

몇가지 식물엽록체에서 *ycf2*유전자의 류연관계

리영철, 정승주

위대한 수령 김일성 동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《새로운 과학분야를 개척하며 최신과학기술의 성과를 인민경제에 널리 받아들이기 위한 연구사업을 전망성있게 하여야 합니다.》(《김일성전집》 제72권 292페이지)

엽록체유전자공학에서는 기본소재로 되는 엽록체DNA특이단편의 유전자소재를 마련하는것이 중요하다.

엽록체 ycf (yet close frame)유전자는 아직 기능적으로 해명되지 못하였거나 그 발현산물인 단백질도 분리확인되지 않은 엽록체계놈의 DNA읽기틀령역이다.

최근년간 *ycf2*유전자가 변화되는 자연환경에서 식물이 살아가는데서 필수적역할을 한다는것이 밝혀졌다.[3]

우리는 엽록체공학에 필요한 유전자소재들을 마련하기 위해 고추엽록체DNA서고를 제작하고 이 서고로부터 고추엽록체 $ycf2$ (*ycf2'*)유전자를 얻은 다음 다른 식물들의 해당 유전자와의 류연관계를 밝혔다.

재료와 방법

1) 서고제작

서고제작은 운반체로서 pBR322와 엽록체DNA의 *Bam*H I 절단단편을 재조합하고 형질전환체들에서 재조합플라즈미드를 검사하여 삽입단편의 크기를 결정하는 방법으로 하였다.

2) *ycf2*유전자의 배열분석과 동정

GenBank자료기지와 BLAST검색 NCBI의 ftp사이트에서 제공한 GenBank Release139.0의 식물유전자염기배열자료인 gbpln1.seq-gbpln10.seq를 리용하였다.[2]

상동성검증과 제한효소절단점위치 및 염기배열분석 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)검색을 위하여 DNA Star 5.02를 리용하였다.

제한효소절단점위치 확인은 DNA Star의 map draw로, 염기배열의 다중정렬프로그램으로는 Megalign을, 정렬알고리즘으로는 Clustal W를 리용하였다.

배열분석을 위한 프라이머는 다음과 같이 설계하였다.

zcx-pcb-1f: 5'-CAAGACAATTGGCTGAATCC-3'

zcx-pcb-1r: 5'-GTCTGATAATGAGCAAGGAATA-3'

결과 및 논의

1) pCB계의 서고

유전자의 평균크기가 보통 1kb이상이기때문에 1% 아가로즈겔전기영동상에서 관찰하기 힘든 DNA단편들(1kb)은 클론상태로 보관만 하고 더 구체적으로 실험하지 않았다.

삽입DNA의 크기를 운반체인 pBR322(4.36kb)를 *Eco*RI과 *Bgl*II로 분해할 때 생기는 4.36, 2.32,

1.81, 0.234kb 크기의 DNA 단편들을 표준으로 하여 결정하였다. 고추염록체 DNA의 *Bam*HI 서고는 표 1과 같다.

표 1. 고추염록체 DNA의 *Bam*HI 서고(1kb 이상)

재조합플라즈미드명	삽입 DNA 크기/kb	재조합플라즈미드명	삽입 DNA 크기/kb	재조합플라즈미드명	삽입 DNA 크기/kb	재조합플라즈미드명	삽입 DNA 크기/kb
pCB2	5.0	pCB34*	2.4	pCB76	2.2	pCB126	1.2
pCB4	2.3		2.0	pCB77	3.2	pCB127	3.7
pCB6	2.1	pCB35	3.4	pCB79	3.5	pCB129	2.1
pCB7	5.1	pCB38	3.3	pCB86	3.1	pCB130	3.4
pCB9	2.1	pCB41	2.1	pCB88	2.0	pCB131	2.8
pCB10	5.2	pCB42	2.2	pCB89	3.1	pCB133	2.0
pCB11	2.2	pCB45	3.2	pCB90	2.9	pCB134	1.2
pCB13	2.9	pCB54	6.4	pCB91	2.1	pCB135*	3.4
pCB17	2.1	pCB55	2.5	pCB93	2.1		1.8
pCB18*	3.6	pCB56	3.3	pCB94	5.8	pCB147*	2.5
	2.4	pCB59*	5.0	pCB96	2.0		5.9
pCB20	1.7		2.4	pCB98	2.1	pCB149*	3.8
pCB21	2.9	pCB62	3.2	pCB104	4.4		1.8
	6.9	pCB63	3.2	pCB106	2.6	pCB151*	3.7
pCB22*	3.0	pCB64*	6.4	pCB111	2.1		3.0
pCB23	2.4		2.5	pCB113*	6.3	pCB155	3.3
pCB24	2.2	pCB69*	7.4		2.5	pCB136	2.3
pCB26	2.7		2.2	pCB115	1.2	pCB141	2.1
pCB27	2.4	pCB70	3.3	pCB118	3.6	pCB150	3.6
pCB29	3.4	pCB72	3.3	pCB124	2.1	pCB46	4.4
pCB31	3.4	pCB73	2.6	pCB125	4.4	pCB109	2.1

