

북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 의 Hox 유전자 동정 및 발현 분석

박은희, 신은하, 노은수, 김영옥, 박중연, 남보혜

국립수산과학원

Molecular cloning, characterization and expression analysis of Hox gene from the pacific abalone (*Haliotis discus hannai*)

Eun Hee Park, Eun-Ha Shin, Eun Soo Noh, Young-Ok Kim, Jung Youn Park and Bo-Hye Nam

Biotechnology Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

ABSTRACT

Hox genes are expressed along the anterior-posterior body axis in a collinear fashion in the majority of bilaterians. Contrary to polyplacophorans, gastropods including abalone deviate from this pattern by expressing Hox genes in distinct morphological structures and not in a staggered fashion. However, the molecular developmental understandings remain unknown. In the present study, we isolated DNA sequence of Hox gene from genome database and investigated its mRNA expression in early developmental stages of abalone, *Haliotis discus hannai*. The *H. discus hannai* Hox gene (HDH-HoxA2) showed 36% and 37% amino acid identities with HoxA2 of *Crassostrea gigas* and *Mixuhopecten yessoensis*, respectively. The 62 amino acids sequence of homeodomain was conserved well in HDH-HoxA2. The qRT-PCR detected HDH-HoxA2 at the first day after hatching (trochophore larvae stage), but the expression of HDH-HoxA2 mRNA decreased after two days post-hatching. The present study is the first to report on the molecular cloning, characterization and expression analysis of Hox gene in *H. discus hannai*. The results might provide new insights into the regulation of early developmental stages of abalone.

Keywords: *Haliotis discus hannai*, Hox gene, homeodomain, early developmental stages

서 론

Homeobox (Hox) 유전자는 생물의 발생과정에서 개체의 형태를 형성하는데 관여하는 유전자로 생물의 세포분열, 분화, 발생과정 내 세포의 형태, 성장 모든 과정에서 중요한 역할을 한다 (Gehring and Hiromi, 1986; Abate-Shen, 2002). Homeobox라는 이름은 원래 이 gene family에서의 돌연변이가 본 구조에서 다른 구조로 바뀌는 homeotic transformation을 만든다는 사실에서 유래되었다. Hox 유전자 클러스터는

*Drosophila*에서 처음으로 발견되었고, 그 후 많은 동물들에서 유사한 Hox 유전자가 확인되고 있다. 현재 사람이나 생쥐 같은 포유류에서는 39 개의 Hox 유전자가 보고되어 있으며, 서로 다른 4 개의 염색체 상에서 cluster (HoxA, HoxB, HoxC, HoxD) 를 이루며 위치하고 있다 (Kim and Kessel, 1993). 발생과정 중 Hox 유전자의 발현은 cluster 내에서의 상대적인 위치와 발현하는 시기 및 발현 부위가 co-linear 하다는 것이 보고되어 있다 (McGinnis and Krumlauf, 1992). Cluster 상에서 3' 쪽에서부터 5' 방향으로 위치한 순서대로 Hox 유전자가 순차적으로 발현한다. 즉, 3'쪽에 있는 유전자가 머리쪽 (Anterior) 에서 먼저 발현하고 5' 방향으로 갈수록 꼬리쪽에서 발현하는 것으로 알려져 있다 (McGinnis and Krumlauf, 1992). 전복을 포함하는 복족류 (Gastropoda) 의 몸 구조는 앞 부위에 위치하면서 2-4 개의 촉수 (Tentacle) 와 눈을 가진 머리, 먹이의 포획, 이동수단으로 사용되는 편평한 포복형 발 (Ventral foot), 뚜렷한 구분은 이루어지지 않으나 단순한 소화관 (Intestinal tract) 과 부속선 (Digestive gland) 을 포함하고 있는 내장낭 (Visceral mass), 그리고 내장낭의 일부

Received: March 13, 2019; Revised: March 22, 2019;
Accepted: March 29, 2019

Corresponding author: Bo-Hye Nam

Tel: +82 (51) 720-2452, e-mail: nambohye@korea.kr
1225-3480/24722

This is an Open Access Article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

가 퇴화하여 몸을 둘러싸고 있는 외투막 (Mantle) 의 4부분으로 구분된다. 민달팽이나 군소와 같이 폐각이 없는 종도 있지만 대부분 1장의 나사모양으로 된 폐각을 가지고 있다. 다른 동물들과 달리 복족류는 발과 머리는 좌우대칭이나 몸 전체가 180° 비틀어짐 (Torsion) 으로서 비대칭이 되는 특징을 가지고 있다. 복족류의 발생과정에서의 Hox 유전자의 co-linearity 와 비틀어짐 현상과의 연관성에 대하여 발생진화학적으로 연구되어지고 있다 (Samadi and Steiner, 2010; Fritsch *et al.*, 2015).

