

P47

Paenibacillus sp. JB-13 CGTase 유전자의 *E. coli*에서의 발현 및 효소 특성에 관한 연구

김해윤 · 김성구¹ · 전흥기

부산대학교 미생물학과

¹부경대학교 생물공학과

인간이나 동물의 생체 내에서 필수 영양소로 작용하는 비타민 C라 불리는 L-ascorbic acid (AA)는 열이나 자동 산화에 아주 민감하여 쉽게 분해되므로 이러한 단점을 해결한 비타민 C 유도체 2-O- α -D-glucopyranosyl L-ascorbic acid (AA-2G)가 발견되었다. 이 AA-2G는 주로 *Bacillus* 속이 생산하는 당전이 효소인 cyclodextrin glucanotransferase (CGTase, EC 2.4.1.19)에 의해 합성이 가능하였다. 하지만 현재 주로 *Bacillus* 속 세균이 생산하는 것으로 알려져 있는 CGTase는 생산 효율이 그리 높지 못한 실정이므로 좀 더 산업적 요구에 부응할 수 있는 고효율 CGTase 생산 균주가 절실히 필요함에 따라 유전 공학적 기법을 이용하여 CGTase 유전자를 재조합하여 효소의 대량 생산을 시도하였다.

Paenibacillus sp. JB-13의 CGTase gene (*cgt*)을 토대로 PCR을 위한 primer를 제작하고 PCR을 실시하여 *cgt* gene을 T-vector에 ligation한 후 *Escherichia coli* DH-5 α 에 transformation하여 subcloning하였다. 그런 후 transformation 된 균주의 *cgt* gene과 pEXP7 vector를 ligation하여 *E. coli* DH-5 α 에 transformation하여 재조합 *E. coli*를 제작하였다. 재조합 된 *E. coli*의 CGTase 생산 최적 조건을 확인하여 CGTase 활성을 높이려는 실험을 실시한 결과 635units/ml이었다. 이 CGTase를 이용하여 AA-2G의 생산을 시도하여 생산된 AA-2G를 HPLC를 통하여 확인할 수 있었다.

이것은 기존의 CGTase 생산 균주인 *Paenibacillus* sp. JB-13의 활성보다 높은 것은 아니었다. 하지만 기존 균주의 효소 생산 최적 시간이 48시간인 것에 비하면 배양 시간을 1/4로 줄일 수 있다는 것이 고무적이며 이미 구축되어 있는 AA-2G 합성 시스템을 응용하여 AA-2G를 생산할 수 있으므로 대량 생산 가능성을 확인하였다.