* DNA 단편이 2개 삽입된 재조합플라즈미드

표 1에서 보는바와 같이 pCB2, pCB7, pCB10, pCB22, pCB54, pCB59, pCB64, pCB69, pCB94, pCB113 클론들은 삽입된 DNA의 크기가 운반체 크기(4.36kb)보다 더 컸다. 또한 재조합체 pCB18, pCB22, pCB34, pCB59, pCB64, pCB69, pCB113, pCB135, pCB147, pCB149, pCB151들에서는 1개의 운반체에 2개의 삽입 DNA가 동시에 결합되었다. 그리고 클론화 과정에 pBR322가 호상 거꾸로 결합되어 2량체로 재조합된 것도 관찰되었다.

삽입 DNA의 크기가 운반체의 크기와 비슷한 것은 다른 제한 효소 *Eco*RI를 작용시켜 식별해냈다. 서고에는 동일한 DNA가 반복되어 있을 수 있다. 그러나 클론화 과정에 결합 방향이 서로 다를 수 있기 때문에 그대로 정리해놓았다.

삽입 DNA의 크기를 결정할 때 평균 오차는 모든 클론들에서 ± 0.1 kb를 넘지 않았다.

고추염록체 DNA를 제한 효소 *Bam*HI로 절단하였을 때 약 40여개의 DNA 단편이 얻어졌는데 [1] 우리가 얻은 재조합 클론이 160개 정도이므로 서고의 용량은 총계놈 크기의 약 4배이다. 그러므로 이 DNA 서고는 고추염록체 DNA의 모든 영역을 다 포함하는데 충분하다고 본다.

서고의 보관 안정성은 작은 시험관에 멸균 배지를 넣고 재조합 균주들을 천자점종한 다음 고무마개를 막아서 보관하였다가 2년에 한번씩 그 정상 상태를 검사하는 방법으로 하였다. 점종한 때로부터 10년이 넘도록 항생제 건딜성과 재조합 플라즈미드의 상태는 그대로 보존되어 있었다. 보관 20년이 지나도 재조합 플라즈미드 pCB115, pCB109, pCB126들에는 삽입 DNA 단편까지도 그대로 보존되어 있었다. 이것은 대장균에 클론화시킨 재조합 균주들을 천자배양하면 상온에서 10년까지 장기 보존할 수 있다는 것을 보여준다.