모든 Hox 유전자는 보존성이 매우 높은 homeodomain 서열 (186bp의 염기가 62 개의 아미노산을 암호화) 을 포함한다. helix-turn-helix 구조를 가지는 homeodomain은 다른 유전자 발현 조절 영역 (Promoter region) 에 결합하여 전사 인자로서의 기능을 한다 (Gehring and Hiromi, 1986; Gehring *et al.*, 1994). Hox 유전자의 homeodomain 외의 서열에서는 보존성이 매우 낮다. 복족류 중에서 바다달팽이인 *Gibbula varia* 에서 Hox2, Hox3, Hox4, Hox5, Lox5, Hox7, Lox4 및 Lox2의 시퀀스와 발현 연구가 보고되었으며 (Samadi and Steiner, 2010), 전복류에서는 *Haliotis asinina*에서 5개의 Hox 유전자 (Hox1, Hox2, Hox3, Hox4, Hox5) 와 유생발생 단계에서의 발현 양상이 보고된 바 있다 (Hinman *et al.*, 2003).

현재까지 북방전복에서는 Hox 유전자에 대한 연구가 수행된 바가 없으며, 이에 본 연구에서는 북방전복의 Hox2 유전자의 염기서열을 확인하고 아미노산 서열을 분석하였다. 또한 수정 후 초기 포복상태인 5일째까지 유전자의 발현양상 변화를 관찰하여, 전복 초기 발생단계에서의 Hox 유전자의 역할을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

국립수산과학원 육종연구센터에서 육종전복 가계생산을 위해 간출자극으로 산란을 유발한 후 방란, 방정된 알과 정자를 섞어 1:1 인공수정 시켰다. 수정된 수정란을 충분한 세란 과정을 거친 후 부화수조에 옮겨 부화를 실시하였다. 부화 후 부유유생기 1일째부터 부착기 직전인 4일째까지 매일 (1일째, 2일째, 3일째, 4일째) 시료를 수집한 후 해수를 제거하고 PBS를 이용하여 3번 세척하였으며, 이후 액체질소를 이용하여 급속 냉각시킨 후 -80°C에서 보관하였다.

2. 북방전복 Hox-A2 유전자 (HDH-HoxA2) 의 전장 cDNA 클로닝

북방전복 Hox 유전자를 클로닝하기 위하여 참굴 (*Crassostrea*

gigas) HOX 유전자 (XP_011454575) 의 homeodomain 염기서열 정보로 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 유전체 데이터베이스 (http://gbd.insilicogen.com/incogdb_new/haliotis/0.1/home) (Nam *et al.*, 2017) 에 탑재되어 있는 BLAST 기능을 이용하여 검색하였다. 그 결과 전복 유전체데이터베이스 중 상동성을 보이는 유전자를 확보할 수 있었다 (Gene ID: HDSC02539CG00040).

3. RNA 분리 및 qPCR을 이용한 발현 분석

-80°C에 보관한 발생단계별 전복 유생 샘플은 TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 를 사용하여 RNA를 분리하였다. 1µg의 RNA로부터 transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche) 와 oligo (dT) 프라이머를 이용하여 cDNA를 합성하였다. HDH-HoxA2 유전자의 발현은 cDNA 서열을 기초로 제작한 프라이머 (HDH-HoxA2 RT-F: 5'-CGTGACCAAGTGAAGATCTG-3', HDH-HoxA2 RT-R: 5'-ACCTTGGTTGGCGGTGAGAT-3') 를 이용하여 qPCR로 확인하였다. 내재표준유전자로는 북방전복의 18S rRNA (Accession no. AY319433) 의 서열을 기초로 제작한 프라이머 (18S rRNA-F: 5'-CTCACGGAAGAGCGCGTTTA-3', 18S rRNA-R: 5'-gacttgcctccaatagatc-3') 를 사용하였다. qPCR은 Fast SYBR Green Master Mix를 이용하여 SDS 7500 system (Applied Biosystems, Inc) 에서 수행하였다. qPCR 조건은 다음과 같다: Pre-denaturation 95°C 10초, 60°C 15초, 72°C 30초; 40회 반복하였다. PCR cycle이 끝난 후, 온도를 단계적으로 증가시켜 melting-curve를 분석하였다. HDH-HoxA2 유전자의 발현양을 내재표준유전자인 18S rRNA의 상대적인 발현양을 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법으로 결정하였다 (Livak and Schmittgen, 2001). 모든 실험은 3반복 하였으며 데이터는 Mean ± SD로 나타내었다.

