

플라스미드 pKM101과 pSL4의 *muc* 유전자의 발현에 관한 연구

전홍기 · 황유경 · 이상률 · 백형석

부산대학교 자연과학대학 미생물학과

플라스미드 pKM101과 이의 돌연변이체 pSL4는 UV 및 MMS에 대해 높은 치사 저항성과 돌연변이율을 나타낸다. pKM101과 pSL4의 *mucB* 유전자의 일부분과 *mucA* 유전자를 *lacZ* fusion 벡터인 pMC874에 subcloning시켜 플라스미드 pBH31과 pBH30을 선별하였고 이 플라스미드들을 *recA⁺lexA⁺*, *recA⁻*와 *lexA⁻* 균주에 각각 도입하였다. *recA⁺lexA⁺* 균주에서 pSL4의 *muc* 유전자를 포함하는 pBH30의 β -galactosidase 활성은 pKM101의 *muc* 유전자가 연결된 pBH31보다 높았고 *recA⁻*와 *lexA⁻* 돌연변이주에서는 UV 조사의 유무에 관계없이 β -galactosidase를 유도하지 못하였지만 *recA⁻* 균주에서 UV 조사를 하지 않았을 때 pBH30의 β -galactosidase가 pBH31보다 약간 높게 유도되었다. 이러한 결과는 pKM101과 pSL4의 기능적 차이가 두 플라스미드의 Muc 단백질의 구조적 차이라고 생각할 수 있지만, *muc* 유전자의 조절부위가 돌연변이되어 LexA repressor가 작용하는 부위의 변화에 의한 것이라고도 생각할 수 있었다. 또한, *umuC'-lacZ'* 유전자를 가지는 pBH100를 construction 하여 *umu* operon의 발현은 UV 조사에 의해 유도되며 *recA*와 *lexA* 유전자에 의해 조절됨을 알 수 있었다.

KEY WORDS □ pKM101, pSL4, *muc* gene, *umu* gene, β -galactosidase

UV 조사와 많은 화학 돌연변이원에 대한 *Escherichia coli*의 대부분의 돌연변이는 수동적 과정에서 일어나는 것이 아니라 *lexA*, *recA*, *umuDC*, *uvrA* 등의 유전자들이 관련하는 세포내의 능동적 과정인데 error-prone repair 또는 SOS processing이라 명명된 이 반응의 생화학적 기작은 현재 완전히 이해되지 않고 있다(25). UV 및 화학 돌연변이원에 대한 돌연변이는 *Escherichia coli*에서 *lexA⁻*와 *recA⁻*에 의해 조절되는 *umuDC*의 산물을 요구하는데(9) *recA*와 *lexA* 돌연변이주가 돌연변이원에 의해 돌연변이가 일어나지 않는 것처럼 SOS 유전자의 한 set인 *umuDC*가 결핍된 *Escherichia coli*도 돌연변이 유발 능력이 폐지된다(1, 4, 9). 임상적으로 분리된 플라스미드 R46과 그 유도체인 35.4 kb N-incompatibility 그룹의 플라스미드 pKM101은 *Escherichia coli*와 *Salmonella typhimurium*에서 돌연변이원에 대해서 저항성을 증가시키고 높은 돌연변이율을 나타내는데(12, 23) 이들 플라스미드는 *umuD*와 *umuC*의 돌연변이주에서 nonmutability를 회복시킨다(24). Walker 등이 UV 저항성 및 돌연변이성의 기능이 상실된 플라스미드 pKM101의 돌연변이체를 분리하였고(20), pKM101의 genome 상에 약 1.9 kb 부위가 이 기능을 가지며 염색체에 존재하는 유전자와 유사한 *muc* 유전자를 확인하였다(10). *muc* 유전자는 이들에 의해 cloning되었는데 *mucA*와 *mucB* 유전자로 구성된 분자량이 비슷한 *umuD*와 *umuC* 유전자의 analogue이다(5, 18). *umuDC* 유전자처럼 *mucAB* 유전자는 *lexA⁻*와 *recA⁻*에 의해 조절되며 *mucA*와 *umuD*의 upstream에 pro-

