

Schizosaccharomyces pombe Filament 유사 유전자의 클로닝과 염기서열 분석

김형배* · 정재욱 · 김인규

고려대학교 자연과학대학 생물공학과

Saccharomyces cerevisiae (budding yeast)의 mother cell과 daughter cell의 연결부위 원형질막에 존재하는 filament ring은 actin, microtubule과 더불어 세포형태형성기작에 중요한 역할을 하리라고 간주되나 아직 그 명확한 기능이 밝혀지지 않았다. *Schizosaccharomyces pombe* (fission yeast)에서도 그와 유사한 유전자가 PCR 기법을 이용하여 밝혀졌다. *S. cerevisiae*의 filament 유전자와 유사한 *S. pombe*의 유전자의 염기서열을 조사해 본 결과 1371 bp 크기의 open reading frame이 발견되었고 456개의 아미노산으로 구성된 53 kd의 분자량을 가진 단백질을 암호화 하였다. *S. pombe*의 클론된 유전자와 *S. cerevisiae*의 filament 유전자들(*CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12*)과는 아미노산 서열상 약 35%의 유사성이 존재하였다.

KEY WORDS □ *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, filament

현대 생물학에서 가장 해결하고자 하는 일중의 하나가 세포형태형성기작 (cellular morphogenesis), 즉 세포가 분열을 할때 어떻게 3차원적인 구성을 이루면서 그나름대로 mother cell과 동일한 형태를 갖추어가는가를 밝혀내는 것이라 할수있다. 이를 해결하기 위하여 복잡한 동물세포나 식물세포를 이용하기보다는 진핵세포 중에서 가장 구조가 간단하고 분열시 뚜렷한 형태적인 변화를 나타내는 yeast인 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Schizosaccharomyces pombe*를 이용하는 것이 현명한 접근이라고 할 수 있다. Yeast의 cytoskeletal element인 actin과 microtubule은 세포형태형성기작에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, 이에 대한 연구가 매우 활발히 진행되고있다 (1, 5, 6, 11, 12). 특히 actin은 *S. cerevisiae*와 *S. pombe*의 bud 형성과 세포질 분열시에 매우 중요한 작용을 하는 것으로 알려졌으며 (2, 13, 18, 20, 21), microtubule은 세포분열시 chromosome의 이동에 관여하며, 다른 세포기관의 이동에도 관여한다고 간주된다 (2, 3, 13, 24, 25, 26). Actin, microtubule과 더불어 형태형성과정에 중요한 역할을 하고 있다고 간주되는 filament가 *S. cerevisiae*에서 발견되었다. Filament는 mother cell과 daughter cell의 연결부위의 세포막 바로 아래에 직경이 10 nm인 ring을 형성하고 있으며 (3, 4), 전자현미경을 이용한 관찰에 의하면 bud가 나올 때에 그 부위의 세포막 안쪽에 생겼다가 세포질분열 후에 사라지는 것으로 알려졌다.

*S. cerevisiae*의 filament는 정상적인 bud를 만드는 단계와 세포질분열이 일어나는 단계에서 중요한 역할을 하는 듯하며, *CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12*

유전자들이 filament의 구성분을 암호화한다는 것이 밝혀졌으나 (7, 9, 15, 16), 아직까지는 filament의 명확한 기능은 밝혀지지 않은 상태이다. Filament의 세포형태형성기작에서의 기능을 밝혀내기 위하여 *S. cerevisiae*의 filament 유전자와 유사한 유전자를 다른 진핵세포에서 찾아 내려고 시도하였다. 특히 *S. cerevisiae*와 동일한 yeast에 속하지만 *S. cerevisiae*의 분열방법인 출아법과 다른 이분법으로 분열하는 *S. pombe*를 이용하였다. *S. cerevisiae*의 *CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12*의 유사성이 많은 부분을 이용하여 primer를 합성한 후, *S. pombe*의 genomic DNA와 PCR 방법으로 증폭시켜서 유사유전자의 일부를 찾아내었고 증폭된 유전자의 일부를 probe로 *S. pombe*의 library로부터 해당하는 클론을 찾았다 (14).

본 연구에서는 *S. cerevisiae* filament 유전자와 유사한 *S. pombe* 유전자의 염기서열을 결정하였으며, *S. cerevisiae*의 filament 유전자인 *CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12* 유전자와 아미노산 서열을 비교하여 보았다.

