



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년12월11일
(11) 등록번호 10-0769362
(24) 등록일자 2007년10월16일

(51) Int. Cl.

A01K 67/033 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0018883

(22) 출원일자 2007년02월26일

심사청구일자 2007년02월26일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020010047973 A

US6943278 B2

논문1999.03

논문2004.07

(73) 특허권자
대한민국

(72) 발명자
윤은영

경기 수원시 권선구 당수동 한라비발디아파트 20
3동 1803호

구태원

경기 수원시 권선구 당수동 한라비발디아파트 20
3동 1803호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인
김영우

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 김정태

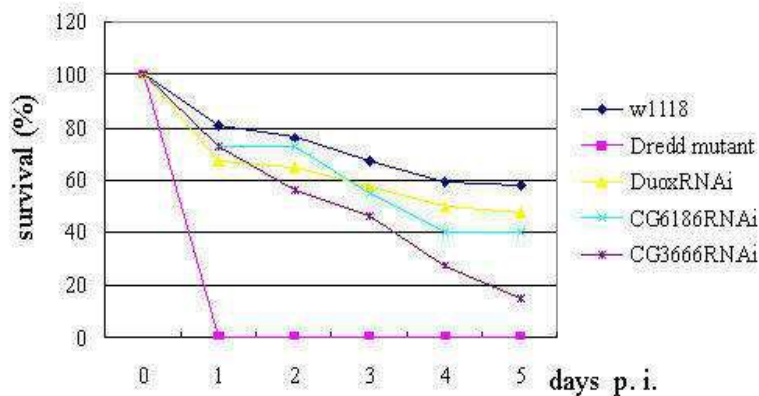
(54) 트랜스페린 기능이 결손된 형질전환 초파리 및 그 제작방법

(57) 요약

본 발명은 살아있는 곤충 생체내에서 트랜스페린의 기능을 확인하기 위해 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리를 제작하고 이를 이용하여 트랜스페린의 면역적 기능을 분석에 관한 것이다.

이를 위해, 초파리 트랜스페린 유전자 (CG6186, CG10620, CG3666) 발현 억제를 위해 pUAST-mub 벡터에 각각의 트랜스페린 cDNA를 도입하여 전이벡터를 구축하고, 구축된 전이벡터를 초파리에 미세주사하여 형질전환 초파리를 제작하였으며, Da-GAL4 드라이버와 교미를 통해 차세대에서 온몸에서 트랜스페린의 발현이 억제된 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리를 제작하였다. 제작한 형질전환 초파리를 이용하여 트랜스페린의 면역적 기능 분석 및 체내 철 분석을 수행하였다

대표도 - 도6



L 48

(72) 발명자

황재삼

경기 수원시 권선구 탑동 탑하우스빌 103동 403호

안미영

경기 용인시 수지구 풍덕천2동 삼성아파트 503-605

김남정

서울 관악구 봉천7동 서울대학교 교수아파트 122G
동 204호

강석우

경기 수원시 권선구 권선동 1235 풍림아파트 304동
202호

권오유

대전 중구 오류동 삼성아파트 31동 502호

이원재

서울 서초구 서초동 아크로비스타 C-1401

특허청구의 범위

청구항 1

트랜스페린 결손 돌연변이 초파리를 제작하는 방법에 있어서,

- (1) 초파리 트랜스페린 유전자 (CG6186, CG10620, CG3666) 발현 억제를 위해 pUAST-mub 벡터의 mub를 사이에 두고 상보적인 방향으로 각각의 트랜스페린 cDNA를 도입하여 전이벡터를 구축하는 단계;
- (2) 단계(1)에서 구축된 전이벡터를 초파리에 미세주사하여 형질전환 초파리를 제작하는 단계;
- (3) 단계(2)에서 제작된 형질전환 초파리를, Daughterless-GAL4 드라이버와 교미를 통해 차세대에서 온몸에서 트랜스페린의 발현이 억제된 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리를 제작하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리의 제작방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 전이벡터는 각각 서열번호 1 내지 3에 기재된 pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666 전이벡터인 것을 특징으로 하는 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리의 제작방법.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항의 방법에 의해 제작된 살아있는 곤충 생체내에서 트랜스페린의 다양한 기능 확인이 가능한 트랜스페린 유전자가 결손된 돌연변이 초파리.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <8> 본 발명은 트랜스페린 기능이 결손된 형질전환 초파리 제작에 관한 것이다.
- <9> 곤충의 면역관련 유전자로 추측되고 있는 트랜스페린은 철결합 단백질로써 포유동물에서는 혈장과 분비액인 유액이나 난백에서 발견되었다 (Evans et al., 1989). 트랜스페린은 강하게 Fe^{3+} 와 결합하므로 ($K_d \sim 10^{-22} M$) (Aisen et al., 1978), 생리적 pH에서 Fe^{3+} 의 가수분해를 막아주고, 펜턴반응 (Fenton reaction)을 통한 과산화자유기 (superoxide radical) 형성을 촉매하며, 많은 병원균의 성장에 철이 이용될 수 없도록 함으로써 면역관련 역할을 수행할 것이라고 추정되고 있다 (Gutteridge, 1994). 트랜스페린 family에 속하는 오보트랜스페린은 난백에서 항생 작용을 수행할 것이라 추정되고 있으며 (Graham and Williams, 1975; Lee et al., 1980), 우유, 눈물, 침샘 등에서 발견된 락토페린은 침입하는 미생물의 증식을 억제하기 위해 철과 결합하는 역할을 할 것이라고 추정하고 있다 (Aguila et al., 2001).
- <10> 트랜스페린 유전자는 400개의 초파리 면역관련 유전자들 중에 포함되어져 있으며, 몇몇 곤충 트랜스페린은 미생물 침입에 반응하여 과발현됨이 전사체 수준에서 보고된바 있다. 그러나 포유동물 트랜스페린도 선천성 면역에 관련되었을 거라는 추측은 있지만 연구가 미비한 실정이고, 곤충의 경우 트랜스페린의 전사체 수준에서 세균 등에 의해 유도되는 것을 제외하고는 연구가 전무한 실정이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <11> 본 발명자들은 연구에서는 곤충 생체방어 기작 연구의 일환으로 선천성 면역반응에서 중요한 역할을 수행할 것으로 추정되는 트랜스페린 면역적 기능을 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리를 제작하여 살아있는 곤충 생체내 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- <12> 따라서, 본 발명의 목적은 살아있는 곤충 생체내에서 트랜스페린 기능 확인이 가능한 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리 및 그 제작방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

