

# 총 설

## CRP의 전사 조절계

### (Transcriptional Regulatory System by CRP)

최 용 락

동 아 대 학 교 농 화 학 과

#### 1. 서 론

유전자의 DNA를 RNA로 전사시키는 생체의 장치는 DNA의존성으로서 RNA를 합성하는 효소인 RNA polymerase와 DNA상의 signal(promoter)과의 상호작용으로 이루어진다. 이때 단독으로 전체 유전자의 전사가 일괄적으로 일어나지 않고 어떤 유전자를 전사시킬지를 선택함으로써 전사를 조절하게 되어지는데, 이는 promoter고유의 활성을 비롯하여 여러가지 요인에 의해 제어되어져 전사가 촉진 되든지 억제되는 경우가 발생한다. 현재까지 잘 알려져있는 전사조절인자의 대부분은 단백질이다. 그들의 대부분은 DNA의 배열을 특이적으로 인식하여 결합하도록 하는 몇 가지의 motif가 밝혀져 있는 조절단백질로서 잘 알려져 있는 단백질들이다. 이들 단백질은 phage와 대장균을 중심으로 하는 원핵생물에서 유전학적·생화학적으로 동정되고 연구되어져서, DNA결합성의 조절단백질과 유전자의 핵산인식 signal과의 상호작용이 전사조절의 분자원리로서 잘 알려져지고 있는 것은 operon설의 제창이래 분자생물학에서의 중요한 개념중의 하나일 것이다.

하나의 조절단백질에 의해 조절되어지는 operon의 총체를 regulon이라고 부르는데, 이들 조절인자의 활성은 외부의 자극에 대응하여 변화하게 된다. 한가지 예로서 당대사계 유전자를 중심으로 한 operon에서 찾아볼 수 가 있다. 탄소원의 변동이라는 자극을 받게되면 adenylate cyclase의 sensor가 작용함으로써 cAMP라고 하는 signal이 발생하게 된다. 이 화학적인 signal은 조절인자인 조절단백질 CRP(cyclic AMP receptor protein)과 결합하여 당대사계의 operon 즉, regulon에 작용하여 그들의 발현을 조절하게 된다. Magasanik<sup>1)</sup>에 의해 제안된 "catabolite억제"라는 현

상이 있다. 이는 일명 "glucose 효과" 또는 "glucose 억제"라고 불리며 glucose level의 변화에 의한 다른 탄소원의 대사적이용이 변화되는 현상으로서, 다른 당대사계의 유전자 발현이 제어되어지는 현상을 일으키는 regulon으로 알려져 있다. 즉, cAMP level이 낮아져서 stimulon으로 작용하는 cAMP-CRP복합체에 의한 발현촉진이 제어되어지는 system을 말하는 것이다.

위와 같은 연구탐색의 결과 CRP가 동정·정제되어지고, 수종의 crp-변이주를 이용하여 *cya*, *crp* 유전자를 비롯한 cAMP-CRP복합체의 조절하에 있는 유전자들이 lac operon을 시작으로 분자유전학적으로 연구되어져 왔다.

본고에서는 cAMP-CRP에 의해 파생되는 유전자의 발현 조절에 관여하는 주요내용의 분자생물학적인 수준의 발견 과정 및 연구결과를 서술하고자 한다.

#### 2. CRP의 구조

조절단백질로 알려져있는 것들 중에서 비교적 풍부한 양이 존재하는 것으로 알려져있는 CRP는 세포당 약 1,200 분자정도가 존재하는 것으로 추정되어지고 있다. 이러한 특징이 다양한 조절인자로서 가지고 있는 CRP의 성질을 잘 반영하고 있는 점이다. 정제된 단백질로부터의 특성은 약염기성(등전점은 9.12)이며 분자량은 약 23,000Dalton이다. Dimer로서 작용하며, cAMP와 DNA에 결합하는 특별한 활성을 가지고 있다. 즉, cAMP의 결합이 이루어짐으로서 conformation이 변화하여 DNA에의 결합활성이 증대되어지고, 이는 protease의 부분분해법 등으로 CRP peptide의 기능 domain을 해석 하기 위한 연구결과로서 잘 밝혀져 있다.<sup>2)</sup> 그 결과 N-말단측의 2/3영역에는 cAMP가

결합하고, C-말단측 1/3에는 DNA가 결합하는 영역이 존재함을 확인했다.