재료 및 방법

균주 및 plasmid

E. coli 균주는 DH5a⁺를 사용하였으며, 염기서열 결정에 쓰인 subclone은 *HindIII*, *BamHI*, *EcoRV* 및 *XhoI* 제한효소로 자른 절편을 pBluescript에 클로닝하였다 (22).

DNA 염기서열 분석

Single-strand DNA 주형은 plasmid pBlue-script와 helper phage를 이용하여 만들었다. 염기서

열은 New England Biolab의 M13 sequencing primer (-20)와 reverse sequencing primer (-24)나 주문제작한 primer를 사용하여 dideoxy sequencing 방법으로 분석하였다(23). Sequenase와 반응용액은 United States Biochemical의 Sequenase DNA sequencing kit를 사용하였으며 반응 조건은 공급자가 제시한대로 따랐다.

컴퓨터 분석 및 유사성 비교

유전자의 염기서열의 자료분석과 처리는 Genetic PC-Software Center의 DNA and Protein Sequence Analysis Program Ver 5.04 program을 이용하였다. 그리고 Pharmacia사의 Protein Analysis program과 PC gene이라는 program을 이용하여 단백질의 아미노산 서열상의 유사성을 비교하였다.

결과 및 고찰

S. pombe filament 유사유전자의 클로닝

*S. pombe*의 genomic library에서는 2개의 클론을, cDNA library에서는 1개의 클론을 찾아내었다(14). 이들의 제한효소지도도를 작성해본 결과 cDNA클론은 단지 600 bp의 불완전한 단편이었고, genomic clone은 하나는 2.7 kb와 다른 하나는 10.7 kb길이를 갖고 있었으며 이들 사이에는 2.7 kb의 서로 중복되는 부위를 가지고 있었다.

S. pombe filament 유사 유전자의 제한효소 지도와 염기서열분석

Genomic 클론의 중복되는 부위인 2.7 kb의 제한효소지도 작성과 염기서열 분석을 하여 보니 중간부위에 PCR을 이용하여 증폭된 유전자의 염기서열이 발견되었다(Fig. 1, 2). 이들의 염기서열 분석결과 1371 bp의 open reading frame이 발견되었고, 456개의 아미노산으로 이루어진 분자량이 53 kd에 달하는 단백질을 암호화 하였다. PCR을 이용하여 증폭된 유전자의 염기서열이 195~415 bp 지역에서 발견되었으며, PCR에 의해서 증폭된 유전자의 전체유전자

가 올바르게 clone되었음을 확인할 수 있었다.

S. pombe filament 유사 유전자와 *S. cerevisiae* filament 유전자의 아미노산서열 비교

*S. pombe*의 클론된 유전자가 *S. cerevisiae*의 CDC3, CDC10, CDC11, CDC12 유전자와의 유사성을 살펴본 결과 CDC3와는 33.0%(Fig. 3), CDC10와는 35.7%(Fig. 4), CDC11와는 34.3%(Fig. 5), 그리고 CDC12와는 37.5%(Fig. 6)의 유사성이 존재하는 것이 밝혀져 이들 유전자가 매우 유사하다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 새로이 clone된 유전자가 *S. pombe*의 filament를 암호할 것이라는 가능성이 높아졌다.

본 연구는 진핵세포의 형태형성기작을 밝히는 것이 목적이며, 이 세포 형태형성기작을 밝혀내기 위해서 진핵세포 중에서 가장 간단한 system을 갖고 뚜렷한 형태적인 변화를 나타내며 분열하는 효모를 재료로 연구하였다. 특히 actin과 microtubule 같은 cytoskeletal element와 더불어 세포형태형성의 중요한 기능을 갖고 있으리라 생각되는 filament를 집중적으로 연구하기 위하여 *S. cerevisiae*의 filament 단백질과 유사한 유전자를 *S. pombe*에서 PCR을 이용하여 찾아내었다. 그리고 이 유전자의 염기서열을 결정하였으며 *S. cerevisiae*의 filament 유전자와 높은 유사성을 가지고 있음을 밝혀냈다.

