



재조합 단백질 대량발현 시스템 pHCE DNA Vector

pHCE DNA vector는 (주)바이오리더스 한국생명공학연구원 성문희 박사팀이 개발한 강력한 재조합 단백질 및 효소 발현 시스템이다. 이들 DNA vector(pHCE IA, pHCE IB, pHCE IIA, pHCE IIB)는 단백질 발현 유도물질인 고가의 IPTG 첨가 없이 대장균의 증식에 따른 항시적 발현 시스템이다. 또한 모든 *E. coli* (mutant *E. coli* 포함)를 숙주로 사용할 수 있어 아주 편리하다.

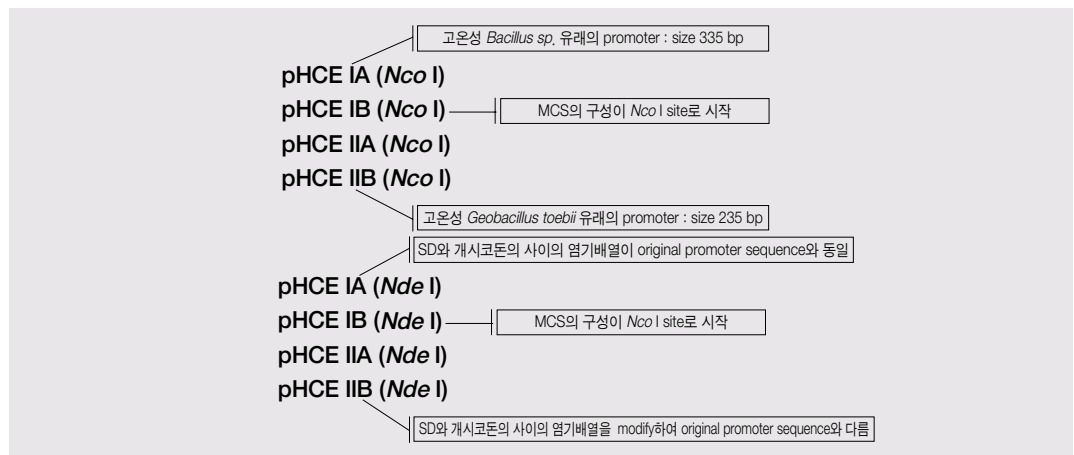
제품명	TaKaRa Code	포장량	가격
pHCE IA(<i>Nco</i> I)	BL001	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE IB(<i>Nco</i> I)	BL002	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE IIA(<i>Nco</i> I)	BL003	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE IIB(<i>Nco</i> I)	BL004	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE DNA Vector Set A(IA, IB, IIA, IIB <i>Nco</i> I version, 4종류)	BL005	1 Set	800,000원
pHCE IA(<i>Nde</i> I)	BL006	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE IB(<i>Nde</i> I)	BL007	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE IIA(<i>Nde</i> I)	BL008	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE IIB(<i>Nde</i> I)	BL009	200 ng/ # (10 #)	270,000원
pHCE DNA Vector Set B(IA, IB, IIA, IIB <i>Nde</i> I version, 4종류)	BL010	1 Set	800,000원

■ 용도

재조합 단백질 및 효소의 고발현 vector로 사용
모든 *E. coli* strain (mutant *E. coli* 포함)를 사용한 재조합 단백질 및 효소의 고발현

■ 특징

단백질 발현 유도물질인 고가의 IPTG를 첨가하는 유도(induction)과정이 필요없다. 항시적 고발현 시스템 작동에 의해 발현 단백질의 양은 재조합 대장균 균체 단백질의 대략 20-70%로 재조합 단백질 및 효소의 대량생산에 사용이 가능하다. 모든 *E. coli* (mutat *E. coli* 포함)을 host cell로 사용할 수 있다.



■ 배양

- ① 제조한 고발현 vector DNA를 transformation한 재조합 *E. coli*는 LB배지 (Ampicillin 포함)에 배양하며 시간별로 sampling하여 원하는 단백질 및 효소의 고발현을 확인한다 (IPTG 첨가 필요없음).
- ② 기존의 배지보다 재조합 대장균의 증식을 효과적으로 증가시키기 위해서는 한국생명공학연구원 성문희 박사팀이 개발한 별도의 배지(CPGY media)를 추천한다.
이 경우 transformation한 대장균의 성장이 기존의 LB를 사용할 때 보다 대폭 증가함을 확인 할 수 있다(약 40-80 O.D.의 대장균 성장 획득).

