

옥수수 잎의 RuBPCase 반응에 미치는 미셀들의 영향

김 의 락 · 김 현 목 · *김 현 주 · *노 광 수 · **하 영 득 · 홍 영 석

계명대학교 자연과학대학 화학과, *생물학과, **식품가공학과

Effect of Micelles on the Reaction of RuBPCase in Maize Leaf

Ui-Rak Kim, Hyun-Mook Kim, *Hyun-Ju Kim, *Kwang-Soo Roh,
** Young-Duck Ha and Young-Seuk Hong

Department of Chemistry, *Biology and **Food Science and Technology
College of Science, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

ABSTRACT

PGA is formed in a route of CO₂ fixation of RuBP catalyzed by RuBPCase, followed by reduction of the PGA by NADH to GAP. This reduction is enhanced in an anionic micellar solution(SDS), in which NADH is distributed in the aqueous and the micellar pseudophases in a given ratio. This micellar bounded NADH reacts to PGA, and in higher micellar concentration than 1.25×10^{-2} M, most of NADH is oxidized to NAD⁺ by PGA. On the other hand, in the solutions of the positive ionic(CTABr), zwitter ionic(Chaps) and nonionic(Brij and Triton X-100) micelles, the reactions are also enhanced and the concentrations of NADH reach minima with micellar concentrations. Such minima are typical of micellar catalyzed bimolecular reactions, and the fall in concentrations of the reductant followed by a gradual increase is characteristic of reactions of hydrophobic substrates: that is, the reductions of PGA by NADH are sharply enhanced in a range of the lower micellar concentrations, and NADH amounts in ca. $1.25-2.50 \times 10^{-3}$ M micellar solutions are reached to minima, followed by gradual increases of the reductant concentration.

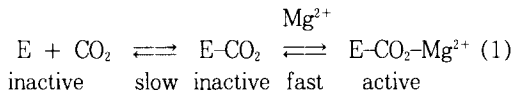
서 론

사탕수수 잎에 ¹⁴CO₂를 주입시키면 표지된 탄소원이 malic acid와 aspartic acid에서 나타난다는 사실이 발견된 이후, Hatch와 Slack(1)은 Calvin이 규명한 CO₂고정화 과정인 환원성 오탄당인산회로 외에 또 다른 CO₂ 고정화 경로인 C₄-탈탄산과정이 존재함을 밝힌 바 있다.

옥수수와 같은 C₄식물은 식물체 외부로부터 기공을 통하여 들어온 CO₂가 엽육세포 속에서 phos-

phoenol pyruvate에 고정화되어 oxaloacetate가 생성되고, 이 산물은 malate로 전환된 후, malate decarboxylase에 의하여 pyruvate와 CO₂를 생성시킨다. 유관속초세포에서는 생성된 CO₂가 2차적으로 RuBP(Ribulose-1,5-bisphosphate)에 고정화되어 phosphoglyceric acid(PGA)를 생성한다. 이 반응은 RuBPCase(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, E.C. 4.1.1.39)에 의해 촉매되는데, 이 효소는 Wildman과 Bonner(2)에 의하여 시금치 잎에서 처음으로 분리정제 되었다.

RuBPCase 자체는 불활성 상태로서 한분자의 CO_2 와 천천히 그리고 가역적으로 결합하여 효소- CO_2 복합체를 형성하고, Mg^{2+} 와 다시 반응하여, 아래 식(1)과 같이, 효소- CO_2 - Mg^{2+} 복합체를 형성함으로써 활성형이 된다.



즉, CO_2 및 Mg^{2+} 와의 반응이 불활성형 효소를 활성형으로 전환시키며, 효소 활성에 필요한 CO_2 는 효소단백질 내 lysine의 아미노기와 결합하여 carbamate를 형성한다(3, 4). 그러나 RuBPCase의 활성 증가가 carbamylation에 의한 것인지 혹은 효소의 전체 활성도가 증가하는 것인지는 확실치 않다. 다만 효소의 활성도가 가역적으로 결합된 CO_2 와 Mg^{2+} 에 의한다는 것이 가장 설득력 있는 설명으로 알려져 있다(5, 6).

