

초어톨류사접수체유전자 5a(*Citlr5a*)와 5b(*Citlr5b*)의 구조적특성

장성훈, 주창성, 남두영

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《양어과학과 기술에 대한 연구사업을 강화하고 선진적인 물고기기르기기술을 적극 받아들이어 우리 나라의 양어사업을 최신과학기술에 기초하여 발전시켜나가도록 하여야 합니다.》(《김정일선집》 증보판 제20권 178~179페이지)

유전자의 분자구조특성을 밝히는것은 해당 유전자의 기능을 깊이있게 해명하고 실천에 도입하는데 필요한 기초자료를 마련하는데서 큰 의의를 가진다.

동물에서 TLR(Toll-like receptor)족 유전자는 병원체결합분자형태(PAMPs)를 인식하고 염증성세포인자들과 I형인터페론을 발현시켜 병원성세균에 대한 유기체의 면역을 조절한다.

우리는 초어의 선천성면역조절에서 중요한 역할을 하는 초어톨류사접수체유전자 5a(*Citlr5a*)와 5b(*Citlr5b*)의 계놈구조에 대한 연구를 하였다.

재료와 방법

1) *Citlr5a*와 *Citlr5b*의 cDNA의 전 배열의 증폭

SMART cDNA의 합성방법[1]을 리용하여 초어의 두신으로부터 분리한 mRNA를 역전사시켜 주형cDNA를 얻는다. 다음 Vector NTI프로그램으로 다중배열상동성검색을 진행하고 진화적으로 보존된 배열을 찾아내어 축퇴프라이머를 합성하며 초어 *tlr1*의 보존된 배열을 증폭한다. 다음 그것을 pMD18-T운반체(《Promega》, 《Madison》, 《WI》)에 재조합하여 배열분석을 진행하고 배열분석자료에 근거하여 5'-와 3'-말단을 증폭하기 위한 프라이머를 설계한다. SMART II와 T5bG1(T5bNG1), T5bG2(T5bNG2)와 CDS III프라이머로 목적유전자의 양쪽 말단을 증폭한 다음 증폭된 5'- 및 3'-말단의 PCR산물들을 pMD18-T운반체에 재조합하고 그 배열을 분석하였다.

2) *Citlr5a*와 *Citlr5b*의 구조분석

Citlr5a(GenBank등록번호: KF736231)와 *Citlr5b*(GenBank등록번호: KF736232)의 계놈배열과 우에서 얻어진 배열을 Vector NTI프로그램으로 비교하여 엑손/인트론배열을 갈라낸다. 다음 비교분석에 리용하기 위하여 여러 종들의 *tlr5* cDNA배열을 NCBI홈페이지에서 찾아내고 Ensembl(<http://www.ensembl.org/>)자료기지를 리용하여 매 cDNA배열에 대응하는 계놈배열을 얻어낸다. 유전자의 구조분석은 매 유전자들을 포함한 계놈배열과 cDNA배열을 비교하여 엑손과 인트론 및 비번역배열을 분리하는 방법으로 진행하였다.

아미노산배열에 기초한 단백질구조는 SMART(<http://www.smart.embl-heidelberg.de/>)와 TMHMM(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 프로그램으로 분석하였다.

분석에는 흰생쥐(*Mus musculus*, NP_058624.1), 줄말고기(*Danio rerio*, NP_00112), 잉어(*Cyprinus carpio*, AGH15501.1), 강메기(*Ictalurus punctatus*)의 *tlr5*배열들이 리용되었다.

결과 및 논의

SMART cDNA 합성방법을 리용하여 *Citlr5a*와 *Citlr5b*의 cDNA배열을 얻어냈다.(결과는 생략) *Citlr5a* cDNA배열에서 5′-비번역배열의 크기는 78bp이고 열린읽기틀(ORF)의 크기는 2 646bp이며 3′-비번역배열의 크기는 330bp이다. 완성된 *Citlr5b* cDNA배열에서 5′-비번역배열의 크기는 93bp이고 열린읽기틀(ORF)의 크기는 2 637bp이며 3′-비번역배열의 크기는 594bp이다.(그림 1)

그림 1에서 보면 초어와 강메기, 줄말고기와 잉어에서 *tlr5*는 1개의 엑손으로 되어있다. 그러나 흰생쥐에서는 *tlr5*의 5′-비번역배열에 여러개의 인트론이 있다. 초어의 게놈에서 *tlr5a*와 *tlr5b*는 서로 6 944bp의 거리를 두고 립접하여있다. 이와 같은 특성은 강메기(*Ictalurus punctatus*)에서도 나타난다. 그밖에 줄말고기와 잉어, 흰생쥐를 비롯한 여러 종들에서는 *tlr5*가 1개밖에 없으며 대다수 종들에서 하나의 열린읽기틀을 가지고있다는것을 알수 있다.

