

F311

*Schizosacharomyces pombe*의 filament 유전자에 관한 연구

김인규*, 정재욱, 김형배
고려대학교 자연과학대학 생물공학과

Cytoskeletal element는 세포의 이동뿐 아니라 세포가 일정한 모양을 갖추며 분열하는데 중요한 역할을 하고 있으며, actin과 microtubule 이외에도 filament에 관하여 많은 연구가 진행되고 있다. *Saccharomyces cerevisiae*의 mother cell과 daughter cell의 연결 부위 원형질막 안쪽에 존재하는 filament가 발견되었고, 이들을 이루는 *CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12* 유전자가 clone되고 염기서열이 결정되었다. PCR을 이용하여 이들과 유사한 filament 유전자를 *Schizosacharomyces pombe*에서 clone하여 염기서열을 밝혀 본 결과, 457개의 아미노산으로 구성된 filament 유전자는 *Saccharomyces cerevisiae*의 *CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12* 유전자들과 31%의 유사성을 갖고 있음이 밝혀졌다. *Schizosacharomyces pombe*에서의 filament 기능을 밝혀 보기 위하여 filament 유전자를 *E.coli*의 *trpE* 유전자와 *lacZ* 유전자와 fusion시켜 fusion 단백질을 생산하였다. 현재 이들 fusion 단백질을 토끼에 주입하여 filament에 대한 항체를 형성중에 있다.

F312

토양에서 분리된 *Xanthomonas* sp. strain JK311 protease의 분석 및 유전자 클로닝

장지연, 박수정*, 김상해
인제대학교 자연과학대학 생물학과

호염기성 단백질가수분해효소를 분비하는 미생물을 탐색하고 연구하기 위하여 토양으로 부터 미생물을 채취한 후 단백질가수분해효소를 세포 밖으로 분비하는 균들을 skim milk 한천배지에서 선별하였다. 효소활성이 가장 높은 균을 선택하여 API 20E와 ATB system으로 동정한 결과 선별한 균이 *Xanthomonas maltophilia*로 밝혀졌으며 최적 성장온도는 37°C였다. 또한 이 균은 pH 7.0 - pH 9.5 에서 높은 성장력과 분비된 단백질가수분해효소의 활성을 보임으로서 호염기성 균주로 확인되었다. 분비되는 주요 단백질가수분해효소는 네 종류이며 모두 serine protease였으며 그 중 두 종류는 SDS에 의해 활성을 잃지 않았다. 선별된 균주의 염색체 DNA를 절단하여 pUC19에 클로닝한 후 *E. coli* HB101에 형질전환 시켰다. 형질전환체들 중 단백질가수분해효소를 분비하는 클론을 선별하여 유전자분석을 하였다. 클로닝된 단백질가수분해효소 유전자의 DNA절편 크기는 5.8 kb 정도였으며 약 30 kD의 단백질을 합성하였다.