

F316

A 170 bp DNA Sequence Residing Upstream of *paiA*, upon Introducing in Multicopy, Suppresses Polyamine Requirement for Induction of Polyamine-Inducible Genes, *paiA*, *paiB* and *paiC* of *Escherichia coli*.

유재연, 오태정, 이종호
성균관대학교 이과대학 생물학과

Polyamine(PA)에 의해 전사유도되는 유전자 *pai*(A, B 그리고 C)는 λ *placMu53* operon fusion 방법으로 본 연구실에서 처음 확인되었다. 이들 fusion들은 PA이 첨가되지 않은 배지에서는 거의 발현이 되지 않으나, putrescine(1 mM) 첨가배지에서는 높은 수준으로 전사유도된다. *paiA28::\lambda* *placMu53* 균주 SN28에서 구한 specialized transducing phage로 부터 fusion junction 부분과 *paiA* 유전자의 promoter proximal 그리고 upstream 부분을 포함하는 3.2 Kb *HindIII/EcoRI* DNA 절편을 plasmid vector pUC18에 clone하여 plasmid pJL4를 구하였다. 이 plasmid pJL4를 *paiA28::\lambda* *placMu53* 균주(SN28)에 도입하였을때 배지에 PA을 첨가하지 않았을때에도 chromosome상의 *paiA28::\lambda* *placMu53* fusion의 발현이 1 mM putrescine이 첨가되었을때의 SN28/pUC18 비교균주와 유사한 정도로 높게 발현되었다. 또한 putrescine이 첨가되면 SN28/pJL4는 동일한 조건에서 성장시킨 SN28/pUC18에 비해 약 2배 정도 더 높은 *paiA*의 발현을 나타내었다. 이러한 *paiA* 발현증가 효과를 나타내는 최소한의 DNA sequence를 구하기 위하여 3.2 Kb DNA 절편을 *paiA* promoter upstream region으로 부터 down stream 방향으로 serial deletion clone들을 구하였다. 이들 중 *paiA* 발현증가 효과를 보이는 clone중 가장 작은 size의 insert와 정상적인 *paiA* 발현을 보이는 clone중 가장 큰 size의 insert를 분리하여 DNA 염기서열을 결정하였다. 이 insert들은 *paiA* fusion의 Mu S end에 존재하는 *HindIII* site로 부터 각각 810 bp 그리고 640 bp 까지의 upstream region을 포함하고 있어 *paiA* 유전자의 발현이상을 초래하는 이 염기서열은 170 bp내에 위치함을 알 수 있었다. Plasmid pJL4는 *paiB86::\lambda* *placMu53* 그리고 *paiC6032::\lambda* *placMu53* fusion 균주에서도 *paiA28::\lambda* *placMu53*와 동일한 조절양상을 나타냄이 관찰되었다. 이러한 결과는 이 170 bp DNA 절편내에 *pai* 유전자들의 전사조절에 공통적으로 작용하는 DNA sequence의 존재를 제시해주고 있다.