

Phospholipase D에 의한 비천연 인지방질의 합성:
II. 포스타티딜기 전이반응에 미치는 유기용매의 효과

*정 의 호 · **이 해 익 · 이 상 영
강원대학교 식품공학과, **생물응용학과
*강원도 보건환경연구원

Biosynthesis of Unnatural Phospholipids by Phospholipase D:
II. Effect of Organic Solvents on Transphosphatidylation

Eui-ho Chung*, Hae-ik Rhee** and Sang-young Lee
Department of Food Science & Technology and **Applied Biology & Technology,
Kangweon National University, Chuncheon 200-701
*Institute of Health and Environment, Kangweon Do, Chuncheon 200-093

ABSTRACT

This research was carried to investigate the effects of several organic solvents on the enzymatic transphosphatidylation in emulsion and two-phase solvent systems. The solvents having a similar dielectric constant with diethylether were effective for the enzyme activity. Diethylether and butylacetate were the most effective solvents, when added 12-15%(v/v) and 10-40%(v/v), respectively, for the synthesis of phosphatidylglycerol, phosphatidylethyleneglycol and phosphatidylpropyleneglycol.

In the emulsion system, the size of ovolecthin liposome was increased and the clearness of the phospholipid bilayer was reduced as increasing the diethylether concentration. In the two-phase solvent system, the rapidest reaction was obtained when water-organic solvent ratio was close to 1. The ratio of aqueous phase, however, should be lowered to 37% to gain the sole product of transphosphatidylation, without phosphatidohydrolysis.

서 론

Phospholipase D(PLD, EC 3.1.4.4)에 의한 인지방질의 가수분해 반응이나 phosphatidyl기 전이반응에 관한 효소학적 연구는 많은 연구자들에 의해서 수행되어 왔으나(1-5), 인지방질 전이 합성에 관한 생물반응 공학적 연구는 최근에 이르러 Lec 등(6)에 의하여 최초로 시도되었다. 전보에서는 양배추 PLD의 이러한 phosphatidyl기 전이 반응을 이용하여 phosphatidylglycerol(PG)과 새로운 인지방질인 phosphatidylethyleneglycol(PEG),

phosphatidylpropyleneglycol (PPG)의 합성을 시도하였다. 인지방질은 양극성 화합물이므로 물속에 분산시키면 미셀이나 리포솜의 형태로 존재하게 된다. 리포솜 형태의 기질과 효소가 반응할 때에는 기질내 분자의 상호작용, 분자의 배향 그리고 물리적 상태에 따라 반응성도 달라지게 된다(1, 7, 8). 즉 리포솜의 내부 계면의 환경 변화에 따라 PLD의 반응성도 달라지게 될 것이다. 또한 인지방질을 유기용매에 용해시킨다음 효소 용액과 반응시킬 경우에는 유기용매-수용액층간의 내부 계면에 인지방질이 일정한 배향을 갖게되며(9), 이때 유기용매의

종류, 유기 용매와 물의 분율 차이에 따라 PLD의 반응 속도는 영향을 받을 것으로 예측된다.

따라서 본 연구에서는 양배추 PLD를 사용하여 에멀전 상태 혹은 유기 용매에 용해시킨 인지방질을 기질로 하고 glycerol, ethyleneglycol, propyleneglycol을 수용체로 하는 phosphatidyl기 전이 반응을 수행하였으며 이때 유기용매가 반응 속도에 미치는 영향을 검토하여 새로운 인지방질 합성반응의 최적조건을 밝히므로서 인지방질의 공업적 전이합성에 필요한 기본적인 정보를 획득하기 위하여 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

시약 및 반응기

본 실험에 사용된 시약, 효소, 효소 활성 측정 방법, 인지방질 분석 방법 및 반응기들은 전보(10)와 동일하였다.

2상 용매계에서 반응

인지방질을 일정농도로 유기용매에 용해시켜 기질용액으로 하고 일정량의 $CaCl_2$ 와 알코올성 수용체 및 효소를 녹인 완충액을 만든 다음 이 두 용액을 혼합하여 다중 교반 장치에서 반응시켰다.

리포좀 형태의 관찰

반응액을 인 텅스텐산 나트륨으로 negative staining 하여 TEM(Carl Zeiss, EM-109)으로 관찰하였다.

