

P12

## *Salmonella typhimurium* Glutamate Synthase (GOGAT)의 유전자 클로닝 및 발현

이동익 · 차병윤 · 조미라 · 김철호<sup>1</sup> · 김동수

경성대학교 식품공학과

<sup>1</sup>동국대학교 한의과대학 분자생화학교실

L-Glutamate의 생합성은 *Escherichia coli*와 *Salmonella typhimurium*에서 N동화작용과 밀접한 관련이 있으며, glutamate dehydrogenase (GDH)와 glutamine synthetase와 연결된 glutamate synthase(or glutamate-oxoglutarate aminotransferase; GOGAT)에 의해서 촉매되는 2 개의 독립적인 과정에 의해서 합성되어지는 것으로 보고되고 있다. 따라서, *Salmonella typhimurium* Glutamate Synthase (GOGAT)는 glutamate를 합성하는데 이용되는 중요한 효소 중에 하나라고 할 수 있다. 본 연구에서는 이 효소를 pUC19 vector에 삽입을 시도하고, *E. coli*에서 대량 발현을 유도하였다. 또한 발현된 단백질의 아미노산 배열을 알아보기 위해서, pUC19에 삽입된 glutamate synthase는 여러 가지 제한 효소 (*Kpn* I, *Sma* I, *EcoR* V, *Pst* I-*Sma* I과 *Xba* I-*EcoR* V)에 의해서 절단되었고 그 유전자 지도를 만들었다. Nucleotide 배열 분석을 통해서, clone된 glutamate synthase가 2769 bp로 이루어져 있고, 이 영역의 거의 대부분(+1에서 +2767까지)이 open reading frame으로 밝혀졌다. 또한 923-amino acid로 구성되어 있음을 알 수 있었다. FMN-binding domain으로 알려진 영역에는 12개의 glycine 잔기가 포함되어 있었으며, 3Fe-4S cluster에는 3개의 cystein (Cys-112, Cys-128, Cys-132) 잔기들이 높게 보존되어 있었다. 마지막으로 homological search를 통해, *S. typhimurium* GOGAT의 nuclotide는 *E. coli* GOGAT의 large subunit와 약 87%로 유사성을 나타내었고, amino acid 배열 또한 매우 높은 유사성을 나타내었다.