

P88

Bacillus subtilis BK-1 유전자 유래 재조합 혈전용해 효소의 생산최적조건

김양현 · 박인숙 · 임우찬 · 갈상완¹ · 주우홍² · 정영기

동의대학교 미생물학과

¹진주산업대학교 미생물공학과

²창원대학교 생물학과

Bacillus subtilis BK-1으로부터 혈전을 선택적으로 분해하는 혈전 용해 효소를 code하는 gene을 phasmid vector Bluescript II에 cloning하여 *E. coli* XL-1 Blue에 transformation시켜 2.7Kb의 DNA 단편을 얻었다. 이 DNA 단편의 전 염기서열을 결정한 결과 1023 nucleotides(288개 amino acid)를 가지는 ORF를 찾았다. 본 연구에서는 DNA 단편을 *E. coli* XL-1 blue에 삽입하여 발현되는 조건과 재조합 혈전용해효소의 생산 최적 조건을 검토하였다. 형질전환 미생물은 24시간 배양했을 때 재조합 효소의 생산이 최고에 달했다. 재조합 효소의 최적 생산을 위한 배지조성의 최적 탄소원으로 1% glucose, 최적 질소원으로는 유기질소원은 효소 생산에 영향을 미치지 않은 반면, 무기질소원 중 0.2% NH₄NO₃, 무기염류는 0.2% KCl에서 가장 높은 활성을 보였다. 효소생산을 위한 최적 pH와 온도는 각각 pH6.0과 37°C였으면 본 효소는 과다한 산소공급보다 적당량의 산소공급이 효과적 이었다. 효소 생산을 위한 inducer의 효과는 1.0% fibrinogen 및 fibrin이 양호한 결과를 보이는 것으로 보아 재조합 효소는 inducer의 영향을 받아 유도되어 그 생산력을 향상시키는 것을 알았다. 뿐만 아니라 inducer가 존재하지 않는 상태에서는 전혀 체외로 분비하지 않는 반면, inducer가 존재할 경우 체외 분비량 또한 증가하는 특성을 보였다.