결 과

에멀전계에서의 효소 활성

효소의 안정성: 양배추로부터 얻은 조효소를 동결건조하여 $-20^\circ C$ 의 냉장고에 보관한 결과 약 3개월동안 PLD 효소활성을 안정하게 유지할 수 있었다. 그러나 효소를 초산완충액 (pH 5.6)에 용해 시킨상태에서는 활성이 매우 불안정 하였다. 따라서 SDS, dithiothreitol(DTT) 혹은 glycerol등을 효소용액에 첨가하여 $0^\circ C$ 에 저장하면서 시간마다 phosphatidyl기 전이효소활성을 측정한 다음 효소활성의 반감기를 구하였다. 그결과, 50mM 초산 완충액 (pH 5.6)에 효소를 용해시켜 $0^\circ C$ 에 보존할 경우에는 17시간이 지나면 활성이 반으로 감소 되었으며, 효소용액에 0.1%의 DTT를 첨가하여도 $0^\circ C$ 에서의 반감기는 19시간에 불과하였다. 그러나 0.1% BSA나 5mM의 SDS를 첨가하면 반감기는 28-29시간으로 증가하였으며, 40%의 글리세롤을 첨가하면 효소안정성이 크게 증가하여 반감기는 35시간으로 늘어났다. 더우기 40%의 glycerol 과 5mM SDS를 첨가하면 반감기는 48시간으로 증가하였다.

유기용매의 영향: 에멀전계에서 PLD를 촉매로한 인지방질 전이반응에 있어서 용매 효과를 알아보기 위하여 phosphatidylcholine(PC)를 기질로하고 glycerol등을 수용체로 하는 반응액에 몇가지의 유기용매를 첨가하고 인지방질 전이합성 반응을 실시하였다. 이때 PC (mw: 774)는 pH 5.6 초산 완충액중에서 sonicator로 분산시킨 유화액을 사용하였다. 반응액은 pH 5.6 초산 완충액에 25 mg PC, 20% 수용체 (glycerol, ethyleneglycol, propyleneglycol) 및 40mM 칼슘이온 농도로 조정하고 총용량 1.4ml로 한 다음, 실험에 사용한 유기용매를 각각 10% (V/V) 농도로 첨가하고 즉시 0.1ml의 효소용액 (protein $5 \pm 0.3 mg/ml$)을 가하여 $37^\circ C$ 에서 10분간 반응시켰다.

Table 1. Effect of several organic solvents on the transphosphatidylation of PC to PG, PEG or PPG in the emulsion system

| Solvents | Relative activity(%) | | | Dielectric constant |
|-----------------------|----------------------|-----|-----|---------------------|
| | PG | PEG | PPG | |
| n-Hexane | 73 | 63 | 58 | 1.88 |
| CCl_4 | 85 | 78 | 81 | 2.24 |
| Isopropylether | 122 | 127 | 131 | 3.88 |
| Diethylether | 185 | 163 | 158 | 4.33 |
| Butylacetate | 155 | 148 | 140 | 5.01 |
| Ethylacetate | 93 | 58 | 45 | 6.02 |
| Pyridine | 0 | 0 | 0 | 12.40 |
| Control ^{a)} | 100 | 100 | 100 | — |

^{a)} Control, without any addition of solvent in the reaction mixture.

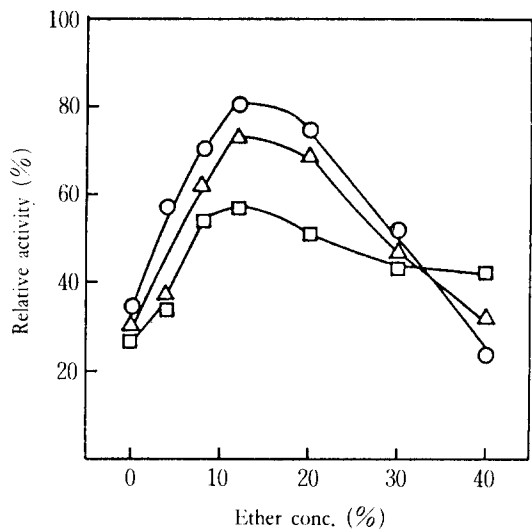


Fig. 1. Effect of diethylether concentration on enzymatic conversion of PC to PG, PEG or PPG in the emulsion system by cabbage PLD.
○, PG; △, PEG and □, PPG.

