

제 목	Haemophilus K-12균주로부터 황산전이효소의 분리정제
연구자	김동현 김병택 이남수
소 속	경희대학교 약학대학
내 용	<p>생취의 장내세균으로 부터 황산전이 반응을 촉매하는 효소인 sulfotransferase를 생산하는 균주를 분리하였으며 동정결과 <i>Haemophilus</i>속 균주로 확인되어 <i>Haemophilus K-12</i>라 명명하였다. 균의 성장과 효소활성과의 관계를 보면 균은 10시간에서 완전히 성장하였으며 효소활성도 이와 비례하였다. <i>Haemophilus K-12</i>의 배지조성에 따른 sulfotransferase의 생산성을 Brain Heart Infusion 배지에서 생산성과 비교해보면 탄소원으로는 sucrose가 0.2%농도에서 584%로 가장 좋았으며 질소원으로는 yeast extract가 266%로 가장 좋았다. 공여체로 PNS를 최종농도 1mM로 하여 배지에 첨가하였을때 212%로 가장 높은 효소증가를 보였다. 2가금속이온에 의한 효소증가는 현저하지 않았으며 Mn^{2+}이 107%로 가장 높았고 Zn^{2+}와 EDTA에 의해서는 저해를 받았다. 이상의 결과를 종합하여 균배양을 위한 이상적인 배지조성을 sucrose 0.2%, yeast extract 1%, Na_2HPO_4 0.25%, NaCl 0.5%로 결정하였다. 결정된 최적배지에 균을 10L 배양하여 초음파 처리, 원심분리한 것을 70 % ammonium sulfate fractionation, DEAE-cellulose column chromatography를 2회, Hydroxyapatite column chromatography, chromatofocusing column chromatography, Silica PAE column chromatography, Sephacryl S-300 superfine column chromatography를 행한결과 specific activity가 $6.76 \mu\text{moie}/\text{min}/\text{mg}$ protein인 효소액을 얻었으며 homogeneous enzyme였다. 이렇게 해서 얻은 효소를 이용하여 수용체 기질 특이성을 측정한 결과 1-naphthol이 phenol을 100%로 하였을 때 233%로 가장 좋았으며 <i>Eubacterium A-44</i> sulfotransferase의 좋은 기질이었던 p-acetaminophenol, tyramine, 9-phenanthrol은 좋은 기질이 되지 못했다. 이상의 결과로 미루어 보아 <i>Haemophilus K-12</i> sulfotransferase는 지금까지 보고된 bacterial sulfotrasferase와는 다른 효소로 사려되며 효소반응기전의 규명이 이루어지면 산업적 응용이 가능할것으로 사료된다.</p>