4. 바이오인포메틱스 분석

북방전복 유전체 데이터베이스에서 확보된 Hox2 유전자 (HDH-HoxA2) 의 염기서열 조합 및 이를 이용한 아미노산 서열 유추 작업과 분자량 및 등전점 예측은 GENETYX8.0 (SDS Software Development, Japan) 프로그램을 이용하였다. HDH-Hox2 유전자로부터 유추된 아미노산서열을 이용하여 SMART (Simple Modular Architecture Research Tool) 프로그램 (<http://smart.embl-heidelberg.de>) 에서 도메인 분석을 수행하였다. HDH-Hox2의 염기서열과 아미노산 서열 비교는 NCBI의 데이터베이스를 이용하였다. 연체동물문에 속하는 생물 및 기타 생물들의 유사서열을 찾은 후 MEGA 7.0 (<http://www.megasoftware.net/>) 프로그램의 CLUSTALW 모듈을 이용하여 multiple sequence

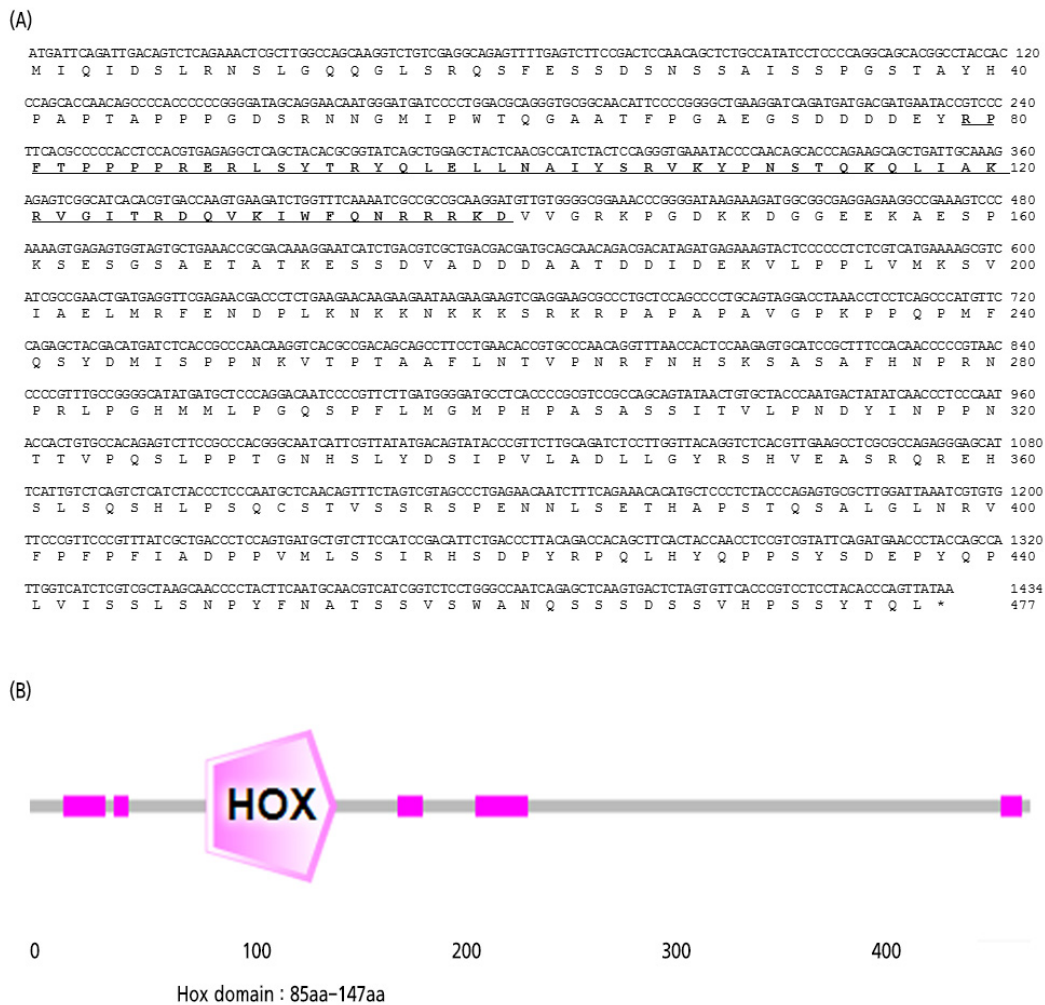


Fig. 1. The cDNA and deduced amino acid sequences (A) and schematic structure (B) of HDH-HoxA2. The nucleotide and amino acid sequences are numbered at the right margin for each line. The homeodomain is in bold and underlined (85-147 aa).

alignment를 수행하였으며, phylogenetic tree는 homeodomain의 아미노산 서열에 기초하여 Maximum likelihood 알고리즘으로 분석하여 제작하였다.

결과 및 고찰

1. HDH-HoxA2 cDNA 염기서열 및 아미노산 분석

참굴 (*Crassostrea gigas*) HOX 유전자 (XP_011454575)의 homeodomain 180bp 염기서열을 이용하여 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 유전체 데이터베이스를 BLAST 검색하였다. 그 결과 전복 유전체데이터베이스 중 상동성을 보이는 유전자를 확보할 수 있었다 (Gene ID: HDSC02539CG00040). 1,434 bp의 open reading frame (ORF) 내에 477개의 아미노산을 암

호화하고 있었다 (Fig. 1A). 확보된 북방전복의 아미노산 전체 서열을 이용하여 NCBI의 BLSATP 검색 결과, 참굴 homeobox protein Hox-A2와 가리비 (*Mixuhopecten yessoensis*)의 homeobox protein OTX-1 like (XP_021359506)와 각각 36%, 37%의 동일성을 보였다. 분자량은 52.4 kDa, 등전점은 9.17로 예측되었다. SMART 프로그램을 이용하여 도메인 검색을 수행한 결과 85번째 아미노산부터 147번째 아미노산까지 62개의 아미노산이 homeodomain으로 확인되었다 (Fig. 1B).

