

P88

***Bacillus subtilis* A1유래 재조합 혈전 용해 효소의 특성**김지은, 조한영, ¹주우홍, ²갈상완, 정영기

동의대학교 미생물학과
¹창원대학교 생물학과
²진주산업대학교 미생물공학과

Bacillus subtilis BK-I 으로부터 혈전을 선택적으로 분해하는 혈전 용해 효소를 code하는 gene을 phasimid vector Bluescript II 에 cloning하여 *E. coli* XL-1 Blue 에 transformation시켜 2.7Kb의 DNA 단편을 얻었다.

전체 염기 서열을 결정한 결과 1023 nucleotides, 분자량이 3793 da의 314 아미노산으로 구성된 ORF를 찾았다. 이 재조합 cell은 fibrinolysis를 포함하는 새로운 gene이므로 그 단백질을 정제하였다.

본 정제효소는 pH7, 온도 50°C에서 최적활성을 보였으며, 안정성은 pH는 6, 7에서 그리고 열에 대해서는 20~50°C에서 비교적 높은 안정성을 보였다.

Protease inhibitor의 결과 EDTA and phosphoramidon에 의해 저해 현상을 보이므로 metalloprotease라 사료되어진다.

Skim milk, casein, gelatin 같은 protease기질에서는 약한 분해 반응을 보인 반면 fibrin에서 특이적 분해가 일어난다. blood agar plate에서는 적혈구 분해 반응이 일어나지 않았다. 본 효소는 plasminogen이 존재하는 fibrin plate에서 fibrin을 분해하는 반면, plasminogen을 제거한 plate에서는 약한 활성을 보이는 것으로 보아 plasminogen activity type으로 사료 되어진다. Fibrin에 높은 특이성을 보였으며 전구체 fibrinogen subunit의 가수분해에서 α , β and γ chain 순으로 분해 되었다. 을 볼 수 있었다.

정제된 단백질은 SDS-PAGE 상에서 33KDa의 분자량으로 확인 되었으며, Zymography상에서 효소 활성이 확인되었다. 아미노산 말단을 분석한 결과 A-R-A-G-E-A-L -R-D-I-Y로 확인되었다.

염기 서열 결정과 N-말단 서열을 기존의 다른 protease와의 비교 분석 결과 상동성이 거의 없는 것으로 보아 새로이 발견된 fibrinolytic enzyme으로 여겨진다.