효소와 같은 생체촉매는 생화학적 현상의 연구는 물론 유기합성화학분야에서도 그 활용도가 증가되고 있다. 특히 입체특이성 및 입체선택성 반응에 의한 생리활성물질의 합성에 크게 기여하고 있으며, 앞으로 더욱 발전할 수 있을 것으로 기대된다(7, 8). 그러나 유기합성에 생체 촉매를 이용할 경우 두 가지 문제에 자주 봉착하게 된다. 첫째, 수용액 속에서 탄수화물이나 단백질 합성시 이들 반응이 대부분 가역 반응이므로 생성물의 수율을 높이기 위해서 비교적 높은 온도를 유지해야 하는데 이러한 높은 온도에서는 대부분의 효소가 파괴되거나 활성을 잃는다는 점이다. 둘째, 유기합성에서는 반응에 따라 여러 가지 유기용매를 사용하게 되는데 대부분의 효소는 이들 유기용매속에서 활성을 잃게 된다는 점이다. 현재 이 두가지 문제점을 해결하려는 여러 가지 시도가 있고, 또 그중 몇 가지 분야는 큰 성과를 보고 있다.

현재까지 알려진 생리활성물질의 활성을 보존할 수 있는 중요한 몇 가지 용매계는 계면활성제(surfactant)(9), 미세유탁계(microemulsion)(10-13), 고정화법(immobilization)(14) 및 이상용매계(ideal solvent system)(15) 등이 있다. 그 중에서도 미셀계(micellar system)와 역미셀계(reverse micellar system)(9) 등의 계면활성제 용액 속에서의 생체촉매를 이용한 유기합성이 크게 발전하고 있는데, 특히 미셀(micelle)은 그들의 Stern층 속에 효소와 같은 많은 종류의 생체촉매를 녹일 수 있는데, 이곳은 기질과 촉매의 친수성기와 소수성 부분을 함께 수용

할 수 있을 뿐 아니라, 많은 경우 유기용매에 의해 저해받는 촉매의 활성이 보호받을 수 있다(3).

미셀의 형성에 대한 이론은 많은 학자들에 의해 제안되고 있으나, 현재 가장 잘 확립된 모형을 Fig. 1에 나타내었다. 여기서 볼 수 있는 바와 같이, 계면활성제분자들이 갖고 있는 소수성의 긴 탄소사슬은 물을 싫어하여 자체들끼리 모이고, 물과 친화성이 큰 이온성의 머리부분이 바깥으로 배열하는 모습을 취하게 된다. 미셀용액 속에서의 대부분의 화학반응은 주로 미셀의 Stern층 내에서나 미셀층과 물층의 경계면에서 일어난다고 보고되고 있다.

지난 수십 년간 미셀현상과 미셀용액 속에서의 화학반응을 효소반응과 유사한 모형으로 가정하여 취급함으로써 많은 진전이 있었는데, 이 가정은 다음과 같은 몇 가지 사실에 의해 증명되었다. 첫째, X-ray결정학 연구에 의해 미셀의 구조와 구상단백질의 구조 사이에는 동일성이 있음이 밝혀졌다(16). 더욱 비극성(소수성)화합물을 용해시키는데 요구되는 에너지는 물에 녹은 미셀과 구상단백질이 거의 동일하다. 둘째, urea와 guanidium salts과 같은 단백질을 변성시키는 물질은 역시 미셀도 파괴하거나 cmc(critical micellar concentration)를 높인다(17). 셋째, 미셀과 효소는 여러 가지 기질들과 결합하게 될 때, 결합상수(binding constant)의 크기의 순서가 같다(18). 넷째, 많은 점에서 미셀에 의한 촉매 반응의 kinetics는 효소촉매의 그것과 유사하며 일반

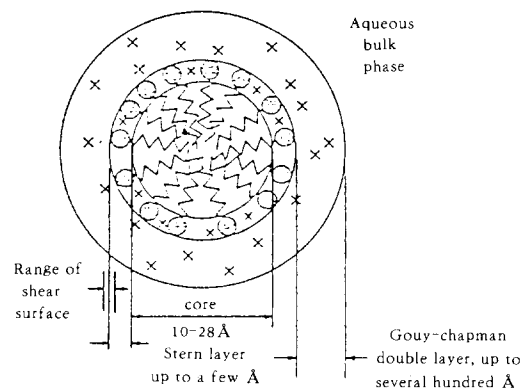


Fig. 1. A two-dimensional schematic representation of the regions of a spherical ionic micelle. The counterions(X), the head groups (⊙) and the hydrocarbon chains(∞) are schematically indicated to denote their relative locations but not their number, distribution, or configuration.

