열과 벡터서열을 제거한 클론의 부분 염기서열정보를 수집하여 분석하였다. 부분 염기서열들을 TIGR Assembler 프로그램을 이용하여 전체 클론을 그룹화 (clustering) 한 후 고유염기서열을 가진 유전자(unigene)를 분석 하였다 (Huang & Madan, 1999). 그 결과, 그룹화 된 유전자들은 consensus 서열로 contig을 형성하고 그룹화되지 않은 유전자들은 single 서열로 singleton을 형성하였다. 전체 유전자들은 비-중복 (non-redundant) protein database (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에 BlastX 프로그램을 이용하여 유전자의 염기서열에 해당하는 단백질의 상동성을 비교 분석하였다. 또한 contig 유전자들과 singleton 유전자들을 MIPs FunCat database를 이용하여 유전자들을 기능별로 분류하였다.

결과 및 고찰

양구슬냉이의 잎조직으로부터 분리한 RNA의 agarose gel (1%)에 전기영동을 실시하였고, 18S와 28S의 밴드가 깨끗하게 나타나는 것으로 보아, 잎 조직으로부터 분리된 total RNA의 질이 높다는 것을 알 수 있다. 또한 Nano Drop (ND-1000) UV-Vis 분광광도계로 측정된 total RNA의 농도는 평균 661.5 ng/μl이었다(Fig. 1). PolyAtract mRNA isolation 시스템을 이용하여 분리 된 mRNA의 농도를 체크한 결과 83.2 ng/μl으로 나타났고, 총 3.3 μg의 mRNA을 이용하여 cDNA library을 합성한 농도는 2 × 10⁵ cfu/ml이었으며, 삽입 효율은 94%을 나타냈다. 전체에서 1,334개의 cDNA클

론들을 선택하여 각각의 클론에 대한 염기서열을 자동 대량 염기서열분석시스템을 이용하여 5’ end single-pass sequencing 방식으로 분석하였다. 그 결과 1,269개의 high-quality EST (>200 bp)서열을 얻게 되었다. 이러한 염기서열의 평균 길이는 736 bp 이었으며, 전체 클론을 singleton과 contig로 분류하였을 때 평균 염기서열은 전자가 730 bp이었고 후자는 814 bp이었다 (Table 1). Contig의 평균염기서열이 전체 클론이나 singleton 평균 염기서열보다 더 큰 것은 unigene 선발 시 대부분의 짧은 염기서열이 contig의 consensus서열로 그룹화되어 배제되었기 때문으로 보인다(Huang & Madan, 1999).

cDNA의 삽입절편들의 크기는 16개의 콜로니를 무작위로 선별하여 벡터에 연결부위에 있는 제한효소 *EcoRI*과 *XhoI*로 절단하여 약 0.5~4.0kb인 것을 확인하였다 (Fig. 2). 이것은 cDNA library에 절편들이 잘 삽입되었다는 것을 나타내고 있는 증거이다. 이러한 결과들은 또한 양구슬냉이의 cDNA library가 EST 분석을 위해 필요한 요구조건을 충분히 갖추고 있다는 것을 지지해 주고 있다(Yang *et al.*, 2009). 또한 EST 분석을 통해 풍부하게 발현되고있는 유전자들을 확인할 수 있었다. 우리는 1,269의 EST중에 가장 풍부하게 발현된 (복제 수 ≥ 7) 14개의 EST 유전자를 찾았다. 이들은 전체 EST에 18%에 해당되었고, 이들 가운데 RuBisCo subunits과 광합성 관련 유전자들이 전체 EST의 15% 로 나타났다 (Table 3). 이 결과는 CO₂ 고정과 광합성이 영양생장시기에 양구슬 냉이의 잎의 발육에 있어 가장 활발히 작동하는 생리적인 기능이라는 것을 알 수 있다.

