The Korean Journal of Microbiology, Vol. 45, No. 3, September 2009, p. 263-267
Copyright©2009, The Microbiological Society of Korea

RpoS 대장균 돌연변이 균주에서 아미노산의 생산 증가

정일래[1,2] · 김인규[1]*

[1]한국원자력연구원 방사선생물학연구실, [2]전북대학교 생명과학부

세포정지기 및 스트레스에서 유도되는 RpoS 인자는 다양한 세포반응에 관여하는 유전자의 전사발현에 관여하는 전자조절인자이다. 대장균에서 proline의 생합성에 관여하는 유전자인 *proBA*와 *proC* 발현을 세포생장 주기별로 조사해 본 결과, 세포지수기에서는 *proBA*와 *proC* 유전자의 발현이 유도되는데 비해, 세포정지기에서는 이 세 유전자의 전사발현이 극적으로 저해되었다. 그러나 *rpoS* 돌연변이를 야생형 대장균에 도입한 결과 proline 생합성에 관여하는 유전자인 *proBA*와 *proC* 유전자의 발현이 세포정지기에서 저해되지 않았다. 이러한 결과는 RpoS가 proline 생합성에 관여하는 *proBA*와 *proC* 유전자의 전사발현에 음성효과를 미치고 있음을 의미한다. 한편 *rpoS* 돌연변이 균주에서는 proline 외에도 threonine, methionine, lysine, arginine 등의 아미노산이 야생형 대비 2배 이상 생합성이 증가되었는데, 이는 *rpoS* 대장균 돌연변이 균주가 아미노산의 대량생산에 이용될 수 있음을 의미한다.

Key words □ **amino acids, *E. coli*, proline, *rpoS* mutant**

전 세계적으로 아미노산 등 유용산물의 대량생산을 위해 미생물을 이용한 다양한 발효 방법이 이용되고 있으며, 특히 이러한 미생물을 이용한 성공적인 발효를 위해 균주개발, 발효조건 확립 등 다양한 기술들이 개발되어 오고 있다(1). 특히, 균주 개발 방법으로는 해당 유용산물을 대량생산할 수 있는 능력이 있는 균주를 자연 상태에서 분리하거나, 이들 균주를 유전적으로 무작위 돌연변이 시킴으로써 산물의 생산성을 증진시키고자 하는 노력이 있어왔다. 최근에는 몇몇 연구팀을 중심으로 system biology 측면에서 접근하고자 노력하여 오고 있는데 이 방법은 숙주 균주의 대사공학적 분석을 이용하여 맞춤형 돌연변이를 개발함으로써 유용산물의 생산성을 최적화 시키고자 하는 최신의 방법이다(8, 15, 17).

한편, 유용산물의 대량생산을 위한 전통적인 숙주균주의 개발을 위해 해당 생합성 경로에 관여하는 유전자의 과발현 및 해당 유전자의 돌연변이를 통한 저발현을 유도하려는 시도가 있어오고 있는데(5, 20, 23), 성공적인 대량생산을 위해서는 이러한 시도 외에도 과발현 및 저발현에서 나타날 수 있는 대체경로의 이해 및 유전체 전체적인 측면에서의 글로벌 네트워크(global network)적 측면에서의 이해는 아직 요원한 실정이다. 따라서 상기에 서술한 다양한 방법 외에도 해당 경로에 상위 단계에서 직간접적으로 관여하는 유전적 요인들을 찾아내어 적절히 이용한다면 좀 더 높은 효율의 숙주 균주를 개발할 수 있을 것으로 사료된다.

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-42-868-8031, Fax: 82-42-861-9560
E-mail: igkim@kaeri.re.kr

대장균(*Escherichia coli*)의 생장주기 중 세포정지기(stationary phase)에서 작동되는 RpoS 인자는 *rpoS* 유전자에 의해 암호화되는 전사조절인자로서, 세포정지기 및 다양한 스트레스 하에서 조절되며, 대장균의 생존을 위해 필수적인 핵심 인자로 잘 알려져 있다(2, 11, 19). 특히, 이러한 RpoS 인자는 세포정지기에 들어갈 때 그의 발현이 유도되어 세포의 생존 및 생리에 관련된 다양한 유전자의 발현을 조절하는 주된 조절 인자로 널리 알려져 있다(10, 12, 22). 한편, 세포는 세포 정지기에 들어갈 때 세포의 효율적 측면에서 볼 때 관련 아미노산의 합성 및 RNA의 합성을 감소시켜야 할 필요가 있는데 이러한 이유로 세포 정지기에 들어가게 되면, 세포에서 아미노산 합성이 크게 감소하게 된다. 따라서 RpoS 인자의 억제를 통해 아미노산의 대량생산이 가능할 것으로 기대되었다.