- <13> 트랜스페린 기능이 결손된 형질전환 초파리 제작을 위하여 본 발명은,
- <14> 1) 형질전환 초파리 제작을 위한 재조합 전이벡터 작성 단계,
- <15> 2) 상기 단계 1)에서 제작된 pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666가 도입된 형질전환 초파리를 제작하는 단계,
- <16> 3) 상기 단계 2)에서 제작된 형질전환 초파리를 온몸에서 발현가능한 Daughterless-GAL4 드라이버와 교미 후 차세대에서 발현억제된 형질전환 초파리를 제작하는 단계,
- <17> 4) 상기 단계 3)에서 제작한 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리를 이용한 트랜스페린의 생체방어적 기능을 해석하는 단계,
- <18> 5) 상기 단계 3)에서 제작한 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리의 체내 철 분석 단계;를 포함하는 방법에 의해서, 트랜스페린 기능이 결손된 형질전환 초파리를 제작함을 특징으로 한다.
- <19> 이하, 본 발명을 상세히 설명하면 다음과 같다.
- <20> 곤충 트랜스페린은 미생물 침입에 반응하여 전사체가 과발현되므로 곤충의 선천성 면역에 관련되었을 거라는 추측은 있지만 그 외 기능에 대한 연구는 전무한 실정이다. 초파리는 짧은 생육기간과 교배의 용이성, 다양한 돌연변이 및 표현형, 유전학 기법을 이용한 유전자 발현 연구가 용이하여 유전학 연구뿐만 아니라 여러 유전자의 기능 및 기작을 밝히는데 많이 이용되고 있다. 유전자의 기능을 알아보기 위한 가장 기본적인 방법은 특정 유전자에 대한 결손 돌연변이 (loss of function mutation)와 과량 돌연변이 (gain of function)를 만들어 표현형을 관찰하는 것이다. 따라서 본 발명에서는 살아있는 곤충 생체내에서 트랜스페린의 기능을 확인하기 위해 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리를 제작하고 이를 이용하여 트랜스페린의 면역적 기능을 분석을 위해, 초파리 형질전환용 벡터로는 intronic spacer인 mub (Reichhart 등, 2002)를 포함하는 pUAST-mub 벡터를 이용하였다. 3종의 초파리 트랜스페린 유전자 (CG6186, CG10620, CG3666) 발현 억제를 위해 pUAST-mub 벡터의 mub를 사이에 두고 상보적인 방향으로 각각의 트랜스페린 cDNA를 도입하여 각각 pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666 전이벡터를 구축하였다. 구축된 전이벡터를 초파리에 미세주사하여 형질전환 초파리를 제작하였으며, Da-GAL4 드라이버와 교미를 통해 차세대에서 온몸에서 트랜스페린의 발현이 억제된 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리를 제작하였다. 제작한 형질전환 초파리를 이용하여 트랜스페린의 면역적 기능 분석 및 체내 철 분석을 수행하였다.
- <21> 본 발명은 하기 실시예에 의해서 더욱 구체적으로 설명하지만, 본 발명의 보호범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니다.
- <22> 실시예 1: 형질전환 초파리 제작을 위한 재조합 전이벡터 작성
- <23> 3종의 트랜스페린 유전자 (CG6186, CG10620, CG3666) 발현이 각각 억제 (knock-down)된 초파리 3종을 제작하기 위해 pUAST 벡터 내에 intronic spacer인 mub (Reichhart 등, 2002)를 포함하는 pUAST-mub 벡터를 이용하였다. 3종의 트랜스페린 유전자 발현 억제를 위해 pUAST-mub 벡터의 mub를 사이에 두고 상보적인 방향으로 각각의 트랜스페린 cDNA를 도입하였다. 이때 도입을 위한 영역은 FlyBase (<http://flybase.bio.indiana.edu/>)에서 탐색한 Heidelberg RNAi를 통해 선정하였으며, 선정된 영역에 대해 제작한 프라이머들은 도 1과 같다. 각각의 유전자들의 sense 방향의 클로닝을 위한 forward 프라이머는 *Bgl* II 인식부위를 reverse 프라이머는 *Not* I 인식부위를 포함하고 있으며, antisense 방향의 클로닝을 위한 forward 프라이머는 *Kpn* I 인식부위를 reverse 프라이머는 *Xba* I 인식부위를 포함하고 있다.
- <24> 각각의 프라이머 조합으로 증폭된 PCR 산물은 우선 pGEMT 벡터에 삽입하고 sense와 antisense 방향 클로닝을 위한 플라스미드는 각각 *Bgl* II/*Not* I과 *Kpn* I/*Xba* I 절편을 pUAST-mub 벡터 (도 2, A)에 도입하여 각각 pUAST-mub-CG6186 (도 2, B), pUAST-mub-CG10620 (도 2, C) 및 pUAST-mub-CG3666 (도 2, D)을 제작하였다.
- <25> 실시예 2: pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666가 도입된 형질전환 초파리 제작
- <26> 상기 실시예 1에서 제작한 pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666 전이벡터를 이용해 미세주사 (microinjection)로 형질전환 초파리를 제작하였다. 도 3에서 A는 w1118 돌연변이 초파리이며 B는 형질전환된 초파리 라인으로써 mini-white 유전자를 표지체로 사용하였으므로 유전자가 제대로 삽입되었는지는 초파리