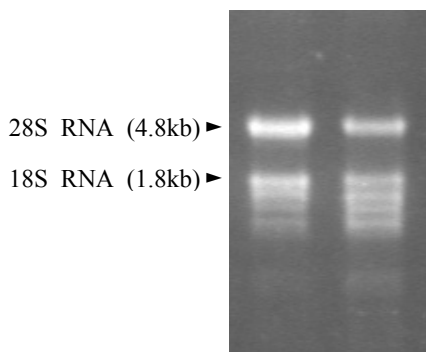


Fig. 1. Agarose gel (1%) electrophoresis of total RNA extracted from the leave of *Camelina*. Loading quantity is 1.3 μg.

Table 1. Summary of 1269 clones in the cDNA library of *Camelina sativa* L.

Sequence length	(unit : number)		
	Maximum	Minimum	Average
674 singleton of unigene	983	200	730
177 config of unigene	1538	292	814
1269 clone of total clone (>Minimum Length : 200)	985	203	736

Table 2. Levels of homology of 476 putative function unigene matched to GenBank protein database.

Levels of homology	(unit : number)		
	Singleton	Contig	Total
Strong (E-value<10 ⁻¹)	361	108	469
Good 10 ⁻¹ ≤ E-value ≤ 10 ⁻⁵	5	2	7
Total	366	110	476

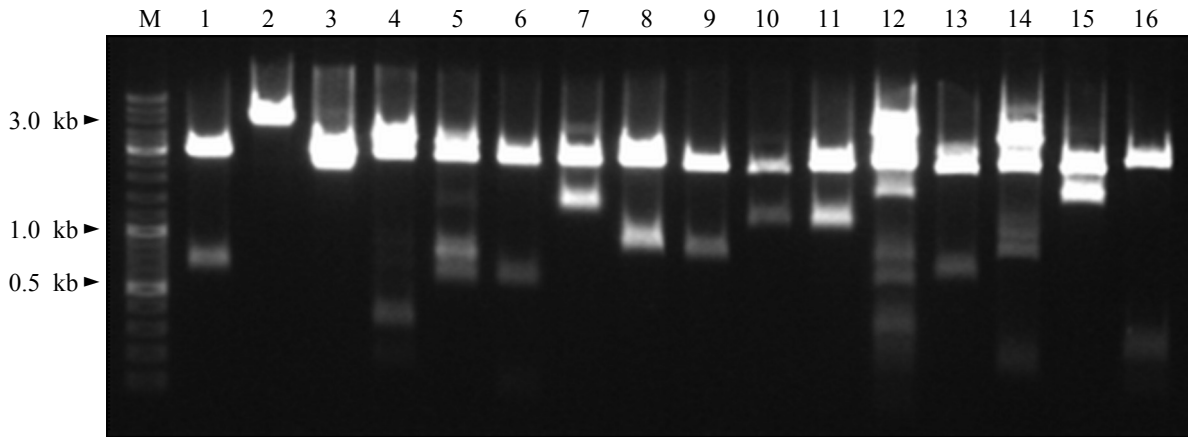


Fig. 2. Insert size determination of 16 plaques from randomly picked and insert DNA are digested with *EcoRI* and *XhoI*. M, 3.0 kb DNA ladder.

Table 3. Abundant ESTs found in *Camelina* cDNA library. Functions of 1269 clones matched to GenBank protein database.