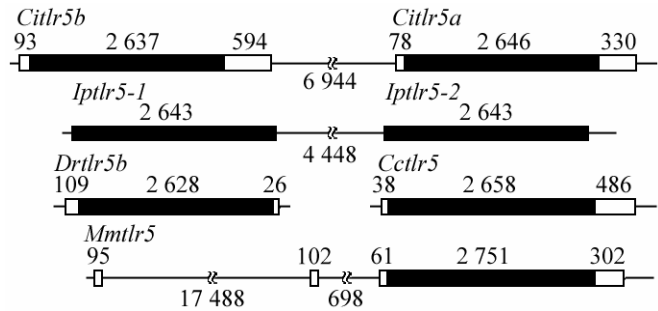


그림 1. 여러 종들에서 *tlr5*의 게놈구조

엑손크기는 옷부분에, 인트론의 크기는 아래부분에 주었다.

엑손은 어두운 색으로 표시하고 인트론은 투명한 색으로

표시하였다. Ci는 초어, Ip는 강메기, Dr는 줄말고기,

Cc는 잉어, Mm는 흰생쥐

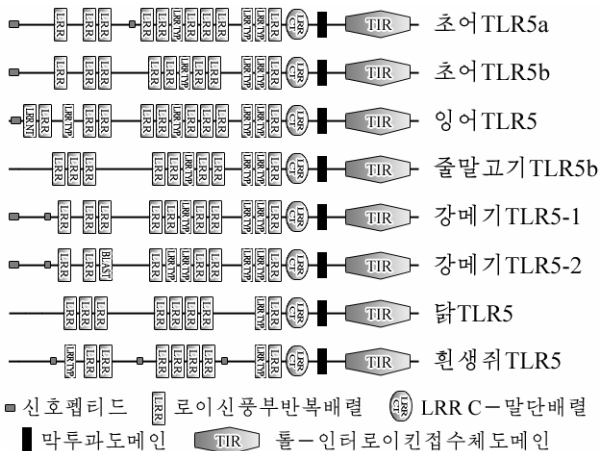


그림 2. 여러 종들에서 톨류사접수체5(TLR5) 단백질의 도메인구조

여러 동물종들에서 톨류사접수체5(TLR5)단백질의 도메인구조를 비교하였다.(그림 2)

그림 2에서 보면 초어TLR5a, TLR5b 단백질의 C-말단에는 각각 1개의 보존된 TIR도메인과 1개의 막투과구조가 있으며 TLR5a단백질의 N-말단에는 12개의 로이신풍부반복배열들이, TLR5b단백질의 N-말단에는 11개의 로이신풍부반복배열들이 있다는것을 알수 있다. 현재까지 물고기에서 선천성면역과 관련된 연구는 많이 진행되지 않았다. TLR족 유전자는 세포질의 바깥에 병원체를 인식하는데 적응된 로이신

풍부반복배열들을 여러개 가지고있으며 세포질의 안쪽에는 진화상 보존되고 신호전달에 관여하는 TIR도메인을 가지고있다.[2, 3]

초어*tlr5*의 구조에 대한 연구결과들은 물고기류에서도 포유동물과 마찬가지로 *tlr5*가 세균을 인식하고 신호통로를 통하여 선천성면역반응을 일으키는 기능을 수행할수 있다는 것을 보여준다.

맺 는 말

1) *Citlr5a*와 *Citlr5b*는 1개의 엑손으로 이루어졌으며 그 구조는 줄말고기나 다른 포유동물들과도 유사하다. *Citlr5a*와 *Citlr5b*유전자에 의하여 암호화되는 단백질은 N-말단에 각각 12개와 11개의 로이신풍부반복배열(LRR)이 있으며 5'-말단에 다같이 진화적으로 보존된 하나의 TIR도메인을 가지고있다.

2) *Citlr5a*와 *Citlr5b*는 서로 6 944bp의 거리를 두고 린접되어있다.

참 고 문 헌

[1] Y. Palti; Dev. Comp. Immunol., **35**, 12, 1263, 2011.

[2] J. Lee; Curr. Opin. Gastroenterol., **23**, 27, 2007.

[3] B. Albiger; Jour. Int. Med., **261**, 511, 2007.

주체105(2016)년 3월 5일 원고접수

Structural Characteristics of *Citlr5a* and *Citlr5b* Gene from Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella*

Jang Song Hun, Ju Chang Song and Nam Tu Yong

The grass carp *Citlr5a* and *Citlr5b* genes have one exon, and those structures were similar with zebrafish and other mammals. The proteins coding by these genes have 12 and 11 LRR motives in N-termination, respectively and one conservation TIR domain in C-termination evolutionally.

The distance of two genes is 6 944bp.

Key words: *Citlr5a*, *Citlr5b*