눈의 색깔로 확인할 수 있다. 즉, 우선 미세주입해서 얻은 초파리를 w1118 초파리와 교배를 시켜 다음세대의 눈색을 확인하면 형질전환 여부 확인이 가능하므로 한데, UAS 유전자가 이형인 1 copy로 존재할 경우 눈의 색깔은 노란색을 띠고 동형인 2 copy로 존재할 경우에는 눈의 색깔이 붉은색으로 나타나게 된다. pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666 도입된 형질전환 초파리는 각각 7, 4 및 8개 라인을 선발하였다.

<27> 실시예 3: 트랜스페린 발현이 억제 (knock-down)된 형질전환 초파리 제작

<28> 트랜스페린 결손 돌연변이를 제작하여 트랜스페린 유전자가 번역학적으로 초파리에 어떤 영향을 미치는지 확인해 보기 위해 초파리 GAL4/UAS 시스템 (Brand and Perrimon, 1993)을 이용하였다. UAS (Upstream Activation Sequence)는 하류에 존재하는 유전자의 전사를 활성화시키고 Gal4 결합부위를 포함하고 있는 Gal4의 cis-acting element로써, Gal4가 발현되는 세포에서만 전사되어질 수 있다. 한편, GAL4는 전사인자로써 UAS 프로모터를 활성화시킨다. 따라서 초파리 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 유발을 위해 온몸에서 발현가능한 Daughterless (Da)-GAL4 드라이버 라인과 UAST-mub-CG6186, UAST-mub-CG10620 및 UAST-mub-CG3666 라인의 교배를 수행하였다.

<29> UAST-mub-CG6186, UAST-mub-CG10620 및 UAST-mub-CG3666 라인과 Da-GAL4 driver line 교미 후 F1 세대의 생존 및 형태를 관찰하였다. 그 결과 UAST-mub-CG6186; Da-GAL4 및 UAST-mub-CG3666; Da-GAL4의 F1은 알 (egg)에서 부화해서 유충 (larva)과 번데기 (pupa)와 성충 (adult)의 전 생활사 (life cycle)동안 정상적인 형태로 생존하였다. 그러나 UAST-mub-CG10620; Da-GAL4의 F1은 알에서 부화해서 유충단계까지는 정상적으로 생존하였으나 번데기 단계에서 100% 치사하였다.

<30> UAS-CG6186RNAi; Da-GAL4, UAS-CG10620RNAi; Da-GAL4 및 UAS-CG3666RNAi; Da-GAL4의 발현억제 (knock-down) 효율 정도는 UAS-CG10620RNAi; Da-GAL4 유충으로부터 total RNA 분리 후 합성한 cDNA를 주형 (template)으로 해서 real-time PCR로 수행하였다. 초파리의 발현억제 효율 및 전사체 검정을 위해 이용한 프라이머는 CG6186의 sense (5'-GCTACAAGATCCCCATCACA-3')와 antisense (5'-GGACAGCGACTTCA GTTCGC-3'), 10620의 sense (5'-GCCAATAAGCGCAGGTATG-3')와 antisense (5'-CGGATAATGCCAAGTGGGAG-3'), CG3666의 sense (5'-ACGAAATGTGGC GGTGGT-3')와 antisense (5'-GTGATTGCCAGACCGTAGC-3'), 그리고 endogeneous control로서 rp49의 sense (5'-AGATCGTGAAGAAGCGCACCAAG-3')와 antisense (5'-CACCAGGAAGTCTTGAATCCGG -3')을 이용하여 상대정량을 수행하였다. 그 결과, UAS-CG6186RNAi; Da-GAL4, UAS-CG10620RNAi; Da-GAL4 및 UAS-CG3666RNAi; Da-GAL4의 초파리에서 각각 CG6186, CG10620 및 CG3666이 각각 96.3%, 75.3% 및 58% 발현이 감소됨을 확인할 수 있었다 (도 4). 따라서 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이가 모두 제대로 제작되었음을 확인할 수 있었다.

