II. 귀리의 (1-3,1-4)-Beta-Glucanase cDNA Clone 의 분리와 확인

윤 성중* , David A. Somers

II. Isolation And Confirmation Of An Oat (1-3,1-4)-Beta-Glucanase cDNA Clone

Song Joong Yun*, David A. Somers
University of Minnesota

실험목적

생장 발달중인 귀리 조직에서 활성을 나타내는 (1-3,1-4)-beta-glucanase 의 생리적 역할을 분자유전학적 방법으로 구명하기 위하여 (1-3,1-4)-beta-glucanase cDNA clone 을 분리하기 위함.

재료 및 방법

Gene bank에 등록되어 있는 식물체 beta-glucanase 효소들의 대부분에 잘 보존되어 있는 부위를 색출하여 동일 부위의 유전자 염기서열에 대한 30 bp oligonucleotide probe 를 합성하고, 이를 이용하여 귀리엽 cDNA library 를 screening 하여 secondary positive clones 을 선발하고, 이들의 염기서열을 결정, 분석한 후, pGEX-2T expression vector (Pharmacia Inc., NJ) 를 이용 cDNA insert 를 *Escherichia coli* 내에서 발현시켜 얻은 단백질의 특정 효소활성 여부를 조사 측정하였다.

실험결과 및 고찰

귀리엽 cDNA library 에서 선발된 clone 인 pOGL1 의 DNA 염기서열이 보리의 (1-3,1-4)-beta-glucanase 유전자의 염기서열과 90% 이상 동일하였고, pOGL1의 mature polypeptide coding sequence 에서 발현된 단백질이 (1-3,1-4)-beta-glucanase 활성을 나타내어 pOGL1이 (1-3,1-4)-beta-glucanase cDNA clone임을 확인하였다.

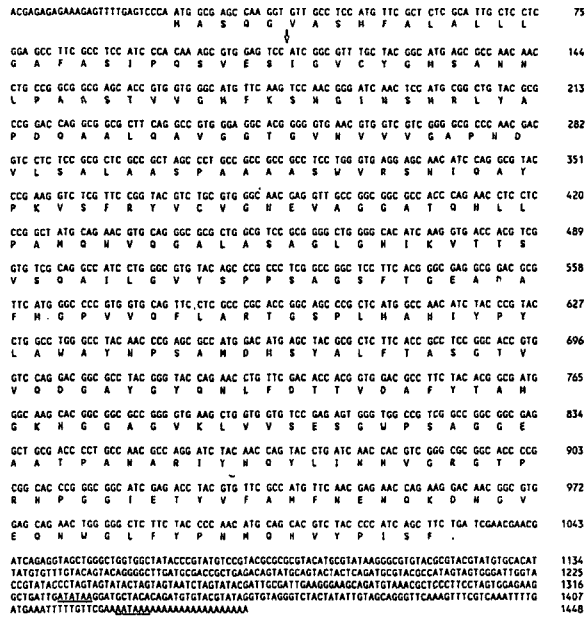

Fig. The nucleotide sequence and deduced amino acid sequence of an oat (1-3,1-4)-ß-glucanase cDNA clone, pOGL1. Possible polyadenylation signal sequences are underlined. Arrow indicates the putative NH_2-terminal residue of the mature enzyme. Standard one-letter amino acid codes are used.

Table Nucleotide and amino acid sequence similarities (%) of pOGL1 with barley (1-3,1-4)-ß-glucanase isoenzymes EI and EII

	Mature polypeptide		Signal peptide		3' UT[3]
	NA[1]	AA[2]	NA	AA	NA
EI	92	95	94	92	61
EII	89	90	91	92	53

1; nucleic acid, 2; amino acid, 3; untranslated sequence

Table (1-3,1-4)-ß-glucanase activity of the GST-pOGL1 encoded ß-glucanase fusion protein

Substrate	(1-3,1-4)-ß-glucanase activity (µg of Glc equiv./Reaction)
Barley ß-glucan	40
Laminarin	<0.5
CM-cellulose	<0.5
Starch	<0.5