

초어sr-b1유전자의 배렬특성

장성훈, 김심의

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《우리는 현실발전의 요구에 맞게 나라의 과학기술을 빨리 발전시켜야 하겠습니까.》
(《김정일선집》 증보판 제11권 134페이지)

포유동물에서 SR-B1접수체가 고밀도기름질단백질접수체로서 콜레스테롤의 선택적섭취를 유도하고 콜레스테롤의 운반과정에 참가한다[3]는것은 밝혀졌지만 비루스침입에 관여한다는 연구자료는 적다.

우리는 초어를 연구대상으로 하여 비루스침입에서 중요한 역할을 하는 sr-b1유전자의 배렬특성을 보았다.

재료와 방법

초어sr-b1 cDNA의 증폭에 리용한 프라이머는 Primer premier 5.0프로그램으로 설계하였는데 그것을 표에 보여주었다.

표. 초어sr-b1 cDNA의 증폭에 리용한 프라이머

프라이머이름	배렬(5'→3')	크기/bp	증폭배렬	$T_m/^{\circ}\text{C}$
15F1(상류방향)	TGTGTGAGTAAGGATGGCGGTG	22	보존배렬	63.0
15R1(하류방향)	CAGTCCATTCAACCACAACGCT	22	보존배렬	63.5
15scIF1(상류방향)	CGTGATATTATACCTCAGCGACAAG	25	3'-말단	60.5
15scIF2(상류방향)	AGCGTTGTGGTTGAATGGACTG	22	3'-말단	56.7
15scIR1(하류방향)	GGGACTGTCGTGGTGTTTGT	20	5'-말단	57.9
15scIR2(하류방향)	GGAGAGTTCGTTCTTCGGGT	20	5'-말단	57.7
SMARTII(TM)(상류방향)	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACGCGGG	30	5'-말단	68.0
CDSIII(하류방향)	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAC(T) ₃₀ VN	57	3'-말단	68.0

V-A, G, T중 임의의 뉴클레오티드, N-임의의 뉴클레오티드

SMART cDNA합성법[1]을 리용하여 초어의 중간밸로부터 분리한 mRNA를 역전사시켜 주형cDNA를 얻었다. 다음 Vector NTI프로그램으로 다중배렬상동성검색을 진행하고 진화적으로 보존된 배렬을 증폭하기 위한 프라이머를 합성하였다. 이 프라이머를 리용하여 PCR법으로 초어tlr1유전자의 보존된 배렬을 증폭하였다. 다음 증폭된 단편을 pMD18-T운반체(《Promega》)에 재조합시키고 배렬분석을 진행하였다. 배렬분석자료에 기초하여 5'-말단과 3'-말단을 증폭하기 위한 프라이머를 설계하였다. SMART II와 15scIR1, 15scIR2, 15scIF1, 15scIF2, CDSIII 프라이머로 목적유전자의 양쪽 말단을 증폭하였다. 증폭된 5'- 및 3'-말단의 PCR산물들을 pMD18-T운반체에 재조합시키고 배렬분석을 진행하였다.

핵산배열의 분석은 Vector NTI프로그램으로 진행하였다. 단백질의 기능영역은 SMART와 TMHMM프로그램으로 분석하였다.

결과 및 논의

SMART cDNA합성법을 리용하여 얻어낸 초어sr-b1유전자의 증폭산물들을 pMD18-T운반체에 클론화한 다음 배열분석을 진행한 결과에 의하면 5′-말단과 3′-말단 증폭산물로서 130 및 818bp단편이, 중간배열로서 1 656bp의 배열이 분석되었는데 이 배열들은 호상 겹치므로 Vector NTI프로그램으로 분석하여 2 188bp의 완성된 cDNA배열(폴리A배열을 포함)을 얻었다.(그림 1) 초어sr-b1유전자에서 5′- 및 3′-비번역배열의 길이는 각각 21, 682bp이고 열린읽기들의 길이는 1 482bp이다. 이 배열에 의하여 암호화되는 단백질의 크기는 494aa이다.