*S. cerevisiae*에서는 전자현미경 상에서 mother cell과 daughter cell의 연결부위의 세포질막 바로 안쪽에 존재하는 filament가 발견되었으며(4), 형광현미경을 통하여 관찰하여 본 결과, CDC3, CDC10, CDC11, CDC12 유전자의 생성물에 대한 항체가 filament를 인식한다는 것이 밝혀졌다(15, 16). 그러나 현재까지 *S. pombe*에서는 어떠한 filament도 전자현미경 상에서 발견되지 않았으며 클론된 filament 유사유전자의 생성물이 filament를 이루는지, 혹은 수용성 단백질을 만드는지를 알고자 유전자 융합기술을 이용하여 해당유전자의 생성물에 대한 항체를 만들고 있다. 이 항체를 이용하여 클론된 유전자의 생성물이 *S. pombe*에서는 어느부위에 존재하는가 또한 기능은

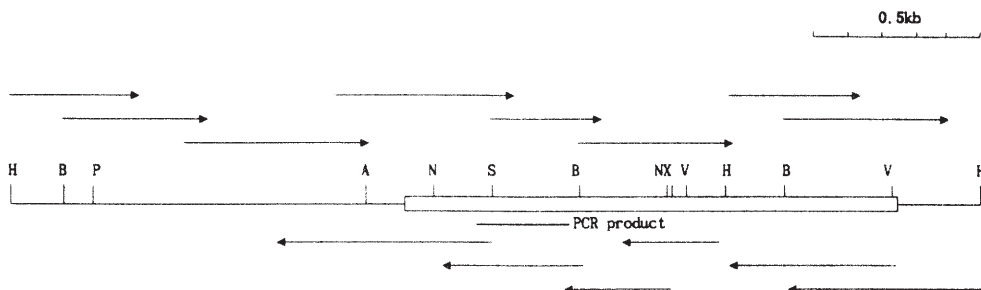


Fig. 1. Restriction map and sequencing strategy for the filament like gene.

The direction and extents of sequencing are shown by arrows above and below the restriction map. The open reading frame is indicated by the open box. Restriction endonuclease cleavage sites are indicated as follows: A, *AccI*; B, *BamHI*; H, *HindIII*; N, *NdeI*; P, *PstI*; S, *SspI*; V, *EcoRV*; X, *XhoI*.