이때 전이합성된 PG량 (혹은 PEG나 PPG)을 정량하여 용매를 첨가하지 않은 대조군과의 상대적 크기를 구한 결과 Table 1과 같다. Table 1에서 보는 바와 같이 사용한 용매중 diethyl ether가 PLD에 의한 인지지방질 전이반응 활성화에 가장 큰 효과를 나타내었으며 다음은 butyl acetate, isopropyl ether의 순이었다. 한편 n-hexane과 4-염화탄소와 같은 극성이 매우 낮은 용매나 ethyl acetate와 같이 비교적 극성이 큰 용매를 첨가하면 유기용매를 첨가하지 않은 대조군 보다도 오히려 전이반응 활성이 낮았으며 pyridine을 첨가하면 전혀 활성이 나타나지 않았다. 전이반응 활성화에 효과가 큰 diethyl ether와 butylacetate를 대상으로 농도효과를 알아보았다. 즉, 동일한 반응조건 하에서 이들 용매의 농도만 달리하여 15분간 반응시킨 다음 전이합성된 인지지방질의 양을 정량하여 전이 합성율로 표시한 결과는 Fig. 1, Fig. 2와 같다.

양배추 PLD를 이용하여 인지지방질을 전이시키는 반응에 있어서 diethyl ether의 최적 농도는 12-15% 수준이었으며 PG 합성반응에서는 diethyl ether의 농도에 따라 현저한 차이가 있었으나 PPG 합성시에는 diethyl ether 농도의 영향이 비교적 적었다. 반면에 butyl acetate 첨가시에는 약 5% 수준까지는 농도증가에 따라 활성의 증가가 나타났으나 그 이상의 농도에서는 활성의 변화가

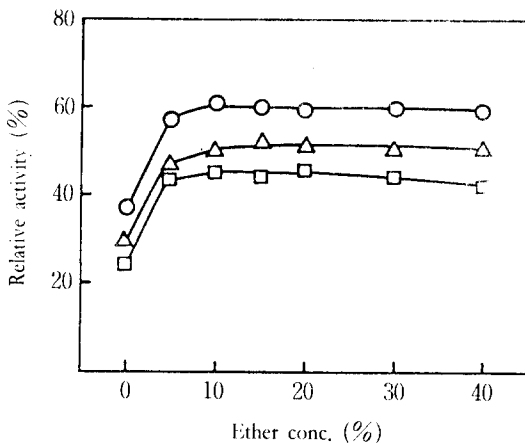


Fig. 2. Effect of butylacetate concentration on enzymatic conversion of PC to PG, PEG or PPG in the emulsion system by cabbage PLD.
○, PG; △, PEG and □, PPG.

없었다. Diethyl ether 농도를 달리하는 반응액내의 인지지방질입자의 형태적 특징을 알아보기 위하여 반응액을 전자현미경(TEM)으로 관찰하였다. Fig. 3은 반응액을 인텔그스텐산 나트륨으로 염색처리 한 다음 전자현미경으로 관찰한 사진으로 diethyl ether를 첨가하지 않은 반응액내에서는 리포솜(multilamellar vesicle)의 직경분포가 80-230nm 범위로 평균 약 130nm 이었으며 리포솜간의 경계나 지질 2분자막 사이의 경계가 명확하게 나타나 있다. 한편, diethyl ether를 15%(V/V) 첨가한 반응액에서는 리포솜의 직경이 100-300nm의 분포이었으며, 평균 직경도 약 210nm로 증대되었다. 또한 리포솜간의 경계나 지질 2분자막의 형태가 diethyl ether를 처리하지 않은 반응액에 비하여 불분명한 상태였다. Diethyl ether농도를 25%(V/V)로 높이면 리포솜이 융합되어 직경 1,000nm 정도의 거대 리포솜으로 변형된 현상을 관찰 할 수 있었다. 한편, 10% butyl acetate를 첨가한 반응액에서는 리포솜 형태의 인지지방질 입자는 관찰되지 않았다.