적으로 Michaelis-Menton식을 따른다. 즉, 미셀은 기질에 의해 포화되며 기질은 미셀에 의해 포화된다. 또한 미셀촉매반응에 대한 억제제의 효과는 효소촉매반응에서 관찰되는 방해작용과 같다(17). 따라서 이와 같이 두 유사한 현상계는 서로 보완적으로 연구될 수 있을 뿐 아니라 현재 계면활성제 속에서의 효소의 활성에 대한 연구에 관심이 고조되고 있으며 앞으로 크게 발전될 것으로 기대된다.

본 연구에서는 탄소동화작용의 환원성 오탄당인산 회로의 초기단계에서 CO₂가 RuBP에 고정화되는 반응에서 RuBPCase의 생리활성에 미치는 양이온성 미셀, 음이온성 미셀, 양쪽이온성 미셀, 및 비이온성 미셀의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기

모든 계면활성제는 특급시약을 정제하여 사용하였고(18), 모든 생리활성시약은 활성을 검사한 후 사용하였다. 흡광도 및 반응속도 상수의 측정에는 Beckman Du-8B UV-visible spectrophotometer를 사용하였다.

식물의 성장

옥수수(*Zea mays* L., Suwon 19)의 종자를 20% sodium hypochloride 용액에서 20분간 살균시키고, 증류수로 2~3회 세척한 후, 8시간 동안 침윤시켰다. 침윤 후 vermiculite에 파종하여, 30°C 정온하에서 발아시킨 후, growth chamber 내에서 16시간의 광주기로 광합성을 시키면서 생장시켜, 3주 자란 잎을 본 실험에 사용하였다.

RuBPCase의 분리 및 정제

Wishnick와 Lane의 방법(19)에 의해 옥수수 잎에 0.1 mM EDTA가 함유된 10 mM K₂HPO₄(pH 7.6) 완충용액을 가하고 homogenizer로 마쇄하여 여과한 후, 포화 ammonium sulfate 용액에 의한 침전과정과 Sephadex G-25, DEAE-cellulose 및 Hydroxyapatite를 사용한 chromatography과정을 거쳐 수획된 fraction들의 흡광도를 280 nm에서 측정하고, Racker(20)의 방법으로 340 nm에서 RuBPCase의 활성을 측정하여 RuBPCase를 분리 정제하였다.

계면활성제, 반응용액의 조제 및 RuBPCase의 활

성 측정

본 연구에서 사용한 계면활성제는 가장 보편적으로 사용되는 양이온(CTABr), 음이온(SDS), 및 양쪽이온성 미셀(Chaps)을 각 한 종류씩, 그리고 비이온성 미셀 두 종류(Brij 및 Triton X-100)를 선정하였다.

반응용액의 조제 및 RuBPCase의 활성은 Racker(20)의 방법을 이용하여 측정하였다. 1 M Tris-HCl 완충용액(pH 7.8) 0.45 ml, 0.006 M NADH 0.02 ml, 0.1 M GSH 0.05 ml, 0.5 M KHCO₃ 0.15 ml, 0.5% glyceraldehyde 3-P-dehydrogenase 0.05 ml, 0.025% 3-P-glycerate kinase 0.02 ml, 0.05% α -glycerophosphate dehydrogenase-triose-P-isomerase 0.05 ml, 0.025 M ribulose diphosphate 0.02 ml, 0.2 M ATP 0.06 ml, 0.5 M MgCl₂ 0.02 ml로서 반응용액을 조제하였으며, RuBPCase의 활성 측정을 위해 위의 혼합용액에 실험에 따라 증류수와 미셀용액을 0.05 ml 가하였으며, 분리정제된 RuBPCase용액 0.06 ml를 주입하여 1 ml의 측정용액으로 하였다. 주입 즉시 spectrophotometer를 이용하여 RuBP가 PGA를 형성하고 이것이 glyceraldehyde 3-phosphate(GAP)를 형성할 때 산화하는 NADH양을 340 nm에서 측정하였다. 모든 실험은 30±0.2°C에서 실시하였다.