<31> 실시예 4: 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리를 이용한 트랜스페린의 생체방어적 기능해석

<32> CG10620 유전자는 온몸에서 강하게 발현을 유도하는 Da-GAL4 driver와 교배한 F1의 경우에도 번데기 단계에서 치사하므로, CG6186과 CG3666에 초점을 맞추어 실험을 진행하였다. CG6186과 CG3666 결손 돌연변이 초파리를 이용하여 트랜스페린의 생체방어적 기능을 해석하기 위해 negative control로는 w1118를, 그람양성균의 positive control로는 PGRP-SA mutant (PGRP-SAseml)를, 그리고 그람음성균의 positive control로는 Dredd mutant (DreddB118)를 사용하였다. 그람 음성 (Ecc-15) 및 양성균 (*E. faecalis*)으로 septic injury를 가한 후 생존률을 조사한 결과 (도 5), septic injury를 가할 때 PGRP-SA mutant (PGRP-SAseml)와 Dredd mutant (DreddB118)의 경우 약 2일 경과시 거의 모든 초파리들이 치사하는 반면, UAS- CG6186RNAi; Da-GAL4와 UAS-CG3666RNAi; Da-GAL4 초파리의 경우 그람양성균주 (*E. faecalis*)의 septic injury에 대해서는 대조인 w1118에 비해 각각 2%와 14%의 초파리가 더 치사되었으며, 그람음성균주 (Ecc-15)에 대해서는 UAS- CG6186RNAi와 UAS-CG3666RNAi는 각각 4%와 10%의 초파리가 더 치사되었다. 그람양성과 음성 중 어떤 균주를 가했을 때에도 w1118에 비해 다소 많은 초파리가 치사되었지만, 대조에 비해 큰 차이는 없었다. 즉, 트랜스페린 유전자를 결손시킨 돌연변이를 유발한 초파리는 세균을 septic injury로 부가했을 때 트랜스페린 유전자를 결손시키지 않은 초파리와 비슷한 수준으로 생존하므로 트랜스페린은 septic injury 부가시에는 생체방어적으로는 다소 영향을 미치지만 크게 중요한 역할을 수행하지 않음을 추정할 수 있었다.

<33> 지금까지 초파리 면역반응을 통한 많은 결과들은 세균을 초파리 몸체에 직접 주사 (systemic infection)한 후 숙주 (host)의 반응을 분석하는 형태로 얻어졌다. 비록 이러한 접근방식이 병원성 세균의 독성인자 (pathogen virulence factor)와 숙주의 방어기작을 밝히는 데에는 효과적인 실험방법이지만, 음식섭취나 호흡기를 통한 세균의 침입에 따른 숙주의 면역반응 분석은 간과될 수 밖에 없었다. 또한 초파리를 이용한 면역반응 연구과정에서 현재까지 초파리의 혈액과 지방체 (fat body)에서 수행되는 선천성 면역에 대해서 집중적으로 연구되어온 것에 비해 국소 면역반응 (local innate immunity)에 대한 연구결과는 매우 미흡한 실정이다. 그러나 선천성 면역

이라는 것이 병원균과 끊임없이 접촉하는 표피조직에서 더욱더 효과적으로 수행되어야 하는 면역반응임을 고려할 때 생식기, 호흡기, 소화기와 같은 조직에서의 국소 면역반응의 연구는 그 의의가 크다고 할 수 있다.

<34> 따라서 곤충의 생체방어 측면에서 트랜스페린이 장내에서의 선천성면역반응에서 중요한 역할을 수행하는지를 확인하기 위해 초파리에 대해 독성을 나타내는 *Pseudomonas* L48 균주에 대한 경구감염 후 날짜별 생존률을 조사해 보았다. Positive control로는 DuoxRNAi를 이용하였다. 그 결과, 도 6에서 보는 것처럼 대조에 비해 DuoxRNAi는 약 11%의 초파리가 더 치사되었고, CG6186RNAi 초파리는 약 18%, 그리고 CG3666RNAi는 약 43%가 더 치사됨을 확인할 수 있었다 (도 6). 따라서, L48 균주의 경구투여에 의한 장내 세균침입 시 트랜스페린의 일종인 CG3666 유전자 발현이 억제된 결손돌연변이 초파리가 세균의 번식을 제한하는데 필요한 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 생성함으로써 체내 침입한 미생물을 방어하는 효소인 Duox 발현이 억제된 결손돌연변이 초파리보다 더 병원균에 대한 감수성이 강하므로 음식섭취를 통한 세균의 침입에 따른 숙주의 면역반응에 있어서 아주 중요한 역할을 할 것임을 추정할 수 있었다.

