

(19)  
(12)

(KR)  
(B1)

(51) 。 Int. Cl. <sup>6</sup>  
C12N 5/00

(45)  
(11)  
(24)

2002 03 06  
10 - 0327040  
2002 02 21

(21) 10 - 1999 - 0035982  
(22) 1999 08 27

(65) 2000 - 0017601  
(43) 2000 03 25

(30) 1019980034910 1998 08 27 (KR)

(73)

20

(72)

3 319 - 3

386 - 42

5 - 106

102 - 1002

(74)

:

(54)

(a)

가

pH

가

, (b) 가

/

,  
,

7

1 가 n - 가 SDS - PAGE ;

2 가 가 SDS - PAGE ;

3 / SDS - PAGE ;

4 가 가 SDS - PAGE ;

5 / 2 - / SDS - PAGE ;

6 가 가 / SDS - PAGE ;

7 가 , / SDS - PAGE ;

8 ( ) 가 / / SD S - PAGE ;

9 가 , / SDS - PAGE .

olubilization) (inclusion body or refractile body) (refolding) (reoxidation) (somatotropin) 가 (s

가 (soluble form) , 가 가 가 (naturation) .

filtration) (denaturing agent) 가 , (ultra (urea) (guanidine salt) 가 (5 - 9 M) 가 ( 1 - 5 M) 가 ( 114,506 ) . , 가 ( 5,109,117 ) . 가

가 , (alkalizing agent) 가 pH ( 가 86911 ). pH 가 ( 가 , 가 , 가 ( 5,023,323 ). , 가 가 가 charge) pH pH (monomer)가 (net (aggregated form) . 가 가 .

, pH 가 가 , 가 가 (free SH group)가 가 , 가 (disulfide bond) . , (dimer) 가 (trimer), (polymer) 가 가 가 가 .

, 가 ,

가 , n-

; (a) 가 pH 가 ; (b) 가 /

가 (bovine somatotropin; BS  
 T) (porcine somatotropin; PST) , , ala - BST, met - BST, ala - PST m  
 et - PST

가 (solubilization) ' . 가 가

(refolding) ' 가 3  
 (folding) .

가

(redox potential)가  
 가

n- , 가 pH

, 가 3 n-

(homogenizer) 86911  
 (EDTA) , 가

1 10 g/ 10 50 %(v/v) n - ,  
20 40 % , 0 50 , 30 50 ,  
35 40 pH 9 , 12 13 5 30  
가 .

n - 가 1 35 % ,  
10 20 %가 . 1 8 (surface aeration)  
/ 0 50 ,  
5 40 , 10 20 pH 8.4 , pH 12 13 .  
, CuCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, CaSO<sub>4</sub> 가 ,  
n - .

가 , /  
, 0.0001 0.5 %(v/v) 2 -  
(cysteamine), (glutathione),  
(cysteine) - 가 , 0.001 0.05 % 2 - 가  
/ , 0 0.25 % 2 - .

가 , , 86911

1: 가 n -

( 1)

00 가 pH 4.8 (KFCC - 10693) 450 , 3  
(Continuous centrifuge BTPX 2150,  
) (slurry) , 0.1% - 100 10 mM EDTA  
가 200 가 . (high pressure homogenizer SHL  
15, - ) 14,000 psi 200 / 2 ,  
가 0.625 % - 10  
0, 50 mM EDTA가 120 , (polytron PT 10/35, KINEMATICA GmbH)  
30 , 240 가 .  
180 15  
100 .

( 2) 가 /

( 1)

350 Mℓ 100, 200, 300, 400 500 Mℓ n -  
가 가 가 37 Na  
OH 가 pH 12 13 , 10 가 .

2 가 2  
 SDS - PAGE 1 , 1 , 1 5 가  
 10, 20, 30, 40 50 %(v/v) n- , 6 10  
 , 30 % n- . 가 20 % n- ( 7 )  
 , 20 % 가 ( 8 ) 50% n- 가 ( 10 )  
 , 20 % n- 가 가

2: 가

가 가 , 가 n-  
 SDS - PAGE , 1 5 가 1 2  
 , 6 10 가 10, 20, 30, 40 50 %(v/v)  
 ( 8 ) , 50% 가 30%  
 ( 10 )

3: /

/ , 가  
 350 Mℓ(35 %) 1 , 2 4 1 , 2 4  
 3 SDS - PAGE 1 , 2 4 1 2  
 ( 2 ) , 1 ( 1 ) 4 ( 3 ) 가 .