결과 및 고찰

RuBPCase의 분리 및 정제

포화 ammonium sulfate 용액에 의한 침전과정과 Sephadex G-25, DEAE-cellulose 및 Hydroxyapatite column을 통해 용출된 fraction들의 흡광도를 280 nm에서 측정한 결과, Fig. 2에서 보는 바와 같이, 24번 fraction에서 최대의 peak를 나타냈으며, 또한 각 fraction을 사용하여 340 nm에서 RuBPCase의 활성을 측정한 결과도 24번 fraction이 가장 높은 활성을 나타내었다. 따라서 두 측정치가 한 fraction에서 일치함을 보여, RuBPCase의 분리 및 정제가 잘 되었음을 알 수 있었다.

반응에 미치는 계면활성제의 영향

미셀용액들의 특성과 PGA 및 NADH 분자의 성질을 고려하여 두 가지 가정을 설정하였다. 첫째, PGA는 물에 완전히 용해되나 미셀용액 속에서는 물층과 미셀층 사이에 평형을 유지하면서 분포되어 있으며, 미셀의 종류에 따라 평형의 위치가 다르다.

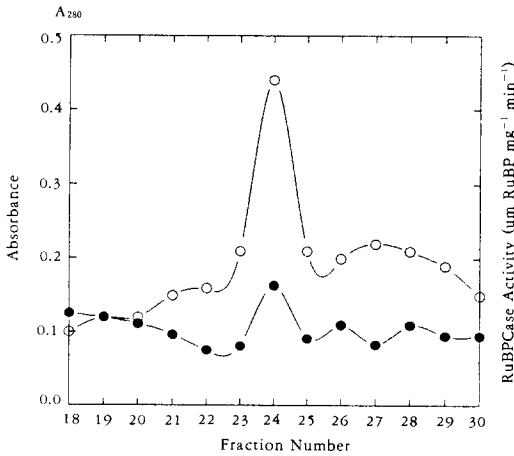


Fig. 2. Isolation of RuBPCase from maize leaves. Elution profile of RuBPCase from hydroxyapatite column(○). RuBPCase activity was determined spectrophotometrically at 340nm(●).

둘째, NADH는 본 실험에 사용한 농도범위에서는 물에 일부만 용해되고 일부는 불용인 상태로 존재하며, 이 분자의 소수성 때문에 미셀과 비교적 큰 친화력을 갖고 있어서 미셀의 Stern층이나 물과의 계면에 쉽게 용해될 수 있다.

미셀을 포함하고 있지 않는 반응용액에서의 NADH의 흡광도를 측정하여 0.28을 얻었다. 이 값을 blank로 하여 미셀용액 속의 모든 반응에서 얻은 NADH의 흡광도를 이 값과 비교 고찰하였다. 이 일련의 반응은 미셀의 종류에 따라 차이가 있으나, 수용액에서의 반응보다 일정한 농도범위의 미셀용액에서 훨씬 촉진된다. Fig. 4, 5 및 6에서 볼 수 있는 바와 같이, $1.25 \sim 2.50 \times 10^{-3}$ M micelle용액 속에서의 흡광도값이 0.04~0.11의 범위임을 고려할 때, 미셀용액 속에서 이 반응이 훨씬 많이 진척됨을 알 수 있다.

일반적으로 효소활성에 대한 계면활성제의 영향은 SDS나 sodium bis-2-ethylhexyl succinate(AOT)와 같은 음이온 미셀은 단백질과의 강한 상호작용으로 말미암아 대부분의 단백질을 불활성화시키는 것으로 알려져 있다(21-24). 한편, 양이온 미셀인 cetyltrimethylammonium halide(CTAX)와 같은 4차 암모늄염은 단백질의 활성을 최소화하고, 유기용매 속에서는 단백질(효소)과 적당히 상호작용함

으로써 불활성화를 감소시킨다. 그리고 Brij, Triton 및 Tween 계통의 비이온성 계면활성제는 효소를 안정화시키거나 더욱 활성화시킨다고 보고되고 있다(21-24). 그러나 주목할 사실은 음이온 미셀인 SDS가 본 실험에 사용된 네 가지 효소(RuBPCase, glyceraldehyde 3-P-dehydrogenase, 3-P-glycerate kinase 및 α -glycerophosphate dehydrogenase-triose-P-isomerase)를 불활성화시킨다는 증거를 전혀 찾을 수 없었다.

