**생물화공경시대회 문제 (분자생물학) 100점**

1. 인간유래의 효소를 박테리아에서 발현시키기 위해 클로닝 작업을 수행하였다. mRNA가 합성되는 것은 확인을 하였으나 효소 활성이 나타나지 않았다. 이러한 결과가 발생되는 원인들 중 4가지 설명하시오. 또한 이것을 해결하기 위한 방법들 중 2 가지 설명하시오 (60점)

**답) 4가지 이유 (각 10점)**

- 인간과 박테리아의 코돈 차이 (codon bias)로 인해 인간 유전자가 박테리아에서 translation이 어려운 경우

- 박테리아의 경우 단백질 합성 후 수식 (PTM: posttranslational modification) 기작이 없기 때문에 PTM이 활성에 중요한 경우

- 박테리아에서 단백질이 발현이 되나 3차 구조 형성에 문제 (Protein misfolding, aggregation 형성, inclusion body 형성, disulfide bond 형성 문제)로 활성을 나타내지 못하는 경우

- 라이보솜 결합 위치 (Ribosom binding site: RBS)에 hairpin 구조 형성이나 self-dimer 형성 등으로 translation이 안되는 경우

- 단백질 분해 효소 작용으로 박테리아에서 translation은 되나 쉽게 분해 되는 경우

**답) 2가지 해결 방법 (각 10점)**

- 코돈 차이 (Codon bias) 문제점: 박테리아에서 많이 사용되는 codon으로 최적화된 유전자 사용

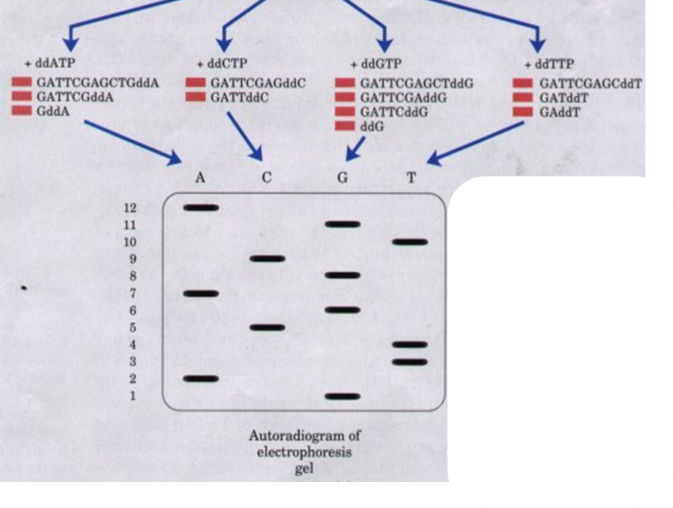
- PTM 문제점: 진핵세포 균주 사용, 혹은 단백질 공학을 통해 PTM 없이 활성을 갖도록 단백질 변이체 설계 및 탐색 등

- 단백질 폴딩 문제: 단백질 폴딩을 도와주는 샤페론 단백질 같이 발현, 배양 최적화, 리폴딩 (refolding) 공정 최적화 등

- RBS에 hairpin 이나 self-dimer 형성 🡪 라이보솜의 효과적 결합과 translation 효율 향상을 위해 5’ upstream 영역 (5’ UTR region) 최적화 등

- 단백질 분해 효소 문제: 단백질 분해 효소 유전자가 발현되지 않는 박테리아 균주 (protease deficient strain) 사용 등

2. 철수는 T-REX 공룡의 짧은 DNA 절편 분석을 위하여 Sanger sequencing을 수행하였고. Sanger sequencing의 chain termination 과정 후에 다음의 autoradiography 결과를 얻게 되었다. 분석하고자 하는 T-REX DNA 절편의 sequence는 무엇인가? 5’에서 3’ 방향으로 쓰시오 (20점).



답) 5’- TCAGCTCGAATC -3’

3. 외부의 DNA를 세포안으로 도입하는 방법들 중 4가지를 기술하시오. (20점)

답: (각 5점, 최대 20점)

Chemical transformation (CaCl2) transformation

Electroporation

Phage mediated transfection

Conjugation

Microinjection

Protoplast formation (yeast and plant cells)

Particle gun 사용 등