

클로닝 벡터는 주로 pBR322라는 것을 많이 설명하게 되는데 여기에 대해 얘기하도록 하겠다. pBR322에 이름 붙이는 방법은 p는 플라스미드의 약자이고, BR은 '블리보아'라는 사람과 '로드리게스'라는 사람이 연구를 했기 때문에 각각 두 사람의 첫 자를 따서 BR이라 붙였다. 322는 그 실험실에서 개발한 것 중 다른 것과 구별하기 위해 붙인 것이다.

pBR322의 특징을 보면 여러 가지 제한 효소들의 위치가 있다. pST1이라든지 EcoR1 등 여러 가지 제한 위치가 있고, 제한 효소가 이런 자리를 자를 수 있다는 것이다. 다음으로 항생제 저항성을 두 가지 가지고 있는데 Ampicillin 저항성과 tetracyclin 저항성을 가지고 있다. 카피수 즉, 플라스미드가 존재하는 개수가 대장균 내에 비교적 많다는 것이 특징이다.

pBR322에서 유래된 다른 변형된 형태를 보면 pBR327이 있는데 pBR327이 pBR322와 다른 점은 사본수가 더 많은 것이 특징이고, pBR322보다 높아서 세포당 박테리아 한 마리 당 35개에서 45개정도 가지고 있다.

pBR322보다 많이 쓰이는 것이 pUC8이 있는데 Ampicillin resistance 항생제 저항성과 lac Z라고 해서 lactose를 분해할 수 있는 능력을 말한다. Ori는 Origin의 약자이다. 보통 플라스미드는 원형으로 표시되는데 원형으로 표시되면 원형의 어느 부분부터 읽기 시작하느냐를 표시하는데 ori를 읽기 시작한다.

다음으로 클로닝 벡터에 많이 쓰이는 것이 m13mp8 플라스미드라는 벡터가 있다.

pBR322의 유래를 보면 인공적으로 만든 플라스미드인데 자연계에 존재하는 세 가지의 다른 플라스미드로부터 얻어진 DNA로 구성되어 있다. 그래서 pBR322를 만들기 위해서는 여러 단계를 거친다. 벡터로 쓰이는 플라스미드는 유전자 성질을 유지하면서 사이즈를 작게 만드는 것이 목표이다. 그래서 ampicillin 유전자는 R1으로부터 나오는 것이다. Tetracyclin resistance 유전자는 R65로부터 나온 것이다.

pBR322는 자연계에 존재하는 세 가지 다른 플라스미드로부터 얻어진 DNA로 구성되어 있고 세 가지가 ColE1이 아니고 R1, R60, pmB1으로 되어 있다. 그래서 R1과 R65는 항생제 저항성을 두 개를 주고 pmB1은 Ori라고 해서 Origin 염기를 이룰 수 있는 위치를 플라스미드가 가지고 있다.

pUC8에는 lac Z 유전자에는 제한부위 집단이라는 것이 있는데 너무 좁은 곳에 몰려있다. 그리고 PUC8에서 mp13mp8로 DNA 단편이 이동한다. pUC8은 박테리아의 플라스미드 벡터로부터 유래하는 것이고 M13은 박테리오파아지로부터 유래한다. 이 두 벡터 사이에 DNA를 옮겨줄 필요가 있는데 New DNA를 옮기기 위해서 Mh1과 EcoR1을 잘라서 조각을 여기에 집어넣은 것이다. 그래서 여기서 얘기하고자 하는 바는 pUC8나 m13mp8이 제한 위치가 공유되어야 한다는 것이다.

다음으로는 pgm3z가 있는데 특징은 pUC8과 비슷하다. ampicillin resistance lac z origin이 있는데 더 부가적으로 t7프로모터하고 sp6프로모터라는 것이 들어가 있다. t7 프로모터는 DNA가 단백질로 합성이 될 때 RNA로 전사가 되는데 RNA로 DNA 정보가 전사될 때 프로모션 시키는 것이다. 프로모션은 DNA가 RNA로 copy 될 때

촉진하는 프로모터를 의미하는데 t7은 t7박테리오파아지로부터 나온 것이다. 박테리오파아지중에서 DNA에서 RNA로 전사가 빨리 되도록 하는 프로모터가 있는데 그것을 잘라서 집어넣는 것이다.

지금부터는 M13박테리오파아지에 기초한 클로닝 벡터에 대해서 얘기하겠다. M13계열이 여러 가지가 있는데 그 중에서 M13 mp2가 있고, mp7이 있고 더 복잡한 m13박테리아 벡터가 있다.

m13을 보면 origin이 있고 로마숫자는 m13박테리오파아지의 유전자를 표시하는 것이다. 여기에 잘라내고 붙여서 lac z를 집어넣은 것이 m13mp1이다. mp2는 lac z에 EcoR1 제한 효소가 자랄 수 있는 제한 위치를 추가한 것이다. 제한 위치를 추가하기 위해서 돌연변이를 시켰다.

다음에 mp7계열은 폴리링커라는 것이 들어간다. 폴리링커는 EcoR1 사이트만 하나 있었는데 제한부위가 여러 가지가 있는 것을 만들었다. 여기에서도 알 수 있듯이 우리가 벡터를 만들 때 가장 주목해야 할 부분이 벡터 속에는 많은 제한효소가 자랄 수 있는 위치가 존재하면 좋다. 그래서 제한부위를 다양하게 만들기 위해서 여러 가지 조작을 하는 것이다.

폴리링커는 EcoR1, Mh1, sal 1으로 자르면 폴리링커 부분이 떨어져 나올 수 있다. 잘라서 접합말단형태가 만들어지고 여기에 새로운 DNA를 합성해서 집어넣으면 lac Z가 파괴가 돼서 베타 갈락토스가 생성이 안되기 때문에 투명한 콜로니가 생기는데 이것이 다시 폴리링커를 재결합 하면 파란 플라그가 된다. 왜냐하면 유전자가 다시 살아나 활성화가 돼서 베타 갈락토스테이즈가 나와서 파란 콜로니가 생긴다. 다음에 self ligation을 넣을 때도 파란 콜로니가 생긴다.

마지막으로 mp1, mp2, mp7, mp8까지 나가는데 mp8의 특징은 Sticky 말단을 갖고 있는 DNA 단편을 카버할 수 있는 능력을 갖고 있다. 벡터의 특징은 클론 될 수 있는 DNA 단편의 크기에 한계가 있다는 것이다. 집어넣을 수 있는 DNA 조각이 1500base pair 이하만 된다는 것이다.