계면활성제의 종류와 농도에 따른 반응성의 변화

미셀용액 속에서의 화학반응은 Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이 일반적으로 물 및 미셀유사층(aqueous and micellar pseudophases)의 두 영역에서 일어나게 된다(25-30). 이때 Dn은 미셀화된 계면활성제의 농도이며, Sw 및 SDn은 각각 물층에 녹아 있는 기질과 미셀에 결합되어 있는 기질의 농도이다. 그리고 Ks는 기질의 미셀과의 결합상수로서 $Ks = SDn / Sw \times Dn$ 으로 나타낼 수 있으며, 이는 두 층 사이의 기질의 분포계수(distribution coefficient)와 관계가 있다.

또한 Rw 및 Rm은 각각 물 및 미셀층에 녹아 있는 반응물의 농도, kw 및 km은 각각 물층과 미셀층에서의 1차 속도상수, 그리고 I 및 II는 각각 두 층에서 일어나는 반응과정을 나타내고 있다. 본 연구에서는 미셀 유사층에서의 반응과정 II에 주된 관심을 갖고 있다.

(1) 음이온성 미셀의 영향

음이온성 미셀인 SDS의 농도를 변화시켜 가면서 RuBPCase에 의한 RuBP의 탄소고정화반응에 의해 생성되는 PGA를 NADH로 환원시키고 미반응의 NADH의 흡광도를 측정하여 Fig. 4에 나타내었다. 여기서 볼 수 있는 바와 같이, 미셀의 농도가 증가함

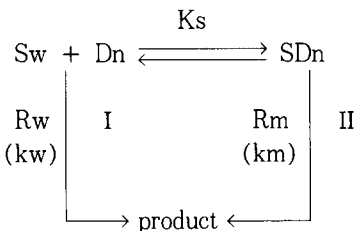


Fig. 3. A scheme of the chemical reaction in micellar solution.

에 따라 흡광도가 급격히 감소한다. 이것은 음이온 미셀인 SDS용액 속에 일정한 비율로 분포되어 있는 NADH가 물 유사층과 미셀 유사층의 경계면에 분포되어 있는 음이온성의 기질인 PGA와 해당분의 반응을 하기 때문인 것으로 판단된다(25, 29, 31). 예컨대, 2×10^{-3} M SDS용액 속에서의 흡광도값은 수용액 속에서의 값의 약 18% (0.05/0.28)에 지나지 않고, 높은 농도의 미셀용액 (1.5×10^{-2} M 이상)에서는 거의 모든 NADH가 산화된다.

(2) 양이온 및 양쪽이온성 미셀의 영향

양이온 미셀인 CTABr과 양쪽이온성 미셀인 Chaps의 농도에 따른 이 반응에서의 NADH의 흡광도를 Fig. 5에 나타내었다. 이들 반응은 미셀의 농도가 증가함에 따라 흡광도 값이 급격히 감소하여 2.50×10^{-3} M 부근에서 최소값을 나타내다가, 서서히 증가하여 극대값을 보이고, 이어 다시 서서히 감소하고 있다. 미셀농도 증가에 따라 흡광도값이 초기에 급격히 감소하는 것은 미셀층에 분배되어 들어가는 NADH의 양이 상대적으로 증가하여 주로 미셀 Stern층에 존재하는 PGA와 반응할 수 있기 때문인 것으로 생각된다. 예컨대, 2.50×10^{-3} M의 CTABr용액에서는 수용액 속에서의 NADH 흡광도의 약 36% (0.10/0.28), 그리고 Chaps는 약 11% (0.03/0.28)에 지나지 않는다. 또한 미셀의 농도가 2.50×10^{-3} M 부근에서 흡광도값이 최소가 되는데 이 점이 이들 반응의 최적 조건이 된다. 다만,