TCATATTAG TCCTAAAAAT TAATGTTTAT TCCTCTAATG ATTAAGAGC TAGTAAATTT GAGCATGTT TTTATTGTA TTCTGTTTC AACTCTGTA	-401
AACCAAGATT ATGAAAGTAT TTTGGTACAA GATGTGAAA AGAATAAAA GTCTCTATG TAGATAATTT AATTGTTATA TTTAAAAATT TTTGATGAGG	-301
CATATTATTT TAATTATCTG TGCTTTTAT CACTGGACAT TGGTGTGTT GTTTATATTT CGCTGATAAA CGCTGTTTGA AACAAACCTG AACCTACTAA	-201
AGAGCAAAAT ACAGATAGTT CGAGAAATTA ATTTTACGA TGTCTTGAC TGAAAACCTT CAATTATTTAT TAAATTTGGA TAGTCTACCA TCCAAAAGGT	-101
ATGTTATGTT TACAATCTAG TCATAAATTC ATAAATCAIT CATTAACAAA TATACCACAG AGAAAATTTA ATAAAAAGAA AAGAATGTGG TTTAACAACT	-1
ATG CTT TGC GGA GCC TCA GGT ACT GGA AAA ACA ACG TTC TTC AAT ACT CTT TTT GCT ACT TCT TTG CAA CCA GAA AAA TCA TAT	84
M L C G A S G T G K T T F F N T L F A T S L Q P E K S Y	
GAA ACG GCT AAG GAG ACC ATA GCC AAA AAG ACC TTA GAA GTT AAA AAG AAT AAG GGC GTA ATT GAA GAA GAT GGT TTT CAT ATC	168
E T A K E T I A K K T L E V K K N K A V I E E D G F H I	
AAT CTT ACG GTG CTC GAC ACC CCA GGG TTC GGT GAT TTC ATT GAC AAT ACC AGT TGC TGG AAT ACG GTT GCA GAA TAT TTA GAC	252
N L T V L D T P G F G D F I D N T S C W N T V A E Y L D	
GAA CAA CAC GAA AGG TAT CTA ATT CAT GAT CAA AAC TCT CTC CGT GTA CCA AGG AAA GAC ACT AGA GTC CAC GTT TGT CTC TAC	336
E Q H E L L I H D Q N S L R V P R K D T R V H V C L Y	
TTT ATT ACG CCA GTT TCG TTT GGA ATG CTT CCT TTA GAT GTG TTA GCT ATG AAG GAG CTA TCG ACC CAT GTA AAC CTT GTG CCA	420
F I T P V S F G M L P L D V L A M K E L S T H V N L V P	
GTA ATA GCA AAG GCA GAT ACA TTT ACA ACT CCC GAA TTA ACA CAA ATA AAG CAA AAA ATT AGA AGG ATC CTG GAA GCT CAA TCA	504
V I A K A D T F T T P E L T Q I K Q K I R R I L E A Q S	
ATC GAC GTT TTC CAT CCA TCA ACA GAG TAT TCT GAT TAC GAA ACT GGC GAA TTA CTA GAT TCA TCC TTA CCT TAC GCT ATC ATT	588
I D V F D S S P L Y A I I	
TCC AGT GTA AAT GAA GTT TGC AAA GAC GAT GGG GAA AAA TCG CAA GGG CGT CGT TAC CCA TGG GGA ACC TCT GAA ATA TAT GAA	672
S S V N E V C K D D G E K S Q G R R Y P W G T S E I Y E	
GAA ACA CAT TGT GAT TTT TTA AAA TTG AAG AAA TTG CTA ATT AAT AGG CAT ATG CTC GAG CTT ATA AAT ACA ACT GAA ACC AAC	756
E T H C D F I Q K L K L I N R H M L E L I N T T E T N	
ATC TAT GAA CGA TAT CGT AGA GAG CAG CTT ACG AAT CGA AAG AGT GGC ATT CCT AAG CTG AAA AAA GAG CAT TAC GAA CGC TTG	840
I Y E R Y R R E Q L T N R K S G I P K L K K E H Y E R L	
AAC AAT GAG AAA CGT GCG ATT CAA CAA AAG ATA ACA CAA ATG ACT AAT GAA ACT GAA AGC TTG CCT TAC AAA AAA TAC TTT CCA	924
N N E K R A I Q K I T Q M T N E T E S L P Y K K Y F P	
AAC AAA TCG CTC AGT CTC AAC CTA AAA GTG CTG TGG TAC AAC AAC GTG ACG ATC CTG TAT ACA TTC GAT ATA CTC CTA GCA ATC	1008
N K S L S L N L K V L W Y N N V T I L Y T F D I L L A I	
AAA TGG GAC AAG CAC TTA GCA AAC AGA GGA TTA TCA AAA TGG TCA CAG CTG AAC AGG ATC CCA TGG AAC CAC CAA AAT TCC GTC	1092
K W D K H L A N R G L S K W S Q L N R I P W N H Q N S V	
ACA AAA AGG TTC CTC GTG GAC CAC CTT CTC CTC CTC CCG TCT TGC ATT CTC CTC CAC GAA AAG TTT CTG CTC AAG AAC AAC	1176
T L R L F P S C I L R L H E K L P S	
AAG ATT GGC AAA TAC CTC CGA GTA TTT CTA ATT GGA AAA ATC CGA AAG GCT ACA CTA TTC CAT TGG ATA AGC GGC TGG CCG CTG	1260
K I G K Y L R V F L I G K I R K A T L F H W I S G W P L	
ATG GTC GTG GTC TTA ATG ATG TTG AAA TCA ACG ATG GAT TTG CCA AAT TTT CTG AAG CAT TGT ACA CCG TGG AGC GTC AAG CTC	1344
M V V L M D L P N F L K H C T R W S K L C	
GTG AAG AGG TCC GAT ATC GTG CCA TAA TGC GCC AAA AGA TGG CTGAAAAGGA AAAGCAGGAA AAGAGCAAC GTTTATTAT GCTTCTCAA	1436
V K R S D I V P - -	
AAAGCAGGG AAGATCGTAT GGGTGAAT GGGCTTCTT CGGCTCTCT CCAGAGCTGG ATGCTTCTCG CATCATTCAG AGTCAGAAAA TGAAGATGAG	1586

Fig. 2. DNA sequence of the filament like gene and predicted amino acid sequence.

Numbering of the DNA sequence is such that +1 is the first base of the first ATG-initiated open reading frame. The probe which is prepared from PCR is indicated by a underline.

