

*Saccharomyces cerevisiae*의 베타-1,3-글루칸 합성효소 체계의 특성

박희문* · 김정윤 · 김성욱¹ · 복성해¹

충남대학교 미생물학과, ¹KIST 유전공학연구소 생물소재그룹

Properties of β -1,3-glucan Synthase System in *Saccharomyces cerevisiae*

Hee-Moon Park*, Jeong-Yoon Kim, Sung-Uk Kim¹ and Song-Hae Bok¹

Department of Microbiology, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

¹Bioproducts R.G., Genetic Engineering Research Institute, KIST,
P.O. Box 17, Taedok Science Town, Taejeon 305-606, Korea

Abstract — Some properties of β -1,3-glucan synthase system in *Saccharomyces cerevisiae* were investigated. By extraction with detergent and salt, the membrane preparations could be dissociated into two components, one soluble, the other still membrane bound. Both components, in addition to GTP, were necessary for the activity of β -1,3-glucan synthase like other fungi. The protective effect of guanosine nucleotides on the soluble factor pointed to the possibility that this fraction contained a GTP-binding protein. Addition of increasing amounts of soluble factor to a constant amount of insoluble catalytic factor, *vice versa*, gave rise to a saturation curve. These results, including different types of evidence, indicate that the soluble factor and the catalytic factor form a complex.

진균류는 형태적으로 다양한 구조를 갖고 있으며, 이러한 구조적 특징은 세포벽 구성성분의 종류와 구성비율에 의하여 결정된다. 그런데, 세포벽 구성성분은 비교적 간단한 조성으로 이루어져 있어 형태발달 연구의 좋은 대상으로 인식되고 있다(1). 또한 진균 세포의 세포벽을 이루는 물질 중 키틴과 베타글루칸 등의 다당류는 진균에 특이적으로 존재하는 세포구성물질로 이들의 합성이 저해될 경우 진균의 성장을 선택적으로 방해할 수 있어 신규항생물질(또는 생성 미생물) 탐색의 좋은 대상으로 인식되고 있다. 특히 키틴은 진균류와 곤충류를 제외한 생물체에서는 발견되지 아니하며, 베타글루칸도 동물에서는 발견되지 않는 것들이 대부분이므로, 이들의 합성을 저해하는 물질은 고등동물체에 대해 독성이 없는 항진균제로 사용될 수 있다(2).

균류의 세포벽은 다당류 또는 당단백 형태로 존재하는 탄수화물이 주된 구성성분이며, 세포벽 건조중량의 약 절반 가량은 포도당이 베타-1,3-와 베타-1,6-결합으로 연결되어 있는 두 종류의 베타-글루칸으로 구성되어 있고, 이들 중 부분적으로 베타-1,6-결합의

가지(branch)를 가지고 있는 베타-1,3-글루칸이 주종을 이룬다(3). 특히 세포벽을 순수분리 정제한 β -1,3-glucanase로 처리하면, 키틴으로 구성된 bud scar를 제외한 세포벽 구조가 완전히 분해되는 것으로 보아, 베타-1,3-결합은 세포구조를 결정하는데 결정적인 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다(4). 따라서, 베타-1,3-글루칸 합성체계에 대한 연구를 수행하면, 세포벽 구조의 결정과정과 형태발달에 대한 규명이 가능할 것이다.

베타-1,6-글루칸의 생합성과정에 대한 생화학적 연구는 전무한 실정인데 반하여, 베타-1,3-글루칸의 생합성과정에 대한 생화학적 정보는 상당히 많이 축적되어 있다. 그러나, 베타-1,3-글루칸 합성효소는 원형 질막에 결합된 단백질로 이 효소의 분리 정제를 보고한 예가 없으며, 단지 원형질막을 조효소원(crude enzyme)으로 사용하여 그 특성을 조사한 연구가 대부분이다. 지금까지 조사된 균류의 베타-1,3-글루칸 합성효소에 관한 특성을 살펴보면, 이 효소는 UDP-글루코오스를 기질로 사용하여 글루코오스를 베타-1,3-결합으로 연결시켜 주며, 특정 금속이온에 대한 요구성도 없고, zymogen 형태로 존재하지도 아니하는 것으로 알려져 있다(2, 3). 그런데 특이한 것 중의 하나는 베타-1,3-글루칸 합성효소능이 μ M 수준의 GTP

