

Expression of Fusion human Parathyroid Hormone Fragment in Soluble Form and Its Purification by Immobilized Metal Affinity Chromatography

김태완, 함문선¹, 정봉현¹, 장용근

한국과학기술원 생명화학공학과, 한국생명공학연구원 미생물공정연구실¹

전화 (042) 869-3967, FAX (042) 869-3910

본 연구에서는 효모 유래 carboxypeptidase Y (CPY) propeptide 부분이 목적 단백질인 인체 부갑상선 호르몬 단편 (hPTHF) N-말단에 융합된 융합단백질 발현벡터 시스템¹⁾을 이용하여 재조합 대장균 내에서 수용성 형태의 융합 인체 부갑상선 호르몬 단편을 과다발현 시켰다. 플라스크 배양을 통해 온도에 따른 영향을 고찰한 결과, 본 시스템의 경우 IPTG 유도 후 배양온도를 37 °C로 유지했을 때는 융합 인체 부갑상선 호르몬 단편이 거의 모두 비 용해성 결합체로 발현됨을 알 수 있었다. 그러나, IPTG에 의한 단백질 유도 후, 배양온도를 30 °C, 25 °C로 낮춤에 따라, 수용성 형태의 융합 인체 부갑상선 호르몬 단편의 발현이 증가함을 알 수 있었다. IPTG 유도 후 25 °C에서 배양한 결과, 발현된 총 융합 인체 부갑상선 호르몬 단편 중 약 70% 정도가 수용성 형태로 발현됨을 알 수 있었다. 따라서 본 융합단백질 발현 시스템의 융합파트너로 사용된 CPY propeptide의 경우, 수용성 형태의 소형 폴리펩타이드 과다발현에 매우 효율적인 것으로 사료된다. 또한, 이러한 결과를 이용하여 수용성 형태의 융합 인체 부갑상선 호르몬 단편을 대량배양 하였고, 이를 금속이온 친화성 크로마토그래피 (IMAC)를 이용하여 효율적으로 분리정제 하였다. IMAC에 의한 분리정제를 위해 본 발현벡터 시스템에는 CPY propeptide N-말단에 6개의 histidine을 도입하였다¹⁾. 단백질 용액을 Ni-IDA가 충전된 column에 결합시킨 후, 세척단계에서 50 mM imidazole 용액을 이용하여 결합력이 약한 불순물들을 미리 제거해 줌으로서 elution 과정을 통해 고 순도의 융합 인체 부갑상선 호르몬 단편을 얻을 수 있었다.

참고문헌

1. Oh. G. H., M. S. Hahm, and B. H. Chung, "Use of Carboxypeptidase Y Propeptide as a Fusion Partner for Expression of Small Polypeptides in *Escherichia coli*"(1999), *Protein Expression and Purification*, 17, 428-434