무엇인가 하는 세포생물학적인 연구를 할 수 있을 것이다. 또한 *in vitro* mutagenesis를 이용하여 유전자의 인위적인 돌연변이를 일으키고 이를 정상적인 유전자와 치환하여 그 때에 생겨나는 돌연변이의 형태학적, 생화학적 연구를 할 수 있다. 이러한 결과로부터 *S. pombe*의 filament 유사 유전자의 기능을 밝혀내리라 생각되며 세포 형태형성기작의 이해에 큰 실마리가 되리라 사려된다.

*S. cerevisiae*와 *S. pombe*에서는 actin이나 microtubule 등 매우 유사한 cytoskeletal element를 갖고 있다. *S. cerevisiae*의 β -tubulin 유전자와 *S. pombe*의 *NDA3* 유전자(β -tubulin을 암호화) 사이에는 73%의 유사성 (10)이 있으며, actin과 microtubule 모두 세포분열시에 이들 두 strain에서 동일한 역할을 한다 (8, 17, 19, 20). 이와 유사하게 *S. cerevisiae*의 filament

유전자와 유사한 유전자를 *S. pombe*에서 클론하고 나아가서는 이를 이용하여 인간 세포에서도 유사한 유전자를 발견하여 그 기능을 밝힐 수 있으리라 생각 된다.

*S. cerevisiae*와 *S. pombe*는 동일한 yeast에 속하지만 계통분류학상으로 매우 거리가 멀며 포유류와 조류가 분화되기 이전에 서로 분리되었다고 한다 (17). 분열방법에서 *S. cerevisiae*는 출아법으로 분열하는 budding yeast이며, *S. pombe*는 이분법으로 분열하는 fission yeast이다. 이와같이 다른 분열방법으로 분열하는 yeast 사이에 분열에 관계되는 유사한 단백질이 존재한다는 것은 매우 흥미로운 일이며 이 유전자의 역할을 밝힘으로써 세포의 형태형성기작의 연구에 많은 도움을 줄 것으로 사려된다.

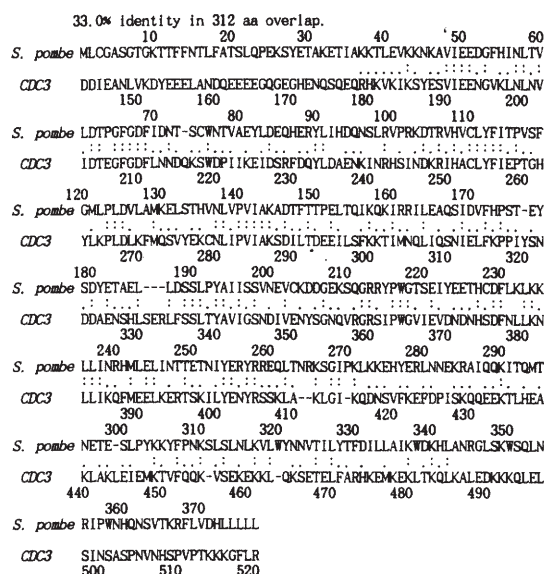


Fig. 3. Alignment of the predicted amino acid sequence of *S. pombe* filament like gene product and *S. cerevisiae* CDC3 product. Identical amino acids are indicated by a (:) between residues and similar amino acids are indicated by a (·).

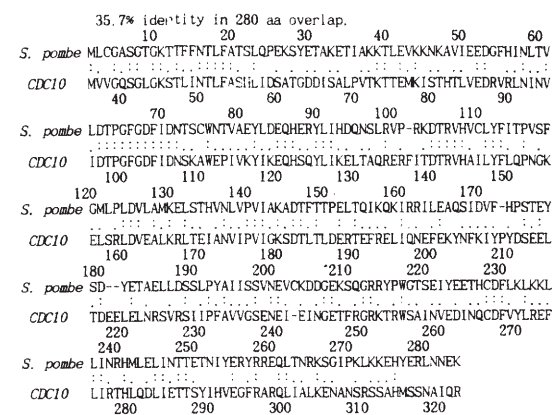


Fig. 4. Alignment of the predicted amino acid sequence of *S. pombe* filament like gene product and *S. cerevisiae* CDC10 product. Identical amino acids are indicated by a (:) between residues and similar amino acids are indicated by a (·).