moter가 있고 *umuDC*와 *mucAB*는 각각 한 operon을 가진다(19). *umuDC*와 *mucAB*의 operon은 nucleotide sequence에서 약 52%의 homology를 가지는데 LexA repressor와 UmuD, MucA의 cleavage site 사이에는 상당한 homology가 있지만 complementation 분석에서 MucA 산물은 *umuD⁻umuC⁺* 균주에서 기능적으로 UmuD 산물과 대치될 수 없다(19). *umuDC*와 *mucAB*의 operon은 SOS regulatory network에서 다른 유전자들처럼 LexA 단백질에 억제되어 있는데(5, 21), SOS system을 유도하는 반응에서 RecA 단백질이 LexA의 Ala-Gly 결합을 절단하여 *umuDC* 유전자 및 다른 SOS system에 의해 조절되는 유전자를 유도시킨다(11). 최근에 활성화된 RecA protease의 또다른 기능은 UmuD와 MucA를 proteolysis 하여 활성화된 UmuD'와 MucA'가 SOS mutagenesis를 일으킨다는 보고가 있다(2, 15). *umuDC*와 *mucAB*의 operon은 진화적 기원을 가지지만 UV-mutagenesis에서 다른 기능적 효율을 나타내는 것은 *mucAB* operon이 *umuDC* operon보다 효율적으로 돌연변이를 일으키며 이것은 UmuDC와 MucAB 단백질의 구조적 차이에 기인한다고 알려져 있다(3).

본 논문에서는 이전에 보고한 플라스미드 pKM101과 그 돌연변이체 pSL4가 DNA 회복 결손주들(*phr⁻*, *uvrA⁻*, *uvrB⁻*, *umuDC⁻*)에서 UV 및 화학 돌연변이원에 대한 저항성과 돌연변이율이 다르게 나타나는 기능적 차이(6, 7)는 MucAB의 구조적 차이 또는 *lexA*와 *recA* 유전자 산물이 작용하는 *mucAB*의 operon 부위의 변화 가능성이 있다고 사료되어 두

Table 1. Bacterial strains and plasmids used

Strains or plasmids	Relevant properties	Source
Strains		
AB1157	<i>F⁻ thr1 leu6 his4 proA2 his4 thi1 argE3 lacY qalK2 ara14 tsx33 rpsL sup37 λ⁻</i>	G.C. Walker
DM49	As AB1157, but <i>lexA3</i> (Ind ⁻)	G.C. Walker
JC2926	AS AB1157, but <i>recA13</i>	G.C. Walker
TK610	As AB1157, but <i>uvrA6 umuC6 arg⁺ ilv325</i>	G.C. Walker
JM83	<i>ara (lac proA, B) rosL 80 lacZM15</i>	Our collections
Plasmids		
pKM101	R46-derivative, <i>muc</i> gene carrying plasmid, Am ^r	B.N. Ames
pSL4	pKM101 mutant, Am ^r	This Work
pJB210	included <i>muc</i> gene of pKM101, Tc ^r	This Work
pJB200	included <i>muc</i> gene of pSL, Tc ^r	This Work
pMC874	Km ^r <i>lacZ</i> protein fusion vector	G.C. Walker
pBH31	Km ^r <i>mucA⁺ (mucB'-lacZ')</i>	This Work
pBH30	Km ^r <i>mucA⁺ (mucB''-lacZ')</i>	This Work
BH100	Km ^r <i>umuD⁺ (umuC'-lacZ')</i>	This Work
pSE117	Km ^r <i>umuD⁺C⁺</i> ; pBR322	L. Marsh

플라스미드의 operon을 포함하는 *muc* 부위를 *lac* fusion vector에 cloning하여 DNA손상에서 유도되는 β -galactosidase를 비교하고 *lexA*와 *recA* 유전자 간의 상관관계를 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주

실험에 사용한 균주와 플라스미드의 종류와 특장은 Table 1과 같다.

