

제 목	Farnesyl Protein transferase의 분리, 유전자 재조합 및 발현연구
연구자	백 영진, 유 권열, 박 치욱, 양 철학*
소 속	서울대학교 자연과학대학 화학과
내 용	<p>Farnesyl Protein transferase(FPT)는 발암유전자 ras의 단백질 산물인 p<sup>21</sup>의 post-translational modification의 첫 단계인 ras-farnesylation에 관여하는 효소로 본 연구에서는 정제된 FPT와 E.coli에서의 발현 system을 이용하여 FPT의 구조와 기능을 밝히고 이를 FPT 방해제의 설계에 이용하고자 한다. Bovine testis에 존재하는 FPT를 30%-50%의 Ammonium sulfate로 fractionation 하고, DEAE-Sephacel, Sephacryl S-300 column을 통과시킨후 peptide(KKCVIM) affinity column을 이용하여 순수정제하였다. 정제된 효소의 분자량은 gel-filtration에 의해 100KDa으로 추정되었고 SDS-PAGE 결과 49KDa과 46KDa의 두 subunit로 구성되었음이 확인되었다. 효소활성에는 Mg<sup>2+</sup> 와 Zn<sup>2+</sup>가 필수적이며 최적 pH는 7.0이었다. Yeast의 FPT의 두 subunit 유전자는 Yeast genomic DNA를 template로 사용하고 각 subunit에 specific한 합성된 primer들과 vent polymerase를 이용하여 Polymerase chain reaction을 통하여 얻었다. 두 유전자를 pBluescriptII SK+ vector를 변형시킨 두 vector, pBSK+4와 pBChl+4에 재조합 시킨후 E.coli에 transformation시켜 발현시켰다. 현재 정제된 Bovine FPT와 E.coli에서 발현된 Yeast FPT의 chemical modification과 site-directed mutagenesis를 통하여 FPT의 active site와 substrate binding site에 관한 연구를 진행하고 있다.</p>