[2021년 상반기] 실적 보고서

▢ 과제 개요

과제번호	4.0021272.14	참여연구원	이지현
멘토교수	[정] 황인환	(부)	
연구명	Carbonic anhydrase의 식물을 이용한 저비용 대량 생산과 활용 기술 개발		
최종 목표 및 기대효과 (각 3줄 이내)	[최종 목표] o 바이오 · 의료용 목적을 활용하기 위한 CA를 개발하여 원천기술을 확보한다. o 식물을 이용한 저비용 대량 생산 기술의 플랫폼을 구축한다. o 바이오의약품 등의 고부가가치 제품의 상용화를 실현하여 부가 수익을 창출한다. [기대효과] o 연구 결과를 바탕으로 논문을 출판에 기여할 것으로 기대함. o 연구 결과를 통한 특허를 출원할 수 있을 것으로 기대함. o 확립된 식물 생산 플랫폼을 이용하여 다양한 후보군 생산에 응용 및 활용할 수 있을 것으로 예상함.		

핵심어 (각 4개)	국문	탄산무수화효소	식물 단백질 발현시스템	담배	단백질 정제
	영문	Carbonic anhydrase	plant-based expression system	*Nicotiana benthamiana*	protein purification

▢ 반기별 연구 실적 및 계획 (*분량 제한: 2 Page 이내)

1 (상반기) 연구 실적

1. 일정 관리 (*범례 – ▢: 계획, ▢: 추진 일정)

개발 내용	추진 일정												비고 (변경/지연사유 등)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
CA 생산을 위한 식물 발현 벡터 제작	▢	▢											
	▢	▢											
식물 기반 플랫폼을 활용한 재조합 단백질 생산			▢	▢	▢								
			▢	▢	▢								
식물로부터 생산한 단백질 분리 정제 시스템 확립				▢	▢	▢	▢						
				▢	▢	▢	▢						
정제 단백질의 활성 검사						▢	▢	▢					
						▢	▢	▢					

2. 주요 실적 내용

가. 내용

- 단백질 발현이 증가에 도움을 주는 특정 도메인을 선발하여 이전 분기에 설계한 벡터에 삽입하고 단백질 발현이 증가하는지 관찰하였다.
- 소단위 실험을 통해 개략적으로 획득 가능한 단백질 함량을 예측하였다. 추후 연구 진행을 위해 충분한 양을 확보할 수 있도록 대량 생산을 진행하였다.

나. 연구개발 결과

- 고 발현 인자를 향상을 위한 발현 벡터 개선 설계 및 재조합 발현 벡터 4종 제작하였다.
- 아그로박테리움(Agrobacterium) 3 종을 테스트하여 담배 (*N. benthamiana*)에서 단백질 생산 조건 최적화하였다.
- 분리 정제 시스템 3 가지 확립 및 정제 조건 수립하였다.
- *In vitro* 효소 활성 검사 수행 및 검증하였다.

2 (하반기) 연구 계획

1. 일정 관리 계획 (*범례 – □: 계획)

주요 내용	추진 일정 계획												비고 (변경/지연사유 등)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 발현량 관찰													
식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 내구성 분석													
식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 열 안정성 분석													
식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA)와 고정체 간의 결합력 분석													

2. 추진 내용

가. 목표

- **식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 발현량 분석**
- **식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 열 안정성 및 내구성 분석**
- **식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA)와 고정체 간의 결합력 분석**

나. 범위

- **식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 발현량 분석**

본 연구를 통해 식물체로부터 발현이 증대된 개량된 벡터를 활용하여 단백질 **발현량을 분석하고** 정량하고자 한다.

식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA) 열 안정성 및 내구성 분석

생촉매제인 효소는 바이오 · 의료용으로 실제로 적용하려면 효소 활성이 안정적으로 지속되어야만 한다. 따라서 다양한 환경조건 고온이라거나 화학물질을 처리시 활성이 유지되는 내구성 (durability)을 분석하고자 한다.

– 식물로부터 생산한 바이오 촉매 탄산무수화효소 (CA)와 고정체 간의 결합력 분석

Microcrystalline cellulose의 효소의 고정력 (immobilization)을 상승시키게 되면, 효소의 입체 구조를 유리하게 유지할 수 있어 오히려 안정적인 활성을 갖는지 관찰하고자 한다.