배지 및 시약

완전배지는 Luria Bertina broth(Tryptone 1%, Yeast extract 0.5%, NaCl 1%)가 사용되었고 최소 배지는 M9(13)이 사용되었다. 필요에 따라 첨가되는 아미노산은 histidine(22 μ g/ml), threonine(100 μ ml), arginine(22 μ g/ml), isoleucine(100 μ g/ml)와 valine(100 μ g/ml) 등이었고, 항생제는 선택배지에 따라 ampicillin(50 μ g/ml), tetracyclin(50 μ g/ml)와 kanamycin(50 μ g/ml) 등이 사용되었다. 아미노산, 항생제, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside(Xgal, 40 μ g/ml), Isopropylthio- β -D-galactoside(IPTG, 40 μ g/ml)와 ortho-nitrophenylgalactoside(ONPG)는 Sigma사(St. Louis, MO, 6178, U.S.A.) 제품을 사용하였다.

유전자 조작

플라스미드 DNA 분리는 alkaline법을 사용하였다(13). 제한효소에 절단된 DNA fragment의 recovery는 BIO 101사(P.O. Box 2284, LaJolla, CA 92038-2284)의 GeneClean II Kit를 이용하여 행하였다. 사용된 제한효소, T4 ligase, calf intestinal alkaline phosphatase(CIP)는 IBI사(P.C. Box 9558, 275, Winchester Avenue New Haven)를 사용하였다.

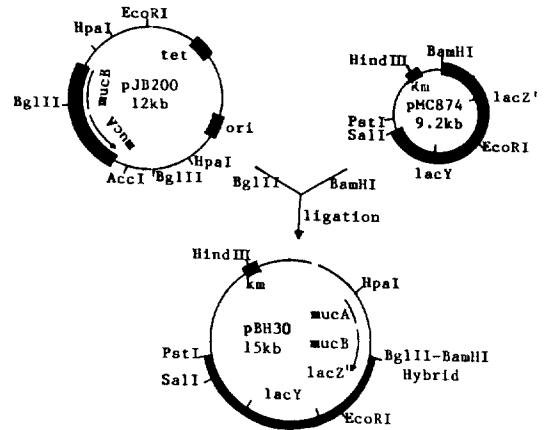


Fig. 1. Schematic representation of the construction of plasmid pBH30.

The map of pMC874 was from Casadaban *et al* (4).

DNA절단과 ligation은 IBI사에서 제공하는 manual에 따랐으며 그의 유전자 조작에 관한 기술은 Maniatis 등(13)의 방법으로 수행하였다.

β -galactosidase assay

UV 조사에 의해 유도되는 β -galactosidase assay는 Ellege 등(5)의 방법에 따라 행하였으며 UV 조사는 9.1 erg/mm²·sec의 에너지 비율을 가지는 UV 조사기에서 15초간 조사하였다. β -galactosidase activity 값은 Miller(16)의 방법에 따라 결정하였다.

재조합 플라스미드의 construction

플라스미드 pKM101과 돌연변이체 pSL4의 *muc*

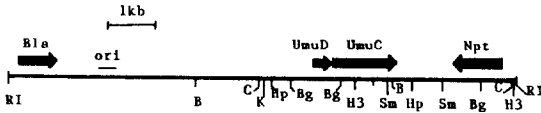


Fig. 2. The genetic map of plasmid pSE117 contains *umuD* and *umuC*.

