

감귤로부터 분리한 Sucrose Phosphate Synthase 유전자 분리 및 특성 분석

김 인 중^{1,2,3,*} · 김 찬 식^{1,3}

¹제주대학교 생명자원과학대학 생명공학부

²제주대학교 방사선응용과학연구소

³제주대학교 아열대농업생명과학연구소

Isolation and Sequence Characteristics of Sucrose Phosphate Synthase cDNA from Citrus

In-Jung Kim^{1,2,3,*} and Chan-Shick Kim^{1,3}

¹*Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences, Cheju National University,
Jeju 690-756, Korea*

²*Applied Radiological Science Research Institute, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea*

³*Research Institute for Subtropical Agriculture and Biotechnology, Cheju National University,
Jeju 690-756, Korea*

ABSTRACT

Sucrose phosphate synthase (SPS) regulates the contents of carbohydrates including sucrose which is a key regulator of the plant growth and yield by the catalysis of sucrose synthesis. Also, sucrose contents play key role in determination of the fruit quality. In order to isolate a gene source for modulating the sucrose content in crops, a 3314 bp cDNA (CuSPS) encoding sucrose phosphate synthase as a target gene was isolated from Citrus cDNA library, which contains an open reading frame encoding 1057 amino acids. The predicted molecular weight is about 115 kDa. The

sequence analyses indicated that CuSPS showed significant similarities to other plants SPS, whose similarities are a high degree to dicots SPS more than those of monocots and microbes at the nucleotide and amino acid sequence levels.

서 론

감귤의 품질의 주요 결정인자는 당도(당함량)로서, 당도를 중요시하는 국내의 경우에는 특히 그 중요성이 크다. 감귤에서 당은 주로 glucose와 fructose, sucrose로 이루어져 있으며, 감귤이 익음에 따라 당함량은 증가한다고 알려져 있다. 이

중 sucrose의 함량이 가장 많은 비중을 차지하며, 감귤과실의 성숙에 따라 sucrose의 함량의 증가 양상이 뚜렷하며, 온도와 빛의 세기에 의해 영향을 받는다(Holland et al., 2005).

Sucrose는 모든 식물의 탄수화물 대사에서 중심적인 위치에 있으며, 수송당과 저장물질, 신호물질, 삼투압조절 물질 등으로서 많은 기능을 가지고 있다. 이를 통해 식물의 발달 및 성장, 분화에 영향을 주는 물질이다. Sucrose는 주로 sucrose phosphate synthase와 sucrose phosphatase에 의해 합성되고, sucrose synthase와 invertase에 의해 분해된다.

Sucrose phosphate synthase는 영양(source) 조직에서 sucrose의 주요 생합성 효소로서 옥수수(*Zea mays*)와 목초(Poaceae)에서 식물생장과 수확량에 있어서 상관관계가 있음이 보고되었다(Castleden et al., 2004). 특히 다양한 옥수수의 품종별 비교를 통해 광합성 핵심효소나 전분생합성 핵심효소와는 달리 식물생장률이 SPS 효소활성과 비례관계에 있음을 보여주었다. 벼에서 SPS 활성은 잎비대 속도와 비례하고 식물의 높이와 발현양상이 일치하였다. 그리고 사탕수수(Sugarcane)와 참외(Muskmelon), 감귤(Citrus)에서 줄기와 과실에서의 sucrose 축적이 SPS 활성에 의존한다고 보고되었다(Hubbard et al., 1989 ; Iglesias et al., 2002).

이러한 연구들을 통해 SPS유전자는 주요 작물의 성장과 생산량등의 다양한 특성에 대한 생화학 표지로서 이용될 수 있음이 제시되었다. 유전자에 대한 연구는 옥수수(Worrell et al., 1991)와 시금치(Klein et al., 1993)로부터 처음으로 클로닝되면서 많은 연구가 이루어졌다. 뒤이어 시아노박테리아(Lunn and MacRae, 2003)뿐만 아니라 20종의 다양한 쌍자엽식물과 벼와 밀을 비롯한 몇 종류의 단자엽식물로부터 분리되었다. 다양한 작물을 대상으로하는 게놈 프로젝트와 이에 따른 생물정보분석에 의한 결과에 의해 현재 SPS 유전자는 5개의 계열(family)로 존재하는 것으로 보고되고 있다(Castleden et al., 2004 ; Langenkamper et al., 2002).