본 연구에서는 우선 아미노산의 일종인 proline의 합성에 관여하는 세 유전자의 발현이 RpoS 전자조절 인자에 의해 조절됨을 발견하였고, 따라서 이들 세 유전자의 발현을 *rpoS* 돌연변이에 의해 탈 억제시킨 결과 이 돌연변이 세균에서 해당 최종 산물인 proline의 합성이 증가함으로 보여주고자 하였다. 아울러 이 돌연변이 균주가 다른 종류의 아미노산 합성에 어떤 효과를 미치는지를 조사하였다.

재료 및 방법

사용된 대장균 균주 및 돌연변이체 분리

본 연구에서 사용한 대장균 균주 K-12는 야생형 균주로서 QC2461 (9)을 사용하였다. 상기의 야생형 균주로부터 개발된 *rpoS* 돌연변이 균주는 P1 형질전환(P1 transduction) 방법을 이용

하여 개발된 QC2461, *rpoS*::Tn*10* (13) 균주를 사용하였다.

상기의 두 균주를 37°C, 200 rpm의 조건하에서 진탕 배양하였다. LB 배지(Luria-Bertani medium, LB; bacto-tryptone 10 g, bacto-yeast extract 5 g, NaCl 10 g per L)에서 12~16시간 배양한 세포배양액을 초기 흡광도(600 nm)가 0.01이 되도록 새로운 LB 배지에 접종하여 배양을 개시하였다. 여기서 자라난 세포로부터 지수기(약 3시간 배양)와 정지기(약 8시간 배양)에서 각각 세포를 수득하여 뒤이은 실험에 이용하였다.

RNA 분리 및 c-DNA 합성

특정 배양시간에서 수득된 대장균 세포 배양액은 QIAGEN RNA Isolation kit를 이용하여 RNA를 수득하였다. 수득된 RNA로부터 cDNA 합성키트((주) Intron, Korea)를 이용하여 cDNA를 합성하여 차후의 실험에 이용하였다.

RT-PCR

연쇄중합사슬반응(polymerization chain reaction, PCR)은 기존의 방법대로 수행하였으며(21), 사용된 올리고뉴클레오타이드는 다음과 같다. *proB*-F (aaccgtgcccatatcgttgaac), *proB*-R (aaatgccttccatcacatcacc), *proA*-F (ccgatgaactggaagcacaaag), *proA*-R (tccgccatttgtttgcttaatg), *proC*-F (aatatgggaaaagccattctcg), *proC*-R (ccggtgagcagaccatatcttt). 각 PCR tube에는 PCR 버퍼와(500 mM KCl, 200 mM Tris-Cl; pH 7.4) 50 pmol의 올리고 뉴클레오타이드 프라이머, 0.4 mM의 dNTP, 4 mM의 $MgCl_2$, 대장균 cDNA, 그리고 10 U의 *Taq* DNA polymerase를 첨가하였다. PCR은 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Cetus)에서 수행하였다.

아미노산 분석

아미노산 분석을 위한 세포시료를 우선 5% TCA에 희석한 후 15분간 원심분리하였다. 그 후 0.02 N HCl에 희석한 후 필터링하여 아미노산 분석 시료를 제작하였다.