염색체지도상의 63분에 위치하는 *crp* 유전자는 Aiba 등에 의하여 cloning되어져서 1차구조를 해석한 결과 209개의 아미노산 잔기를 coding하고 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>3)</sup> 또한 X-선회절분석법에 의하여 밝혀진 3차구조는<sup>5)</sup>,  $\lambda$ -phage의 조절단백질인 Cro와  $\lambda$ -repressor 등의 DNA결합 domain에 공통적으로 존재하고 있는  $\alpha$ -helix-turn- $\alpha$ -helix의 구조가 존재하였으며 그들과 비교하여 DNA결합성단백질의 motif로서도 제안되어졌다(그림1). 더우기 단백질의 1차구조의 비교에 의하면 박테리아의 조절단백질 또는 진핵세포의 조절단백질에도 helix-turn-helix구조가 예상되어지고 있고 이들 조절단백질과 표적DNA와의 특이적인 상호작용은  $\alpha$ -helix를 구성하고 있는 아미노산의 측쇄와

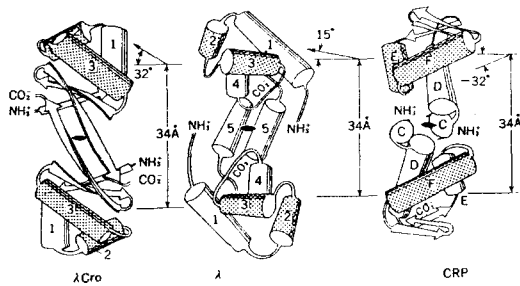


Fig. 1. Schematic structure of helix-turn-helix in regulatory proteins.

X-선구조해석으로 결정되어진 3종의 조절단백질의 DNA결합 domain을 비교했다.

▨: helix-turn-helix의 구조

DNA 염기 사이의 수소결합 또는 이온결합 등에 의하여 결정되어지는 듯하다.

### 3. DNA결합의 공통배열과 중요성

CRP는 그 자체가 DNA와의 친화성을 가지지만 cAMP가 결합하여야만 conformation이 변화하며 특이적인 DNA의 배열에만 결합하여 다수의 유전자발현조절에 관여한다. 실제로 gel shift assay법에 의하면(그림2) CRP와 DNA단편과는 특이적인 복합체가 형성되어 전기영동상의 이동도가 free DNA의 단편보다는 크게 늦어지는 성질을 볼 수가

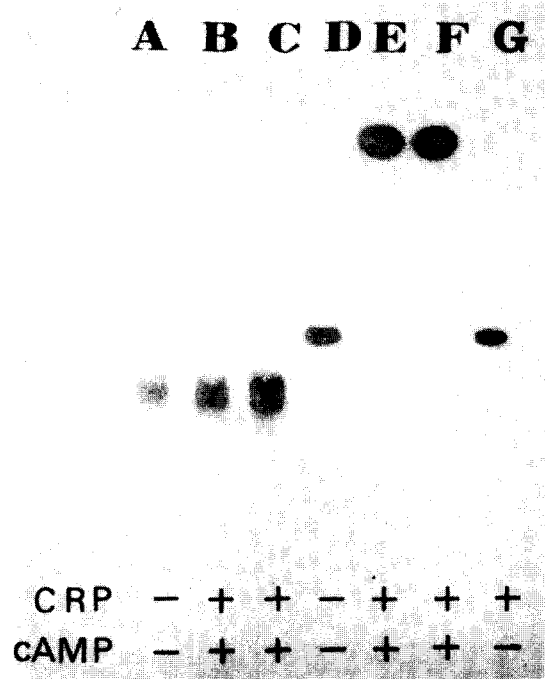


Fig. 2. Gel retardation assay for CRP binding to the *glpD* regulation region.

DNA segment used for the complex formation : lanes A-C ; the *EcoRV* fragment from the *glpD* coding region(nt No. 799-1159 in the seq.), lanes D-F ; the DNA segment from the regulatory region of *glpD*. The mixture was separated on a 5% polyacrylamide gel. CRP concentration : lane B, E, and G ; 0.4 pmol, lane C and F ; 0.6 pmol. The DNA-CRP complex was assayed by autoradiography.

있고, 또한 이때에는 cAMP가 필수적으로 존재해야만 DNA와 결합하게 되어 cAMP-CRP의 complex가 형성되어야만 유전자의 발현조절에 관계할 것으로 보여졌고<sup>6)</sup>, 실제로 이후에 서술되는 전사조절에는 cAMP-CRP의 복합체형태로서 관여하는 것을 볼 수가 있다. 이처럼 어떤 단백질에 특이적으로 결합하는 DNA단편의 동정이나 특정의 DNA배열에 결합하는 단백질의 동정, 탐색, 더우기 단백질과 DNA상호작용의 연구에 이 방법은 널리 이용되어지고 있다. 한편 cAMP-CRP가 특이적으로 결합하는 DNA배열은

foot-printing법 등의 방법에 의한 결과의 해석과 약 30여종 CRP의 조절하에 있는 유전자의 해석에 의한 promoter 및 조절영역을 결정시킨 1차구조에서 CRP결합영역이 동정 또는 추정되어졌다. 이들의 data를 정리해석하여 CRP결합 영역의 consensus sequence를 얻을 수가 있었다(그림 3).

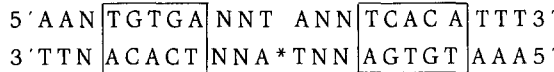


Fig. 3. Consensus sequence of the CRP binding site.

box : 보존도가 높은 5bp의 motif

\* : 대칭의 중심(11bp의 unit가 역반복배열을 가짐).