A 0.9 kb-*Bg*/II fragment of pSE117 contains *umuD* and a part of *umuC*. Abbreviations for restriction sites are as follows: *Eco*RI, RI; *Bam*HI, B; *Clal*, C; *Kpn*I, K; *Hpa*I, Hp; *Bg*/II, Bg; *Hind*III, H3; *Sma*I, Sm. This map was redrawn from Marsh and Walker(14).

gene이 subcloning된 플라스미드 pJB210과 pJB200 (7)은 *Bg*/II로 절단하여 *mucA* 유전자 전부와 *mucB* 유전자 일부가 포함되도록 하여 *lacZ* fusion vector인 pMC874에 ligation시켜 JM83균주에 도입하였다 (Fig. 1). X-gal과 kanamycin을 포함하는 선택배지에서 kanamycin에 저항성을 나타내는 Blue colony를 선별하였고, 이 colony 중에서 UV조사에 의해 β -galactosidase 합성이 유도되는 colony를 확정하여 pKM101의 *muc* 유전자를 포함하는 플라스미드와 pSL4의 *muc* 유전자를 포함하는 플라스미드를 각각 pJB31과 pJB30으로 명명하여 다음실험에 사용하였다. 또한 *umuDC*가 cloning된 플라스미드 pSE117 (14)는 *umuD*와 *umuC* 일부를 가지는 0.9 kb-*Bg*/II 절단부위를 가진다(Fig. 2). 이 *Bg*/II 절단부위를 *Bam*HI으로 절단된 pMC874에 cloning하여 플라스미드 pJB31과 pJB30을 선택하는 방법과 동일하게 검토하여 *umuC'*-*lacZ'*를 포함하는 플라스미드 pJB100을 선별하였다.

결과 및 고찰

***recA*⁻*lexA*⁺ 균주에서 재조합 플라스미드 pBH31과 pBH30의 영향**

재조합 플라스미드 pBH31과 pBH30을 각각 AB1157(*recA*⁻*lexA*⁺)균주에 도입하여 UV 조사를 했을 때와 조사되지 않았을 때 유도되는 β -galactosidase의 활성을 측정하였다. 돌연변이체 pSL4의 *muc* 유전자를 포함하는 pBH30이 pKM101의 *muc* 유전자를 가지는 pBH31보다 UV조사시 유도되는 β -galactosidase 활성이 높은 것으로 나타났다(Fig. 3). 또한 UV를 조사하지 않았을 때 플라스미드 pBH30이 pBH31보다 약간 높게 β -galactosidase 가 유도되는 데(Fig. 3). 두 플라스미드의 *muc* 유전자가 UV에 의해 유도된다는 Elledge 등(5)의 보고와 일치하였다. *mucB'*-*lacZ'*를 가지는 두 재조합 플라스미드의 UV에 의해 유도되는 β -galactosidase 활성 차이점은 operator와 promoter 또는 구조유전자의 어느 부위에 변이가 되었기 때문인 것으로 사료되는데 UV를 조사하지 않았을 때 돌연변이체 *muc* 유전자를 가지는

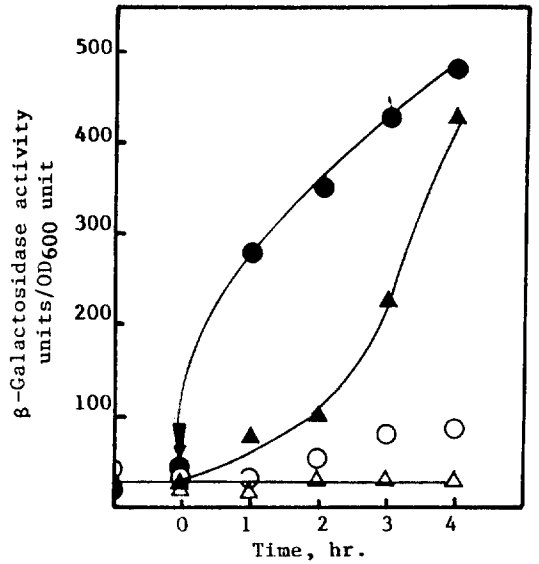


Fig. 3. Kinetics of UV induction of β -galactosidase in *recA*⁺*lexA*⁺ (AB1157) strain containing plasmid pBH30, and pBH31.