2. HDH-HoxA2 cDNA의 다중서열비교 및 계통수 분석

HDH-HoxA2의 아미노산 서열을 GENETYX 프로그램을 이용하여 multiple sequence alignments를 구축하여 NCBI

북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 의 Hox 유전자 동정 및 발현 분석

| | | |
|-----------------|--|-----|
| H.discus hannai | 1:MIQIDSLRNSLGQQLSRQ-SFESSDSNSSAISSPGSTAYHPAPTAPPGDSRNNGMIPW | 59 |
| C.gigas | 1:MLEVEGFRRSFPNPGFTQSHQIYY-----PGTSEAPLHPVSHHPFFPSNQGQP-W | 49 |
| C.virginica | 1:MLEVEGFRRTFSNPGFTQPPQIYY-----PGANETTHIPVSHNPFPLNQGP-W | 49 |
| M.yessoensis | 1:MLEVDSYRRTLHSTGYDPRIPPEM-PDFGGLHEFF--AYHALSAVNKPEKQN--SLIHW | 55 |
| | *... * * * * * | |
| H.discus hannai | 60:TQGAATF--PGAEGSDDDD-----EYRPFTPPPPRERLSYTRYQLELLNAIYSRVKY | 109 |
| C.gigas | 50:LQEREAERTQSPDTGSQSGDEDED--EYRPFTPPPPRERLSYTRYQLELLNGIYNHVRY | 108 |
| C.virginica | 50:LHERVTEKPTQSPDTGSQSADEDED--EYRPFTPPPPRERLSYTRYQLELLNGIYNHVRY | 108 |
| M.yessoensis | 56:SPPPATTVSPTPATGAKSDEEDEDDEDDDCRFPTPPPPRERLSYTRYQLEMLNSIYIRVRY | 115 |
| | . . . ***** * * * * | |
| H.discus hannai | 110:PNSTQKQLIAKRVGITRDQVKIWFQNRNRKDVVGRKPGDKKGEEKAESPKS-ESGSAE | 168 |
| C.gigas | 109:PNSTQKQLIAKRVGITREQVKIWFQNRNRKDVVSKQDDKPKSDDASPES-KSEICDDKSN | 167 |
| C.virginica | 109:PNSTQKQLIAKRVGITREQVKIWFQNRNRKDVVSKQDEQPKSEPEINESKNESCEKSDQ | 168 |
| M.yessoensis | 116:PNSTQKLLIAKRVGITREQVKIWFQNRNRKDVIGKKKDGSESDCSKSDHSDTRSDHGDNR | 175 |
| | ***** .***** .***** | |
| H.discus hannai | 169:TATKESSDVADD-DAATDDIDEKVL---P-PLV-MKSVIAELMRFENDPLKNKKNKSKSR | 222 |
| C.gigas | 168:HSDKTENGSDS-GVSDTGSSTDEQEKSMVPTIVLKGIIAELHKKFEKDALKPKKKAKKKT | 226 |
| C.virginica | 169:R-DKTENGSDS-GVSDTGSNAEDAESKSMVPTIVLKGIVIAELHKKFEKDALKPKKKTKKT | 226 |
| M.yessoensis | 176:SDHGDSKGDNCDSGVSSEENGGLM---V-PEVVMKSVIAELHKKFEKPIKSKLKLKMKM | 231 |
| | . . . * . * .***** . * * * | |