본 연구를 통해 작물의 수확량과 성장, 발달, 당도와 깊은 연관성을 가지고 있는 SPS 유전자를

감귤과실로부터 분리하여 생명공학기법에 의해 다양한 작물의 수확량과 당도를 향상시키기 위한 유전자원으로서 이용하고자 하였다. 또한 쌍자엽 식물이면서 과수작물인 감귤로부터의 SPS 유전자의 분리와 분석은 SPS 유전자의 분자생물학적 분석과 중간 유연관계를 분석하는데 유용한 분자표지인자로서 사용될 수 있다.

재료 및 방법

1. 실험재료

Sucrose phosphate synthase 유전자를 분리하기 위해 사용한 감귤 재료는 궁천조생(*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa-Wase) 품종을 사용하였다. 난지농업연구소 감귤연구센터의 관리하여 노지 조건에서 재배된 것을 사용하였으며, 과실, 잎 등의 조직을 채취하여 본 실험에 이용하였다.

2. 감귤 Sucrose Phosphate Synthase 유전자 단편 분리

SPS 유전자의 단편을 증폭하기 위해 sense primer로서 DCuSPS5f(5'-G[G/C]CA[T/C]TA[T/C]GC[A/G]GATGC[A/C]GG[A/G/T]GA-3')를 합성하였고, antisense primer로서 DCuSPS3f(5'-GACAT[T/G/C]TC[A/C/T]TCAAT[G/A/C][T/C]CATCTC-3')를 합성하여 PCR에 사용하였다(Fig. 1). 이들 PCR primer는 GenBank로부터 다양한 식물의 SPS 유전자의 서열을 이용하여 ClustX 프로그램을 통해 많은 식물체 SPS 유전자에서 보존된 부위의 염기서열을 바탕으로 하여 제작하였다. 역전사효소와 random primer에 의해 cDNA의 1차 가닥을 합성하였고, 이를 주형으로 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR 반응조건은 94°C 1분, 50°C 1분, 72°C 30초를 총 30회 수행하였다. 증폭된 PCR 산물을 pGEM-T easy vector (Promega)에 삽입한 후, 염기서열을 결정하고 BlastN과 BlastX 프로그램을 통해 생물정보분석을 수행하여 SPS 유전자의 단편임을 확인하였다.

3. cDNA 유전자은행 작성

전체 RNA는 hot phenol RNA 방법(Verwoerd et al. 1989)에 의해 감귤과실로부터 추출하였다. Poly(A)+ RNA는 PolyAtract mRNA isolation System II(Promega)과 사용자의 지침에 따라 분리하였다. 분리된 mRNA를 주형으로 Zap-cDNA synthesis kit와 Gigapack III gold cloning kit(Stratagene)를 사용하여 감귤 과실 cDNA library를 제작하였다. Plaque hybridization에 의한 screening시 사용한 probe는 앞서 PCR을 통해 증폭한 SPS 유전자의 단편 cDNA를 방사성 동위원소인 [α -³²P]dCTP로 표지하였다. 이와 같이 만들어진 cDNA library와 probe를 이용하여 표준 plaque lift 방법(Sambrook and Russell, 2000)에 따라 탐색하였다. 30% formamide, 5x Denhardt's 용액, 5x SSPE, 100 μ g/ml denatured salmon sperm DNA 혼합액에서 니트로셀룰로소 막을 담근 후 42°C에서 1시간 내지 2시간동안 전 혼성화(prehybridization)를 수행하였다. 혼성화(hybridization) 실험은 probe를 넣고 24시간 동안 동일한 조건에서 수행하였다. 혼성화가 완료된 막은 2x SSC, 0.05% SDS 혼합액에서 42°C, 15분간 흔들어주면서 세척한 후, 0.2x SSC, 0.1% SDS 혼합액에서 42°C, 10분간 2회와 68°C, 15분간 3회 세척하였다.