CTABr 및 Chaps용액 속에서는 NADH의 소수성과 PGA분자의 강한 음이온성때문에 반응이 주로 양이온성이 강한 Stern층 내에서 일어날 것으로 판단된다. 즉 이러한 현상은 음이온 미셀인 SDS용액 속에서는 관측되지 않는데, 그것은 SDS의 Stern층은 강한 음이온성 환경으로서 음이온인 PGA가 그 속으로 침투해 들어가지 못하기 때문에 SDS 미셀 속에서의 반응은 주로 물층과 미셀층의 계면에서 일어나기 때문이다.

한편 미셀농도가 더 증가하면 (2.50×10^{-3} M 이상) 다시 반응성이 감소되는데 (흡광도의 극대점까지) 이것은 반응물질들을 포함하고 있지 않는 빈 미셀이나 반응물질 중 어느 하나만이 점령한 미셀들의 수가 늘어나게 되고, 이로 말미암아 PGA 나 NADH가 빈 미셀속으로 따로 안주한다는 추리가 가능하다. 그 결과 미셀의 농도가 2.50×10^{-3} M 이상이 되면 반응이 감소하게 된다. 이 반응은 미셀 수용액 속에서의 친수성 친핵체들이 소수성 기질과 두 분자반응을 할 때와 유사하여, 식(2) 및 (3)을 따르기 때문인 것으로 판단된다(29, 31-33).

$$k^{\#} = (k_w + k_m K_s D_n) / (1 + K_s D_n) \quad (2)$$

$$P_{tot} = (P_w + P_m K_s D_n) / (1 + K_s D_n) \quad (3)$$

여기서 $k^{\#}$ 는 유사 1차 속도상수 (sec^{-1}), k_w 및 k_m 은 각각 물층과 미세 의사층에서의 유사 1차 속

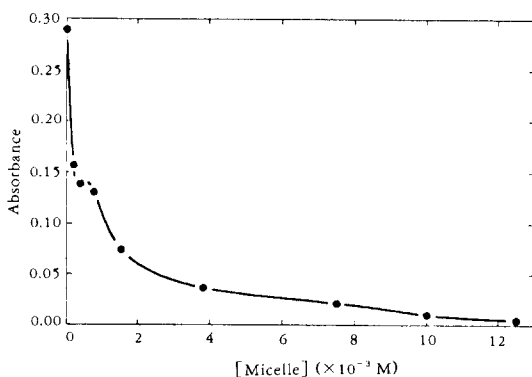


Fig. 4. SDS micellar effect upon the reaction of RuBP mediated by RuBPCase, which was determined by measurement of NADH absorbance at 340 nm in tris-buffer solution. The absorbance of NADH without the reactants was 0.68.

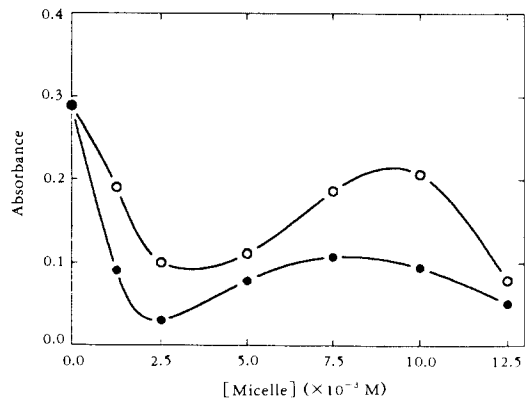


Fig. 5. CTABr (\circ) and Chaps (\bullet) micellar effect upon the reactions of RuBP mediated by RuBPCase, which was determined by measurement of NADH absorbance at 340 nm in tris-buffer solution. The absorbance of NADH without the reactants was 0.68.

도상수이며, P_{tot} , P_w 및 P_m 은 각각 전 반응의 생성물과 물 및 미셀에서의 생성물의 양이다($P_{tot} = P_w + P_m$). 그리고 K_s 는 미셀과 기질의 결합상수(Fig. 3)이다. 이때 D_{tot} 는 미셀의 전농도, D_n 은 미셀화된 계면활성제의 농도($D_{tot} - cmc$)이다.