반응기 내에서 효소활성의 안정성: 예면전계 반응기내에 효소활성의 안정성을 알아보기 위하여 40mM Ca²⁺ 그리고 PC, diethyether 혹은 butylacetate를 함유한 초산 완충액(pH 5.6)에 효소 용액을 가한 후 37°C에서 700 rpm으로 교반하면서 일정시간마다 포스포티달기 전이활성을 측정하였다. 이때 활성 측정은 일정시간마다 glycerol 또는 glycerol과 PC를 첨가하여 10분간 반응시키고

생성된 PC량을 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 효소의 안정성은 인지지방질을 첨가한 에멀전계에서 훨씬 높았다. 즉, PC를 첨가하지 않고 상기조건에서 반응기를 운전하면 효소활성의 반감기가 30분정도 이던 것이 PC

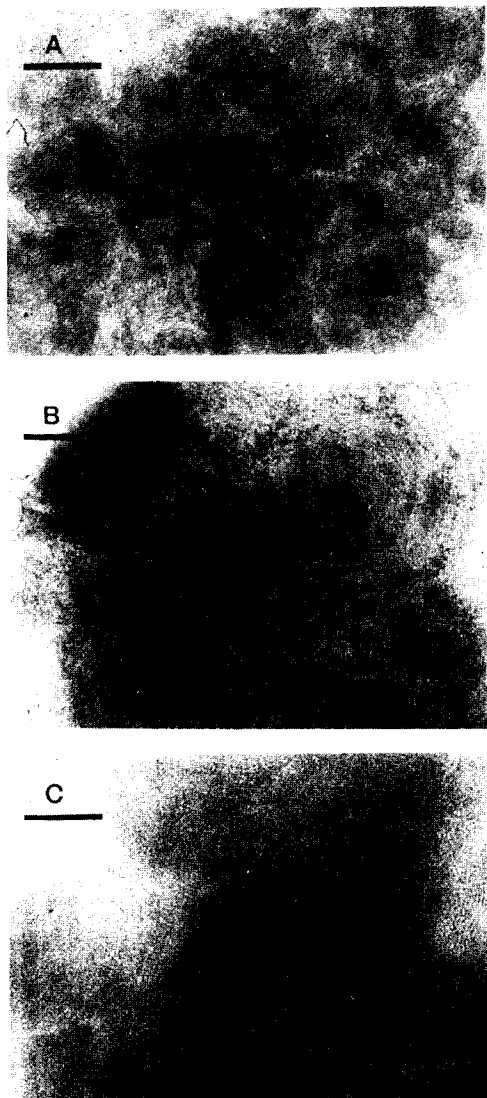


Fig. 3. Transmission electron photomicrograph of ovolecithin liposomes in the reaction mixture containing different concentration of diethylether. Bar, 100nm. A, 0%; B, 15% and C, 25%(v/v) diethylether in water.

리포솜과 12%의 에테르를 첨가한 에멀전계 반응액 중에 서는 반감기가 90분 정도로 연장되었다. 한편, PC와 diethyl ether 첨가군의 경우 활성 측정시 마다 diethyl ether를 첨가하여 ether 농도를 일정하게 유지시키면서 반응시킨 결과 그림에서 보는 바와 같이 90분후에도 활성의 약 95%를 유지하고 있으며 120분이 경과하여도 약 85% 수준의 활성을 유지하였다.

2상 용매계에서 인지지방질 합성

칼슘이온의 영향: 2상 용매계에서 양배추 PLD를 촉매 로 하는 인지지방질 전이반응에 있어서 칼슘이온의 영향을 알아보았다. 즉 glycerol 10%, 효소용액 0.1ml와 여러농도의 칼슘 이온을 함유하는 pH 5.6 초산 완충액 1.0ml (수용액층)와 20mg의 PC를 용해시킨 butylacetate(용매층)를 가하여 30℃에서 700rpm으로 교반하면서 15분간 반응시켰을때 전이효율은 Table 2와 같다. 에멀전계에서는 칼슘이온 농도가 30mM 이상이면 최대활성을 보였으나 (10) 반응액중 수용액층의 분율이 0.25인 2상용매계에서는 약 80mM이상의 칼슘이온을 첨가해야만 활성이 최고