| H.discus hannai | 223:KRPAPAPA-VGPKPPQPMFQ--SYDMI SPPNKVPTAAAF-LNTV PNR FNHKSASAFHNP | 278 |
| C.gigas | 227:KAMKKKE--LKSANLALLHGG-FDVVNPQNQIVPSATGQRLVNK--FSHCSKSSAFESP | 281 |
| C.virginica | 227:KAMKKKE--LKSGLATALLQGG-FDVVNPQNQIVPSLPGQRLVNK--FSHCSKSSAFESP | 281 |
| M.yessoensis | 232:ASRKAKKAVTTQGFQSMLLGSGYDMI SPPNQVIAPAPPKVSRAT-KFNHSKDMSAFDAP | 290 |
| | . . . * * * * . . . * * * * | |
| H.discus hannai | 279:RNPRLPGHMMLP-GQSPFLMGMPHP-ASASSITVLPNDYINPNTTVPQSLPPTGNHSLY | 336 |
| C.gigas | 282:RDSSKTVPSPFFDYSS--MGSA-----AMLRSPTRAYMSNTLGLPTNALGCDLVP | 329 |
| C.virginica | 282:RDSSKTAP-SYPDFSS--MGSA-----AMLRSPTRAYMSNTLGLPTNALGCDLVP | 328 |
| M.yessoensis | 291:KEGMRPVSYMDGYGN-S-LAGSLMSSVPMRD---LPAGHSSVNASLGCDCD-MPVLSDLNLY | 344 |
| | . . . * | |
| H.discus hannai | 337:DSIPVLADLLGYRSHVEASRQREHSLSQSHLPSQCSTV--SS--RSPENN--LSETHAPS | 390 |
| C.gigas | 330:LSDLLTASSEQRKEHN-----ESRNI PCRNSQI-----PTERDRRGEIISHP-HFPPSY | 377 |
| C.virginica | 329:LSDLLTASAEQRKEHG-----ESRNI PCKTQQT-----LTERERRAEFSAHHPHFPPSY | 377 |
| M.yessoensis | 345:TKTSSADTPS-RTHEHLQVSESSMMHHQNTSPTSGFYPSVRTVHVD-SLQGSPMPM | 402 |
| | . . * * * . * . * * | |
| H.discus hannai | 391:TQSALGLNRVFPFFFIADPPVMLSSIRHSD-PYRQQLHYQPPS-YSDE--PYQPLVISSL | 446 |
| C.gigas | 378:SNP-FGY--IYPYHFLAEPGIMLSSLRHSE-PYRHYGHYPPI--FCSEPSFHFQISPAHL | 431 |
| C.virginica | 378:SNP-FGY--IYPYHFLAEPGIMLSSLRHSE-PYRHYGHYPSI--FGSEPASFHFQIXPAHL | 431 |
| M.yessoensis | 403:SSAVLS--RVYPYFFIAEHMVLSTLRHNMEPFRPQYYPGGHHYNE DYSFPQYINITSL | 460 |
| | . . * * * * .***** * * * * * | |
| H.discus hannai | 447:SNPYFNATSSV----SWANQSSSDSSVHPSSYTQL | 477 |
| C.gigas | 432:SNPYYSMAPPPSSLPWNSHNISTSSSDSSYEQL | 466 |
| C.virginica | 432:SNPYYSVTPSSS-LPWNNPNLSTSSASDSSYEQL | 465 |
| M.yessoensis | 461:ANPYYSQTSF-----WSQHNSAESNG--PFQQL | 487 |
| | ***. . * . * * . . . ** | |

