

P 22 제주산 파인애플에서의 단백질 분해효소 (Bromelain) 유전자의 동정

최장선* · 문병현¹ · 강권규

한경대학교 원예학과, ¹셀텍(주)

연구 목적

Bromelain은 파인애플의 과육과 줄기에 많이 함유되어 있는 단백질 분해효소로 가장 많이 알려져 있다. 파인애플에서 분리한 Bromelain 효소는 Chittenden이 처음 발견한 이래 Inaganni와 Murachi에 의하여 그 효소학적인 특성이 보고 되었고 Lowe는 Bromelain의 아미노산 배열과 기능에 관하여 보고 한 바 있다.

Bromelain 효소는 물리, 화학적인 단백질 가수분해에 비해 부가 반응이 없고 촉매 활성 반응이 크기 때문에 에너지 소모가 적고 Bromelain 효소를 사용 후에 제거할 필요가 없어 조미료 제조, 식육의 연화, 등의 식품공업과 소화제, 소염제 등의 제약공업, 피혁공업, 세제산업, 동물의 사료첨가제 등 다양하게 이용되고 있는 효소이다. Bromelain 효소는 고비용의 분리 단계 없이 부분 정제된 형태로서 섭취하여도 약 40%가 장을 통해 아무런 손상 없이 흡수되는 것으로 알려져 있다. Bromelain 효소의 추출물은 여러 가지가 있으나 Dr Hans Nieper에 의해 분리된 ANAVIT-F3을 가장 많이 사용하고 있으며 하와이, 브라질, 대만 등에서 생산되고 우리나라의 경우 분말 형태로 정제된 것을 수입하여 이용하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 Bromelain 유전자를 국내산 파인애플로부터 동정함으로써 향후 미생물이나 국내에서 대량 재배 가능한 작물에 도입하는 데 이용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료 : 제주산 파인애플을 잎 부분을 제거하고 일정한 크기

로 과육과 줄기 부분으로 나누어 절단하여 극저온저장고에 보관 이용하였다

2. 방법 : 액체질소로 마쇄한 후 mRNA 추출은 Quick prep micro mRNA 추출 Kit (Amersham pharmacia)을 이용하였고 cDNA는 Universal riboclone cDNA synthesis system (Promega)를 이용하여 합성하였다. Primer는 기존에 알려진 유전자 (D14057, D14058)을 바탕으로 하여 합성하였고 PCR 수행은 TP3000 (Takara)으로 수행하였다. pGEM-T easy vector (Promega)를 이용하여 클로닝 하여 Sequencing 하였다.

결과 및 고찰

제주산 파인애플의 cDNA를 가지고 PCR을 수행하여 두 개의 Bromelain 유전자를 동정 할 수 있었다. 동정된 Bromelain 유전자를 Blast로 상동성을 검색하여 본 결과 BL1 유전자가 D14058, D14057, D38531과 99%의 상동성을 보였고 BL2유전자가 98%의 상동성을 보였다. 그 외에 D38533과는 98%와 96%보였고, D14059, D38534와는 두 유전자 모두 91%의 상동성을 보였다. 아미노산 분석에서는 BL1이 99~84%의 상동성을 보였고, BL2가 96~83%의 상동성을 보였다. BL1의 경우 D14058와 1bp가 틀려 기존에 알려진 유전자로 사료된다. 하지만 BL2의 경우 아직 알려지지 않은 새로운 Bromelain 유전자로 생각된다.