이 막을 건조한 후 X-ray film에 24시간 동안 감광시켜 SPS 유전자를 포함하는 클론을 분리하였고, *in vivo* excision에 의해 phagemid로 전환하여 염기서열분석에 사용하였다.

4. 염기서열 분석

DNA의 염기서열은 dideoxy chain termination 방법에 따라 수행하였으며, 이 때 사용한 primer는 통상적으로 이용하는 T7과 T3 universal primer를 사용하여 cDNA의 양말단 염기서열을 결정하였고, 연속적으로 primer를 합성하여 전체 염기서열을 분석하였다. 염기서열은 BlastX와 BlastN, Clustal X(version 1.64b) 프로그램을 사용하여 번역틀 추정, 상동성 비교, 유연관계 등에 대한 분석을 수행하였다.

결 과

1. SPS 유전자 단편 분리

SPS 유전자를 분리하기 위해서는 우선 probe로 사용할 짧은 SPS 유전자의 단편의 확보가 필요하다. 이에 따라 다양한 식물에서 보고된 SPS 유전자의 서열비교를 통해 보존된 부위의 서열로부터 양방향의 primer를 합성하였다(Fig. 1). 감귤 과실로부터 추출한 RNA를 주형으로 하여 역전사과정과 PCR(RT-PCR)을 수행하여 약 600bp 크기의 cDNA 산물을 얻을 수 있었다. 이 PCR 산물을 pGEM-T easy vector에 연결한 후(Fig. 2), 염기서열 결정과 이를 이용한 상동성 비교분석을 수행하였다. 그 결과 획득된 PCR 산물은 다른 식물의 SPS 유전자와 높은 상동성을 나타내었다. 이러한 결과를 종합할 때 확보한 cDNA 단편은 온주밀감의 SPS 유전자단편으로 확인하였다.

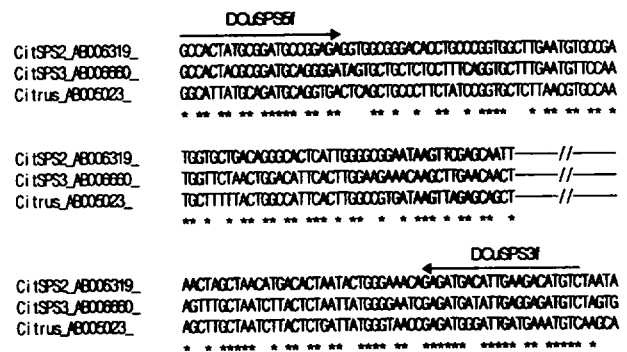


Figure 1. Degenerate primers for isolating a partial cDNA fragment encoding sucrose phosphate synthase from Citrus mRNA.

2. 감귤 cDNA library 제작

감귤과실은 수분함량이 높고 펙틴과 같은 섬유성 물질, 카로티노이드 등의 색소 등의 2차 대사 산물을 많이 함유하고 있어 예기장대나 담배 등과 같은 초본식물에 비해 순수한 RNA 및 mRNA의 분리에 어려움이 있다. 따라서 Verwoerd 등(1989)에 의해 보고된 RNA 추출방법을 약간 변형하여 RNA를 추출한 후, Promega사의 mRNA

