

제 목	장내미생물로부터 황산전이효소 생산균의 분리
연구자	김 동현 김 병택 현 성혜 김 형수
소 속	경희대학교 약학대학
내 용	<p>원 쥐에서 sulfotransferase 양성균주를 검색한 결과 호기성 조건보다는 혐기성 조건의 균이 많은것으로 나타났다. 이러한 결과는 장내미생물의 대부분이 혐기성 균이라는 것과는 일치하는 것이다. 검색용 배지에서 형광을 나타내는 Sulfotransferase를 생산하는 4개 균주에서 가장 활성이 높은 k-36균주에 대하여 동정하였다. K-36 균주는 혐기적 및 호기적 양조건에서 잘 자라는 통성혐기성 균이고, Gas를 생산하며 포자를 생성하지 않는 Gram음성의 간균이었다. 이것으로 보아 이균은 Enterobacteriacease의 Klebsiella oxytoca 로 동정했다. K-36에서 분리한 Sulfotransferase의 반응양식은 p-nitrophenylsulfate와 p-nitrophenol이 반응시간과 함께 동량씩 감소하여 반응 생성물인 phenylsulfate와 p-nitrophenol을 생성시켰으며 sulfatase반응은 진행되지않았다.</p> <p>Sulfotransferase의 정제는 K-36균을 LB배지에서 배양하여 집균한후 초음파처리하여 파괴한 것을 조효소액으로하여 65% (NH4)2SO4 분획, DEAE-cellulose column chromatography, chromatofocusing column chromatography, Sephacryl S-300 superfine column chromatography 순으로 정제하여 homogeneous enzyme을 분리 정제하였다. (Specific activity 8.82 umol/min/mg protein).</p> <p>이효소의 공여체기질은 phenylsulfate ester 였으며 수용체기질은 phenol성 수산기를 갖는 화합물이였고 1-naphthol이 가장 우수했고 p-chlorophenol, phenol, tyrosine순이었다. 분자량은 gel filtration에 의해 16만 dalton였고 SDS-PAGE에 의해 73 KD였다. 최적 pH는 10부근 등전점은 5.3 였다.</p>