

## 단백질 고차구조 형성에 관여하는 전사제어인자 탐색 및 기능해석

구태원, 윤은영, 황제삼, 강석우, 권오유\*  
농업과학기술원 잠사곤충부, \*충남대학교 의과대학

곤충에서 전사제어와 관련된 유전자를 탐색하고 이 유전자의 기능을 구명하기 위하여 거염벌레 (*Spodoptera frugiperda* : fall armyworm) 번데기의 난소 (ovary) 조직에서 수립된 세포주, Sf-9 세포주에 N-glycosylation 억제제인 tunicamycin을 5 $\mu$ l/ml를 처리하여 UPR (unfolded protein response)의 일환으로 발현량이 증가하는 유도 유전자를 차별화 선별 (differential screening)하였다. Sf-9 cell에 스트레스 유도제인 tunicamycin을 처리하여 5시간 후에 세포를 회수하여 cDNA 유전자은행을 제작하고, 정상 및 스트레스 유도 세포에서 분리한 total RNA로부터 합성한 각각의 1st-strand cDNA를 탐침 (probe)으로 차별화 선별을 하였다. 차별화 선별 결과, 정상 세포에서 보다 스트레스 유도 세포에서 강한 시그널 (signal)을 나타내는 클론 40개를 선별하고, 이 차별화 클론에 대하여 부분염기서열 분석하여 DNA 및 아미노산 수준에서 데이터베이스 분석을 통하여 발현유전자의 꼬리표를 작성하였다.

차별화 선별된 클론들은 그 대부분이 스트레스와 관련된 유전자 (hsp83, hsp70, damage-specific DNA binding protein, phosphate starvation-induced protein, chilling inducible protein, low temperature-responsive RNA-binding protein, cysteine proteinase)이거나 전사와 관련된 유전자 (C/EBP-related ATF, transcription factor, translation elongation factor 2, bZip protein, Zn finger transcription factor, acidic ribosomal phosphoprotein)였다. 특히 발현 유전자 꼬리표 중에서 TmInc 329번 클론은 단백질의 고차구조를 결정하는 분자 샤프롱의 전사를 활성화시키는 유전자와 아미노산 수준에서 약 70%의 상동성을 나타내어, 아미노산 서열상 1차 구조의 특성을 분석하였다.

그 결과 TmInc 329번 클론은 Rat의 전사제어인자와 유사하게 카르복실말단에  $\alpha$ -helix상에서 7개의 아미노산 잔기마다 류이신 (leucine)이 4~5회 반복하여 출현하는 leucine zipper 모티프가 존재하였으며, 그리고 bZip 모티프 앞에는 염기성아미노산이 풍부한 basic region이 존재하여, 이 영역이 분자 샤프롱의 프로모터에 강하게 결합할 것으로 추정할 수 있었다.