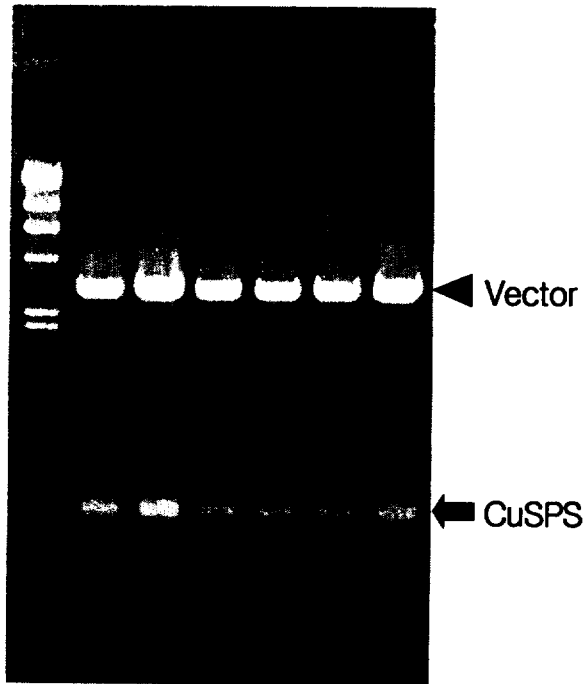


Figure 2. Subcloning of partial cDNA fragment encoding CuSPS into pGEM-T easy vector. Recombinant plasmid was treated with *EcoRI* restriction enzyme and electrophoresed onto agarose gel (1.0%). The left lane is λ /*HindIII* digest DNA as a size standards.

isolation system을 이용하여 cDNA library를 제작할 수 있는 정도의 mRNA를 확보하였다. 이를 바탕으로 감귤 mRNA로부터 cDNA library를 제작하여 역가(titer)를 측정된 결과 vector 1 μ g vector DNA 당 2백만 pfu 이상을 확인하였고, 삽입 cDNA의 크기가 대부분 500bp 이상임을 확인하였다. 이러한 결과는 cDNA library가 성공적으로 제작되어 유전자를 분리하기 위한 library로서 사용될 수 있음을 나타내준다.

3. SPS 유전자의 염기서열 특성

감귤 cDNA library로부터 분리한 여러 개의 클론 중, 다른 식물에서 보고된 SPS 유전자 cDNA의 크기와 유사한 크기의 삽입 DNA를 가지고 있는 SPS 유전자의 cDNA(*CuSPS*) 크기는 3,314 bp였다(Fig. 3 & 4). BlastN 프로그램을 통해 염

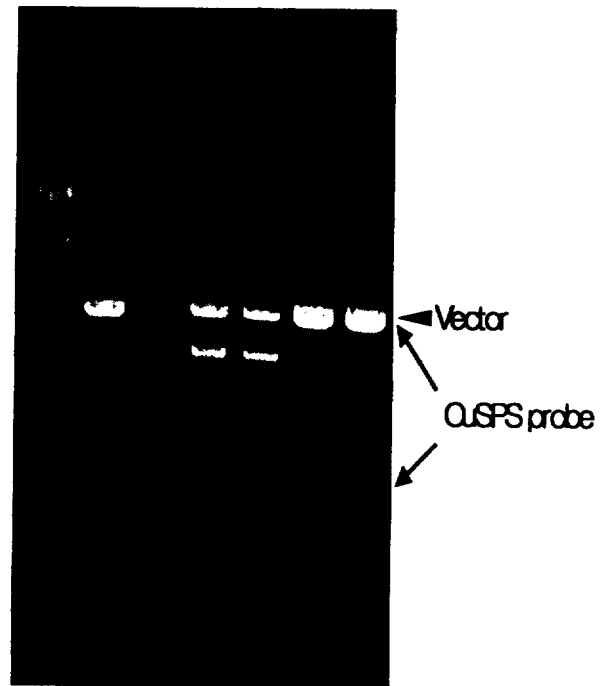


Figure 3. pBluescript SK(+) plasmid containing *CuSPS* full-length cDNA. The plasmid was treated with *EcoRI* and *XhoI* restriction enzymes and then electrophoresed onto agarose gel (1.0%). The left lane is λ /*HindIII* digest DNA as a size standards.

기서열 수준에서 다른 식물체의 SPS 유전자와 상동성을 비교해본 결과 키위(*Actinidia chinensis*)와 BlastN score 1683, 다른 종의 키위(*Actinidia deliciosa*)와는 1358, 알파파(*Medicago sativa*)와는 999, 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)와는 852의 높은 상동성을 나타내었으나, 단자엽식물인 벼(*Oryza sativa*)와는 200, 옥수수(*Zea mays*)와는 157, 빵밀(*Triticum aestivum*)와는 145의 낮은 값을 나타내었다. 그러나 미생물과는 상동성이 거의 없었다. 이러한 결과를 통해 SPS 유전자에 있어서 염기서열수준에서의 쌍자엽유래의 진화적 유연관계를 추정할 수 있었다.

