

**F309**

*Pseudomonas* sp. DJ77로부터 phenanthrene 분해  
유전자군 *phnI, J, K, L*의 클로닝과 염기배열 결정

김성재\* 성학모 김영창  
충북대학교 자연과학대학 미생물학과

*Pseudomonas* sp. DJ77의 chromosomal DNA로부터 4.8-kb Bgl II 절편상에 존재하는 phenanthrene 분해에 관련된 *phnH*를 포함하는 새로운 유전자군을 벡터 pBR322에 클로닝하였다. 클로닝방법은 Bgl II로 완전히 절단한 DJ77의 chromosomal DNA를 이전에 클로닝한 *phnH*를 probe로 사용하여 southern hybridization 한 후 그 크기의 절편들을 회수하여 pBR322-BamHI에 ligation 하고 *E. coli* HB101에 형질전환한 것을 다시 *phnH* probe로 colony hybridization하여 클론을 선별하였다. 이렇게 얻은 재조합 plasmid인 pHENB5의 제한효소지도를 작성하고 subcloning하여 유전자의 위치와 염기배열을 결정하였다. 그 결과 *phnH* 유전자 다음에 차례로 나타나는 *phnI, J, K* 그리고 *L* 유전자는 각각 dehydrogenase, aldolase, decarboxylase 그리고 isomerase를 암호화하고 있음이 밝혀졌다.

**F310**

**Mutational analysis of the *vir*-box in *virE* promoter of pTiA6**

Han, Seong Su, Un Hwan Ha\* and Woong Seop Sim  
Department of Biology, Korea University, Seoul, Korea

In order to investigate the role of *vir*-box in *virE* gene expression, three mutants were constructed by site directed mutagenesis. A, C, T at the positions of -62, -63 and -65 on the *virE* promoter were changed to T, A, C, respectively. These substitutions which destroyed the structure of 5'-terminal region from the center of *vir*-box resulted in the decrease of the  $\beta$ -galactosidase activity to 17% of that of native *virE* promoter. The nucleotide A at the position -55 in the *vir*-box was substituted with the T. This substitution which destroyed the structure of 3'-terminal region from the center of *vir*-box resulted in the decrease of the  $\beta$ -galactosidase activity to 17% of the native promoter's. The T, G  $\rightarrow$  A, T substitutions at the positions of -60 and -61 on the *vir*-box changed the *vir*-box from imperfect dyad symmetry structure to perfect dyad symmetry structure showed 302% higher  $\beta$ -galactosidase activity than that of the native *virE* promoter.