<35> 실시예 5: 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리의 체내 철 분석

<36> 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리 CG6186RNAi, CG3666RNAi 및 CG6186;CG3666RNAi를 이용하여 체내 철 분석을 수행하였다. 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리 중에서 CG3666RNAi가 대조인 w1118에 비해 가장 수치가 차이가 났으며 Dredd mutant의 경우 세균의 주사나 경구감염시 가장 급격히 치사되는 초파리 임에도 불구하고 철 분석 결과 정상 초파리와 거의 유사한 수준이었으며, DuoxRNAi의 경우에도 세균의 경구감염시 많은 초파리가 치사되는데도 불구하고 철 분석 결과는 정상과 유사했다. 그러나 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리들은 불포화철결합력 (UIBC)는 정상에 비해 감소하고, 혈청철 (serum iron), 과잉철 (excess iron) 및 총철결합력 (TIBC)은 증가하는 경향을 보였고 그 중 CG3666RNAi가 정상과 가장 차이가 나는 경향을 보였고, 이를 통해 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리의 경우 철대사에서 분명히 이상이 일어났음도 확인할 수 있었다(도 7). 이러한 증상을 사람의 질병의 증세와 비교해 보면 재생불량성 빈혈이나 악성빈혈의 증상과 유사하였으므로, 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리를 이용하면 사람의 철대사의 장애에 관련된 질병의 해명에도 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

발명의 효과

<37> 본 발명에서 제작된 트랜스페린 유전자의 결손 돌연변이 초파리는 살아있는 곤충 생체내에서 트랜스페린의 다양한 기능 확인 및 사람의 철대사의 장애에 관련된 질병 해명의 모델 곤충으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

도면의 간단한 설명

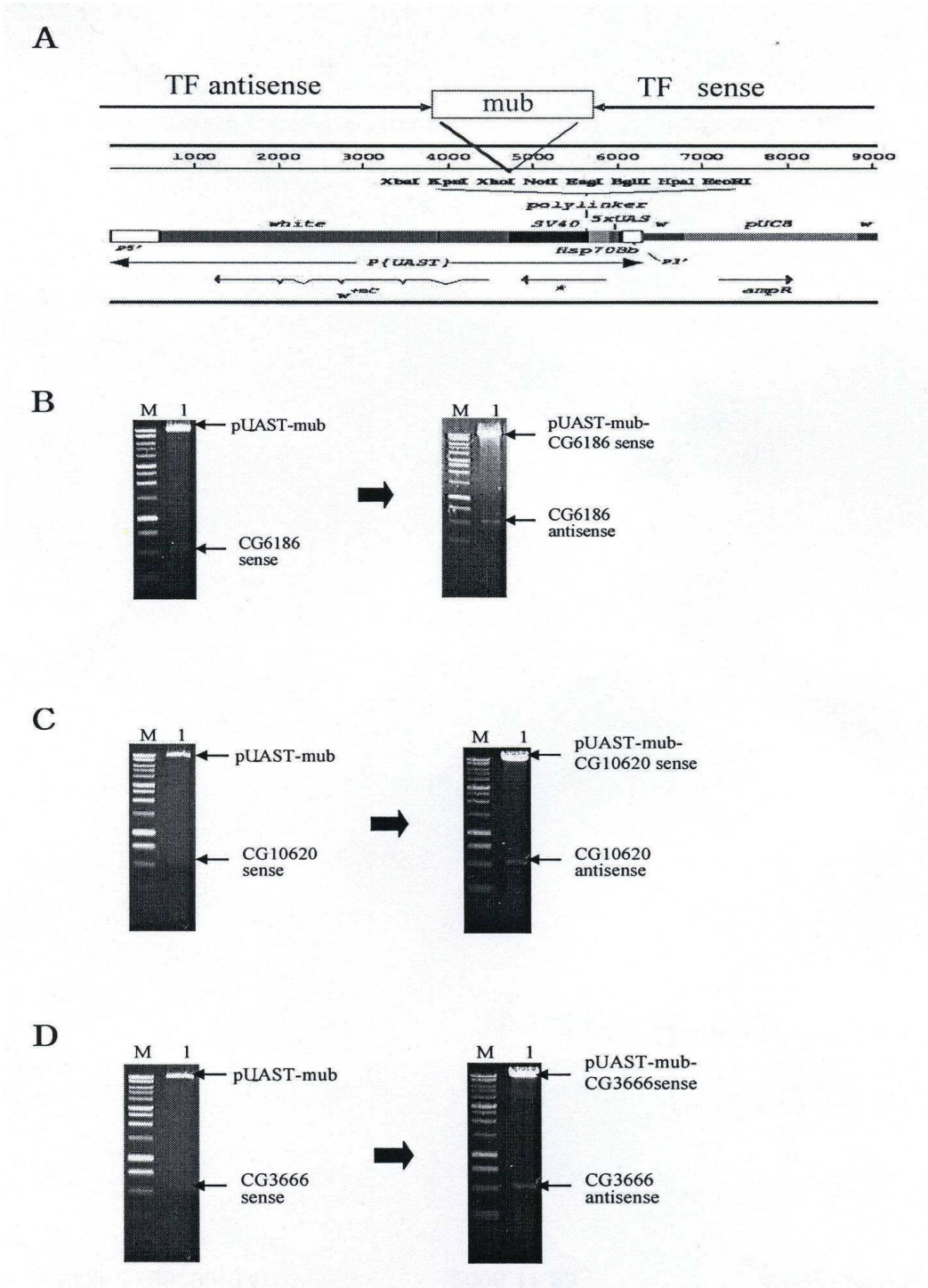
- <1> 도 1은 pUAST-mub 벡터를 이용하여 3종의 트랜스페린 유전자 (CG6186, CG10620, CG3666) 발현이 각각 억제 (knock-down)된 초파리 3종을 제작하기 위해 합성한 프라이머들이다.
- <2> 도 2A는 pUAST-mub 벡터의 지도이며, 도 2B, 2C 및 2D는 CG6186, CG10620 및 CG3666의 RNAi를 위한 영역을 PCR에 의해 증폭 후 우선 pGEMT 벡터에 삽입하고, sense와 antisense 방향 클로닝을 위해 각각 *Bgl*II/*Not*I과 *Kpn*I/*Xba*I 절편을 pUAST-mub 벡터에 도입하여 pUAST-mub-CG6186, pUAST-mub-CG10620 및 pUAST-mub-CG3666을 제작한 후, 클로닝 여부 확인을 위하여 *Bgl*II/*Not*I과 *Kpn*I/*Xba*I 으로 절단 후 전기영동한 것이다.
- <3> 도 3A는 w1118 돌연변이 초파리이며, 도 3B는 미세주사에 의해 전이벡터가 게놈 내 삽입된 형질전환된 초파리 라인이다.
- <4> 도 4는 3종의 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리 제작후 UAS-CG6186RNAi; Da-GAL4, UAS-CG10620RNAi; Da-GAL4 및 UAS-CG3666RNAi; Da-GAL4의 발현억제 (knock-down) 효율을 검정한 결과이다.
- <5> 도 5A 및 5B는 CG6186과 CG3666 결손 돌연변이 초파리를 이용하여 트랜스페린의 생체방어적 기능을 해석하기 위해 그람 양성 및 음성균으로 septic injury를 가한 후 생존률을 조사한 결과이다.
- <6> 도 6은 CG6186과 CG3666 결손 돌연변이 초파리를 이용하여 트랜스페린의 장에서의 생체방어적 기능을 해석하기 위해 초파리에 독성을 일으키는 L48균주로 경구감염 후 생존률을 조사한 결과이다.
- <7> 도 7은 트랜스페린 결손 돌연변이 초파리 CG6186RNAi, CG3666RNAi 및 CG6186;CG3666RNAi를 이용하여 혈청철, 과잉철, 불포화철결합력 및 총철결합력을 측정하여 체내 철 분석을 수행한 결과이다.