결합하는 공통배열은 보존도가 높은 5염기배열의 5'TG-TGA3'가 존재하고 6bp떨어져서 5'TCACA3'의 보존도가 약간 뒤떨어진 공통배열이 존재하는데, 이는 5'TGTGA3'의 motif가 역반복된 구조이다. 즉, 전체 22bp로서 11bp unit가 역반복된 구조를 이루고 있으며 motif인 5'TGTGA3'의 보존도는 높은 편이나 다른 부분에 대해서는 비교적 변동이 높게 나타나고 있는 것은 cAMP-CRP에 대해 다양한 친화성을 가진 각 유전자의 CRP배열이 존재하고, 이것에 의해 CRP regulon에 속해 있는 개별 operon 또는 유전자의 전사조절에 상대적강약을 달리하고 있는 것으로 설명되어 질 수 있다. 또한 이러한 내용이 지니는 생리적의의 등은 해결하여야 할 흥미있는 과제일 것이다. 공통배열의 2개의 motif는 DNA의 helix-turn구조의 1회전의 거리를 두고 있어서 CRP와 결합시에 2개의  $\alpha$ -helix의 subunit에 특히 5'TGTGA3'의 motif와 특이적으로 상호작용을 하는 것으로 생각되어지고 있다.

필자 등은<sup>(7-8)</sup> site directed mutagenesis법을 이용하여 CRP결합 공통배열의 구조를 변경시킨 변이주를 선별하여 lac Z유전자와 융합유전자를 작성하여, 그들로부터 CRP 결합부위가 wild type과 변동이 일어났을 경우의 발현조절을 검토하였다. *glp E*와 *glp D*유전자는 CRP결합부위 한 곳에 의해 역방향으로 전사되는 두 유전자가 전사촉진을 동시에 받는다. 이 결합부위 motif(5'TGTGA')가 100% 일치하게 했을 경우는 전사촉진효율이 증가하는 한편, motif의 homology가 낮아지거나 일부 한쪽방향의 배열이 결

손되어진 경우와 두 motif사이의 거리가 6bp인 공통배열보다 증가되어졌을 경우는 전사촉진효율이 현저히 떨어짐을 발표했다. 이러한 결과들은 CRP결합에 의한 전사조절시에는 공통배열의 중요성, 특히 motif의 중요성을 시사해 주고 있다(그림 4, 표1).

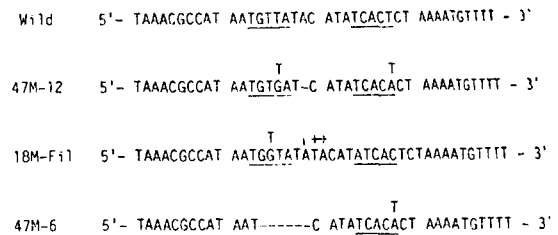


Fig. 4. Altered nucleotide sequences of the mutants of CRP-binding site. Nucleotides seen in the wild-type sequence are shown above the replacing ones in the mutant sequences. The 5'-TGTGA-3' motifs are underlined. + ; insertion, - ; deletion. (ref. 7)

#### 4. CRP의 전사조절

cAMP-CRP complex가 전사를 조절하는 것은 1970년 대초 무세포계 또는 재구성 *in vitro* 전사계에 의하여 lac operon이 전사조절되어짐을 생화학적으로 밝혀낸 데서부터였다.<sup>9)</sup> 그 이후 *mal*, *ara*, *gal*, *glp*, *xyl* 등의 당대사에 관계하는 유전자들이 촉진되어짐이 계속하여 밝혀졌고, 그 외의 아미노산대사계의 *deo*, 막단백질계의 *omf* 및 *tna*(tryptophanase), *cat*(chloramphenicol trans acetylase) 등의 다방면의 유전자전사촉진에 관여하며, 대장균전체에 약 300개의 유전자가 존재한다고 볼 때 그들중 5% 이상은 cAMP-CRP system에 의한 전사조절을 받는 것으로 수정하고 있다. 이와같은 전사촉진은 최근의 실험방법으로는 *in vitro*의 전사실험에 의해 궁극적으로 mRNA level의 전사촉진을 확인하고 있다.

위와 같은 촉진의 기능외에도 전사억제의 기능도 최근 밝혀지고 있는데 이들도 전사수준임을 고려해 볼 때 전사와 직접 관계하는 promoter와의 상호작용으로 보아지고 있

Table 1. Effects of alteration of the CRP-binding site on the expression of *glp D*- and *glp E-lac Z* fusion genes

	<i>glpD-lacZ</i> fusion gene <sup>a</sup>				<i>glpE-lacZ</i> fusion gene <sup>a</sup>			
	-cAMP	+cAMP	effect <sup>b</sup>	index <sup>c</sup>	-cAMP	+cAMP	effect	index
Wild type	1125	4345 <sup>d</sup>	3.86	100	735	1801	2.45	100
47M-12	1231	6225	5.06	131	768	2541	3.28	134
18M-Fil	996	1999	2.0	52	718	985	1.37	56
47M-6	987	2286	2.32	60	711	940	1.32	54

<sup>a</sup> The promoter region of *glp D* and *glp E* that had been cloned to an M13 phage vector was engineered by site-specific mutagenesis *in vitro*, cut out of the vector, and inserted into the *Sma*I site of a vector pMS437C, constructing *glp D*- and *glp E-lac Z* operon fusions.

