

E313

Purification and Characterization of a Laccase from *Coprinus congregatus*

최 영옥*, 최 형태
강원대학교 자연과학대학 미생물학과,
서울대학교 분자미생물학 연구센터

Coprinus congregatus Fries dikaryon (cc 13 * cc 16)을 효소 유도배지 (pH 4.2 YpSs)에서 24시간 배양한 후, 배양액으로 분비된 laccase를 ethanol precipitation, sepharose CL-6B chromatography, sephadex G-75 chromatography, PAGE elution 과정을 통해서 순수분리 하였다. 순수분리된 laccase는 gel-filtration chromatography와 SDS-PAGE를 통해 분자량이 62,400 dalton인 monomer로 확인 되었고, 45% 당을 함유하고 있었다. Laccase에 대한 Km과 Vm값은 tolidine의 경우 0.36(mM), 0.0078(O.D./min)이었고, syringaldazine의 경우 각각 0.01(mM), 0.047(O.D./min)이었다. Laccase activity의 optimum temperature는 20℃, optimum pH는 4.5였으며, 열 안정성과 pH 안정성에 대한 실험도 수행하였다. 순수분리된 laccase를 mouse에 면역시킨후 ELISA assay를 통해 antibody 생성을 확인하였다.

E314

Streptomyces IMSNU-1의 기균사에서 분리된 catalase- peroxidase 의 특성

임양인*, 윤홍덕, 강사육, 하영철
서울대학교 자연과학대학 미생물학과

관악산에서 분리 동정된 *Streptomyces* IMSNU-1은 Bennet배지에서 배양했을 때 분화를 거치면서 서로 다른 catalases를 생성한다. 분화도중 기균사에서 생성된 catalase-peroxidase를 DEAE-Sephadex, Superose 12 prep grade, DEAE-5PW, Prep-Electrophoresis를 거쳐 순수 분리하였다. 젤투과크로마토그래피상에서 본 이 효소의 분자량은 대략 200KDa정도이었고, SDS-PAGE에서는 84KDa에 해당하는 한 종류의 단백질띠만이 관찰된 것으로 미루어 기질균사에서 이전에 분리된 catalase-peroxidase와 같이 2개의 동일한 subunit로 구성된 것으로 보인다. Catalase와 peroxidase활성을 함께 가지는 이 효소는 O-dianisidine, ascorbate, pyrogallol, guaiacol등을 peroxidase의 기질로 이용하며, catalase활성과 peroxidase활성에 대한 최적 pH는 각각 pH6.0, pH5.5이고, 최적 온도는 30℃, 40℃이었다. 한편 이 효소의 pI값은 4.8이며, ethanol/chloroform을 처리하면 활성이 없어지나, 3-amino-1,2,4-triazole의 처리에는 안정하다. 이 효소는 403nm부근에서 Soret peak를 가지는 전형적인 heme spectrum을 보이며, KCN에 의해 low spin상태로 전환되면서 red-shift된다.