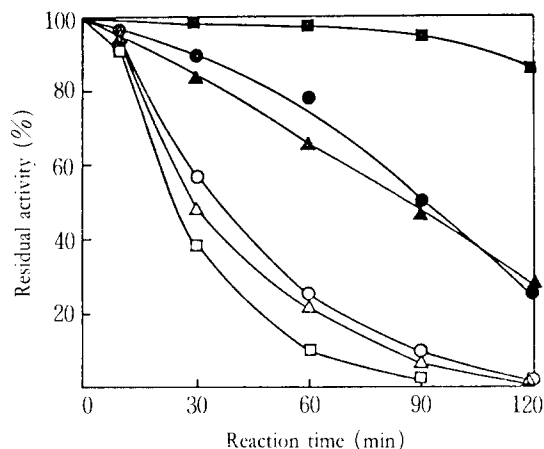


Fig. 4. Residual activity of the enzyme in the reaction mixture during the operation of multistirring bioreactor. The reaction mixture contained ●, PC and 12% diethylether; ▲, PC and 10% butylacetate; ○, 12% diethylether but not PC; △, 10% butylacetate but not PC; □, neither solvent nor PC and ■, PC and maintained constant diethylether concentration(12%) by addition of diethylether.

Table 2. Effect of Ca⁺⁺ concentration on the transphosphatidylation of PC to PG in two phase solvent system

| Ca ⁺⁺ (mM) | Conversion rate(%) | |
|-----------------------|--------------------|-----|
| | 0.25* | 0.4 |
| 0 | 0 | 0 |
| 5 | 15 | 20 |
| 10 | 42 | 57 |
| 25 | 72 | 82 |
| 50 | 85 | 95 |
| 75 | 96 | 100 |
| 100 | 100 | 100 |

* Ratio of water to reaction mixture.

에 달하였으며 수용액층이 첨하는 분율이 0.4인 경우에는 최적 칼슘이온 농도가 약 70mM 이상이였다. 즉, 용매의 분율이 높을수록 수용액층내 칼슘이온의 농도는 높은

값이 요구되었다.

칼리세롤 농도의 효과: 2상 용매계에서 칼리세롤 농도가 PG합성 반응속도 및 생성물중 PG의 선택성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수용액층내 칼리세롤의 농도를 변화시키면서 PG전이 합성율과 생성물의 선택성을 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 수용액층의 칼슘이온 농도를 80mM로 높은 것을 제외하면 반응계의 조성이나 반응조건은 칼슘이온 농도효과 실험과 동일하다. 수층의 분율이 0.25인 물-butylacetate 2상 용매계에서 반응기를 운전할때 PG합성반응의 활성은 수층내 칼리세롤 농도가 10-30% 수준에서 가장 높았으며, 칼리세롤 농도를 40% 이상으로 높이면 PG합성반응의 활성은 감소되었다. 한편, PG의 선택성에 있어서도 칼리세롤을 5%농도로만 첨가하여도 92% 이었고 칼리세롤 농도를 10% 이상으로 하면 PG의 선택성은 100%에 달하였다.

수용액층-용매층 비율의 효과: 2상 용매계에서 인지방질 전이합성 반응을 시킬 때 수용액층 및 용매층의 부피 비율에 따라 인지방질의 전이합성속도나 생성물의 선택

Table 3. Relative activity and selectivity in enzymatic transphosphatidylation of PC to PG at various concentration of glycerol in two phase solvent system

| Glycerol(%) | Conversion rate (%) | | Selectivity (%) | |
|-------------|---------------------|---------------|-----------------|----|
| | Diethylether* | Butylacetate* | PG | PA |
| 5 | 80 | 75 | 92 | 8 |
| 10 | 96 | 100 | 100 | 0 |
| 20 | 100 | 100 | 100 | 0 |
| 30 | 100 | 100 | 100 | 0 |
| 40 | 87 | 95 | 100 | 0 |
| 50 | 70 | 70 | 100 | 0 |

* Ratio of aqueous phase to reaction mixture is 0.25.

Table 4. Relative activity and selectivity of PG or PA in enzymatic transphosphatidylation of PC to PG

| Ratio of aqueous phase* | Conversion rate (%) | Selectivity(%) | |
|-------------------------|---------------------|----------------|----|
| | | PG | PA |
| 0.1 | 58 | 100 | 0 |
| 0.25 | 71 | 100 | 0 |
| 0.375 | 85 | 100 | 0 |
| 0.5 | 88 | 95 | 5 |
| 0.625 | 74 | 91 | 9 |
| 0.75 | 52 | 88 | 12 |
| 0.875 | 47 | 84 | 16 |

* Butylacetate was used as organic phase.