2) 재조합플라스미드 pCB90의 삽입단편에 대한 배열분석과 *ycf2*유전자단편의 동정
pCB90에 삽입된 단편의 염기배열분석 이 프라이머를 리용하여 pCB90에 삽입된 고추염록체
DNA단편의 배열분석을 진행하였다. 배열분석결과 삽입된 단편의 염기배열은 다음과 같다.

```

ggatcctg atgcatatag atacaaatgg tccaatggga gcaagaatth ccaggaacat
ttggaacagt ccgttttcgga gcagaagagc cgttttcaag tagtggtcga tcgattacgt
attaatcaat attcgattga ttggtctgag gttatcgaca aaaaatattt gtctaagcta
cttcgtttct ttttgtccaa gtcacctctt tttttgtcca agttgctttt atttttgtct
tacgcacttc cttttttctg tgtgagtttc ggaaatatcc ccattactag gtccgagatc
tacatctatg aattgaaagg tccgaatgat caactctgca atcagttggt agaatacaata
gggtcttcaag ttgttccattt ccaaaaattg aaacccttct tattggacga tcatgatact
tcccaaaaaa cgaaatttctt gatcaatgga ggaacaatat caccattttt gttcaataag
ataccaaagt ggatgattga ctcatccat actagaaata atcgcaggaa atcctttgat
aaccgcgatt cctattttctc aatgatattc cacgatcaag acaattggct gaatcccggtg
aaaccatttc atagaagttc attgatattc tctttttata aagcaaatac acttcgattc
ttgaataatc cccagcactt ctgcttctat gaacacaaga ttccctt tttctgtggaa
aaggcccgta tcaataattc tgattttacg tatggacaat tcctcaatat cttgttcatt
cgcaacaaaa tattttcttt gtgcgtcggg aaaaaaaaac atgctttttg ggggagagat
actatttcac caatcgagtc acaggatatc aacatattca tacctaacga ttttccacaa
agtgtgacg aaacgtataa cttgtacaaa tctttccatt ttccaagtgc atccgatcca
ttcgttcgta gagctattta ctcgatcgca gacattttctg gaacacctct aacagagggg
caaatagtca attttgaaag aacttattgt caacctcttt cagatatgaa tctatctgat
tcagaaggga agaacttgca tcagtatctc aatttcaatt caaacatggg tttgattcac
actccatggt ctgagaaaga tttatcatcc gaaaagagga aaaaacggag tctttgtcta
aagaaatcgc ttgagaaagg gcagatgtat agaaccctttc aacgagatag tgctttttca
actctctcaa aatggaatct attctactca aatggaatc tattccaac atatatgcca
tggttcctta cttcgacagg gtacaaatat ctaaatgtga tattttttaga tactttttca
gacctattgc caatactaag tagcgggtcaa aaatttgtat ccacttttcc tgatattatg
catggatcag gtatatcatg gcgaattctt cagaaaaaat tgtgtcttcc acaatggaat
ctgataagtg agatctcgag taagtgttta cataatcttc ttctgtccga agaatgatt
catcgaaata atgagtcacc attgatattc acacatctga gatcgccaaa tgctcgggag
ttcctctatt caatcctttt ccttcttctt gttgctggat atctcgttcg tacacatctt
ctctttgttt cccgggcctc tagtgagtta cagacagagt tcgaaagggg caaatctttg
atgattccat catctatgat tgagttgcga aaacttctgg ataggtatcc tacatctgaa
ccgaattctt tctgggttaa gaatctcttt ctagttgctc tggaacaatt aggagattct
ctagaagaaa tatgggggtt tgcttctggc ggcaacatgc ttgggtcccgc ttatgggggtc
aaatcaatac gttctaagaa gaaagattgg aatatcaatc tcatcgagat catcgatctc
ataccaaatc ccatcaatcg aatcactttt tcgagaaata cgagacatct aagtcataca
agtaaaagaga tctattcatt gataagaaaa agaaaaaacg tgaacgggga ttggattgat
gagaaaaatg aatcctgggt cgcgaacagt gattcgattc atgatgaaga aagagaattc
ttggttcagt tctccacctt aacgcacaga aataggattg atcaaattct attgagtctg
actcatagtg atcattttatc aaagaatgac tttggttatc aaatgattga acaaccggga
gcaattttact tacgatactt agttgacatt cataaaaaagc atctaataaa ttatgagttc
aatccatcct gtttagcaga aagacggata ttccttgctc attatcgac aatcacttat
tcacaaactt cgtgtgggga aaatagtttt cttttcccat ctcatggaaa acccttttcg
ctccgcttag ccttatcccc ctctaggggt attttagtga taggttctat aggaactgga
cgatcctatt tgggtcaata cctagcgaca aactcctatg ttcttttcat tacggatttt
ctgaacaagt tcctgtataa caagcctaaa ggttttcttc ttgatgagat cgatattgat
gatagtgacg atattgatga tagtgacaat cttgatgcta gtgacgatat cgatcgtgac
cttgatacgg agctggaact gctaactagg atgaatgggc taactgtgga tatgatgccg
gaaatagacc gattttatat cccccctt caattcgaat tagcaaaagc aatgtctcct
tgcataatat ggattccaaa cattcatgat ctggatgtga atgagtcgaa tgacttatcc
ctcgttctat tagtgaacca tctctccagg gattgtgaaa gatgttctac tagaaatatt
cttgttattg cttcgactca tattccccaa aaagtggatc c

```

표 2에서 보는바와 같이 pCB90에 삽입된 고추엽록체DNA단편에서 대표적효소들의 절단위치를 보면 *Bam*HI인 경우 2개, *Cla*I절단위치는 4개, *Eco*RI절단위치는 3개, *Sma*I절단위치는 1개이다.

pCB90에 삽입된 DNA단편의 크기는 2 973bp이며 이것은 *ycf2*배열의 2 419—5 392bp사이에 놓인다.

고추엽록체*ycf2*의 동점 얻어진 엽록체DNA단편이 어떤 유전자에 속하는 단편이며 해당 유전자영역과 어느 정도 상동성을 가지는가를 검색하였다.