또한 흡광도가 극대점에서 다시 서서히 감소(반응의 완만한 증가)하는 현상은 CTABr을 비롯한 여러 종류의 미셀이 고농도의 여러 기질의 영향때문에 회집(aggregation)되어 미셀의 절대수가 줄어들기 때문인 것(미셀당 계면활성제 단량체수의 증가)으로 생각된다(29, 31, 32).

(3) 비이온성 미셀의 영향

비이온성 미셀인 Brij 및 Triton X-100용액 속에서의 반응의 농도에 따른 NADH의 흡광도를 Fig. 6에 나타내었다. CTABr 및 Chaps와 마찬가지로, 미셀의 농도가 증가함에 따라 '흡광도의 급격한 감소(반응성의 증가)→최소→완만한 증가(반응성의 감소)→최대→완만한 감소'의 경향을 보이고 있다. 다만 흡광도의 최소점이 Triton X-100은 1.25×10^{-3} M 부근에서, 그리고 Brij는 2.5×10^{-3} M 부근에서 나타나고 있다. 이것은 NADH의 물층과 미셀층 사이의 분포계수의 차이때문일 것으로 생각된다. 여기서 주목할 사실은 같은 비이온성 미셀임에도 불구하고 2.5×10^{-3} M 이하의 농도에서는 Brij가 가장 큰 흡광도의 감소를, 그리고 Triton X-100가 가장 완만한 감소를 나타내고 있는데, 이것은 이들의 구조

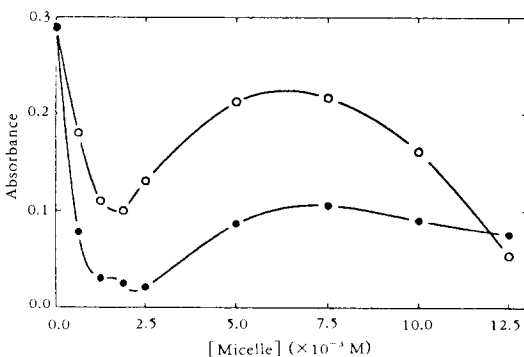


Fig. 6. Brij(●) and Triton X-100(○) micellar effect upon the reactions of RuBP mediated by RuBPCase, which was determined by measurement of NADH absorbance at 340 nm in tris-buffer solution. The absorbance of NADH without the reactants was 0.68.

상의 차이 때문일 것으로 생각된다.

요 약

RuBPCase에 의한 RuBP의 탄소고정화반응에 의해 생성된 PGA는 NADH에 의해 환원되어 GAP로 변한다는 사실은 이미 잘 알려져 있다. 이때 미반응의 NADH를 분광학적으로 측정하면 반응의 진척도를 알 수 있다. 이 환원반응은 SDS 미셀용액 속에서 촉진됨을 관찰하였다. 대부분의 단백질이 음이온성 미셀과의 강한 상호작용으로 말미암아 불활성화된다는 사실과는 달리, 이 일련의 반응은 3~4종의 효소단백질을 포함하고 있음에도 불구하고 반응에 대한 저해현상은 관찰할 수 없었고, 오히려 2×10^{-2} M의 고농도의 미셀용액 속에서는 거의 모든 NADH가 산화되었다. NADH가 물층과 미셀층 사이에 일정한 비율로 분포되어 있어서, 미셀에 결합된 NADH가 물층과 미셀층의 경계면에서 PGA와 반응하기 때문인 것으로 판단된다.

한편 양이온성(CTABr), 양쪽이온성(Chaps), 비이온성(Brij 및 Triton X-100)미셀은 그들의 농도가 증가함에 따라, 반응이 처음에는 급격히 증가하여 최대(NADH의 흡광도값 최소)에 이르나, 이후 감소(흡광도 증가)하다가 다시 서서히 증가하고, 이어서 다시 감소하는 경향을 보였다. 저농도의 미셀용액 속에서의 반응성이 비교적 급속히 증가하는 것은 미셀속에 침투되어 있는 미반응의 NADH가 Stern층에서 PGA를 환원시키기 때문인 것으로 생각된다. 이어서 반응성이 다시 완만하게 감소하는 것은 미셀용액 속에서의 소수성 기질과 친수성 반응물질의 두 분자반응의 전형적인 모형을 따르기 때문인 것으로 판단된다.