도면

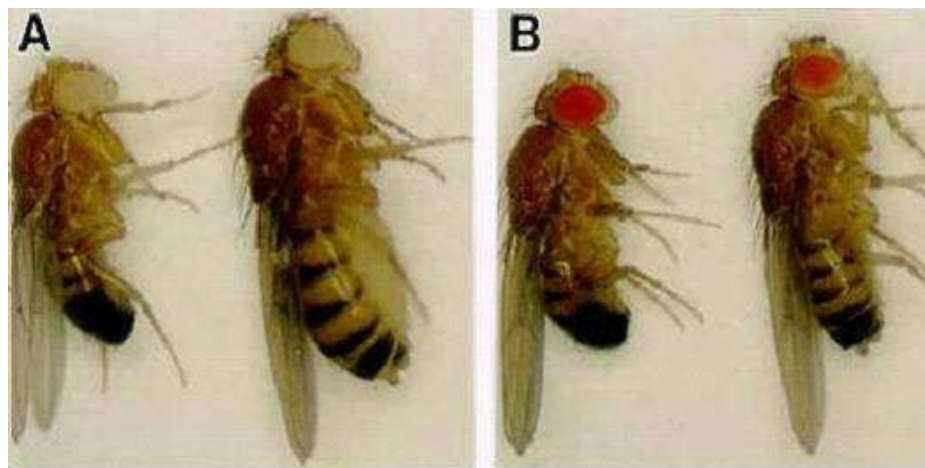
도면1

Sequence Definition	Sequence	Length (bp)	Tm (°C)	GC (%)
3666-s-f	5'-AGATCTCTCTGCCCGGATGGTCATC-3'	25	64.3	56
3666-s-r	5'-GCGGCCGCGCGTATAGCAATGGCAC-3'	24	71.7	66.7
3666-a-f	5'-GGTACCCGTATAGCAATGGCACTAGATT	29	63.4	48.3
3666-a-r	5'-TCTAGACTCTGCCCGGATGGTCATC-3'	25	63.3	56
6186-s-f	5'-AGATCTGCTGCCTGGACAAGGGTC-3'	24	63.5	58.3
6186-s-r	5'-GCGGCCGCGCGTAGGCAGCCT-3'	21	74.1	81
6186-a-f	5'-GGTACCGCGTAGGCAGCCTGGTGC-3'	24	69.7	70.8
6186-a-r	5'-TCTAGAGCTGCCTGGACAAGGGTCAGG-3	27	67.2	59.3
10620-s-f	5'-AGATCTCGTGTGCCCGTATTCCTCG-3'	25	65	56
10620-s-r	5'-GCGGCCGCGAAAGCTCACCTC-3'	21	68.6	71.4
10620-a-f	5'-GGTACCGAAAGCTCACCTCCTGAAACC-3	27	65.5	55.6
10620-a-r	5'-TCTAGACGTGTGTGCCCGTATTCCTCG-3'	25	64	56