먼저 *ycf2*배열분석자료에 기초하여 제놈자료기지인 GeneBank의 엽록체자료기지와의 상동성검색을 진행한 결과는 표 3과 같다.

표 3. 몇가지 식물들에서 *ycf2*배열의 상동성

자료기지번호	식물	상동성/%
AB237912.1	<i>Nicotiana glauca</i> 엽록체제놈DNA(담배)	98
Z00044.2	<i>Nicotiana glauca</i> 엽록체제놈DNA(담배)	98
DQ386163.1	<i>Solanum tuberosum</i> 엽록체제놈DNA(감자)	98
DQ347958.1	<i>Solanum bulbocastanum</i> PT29엽록체제놈DNA(가지의 한종)	98
AB240139.1	<i>Nicotiana glauca</i> 엽록체제놈DNA(담배)	98
AM087200.3	<i>Solanum lycopersicum</i> IPA-6 엽록체제놈DNA(도마도)	98

담배엽록체제놈을 비롯한 몇가지 식물엽록체제놈과 pCB90에 삽입된 *ycf2*배열과의 상동성은 98%였다. 담배엽록체제놈자료와 대비해볼 때 배열분석단편에서와 담배엽록체제놈의 91 295~92 450, 151 335~148 380bp에서 상동이였다. 이에 해당하는 배열단편을 자료기지 담배엽록체DNA의 유전자목록[3]과 비교하였는데 그 배열은 *ycf2*의 일부 배열이였다.

담배엽록체제놈의 구조에서 일부 구역의 유전자에 대한 목록자료를 보면 표 4와 같다.

표 4. *Nicotiana glauca* 엽록체DNA의 유전자목록

유전자	발현산물	사슬	시작	끝
<i>rpl23</i>	리보솜큰아단위단백질2의 3'—엑손(<i>rpl2</i> 의 3'—엑손)	B	88 533	88 252
<i>trnI</i>	tRNA-Ile(CAU)	B	88 772	88 699
<i>ycf2</i>	ORF2280	A	88 885	95 727
<i>ycf15</i>	ORF87	A	95 818	96 081
(<i>IRA</i>)	25 341bp	—	130 599	155 939
<i>oriB</i>	복제원점	—	130 606	130 848
<i>trnI</i>	tRNA-Leu(CAA)	A	146 116	146 196
<i>orf115</i>	—	A	146 219	146 566
<i>orf92</i>	—	B	146 507	146 229
<i>ycf15</i>	ORF87	B	146 808	146 545
<i>ycf2</i>	ORF2280	B	153 741	146 899
<i>trnI</i>	tRNA-Ile(CAU)	A	153 854	153 927

상동부분의 유전자를 담배엽록체게놈목록자료와 비교해보았는데 이 상동유전자는 담배엽록체의 양쪽 반복배열에 존재하는 *ycf2(ycf2')* 유전자였다.

3) *ycf2*의 류연관계분석

ycf2(ycf2') 단편의 염기배열자료에 기초하여 NCBI자료기지에 들어있는 30개 식물의 해당 영역에 대한 배열을 찾고 다중정렬알고리즘으로 정렬시킨데 의하면 이 *ycf2(ycf2')* 유전자 단편은 *ycf2* 유전자정렬 2 489-5 687bp 사이에 놓이였다.

ycf2 단편이 놓이는 구역(2 489-5 687bp)과 다른 식물의 해당 영역과의 상동성을 보기 위하여 Sequence Distance 알고리즘으로 분석한 결과는 표 5와 같다.