Genes (Accession number)	Functional annotation (E-value<10 ⁻⁴)	Matching organism	Number of ESTs ^z
NP_176880.1	RBCS1A (ribulose-bisphosphate carboxylase small chain 1A); copper ion binding / ribulose-bisphosphate carboxylase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	80
ABB51649.1	Chloroplast ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit precursor	<i>Brassica napus</i>	17
CAB52747.1	Photosystem I subunit III precursor	<i>Arabidopsis thaliana</i>	16
NP_194953.1	ATP synthase family	<i>Arabidopsis thaliana</i>	15
BAB02160.1	Unnamed protein product	<i>Arabidopsis thaliana</i>	15
AAS65454.1	Chloroplast carbonic anhydrase precursor	<i>Thlaspi caerulescens</i>	11
NP_174486.1	PRK (phosphoribulokinase; ATP binding / phosphoribulokinase/ protein binding	<i>Arabidopsis thaliana</i>	11
NP_198659.1	Ribulose bisphosphate carboxylase small chain 1B / RuBisCO small subunit 1B (RBCS-1B) (ATS1B)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	10
NP_974710.1	Fructose-bisphosphate aldolase, putative	<i>Arabidopsis thaliana</i>	10
NP_178025.1	PSBR (photosystem II subunit R)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	9
AAB33010.1	Crambin precursor=thionin variant Thi2Ca11 [seeds, Peptide Partial, 130 aa]	<i>Crambe abyssinica</i>	9
NP_175963.1	PSAG (Photosystem I subunit G)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	8
NP_190331.3	LHCA4 (Light-harvesting chlorophyll-protein complex I subunit A4); chlorophyll binding	<i>Arabidopsis thaliana</i>	7
AAN31832.1	Putative chloroplast translation elongation factor EF-Tu precursor	<i>Arabidopsis thaliana</i>	7
NP_001077934.1	Unknown protein	<i>Arabidopsis thaliana</i>	7
Total			232

^z Number of ESTs : assigned to the same gene functions.

mRNA로부터 합성된 cDNA library 클론의 수는 mRNA의 종류와 특정유전자의 transcription 수준에 따라 달라지

므로 발견되는 유전자의 종류와 기능을 정확히 알기 위해서는 고유한 염기서열을 가진 cDNA library의 unigene 수를

알아야 한다(Huang & Madan,1999). 이를 위한 상동성 조사에는 high-quality인 1,269개의 EST 서열들만 TIGR assembler 프로그램을 이용하여 EST 클러스터를 실시한 결과, Fig. 3(A)에서 보는 것과 같이 674 개의 singleton과 나머지 595 개의 클론에서 얻어진 177개의 contig 즉, 851개의 unigene만을 사용하였기 때문에 몇몇 작은 염기서열 또는 벡터 서열을 가지고 있는 클론을 제외하고는 NCBI의 BlastX프로그램으로 상동성을 조사하여 기능을 추정하기에 충분한 분석결과를 나타내었다 (Hays & Skinner, 2001; Franco *et al.*, 1995; Yang *et al.*, 2009).

Unigene의 79%에 해당하는 singleton 서열을 가진 유전자들은 contig를 형성한 유전자에 비해 낮은 수준으로 전사된 유전자들이라고 할 수 있다. 따라서 이 것들은 영양생장

시기에 양구슬냉이의 잎의 발육에 있어 기초적인 대사에 관여하는 유전자들이라 할 수 있다. 그러나 contig을 형성하는 유전자들은 2개 이상의 클론의 서열들이 중복되어 복제된 것들이기 때문에 singleton의 유전자들 보다 높은 수준으로 전사된 유전자들이라 할 수 있으므로 (White *et al.*, 2000), unigene의 약 21%에 해당하는 contig 유전자들은 영양생장에 양구슬냉이의 잎에서 발현되는 중요한 생리작용과 관련된 유전자들이라고 볼 수 있다.

총 851개의 unigene의 기능을 추정하기 위해 NCBI database에 BlastX를 이용하여 GenBank에 등록된 유전자들과의 상동성을 검사한 결과, 674개의 singleton 중에 366와 contig 177중에 110개, 즉 총 476개의 unigene들은 GenBank에 기능이 알려진 유전자들과 고도의 상동성이 있는 것으로 나타