<sup>b</sup> Relative enzyme activity with that in the absence of cAMP taken as 1.

<sup>c</sup> Relative efficiency with that in the wild type taken as 100.

<sup>d</sup> Values are given in Miller Units and are the mean of three independent measurements. The strain TP2010( $\Delta$ *cya*,  $\Delta$ *lac*) containing *glp D*- and *glp E-lac* fusion genes was incubated at 37°C until the  $A_{610}$  reached 0.1–0.2, and then 2 mM cAMP was added to each sample. Each sample was further incubated until the  $A_{610}$  reached 0.5, and  $\beta$ -galactosidase activity was measured.

므로 이들의 전사개시점과 CRP결합부위의 관계를 보았다. 그림 5에서 수종의 operon에 대하여 CRP결합영역과 전사개시점의 상대적위치를 표시하였다. 비교검토되어진 결과 전사촉진(activator)작용을 하는 경우는 대체적으로 promoter의 상류에 결합영역이 존재하고, 그중에서 타의 조절단백질(Ara c)을 필요로 하는 *ara*의 경우는 더욱 더 상류에 존재하고 그 하류에 Ara C가 결합한다. 한편, 전사억제(repressor)작용을 하는 경우는 프로모터와 거의 같

거나(*cya*), 더욱 하류에(*crp*) 존재하게 된다.

*crp*유전자가 cloning되어져 구조해석이 이뤄졌고, 단독적인 전사단위를 구성하고 있는 것도 명백해 졌다.<sup>3-4)</sup> Promoter는 구조유전자 약 150bp상류에 존재하며 말단에는 GC rich의 hair-pin구조와 전형적인 Rho비의존형의 전사 terminator가 존재한다. CRP결합부위는 전사개시점보다 약 42bp하류에 결합함은 foot printing법에 의하여 밝혀졌다. 더욱이 *in vitro*전사계에 의해 cAMP-CRP가 이 영역에 결합함으로써 전사를 특이적으로 억제하는 것이 밝혀져 CRP의 자기억제기구가 명백히 알려졌다.<sup>10)</sup>

한편 Okamoto<sup>11)</sup>등은 *crp*유전자의 제2의 promoter로서 발견된 것이 cAMP-CRP에 의해 *in vivo*와 *in vitro*에서 강력히 조절되어짐을 밝혔고, CRP의 mRNA와는 역방향으로 전사된다. 제2의 promoter에 의해 RNA가 합성되지 않으면 CRP는 cAMP-CRP의 전사제어를 받지 않는다. 즉, CRP의 전사제어는 이 divergent RNA에 의해 전사억제를 받는다.

cAMP합성효소인 adenylate cyclase유전자 *cya*도 유전자 구조가 명백해졌고, CRP가 결합함을 밝히고 *in vitro*전사 실험과 SI mapping법에 의한 결과, cAMP-CRP complex에 의해 *cya*의 전사가 억제되어짐은 명백해졌다.<sup>12)</sup> 이와같이 *cya*와 *crp*의 전사가 제어되어지는 것은 조절단백질인 CRP를 필요만큼 발현시키는 합리적인 system으로 생각되어 지

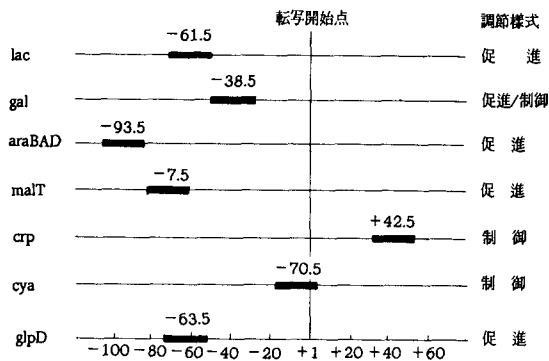


Fig. 5. Position of the CRP binding site.

몇종의 유전자에서의 CRP결합영역을 굵은 선으로 표시했음. 위의 숫자는 결합영역의 중심위치임.

고, 주된 조절목표인 박테리아 탄소원의 대사에 관련된 유전자를 조절하여 탄소원의 변화에 민감하게 대응하기 위한 system으로 이해되어진다. 그 예로서 glucose가 배지 중에 존재시에는 *cya*발현이 저해되어져 cAMP농도가 낮아지고 cAMP-CRP복합체의 농도가 낮아지므로 다른 탄소급원이 존재해도 그들의 분해유전자가 촉진되어지지 않아서 이용이 어렵게 된다. 이때는 *crp*와 *cya*의 전사억제는 해제되어진다(그림6).

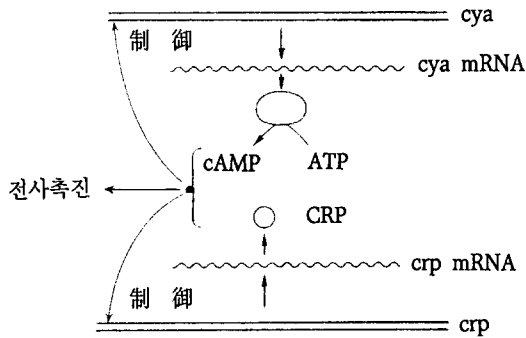


Fig. 6. Schematic diagram explaining autogenous regulation of *cya* and *crp* genes.