아미노산은 충남대학교 공동실험관의 도움을 받아 ninhydrin을 이용한 post-reaction법으로 분석하였다. 기기로는 HITACHI L-8900 Amino Acid Analyzer를 사용하였으며 main column으로는 HITACHI HPLC Packed Column #2622PF Column (4.6×60 mm) ion exchange column을 사용하였다. 시료분석을 위해 각 시험관에 ninhydrin 반응액 1 ml과 완충액(PH-1) 1 ml을 각각 추가한 후 같은 조건에서 3분간 100°C에서 가열 반응시켰다. 사용 용액으로는 Wako L-8500 buffer solution PF-1, 2,3,4, RG ninhydrin coloring solution set을 사용하였으며, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검출기는 VIS1: 570 nm, VIS2: 440 nm, UV detector와 EZ chrom Elite *ver.* 3.1.5b 분석프로그램을 사용하였다.

비교 기준으로 사용한 유리아미노산 표준시료로 Wako PF standard (Type B, 016-08641)를 사용하였으며 표준시료와의 흡광도 값을 비교하여 희석률을 결정하였다.

결 과

Proline 생합성 경로 및 관련 유전자의 전사발현 양상 분석

α-Ketoglutarate로부터 glutamate γ-semialdehyde (GSA)를 거쳐 L-proline이 합성되는 경로는 Vogel과 Davis에 의해 처음으로 제시되었다(24). Proline 생합성 경로 및 관련 유전자의 구성은 Fig. 1A와 B에 나타내었다. 한편, *proB*에 의해 암호화되는 γ-glutamyl kinase (EC 2.7.2.11)와 *proA*에 의해 암호화되는 γ-glutamic semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.41)는 대장균의 유전자 지도 위의 5.6~5.7분 사이에 위치하고 있으며 오페론으로 이루어져 있다(3). 이에 반해 *proC*에 의해 암호화되는 pyrroline-5-carboxylate reductase (EC 1.5.1.2)는 이들 두 유전자와 떨어져 있으며 약 8.7분 위치에 놓여 있다(3).

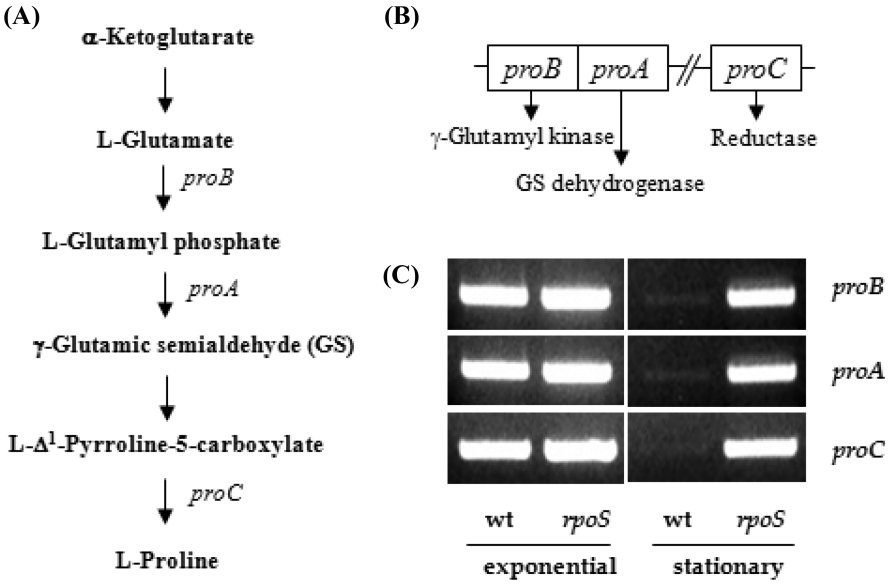

Fig. 1. Proline biosynthetic pathway (A), the related genes (B), and RT-PCR analysis of proBA and proC genes (C).