Fig. 2. Multiple alignment of the deduced amino acid sequences of HDH-HoxA2 with other species using GENETYX. Identical and similar sites are shown with asterisks (*) and dots (·), respectively. The homeodomain is shaded in light gray. Sequences were obtained from GenBank: *Crassostrea gigas* (XP_011454575), *Crassostrea virginica* (XP_022332934), *Mizuhopecten yessoensis* (XP_021359506).

데이터베이스와 비교하였다. 그 결과 HDH-HoxA2의 아미노산 서열은 참굴 (*Crassostrea gigas*, XP_011454575), 아메리카굴 (*Crassostrea virginica*, XP_022332934), 가리비 (*Mizuhopecten yessoensis*, XP_021359506) 와 유사성이 높

은 것으로 확인되었다. 특히 HDH-HoxA2의 아미노산 서열을 분석한 결과 가리비 Hox2와 32%로 가장 높은 유사성을 보였고, Hox2 도메인은 모든 종에서 높은 빈도로 보존되어 있었다 (Fig. 2).

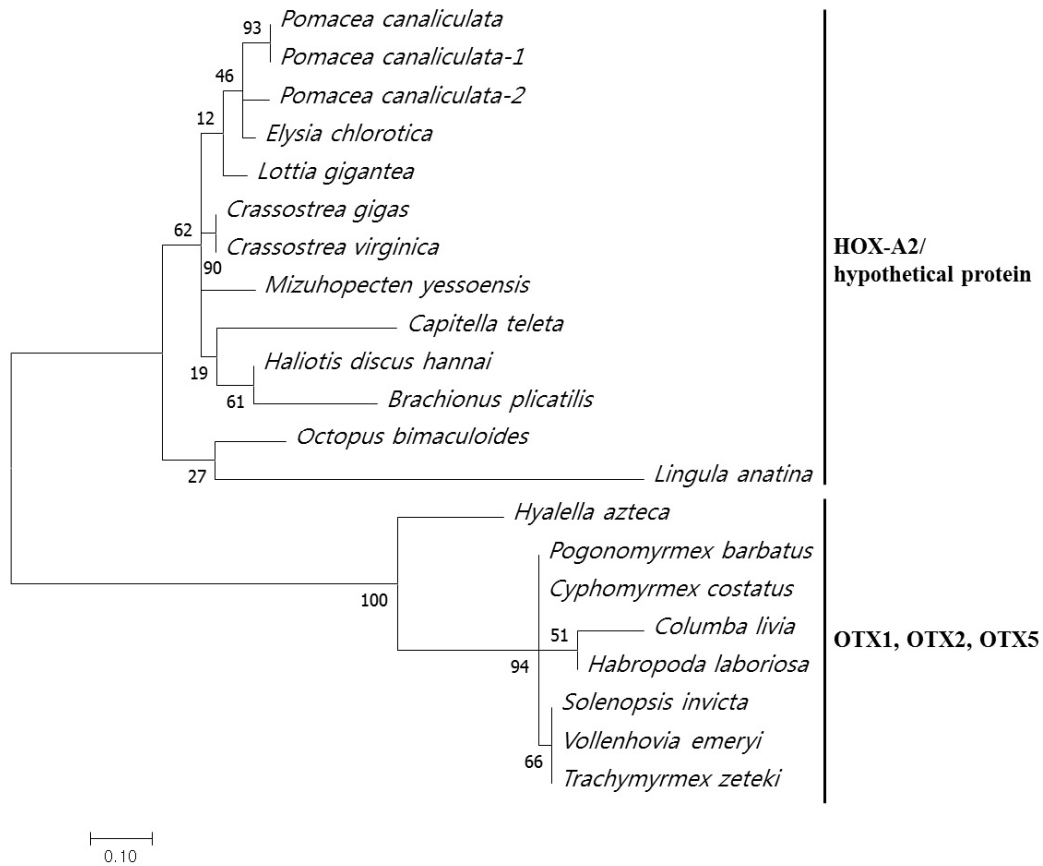


Fig. 3. Phylogenetic analysis of the HDH-HoxA2 and related sequences. The deduced amino acid sequences were aligned with other known HDH-HoxA2 sequences by the CLUSTALW program. The trees were constructed using MEGA 7.0 software with the Maximum likelihood method. Bootstrap values of 1000 replicates (%) are indicated for the branches. Sequences were obtained from 21 GenBank. The GenBank accession numbers for the sequences are as follows: *Elysia chlorotica* (RUS69823.1), *Crassostrea gigas* (XP_011454575.1), *Mizuhopecten yessoensis* (XP_021359506.1), *Crassostrea virginica* (XP_022332934.1), *Lottia gigantea* (XP_009066313.1), *Pomacea canaliculata* (XP_025103631.1), *Pomacea canaliculata* -1 (PVD26398.1), *Pomacea