F307

Mutational Analysis of *ROK1*, a Putative ATP-Dependent RNA Helicase in *Saccharomyces cerevisiae*.

이연수*, 김진미 충남대학교 자연과학대학 미생물학과

The *KEM1* gene is involved in nuclear fusion during conjugation and chromosome transmission and spindle pole body duplication/or sepration during mitotic cell division in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *KEM1* was also independently identified as *DST2*, *SEP1*, *XRN1*, and *RAR5* on the basis of DNA strand transferase or exoribonuclease activity *in vitro* or mutations affecting plasmid stability. The *ROK1* gene was identified as a high copy plasmid suppressor of the *kem1* null mutation and predicted to have functions related to those of *KEM1*. We have shown that the *ROK1* gene is essential for viability and its protein sequence contains highly conserved domains found in the D-E-A-D protein family of ATP-dependent RNA helicases. We are currently making amino acid substitution mutations in the conserved helicase domains of *ROK1* to see if these domains are required for *ROK1* functions.

F308

Sequence analysis and molecular characterization of the KEM3 gene involved in spindle pole body function in Yeast

이일남^{*}, 김진미 충남대학교 자연과학대학 미생물학과

효모(Saccharomyces.cerevisiae)의 Spindle pole body(SPB)는 핵막에 존재 하는 구조체로서 세포분열시 SPB 사이에 microtuble이 생겨 핵분열을 도와준다. Conjugation cycle에서 서로 다른 mating type인 a와 a 세포 사이에 mating이 일어날때, SPB에서 뻗어나오는 microtuble이 두개의 핵을 끌어주며 SPB에서 핵 융합이 이루어진다. SPB의 구성물질증의 하나를 encode하는 것으로 알려진 KAR1 유전자와 관련되어 세개의 유전자 KEM1, KEM2, KEM3가 찾아졌다. 이 들중 *KEM1*과 *KEM3*는 7번 염색체의 left arm에 20 cM 정도 떨어져 있으며, 세 포분열에 관여함이 밝혀져 있다. KEM3 gene을 포함하는 2.0kb 크기의 DNA fragment가 클론되어 있으며, linker insertion mutation을 통해 분석한 결과 1.3 kb의 기능부위를 갖는 것으로 예상되었다. 본 연구에서는 예상되는 기능부위를 포 함하는 염기서열을 Sanger dideoxy termination method를 사용하여 1943bp를 분석하였다. 분석한 결과 KEM3는 1389bp의 open reading frame을 갖으며 463 amino acid를 coding하는 것으로 나타났다. Gene Bank에서 유사염기서열을 가진 유전자가 있는지 조사한 결과 일본의 Mizumoto 그룹이 mRNA Capping enzyme 을 coding한다고 발표한 CEG1 gene과 같은 것으로 나타났다. 이 결과를 바탕으 로 KEM3와 관련있는 것으로 보고된 KARI과 함께 KAR2와 KAR3의 KEM3의 발현여부에 따른 RNA 생성량 조사를 위해 Northern blot을 실시하고 있다.