

* 분류번호	II-3
--------	------

제 목	신기능 소염 단백질 분해효소 개발에 관한 연구
연구자	노 현 모
소 속	서울대학교 자연과학대학 분자생물학과
내 용	<p>단백질 분해효소는 염증주변에 축적된 파괴조직이나 변성단백질등을 분해하여 염증, 특히 만성염증의 순환을 정상화 함으로써 소염제로서 사용되어 왔으며 현재, Chymotrypsin, Trypsin, Promelain, Papain, Serrathiopeptidase, Pronase 등이 소염효소제로써 사용되고 있다. 이들은 주로 미생물 배양액에서 통상적인 방법으로 정제하여 사용하며, 유전자 재조합기술을 사용하여 재조합 균주에서 생산할경우 그 생산성을 증대시킬수 있을 것이라 기대된다.</p> <p>본 연구에서는 강력하면서도 소염작용능이 있는 신기능 단백질분해효소를 탐색한 뒤 유전공학 기술을 이용한 대량생산을 통하여 새로운 소염 단백질분해효소를 개발하는 연구의 일환으로써, 현재 소염제로 널리 사용되는 세라티오 펩티다제의 생산균주인 <i>Serratia marcescens</i> ATCC 21074 로부터 새로운 단백질 분해효소 (Smp) 유전자를 대장균에 클로닝하였다. 형질전환체는 탈지분유 배지에서 투명환을 만드는 것을 선별하였다. 클로닝된 Smp 는 대장균에서 자신의 promoter를 이용하여 발현되었으며 세포용해없이 배양액으로 분비되었다. Smp 유전자는 1,052개의 염기쌍으로 구성되어 있었으며, 352개의 아미노산으로 된 38.5 kDa의 전구체를 만들 수 있었다. 대장균에서 정제된 성숙형 효소의 N-말단 아미노산 서열을 결정한 결과 성숙형 효소는 300 개의 아미노산으로 이루어졌으며 분자량은 33.5 kDa로 계산되었다. 이러한 결과를 볼때 전구체는 signal peptide, pro-peptide 및 성숙형 효소로 구성됨을 알수있었다. Smp의 아미노산 서열은 <i>Erwinia carotobora</i> 중성단백질 분해효소와 43%의 유사성을 보였으나 <i>Bacillus stearothermophilus</i> 중성단백질 분해효소, <i>B. subtilis</i> 중성 단백질 분해효소, <i>Serratia</i> 주요 metalloprotease와는 낮은 유사성 (15-20%)를 보였다.</p> <p>Smp를 대장균으로 부터 정제하였다. Smp의 pI 값은 5.5였으며 50°C, pH 8.0에서 각각 최고의 활성을 보였다. 각종 저해제를 처리한 결과 Smp는 metalloprotease로 나타났다. 또한 Smp를 포함하는 재조합 플라스미드를 모균인 <i>Serratia marcescens</i> ATCC 21074에 형질 전환 시켰을 때, 단백질 분해효소의 생산성이 2-3 배 증가하였으며 이러한 결과는 본 효소에 대한 대량생산 체계의 기초가 될것이다.</p>