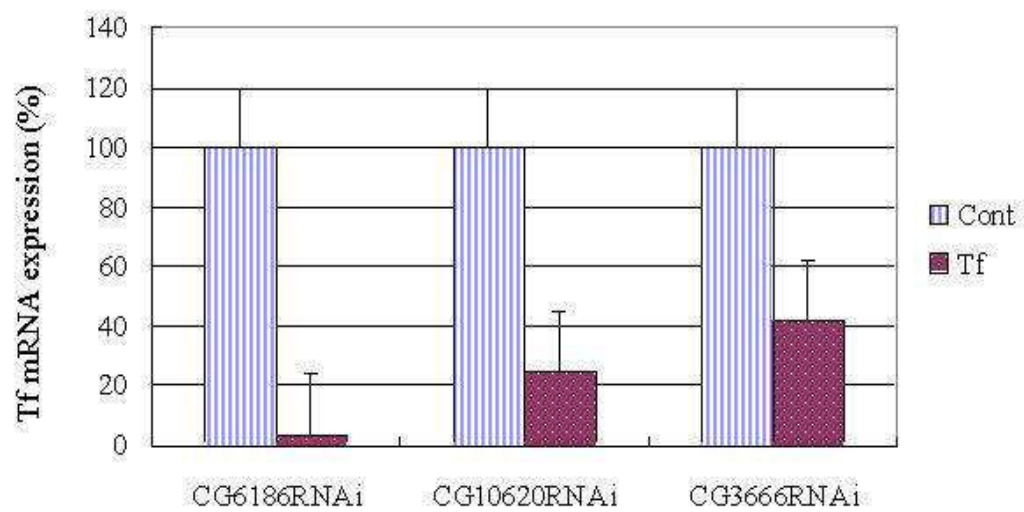
도면2



도면3

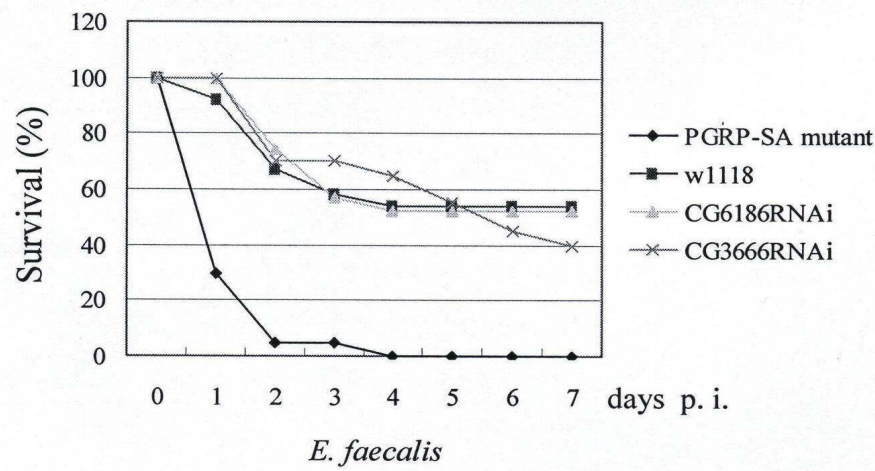


도면4

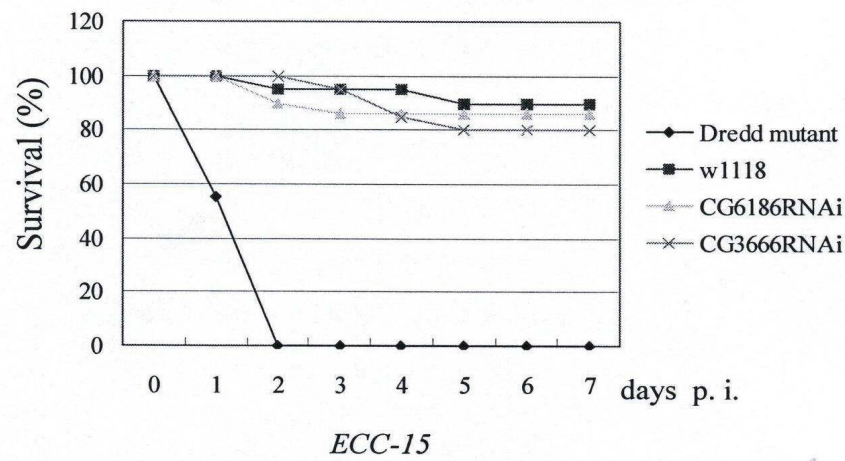


