* 분류번호	II-7

제 목	사람의 β_2-adrenergic receptor 유전자의 cloning 및 효모에서의 발현
연구자	강 현 삼[1], 고 광 호[2]
소 속	서울대학교 자연과학대학 미생물학과[1], 약학대학 약학과[2]
내 용	

목적 : 사람 세포에서 β_2-adrenergic receptor 유전자를 Polymerase Chain Reaction을 이용하여 증폭한 후 이를 cloning하고 효모의 분비형 발현 벡터를 이용하여 β_2-adrenergic receptor 유전자를 발현시키는 데 이 연구의 목적이 있다.

방법 : 사람의 whole blood의 white blood cell로부터 PCR에 적합한 total chromosomal DNA를 준비한다. β_2-adrenergic receptor 유전자의 5' 말단과 3'말단의 non-translation region에서 유전자 증폭에 적합한 primer를 각각 합성한 후 유전자를 증폭하여, 증폭된 유전자를 pbluescript KS(+)의 EcoRV에 cloning한 다음 restriction map과 5'과 3'말단의 sequencing을 통하여 증폭되어 cloning된 유전자가 사람의 β_2-adrenergic receptor임을 확인한다. 본연구실은 이미 효모에서 고효율의 분비형 발현벡터인 pSec5를 제조한바 있다. pSec5는 Saccharomyces cerevisiae의 repressive acid phosphate promoter에 의하여 발현이 조절되고 Kluyveromyces lactis의 killer toxin 유전자의 signal sequence에 의해서 그 분비가 유도되는 효모의 분비형 발현벡터이다. 이 벡터에 본연구에서는 cloning된 사람의 β_2-adrenergic receptor 유전자를 도입한후 PHO5 Promoter와 killer toxin 유전자의 signal sequence에 의해 β_2-adrenergic receptor 유전자의 발현을 시도한다.

결과 및 고찰 : 사람의 혈액의 백혈구로부터 Polymerase Chain Reaction 방법으로 β_2-adrenergic receptor 유전자를 증폭하였다.이 증폭된 유전자를 pbluescript KS(+)에 cloning하였으며, 제한효소지도 작성과 부분적인 염기배열 확인으로 증폭된 유전자가 사람의 β_2-adrenergic receptor 유전자임을 확인하였다. β_2-adrenergic receptor 유전자를 N말단의 아미노산이 21개 제거되도록 결손시킨후 yeast의 pSec5의 Killer toxin signal sequence의 뒤에 in-frame으로 연결하였다. 현재 효모에서의 발현양상 및 발현된 단백질의 활성을 조사중이다.

결론 : 사람의 백혈구 세포에서 β_2-adrenergic receptor 유전자를 증폭한후 효모의 고효율 분비형 발현 벡터인 pSec에 클로닝하였다.