표 5. 고추엽록체 *ycf2* 단편과 다른 식물들과의 상동성

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1		88.6	88.4	89.5	89.5	89.5	91.9	87.9	52.9	51.2	88.5	89.3	89.3	88.5	88.3	88.3	92.8	88.9	88.2	91.0	89.9	88.6	89.2	95.1	10.9	88.4	91.7	92.4	92.2	92.3
2	7.8		89.8	90.9	90.9	90.9	88.3	97.6	53.1	51.4	89.9	90.7	90.7	89.9	89.7	89.7	89.6	91.2	86.0	91.8	90.9	90.3	91.4	90.2	13.5	91.1	90.7	91.2	91.0	91.0
3	5.5	7.4		98.1	98.0	98.1	90.2	88.7	52.5	50.9	99.8	98.9	98.6	99.8	98.3	98.3	94.3	93.2	88.0	91.3	89.7	92.0	93.6	89.5	13.0	92.7	91.7	91.0	90.8	90.8
4	5.2	7.0	0.7		99.8	100.0	91.4	89.8	52.6	51.0	98.2	99.2	99.2	98.2	98.4	98.5	95.3	92.6	89.3	92.2	90.7	93.1	92.9	90.8	12.9	94.1	92.9	92.2	92.0	92.0
5	5.1	7.0	0.8	0.2		99.8	91.4	89.8	52.5	50.9	98.1	99.2	99.2	98.1	98.3	98.4	95.2	92.6	89.2	92.3	90.7	93.1	92.9	90.8	13.0	94.0	92.9	92.2	92.0	92.0
6	5.2	7.0	0.7	0.0	0.2		91.4	89.8	52.6	51.0	98.2	99.2	99.2	98.2	98.4	98.5	95.3	92.6	89.3	92.2	90.7	93.1	92.9	90.8	12.9	94.1	92.9	92.2	92.0	92.1
7	5.1	7.7	4.0	3.6	3.6	3.6		87.5	52.9	51.6	90.3	91.1	91.1	90.3	90.2	90.3	94.3	88.7	91.0	90.9	89.2	89.1	89.1	89.3	13.2	88.9	91.2	90.8	90.6	90.6
8	8.5	1.8	8.2	7.7	7.7	7.7	8.3		52.5	51.0	88.8	89.6	89.6	88.8	88.6	88.6	88.6	90.1	85.5	91.2	90.5	89.2	90.3	89.3	13.7	90.1	89.8	90.4	90.2	90.3
9	53.5	53.3	53.7	52.9	53.1	52.9	52.6	54.6		96.2	52.5	52.6	52.5	52.5	52.5	52.6	52.7	52.8	52.9	53.3	53.3	53.4	53.0	52.9	16.7	52.5	53.7	53.8	54.0	54.0
10	53.7	53.4	53.6	53.0	53.1	53.0	52.8	54.8	0.4		51.0	51.0	50.9	51.0	50.9	51.0	51.1	51.4	51.1	51.4	51.6	52.0	51.1	51.2	20.2	51.1	51.7	52.1	52.3	52.3
11	5.4	7.3	0.2	0.6	0.6	0.6	3.9	8.0	53.6	53.5		98.7	98.8	100.0	98.3	98.3	94.4	93.3	88.1	91.3	89.8	92.1	93.7	89.6	13.0	92.7	91.9	91.1	90.9	90.9
12	5.5	7.4	0.0	0.7	0.7	0.7	4.0	8.1	53.1	53.1	0.2		99.7	98.7	98.3	98.3	95.2	92.2	88.9	92.1	90.6	92.8	92.6	90.3	12.8	93.8	92.6	91.9	91.7	91.8
13	5.4	7.3	0.2	0.6	0.7	0.6	3.9	8.0	53.2	53.1	0.0	0.2		98.8	98.2	98.2	95.2	92.2	88.9	92.1	90.5	92.8	92.6	90.3	12.8	93.7	92.6	92.0	91.8	91.8
14	5.4	7.3	0.2	0.6	0.6	0.6	3.9	8.0	53.6	53.5	0.0	0.2	0.0		98.3	98.3	94.4	93.3	88.1	91.3	89.8	92.1	93.7	89.6	13.0	92.7	91.9	91.1	90.9	90.9
15	5.9	7.8	1.0	1.0	1.0	1.0	4.3	8.6	53.8	53.8	0.9	1.0	1.0	0.9		99.9	94.2	92.3	88.2	91.2	89.6	92.2	92.7	89.6	12.0	92.9	91.8	91.1	90.9	90.9
16	5.9	7.8	1.0	1.0	1.0	1.0	4.3	8.6	53.8	53.8	0.9	1.0	1.0	0.9	0.0		94.3	92.4	88.3	91.2	89.6	92.2	92.7	89.7	12.0	93.0	91.9	91.1	90.9	91.0
17	5.0	7.5	1.3	1.0	1.1	1.0	3.4	8.2	54.1	54.2	1.2	1.3	1.2	1.2	1.6	1.6		90.0	90.5	91.7	90.2	90.6	90.3	90.0	12.3	90.4	91.7	91.4	91.2	91.2
18	5.6	6.6	5.0	4.6	4.7	4.6	5.3	7.3	53.5	53.6	4.9	5.0	4.9	4.9	5.4	5.4	5.1		87.0	92.2	90.8	92.3	99.3	90.1	14.1	92.2	91.6	91.6	91.4	91.4
19	6.0	8.2	4.6	4.2	4.3	4.2	3.2	8.8	54.6	54.7	4.5	4.5	4.5	4.5	4.8	4.8	4.2	5.8		89.5	88.4	87.4	87.3	87.4	11.3	87.3	90.5	90.0	89.8	89.8
20	4.7	5.4	3.9	3.7	3.6	3.7	4.6	6.0	52.1	52.5	3.8	3.9	3.9	3.8	4.2	4.2	4.2	3.6	5.3		96.8	91.3	92.5	93.5	13.6	91.7	93.9	94.1	93.9	93.9
21	5.6	6.5	4.8	4.6	4.7	4.6	5.8	7.2	53.1	53.5	4.8	4.8	4.8	4.8	5.2	5.2	5.1	4.7	6.2	2.1		90.3	91.2	92.4	13.8	90.1	92.6	93.2	93.1	93.1
22	6.4	7.8	4.9	4.6	4.6	4.6	5.6	8.6	53.2	53.2	4.8	4.9	4.8	4.8	5.3	5.3	5.1	5.7	6.0	4.7	5.7		92.2	89.5	14.1	91.9	91.4	91.2	91.0	91.0
23	5.5	6.6	5.0	4.7	4.7	4.7	5.3	7.3	53.4	53.6	4.9	5.0	5.0	4.9	5.4	5.4	5.1	0.1	5.8	3.6	4.7	5.6		90.5	13.5	92.2	91.9	91.7	91.6	91.6
24	1.6	7.5	5.6	5.2	5.1	5.2	6.0	8.3	53.4	53.6	5.4	5.5	5.5	5.4	5.9	5.9	5.7	5.6	6.4	4.5	5.5	6.6	5.6		13.3	89.9	93.7	94.5	94.3	94.3
25	125.3	120.3	123.6	129.5	124.5	129.5	133.7	122.8	60.0	65.0	123.6	125.8	125.8	123.6	127.8	127.8	124.3	113.6	156.0	121.0	117.4	106.6	115.0	125.2		13.3	13.6	13.6	14.0	14.0
26	6.1	6.8	5.3	5.1	5.2	5.1	6.2	7.4	53.3	53.2	5.3	5.3	5.3	5.3	5.7	5.7	5.7	5.1	6.5	4.0	5.0	5.9	5.2	6.1	110.0		92.0	91.2	91.0	91.0
27	3.9	6.2	4.1	3.9	4.0	3.9	4.5	6.9	52.1	52.4	4.0	4.2	4.0	4.0	4.5	4.5	4.5	4.2	5.3	3.1	4.0	5.1	4.1	3.8	125.7	4.9		98.4	98.2	98.2
28	3.9	6.2	4.1	3.9	3.9	3.9	4.6	6.9	52.3	52.5	3.9	4.1	4.0	3.9	4.4	4.4	4.4	4.2	5.3	3.1	4.0	5.1	4.2	3.8	12.57	4.8	0.1		99.8	99.8
29	3.9	6.2	4.1	3.9	3.9	3.9	4.6	6.9	52.3	52.5	3.9	4.1	4.0	3.9	4.4	4.4	4.3	4.2	5.3	3.1	4.0	5.1	4.1	3.8	12.57	4.9	0.1	0.0		100.0
30	3.8	6.2	4.0	3.8	3.9	3.8	4.5	6.9	52.3	52.5	3.9	4.0	3.9	3.9	4.4	4.4	4.3	4.1	5.3	3.1	4.0	5.1	4.1	3.8	12.57	4.8	0.0	0.0	0.0	