이 *CuSPS* cDNA는 3314bp의 중단되지 않는 한개의 번역틀(ORF)을 가지고 있음을 분석하였고(Fig. 4), 이를 통해 1057개의 아미노산으로 구성된 단백질을 암호화하고 있는 유전자임을 추정할 수 있었다.

M A G N D W I N S Y L E A I L D V G P G	20	D L Y G O V A Y P K H H K O S D V P E I	560
ATGGCAGAAACGATTGGATAAACAGTTACCTCGAAGCAACTACTGATGTGGCCCGCGT	60	GATCTGTATGGCAAGTTCATACCCGAACATCATAAACATCTGATGTCTCTGAAATA	1680
L D D A K S S L L L R E R G R F S P T R	40	Y R L A A K T K G V F I N P A F I E P F	580
CTCGACGACGCTAAATCCTCGTCTCTTCCGAGAGAGAGGGAGTTCCAGTCCGACGAGG	120	TATCGTCTGGCAGCAAGACAAAGGGTGTTCATATAATCCAGCTTTTATAGAGCCCTTTT	1740
Y F V E E V I T G F D E T D L H R S W V	60	G L T L I E A A A H G L P I V A T K N G	600
TACTTGTGCGAGGAATCATCACCGGATCGATGAGACCGATCTCCACCGTCTCTGGGT	180	GGGCTTACTTTGATTGAGGACGCGCTCATGGTTTCCCATCTGTGCCACTAAGAATGGA	1800
K A Q A T R S P O E R N T R L E N M C W	80	G P V D I H R V L D N G L L V D P H D O	620
AAGGCTCAAGCGACGAGGAGTCTCAAGAGAGAAACGCGGCTGGAGAACATGTGTGG	240	GGACCTGTTGATATACATCGGGTCTTGACAAATGGTCTTCTGTGATCCCATGATCAG	1860
R I W N L A R Q K K Q L E G E A A Q R M	100	Q S I A D A L L K L V A G K Q L W A R C	640
AGGATTTGGAACCTGGCTCGTCAAAAAAGCAGCTTGAGGAGAGGCGCTCAGAGAAATG	300	CAGTCTATTGCTGATGCTCTTCTTAAGCTTGTGCTGTAAGCACTTTGGGCAAGGTGT	1920
A K R R L E R E R G R R E A T A D M S E	120	R O N G L K N I H L F S W P E H C K T Y	660
GGAAAGCTGCTTGAACGTGAAGAGGCGGAGGGAAGCAACTGCTGATATGTCTGAA	360	CGACAGATGGATTGAAGACATTACCTATTTTGTGGCCAGACGCTGTAAGCACTTAC	1980
D L S E G E K G D I V S D V S A H G D S	140	L S R I A G C K P R H P O W Q R T D D G	680
GACTTGTCTGAGGAGAAAAAGGGACATGTGACCGATGTATCGGCTCATGGTGATAGT	420	CTATCTGATAGCCGGTTCGAAACCCAGGCATCCGCACTGGCAGAGAACTGATGATGA	2040
T R S R L P R I S S V D A M E T W I S Q	160	G E T S E S D S P G D S L R D I Q D I S	700
ACTAGAAGCAGACTACCTAGAATAAGCTCTGTGATGCAATGGAAACATGGATTAGTCAA	480	GGTGACATCAGAGTCAGATTACCAAGTGTATCCGAGTATCCGAGAGATATACAGGATATATCT	2100
Q K G K K L Y I V L I S I H G L I R G E	180	L N L K F S L D G E K S G A S G N D D S	720
