

F307

Mutational Analysis of *ROK1*, a Putative ATP-Dependent RNA Helicase in *Saccharomyces cerevisiae*.

이연수*, 김진미
충남대학교 자연과학대학 미생물학과

The *KEM1* gene is involved in nuclear fusion during conjugation and chromosome transmission and spindle pole body duplication/or separation during mitotic cell division in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *KEM1* was also independently identified as *DST2*, *SEPI1*, *XRNI*, and *RAR5* on the basis of DNA strand transferase or exoribonuclease activity *in vitro* or mutations affecting plasmid stability. The *ROK1* gene was identified as a high copy plasmid suppressor of the *kem1* null mutation and predicted to have functions related to those of *KEM1*. We have shown that the *ROK1* gene is essential for viability and its protein sequence contains highly conserved domains found in the D-E-A-D protein family of ATP-dependent RNA helicases. We are currently making amino acid substitution mutations in the conserved helicase domains of *ROK1* to see if these domains are required for *ROK1* functions.

F308

Sequence analysis and molecular characterization of the *KEM3* gene involved in spindle pole body function in Yeast

이일남*, 김진미
충남대학교 자연과학대학 미생물학과

효모(*Saccharomyces cerevisiae*)의 Spindle pole body(SPB)는 핵막에 존재하는 구조체로서 세포분열시 SPB 사이에 microtubule이 생겨 핵분열을 도와준다. Conjugation cycle에서 서로 다른 mating type인 a와 α 세포 사이에 mating이 일어날때, SPB에서 뿜어나오는 microtubule이 두개의 핵을 끌어주며 SPB에서 핵융합이 이루어진다. SPB의 구성물질중의 하나를 encode하는 것으로 알려진 *KAR1* 유전자와 관련되어 세계의 유전자 *KEM1*, *KEM2*, *KEM3*가 찾아졌다. 이들중 *KEM1*과 *KEM3*는 7번 염색체의 left arm에 20 cM 정도 떨어져 있으며, 세포분열에 관여함이 밝혀져 있다. *KEM3* gene을 포함하는 2.0kb 크기의 DNA fragment가 클론되어 있으며, linker insertion mutation을 통해 분석한 결과 1.3 kb의 기능부위를 갖는 것으로 예상되었다. 본 연구에서는 예상되는 기능부위를 포함하는 염기서열을 Sanger dideoxy termination method를 사용하여 1943bp를 분석하였다. 분석한 결과 *KEM3*는 1389bp의 open reading frame을 갖으며 463 amino acid를 coding하는 것으로 나타났다. Gene Bank에서 유사염기서열을 가진 유전자가 있는지 조사한 결과 일본의 Mizumoto 그룹이 mRNA Capping enzyme을 coding한다고 발표한 *CEG1* gene과 같은 것으로 나타났다. 이 결과를 바탕으로 *KEM3*와 관련있는 것으로 보고된 *KAR1*과 함께 *KAR2*와 *KAR3*의 *KEM3*의 발현여부에 따른 RNA 생성량 조사를 위해 Northern blot을 실시하고 있다.