1. 미생물을 바이오의약품( 단백질) 과 같은 제품의 생산 균주로 활용하고자 할 때 여러가지 문제들이 발생할 수 있다. 특히 대장균을 바이오의약품 생산에 활용하는 데 있어 발생하게 되는 문제점들을 네 가지 이상 이야기 하면 어떤 것이 있는가? (5+5+5+5)

해답:

1. Heterologous proteins accumulate intracellularly (Additionally primary processing steps are required, i.e. cellular homogenization with subsequent removal of cell debris by centrifugation or filtration)

2 Inability to undertake post-translational modifications (particularly glycosylation) of proteins

3. The presence of lipopolysaccharide (LPS) on its surface

4. More extensive chromatographic purification is required in order to separate the protein of interest from the several thousand additional homologous proteins produced by the *E. coli* cells

5. phage 감염

2. 미생물 대사에 있어서 (5+5+5)

1). 산소의 주역할은 무엇이며

2) 산소가 없게 되면 어떤 일이 일어나고

3). 산소가 부족한 상황을 극복하기 위하여 미생물 대사와 관련해서 어떤일이 일어나는가?

해답

1) Electron acceptor

2) NADH -> ATP를 만들지 못하며, NADH가 축적, ATP 생산량 감소

3) 미생물 마다 다르나 .NADH -> NAD를 위한 NADH 소모적인 부산물들 (lactic acid, Ethanol)들을 생성하여 NAD를 만들어 다른 대사의 조효소로 다시 활용

1. 외래 유전자를 효모에 유전공학적으로 도입하여 목질계 Cellulose를 분해하는 형질전환 효모를 구성하려고 한다. 외래 Cellulase 유전자를 클로닝하여 효모 에서 발현하는 벡터를 만들었고, 재조합 효모내에서 잘 발현되고 있음을 발현 확인과 활성 측정으로 확인하였다. 하지만, 재조합 효모를 전처리로 얻어진 Cellulose 기질로 적용 하였을 때 가지고 있는 Cellulose 가수분해 활성에 비해 잘 성장하지 못하였다. 이유는 무엇인가? Cellulose 분해하기 위해 추가적으로 재조합 효모 개발에 필요한 것은 무엇인가?

해답

기질이 되는 Cellulose는 효모가 Uptake 하지 못한다.

발현된 외래Cellulase가 배지로 분비 또는 세포 표면 배열 등 세포외에 활성이 나타날수 있도록 cellulase 발현을 설계해야 한다.

2. Cellobiose 분해 활성을 가진 효모를 가지고 Cellobiose(5g/L) 와 Glucose (5g/L) 기질을 대상으로 발효하고자 한다. 시간에 따른 Cellobiose 분해 곡선, 효모의 성장 곡선, 그리고 에탄올 생산 곡선을 그림으로 그려라

해답

(Glucose 소비 속도가 Cellobiose 소비 속도 보다 빨라 마치 Diauxic 패턴의 기질 감소가 보이며, 효모 성장, 성장에 따른 에탄올 생산 (Glucose 및 Cellobiose 소비에 따른 3-4g/L 수준의 증가)

3. Xylose 분해하는 효모를 사용할 때 두가지 재조합 효모 개발이 가능하다. 한가지는 (1) Xylose Reductase (Xylose->Xylitol)와 Xylitol Dehydrogenase (Xylitol->Xylose)기능을 가진 형질전환 효모 또 다른 한가지는 (2) Xylose Isomerase (Xylose->Xylulose) 기능을 가진 형질전환 효모이다.

-생성된 Xylulose가 인산화를 거칠 경우 처리되는 대사회로계 이름은 무엇이며 대사회로에 함께 참여하는 대사물질은 무엇인가? (Pentose phosphate pathway, Ribose-5-phosphate)

-두번째 경우가 첫번째 보다 대사공학적으로 유리한 점을 서술하시오. (Xylose isomerase기능은 조효소인 NADH와 NADPH 등 사용을 하지 않아 효모내 조효소 balance에 대한 부담이 적다.)