

P35

***Salmonella typhimurium* Glutamate Synthase(GOGAT)  
Large Subunit의 유전자 클로닝 및 발현**

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

경성대학교 식품공학과

<sup>1</sup>동국대학교 한의학과

*Salmonella typhimurium* Glutamate Synthase(GOGAT)는 glutamate를 합성하는데 이용되는 효소 중의 하나이다. 이 효소를 pUC19 vector에 삽입하였고, *E. coli*에서 대량 발현을 유도하였다. 또한 발현된 단백질의 아미노산 배열을 알아보기 위하여, pUC19에 삽입된 glutamate synthase는 여러 가지 제한효소(*Knp* I, *EcoR* V, *Pst* I - *Sma* I 과 *Xba* I - *EcoR* V)에 의해서 절단하여 유전자 지도를 만들었다. Nucleotide 배열 분석을 통해서, clone된 glutamate synthase가 2769bp로 이루어져 있으며, 이 영역의 거의 대부분(+1에서 +2766까지)이 open reading frame으로 되어있음이 밝혀졌다. 또한 923-amino acid로 구성되어 있음도 알 수 있었다. FMN-binding domain으로 알려진 영역에서는 13개의 glycine 잔기가 포함되어 있었으며, 3Fe-4S cluster에는 3개의 cystein (Cys-82, Cys-818, Cys-8) 잔기들이 높게 보존되어 있었다. 마지막으로 homological search를 통해, *S. typhimurium* GOGAT의 nucleotide는 *E. coli* GOGAT의 large subunit와 약 87%로 유사성을 나타냄을 알 수 있었으며, amino acid 배열 또한 매우 높은 유사성을 보였다.