*crp*와 *cya*는 자신의 전사억제 뿐아니라, cAMP-CRP complex에 의해 다수 operon의 전사촉진을 하고 있다.

## 5. DNA bending과 작용기구

전술한 바와 같은 cAMP-CRP의 전사조절에 작용하는 정확한 mechanism에 대해서는 아직 밝혀져있지 않다. 그러나 오래전부터 두가지의 model이 제안되어 지고 있다. 그것은 DNA구조변화의 model과 단백질과 단백질간의 상호작용 model이다. 이러한 model을 설명하는 유력한 내용의 실험결과가 몇가지있다.

먼저 첫번째의 model에 대해 서술해보면 CRP의 결합에 의한 DNA구조변화의 model은 처음에 DNA의 이중나선 구조를 부분적으로 풀면서 RNA polymerase의 promoter에 결합을 촉진시킬 것이라는 가설하에 제안되었으나 지지할 만한 실험적 data는 없었다. 다만 *lac* promoter로부터의 실험에 의하면 CRP가 RNA polymerase와 promoter와의 결합을 강하게 한다는 것은 명백해졌다. 최근 단백질이

DNA에 결합함으로써 DNA의 구조를 변화시킨다는 것이 명백해 졌는데 단백질의 결합에 의해 유지되어지는 DNA의 bending 또는 looping 등의 구조변화의 예를 들 수가 있으며 이들로 인하여 단백질의 기능과 밀접하게 관계하고 있는 것으로 사료되어져 크게 주목을 받고 있다.

CRP가 표적 DNA에 결합하여 DNA bending이 일어나는 연구는 *lac* 조절영역에 대하여 circular permutation assay와 gel shift assay방법<sup>13)</sup>을 병합하여 실시하였다. DNA-CRP의 복합체는 free DNA보다 늦게 이동되어지며 동일한 크기의 단편을 사용해도 CRP결합영역이 DNA단편의 중앙부에 존재함으로써 더욱 이동도가 늦어짐을 확인할 수 있었다.<sup>14)</sup> 반면에 DNA-repressor복합체의 전기영동결과는 결합중심부와 상관없이 동일하게 이동이 늦어지는 gel shifting 현상만 나타나고 bending은 일어나지 않았다. 즉 CRP가 *lac*조절영역 DNA를 bending시키며, CRP결합영역이 중심에 존재할 때 발생하는 이 결과는 타실험결과로부터도 지지를 받고 있다. 한편 Crothers 등은 22bp의 CRP결합영역 공동배열이외의 염기배열도 DNA bending에 큰 영향을 미침을 밝혀냈다.<sup>15)</sup> 공동배열의 중심에서 11bp부근은 AT rich가, 16bp근방은 GC rich가 존재시에 bending이 크게 일어난다. 이 결과에서 적어도 34bp의 영역이 CRP와 상호작용하여 90° 이상까지의 bending에 관여할 것으로 생각되어지는 model을 제안하였다(그림 7). 이와같은 CRP에 의한 bending이 단백질의 전사조절기능에 중대한 역할을 담당할 가능성은 크게 시사되어지고 있다. Bending된 구조에 의해 RNA polymerase가 promoter를 식별하는데 도움이 될 수 있을지, 또는 CRP와 RNA polymerase의 상호작용을 하기에 유리해져 두번째의 model을 지지해주는 기작이 될 수도 있다. 그런 점에서 앞으로 해결되어야 할 주요과제임에 틀림이 없다.

한편 필자 등은 역방향으로 전사되는 *glp D*와 *glp E*가 조절영역의 중앙부에 존재하는 하나의 CRP 결합배열에 의하여 두종류의 유전자가 동시에 전사촉진되어 짐을 밝혀냈다(그림 8). 전술한 바와 같이 결합배열의 중요한 motif의 일부염기치환, motif사이의 거리변경 또는 한쪽방향의 motif전부가 결손되어졌을 경우 촉진기능은 크게 감소한 정도로 나타내어 졌다.<sup>7)</sup> 또한 이들 결합배열의 배열을 살펴보면 Crothers 등이 지적인 공동배열주변의 AT, 또는 GC rich한 부분이 비교적 잘 일치하고 있다. 이러한 점에서 불

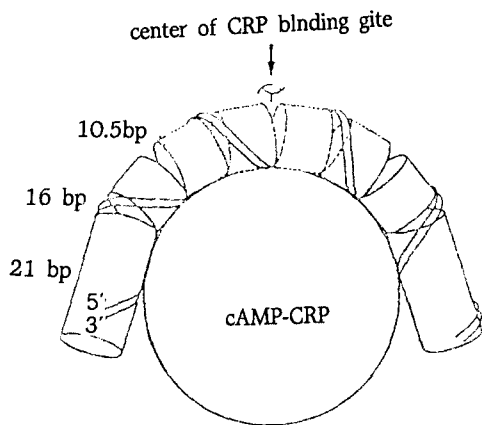


Fig. 7. Schematic representation of the CRP-DNA complex

11bp의 minor groove에 결합시에는 AT rich가 16bp의 major groove에 결합시에는 GC rich가 유리하다. 적어도 34bp의 영역이 CRP와 상호작용하고 있음.

