

F203

해너콩(*Canavalia lineata*)에서 뿌리혹 특이적인 Aspartate aminotransferase(AAT2) 유전자 및 cDNA의 클로닝

김성천*, 안정선

서울대학교 자연과학대학 생물학과

해너콩의 genomic DNA를 *Sau3A1*으로 부분절단한 후 size-fraction하여 얻은 30 - 50 kb 절편을 pWE15의 *BamHI* 부위에 결합하여 genomic library를 작성하였다. 해너콩 뿌리혹 특이적인 AAT 유전자 및 cDNA clone을 선별하기 위해 3×10^5 cfu의 genomic library 및 4×10^4 pfu의 뿌리혹 cDNA library를 알팔파의 AAT2 cDNA를 탐침으로 한 선별과정을 통해 각각 3개의 genomic clone과 1개의 cDNA clone을 선별하였다. 3개의 genomic clone은 *BamHI*와 *HindIII*로 이중절단하여 Southern hybridization한 결과 각각 약 10 kb, 7 kb 및 4 kb 절편에서 강한 혼성화 반응을 보였다. 또한 cDNA library로부터 선별된 파아지 DNA를 *EcoRI*으로 절단하여 혼성화 반응을 수행한 결과 약 1.2 kb 절편에서 강한 혼성화 반응이 나타나서, 이 절편을 pBKS(+)*EcoRI* 부위에 subcloning하였다.

F204

보리수나무 뿌리혹 공생균주인 *Frankia* EuIK1의 *nifH*(nitrogenase reductase)와 D(nitrogenase α subunit) 유전자 염기서열

김호방*, 안정선

서울대학교 자연과학대학 생물학과

보리수나무 뿌리혹 공생균주인 *Frankia* EuIK1 균주의 cosmid *nif* 클론에서 *Klebsiella pneumoniae*의 *nifH*, D와 강한 혼성화 반응을 보인 3.2 Kb와 5.5 Kb *BamHI* 절편에 대한 염기서열을 결정하였다. 염기서열을 결정한 결과, 3.2 Kb 절편에는 완전한 *nifH* ORF(open reading frame)와 *nifD*의 약 절반인 719 base pairs(bp)가 포함되어 있었고, 5.5 Kb 절편에는 나머지 *nifD* 서열이 존재하였다. *Frankia* EuIK1의 *nifH*는 287개의 아미노산을 암호화하고 있었으며, ORF의 G+C%는 64.3%였다. *nifH*의 염기서열로부터 유도된 아미노산 서열을 *Frankia* 균주(FaC1, Ar13) 및 *R. meliloti*, *K. pneumoniae*, *Anabaena* 등과 비교한 결과 71.4%에서 91.6%의 높은 상동성을 보여주었다. 염기서열이 결정된 *nifD* 서열로부터 유도된 1 번에서 282번 아미노산 서열을 *Frankia* Ar13 균주의 *nifD* 서열과 비교한 결과 89.7%의 높은 상동성을 보였다. *nifH*의 5' 상류부위에 *nifH* promoter 서열을 함유할 것으로 추정되는 intergenic sequence(211 bp)가 존재하였는데, 여기에 ribosome 결합장소(RBS)인 Shine-Dalgarno sequence와 몇 개의 반복서열이 존재하였으나 *K. pneumoniae*의 *nifH* promoter 보존서열인 CTGGYAYRN₄TTGCA와 유사한 서열이 존재하지는 않았다. 또한 *nifH*와 D 사이에 45 bp로 이루어졌으며 RBS를 갖는 intergenic sequence가 존재하였다.