1—*Arabidopsis thaliana*(AP000423, 애기장대), 2—*Glycine max*(DQ317523, 콩), 3—*Lycopersicon esculentum*(DQ347959, 토마토), 4—*Nicotiana glauca*(AB237912, 담배의 한종), 5—*Nicotiana glauca*(AB2240139, 큰담배), 6—*Nicotiana glauca*(Z00044, 담배), 7—*Panax ginseng*(AY582139, 인삼), 8—*Phaseolus vulgaris*(EU196765, 강낭콩), 9—*Pinus koraiensis*(AY228468, 잣나무), 10—*Pinus strobus*(FJ899560, 스트로브스소나무), 11—*Solanum bulbocastanum*(DQ347958, 가지의 한종), 12—*Solanum lycopersicum*(AM087200, 토마토), 13—*Solanum tuberosum*(DQ231562, 감자), 14—*Solanum tuberosum*(DQ386163, 감자), 15—*ycf2-capsicum*(고추 *ycf2*), 16—*Capsicum annuum*(JX270811, 고추), 17—*Atropa belladonna*(AJ316582, 큰독부리풀), 18—*Populus alba*(AP008956, 은백양나무), 19—*Daucus carota*(DQ898156, 홍당무), 20—*Prunus persica*(HQ336405, 복숭아나무), 21—*Fragaria vesca*(JF345175, 사철딸기), 22—*Magnolia officinalis*(JN867579, 후박목란), 23—*Populus trichocarpa*(489041, 털열매황철나무), 24—*Brassica napus*(GQ861354, 유채), 25—*Lygodium japonicum*(HM021803, 실고사리), 26—*Cucumis melo*(JF412791, 참외), 27—*Gossypium capitatum*(JN019794, 목화), 28—*Gossypium thurberi*(GU907100, 목화의 한종), 29—*Gossypium barbadense*(AP009123, 해도목화), 30—*Gossypium darwinii*(HQ325741, 목화의 한종)