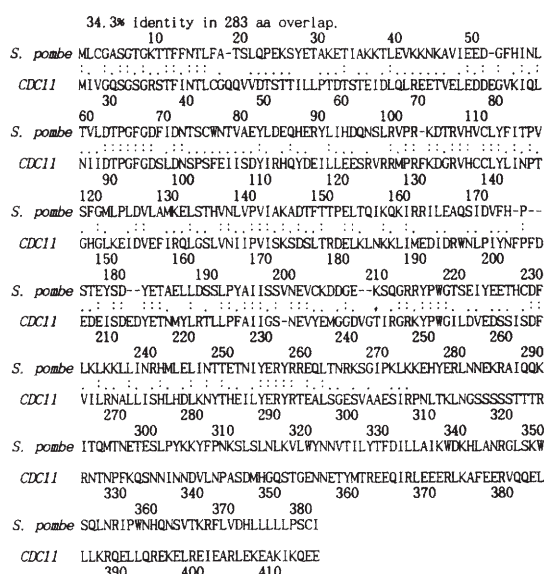


Fig. 5. Alignment of the predicted amino acid sequence of *S. pombe* filament like gene product and *S. cerevisiae* CDC11 product. Identical amino acids are indicated by a (:) between residues and similar amino acids are indicated by a (·).

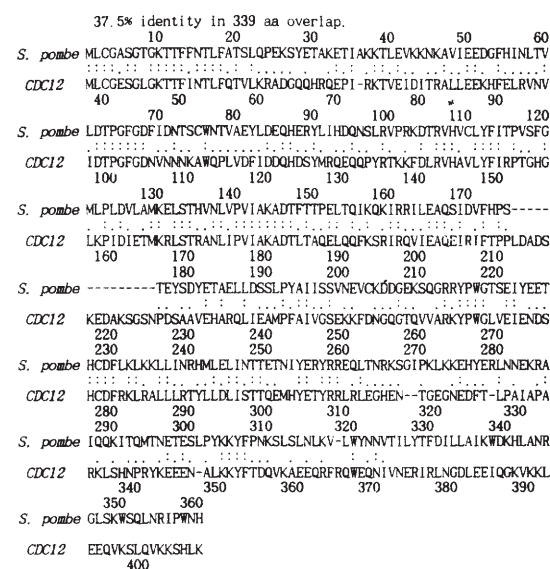


Fig. 6. Alignment of the predicted amino acid sequence of *S. pombe* filament like gene product and *S. cerevisiae* CDC12 product. Identical amino acids are indicated by a (:) between residues and similar amino acids are indicated by a (·).

감사의 말

본 연구는 1993년 5월부터 1994년 4월까지 교육부의 유전공학 학술연구조성비로 수행되었으며 연구결과의 일부는 고려대학교 교내 특별연구비에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