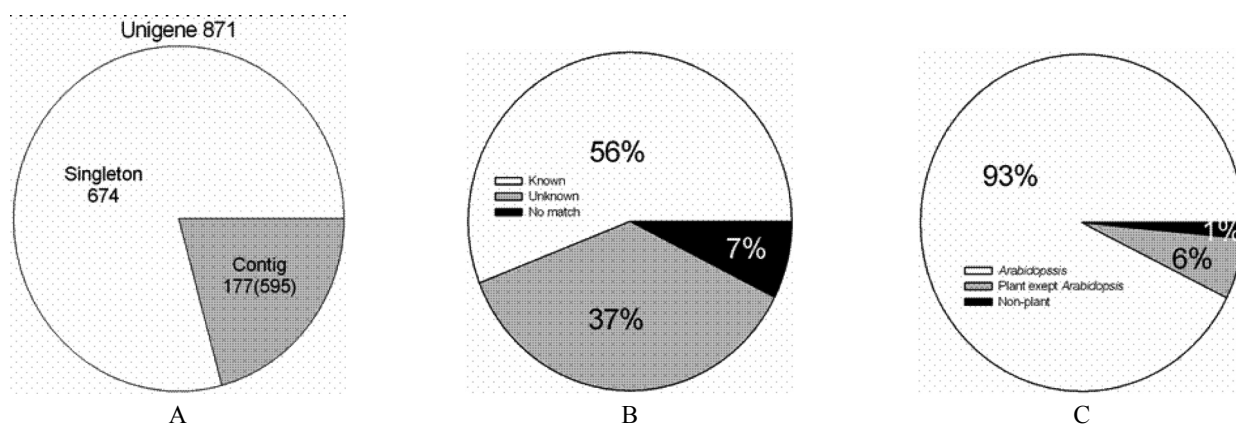


Fig. 3. Result of clustering the 1269 clones with TIGR assembler program (A), distribution of genes with known/unknown/no match function classified by BLASTX program of NCBI (B) and taxonomic distribution of genes with known function matched to NCBI database (C).

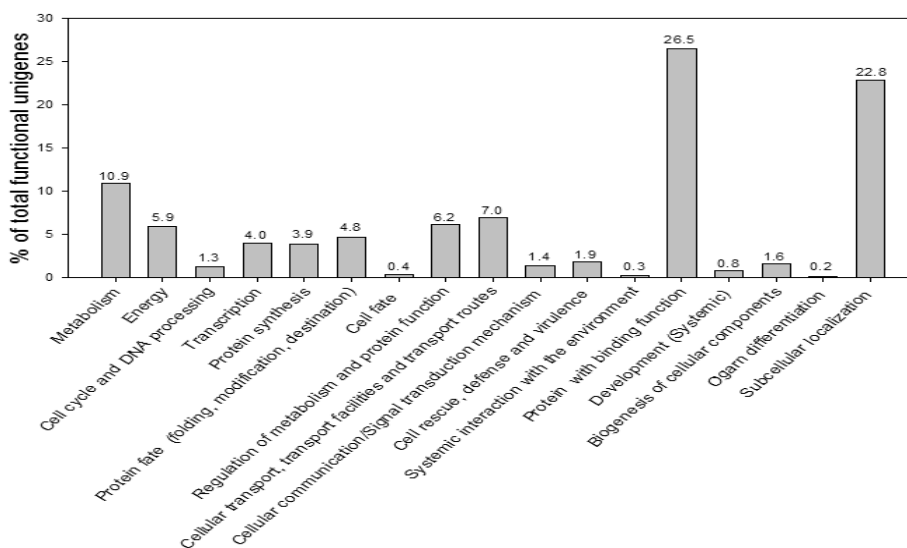


Fig. 4. The classification of genes with known functional annotation by MIPs FunCat database.

나 그 기능을 추정할 수 있었다. 그리고 singleton중 254와 contig 58개, 즉 총 312개의 유전자들은 GenBank에 등록은 되어 있으나 기능이 알려져 있지 않은 유전자들과 상동성을 보이는 것으로 나타났다 (Fig. 3B). 이 외의 singleton 54개와 contig 9개, 총 63개의 unigene들은 아직까지 GenBank에 등록된 어떤 유전자와도 상동성을 나타내지 않아 새로운 유전자인 것으로 사료된다(White *et al.*, 2000) (Fig. 3 C).

