

*	분류번호	II'-1
---	------	-------

제 목	Mini-transposon을 사용한 단백질의 세포내 분포 결정
연구자	최 의 열
소 속	한림대학교 유전공학과
내 용	<p>Tn3 Transposon을 이용한 Shuttle Mutagenesis 방법으로 효모의 Genome 상에 무작위적으로 β-gal 표지 유전자를 삽입하고 효모생활사의 각 세포시기마다 특이하게 발현되는 유전자를 X-Gal plate 상에서 찾아내고, 이들 효모 유전자의 단백질이 세포내에 어떤 위치에 분포하는가를 간접 면역현미경법으로 추적해보았다. 먼저 효모의 genomic library를 38bp의 Tn3 Terminal repeat를 가지고 있지 않은 pHSS6 Vector에 partial fill-in 방법으로 조성하였으며 최종적으로 20 Genome equivalent에 해당하는 18개 pool의 genomic library를 만들었다. 이들 library를 조사하여 본 결과 모든 클론이 평균 3kb 크기의 insert를 가지고 있었으며 이는 99.99%의 효모 genome을 대표하였다. 특정한 유전자의 발현을 알아보기 위해 먼저 mini-Tn3로 shuttle mutagenesis를 실시하고 vegetative growth 동안 발현되는 유전자를 X-gal을 사용하여 골라내었다. 지금까지 16823개의 클론을 조사하였는데 이중 13%에 해당하는 2187개가 X-gal plate 상에서 양성반응을 보여주었다. 양성반응을 보여주는 융합단백질의 세포내 분포를 anti-β-galactosidase 항체를 사용하여 추적해보았다. 항체를 이용한 형광염색결과 약 70%의 세포가 background 이상의 염색을 보여주었으며 이중 novel한 염색 pattern을 나타내는 클론도 다수 탐지되었다. 이상의 결과를 종합하면 Tn3를 이용한 Shuttle Mutagenesis 방법으로 지금까지 전통적인 유전학적인 접근 방식으로 탐지되지 않았던 다수의 새로운 효모 유전자를 찾아낼 수 있을 것으로 사료된다.</p>