성에 차이가 예상된다. 따라서 수층내의 친수성물질(알코올성 수용체 20%, 칼슘이온 80mM) 농도를 일정하게 하고 효소의 첨가량도 동일하게 하였으며 용매층(butyl acetate)에 첨가한 PC 25mg을 동일하게 첨가한 다음 수용액층-용매층의 부피비율을 달리하여 30℃, 700rpm에서 20분간 PG 합성반응을 시킨 결과 PG전이 합성율과

생성물의 선택성은 Table 4와 같았다. 즉, PG 합성반응의 활성은 수용액층대 용매층의 비가 1:1일 때 가장 높았다. 한편, PG의 선택성은 수용액층의 분율이 증가될수록 감소되었으며 반대로 수용액층의 분율을 증가시키면 가수분해 산물인 PA의 선택성도 증가되었다.

교반속도의 효과: 2상 용매계내에서 반응시키면 교반속도가 반응에 미치는 영향이 클 것으로 예측된다. 따라서 모든 조건을 동일하게 하고 교반속도만을 달리하면서 반응기를 운전한 결과 교반속도가 빠를수록 반응속도는 증가한다는 사실을 실험적으로 확인하였다. 교반속도를 100rpm으로 하여 반응시키면 60분간 PG로 전이합성되는 양이 전체기질의 25% 수준이었으나 300rpm의 교반속도로 반응시키면 50%, 700rpm의 속도로 교반 시키면서 반응시키면 60분내에 약 95%가 PG로 전이되었다. 즉, 100-700rpm의 교반속도 범위내에서는 교반속도와 반응속도는 거의 직선관계를 나타내었다.

PG, PEG, PPG의 전이합성: 이상의 실험결과를 고려하여 반응속도와 생성물에 대한 선택성이 양호한 조건 즉, 수용액층은 10-20%의 수용체(20% glycerol, 10% ethyleneglycol 또는 propyleneglycol) 80mM 칼슘이온, 효소용액 0.1ml를 함유한 pH 5.6 초산 완충액 1ml로 하고, ovolcithin 62.5mg을 용해시킨 butylacetate를 용매층(분율 0.4)으로 하였다. 분획형 반응기내에서 700rpm으로 교반하면서 30℃에서 PG, PEG 그리고 PPG를 전이합성한 결과 시간에 따른 인지방질 전이 합성량의 변화는 Fig. 5, 6, 7과 같았다. 전반적으로 2상 용매계에서도

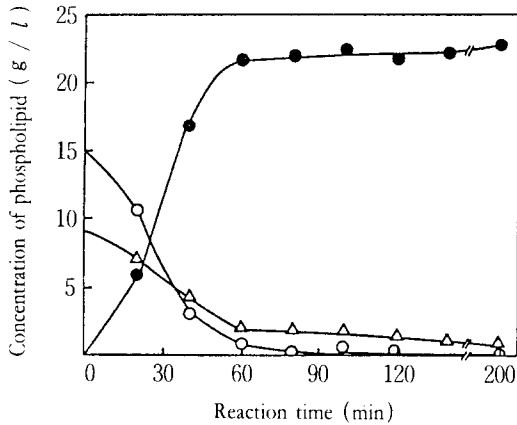


Fig. 5. Enzymatic synthesis of PG from ovolcithin in two phase solvent system. ●, Synthesized PG; ○, residual PC and △, residual PE.

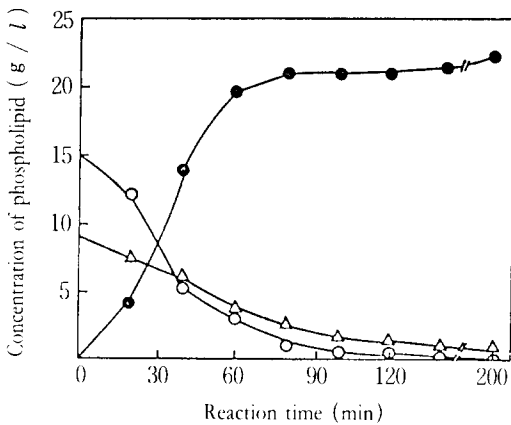


Fig. 6. Enzymatic synthesis of PEG from ovolcithin in two phase solvent system. ●, Synthesized PEG; ○, residual PC and △, residual PE.