기능이 알려진 476개의 unigene의 상동성 조사 결과가 Table 2이다. 상동성의 수준은 Table 3에서 제시된 E-value 기준치로 평가하여 상동성의 수준을 분류 하였다. 그 결과, singleton와 contig 둘 다 98%가 E-value $<10^{-1}$ 으로 매우 높은 상동성을 나타내었고 나머지도 $10^{-1} \leq E\text{-value} \leq 10^{-5}$ 으로 높은 상동성을 나타내는 것으로 분석 되었다.

총 851개 중 기능이 알려진 476개의 unigene 가운데 약 93%인 441개는 GenBank에 등록된 모델식물인 애기장대와 높은 상동성을 나타내었고, 약 6%에 해당하는 28개의 유전자는 유채, 옥수수, 벼, 시금치, 무 등 다른 식물 유전자와 상동성이 높게 나타났다. 또한 약 1%인 7개 유전자는 곤충과 녹조류와 같이 다른 생물 유전자에서는 기능이 알려져 있으나 식물에서는 일치되지 않은 유전자였다. 이는 같은 기능을 하는 유전자일지라도 생물 종에 따라 작용하는 생리적인 기능은 다를 수 있다는 것(Kim, 2003)을 보여주는 결과로써, 비 식물체 유전자와 상동성이 높게 일치한 7개의 유전자가 아마도 양구슬냉이 작물의 새로운 기능을 하는 유전자일 것으로 기대된다.

NCBI 데이터베이스에 상동성을 보인 476개의 unigene들의 생리적인 기능분석은 17개의 기능별 카테고리를 Munich Information Center for Protein Sequences funcat database로 분류하였다(Mewes *et al.*, 1997,2002; Trail *et al.*, 2003). 그 결과, 결합 기능 또는 보조인자 요구 단백질(27%), 세포 소기관 위치(23%), 대사(11%), 세포수송과 수송기관 그리고 수송 경로(7%), 대사 와 단백질 기능의 조절(6%), 에너지(6%), 단백질의 접힘, 변형, 행선지(5%), 전사(4%), 단백질 합성(4%), 세포 회복 및 방어(1.9%), 세포구성요소의 생물발생(1.6%), 신호전달(1.4%), 세포주기와 DNA processing (1.3%), 조직 발달(0.8%), 세포 조직화(0.4%), 환경에 반응하는 조직의 상호작용(0.3%), 기관분화(0.2%) 순으로 카테고리가 결정되었다.

식물체의 전 생육기간 동안에 발현되는 유전자의 수는 대략 15000개에서 60000개 사이로 추정되고 있다(Flavell, 1980). 물론 앞에서 특이적으로 발현되는 유전자의 수는 약 6000개정도로 보고 있다(Goldberg, 1988). 현재 이 논문에서 제시한 ESTs 분석은 양구슬냉이의 앞에서 발현되는 유

전자의 약 20% 정도까지만 보여주고 있을지 모른다. 비록 그 유전자의 수가 적을지라도 이러한 분석결과는 양구슬냉이의 2차 대사나 환경 스트레스 내성 또는 바이오디젤 연료 작물과 같이 산업적인 이용에 있어서 분자 생물학적 연구에 이용할 수 있는 기초적인 정보를 제공할 수 있을 것이다. 우리가 알고 있는 한 현재까지 양구슬냉이 cDNA library로부터 유전자를 분석한 연구결과는 없었다.

앞으로 우리는 처음으로 제작한 새로운 바이오디젤 원료 작물인 양구슬냉이의 cDNA library로부터 분석된 유전자들의 명백한 기능과 역할을 밝혀내기 위하여 생화학적 그리고 생리적인 연구를 수행할 것이다.