canaliculata* -2 (XP_025103630.1), *Capitella teleta* (ELT93182.1), *Brachionus plicatilis* (RNA24447.1), *Octopus bimaculoides* (XP_014782262.1), *Lingula anatina* (XP_013395510.1), *Hyalella azteca* (XP_018006489.1), *Solenopsis invicta* (XP_011163224.1), *Vollenhovia emeryi* (XP_011869156.1), *Trachymyrmex zeteki* (XP_018317503.1), *Pogonomyrmex barbatus* (XP_025072975.1), *Columba livia* (XP_005515424.2), *Cyphomyrmex costatus* (KYN01457.1), *Habropoda laboriosa* (KOC68115.1).

다양한 종의 HDH-HoxA2와의 단백질 서열을 비교분석하기 위해, NCBI데이터 베이스의 다양한 class에서 유사성을 보이는 참고서열을 총 21 개 확보하였다. 전체 아미노산 서열 중 62 개 아미노산으로 구성된 homeodomain 영역을 MEGA (version 7.0) 프로그램으로 계통수를 작성하여 분석하였다. HDH-HoxA2의 homeodomain 영역은 윤충류인 로티퍼 (*Brachionus plicatilis*) 와 유사도가 높았으며 가리비 (*Mizuhopecten yessoensis*), 참굴 (*Crassostrea gigas*), 삿갓조개 (*Lottia gigantea*), 푸른 민달팽이 (*Elysia chlorotica*),

왕우렁이 (*Pomacea canaliculata*) 같은 연체동물과 하나의 그룹을 형성하였다. 바위비둘기 (*Columba livia*), 호박벌 (*Habropoda laboriosa*), 붉은 불개미 (*Solenopsis invicta*) 를 포함하는 Homeobox protein OTX계열의 또 다른 하나의 그룹으로 나뉘어졌다 (Fig. 3).

3. 복방전복 초기발생단계에서 HDH-HoxA2 mRNA 발현 분석

HOX 유전자는 생물의 초기 발생 과정 중에 관여하는 다양한 유전자의 발현을 조절하면서 생물의외형적 형태를 결정하

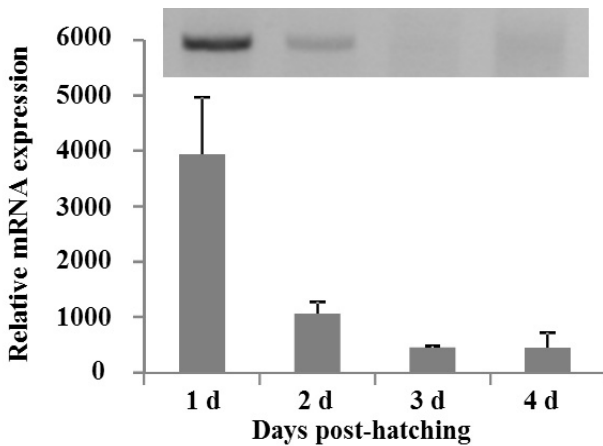


Fig 4. Relative mRNA expression levels of HDH-HoxA2 in early developmental stages. The HDH-HoxA2 mRNA expression levels relative to 18S mRNA levels were examined by real-time PCR at each day after hatching. Data are shown as mean ±SD (N = 3).

