

## Purification and Some Biochemical Properties of Glutathione S-Transferase in fatbody of the silkworm, *Bombyx mori*

조일제, 이희삼<sup>1)</sup>, 이평재<sup>2)</sup>, 문제유

서울대 농생대 생물자원공학부, <sup>1)</sup>농업과학기술원 잠사곤충부,

<sup>2)</sup>경희대 동서의학대학원

Glutathione S-Transferase (GST, EC 2.4.1.18.)는 glutathione(GSH,  $\gamma$ -glu-cys-gly) cystein residue의 S atom이 nucleophilic attacking에 의해 second substrate와 conjugation reaction을 일으켜 줌으로써 second substrate에 친수성을 부가해주는 효소를 말한다. 이 효소는 일반적으로 소수성인 독성 물질에 강한 친수성을 부가하여 체내 밖으로 배출을 쉽게 해주는 해독과정의 phase II reaction을 담당하고 있는 효소로서 최근 곤충의 allelochemical의 대사에 관한 연구에 있어서도 중요할 뿐 아니라, 유전공학의 발달과 더불어 GST를 이용한 fusion system으로 외래유전자의 발현벡터 제조에 있어서도 부각을 나타내고 있는 효소이다.

누에 지방체로부터 GST를 정제하기 위하여 45-75% ammonium sulfate fractionation, GSH-agarose affinity chromatography, CM-cellulose cation exchange chromatography를 통하여 정제하였으며, 정제 후 specific activity는 10044.17unit/mg로서 조효소액에 비해 약 300배 정도 정제가 되었으며, 그 수율은 약 15.7%정도였다.

누에로부터 정제된 GST의 생화학적 특성을 알아보기 위하여, Native-PAGE를 실시한 결과, 단일밴드가 검출됨으로서 정제된 BmGST가 한종류임을 알 수 있었고, Subunit의 분자량은 대략 25.6 kDa임을 SDS-PAGE를 통하여 확인할 수 있었다. 또한 GPC결과 native 상태에서 약 42.2 kDa정도의 분자량을 가지는 것으로 보아 누에 지방체에 존재하는 GST는 dimer의 형태로 존재하고 있음을 알 수 있었다. native 상태에서 BmGST의 pI value는 약 5.5 정도로서 다른 곤충에 주로 존재하는 class I family에 속함을 알 수 있었다. Kinetic study를 통하여 누에 지방체에 존재하는 GST는  $K_m$  CDNB는 0.153mM,  $K_m$  GSH는 0.035mM정도의 값을 가졌으며, 다른 곤충에 존재하는 GST와는 다른 kinetic parameter값을 보였다. 또한 다른 곤충에서 존재하는 GST보다도 GSH에 대한 친화성이 높음을 알 수 있었다.