

F318

Molecular Cloning and DNA Sequencing of *parB* Essential for Polyamine-Dependent Transcriptional Expression of *paiA* in *Escherichia coli*.

김정호, 성원근, 이종호
성균관대학교 이과대학 생물학과

유전자 *paiA*는 λ placMu53 operon fusion에 의해 발견되었으며, polyamine putrescine에 의해 특이적으로 전사유도되는 유전자로서 대장균염색체 상의 29.5분에 위치한다. *parB*는 putrescine에 의한 *paiA* 유전자 전사발현을 위하여 필수적으로 요구되는 genetic locus로 대장균의 genetic map 상의 86분에 존재하며 physical map 상의 4031 kb와 4037 kb 사이에 위치하는 것으로 알려져 있다. Polyamine에 의한 전사조절기작을 연구하기 위해 본 연구에서는 야생형 *parB* locus를 cloning하였다. 야생형 대장균 K-10으로부터 만들어진 genomic library를 *parB⁻ paiA28:: λ placMu53* 균주에 transformation하여 putrescine (1 mM)을 첨가한 Glc/X-gal 최소배지에서의 *paiA* 발현을 가능케 하는 수종의 clone들을 찾았다. 이들 중 대표적인 clone (pJL201)의 chromosomal DNA insert의 제한효소지도를 작성한 결과 대장균genome의 4036kb 부근을 포함하는 Kohara clone #550 [16G1]과 정확히 일치하였다. 이로부터 pJL201은 flavine reductase 유전자 (*fre*)와 fatty acid degradation 유전자 (*fadA*)의 일부 및 이들 유전자 사이에 존재하며 특이한 RNA 이차구조의 형성이 제안된 400 bp의 DNA sequence를 포함하는 것이 확인되었다. *fre*와 *fadA*의 일부 및 이들 사이의 400 bp를 포함하는 genomic DNA의 *Sall/puvII* (1.2 kb)절편을 Kohara clone #550으로부터 구하여 *Sau3A*로 complete digestion시켜 plasmid pBluscript M13에 clone하여 *parB⁻*를 complementation하는 clone (pJL207)을 구하였다. DNA 염기서열 분석결과 이 *parB* clone은 *fadA*의 C-terminal 부분의 140 bp과 이와 연결한 부분에 존재하여 특이한 구조의 RNA product가 예견되어진 DNA sequence 중 60 bp를 포함하는 0.2 kb의 *parB* insert를 갖고 있음이 확인되었다. 이러한 결과는 *parB* clone이 protein을 암호화할 가능성이 적음을 나타내주고 있다. 또한 *parB⁻* 돌연변이는 Kohara clone #550 [16G1]에 의해 trans-complementation됨을 감안하면 polyamine에 의한 *paiA* 유전자의 전사유도에 positive regulator로 작용하는 분자량이 적은 RNA factor가 0.2 kb clone 의해서 생성될 가능성을 제시해주고 있다.

F319

***Streptomyces lividans secY* 유전자의 Cloning 및 염기배열분석**

김순옥¹, 김상숙², 서주원^{1,2}

¹명지대학교 생명과학연구소, ²명지대학교 이과대학 생명과학과

자연적으로 발달된 방선균의 단백질분비능력과 산업적으로 유용한 여러가지 효소, 항생물질 등을 생산하는 방선균의 세포의 단백질분비기작을 밝히기위해 단백질분비기구 구성요소 유전자중 protein translocator로 알려진 *SecY* 단백질의 유전자를 방선균 중 형질전환의 용이성으로 이중유전자 산물의 분비를 위한 숙주균으로 가장 많이 사용되는 *Streptomyces lividans* (TK24) 에서 분리, cloning하였다. *secY* 유전자가 분리된 대장균이나 *B. subtilis* 등 다른균주에서 특히 보존적인 지역을 중심으로 아미노산 서열을 비교하고 *Streptomyces*에서 가장 많이 사용되는 염기서열을 사용하여 primer를 제작하여 PCR하였으며 약 1.9Kb 정도의 단편을 얻었다. DNA sequencing 후 추정되는 아미노산서열로 보고된 다른 *SecY* 단백질과 비교한 결과 상당히 높은 상동성을 보였으며 *Streptomyces*에서도 역시 *secY* 유전자가 *spc* operon내에 존재하며 상류부위에는 ribosomal protein L15가 하류부위에는 *adk*(adenylate kinase) 유전자가 존재한다는 것을 알 수 있었다.