Cells were treated with 136 erg/mm² of UV radiation at the time indicated by the arrow. Samples(1 ml) were removed periodically, and total activity of β -galactosidase present in the cultures was determined. Strain AB1157/pBH30 with(●) and without(O) UV radiation; Strain AB1157/pBH31 with(▲) and without(△) UV radiation. OD⁶⁰⁰, optical density at 600 nm.

플라스미드 pBH30이 약간 높게 β -galactosidase 활성을 나타내는 것으로 보아 LexA repressor가 작용하는 결합부위의 변이로 그 작용부위와 약하게 결합되어 있다고 생각된다. 그러나 Muc 산물의 과도한 발현이 두 플라스미드의 기능적 차이에 영향을 미칠 수 있겠지만 세포내 SOS 반응에 작용하는 MucAB 단백질의 변화도 생각할 수 있었다. 최근, LexA repressor를 절단하는 RecA protease의 또다른 역할이 제기되고 있는데 UmuD와 MucA는 LexA의 C-말단 부위와 상당한 homology를 가지며 이들 단백질이 RecA protease에 의해 절단되어 SOS-mutagenesis에서 중요한 생화학적 역할을 한다고 알려져 있고(19). *umuDC* 유전자와 *mucAB* 유전자의 기능이 다른 것은 *recA*에 의해 조절되는 UmuDC와 MucAB 단백질의 구조적 차이에 기인하며(3). MucA와 RecA 단백질 간의 상호 관련성이 mutagenesis 과정을 용이하게 한다는 보고가 있다(15). 또한 UmuD가 RecA protease에 의해 절단되어 활성화된 UmuD'의 세포내 mutagenesis에 관련하는 역할에 대해 많은 연구가 진행되고 있다(2, 17, 22). 위와같은 여러보고를 종합하여 보았을 때 플라스미드 pKM101

Table 2. UV induction of β -galactosidase in *recA*⁻(JC2926) strain containing plasmid pBH30, and pBH31

Reaction time (hr.)	β -galactosidase activity (U at OC ₆₀₀)			
	Without UV radiation		With UV radiation	
	JC2926/pBH30	JC2926/pBH31	JC2926/pBH30	JC2926/pBH31
0	8	4	6	1
1	6	5	6	1
2	18	6	24	2
3	12	6	24	3
4	12	5	29	3

Table 3. UV induction of β -galactosidase in *lexA*⁻(CM49) strain containing plasmid pBH30, and pBH31

Reaction time (hr.)	β -galactosidase activity (U at OC ₆₀₀)			
	Without UV radiation		With UV radiation	
	JC2926/pBH30	JC2926/pBH31	JC2926/pBH30	JC2926/pBH31
1	23	12	6	6
1	22	21	5	6
2	23	27	5	5
3	37	43	9	5
4	47	45	6	4

과 그 돌연변이체 pSL4의 기능적 차이는 *muc* 유전자의 조절부위가 변이가 되었기 때문이라 생각할 수 있겠지만 RecA protease가 작용하는 MucA의 구조적 차이에 기인될 수도 있다고 사료된다.