이들 세 유전자 *proBA*와 *proC*의 전사발현 양상을 조사하기 위해 야생형 QC2461과 그의 *rpoS* 돌연변이 균주를 LB 배지에서 배양한 후 각각 세포지수기와 세포정지기에서 RNA를 분리하여 cDNA를 합성한 후, 이렇게 합성된 cDNA를 주형으로 하여 *proBA*와 *proC* 유전자의 전사발현을 PCR 기법으로 분석하여 보았다. 그 결과 야생형 대장균에서는 *proBA*와 *proC* 유전자 모두 지수기에서는 크게 발현되지만, 세포정지기에서는 그의 발현이 극적으로 억제되고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1C). 이에 비해, *rpoS* 돌연변이주는 지수기에서는 야생형과 동일한 수준으로 *proBA*와 *proC* 유전자의 전사발현이 유도되었으나, 세포정지기에서는 야생형과는 달리 *proBA*와 *proC* 유전자의 발현이 억제되지 않고, 지수기에서와 비슷한 정도로 발현이 유지되고 있었다(Fig. 1C). 이상의 결과는 세포정지기에서 발현이 유도되어 해당 시기에서 다양한 유전자의 전사발현을 관장하는 유전자인 *rpoS*를 돌연변이 시킨 결과 세포정지기에서 발현이 억제되어야 할 proline 합성 관련 유전자의 억제가 일어나지 않았음을 의미한다. 이것은 결국 RpoS 인자가 *proBA*와 *proC* 전사발현의 음성적 조절인자임을 의미하는 것으로 세포가 정지기에 들어서도 *proBA*와 *proC* 유전자가 고발현되고 있음을 나타낸다.

아미노산 분석

앞선 결과에서 *rpoS* 돌연변이 세포주에서는 세포정지기에서 *proBA*와 *proC* 유전자의 음성적 조절이 일어나지 않음을 보았다. 따라서 이러한 계속적인 *proBA*와 *proC* 유전자의 전사발현 결과 궁극적으로 세포정지기에서도 proline의 합성이 유도되는지를 조사하기 위해 아미노산 분석을 수행하였다. 이를 위해 야생형과 *rpoS* 돌연변이 세포주를 LB 배지에서 배양하면서 세포정지기에서 각각 시료를 취득하여 proline 분석을 실시하였다. 그 결과 *rpoS* 돌연변이 균주에서는 야생형에 비해 약 2.5배 정도의 proline이 더 합성되고 있음을 보았다(Fig. 2). 이상의 결과는 결국 *rpoS* 돌연변이 균주에서 보이는 높은 수준의 *proBA*와 *proC* 전사발현으로 인해 해당 proline 생합성 경로가 활성화되고 그 결과 proline 생합성이 효율이 높음을 의미한다. 따라서 이 *rpoS* 균주를 이용하여 *proBA*와 *proC* 유전자의 음성적 조절 기작을 제거함으로써 결국 proline 생합성을 증진시킬 수 있게 됨을 알

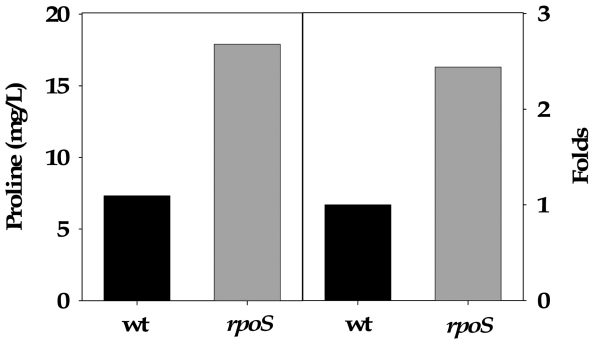

Fig. 2. Comparison of proline production in the wild type and its isogenic *rpoS* mutant. Mean data of two independent experiments are presented and the variations are below 10%.

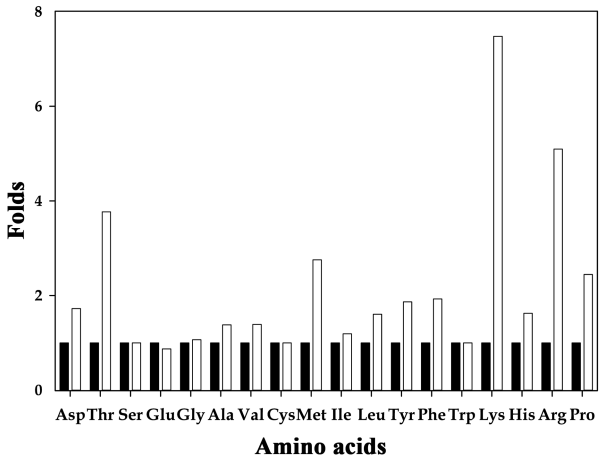

Fig. 3. Comparison of amino acid production in the wild type and its isogenic mutant. (■) QC2461;(□) QC2461, *rpoS*. Mean data of two independent experiments are presented and the variations are below 10%.