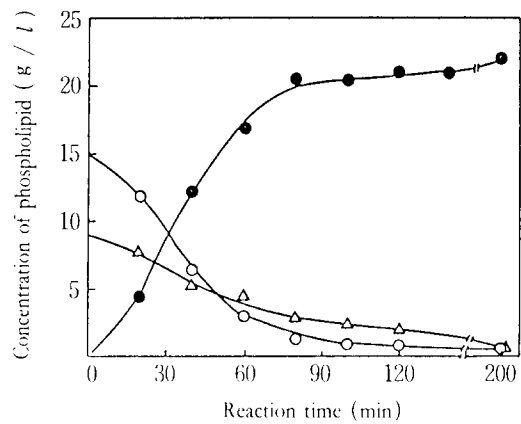


Fig. 7. Enzymatic synthesis of PPG from ovolcithin in two phase solvent system. ●, Synthesized PPG; ○, residual PC and △, residual PE.

반응시간에 따라 인지질이 전이되는 양상은 에멀전계와 유사하였으나(10) 합성속도는 낮은 경향을 보이고 있다. 즉, 30분간 반응시키면 PG는 약 10 g / l가 합성되고 PEG의 경우는 약 7.5 g / l, PPG는 약 7 g / l가 합성되었으며 60분간 반응 시키면 PG는 22 g / l, PEG는 18 g / l, PPG는 약 17 g / l가 전이합성 되었다. 한편, 기질중 PE가 PC에 비하여 PG로 전이합성되는 속도가 훨씬 늦었으며 그 경향은 에멀전계에서 반응시킬 때 보다 현저하였다. 특히 PPG 합성시에는 120분간 반응시켜도 ovolcithin중에 함유된 PE의 약 23%가 전이되지 않고 그대로 남아 있었으며 200분동안 반응시키면 약 92%의 PE가 PG로 전이합성 되었다.

고 찰

Diethyl ether와 같은 유기용매가 PLD활성을 촉진시킨다는 실험 결과는 많은 연구자에 의하여 보고 되었다(2, 5, 8, 11-13). 그러나 유기용매가 PLD활성에 기여하는 정확한 기작은 알려져 있지 않으며, 다만 반응액의 소수효과(hydrophobic effects)를 변화시켜 기질과 효소의 친화력을 증대 시킨다던가 혹은, 기질의 용해도를 증가시켜 반응성을 높인다고 추정하고 있을 뿐이다(8). 본 실험에서는 극성을 달리하는 몇몇 유기용매를 일정농도로 반응액에 첨가하여 phosphatidyl기 전이반응을 실시하고 상대적 반응속도를 측정하였다. 유기용매를 첨가하면 반응액의 소수효과를 변화시켜 PLD 반응을 활성화시킨다면 유기용매의 여러가지 물리화학적 성질중에서 유전상수가 중요한 인자가 될 것이다(14). 따라서 본 실험에 사용한 각 유기용매의 유전상수에서 diethyl ether의 유전상수를 100을 절대값으로 취하고 이를 절대값과 전이반응 속도의 상관 계수를 구하였다. 그 결과 PG합성 반응에서는 $r = -0.908$ 이었으며 PEG 및 PPG 합성반응시에는 각각 $r = -0.875$, $r = -0.954$ 로 강한 역상관을 나타내었다. 즉, 유전상수가 diethyl ether와 유사한 용매일 수록 전이반응 활성화 효과는 크다는 사실을 의미하고 있다. 본 실험 결과 (Table 1) n-hexane, 사염화탄소, ethyl acetate 및 pyridine을 첨가하면 용매를 첨가하지 않은 대조구 보다도 전이반응 활성이 낮았다. 특히, pyridine을 첨가하면 전이반응이 거의 일어나지 않았다. 한편, diethyl ether를 15% 첨가한 에멀전계 내에서는 효소의 반응성이 높아졌는데 이때 반응액의 인지방질 liposome은 유기용매를 첨가하지 않은 반응액에 비하여 직경이 약 1.5배 증대되고 인지방질막의 경계선도 불분명해지는 것을 관찰하였다. 이러한 liposome의 크기와 형태의 변화도 효소와 기질간의 상호 작용에 어떠한

기여를 할것으로 생각된다.