플라스미드 pBH31과 pBH30의 *muc* 유전자 발현에 미치는 *recA*와 *lexA* 유전자의 영향

플라스미드 pKM101과 pSL4의 *mucAB* 유전자는 *recA*⁻와 *lexA*⁻ 균주에서 그 기능이 나타나지 않는 것으로 보아 *recA*와 *lexA*에 의해 조절된다는 것을 확인한 바 있다(7). 두 플라스미드 *mucAB* 유전자의 발현이 *recA*와 *lexA* 유전자에 의해 조절되고 발현되는 정도를 비교하기 위해 hybrid 플라스미드 pBH30과 pBH31을 JC2926(*recA*⁻)와 DM49(*lexA*⁻) 균주에 도입하여 유도되는 β -galactosidase 활성을 측정하였다. 플라스미드 pBH30과 pBH31은 *recA*⁻ 균주에서 UV 조사를 했을 때와 하지 않았을 경우 모두 β -galactosidase는 거의 유도되지 않았고 UV를 조사하지 않았을 때 플라스미드 pBH30이 pBH31보다 약간 높은 활성을 보였다(Table 2). 또한 *lexA*⁻ 균주에서 두 플라스미드는 *recA*⁻ 균주와 마찬가지로 거의 β -galactosidase를 유도하지 않았다. 흥미로운 것은 *lexA*⁻ 균주에서 두 플라스미드는 UV를 조사했을 경우 UV 조사가 없을 때보다 발현이 더 낮았다(Table 3). Table 2, 3의 결과에서 두 플라스미드의 *mucAB* 유전자 발현이 *recA*와 *lexA* 유전자에 의해 조절되며, 두 플라스미드의 *muc* 유전자 발현을 비교했을 때 돌연변이체 pSL4의 *muc* 유전자는 *recA*⁻ 균주에서 UV 조사와 관계없이 세포내에서 pKM101보다 약간 높은 발현을 보인 것은 *lexA* repressor 산물이 결합하는

muc 유전자 부위에 약하게 결합된 변이 형태를 나타내고 있다고 사료된다.

umu operon의 조절 및 발현

*umuDC*의 발현은 DNA 손상에 의해 유도되며 *recA*와 *lexA* 유전자에 의해 조절된다는 여러 연구가 있다(1, 8). *umu* 유전자의 조절을 조사하고 vector에서 발현되는 *umu* 유전자 발현 정도를 플라스미드 pKM101의 *muc* 유전자와 비교하기 위해 재료 및 방법에서 처럼 construction된 *umuC'*-*lacZ'*를 가지는 재조합 플라스미드 pBH100을 *recA*⁻*lexA*⁻(AB1157), *recA*⁻(JC2926), *lexA*⁻(DM49)에 도입하였다. UV 조사시 도입된 플라스미드 pBH100은 *recA*⁻*lexA*⁻ 균주에서는 β -galactosidase는 유도되었으나 *recA*⁻와 *lexA*⁻ 균주에서는 β -galactosidase를 유도하지 못하였다(Fig. 4). 이 결과로부터 *recA*⁻*lexA*⁻ 균주에서 *umuDC* 유전자의 발현은 UV 조사에 의해 유도되었고 *recA*⁻와 *lexA*⁻ 균주에서 *umu* 유전자의 발현이 유도되지 않는 것으로 보아 *umuDC* 유전자의 발현은 UV에 의해 유도되고 *recA*와 *lexA* 유전자에 조절된다는 Shinagawa 등의 보고(21)와 일치하였다. Fig. 3과 4에서 *mucB'*-*lacZ'*와 *umuC'*-*lacZ'*를 포함하는 플라스미드가 *recA*⁻*lexA*⁻ 균주에서 UV 조사시 나타나는 β -galactosidase 활성이 다른 것은 발현산물의 효율성도 기능에 관계가 있다고 사료된다.

이상의 결과를 종합하여 볼때, 플라스미드 pKM101과 그 돌연변이체 pSL4의 기능적 차이는 Lex repressor가 작용하는 부위의 변이가 있거나, RecA protease가 관련되는 두 플라스미드의 MucAB의 구조적 차이에 기인된다고 사료되는데, 현재 두 플라스미

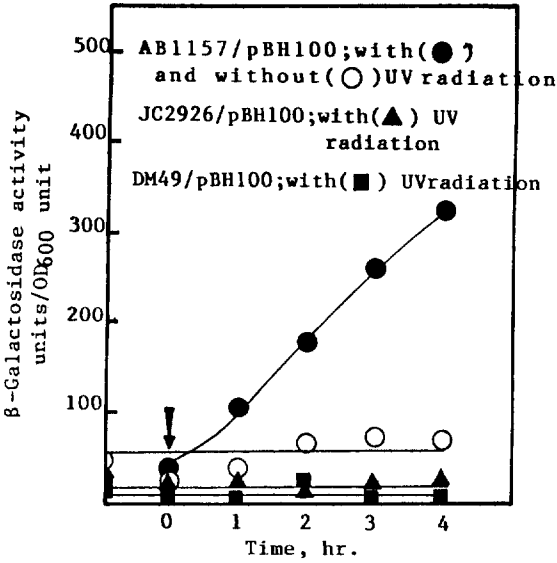


Fig. 4. Kinetics of UV induction of β -galactosidase in various genetic background containing plasmid pBH100.