때 bending이 일어날 충분한 조건은 갖추어져 있으나, 실제 bending이 일어났을 경우 CRP의 전사촉진기능이 양쪽방향으로 전사되는 두가지 유전자에 발생되기에는 어려움이 있을 것으로 추정되어져 단백질상호간의 작용에 의한 기작이 유리할 것으로 사료되어지며 이를 뒷받침해주는 연구결과가 연구되어져 왔다. 형광 labeling법으로 CRP와 RNA polymerase의 상호작용을 검출한 보고<sup>16)</sup>가 있었고, foot printing법으로 cAMP-CRP와 RNA-polymerase가 협동적으로 DNA에 결합되어짐을 밝힌 바가 있다.<sup>1)</sup>

한편 공동배열의 일부염기의 결실삽입에 의해서 전사촉진기능이 격감한 것은 helix-turn의 구조변화에 의한 것으로 보여지므로 CRP와 RNA polymerase가 DNA helix구조의 동일방향에 결합되어지는 것이 전사활성에 중요한 의미를 더해주는 것이라 하겠다<sup>18)</sup>.

### 6. CRP\* 변이와 당대사의 촉진유전자

Aiba 등은<sup>19-20)</sup> *crp* 유전자를 포함한 DNA에 U.V 등의 *in*

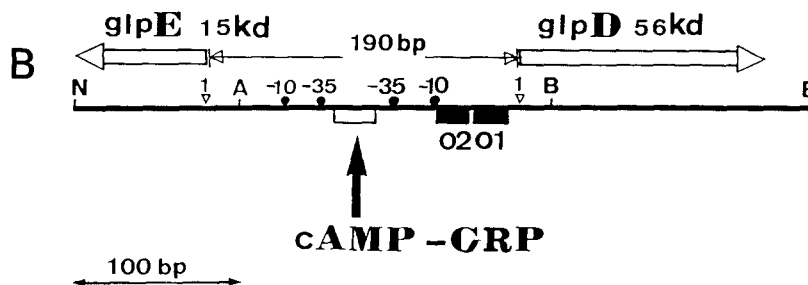
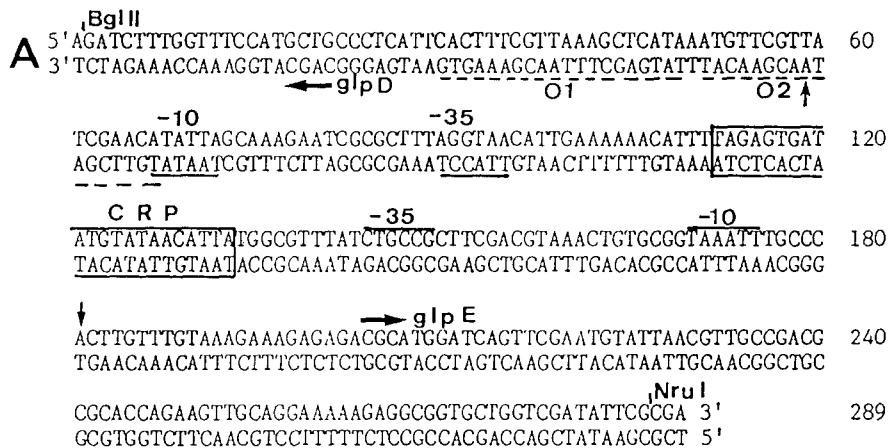


Fig. 8. The regulatory region of the *glpD* and *glpE* genes.

*in vitro* 변이 처리를 하여 흥미있는 변이주를 선발하였다. cAMP와 결합을 하지 않고서도 Lac, Ara, Xyl, ribose, mannose, mannitol 등의 당대사를 *cya* 균주에서 촉진할 수 있는 변이주 수종을 선별하였는데 이를 *crp\**로 명명하였다.

이들 *crp\** 변이주는 cAMP 또는 DNA 각각의 결합영역에서 아미노산 잔기 1개가 변화됨으로서 이러한 기능을 가지게 되었다. 또한 *crp\**는 *lac Z* 발현의 증가에 cAMP 뿐만 아니라 cGMP의 첨가에 의해서도 증가되어지게 했다. cAMP 비존재하에서 어떠한 CRP\*의 conformation이 변화하여 전사 촉진에 관여한다고는 생각되어지나 구체적인 기작의 내용은 아직까지 미해결된 상태이다.