감 사

본 연구는 학술진흥재단 대학부설연구소 연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. M. D. Hatch and C. R. Slack(1970), *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **21**, 141.
2. S. G. Wildman and J. Bonner(1947), *Arch. Biochem. Biophys.*, **14**, 381.
3. G. H. Lorimer and H. M. Miziorko(1980),

- Biochemistry*, **19**, 5321.
4. G. H. Lorimer(1981), *Biochemistry*, **20**, 1236.
 5. W. A. Laing and J. T. Christeller(1976), *Biochem. J.*, **159**, 563.
 6. G. H. Lorimer, M. R. Badger and J. T. Andrews(1976), *Biochemistry*, **15**, 529.
 7. J. B. Jones(1986), *Tetrahedron*, **42**, 3351.
 8. G. M. Whiteside and C. H. Wong(1985), *Angew. Chem. Eng., Int. Ed.*, **24**, 617.
 9. K. M. Lee(1992), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **7**, 51.
 10. P. L. Luisi(1985), *Angew. Chem. Eng. Int. Ed.*, **24**, 439.
 11. K. Martinek, I. V. Bereezin, Y. L. Khmelniski, N. L. Klyachko and A. V. Levashov(1987), *Coll. Cze. Chem. Comm.*, **53**, 2589.
 12. K. Martinek, A. V. Levashov, N. L. Klyachko, Y. L. Khmelniski and I. V. Bereezin(1986), *Eur. J. Biochem.*, **155**, 453.
 13. K. Martinek, A. V. Levashov, Y. L. Khmelniski, N. L. Klyachko and I. V. Bereezin(1982), *Science*, **218**, 889.
 14. K. Mosbach(1979), *Methods in Enzymology*, **44**, Academic Press, New York.
 15. P. Cremonesi, G. Carrea, L. Ferrara and E. Antonini(1974), *Eur. J. Biochem.*, **44**, 401.
 16. H. Schott(1968), *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **45**, 823.
 17. J. H. Fendler and E. J. Fendler(1975), Academic Press, 100-101, New York.
 18. C. A. Bunton(1979), *J. Amer. Chem. Soc.*, **101**, 2429.
 19. M. Wishnick and M. D. Lane(1971), *Methods in Enzymology*, **23**, 570, Academic Press, New York.
 20. E. Racker(1962), *Method in Enzymology*, **5**, 266, Academic Press, New York.
 21. J. A. Reynolds and C. Tanford(1970), *J. Biol. Chem.*, **245**, 5101.
 22. A. Helenius and K. Simons(1975), *Biochim. Biophys. Acta*, **415**, 29.
 23. C. Tanford and J. A. Reynolds(1976), *Biochim. Biophys. Acta*, **457**, 133.
 24. A. Kumar and S. S. Kataris(1989), *Biochem. Biophys. Acta*, **996**, 1.
 25. J. H. Fendler and E. J. Fendler(1975), *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*, **87**, Academic Press, New York.
 26. C. A. Bunton, L-H. Gan, J. R. Moffatt and C. A. Bunton(1981), *J. Phys. Chem.*, **85**, 4118
 27. A. Cipicliani, P. Linda, G. Savelli and C. A. Bunton(1983), *J. Phys. Chem.*, **87**, 5262.
 28. C. A. Bunton, J. R. Moffatt and E. Rodenas (1982), *J. Amer. Chem. Soc.*, **104**, 2653.
 29. C. A. Bunton and Y. S. Hong(1981), *J. Amer. Chem. Soc.*, **103**, 5784.
 30. C. A. Bunton and A. Cuenca(1987), *J. Org. Chem.*, **52**, 901.
 31. C. A. Bunton and Y. S. Hong(1991), *J. Phys. Org. Chem.*, **4**, 618.
 32. Y. S. Hong(1989), *J. Korean Chem. Soc.*, **33**, (97).
 33. Y. S. Hong, H. H. Park and H. S. Park (1990), *J. Korean Chem. Soc.*, **34**, 629.