그림 1에서 보면 이 유전자에는 번역시작코돈(ATG)과 중지코돈(TAG)이 있으며 3′-비번역배열에는 전사중지를 알리는 2개의 가상적인 폴리아데닐산신호배열(AATAAA)과 전사를 종결짓는 폴리A배열이 있다. 또한 2개의 막투과영역배열이 있다.

```

GTGTGAGTAAGGATGGCGGTGTCTAAATCTACATTAGCGATCGTTTTCTTAGTTCTGGGA      60
      M_A_V_S_K_S_T_L_A_I_V_F_L_V_L_G      16
GGTTTGGCAGTTTTGTTCGGGACTGTCGTGGTGTGGTGGACCTATTATAATAGACGAT      120
      G_L_A_V_L_F_G_T_V_V_V_F_V_G_P_I_I_I_D_D_      36
CAAATAGTAAAGAATGTAGAGATAAACCCGAAGAACGAACCTCTCCTACACTATGTGGAAG      180
      Q_I_V_K_N_V_E_I_N_P_K_N_E_L_S_Y_T_M_W_K_      56
GACATCCCGTTCCCTTTTTTATGTCTGTATATTTCTTTCATATTGTCAATCCTGACGAA      240
      D_I_P_V_P_F_F_M_S_V_Y_F_F_H_I_V_N_P_D_E_      76
ATCCTAAAAGGAGAAAAGCCCATGGTGATACAGAGGGGGCCATATGTGTACCGTGAAAAC      300
      I_L_K_G_E_K_P_M_V_I_Q_R_G_P_Y_V_Y_R_E_N_      96
CGCTGGAAGGACAACATCACATTCCATGACAACAACACAGTTTCGTATAAGGAATTTTCGG      360
      R_W_K_D_N_I_T_F_H_D_N_N_T_V_S_Y_K_E_F_R_      116
CAGTATTTCTTTGAGGAGAGTATGTCTGTGGGAGATGAATCCGATGTGGTCACCATCCCT      420
      Q_Y_F_F_E_E_S_M_S_V_G_D_E_S_D_V_V_T_I_P_      136
AACATGCTAGTGCTGGGCGCATCAGTAATGATGGAGAATATGCCGTTTCTTATACGCGTT      480
      N_M_L_V_L_G_A_S_V_M_M_E_N_M_P_F_P_I_R_V_      156
TTGCTCAGCGCCACGTTCAAGACCTTCAACGAGGGACCTTTCTTGACAAAACCAGTAGGA      540
      L_L_S_A_T_F_K_T_F_N_E_G_P_F_L_T_K_P_V_G_      176
GAACTCATGTGGGGCTACGACAGCAAGTTGGTGGACTTCCTGAACAAATATCTCCCTGGC      600
      E_L_M_W_G_Y_D_S_K_L_V_D_F_L_N_K_Y_L_P_G_      196
ATGCTTCCATCCAGCGCAAGTTTGGCCTATTTGCTGAGTTTAACAACCTCAAACACTGGA      660
      M_L_P_S_S_G_K_F_G_L_F_A_E_F_N_N_S_N_T_G_      216
CAGTTCACCGTCTTCACTGGCCAAGATGACATCCGAAAAGTTCATAAGGTGGACTCTTGG      720
      Q_F_T_V_F_T_G_Q_D_D_I_R_K_V_H_K_V_D_S_W_      236
AATGGCCTAAAAAGTGTGGATTACTGGAGGTCTGACCAGTGTAACATGATCAATGGTACA      780
      N_G_L_K_S_V_D_Y_W_R_S_D_Q_C_N_M_I_N_G_T_      256
GCGGGTCAAATGTGGCCTCCGTTTCATGACCACAGAGTCGACGCTGCCCTTCTACAGCCCT      840
      A_G_Q_M_W_P_P_F_M_T_T_E_S_T_L_P_F_Y_S_P_      276

```

GATGCGTGCAGGTCCATGGAGCTAGTGTACCAAAGGCCAGGAGTGTCTCAGGGGATTCCA	900
D A C R S M E L V Y Q R P G V S Q G I P	296
GTTTTCCGCTTTGTGGCCCCAAAGACTCTTTTTGCCAACGGTACAGATTATCCTCCCAAT	960
V F R F V A P K T L F A N G T D Y P P N	316
GAGGGCTTCTGTCCCTGTCGGCAGTCCGGCCTTCTCAACGTCAGCACCTGCAGACACAAT	1020
E G F C P C R Q S G L L N V S T C R H N	336
TCCCTGTGTTTCATCTCCCATCCACACTTTTTTGCGGCTGATCCCGTCCTTTTGACACT	1080
S P V F I S H P H F F A A D P V L L D T	356
GTTAACGGATTGAGCCCAATGAAGATGAACATGGACTTTTTATCGACATCCACCCGGAG	1140
V N G L S P N E D E H G L F I D I H P E	376
ACTGGAGTGGCGATGAACGTTTCCATACGGCTGCAGCTCAATCTGCTCATGAAGAGAGTT	1200
T G V P M N V S I R L Q L N L L M K R V	396
TCAGGCATCAGAAACAGGAAAGATAACAGAGGTGGTGATGCCCATGATCTGGTTTGAG	1260
S G I T E T G K I T E V V M P M I W F E	416
GAGAGTGGCTACATTGACGGTCCCGTTCTCAACACGTTCCGCACATAATCTGGTGGTGCTG	1320
E S G Y I D G P V L N T F R T N L V V L	436
CCCATGGTCATGGAGTACATGCAGTACATCTTCATCGGTCTCGGACTCGCAACCATTCTG	1380
P M V M E Y M Q Y I F I G L G L A T I L	456
GGAGCCGTGATATTATACCTCAGCGACAAGGTAAGTAAGAAGTGTGGCCAGCCCTGC	1440
G A V I L Y L S D K V K S K K C G Q P C	476
ACAGATGTGGATCCATCCAGCTCCGCCAGTGAAAAAGACCCCATTAACAGGCTCAACG	1500
T D V D P S S S A S E K T P L L Q A S T	496
AGCTAGAGCCAATATCCACACTGCAGCTTACTTTTCATTAGAAACTCACAATCCCACAATC	1560
S -	498
CACTGGCCAGCA AATAAAA AGTTCTTTTATTAAGCGTTGTGGTTGAATGGACTGGATCAAG	1620
AACAGACCATCAGCAACAGGATTATGAACACTTTTGAGTGGGGATGTTTCTTCTGTGGT	1680
TTTTTTGCACTGCAGTTGGGTTTAAAGTGCTCTGTGGGGTTAATACTACATTTTCTCGTT	1740
CTTTTTATTTGTATGAAAAAGTGAGCAGCGTCTGCAATGTGGTACAGGTAGATATTTTTT	1800
TGACCCATTTAAATTAATAATTGATAAAATAGTAGACAATGAATTTTCAAATGGTGTG	1860
TTCATAATGGTCAAAACACTCCAAACCTTACTTCCTCAGAGGGGAAAA AATAAA GAGATTT	1920
AACCTTTATCCTGTAAATAAGGAACGTGTATGAACACTTTGTAACAATCACGTGCTGACT	1980
GAAATATCCTCCGAAAGCAGAAAAAATGCTGAGCCAACACATTTCTCAGTATGCTGAATA	2040
CACTTGTTGCTTGATTCTGTCCGTAAAGGCACCTGTATTTAATGAATGTAAAAAATTCT	2100
TTAATATGTCATTGTTGCATTCTCTTGATGTTTCAGTATAAAATGAAATGGGATTATTTT	2160
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	2188