4: 가

가 가 , 가 350 Mℓ(35%) 1  
 , 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 50 가 (%) , 4  
 , 35 SDS - PAGE 가

5: / 2 -

/ 2- , 가  
 350 Mℓ(35 %) , 2- 0, 0.001, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.0  
 7, 0.08 0.1 % 가 1 / SDS - P  
 AGE , 5 62, 73, 77, 79, 80, 81, 82, 74, 64 45 %

6: /

1 M (35 %) , 가 350  
 5 mM 가 , / 6  
 SDS - PAGE  
 78%

7: 가

가 , 가 350 M (35 %)  
 가 0.85, 0.95, 1.0, 1.2, 1.4, 1.7, 2.1, 2.9, 4.3 8.8 g/  
 S - PAGE 가 1 가 (%) SD  
 가 (%) 가 (%) 70, 75, 82, 88, 89, 92, 88, 95, 86 53 %

8:

( 1)

(KCTC 0644BP) 10 가 ,  
 pH 4.8 ( 'Cell F' ) (Continuous centri  
 fuge LAPX 202BTG, 가 4 가 0.1% - 100 10 mM EDTA  
 uidics corporations) 8,000 psi 2 ( 'Cell S' ) (microfluidizer, Microfl  
 100, 50 mM EDTA가 10 , (polytron PT 10/35, KINEMATICA GmbH) ( 'T  
 30 5 가 (high speed centr  
 EW' ) 2 가 15  
 ifuge J2 - 21M, BECKMAN) ( 'WFIW - 1' ) 0.5 가 250 M  
 가 / , ( ) 가

( 2) 가 /

( 1) ( 'WFIW - 2' ) 250 M 350 M (35 %  
 ) , 2- 0.02 %가 가 가 1 가  
 가 pH 12 13 2.5 g/ 37 NaOH  
 2 가 2 10 가

( 3)

( 2) (ultrafiltration)  
 30 (Da) (filtrate) 1

(retentate) (water for injection) 가, (MWCO: 10,000 )  
 (conductivity)가 800 micro - mho, pH 9.0  
 (DEAE - sepharose column; Pharmacia Biotech) 20 / (equilibration) DEAE -  
 , 10 mM ('DEAE')  
 , 90 mM / SDS - PAGE 7  
 (WFIW - 2) 100%

1: ( ) 가 /

(T. F. Holzman, et al., Biochemistry, 25, 6907 - 6917 (1986))

가 / 가 8 ( 1) 250 Mℓ NaOH  
 가 1.3 가 가 가 4.5M 8 ( 3) SDS - PAG  
 가 pH 10.5 8 /  
 E 8 (WFIW - 2)  
 83.7%

9:

(KCTC 0523BP) 8 ( 1)  
 250 Mℓ 8 ( 2) ( )  
 3) , 가 2.3 g/  
 / SDS - PAGE 9  
 (WFIW - 2) 90%

SDS

(57)

1.

(a) 가 pH 가 ;

(b) 가 /

2.

1 ,

n -





1 ,  
(a) pH 9 .  
12.

1 ,  
(b) pH 8.4 .  
13.

1 ,  
(a) 가 1 10 g/ .  
14.

1 ,  
(a) 가 가 .  
15.

14 ,  
가 2- , , , - .  
16.

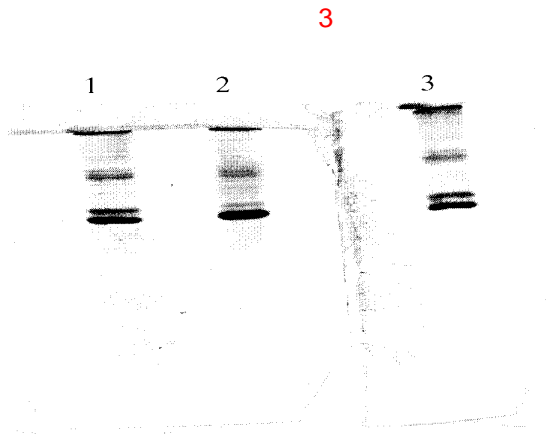
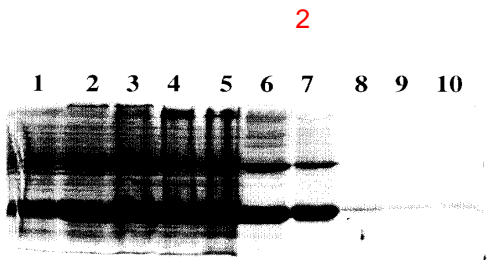
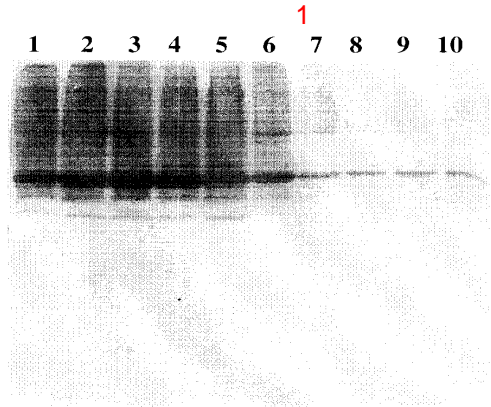
14 ,  
가 0.0001 % 0.5 % 2- .  
17.