표 5에서 보는바와 같이 *ycf2(ycf2')* 유전자단편을 다른 식물의 해당 영역과 비교해보면 같은 식물인 고추(*Capsicum annuum*, 접속번호 JX270811)와의 상동성은 99.9%로서 거의나 배열이 일치하였다. 같은 가지과작물에 속하는 담배류(4-6번)와는 98.3%, 가지속(11-14번)과는 98.2% 그리고 토마토(3번)와는 98.3%정도로써 상동성이 매우 높았으며 큰독뿌리풀(17번)과는 94.2%로서 같은 가지과식물이지만 속간 차이가 훨씬 크다고 볼수 있다.

연이 먼 바늘잎식물들인 소나무속의 잣나무(9번), 스트로브스소나무(10번)와는 각각 50.9, 52.5%이며 같은 나무식물이라도 넓은잎식물인 후박목란(22번)과는 92.2%, 뽕나무속의 은백양나무(18번), 털열매황철나무(23번)와는 각각 92.3, 92.7%, 복숭아나무(20번)와는 91.2%, 이다. 또한 실고사리(25번)와는 12.8%로서 상동성보다 차이성이 더 강하였다. 기타 애기장대(1번), 콩(2번), 인삼(7번), 강남콩(8번), 홍당무우(19번), 사철딸기(21번), 유채(24번), 참외(26번), 목화류(27, 28, 29, 30번)와의 상동성은 88~93%에 놓이였다.

이러한 상동성과 차이성분석은 *ycf2* 유전자단편이 식물들의 형태적차이나 질적형질에도 영향을 미치는 유전인자로 될수 있다는것을 보여준다.

30개의 식물에 관하여 *ycf2* 유전자단편(15 *ycf2*-capsicum)과의 유사성을 분석하여 계통수를 작성한 결과는 그림과 같다.