그림 1. 초어sr-b1 유전자의 핵산과 아미노산배열

네모칸으로 표시한것은 번역시작코돈인 ATG와 번역종지코돈인 TAG, 2중밑선을 친 부분은 막투과 영역배열, 3'-비번역배열에 있는 폴리아데닐산신호배열인 ATTAAA는 강조사선체로 표시함

SMART 및 TMHMM 프로그램으로 분석해보면 초어sr-b1 유전자는 1개의 신호펩티드배열(1~23aa)과 1개의 CD36도메인으로 이루어져있다.(그림 2)

포유동물에서 SR-B1접수체는 여러가지 리간드를 인식하며 그 기능이 다양하다. 이 접수체는 동맥경화와 병원체에 대한 숙주의 방어기능, 세포접착, 세포증식과 관련된 기능을 수행한다.[2] 이 접수체는 또한 C형간염바이러스침입때 바이러스와 복합체를 형성하여 바이러스가 유기체의 면역방어선을 통과하여 몸안에 침입하게 하는데서 중요한 작용을 한다.[3]

초어SR-B1접수체가 포유동물의 SR-B1접수체에서와 같이 CD36도메인을 가지고있다는것은 초어sr-b1 유전자가 포유동물에서처럼 물고기에서 바이러스침입을 돕는 작용을 할수 있다는것을 보여준다.

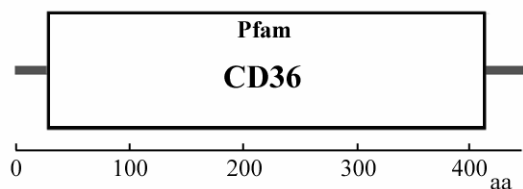


그림 2. 초어SR-B1접수체의 도메인영역

맺는말

초어sr-b1 유전자의 cDNA 전 배열의 크기는 2 188bp이다. 5'-비번역배열의 크기는 21bp 이고 열린읽기틀의 크기는 1 482bp이며 3'-비번역배열의 크기는 폴리A를 포함하여 682bp 이다. 열린읽기틀은 494개 아미노산을 암호화한다.

초어sr-b1 유전자는 1개의 CD36도메인으로 이루어져있으며 2개의 막투과령역배열을 가지고있다.

참고문헌

- [1] G. Gao et al.; JBC, 272, 33, 67, 2000.
- [2] M. Krieger; Curr. Opini. Lipid, 8, 275, 2012.
- [3] Y. M. Tong et al.; Journal of Virology, 85, 2793, 2011.

주체106(2017)년 5월 5일 원고접수

**Characterization of the Sequence of sr-b1 Gene from Grass Carp,
*Ctenopharyngodon idella***

Jang Song Hun, Kim Sim Ui

The full length cDNA of grass carp sr-b1 gene is 2 188 nucleotides (nt). The 5'-untranslated region (5'-UTR) sequence is 21 nt. Open reading frame(ORF) is 1 482 nt. The 3'-untranslated region (3'-UTR) sequence is 682 nt, including a poly A tail. The ORF of sr-b1 gene encodes a protein composed of 494 amino acids(aa). It has one CD36 domain and two transmembrane zones.

Key words: grass carp, sr-b1 gene, pathogen challenge