수 있었다.

한편, proline 외에도 다른 아미노산들이 야생형과 *rpoS* 돌연변이 세포주에서 생합성되는 정도를 비교하여 보았다. Fig. 3에서 보듯이 threonine, methionine, lysine, arginine 등이 야생형 대비 2배 이상 생합성이 증가되는 것을 알 수 있었다.

고 찰

*Corynebacterium*은 그람양성 토양세균으로 아미노산의 산업적 생산을 위해 전 세계적으로 널리 사용되고 있는 균주이다(18). 이러한 아미노산을 대량생산을 위해서는 산업적으로 유용한 균주를 탐색하거나 무작위 돌연변이를 이용하여 합성효율을 증진시키고자 하는 노력이 경주되어 오고 있다. 한편, 최근에는 대사공학적 이해를 바탕으로 대장균에서 threonine 등 아미노산 합성을 증진시키고자 하는 연구가 보고되기도 하였다(16). 이처럼 *Corynebacterium* 이외의 균주에서 아미노산 생산을 증진시키고자 하는 노력은 system biology 관점에서 이루어지고 있는데, 그 대표적인 숙주균주로 널리 이용되고 있는 균주가 바로 대장균이다. 대장균은 그의 유전적 배경이 잘 알려져 있고 다루기 쉽다는 장점이 있어 대사공학적으로 목적 돌연변이를 유도할 수 있다는 점에서 관심이 되어 오고 있다.

아미노산 중 proline 생합성을 증진시키기 위해 다양한 대사길항물질(analog)을 사용하거나 되먹임억제(feedback inhibition)를 조절하는 등의 기법이 알려져 있다(4, 6, 7). 본 연구에서는 이러한 고전적인 방법 외에 대장균에서 global 조절자(global regulator)로 사용되고 있는 RpoS를 암호화하는 *rpoS*에 돌연변이를 유발시킴으로써, proline의 생합성을 증진시키고자 하였다.

RpoS 인자는 세포가 세포정지기에 들어갈 때 지수기에서 활발히 합성되던 다양한 산물의 생산을 억제시키는 기능을 가지고 있는 global 조절자로서 작용한다. 따라서 세포정지기에 더 이상

합성의 증진이 불필요한 아미노산이 RpoS에 의해 조절 받음을 보여준 본 연구 결과는 기존의 세포생리학적 기능연구에 부합하는 결과라고 할 수 있다. 즉, 이러한 기능을 갖는 RpoS를 유전적으로 돌연변이시킴으로써 결국 세포는 세포정지기에서도 아미노산을 꾸준히 만들어 낼 수 있는 환경에 놓여 있게 되는 것이라고 결론 내릴 수 있다. 이러한 결과는 본 연구팀에서 수행한 다른 결과와도 일치한다. 즉, 본 연구팀에서는 세포지수기에서 합성이 증진되고 세포정지기에서 억제되어야 할 TCA 회로 중의 한 유전자인 이소시트릭산 탈소수화효소(isocitrate dehydrogenase)의 활성을 조사해 본 결과 *rpoS* 돌연변이주에서는 기대대로 세포정지기에서도 그의 발현이 감소하지 않았다(14). 이상의 결과는 결국 세포정지기에서 작동하는 RpoS의 기능을 차단함으로써 이 때 발현이 억제되어야 할 유전자의 발현, 즉 TCA cycle 유전자 및 아미노산 합성 관련 유전자의 발현 억제에 실패하게 함으로써 해당 유전자의 활성을 증진시키게 할 수 있는 새로운 방법이다.

Fig. 1에서 보듯이 proline 합성에 주되게 관여하는 *proBA*와 *proC* 세 유전자의 발현이 RpoS에 의해 강하게 조절됨을 보았고, 그 결과 *rpoS* 돌연변이 세포주에서 proline 합성이 야생형에 비해 2배 이상이 증가함을 알 수 있었다. 이러한 방법은 기존의 관련 생합성 경로에 국한되는 대사공학적 접근방법(예, 되먹임 저해 등)과는 차별화된 것으로서 미생물 전체 유전발현을 조절하는 조절자의 발현을 조절함으로써 아미노산 합성을 증진시키고자 하는 방법이다.