그런데 *mal* 유전자의 발현은 cAMP 또는 cGMP 비존재시에는 *crp\**를 도입하여도 촉진되지 않는다. 필자는 *crp\*1*을 도입한 균주인 MK2001(*crp\*1*; *cya*; km)을 이용하여 당대사 제어(특히 *mal* 유전자의 발현 촉진에 관여함)에 관여

하는 10여종의 *sfs*(sugar fermentation stimulation) 유전자를 cloning할 수 있었다(표 2). 그들중에는 이미 잘 알려져 있는 *mel*, *lac*, *mal*, *cya* 등의 유전자도 포함되어져 있었고, 새로운 유전자인 *sfs1*과 *nlp*(Ner like protein)는 구조 해석의 결과 등으로 보아 *nlp* 유전자 산물은 전사 조절 단백질로서 잘 알려져 있는 Ner 단백질과는 61~62% 정도의 높은 상동성을 나타내었으며(그림 9), *sfs1*과 *nlp* 둘 다 전사 조절 단백질에서 잘 알려져 있는 helix-turn의 DNA 결합영역이 존재하였다.<sup>21-22)</sup>

이러한 결과는 *sfs* 유전자 산물이 CRP\*의 존재하에서는 미지의 기작에 의한 상호작용 등으로 maltose의 수송 또는 당대사 반응에 관여함으로써 전사 조절이 되어진다고 보아 지며 앞으로 해결되어져야 할 과제이다. 또한 *sfs1*은 cAMP-CRP에 의한 전사 조절을 받고 있는데, 이 또한 CRP\* 또는 CRP와는 부연가의 상호작용이 있을 것으로 추정되어진다.

Table 2. Cloned plasmids containing *sfs* genes<sup>a</sup>

Plasmid	Insert (kb)	Cloning site <sup>b</sup> (insert/vector)	Map position <sup>c</sup>	MK2001 <sup>d</sup>		MK1010 <sup>d</sup>		Amylomaltase activity(units)
				Mal	Lac	Mal	Lac	
pPC1	3.5	P/P	53( <i>sfs4</i> )	+		+	-	8
pPC3	4.7	P/P	93( <i>sfs6</i> )	+		+	+	16
pPC4	12.3	P/P	45( <i>sfs3</i> )	+		-	-	11
pPC23	9.2	P/P	69( <i>sfs7</i> ) <sup>e</sup>	+		-	+	7
pHC1	5.3	H/H	85( <i>sfs8</i> ) <sup>f</sup>	+		++	++	*
pHC2	6.5	H/H	75( <i>sfs9</i> ) <sup>f</sup>	++	**	++	-	33
PHC4	7.0	H/H	74( <i>sfs5</i> )	+		-	-	*
pHC11	17.0	H/H	( <i>sfs10</i> )*	+		-	-	3
pSC2	16.0	S/B	( <i>sfs11</i> )*	+		-	-	*
pSC4	19.0	S/B	( <i>sfs12</i> )*	+		+	-	*
pPVC1	7.0	Pv/Sm	8( <i>sfs2</i> )	+		-	-	8
pPVC2	1.3	Pv/Sm	3.5( <i>sfs1</i> )	++		-	-	11
pKK223-4	None	None	None	-		-	-	1

<sup>a</sup> \*, Experiments were not done.

<sup>b</sup> Each fragment was cloned in pKK223-4. P, *Pst*I; H, *Hind*III; S, *Sau*III A; B, *Bam*HI; Pv, *Pvu*II; Sm, *Sma*I.

<sup>c</sup> Map positions given in minutes. The *sfs* genes contained by the plasmids are in parentheses.

<sup>d</sup> MK2001: *crp\*1*, *cya*::Km<sup>r</sup>, MK1010: *crp*<sup>+</sup>, *cya*::Km<sup>r</sup>. \*\*, All clones show positive characteristics.

<sup>e</sup> *nlp* was identified by Choi et al. (6).

<sup>f</sup> pHC1 and pHC2 contained *cya*<sup>+</sup> and *malA*<sup>+</sup>, respectively.