CAGAAAGGAAAAAGCTATATATTGTGTAATAAGCACTCATGCTCATACGAGGTGAA	540	TTGACTTGAAGTTTCATTGGATGGAGAAAGAGTGGAGCTAGTGGAAATGATGATCT	2160
M M E L G R D S D T G G Q V K Y V V E L	200	L D S E G N V A D R K S R L E N A V L A	740
AATATGGAGTTGGCCGCTGATCTGATACCTGGTGTGAGTAAAGTATGTTGGAACTT	600	TTGACTCTGAAGGAAATGTTCCGACAGAAAGAGTAAAGTAAAGTCTGCTGGCA	2220
A R A L G S M P G V Y R V D L L T R Q V	220	W S K G V L K D T R K S G S T D K V D Q	760
GCAAGACCTTGGCTCCATGCCAGGATTTATCGAGTTGATTTGCTCAGTACAGCAAGTA	660	TGGTCAAAGGTTTCTGAAAGTACCCGAAAGTCTGGTCCAGCAATAAGTGGACAG	2280
S A P D V D W S Y G E P T E M L T P R N	240	N T G A A K F P A L R R R K H I F V I S	780
TCGGCACCGATGTAGATTGGAGTATGGTAACCCACAGAGATGCTGACTCCACGCAAC	720	AATACAGTCTGCTAAGTTTCCAGCATTGAGGAGCCGAAAGCATATCTTGTCTATTCT	2340
S D D F M D D M G E S S G A Y I I R I P	260	V D C D S T T G L L D A T K K I C E A V	800
TCAGATGATTTAGGACGATATGGGGAGAGAGCGGCTCTATATCATTCGAAATACCA	780	GTGGATTGTGATAGCATTACAGGCTCTTCTGATGCGACTAAGAAGTCTGTGAGGCTGTG	2400
F G P K D K Y I A K E L L W P H I P E F	280	E K E R T E G S I G F I L S T S M T I S	820
TTTGGACAAAAGATAAATATATCGTAAAGAACTTTTATGGCTCAGATCCCTGAGTTT	840	GAAAGGAAAGGACTGAAGGCTCTATAGGTTTATATGTCAGACTAATGACCATATCT	2460
V D G A L N H I I R M S N V L G E Q I G	300	E I H S F L V S G H L S P S D F D A F I	840
GTTGATGGTGCACCAACATATACAGGATGTCATGTTCTAGGGAGCAAAATGGT	900	GAGATTCACTTTTCTGGTATCAGGTCAGTGTAGCCCTAGTATTGATGCTCTTTATT	2520
G G K P V W P V A I H G H Y A D A G D S	320	C N S G S D L Y Y S T L N S E D G P F V	860
GGTGGAGGACGCTGCGCTGTTGCCATTCATGGGATATGCGATGCGAGTGACTCA	960	GTGACAGTGGCAGTCTCTACTATTCAACTCTTAATCTGAGGATGGCCCTTGTGTG	2580
A A L L S G A L N V P M L F T G H S L G	340	V D F Y Y H S H I E Y R W G G E G L R K	880
GCTGCCCTTCTATCCGGTCTCTTAAGTGGCAATGCTTTTTACTGGCCATTCACTTGGC	1020	GTTGACTTCTATTACCACTCACAGATTGAATTCGTTGGGGTGGGAAAGGACTGAGGAAG	2640
R D K L E Q L L K Q A R L S R D E I N A	360	T L V R W A S Q V T D K K A E S G E K V	900
CGTGATAAGTTAGAGCAGCTTTAAAAAGCTCGAATTATCGAGGATGAAATAAATGCT	1080	ACTTGGTCCGGTGGCATTCTCAAGTTACTGATAAAAAGGCGGAGAGTGGAGAAAGGTT	2700