1 ,  
(b) 가 가 .  
18.

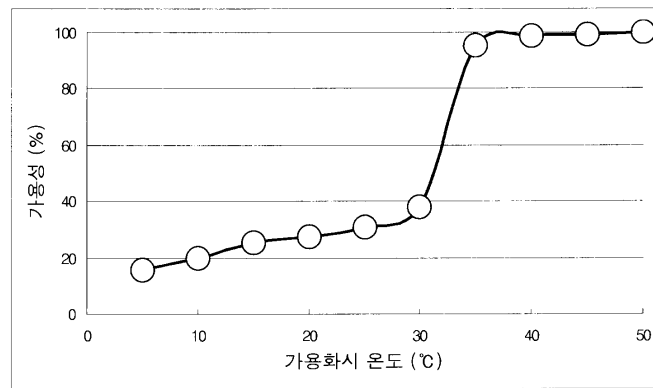
17 ,  
가 2- , , , - .  
19.

17 ,

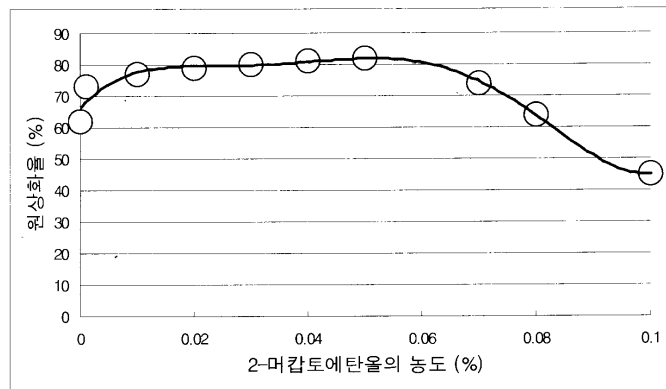
가 0 0.25 % 2 -



4



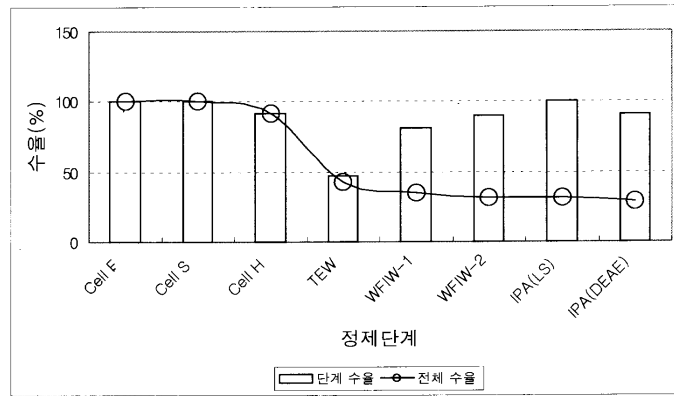
5



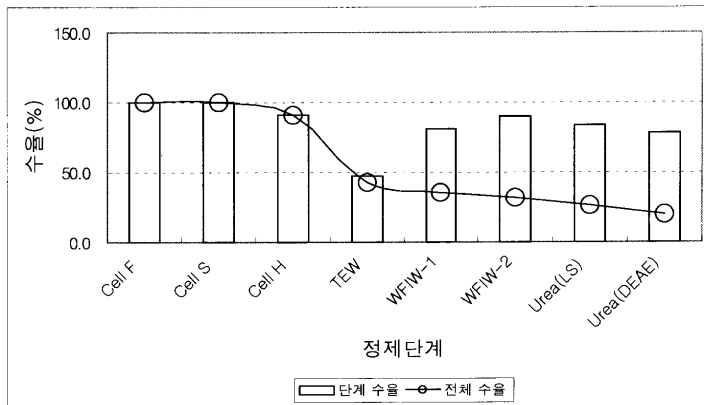
6



7



8



9

