

(O-8)

## 인삼 유전자로부터 펩타이드 생산체계 개발

김갑식\*, 정기택, 최광태

한국인삼연초연구원

인삼에서 발견되는 유전자를 cDNA 은행에서 cloning하고 예상 단백질의 Database 탐색으로 유용 peptide 가능성을 검정하여 DNA 단편을 선발하고 이 유전자를 미생물에서 발현시키고자 실험을 수행하였던 바 아래와 같은 결과를 얻었다.

- 가. 인삼 cDNA clone들의 염기서열 data를 활용하여 GenBank database 탐색을 통해 동물 근육신경형성(muscular junction)에 관여하는 단백질인 Agrin과 10여개 아미노산 서열이 유사한 인삼 유전자 DNA 단편과 CAB유전자의 일부 DNA 단편을 선발하였다.
- 나. 합성 primer를 이용하여 PCR 반응을 통해 Agrin의 10여개 아미노산서열이 흡사한 인삼 유전자 DNA 단편을(약 0.25 kb: Agri-pcp으로 명명) 합성하였으며 같은 방법으로 인삼의 CAB N-terminal 부위의 DNA 단편을(약 0.3 kb: Gin-CAB) 합성하였다.
- 다. 발현 vector pASK75를 제한효소 PstI과 StuI으로 처리후 0.25 kb Agri-pep 및 0.3kb Gin-CAB을 ligation하여 Agri-pep 발현 vector(pKGAG25로 명명함) 및 Gin-Cab 발현 vector(pKGCAB로 명명함)를 제조하였다.
- 라. pKGAG25 vector 및 pKGCAB vector를 E. coli(XL-1 blue)에서 발현시켜 SDA-PAGE에서 확인하였던 바, 효과적으로 발현되어 예상되는 peptide 크기의 발현된 Protein band를 확인할 수 있었다.
- 마. 인삼 유효peptide의 효능점검에 필요한 쥐 뇌의 조직 특이 유전자를 cloning하기 위하여 쥐의 뇌에서 cDNA clone 40여개를 선발하여 일부 염기서열분석을 통해 몇 개의 유전자를 확보하였으며( $\alpha$ -tubulin gene,  $\beta$ -globin gene 등) 미확인된 clone중에 뇌에서만 발현되는 유전자를 탐색중이다.