Fig. 3에서 보듯이 threonine, methionine, lysine, arginine 등은 야생형 대비 2배 이상 생합성이 증가되어 있었으나, 다른 종류의 아미노산들은 야생형에 비해 현저한 생산량 증가를 보이지는 않았다. 비록 RpoS가 해당 아미노산 합성에 관여하는 유전자들의 발현에 미치는 효과를 규명하지는 못했지만, 이러한 결과는 아미노산 생합성이 단지 RpoS의 음성효과 억제라는 측면 외에도 전술한 바와 같이 되먹임억제 등 다른 생리학적 기작에 의해서도 일어남을 의미한다. 따라서 앞으로는 다른 아미노산에 대한 RpoS의 효과를 유전자 차원에서 발현조사 연구가 뒤따라야 할 것이며 관련된 global 조절자에 대한 효과 역시 살펴보아야 할 것으로 판단된다.

RpoS 단백질은 RNA polymerase로서 대장균의 목적 유전자 promoter 부위에 결합하여 그의 전사발현을 조절하는 대표적인 전사인자로서 널리 알려져 있다(2, 11, 19). 비록 기존의 잘 알려진 아미노산 합성 숙주 균주인 *Corynebacterium*에서 이와 유사한 전사조절인자가 존재하는지 여부는 밝혀지지 않았으나, RpoS 단백질의 일차적 기능이 RNA 중합효소(RNA polymerase)이기 때문에 *Corynebacterium*에서도 이와 유사한 단백질이 존재할 가능성이 크다고 할 수 있다. 따라서 향후 *Corynebacterium*에서 대장균에서와 유사한 RpoS 단백질이 존재하는지 여부를 조사할 필요가 있다고 판단된다. 아울러 대장균에서도 향후 적절한 대사공학적 기법을 이용하여 이미 숙주균주로 개발되어 이용되고 있는 균주에 본 연구에서 개발된 *rpoS* 돌연변이 주를 함께 이용한다면 좀 더 높은 효율의 아미노산을 생산할 수 있으리라 기대된다.