Cells were treat with 136 erg/mm² of UV radiation at the time indicated by the arrow. Samples(1 ml) were removed periodically, and total activity of β -galactosidase present in the cultures was determined. Strain AB1157; *recA*⁻*lexA*⁻, strain JC2420; *recA*⁻, strain DM 49; *lexA*⁻. OD₆₀₀, optical density at 600 nm.

드의 *mucAB* 유전자에 대한 sequencing이 진행 중이며 이들 결과가 분석되어지면 정확한 원인이 규명되어지리라 생각된다.

사 사

본 연구는 1989~1990년도 교육부 부설 유전공학 연구소 연구지원에 의한 것임.

참 고 문 헌

1. Bagg, A., C.J. Kenyon and G.C. Walker 1981. Inducibility of a gene product required for UV and chemical mutagenesis in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Natl. U.S.A.*, **78**, 5749-5753.
2. Battista, J.R., T. Nohmi, W. Sun and G.C. Walker. 1990. Dominant negative *umuD* mutations decreasing RecA-mediated cleavage suggest role for intact *UmuD* in modulation of SOS mutagenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 5749-5753.
3. Blanco, M., G. Herrera and Vicente Aleixandre. 1986. Different efficiency of UmuDC and MucAB proteins in UV light induced mutagenesis in

- Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.*, **205**, 234-239.
4. Casadaban, M.J., J. Chou and S.N. Cohen, 1980. In vitro gene fusions that join an enzymatically active β -galactosidase segment to amino-terminal fragments of exogenous proteins: *Escherichia coli* plasmid vectors for the detection and cloning of translational initiation signal. *J. Bacteriol.*, **143**, 971-980.
5. Elledge, S.J. and G.C. Walker, 1983. The muc genes of pKM101 are induced by DNA damage. *J. Bacteriol.*, **155**, 1306-1315.
6. Jun, H.K., S.Y. Lee and H.S. Baik. 1990. Mutator effects of plasmid pKM101 and pSL4 to *E. coli*. DNA Repair. *Kor. Jour. Microbiol.*, **28**, 109-113.
7. Jun, H.K., S.Y. Lee and H.S. Baik. 1990. Function of *muc* gene on mutagenesis and DNA repair. *Kor. Jour. Microbiol.*, **28**, 192-198.
8. Kato, T. and Y. Shinoura. 1977. Isolation and characterization of mutants *Escherichia coli* deficient in induction of mutations by ultraviolet light. *Mol. Gen. Genet.*, **156**, 121-131.
9. Kenyon, C.J. and G.C. Walker, 1980. DNA-damaging agents stimulate gene expression at specific loci in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**, 268-272.
10. Langer, P.J. and G.C. Walker, 1981. Restriction endonuclease cleavage map of pKM101: relationship to parental plasmid R46. *Mol. Gen. Genet.*, **182**, 268-272.
11. Little, J.W., S.H. Edmiston, L.Z. Pacelli and D. W. Mount. 1980. Cleavage of LexA protein by the RecA protease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**, 3225-3229.
12. McCann, J., N.E. Spingarn, J. Kabori and B.N. Ames. 1975. Detection of carcinogens as mutagens: bacterial tester strains with R factor plasmids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 979-983.
13. Maniatis, T., E.F. Fritsch and J. Sambrook. 1989. Molecular Cloning. Cold Spring Harbor, New York.
14. Marsh, L. and G.C. Walker. 1985. Cold sensitivity induced by overproduction of UmuDC in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **162**, 155-161.
15. Marsh, L. and G.C. Walker. 1987. New phenotypes associated with *mucAB*: alteration of MucA sequence homologous to the LexA cleavage site. *J. Bacteriol.*, **169**, 1818-1823.
16. Miller, J.H., 1972. Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
17. Nohmi, T., J.R. Battista, L.A. Dodson and G.C. Walker. 1988. RecA-mediated cleavage activates UmuD for mutagenesis: mechanistic relationship between transcriptional derepression and posttranslational activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 1816-1820.
18. Perry, K.L. and G.C. Walker. 1982. Identification of plasmid (pKM101)-coded proteins involved in mutagenesis and UV-resistance. *Nature(London)*, **300**, 278-281.

