

초어핵인자억제유전자(*Ciikb*) cDNA의 배렬특성

윤금성, 장성훈

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《기초과학부문들을 발전시켜야 나라의 과학기술수준을 빨리 높일수 있고 인민경제 여러 분야에서 나서는 과학기술적문제들을 원만히 풀수 있으며 과학기술을 주체성있게 발전 시켜나갈수 있습니다.》(《김정일선집》 증보판 제10권 485페이지)

유전자의 배렬특성을 밝히는것은 해당 유전자의 기능을 깊이있게 해명하고 실천에 도입하는데 필요한 기초자료를 마련하는데서 큰 의의를 가진다. 우리는 초어의 선천성면역조절에서 중요한 역할을 하는 *ikb*유전자의 cDNA배렬에 대한 연구를 하였다.

재료와 방법

1) *Ciikb* cDNA 전 배렬의 증폭

*Ciikb*유전자증폭에 리용된 프라이머들은 표와 같다.

SMART cDNA의 합성방법[1]을 리용하여 초어의 두신으로부터 mRNA를 분리한 다음 설명서에 따라 cDNA 전 배렬을 얻어내였다.

표. *Ciikb*유전자증폭에 리용된 프라이머

프라이머이름	배렬(5'→3')	크기/bp	크기/bp (증폭부위)
10F1(정방향)	CCGATGTTAAGCATGGAATCG	21	1 212
10R1(역방향)	TCCATGTTTAAACAGCACCACC	21	(중간배렬)
10IR1(역방향)	GGATGATGGCAAGGTGAAGATAC	23	5'—말단
10OR1(역방향)	CATTCTGACACTGTTTGATGATCTG	25	
10IF1(정방향)	GACCCAGGACACCAATCCCTC	21	3'—말단
10OF1(정방향)	GGAGGTTTCGTCTGATGATGACTG	24	
Ikb-IF(정방향)	GGCAGATGTAAACGCAAAG	19	160
ikb-IR(역방향)	GCCGAAGGTCAGGTGGT	17	(발현)
SMART II(TM)(정방향)	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACGCGGG	30	5'—말단
CDSIII(역방향)	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAC (T) 30V N	57	3'—말단

2) 배렬분석결과의 처리

DNA배렬은 Vector NTI와 DNA star, Chromas프로그램으로 분석하였다.

단백질배렬은 Expasy로, 단백질의 도메인영역은 SMART, TMHMM프로그램으로 분석하였다.

결과 및 논의

SMART cDNA합성방법을 리용하여 5'—비번역배렬과 열린읽기틀, 3'—비번역배렬, 폴리A를 포함한 1 407bp의 *Ciikb*유전자cDNA배렬을 얻어냈다.(결과는 생략) 완성된 *Ciikb*

cDNA배열에서 5'-비번역배열의 크기는 99bp이고 열린읽기틀(ORF)의 크기는 933bp이며 3'-비번역배열의 크기는 375bp이다.(그림 1)

```

cgatgttaagcatggaatcggaacgcagctataaaagggcggttgcgccaccctctcagc      60
acacttcattgctgactgcgatactgcgagcgtcgcgacATGGATGTACACAGAGCTGCC      120
                                     M D V H R A A                               7
ATAATGAACTATATGGATTGTAATGTTGATGAAATGGATACGAAAAACAGGAAAGTGCAA      180
I M N Y M D C N V D E M D T K N R K V Q                               27
CACTGCGAGGATCGCGTCGATAGCGGCGTGGACTCGCTAAAGGAGGATGAGTATAGGAAA      240
H C E D R V D S G V D S L K E D E Y R K                               47
ATTGTGGAGGAAATGGAGAGTTTGACTTTGCCAAACCCAGTGCAAATCCAAAGGGGATG      300
I V E E M E S L T L P N P S A N P K G M                               67
TGTGAACCTTGGACGCAAGTCACTGAGGATGGAGACACGTATCTTCACCTTGCCATCATC      360
C E P W T Q V T E D G D T Y L H L A I I                               87
CACGAGGCGGAAGATTATGCCATCCAGATCATCAAACAGTGTGAGAATGACCCATTCTTG      420
H E A E D Y A I Q I I K Q C Q N D P F L                               107
AACAGACAGAACAACCAAAGACAGACTGCACTGCATCTCGCCGTCATCACAGAACAGCCA      480
N R Q N N Q R Q T A L H L A V I T E Q P                               127
CACATGGTGGACAGGCTGCTAAAGGCCGGCTGTGATCCCCGGCTGGTCGATCAAAGTGGA      540
H M V D R L L K A G C D P R L V D Q S G                               147
AACACGGCCCTCCACATCGCCTGCAAAAGAGGGTCGCTAGCTTGCTTCTCAGTACTCACT      600
N T A L H I A C K R G S L A C F S V L T                               167
CAGATTCAGACTCAGCATCTGCGCTCCATTCTCACCTTCCCAAACCTACAGCGGACATACG      660
Q I Q T Q H L R S I L T F P N Y S G H T                               187
TGTCTCCACATAGCAGCCATTACAATTACCTCTCAATGGTGGAGAGTCTGGTCCAGCTT      720
C L H I A A I H N Y L S M V E S L V Q L                               207
GGGGCAGATGTAAACGCAAAGGCAATGCAGTGGCGGACGTCGCTCCATTGTGGCCGTA      780
G A D V N A K E Q C S G R T S L H L A V                               227
GACCTGCAGAACCTGGAACTGGTGCACTTGCTCATTGCTTTGGGTGCTGATGTCAACAGT      840
D L Q N L E L V H L L I A L G A D V N S                               247
CTTACCTACGGTGGATACACACCGTACCACCTGACCTTCGGCCGACAGAACAGCGAGATC      900
L T Y G G Y T P Y H L T F G R Q N S E I                               267
CAGAGGCAGCTTTTCAACCGGACGGCCCAAGAGCTGAGGGCGATGCCAGAGAGCGAGTCG      960
Q R Q L F N R T A Q E L R A M P E S E S                               287
GAGGAGAGCGACGAGGAGGTTTCGTCTGATGATGACTGTATGTATGACGACATCCAGTTC      1020
E E S D E E V S S D D D C M Y D D I Q F                               307
TGTGGGAGATTAGtctggctatcaggacaacattgcccataatccaaagcagcaaaggctg      1080
C G R -                                                                311
taggtgctgtctcaaggtctgtgccaggttgtagccctgacccaggacaccaatccctcga      1140
tgggactccacaacgtggaaaagagctgccccctcggggacatgatagcggtggtgctg      1200
ttaaacatggaagaaccagaccaaaaaaactttaccaatatttctgaagccaaagacttgg      1260
gaaaatattgtatatatttgtgaatatagagatatatttttatatttgtaaataactcaaat      1320
gaaacacttgtcaataatgttattattctatatattgcactgtgaaaatattttttacat      1380
caaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa                                  1407