T Y K I M R R I E A E E L S L D A S E I	380	L T P A E Q L S T N Y C Y A F S V Q K P	920
ACGTACAAAATAATCGCTCGAATAGAGGCTGAGGAATTAATCCCTTGTGCTGCTGAAATA	1140	TTGACACCAGCTGAACACTTCAACCAACTACTGCTATGCTTTTATGTCGAAAAGGCT	2760
V I T S T R Q E I E E Q W R L Y D G F D	400	G M T P P V K E L R K Y L R I Q A L R C	940
GTGATAAGTACGACTAGCCAGGATAGAGAGCAATGGCGTTTATGATGGTTTGTGAT	1200	GGAACTGCTCCCTGTTAAGGAGCTCGGAAGTGTGAGAATTCAAGCCTTCTGTTGT	2820
P Y L E R K L P A R K R N V S C Y G K	420	H V I Y C O N G S R V N V I P V L A S R	960
CCTGTACTAAGCTAACTACAGCCAGATTAAAGTATGTGCTGTTATGGCAG	1260	CATGTTATTATTGCCAAAATGGTAGCAGGTTAATGTAATCCAGTTTGGCATCACGT	2880
F M P R M A I I P P G M E F H H I V P Q	440	S O A L R Y L Y L R W G V E L S K M V V	980
TTCATGCTCGCATGGCTATAATCTCTCGAATGGAGTTCATCATATTGTTGCCCAA	1320	TCCAGGCTCTGAGGTATCTATATCTCGGTGGGTGTGAGATTGTCAAAGTGGTGGT	2940
D G D M D G E T E G N E D N P A S P D P	460	F V G E S G D T D Y E G L L G G V H K T	1000
GATGGTATATGATGGTGAACAGAAAGAAATGAAGACAATCCTGCTCTCCAGATCCG	1380	TTTGTGGGAGTCTGGGACACGAGTACCAAGGATGCTGGGGTGTGCACAAAAC	3000
P I W S E I M R F F T M P R K P V I L A	480	V I L K G I C S S S S N O I H A N R S Y	1020
CCTATCTGGTCTGAGATAATGCGCTTCTTACAAACCCAGTAAGCCTGTGATTCTTGCA	1440	GTAATATGAAGGCAATTCAGTAGTTCAGCAATCAATCCATGCTAAGCCAGCTAC	3060
L A R P D P K K N I T T L V K A F G E C	500	P L S D V M P I D S P N I V Q T P E D C	1040
CTTGTAGGCGGATCAAAAAAGAAATACCAACTTTGGTTAAGCATTTGAGAGATGT	1500	CCTCTCTCAGATGATGCCAATGACAGTCCCAACTGTTGAGAGGCTGAAGATTGC	3120
R P L R E L A N L T L I N G N R D G I D	520	T T S D I R S S L E O L G L L K V -	1057
CCTGCCAATAGAGAGCTGCTAATCTTACTCTGATTATGGTAACCGAGATGGGATTGAT	1560	ACAACCTCTGATCCGCGTCTTTGGAGCAATAGCACTCTTAAGGCTGAAAGGTT	3180
E M S S T S A S V L L S V L K L I D K Y	540	TCAGCCCTGCTCCTCCTCTTATCTCTTGGTTAAATTCATCTGAGATCTTCTCATG	3240
GAATGTCAAGCACAGTCTCTGTTCTCTCAGTCTGAAGCTTATTGACAAAAT	1620	CTGCTGACATTGTTCAATTTGGGCTTTCTCTGTTGGCTGTTATGCAAAAGCTTC	3300
		CTCTCAGTTTTTA	3314