적 요

지금까지 양구슬냉이의 유전정보는 거의 연구되지 않았으므로 우리는 양구슬냉이의 앞으로부터 cDNA library를 제작하고 발현유전자의 종류와 기능별 분류를 조사하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. cDNA library에서 1334개의 클론들을 얻었고 삽입된 단편들의 염기서열의 평균길이는 736bp였다. 우리는 1269개의 high-quality expressed sequence tags (ESTs) 서열을 얻었다. 이러한 EST의 클러스터 분석결과 고유 염기서열(unigene)을 가진 유전자의 수는 851개를 나타냈다.
2. Unigene 476개는 GenBank에 기능이 알려진 유전자들과 고도의 상동성을 나타내었다. 다른 375개의 unigene들은 기능이 알려지지 않은 것들이었다. 나머지 63개는 NCBI데이터베이스에 어떤 유전자와도 상동성을 보이지 않았고 이러한 유전자들은 아마도 양구슬냉이의 앞에서 발현되는 새로운 유전자일 것으로 보인다.
3. 데이터베이스에서 상동성을 나타낸 EST들을 기능별 주석에 따라서 17개의 카테고리로 분류하였다. 대표적으로 가장 분포도가 높은 카테고리는 결합 기능 또는 보조인자 요구의 단백질(27%), 대사(11%), 세포 소기관 위치 (11%), 세포수송과 수송기관 그리고 수송 경로(7%), 에너지(6%), 대사와 단백질 기능의 조절(6%) 등이 있다.

이러한 우리의 연구 결과는 양구슬냉이의 유용한 유전적 자원과 전반적인 mRNA 발현 정보를 제공해 줌으로써 대체 에너지 작물로 떠오르는 양구슬냉이의 다양한 분자적 연구에 기여할 것으로 사료된다.

사 사

이 연구는 농촌진흥청 연구사업과제 (과제번호: 201004010300390010600) 및 교육과학기술부 (2차WCU) 녹색에너지 기초기술 및 개발연구사업단 (과제번호: R312009000200250)의 연구비 지원에 의한 결과이며, 연구 지원에 감사드립니다.