물-유기용매로 이루어지는 2상용매계 반응에서는 유기용매로서 휘발성이 비교적 낮은 butyl acetate를 선택하여 반응성을 검토하였다. 이 경우 총 반응액에 대한 수층의 분율은 반응성과 직접적인 관계를 갖고 있으며 수층의 분율이 50%까지는 점진적으로 반응성이 높아졌으나 수층의 분율을 50% 이상으로 하면 반응성이 감소하였다. 반면 유기용매에 대한 수층의 분율이 높아지면 효소의 가수분해 활성이 높아지므로 (Table 5) 전이 합성된 인지방질만을 얻기 위해서는 유기용매에 대한 수층의 분율을 일정 수준 이하로 하여야 한다. 즉, 물-유기용매의 2상 용매계에서 PLD를 촉매로하여 PC로 부터 PG를 합성할 경우 반응속도만 고려 한다면 수층의 분율을 50%로 하는 것이 바람직하나 PG만을 합성시키기 위해서는 수층의 분율을 37%정도로 낮추는 것이 필요함을 알 수 있었다. 2상 용매계에서는 일반적으로 PC의 가수분해 활성이 낮으므로 에멀전계에서 반응 시킬때 보다 낮은 농도의 glycerol을 첨가하여도 생성물중 PG의 선택성은 높은 경향을 보이고 있다.

요 약

Phospholipase D가 촉매하는 phosphatidyl기 전이 반응을 에멀전계와 물-유기용매 2상 용매계에서 수행하면서 유기용매의 효과를 검토하였다. 에멀전계 반응에서는 diethyl ether를 첨가하였을 때 최대 활성을 나타내었으며 첨가하는 유기용매의 유전 상수가 반응 활성에 크게 관련 함을 알았다. Diethyl ether의 첨가농도는 15% (v/v)가 가장 적정하였으며 전자 현미경으로 관찰한 결과 유기용매 첨가 농도를 증가시킬수록 리포솜의 크기가 증가되었고 인지방질 2분자막의 경계가 불분명해졌다. 2용매계의 반응에서는 수용액층과 유기용매층의 부피 비율이 동일할때 최대 활성을 나타내었으나 phosphatidyl기 전이반응 생성물만 얻기 위해서는 수층 분율을 37%(v/v)로 낮추어야 한다.

사 사

본 연구는 한국과학재단의 일반기초연구비(KOSEF 891-1511-061-1)에 의하여 연구되었으며 이에 감사합니다.

참 고 문 헌

1. R. M. C. Dawson(1967), *Biochem. J.* 102, 205

2. S. F. Yang, S. Freer and A. A. Benson(1967), *J. Biol. Chem.*, 242, 477
3. M. E. Heller and R. Arad(1970), *Biochem. Biophys. Acta.* 210, 276
4. R. Tzur and R. Shapiro(1972), *Biochim. Biophys. Acta.*, 280, 290
5. M. Saito, E. Bourgue and J. Kanfer(1974), *Arch. Biochem. Biophys.* 164, 420
6. S. Y. Lee, N. Hibi, T. Yamane and S. Shimizu (1985), *J. Ferment. Tech.*, 63, 37
7. M. E. Heller(1978), *Adv. Lipid Res.* 16, 267
8. J. S. Chen and P. G. Barton(1971), *Can. J. Biochem.*, 49, 1362
9. M. Waite (1985) Phospholipase(D. E. Vange and J. E. Vange ed.) Benjamin Cummings, New York.
10. 정의호, 이해익, 이상영(1991) 이 잡지 前報
11. F. M. Davidson and C. Long(1958), *Biochem. J.*, 6 9, 458
12. R. M. C. Dawson and N. Hemington(1967), *Biochem. J.*, 102, 76
13. M. E. Heller and A. B. Shapiro(1968), *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 50, 1395
14. C. Tanford(1973), *The Hydrophobic Effect*, A Wiley Interscience Pub., New York.

(Received; September 2, Revised; September 25,
Accepted; October 15)