19. Perry, K.L., S.J. Elledge, B.B. Mitchell, L. Marsh and G.C. Walker. 1985. *umuDC* and *mucAB* operons whose products are required for UV light- and chemical-induced mutagenesis: UmuD, MucA, and LexA proteins share homology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 4331-4335.
20. Shanabruch, W.G. and G.C. Walker. 1980. Localization of the plasmid(pKM101) gene(s) involved in *recA⁺lexA⁻*-dependent mutagenesis. *Mol. Gen. Genet.* **179**, 289-297.
21. Shinagawa, H., T. Kato, T. Ise, K. Makino and A. Nakata. 1983. Cloning and characterization of the *umu* operon responsible for inducible mutagenesis in *Escherichia coli*. *Gene*. **23**, 167-174.
22. Shinagawa, H., H. Iwasaki, T. Kato and A. Nakata. 1988. RecA protein-dependent cleavage of UmuD protein and SOS mutagenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**, 1806-1810.
23. Walker, G.C. 1977. Plasmid(pKM101)-mediated enhancement of repair and mutagenesis: dependence on chromosomal genes in *Escherichia coli* K12. *Mol. Gen. Genet.* **152**, 93-103.
24. Walker, G.C. and P.P. Dobson. 1979. Mutagenesis and repair deficiencies of *Escherichia coli umuC* mutants are suppressed by the plasmid pKM101. *Mol. Gen. Genet.* **172**, 17-24.
25. Walker, G.C., 1984. Mutagenesis and inducible response to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. *Micro. Rev.* **48**, 60-93.

(Received August 4, 1992)

(Accepted August 25, 1992)

ABSTRACT: Expression of *muc* Gene on Plasmid pKM101 and pSL4

Jun, Hong-Ki, You-Kyung Hwang, Sang-Yull Lee and Hyung-Suk Baik
(Department of Microbiology, College of Natural Science, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea)

Plasmid pSL4 of plasmid pKM101 mutant have high protection effects and mutagenicity for UV and methyl methanesulfonate. The *mucA* gene and a part of *mucB* gene of pKM101 and pSL4 were subcloned onto *lacZ'* fusion vector pMC874 and the hybrid plasmids pBH31 and pBH30 were selected. These plasmids were introduced into *recA⁺lex⁺*, *recA⁻*, *lexA⁻* strains and determined the activity of β -galactosidase for UV. In *recA⁺lexA⁺* strain, β -galactosidase activity of pBH30 included *muc* region of pSL4 was higher than pBH31 included *muc* region of pKM101 and the β -galactosidase of two plasmids was not induced in *recA⁻* and *lexA⁻* mutants with or without UV illumination. Without UV illumination, the β -galactosidase of pBH30 was expressed a little higher level than that of pBH31. We suggest that the functional difference of pKM101 and pSL4 are due to the variety of *muc* regulatory region. Also, a plasmid pBH100 carrying *umuC'-lacZ'* gene fusion was constructed *in vitro* to study the regulation of the *umu* operon. It was shown that the *umu* operon is induced by UV and is regulated by the *recA* and *lexA* genes.