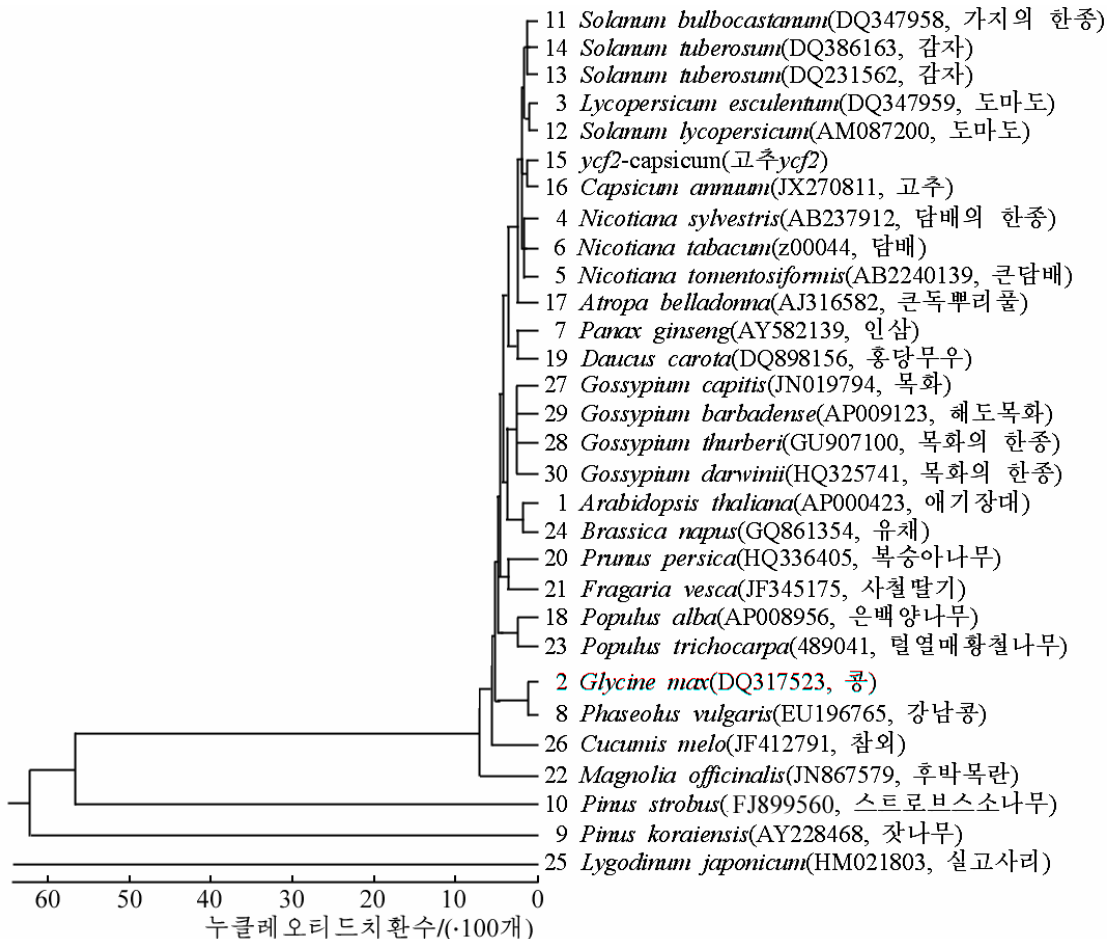


그림. 여러가지 식물들에서 *ycf2* 유전자의 계통수

그림에서 보는바와 같이 이 유전자단편은 같은 고추품종인 16번식물(*Capsicum annuum*)과 가장 거리가 가까왔으며 25번식물인 실고사리(*Lygodium japonicum*), 9번과 10번 식물들인 잣나무와 스트로브스소나무(*Pinus koraiensis*, *Pinus strobus*)와는 거리가 매우 멀다는 것을 알 수 있다.

이상의 결과는 계통DNA뿐만 아니라 *ycf2(ycf2')* 유전자단편에 의하여서도 식물들 호상간 유연관계를 명확히 밝힐 수 있다는 것을 보여준다.

맺는 말

1) 고추엽록체DNA의 *Bam*H1 절단단편과 플라스미드 pBR322를 재조합하여 엽록체DNA 서고를 제작하였다.

엽록체DNA서고는 160개의 각이한 재조합플라스미드로 이루어졌으며 총 계놈의 약 4배의 용량을 가진다. 일부 재조합플라스미드들은 삽입DNA단편을 2개 정도 가지고 있다.

2) 배열분석에 의하면 *ycf2(ycf2')* 유전자단편은 *ycf2* 유전자배열의 2 419—5 392bp 사이에 놓인다.

3) 이 유전자단편과 다른 식물들의 해당 영역과의 배열상동성을 보면 같은 고추와는 99.9%로서 거의 일치하고 가지과작물들인 담배, 감자, 도마도와는 98% 이상으로서 매우 높으며 연이 먼 실고사리와는 12% 정도로서 상동성이 거의나 없었다.

참고 문헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 61, 4, 103, 주체104(2015).
- [2] 리영철; 핵바깥유전자와 그 기능, 김일성종합대학출판사, 8~124, 주체97(2008).
- [3] S. Kikuchi et al.; Science, 339, 571, 2013.

주체107(2018)년 1월 5일 원고접수

The Family Relation on *ycf2* Gene in Chloroplasts of Several Plants

Ri Yong Chol, Jong Sung Ju

We made up chloroplast DNA library by means of recombination of the red pepper's chloroplast DNA fragments cut by *Bam*H I with plasmid pBR322. The chloroplast DNA library consisted of 160 various recombinant plasmids, which of sizes were about 4 times as big as the total genome. Some of recombinant plasmids had about 2 inserted DNA fragments.

The *ycf2(ycf2')* fragment existed between 2 419bp and 5 392bp of the *ycf2* gene arrangement by array analysis.

According to defining the family relation of this gene fragment with the corresponding ranges of other plants, the fragment was almost same as that of red pepper, same species, as 99.9% and had very high identity more than 98% as compared with that of tobacco, potato or tomato, as plants in an eggplant family, but little identity with that of a bracken, having low degrees of relationship, as 12%.

Key words: chloroplast, red pepper, *ycf2*