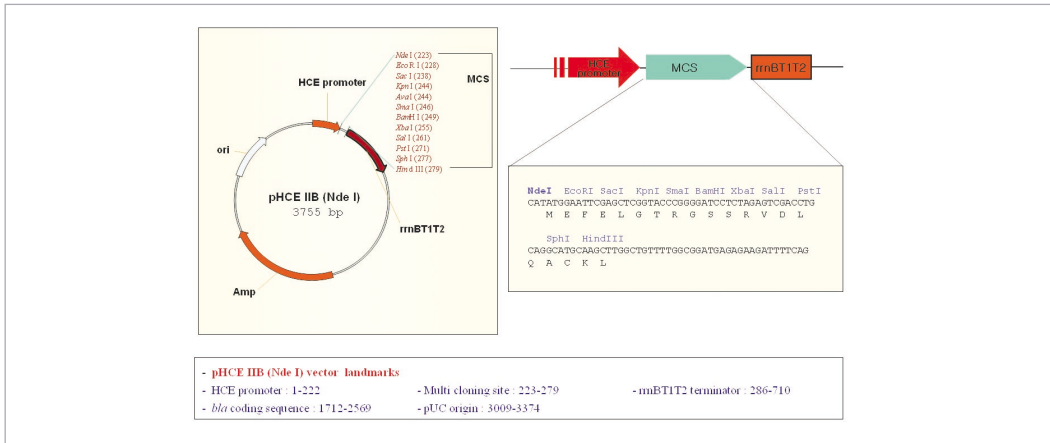
〈CPGY 배지〉pH 6.8

KH ₂ PO ₄	3.0 g/L
Na ₂ HPO ₄	7.0 g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	3.0 g/L
Casein peptone	30.0 g/L
Sodium Glutamate	5.0 g/L
Yeast extract	5.0 g/L
Glycerol	50.0 g/L
MgSO ₄	1.0 g/L
Sodium citrate	1.0 g/L

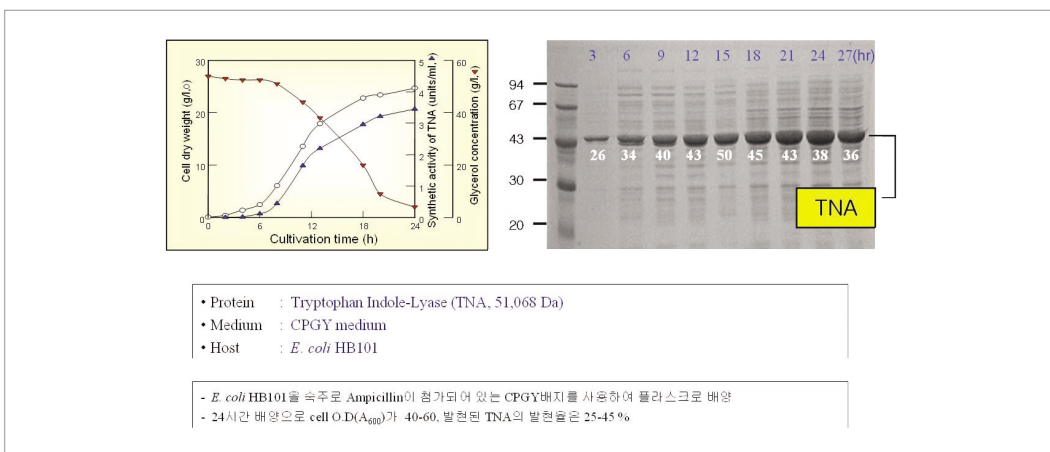
표 1 유도발현 vector와의 성능 및 특징비교

pHCE DNA vector	평가항목	유도발현 vector
20 ~ 70%	단백질 발현율	10 ~ 50%
회분식(CPGY배지): 25g/L	재조합 대장균의 균체 증식량	회분식(LB배지): 2g/L
유가식 50g/L 이상*		유가식: 80g/L 이상
회분식 배양: 약 2~5g/L	생산성	회분식 배양: 0.1~1g/L
저렴	생산비용	고비용
· 재조합 대장균의 균체증식과 동시에 단백질 발현이 수행되므로 조업 안정성이 매우 높음	조업 안정성	· 유도물질(PTG 등)의 첨가 또는 배양용액의 물리적 환경조절이 필요하므로 조업안정성이 낮음 · 단백질발현 유도시기의 적합 여부에 따라 단백질 발현율이 크게 달라짐
· 생물전환기술에 사용하는 호스(생물촉매) 생산 원가 절감효과가 있어 관련기술의 산업화에 파급효과가 매우 큼 · 생명공학 혁신기술인 진화분자공학기술 (directed enzyme evolution)을 비롯한 연관 핵심기반기술에의 파급효과가 매우 큼	연관 기술에의 파급효과	· 부분적인 개량이 이루어지고 있으나, 생산공정의 고비용으로 파급효과가 비교적 적음

그림 pHCE II B (Nde I) Multicloning site



■ 제품 사용의 예: pHCE II B를 이용한 TNA의 발현



■ 참고 문헌

Poo, H.R., J.J. Song, S.-P. Hong, Y.-H. Choi, S.W. Yun, J.-H. Kim., S.C. Lee, S.-G. Lee, and M.-H. Sung. 2002. Novel high-level constitutive expression system, pHCE vector, for a convenient and cost-effective soluble production of human tumor necrosis factor- α . *Biotechnology Letters* **24**:1185-1189

■ 사용상의 주의

본 제품을 연구목적 이외에 상업적으로 사용하는 경우에는 사전에 당사로 문의하여 협의하여 주시기 바랍니다.