도면5

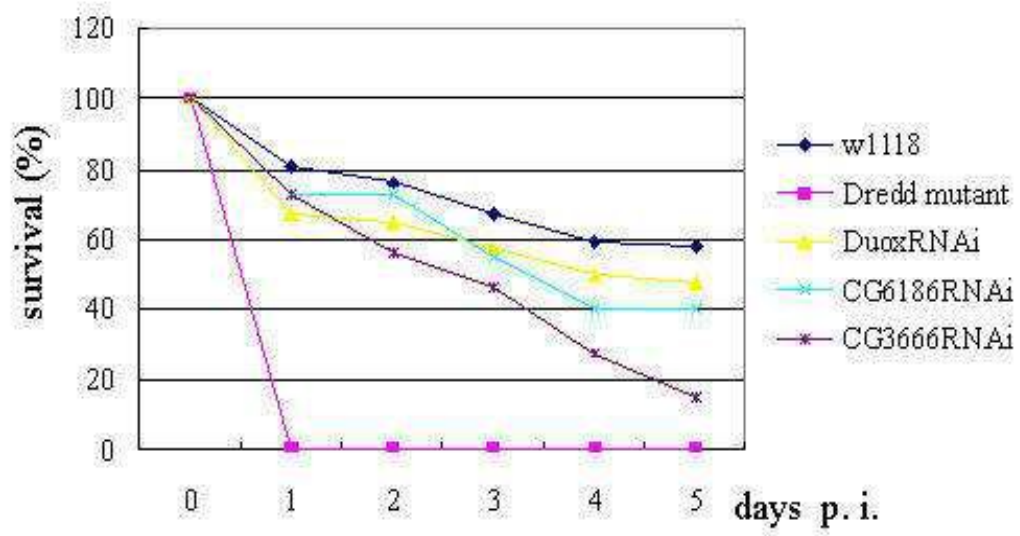
A



B

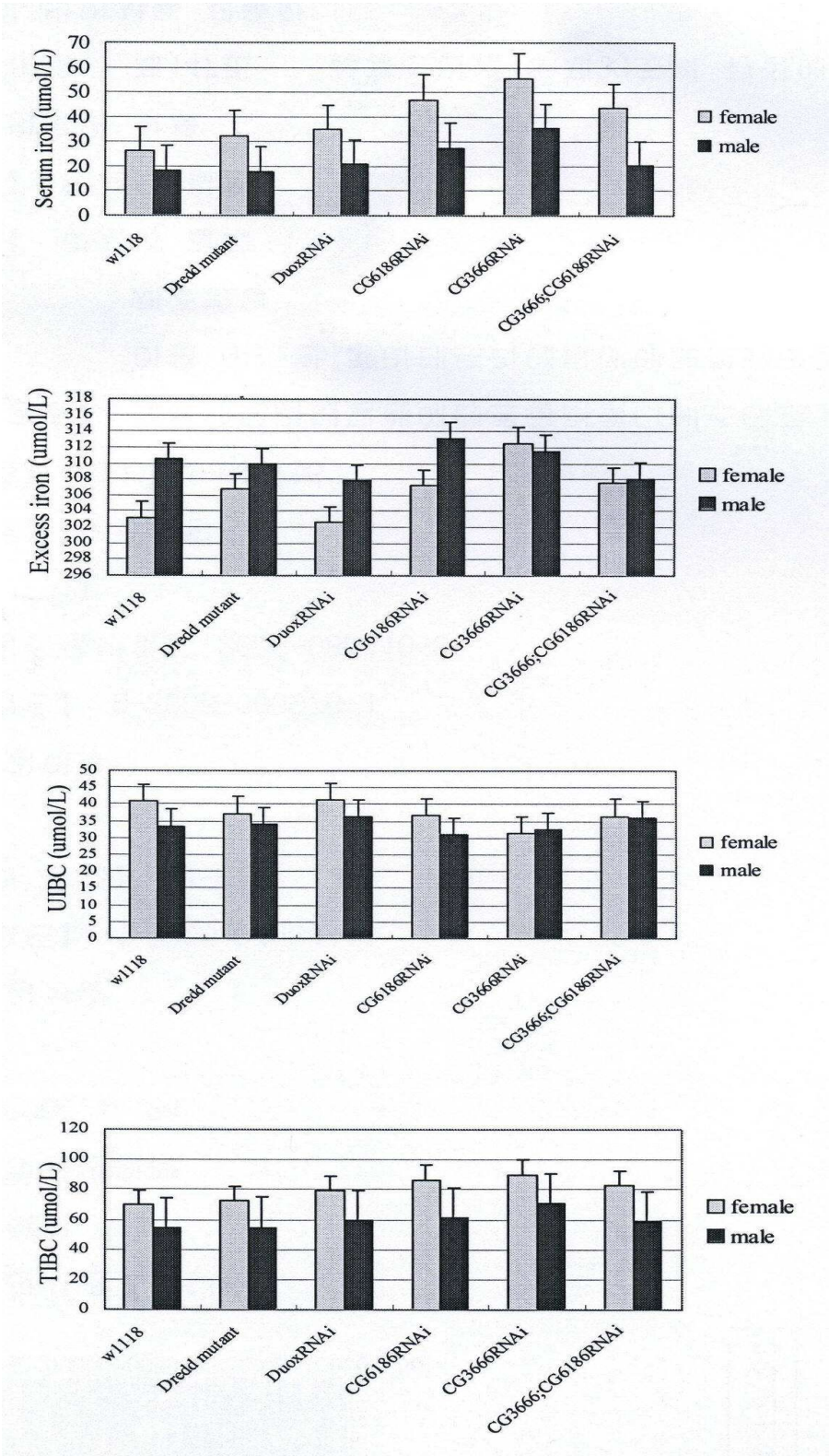


도면6



L 48

도면7



서열 목록

[서열목록 전자파일 첨부](#)