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, β -1,3-glucan synthase, GTP-binding factor

*Corresponding author

또는 GTP 유도체에 의하여 그 활성이 증가된다는 점이다(5, 6). 한편, *Neurospora crassa* 등의 진균류로부터 얻은 membrane fraction을 NaCl과 특정 detergent로 처리하면, 용액화된 분획(soluble fraction 또는 soluble factor)과 여전히 비용액 상태(insoluble fraction 또는 catalytic factor)의 두 분획으로 나뉘어지며, 용액화된 분획에는 GTP와 결합하는 단백질이 포함되어 있고, 비용액화 분획에는 UDP-글루코오스를 기질로 사용하여 베타-1,3-글루칸을 합성하는 단백질이 포함되어 있을 것으로 보고된 바 있다(7). 반면, 지금까지 각 분획이 정제된 바 없으며, 두 분획이 어떠한 기작으로 상호작용 하는지 조사된 바 없다.

따라서, 본 연구에서는 진균류의 형태분화 및 세포벽합성기작을 규명하기 위한 연구의 좋은 실험재료로 인식되고 있는 *S. cerevisiae*를 대상으로 세포벽구성성분 중 베타-1,3-글루칸의 합성에 관여하는 효소체계의 특성 중 특히 GTP-결합 단백질이 어떠한 양상으로 catalytic factor와 작용하는지를 생리학적으로 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

균주로는 *Saccharomyces cerevisiae* GS-1-36(α , SUC 2, mal, gal2, CUP1, ATCC 26108)을 사용하였다. 균주는 glycerol(20%)에 현탁하여 -70°C 에 보관하였으며, 필요 시에는 평면배지에 30°C 에서 2~3일간 배양하여 사용하였다. 완전배지로는 YEPD(yeast extract 1%, bacto peptone 2%, dextrose 2%, agar 2%)를 사용하였으며, 최소배지로는 YNB(bacto-yeast nitrogen base without amino acid 0.67%, dextrose 2%, agar 2%)를 사용하였다.

세포막 현탁액(holoenzyme)의 제조

대수기 중반의 세포를 원심분리하여 수확한 후 50 mM Tris, 1 mM EGTA [ethylene glycol-o,o'-bis(2-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraacetic acid] (pH 7.5), 1 mM 2-mercaptoethanol 용액(TGMP buffer)으로 세척하였다. 습윤중량 0.5 g 상당의 세포를 2 ml tube에 옮기고, 1 g의 glass bead(직경 0.5 mm)를 넣고 1 ml의 TGMP 완충용액(TGM buffer에 1 mM의 PMSF(phenylmethane sulfonyl fluoride)를 첨가한 용액, pH 7.5)을 가하였다. 이를 저온실에서 bead beater로 1분간 5회 처리하여 현미경으로 파쇄정도를 검사하였다. 매회 2°C 로 냉각시킨 후 bead beater 작동 시 온도가 6°C 을 넘지 아니하도록 하였다. 파쇄액을 원

심분리($4,000\times g$, 10분)하여 상등액을 모았다(8). 상등액을 $100,000\times g$ 에서 10분간 원심분리하여 침전물을 얻고, 상등액 준비에 쓰인 효모습윤중량의 두배에 해당하는 TGMP 용액을 가한 후 homogenizer로 현탁시켰다. 이를 다시 한번 초원심분리한 후 효모중량과 동일량의 TGMPG(TGMP : glycerol = 67 : 33) 용액에 재현탁하고 $20\ \mu\text{M}$ 의 GTP γ S(guanosin-5'-o-3-thiotriphosphate)를 최종농도가 $5\ \mu\text{M}/\text{ml}$ 되게 가한 후 -70°C 에서 보관하였다(7).