인용문헌

- Adams, M., Kelley, J., Gocayne, J., Dubnick, M., Polymeropoulos, M., Xiao, H., Merril, C., Wu, A., Olde, B., and Moreno, R. 1991. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science*. 252(5013): 1651-1656.
- Adams, M.D., Dubnick, M., Kerlavage, A.R., Moreno, R., Kelley, J.M., Utterback, T.R., Nagle, J.W., Fields, C., and Venter, J.C. 1992. Sequence identification of 2,375 human brain genes. *Nature*. 355(6361): 632-634.
- Boguski, M.S., Lowe, T.M.J., and Tolstoshev, C.M. 1993. dbEST- database for expressed sequence tags. *Nat Genet*. 4(4): 332-333.
- Boguski, M. S. 1995. The turning point in genome research. *Trends in Biochemical Sciences*. 20(8): 295-296.
- Demirbas, A. 2009. Global renewable energy projections. *Energy Sources, Part B: Economics, Planning, and Policy*. 4(2): 212-224.
- Downey, R. and B. Craig 1964. Genetic control of fatty acid biosynthesis in rapeseed (*Brassica napus L.*). *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 41(7): 475-478.
- Flavell, R. 1980. The molecular characterization and organization of plant chromosomal DNA sequences. *Annual Review of Plant Physiology*. 31(1): 569-596.
- Franco, G.R., Adams, M.D., Soares, M.B., Simpson, A.J.G., Venter, J.C., and Pena, S.D.J. 1995. Identification of new schistosoma mansoni genes by the EST strategy using a directional cDNA library. *Gene*. 152(2): 141-147.
- Goldberg, R. 1988. Plants: novel developmental processes. *Science*. 240(4858): 1460-1467.
- Hays, D. and D. Skinner. 2001. Development of an expressed sequence tag (EST) library for *Medicago sativa*. *Plant Science* 161(3): 517-526.
- Hua, J., Park, J.Y., Hong, C.P., Jeong, Y.M., Shenkui, L., and Pyo, L.Y. 2003. Expressed sequence tags from a halophyte, *Leymus chinensis* cDNA library. 2003 한국육종학회 · 한국작물학회 공동학술 대회 요약집. pp. 171
- Huang, X. and A. Madan. 1999. CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Research*. 9(9): 868-877.
- Kim, D.H. 2003. Construction of a cDNA library from young fruits of satsuma mandarin and analysis of gene expression profiles. Master's degree thesis., Jeju National Univ., Jeju.
- Kinney, A. J. 1996. Designer oils for better nutrition. *Nat Biotech* 14(8): 946-946.
- Knorz KH. 1978. Evolution and spread of gold of pleasure (*Camelina sativa S.L.*). *Ber Dtsch Bot Ges*. 91:187-195
- Lu, C. and J. Kang. 2008. Generation of transgenic plants of a potential oilseed crop *Camelina sativa* by Agrobacterium-mediated trans formation. *Plant Cell Reports*. 27(2): 273-278.
- Mewes, H., Albermann, K., Heumann, K., Liebl, S., and Pfeiffer, F. 1997. MIPS: a database for protein sequences, homology data and yeast genome information. *Nucl. Acids Res*. 25(1): 28-30.
- Mewes, H.W., Frishman, D., Guldener, U., Mannhaupt, G., Mayer, K., Mokrejs, M., Morgenstern, B., Munsterkotter, M., Rudd, S., and Weil, B. 2002. MIPS: a database for genomes and protein sequences. *Nucl. Acids Res*. 30(1): 31-34.
- Park, M.R., Park, M.H., Yoo, N.H., Yu, C.Y., and Yun, S.J. 2005. Regulation of ascorbate peroxidase gene expression in response to stresses and Phytohormone in *Rehmannia glutinosa*. *Kor. J. Crop Sci*. 50(4): 286-290.
- Park, Y.S., Kwak, J.M., Kwon, O.Y., Kim, Y.S., Lee, D.S., Cho, M.J., Lee, H.H., and Nam, H.G. 1993. Generation of expressed sequence tags of random root cDNA clones of *brassica napus* by single-run partial sequencing. *Plant Physiol*. 103(2): 359-370.
- Patil, P.D., Gude, V.G., Camacho, L.M., and Deng, S. 2009. Microwave-assisted catalytic transesterification of *Camelina sativa* Oil. *Energy & Fuels*. 24 (2) : 1298-1304
- Pilgeram, A., Sands, D., Boss, D., Dale, N., Wichman, D., Lamb, P., Lu, C., Barrows, R., Kirkpatrick, M., and Thompson, B. 2007. *Camelina sativa*, a montana omega-3 and fuel crop. *Issues in New Crops and New Uses*. P. 129-131 In: J. Janick and A. Whipey (eds). ASHA Press, Alexandria, VA.
- Saxena, R.C., Adhikari, D.K., and Goyal, H.B. 2009. Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 13(1): 167-178.
- Trail, F., Xu, J.-R., Miguel, P.S., Halgren, R.G., and Corby Kistler, H. 2003. Analysis of expressed sequence tags from *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*). *Fungal Genetics and Biology* 38(2): 187-19
- Uchimiya, H., Kidou, S.-i., Shimazaki, T., Aotsuka, S., Takamatsu, S., Nishi, R., Hashimoto, H., Matsubayashi, Y., Kidou, N., Umeda, M., *et al.* 1992. Random sequencing of cDNA libraries reveals a variety of expressed genes in cultured cells of rice (*Oryza sativa L.*). *The Plant Journal*. 2(6): 1005-1009.
- White, J.A., Todd, J., Newman, T., Focks, N., Girke, T., de Ilarduya, O.M., Jaworski, J.G., Ohlrogge, J.B., and Benning, C. 2000. A new set of arabidopsis expressed sequence tags from developing seeds. The metabolic pathway from carbohydrates to seed oil. *Plant Physiol*. 124(4): 1582-1594.
- Yang, L.F., Gai, J.Y., Zhu, Y.L., Chen, G., Wei, G.P., Wang,

C., and Liu, Q.Q. 2009. Construction and characterization of full-length cDNA library and expressed sequence tags analysis in developing seeds of vegetable soybean. HORTICULTURE

ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 50(1): 51-56.
Zubr, J. 1997. Oil-seed crop: Camelina sativa. Industrial Crops and Products. 6(2): 113-119.