

P55

*Serratia marcescens*에서 Polyphosphate kinase(*ppk*) 유전자의 발현조절 및 산물확인

이승진, 송옥렬, 정수열¹, 최용락동아대학교 생명자원과학부, ¹동주대학 식품영양과

본 연구과제는 인산축적관련 유전자의 분자적 해석을 하여 인산축적 우수균주를 작성하기 위한 연구의 일환으로 *ppk*(polyphosphate kinase) 유전자를 대량발현 및 발현산물을 확인하고자 하였다. 결정된 염기배열 결과를 이용하여 Ppk 영역을 합성할 수 있는 DNA를 PCR로 증폭하여 발현벡터인 pKK223-4에 클로닝하여 재조합체 pSPPK5를 얻었다. 이 클론을 도입한 균주를 최소배지에 배양하여 IPTG로서 과량발현 시켜서 SDS-PAGE를 실시한 결과 벡터 만이 도입된 균주보다 pSPPK5가 도입된 균주에서 75 kDa의 진한 밴드를 확인하였다. Ppk 단백질이 과량발현된 산물은 수용성 분획 보다 불용성 분획에서 약 75kDa의 산물이 대량으로 검출되어져서 *ppk* 유전자의 대량발현 된 유전자 산물이 inclusion body를 형성한 것으로 보여진다. 따라서 발현산물이 수용성 분획에서 효소활성을 가지는 조건을 검토하기 위하여, 재조합 플라스미드가 도입된 균주를 다양한 온도(23℃, 25℃, 28℃ 및 30℃)에서 배양하여 유전자 산물을 확인하였다. 그 결과, 23℃에서 생육한 세포의 수용성 분획에서 가장높은 효소활성 증가와 과발현된 단백질을 나타냈다. 이들 유전자 및 *ppk* 유전자의 기능적 해석 및 유전자의 발현 등의 분자적 해석을 확인하기 위한 연구의 일환으로서 *lacZ* 유전자와의 융합플라스미드를 작성하여 발현조절을 보고자 *ppk-lacZ* 융합 플라스미드 pMP13을 얻었다. 얻어진 클론을 가지고 효소활성을 측정하여 cAMP-CRP에 의한 유전자의 발현 조절 기구의 확인 실험 등을 수행하였다.