- Adams, A.E.M., D. Botstein, and D.G. Drubin, 1989. A yeast actin binding protein is encoded by *SAC6*, a gene founded by suppression of an actin mutation. *Science* **243**, 231-233.
- Adams, A.E.M. and J.R. Pringle, 1984. Relation of actin and tubulin distribution to bud growth in wild type and morphogenetic mutant *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* **98**, 934-945.
- Byers, B., 1981. Cytology of the yeast life cycle, p. 59-66. In J.N. Strathern, E.W. Jones, and J.R. Broach (ed.), *The molecular biology of the yeast Saccharomyces: Life cycle and inheritance*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Byers, B. and L. Goetsch, 1976. Loss of the filamentous ring in cytokinesis defective mutants of budding yeast. *J. Cell Biol.* **70**, 35a.
- Drubin, D.G., 1991. Development of cell polarity in budding yeast. *Cell* **65**, 1093-1096.
- Drubin, D.J., K.G. Miller, and D. Botstein, 1988. Yeast actin-binding proteins: Evidence for a role in morphogenesis. *J. Cell Biol.* **107**, 2551-2561.
- Haarer, B.K., S.R. Ketcham, S.K. Ford, D.J. Ashcroft, and J.R. Pringle, 1992. The *Saccharomyces cerevisiae* *CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12* genes encode a family of similar proteins. *Genetics* in press.
- Hagan, I.M. and J.S. Hyams, 1988. The use of cell division cycle mutants to investigate the control of microtubule distribution in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Cell. Sci.* **89**, 343-357.
- Hartwell, L.H., 1971. Genetic control of the cell division cycle in yeast: Genes controlling bud emergence and cytokinesis. *Exp. Cell. Res.* **69**, 265-276.
- Hiraoka, Y., T. Toda, and M. Yanagida, 1984. The *NDA3* gene of fission yeast encodes α -tubulin: A cold-sensitive *nda3* mutation reversibly blocks spindles formation and chromosome movement in mitosis. *Cell* **39**, 349-358.
- Huffaker, T.C., J.H. Thomas, and D. Botstein, 1988. Diverse effects of α -tubulin mutations on microtubule formation and function. *J. Cell Biol.* **106**, 1997-2009.
- Jacobs, C.W., A.E.M. Adams, P.J. Szaniszi, and J.R. Pringle, 1988. Functions of microtubules in the *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. *J. Cell Biol.* **107**, 1409-1426.
- Kilmartin, J.V. and A.E.M. Adams, 1984. Structural rearrangements of tubulin and actin during the cell cycle of the yeast *Saccharomyces*. *J. Cell Biol.* **98**, 922-933.
- Kim, H.B., 1993. Molecular cloning of the *Schizosaccharomyces pombe* homologue of *Saccharomyces cerevisiae* filament genes. *Kor. J. Microbiol.* **31**, 489-494.
- Kim, H.B., B.K. Haarer, and J.R. Pringle, 1991. Cellular morphogenesis in the *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle: Localization of the *CDC3* gene product and the timing of events at the budding site. *J. Cell Biol.* **112**, 535-544.
- Kim, S.C., J.W. Jung, and H.B. Kim, 1992. Studies on the organization of 10-nm filament ring in *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor. J. Microbiol.* **30**, 333-338.
- Kurtzman, C.P. and C.J. Robnett, 1991. Phylogenetic relationships among species *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Debaromyces*, and *Schwanniomyces* determined from partial ribosomal RNA sequences. *Yeast* **7**, 61-72.
- Mack, D.H. and J. Sninsky, 1988. A sensitive method for the identification of uncharacterized viruses related to known virus groups: Hepadnavirus model system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 6977-6981.
- Marks, J., I.M. Hagan, and J.S. Hynes, 1986. Growth polarity and cytokinesis in fission yeast: The role of the cytoskeleton. *J. Cell Sci. Suppl.* **5**, 229-241.
- Marks, J. and J.S. Hynes, 1985. Localization of F-actin through the cell cycle of *Schizosaccharomyces pombe*. *Eur. J. cell Biol.* **39**, 27-32.
- Novick, P. and D. Botstein, 1985. Phenotypic analysis of temperature sensitive yeast actin mutants. *Cell* **40**, 405-416.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis, 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Sanger, F., S. Nicklen, and A.R. Coulson, 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**, 5463-5467.
- Schatz, P.J., L. Pillus, P. Grisafi, F. Solomon, and D. Botstein, 1986. Two functional tubulin genes of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* encode divergent proteins. *Mol. Cell Biol.* **6**, 3711-3721.
- Streiblova, E. and M. Girhardt, 1980. Microfilaments and cytoplasmic microtubules in cell division cycle mutants of *Schizosaccharomyces pombe*. *Can. J. Microbiol.* **26**, 250-254.
- Toda, T., Y. Adachi, Y. Hiraoka, and M. Yanagida, 1984. Identification of the pleiotropic cell division cycle gene *NAD2* as one of two different tubulin genes in *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell* **37**, 233-242.

(Received November 8, 1994)

(Accepted November 17, 1994)

ABSTRACT: Cloning and Sequence Analysis of the Filament Like Gene in *Schizosaccharomyces pombe*

Kim, Hyong Bai*, Jae Wook Jung, and In Gyu Kim (Department of Biotechnology, Korea University, Chochiwon 339-800, Korea)

Saccharomyces cerevisiae (budding yeast) has a ring that lies just inside the plasma membrane in the neck connecting the mother cell to its bud. Though the filaments seem to have important roles in cellular morphogenesis with actin and microtubule, the roles of filaments are not clear. In order to elucidate the role of filaments, the filament like gene in *Schizosaccharomyces pombe* was cloned by use of PCR technique. The filament like gene has an 1371 bp open reading frame and encodes a protein of 456 amino acids with a molecular weight of 53 Kd. Comparison of the predicted amino acid sequences between the filament like gene in *S. pombe* and filament genes in *S. cerevisiae* (*CDC3*, *CDC10*, *CDC11*, *CDC12*) reveals that they share significant similarity (35%).