참고문헌

1. 임번삼. 2003. 아미노산 생산균주의 개량. KISTI 기술동향 보고서.
2. Becker, G. and R. Hengge-Aronis. 2001. What makes an *Escherichia coli* promoter sigma(S) dependent? Role of the -13/-14 nucleotide promoter positions and region 2.5 of sigma(S). *Mol. Microbiol.* 39, 1153-1165.
3. Bachmann, B.J. 1990. Linkage map of *Escherichia coli* K-12, 8th ed. *Microbiol. Rev.* 54, 130-197.
4. Bloom, F., C.J. Smith, J. Jessee, B. Veiileux, and A.H. Deutch. 1983. The use of genetically engineered strains of *Escherichia coli* for the overproduction of free amino acids: proline as a model system, pp. 383-394. *In* Advances in Gene Technology, Academic Press, Orlando, Fla., USA.
5. Burgard, A.P., P. Pharkya, and C.D. Maranas. 2003. Optknock: a bilevel programming framework for identifying gene knockout strategies for microbial strain optimization. *Biotechnol. Bioeng.* 84, 647-657.
6. Condamine, H. 1971. Sur la regulation de la production de proline chez *E. coli* K12. *Ann. Inst. Pasteur* 120, 126-143.
7. Csonka, L.N. 1981. Proline overproduction results in enhanced osmotolerance in *Salmonella typhimurium*. *Mol. Gen. Genet.* 182, 82-86.
8. Fong, S.S., A.P. Burgard, C.D. Herring, E.M. Knight, F.R. Blattner, C.D. Maranas, and B.O. Palsson. 2005. In silico design and adaptive evolution of *Escherichia coli* for production of lactic acid. *Biotechnol. Bioeng.* 91, 643-648.
9. Gaudu, P., S. Dubrac, and D. Touati. 2000. Activation of SoxR by overproduction of desulfoferrodoxin: multiple ways to induce the *soxRS* regulon. *J. Bacteriol.* 182, 1761-1763.
10. Hengge-Aronis, R. 1996. Regulation of gene expression during entry into stationary phase, pp. 1497-1512. *In Escherichia coli* and *Salmonella*: 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C., USA.
11. Hengge-Aronis, R. 2002. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the sigma(S) (RpoS) subunit of RNA polymerase. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66, 373-395.
12. Jung, I.L. and I.G. Kim. 2003. Polyamines and glutamate decarboxylase-based acid resistance in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 278, 22846-22852.
13. Jung, I.L. and I.G. Kim. 2003. Transcription of *ahpC*, *katG*, and *katE* genes in *Escherichia coli* is regulated by polyamines: polyamine-deficient mutant sensitive to H_2O_2-induced oxidative damage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301, 915-922.
14. Jung, I.L., S.K. Kim, and I.G. Kim. 2006. The RpoS-mediated regulation of isocitrate dehydrogenase gene expression in *Escherichia coli*. *J. Curr. Microbiol.* 52, 21-26.
15. Kim, T.Y., H.U. Kim, and S.Y. Lee. 2009. Metabolite-centric approaches for the discovery of antibacterials using genome-scale metabolic networks. *Metab. Eng.* doi:10.1016/j.ymben.2009.05.004 [in press]
16. Lee, K.H., J.H. Park, T.Y. Kim, H.U. Kim, and S.Y. Lee. 2007. Systems metabolic engineering of *Escherichia coli* for L-threonine production. *Mol. Syst. Biol.* 3, 1-8.
17. Lee, S.Y., H.U. Kim, J.H. Park, J.M. Park, and T.Y. Kim. 2009. Metabolic engineering of microorganisms: general strategies and drug production. *Drug Discov. Today* 14, 78-88.
18. Leuchtenberger, W., K. Huthmacher, and K. Drauz. 2008. Biotechnoligical production of amino acids and derivatived: current status

and prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69, 1-8.
19. Loewen, P.C., B. Hu, J. Strutinsky, and R. Sparling. 1998. Regulation in the *rpoS* regulon of *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* 44, 707-717.
20. Pharkya, P., A.P. Burgard, and C.D. Maranas. 2004. OptStrain: a computational framework for redesign of microbial production systems. *Genome Res.* 14, 2367-2376.
21. Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, N.Y., USA.
22. Schellhorn, H.E., J.P. Audia, L.I. Wei, and L. Chang. 1998. Identification of conserved, RpoS-dependent stationary-phase genes of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 180, 6283-6291.
23. Segr, D., D. Vitkup, and G.M. Church. 2002. Analysis of optimality in natural and perturbed metabolic networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 15112-15117.
24. Vogel, H.J. and B.D. Davis. 1952. Glutamic γ-semialdehyde and Δ^1-pyrroline-5-carboxylic acid, intermediates in the biosynthesis of proline. *J. Am. Chem. Soc.* 74, 109-102.

(Received August 11, 2009/Accepted September 15, 2009)

ABSTRACT : Increased Production of Amino Acids in an *Escherichia coli rpoS* Mutant

Il Lae Jung[1,2] and In Gyu Kim[1]* ([1]Department of Radiation Biology, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejon 305-600, Republic of Korea, [2]Division of Biological Sciences, Chonbuk National University, Chonbuk 561-756, Republic of Korea)

An RpoS factor is a transcriptional regulator which participates in numerous biological processes. In this work, we investigated the transcriptional regulation of *proBA* and *proC* composing proline biosynthetic pathway in *Escherichia coli*. While the *proBA* and *proC* genes were greatly induced in an exponential growth phase, they were dramatically repressed in a stationary growth phase in the wild type *E. coli*. Unlike the wild type *E. coli*, the *proBA* and *proC* genes were not repressed even in the stationary growth phase in its isogenic *rpoS* mutant. These results suggest that the RpoS factor acts as a transcriptional repressor of *proBA* and *proC* genes. The production of threonine, methionine, lysine, and arginine in the *rpoS* mutant were also increased by more than two times compared to its parental wild type, suggesting that the mutant is able to be used as an useful host strain for the amino acid overproduction.