는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 전복을 포함하는 해산 복족류의 초기발생과정은 담륜자유생기와 피면자유생기로 이루어진 부유유생기 (4-5일) 와 부착유생기 단계로 발전한다. 부유유생기 중 HDH-HoxA2 유전자의 mRNA 발현을 확인하기 위하여, 부화 후 1일째부터 4일째까지 부유유생에서 qPCR을 수행하였다. HDH-HoxA2 mRNA는 부화 후 1일째인 담륜자유생 (trochophore larvae) 단계에 가장 높은 발현이 관찰되었으나, 초기 피면자유생 (veliger larvae) 단계인 2일째에는 발현양이 급격히 감소하여 유영 피면자유생 단계인 3일째 부터는 발현이 거의 관찰되지 않았다 (Fig. 4). 이는 HoxA2 유전자가 연체동물의 특징적인 변태시기인 담륜자유생 (폐각으로 발달하는 연막과 발이 없는 시기) 에서 피면자유생 (연막과 발이 생기는 시기) 으로 넘어갈 때 중요한 역할을 할 것임을 시사한다.

결론

본 연구에서는 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 유전체 데이터베이스 검색을 통하여 북방전복에서는 처음으로 Hox 유전자를 동정하였다. 북방전복 Hox 유전자는 참굴의 Hox-A2과 가리비의 OTX-1과 아미노산 수준에서 각각 36%, 37%의 상동성을 보였다. 그러나 18종의 연체동물에서 보고된 homeodomain으로 계통수 분석을 실시한 결과, 계통수는 크게 Hox-A2와 OTX로 분류되었고 북방전복의 Hox 유전자는 Hox-A2로 분류되어 HDH-HoxA2로 명명하였다. HDH-HoxA2의 homeodomain은 아미노산 서열 79번째부터 140번까지 잘 보존되어 있었다. HDH-HoxA2 mRNA는 초기발생과정

중 부화 후 1일째 되는 담륜자유생 (trochophore larvae) 단계에서 가장 많이 발현되는 것이 확인되어, Hox 유전자 중 초기발생단계 유전자 발현 조절, 특히 담륜자유생에서 피면자유생으로 넘어가는 변태시기에 결정적인 역할을 하는 전사인자 인 것으로 사료된다. 원시복족류인 전복의 초기발생단계를 분자수준에서 이해하기 위해서는 본 연구에서 동정한 HDH-HoxA2 이외 다른 Hox 유전자를 발굴, 동정 및 특성 분석 연구가 수행되어야 할 것이다.

사사

본 연구는 국립수산물연구원 수산과학연구소 (R2019017) 에 의해 이루어진 연구이며 지원에 감사 드립니다.

REFERENCES

Abte-Shen, C. (2002) Deregulated homeobox gene expression in cancer: cause consequence? *Nat Rev Cancer*, **2**: 777-785.

Fritsch, M., Wollesen, T., de Oliveria, A.L., and Wanninger, A. (2015) Unexpected co-linearity of Hox gene expression in an aculiferan mollusk. *BMC Evol. Biol.*, **15**: 151.

Gehring W.J. and Hiromi Y. (1986) Homeotic genes and the homeobox. *Ann. Rev. Genet.*, **20**: 147-173.

Gehring, W.J. Affolter, M. (1994) Homeodomain proteins. *Annu. Rev. Biochem.*, **63**: 487-526.

Hinman, V.F., O'Brien, E.K., Richards, G.S., and Degnan, B.M. (2003) Expression of anterior Hox genes during larval development of the gastropod *Haliotis asinina*. *Evolution & Development*, **5**: 508-521.

Kim, M.H. and Kessel M. (1993) Homeobox genes as regulators of vertebrate development. *AgBiotech News Information*, **5**: 301-308.

Levin, M. and Hoey, T. (1988). Homeobox proteins as sequence-specific transcription factor. *Cell*, **55**: 537-540.

Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, **25**: 402-408.

McGinnis, W. and Krumlauf, R. (1992) Homeobox genes and axial patterning. *Cell*, **68**: 283-302.

Nam, B.H., Kwak, W., Kim, Y.O., Kim, D.G., Kong, H.J. et al. (2017) Genome sequence of pacific abalone (*Haliotis discus hannai*): the first draft genome in family Haliotidae. *GIGA Science*, **6**: 1-8.

Samadi, L. and Steiner, G. (2010) Expression of Hox genes during the larval development of the snail, *Gibbula varia* (L.)-further evidence of non-colinearity in molluscs.