```

그림 1. *Ciikb* 유전자의 핵산과 아미노산배열

번역개시코돈(ATG), 종결코돈(TAG)은 강조체로, 배열의 불안정성을 보여주는 attttta배열도 강조체로 표시하였다.

이 유전자에 의하여 암호화되는 단백질은 310개의 아미노산으로 되어있다. 3'-비번역배열에는 mRNA배열의 불안정성을 보여주는 2개의 attttta배열들이 있다. 선행연구[2]에 의하면 이 배열은 mRNA가 빠른 속도로 분해되게 하는 기능을 수행한다. BlastP분석에 의하면 번역된 배열은 이미 밝혀진 IkB단백질들과 상동성이 매우 높았다. 특히 Blastp분석에 의

하면 이 유전자는 줄말고기의 IkB단백질과 상동성(93.6%)이 제일 높았다. 그리하여 이 유전자의 이름을 초어에 있는 *ikb*유전자의 상동유전자라는 의미에서 *Ciikb*유전자로 명명하였다.

SMART와 TMHMM프로그램으로 도메인구조를 분석한데 의하면 *Ciikb*유전자에 의하여 암호화되는 단백질은 6개의 안키린도메인(ANK)을 가지고있다.(그림 2)

정상상태에서 IkB단백질은 NF-κB와 결합되어 불활성화상태에 있다가 신호통로가 활성화되면 IKK 복합체에 의하여 분해되며 이 과정에 활성화된 NF-κB가 핵속에 들어가 면역반응, 염증반응을 비롯한 여러가지 응답을 일으킨다. 다시말하여 IkB



그림 2. 초어의 핵인자(IkB)의 도메인구조

는 NF-κB신호통로를 활성화시키는데서 매우 중요한 작용을 하는 단백질이다.[3]

*Ciikb*유전자의 배렬과 구조에 대한 연구결과들은 물고기류에서도 포유동물과 마찬가지로 *ikb*유전자가 신호통로를 통하여 선천성면역반응을 조절하는 기능을 수행할수 있다는것을 보여준다.

맺 는 말

Ciikb cDNA의 전배렬크기는 1 407bp이고 5'-비번역배렬과 열린읽기틀, 3'-비번역배렬의 크기는 각각 99, 933, 474bp이며 310개의 아미노산을 암호화한다.

*Ciikb*유전자에 의하여 암호화되는 단백질은 6개의 ANK도메인을 가지고있다.

참 고 문 헌

- [1] J. R. Sambrook; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 11 ~25, 2001.
- [2] F. Arenzana-Seisdedos et al.; J. Cell Sci., 10, 369, 2015.
- [3] S. Holger et al.; Diabetes, 55, 2993, 2016.

주체107(2018)년 7월 5일 원고접수

The cDNA Sequence Characteristics of *Ciikb* Gene from Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella*

Yun Kum Song, Jang Song Hun

The full length of the *Ciikb* cDNA is 1 407 nucleotides(nt). The 5'-untranslated region(UTR) is 99nt and open reading frame is 933nt. The 3'-UTR is 474nt including a poly A tail. 310 amino acid polypeptides are encoded by this gene. The protein encoded by *Ciikb* gene has six ANK domains.

Key words: grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, *ikb*, gene sequence