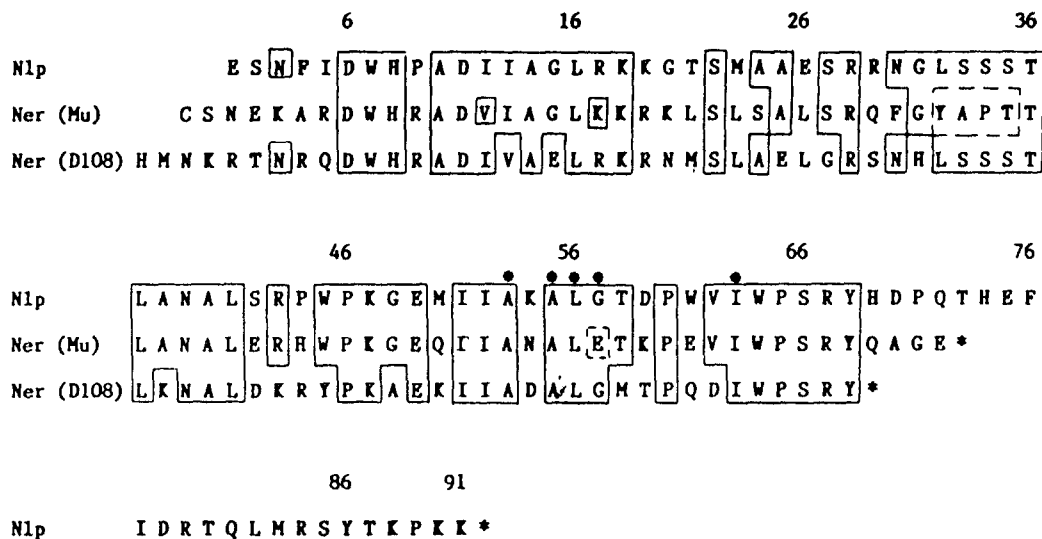


Fig. 9. Comparison of homology in amino acid sequence between *nlp* and Ner(Mu and D108) proteins (24). Amino acid sequences identical to those of the *nlp* are shown in boxes; \*, amino acid sequences conserved in transcriptional regulatory proteins by binding to DNA. The amino acid residues of the *nlp* are numbered.

## 7. 맺음말

이상에서 cAMP-CRP complex에 의해 전사조절을 받는 관련유전자의 구조, 특징, 조절양상, 기작과 CRP의 생화학적 및 분자생물학적이해 등의 매우 복잡다양한 내용을 살펴 보았다. 그러나 대장균의 전체유전자의 구조해석이 연구 사업으로 실행되어지고 있는 현실에서 볼 때 CRP의 조절 하에 있는 유전자군이 보다 더 복잡다양한 system으로 생각되어져서 CRP조절계의 전체적인 양상을 해명하기 위한 연구도 이루어질 것으로 생각되어진다.

즉, cAMP-CRP의 조절하에 있는 조절영역의 전체를 파악함은 operon의 발현조절의 해명에 중요한 기틀이 될 뿐만 아니라 개별유전자의 이해를 위한 것보다 복잡한 세포 전체의 제어계를 분자적수준에서 해결하는데 중요한 과제라고 사료되어진다. 몇가지 연구결과에서는 cAMP-CRP가 결합은 하면서도 발현조절에는 관여하지 않는다는지<sup>25)</sup>, cAMP가 결합하지 않으면서도 전사조절을 받을 수 있는 유전자들이 밝혀지고 있는 점으로 보아 보다 더 흥미있는 조절계가 발견되어질 수도 있을 것이다.

## 8. 참고 문헌

- Magasanik, B., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **26**, 249-256(1961).
- Aiba, M., Krakow, J. S., *Biochemistry*, **20**, 4774-4780 (1981).
- Aiba, H., *Nucleic Acids Res.*, **10**, 1345-1360(1982).
- Cossort, P., and Gisguel-Samzey, B., *Nucleic Acids Res.*, **10**, 1363-1368(1982).
- Mckay, D. B., and Steitz, T. A., *Nature.*, **290**, 744-749(1981).
- Choi, Y. L., Kawase, S., Kawamukai, M., Utsumi, R., Sakai, H., and Komane, T., *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1135-1143(1989).
- Choi, Y. L., Kawase, S., Kawamukai, M., Sakai, H., and Komano, T., *Biochimica Biophysica Acta.*, **1088**, 31-35(1991).
- Stoltzfus, L., Wilcox, G., *J. Bacteriol.*, **171**, 1178-1184(1989).



9. de Crombrughe, B., Chen, B., Anderson, P., Nissley p., Gottesman, M., and Pastan, I., *Nature New Biol.*, **231**, 139–142(1971).
10. Aiba, H., *Cell.*, **32**, 141–149(1983).
11. Okamoto, K., and Freundlich, M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 5000–5004(1986).
12. Mori, K., and Aiba, H., *J. Biol. Chem.*, **260**, 14838–14843(1985).
13. Wu, H. M., and Crothers, D. M., *Nature*, **308**, 509–513(1984).
14. Liu-Johnson, H. N., Gartenberg, M. R., and Crothers, D. M., *Cell.*, **47**, 995–1005(1986).
15. Gartenberg, M. R., and Crothers, D. M., *Nature.*, **333**, 824–829(1988).
16. Pinkey, M., and Hoggett, G., *Biochem. J.*, **250**, 897–902(1988).
17. Ren, Y. L., Garges, S., Adhya, S., and Krakow, J. S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 4138–4142(1988).
18. Aiba, H., *Biophysics.*, **29**, 18–24(1989).
19. Gorges, S., and Adhya, S., *Cell*, **41**, 745–751(1985).
20. Aiba, H., Nakamura, T., Mitani, H., and Mori, H., *EMBO J.*, **4**, 3320–3332(1985).
21. Choi, Y. L., Nishida, T., Kawamukai, M., Utsumi, R., Sokai, H., and Komano, T., *J. Bacteriol.*, **171**, 5222–5225(1989).
22. Kawamukai, M., Utsumi, R., Higashi, A., Matsuda, H., Choi, Y. L., and Komano, T., *J. Bacteriol.*, **173**, 2644–2648(1991).
23. Aiba, H., *Cell technology*, pp. 1122–1134(1985).
24. Tolia, P. P., Dubow, M. S., *Virology.*, **148**, 298–311 (1986).
25. Choi, Y. L., Kawamukai, M., Utsumi, R., Sakai, H., and Komano, T., *FEBS Letters*, **243**, 193–198(1989).