Figure 4. Nucleotide and deduced amino acid sequence of *CuSPS* cDNA isolated from Citrus cDNA library.

4. SPS 단백질 서열 특성

Compute pI/Mw tool(http://www.expasy.org/tools/pi_tool.html)을 통해 단백질의 특성을 분석한 결과 CuSPS 단백질의 크기는 약 118 KDa으로서 예상되는 등 전점(pI)은 6.16이었다. Domain 탐색을 수행한 결과 이 단백질은 glycosyl transferases group 1과 predicted hydrolases of the HAD superfamily 의 2개가 발견되었다(Fig. 5). BlastP 프로그램을 이용하여 아미노산 서열 수준에서 상동성을 비교해 보았을 때 키위(*Actinidia chinensis*)와의 83%의 identity와 92%의 positive값을 나타내었다. 그 이외에도 담배(*Nicotiana tabacum*)와 감자(*Solanum tuberosum*)와, 토마토(*Lycopersicon esculentum*)는 identity와 positive의 값이 각각 80%과 90%, 참외(*Cucumis melo*)와는 81%와 90%, 잠두(*Vicia fava*)와는 81%와 91%로서 높은 값을 나타내었다. 반면에 단자엽식물로부터 분리되어 보고된 SPS 유전자의 아미노산 서열과는 낮은 상동성을 보여주었다. 즉 빵밀(*Triticum aestivum*)과는 각각의 값이 50%와 66%, 벼와는 45%와 60%로서 미생물과도 비슷한 상동성을 보여주었다. 미생물의 경우 한 예로서 *Nodularia spumigena*와는 그 값이 45%와 60%로서 단자엽식물과 비슷하였다. 이러한 결과는 염기서열 수준에서와 동일한 결과인 쌍자엽 유래의 진화적 유연관계를 제시해주며, SPS 유전자의 분화가 조기에 이루어졌음을 추정케 해준다.



Figure 5. Domain prediction of CuSPS protein. "Glycos_transf_1" and "Cof" mean Glycosyl transferases group 1 and Predicted hydrolases of the HAD superfamily domains, respectively. Numbers is the length of polypeptide chain of CuSPS.

고찰

Sucrose phosphate synthase(SPS) 유전자는 생물정보분석을 통해 sucrose 생합성을 좌우하는 주요 효소로서, 식물체 내의 sucrose 함량을 조절하여 식물의 생장, 발달, 당도 등에 영향을 주는 핵심 효소이다. 감귤은 국내의 경우 제주도에 주로 생산되는, 제주도의 경제작물로서 미국, 중국, 일본 등의 감귤품종과 경쟁하기 위해서는 당도 등의 품질향상이 요구되고 있다. 따라서 본 연구를 통해 분리된 감귤유래의 SPS 유전자는 유전자 조작에 의해 감귤을 비롯한 탄수화물 또는 수확량, 크기 등의 제어가 필요한 작물에 도입하여 유용 작물품종을 육종하는데 유용유전자로 이용될 수 있을 것이다.

사사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호 : 2005030103440)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Castleden CK, Aoki N, Gillespie VJ, MacRae EA, Quick WP, Buchner P, Foyer CH, Furbank RT, Lunn JE (2004) Evolution and function of the sucrose-phosphate synthase gene families in wheat and other grasses. *Plant Physiol.* 135: 1753-1764
- Holland N, Menezes HC, Lafuente MT (2005) Carbohydrate metabolism as related to high-temperature conditioning and peel disorders occurring during storage of citrus fruit. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8790-8796.
- Hubbard NL, Huber SC, Pharr DM (1989) Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon

- (*Cucumis melo* L.) Fruits. *Plant Physiol.* 91: 1527-1534
- Iglesias DJ, Lliso I, Tadeo RF, Talon M (2002) Regulation of photosynthesis through source: sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiol. Planta.* 116: 563-572
- Klein RR, Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME (1993) Cloning and developmental expression of the sucrose-phosphate synthase gene from spinach. *Planta* 190: 498-510.
- Langenkamper G, Fung RW, Newcomb RD, Atkinson RG, Gardner RC, MacRae EA (2002) Sucrose phosphate synthase genes in plants belong to three different families. *J. Mol. Evol.* 54: 322-332.
- Lunn JE, MacRae EA (2003) New complexities in the synthesis of sucrose. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 208-214.
- Verwoerd TC, Dekker BM, Hoekema A (1989) A small-scale procedure for the rapid isolation of plant RNAs. *Nucleic Acids Res.* 17: 236
- Worrell AC, Bruneau JM, Summerfelt K, Boersig M, Voelker TA (1991) Expression of maize sucrose phosphate synthase in tomato alters leaf carbohydrate partitioning. *Plant Cell* 3: 1121-1130
- Sambrook J, Russell DW (2000) *Molecular cloning: a laboratory manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