Soluble factor의 제조

1 ml의 holoenzyme에 GTP γ S, TNP-40(Tergitol NP-40, Sigma), NaCl의 최종농도가 각각 $20\ \mu\text{M}$, 2%, 4 M 되도록 첨가하여 4°C 에서 10분간 혼합하였다. 이를 초원심분리($100,000\times g$, 40분)하여 상등액을 얻은 후 TGMPG에 4시간 동안 투석하고, 이를 다시 초원심분리하여 상등액을 -70°C 에 보관하였다.

GTP γ S free soluble factor의 제조

10 ml의 holoenzyme에 20% NaCl 1 ml과 0.5 M potassium phosphate 10 ml을 가하여 혼합하고, 이를 초원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액을 다시 TGMP 완충용액에 4시간 동안 투석하고 이를 다시 초원심분리하여 상등액을 취하였다.

Catalytic factor의 제조

1 ml의 holoenzyme을 초원심분리한 후, 침전물을 TGM 용액에 재현탁하고 최종농도가 각각 2 M 및 1%가 되도록 NaCl과 TNP-40를 가하여 초원심분리하였다. 이렇게 얻은 침전물을 4 ml의 TGM 용액에 현탁시켰다. 다시 이를 초원심분리한 후 침전물을 얻고 이에 0.5 ml의 TGMPG 용액과 최종농도가 2.67 mM 되게 EDTA를 첨가하여 현탁한 후 30°C 에서 30분간 진탕처리하여 -70°C 에 보관하였다.

글루칸 합성효소능의 측정

반응 혼합액의 조성을 다음과 같이하여 각 효소원의 베타-1,3-글루칸 합성효소의 활성을 측정하였다. 즉, 75 mM Tris-Cl(pH 7.5), 4.3 mM KF, 8% glycerol, $1.57\ \mu\text{M}$ UDP- ^{14}C -glucose(sp. act. $318\ \mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$, NEN), 0.75% BSA, 5.3 mM UDP-glucose의 농도로 구성된 반응혼합액에, 효소원과 $20\ \mu\text{M}$ GTP γ S 및 증류수를 가하여 최종부피를 $40\ \mu\text{l}$ 로 맞춘 다음, 30°C 에서 30분간 반응시켰다. 1 ml의 10% TCA(trichloroacetic acid)를 가하여 반응을 중지시키고, glass microfibre filter(Whatman GF/C 2.4 cm)로 생성물을

모은다(8). 이 생성물을 미리 차게 해 둔 에탄올로 두 차례 세척한 후 scintillation counter로 생성물에 축적된 UDP-[¹⁴C]-glucose의 양을 측정하였다(9).

결과 및 고찰

Soluble factor의 분리 및 GTP γ S의 효과 조사

Kang과 Cabib(7)이 진균류의 베타-1,3-글루칸 합성 효소체계를 조사하기 위하여 사용하였던 방법을 적용하여 *S. cerevisiae*의 베타글루칸합성 효소체계를 조사하여 보았다. 우선 particulate membrane fraction인 holoenzyme에 고농도의 NaCl을 처리하여, nucleoside triphosphate(특히 GTP)에 의해 베타-1,3-글루칸 합성능을 증대시키는 효과를 나타내는 단백질 분획인 soluble factor를 용출시켜 보았다. 그 결과 Table 1에서 보듯이 고농도의 NaCl처리 후 얻은 상등액(soluble factor에 해당)과 나머지 membrane fraction(catalytic fraction에 해당) 모두 거의 background 수준의 극히 낮은 활성을 보여주었으나, 이들 두 fraction을 함께 섞어주면 holoenzyme의 13.9% 수준에 해당하는 활성(2,745 cpm)을 나타내었다. 특히 이들 두 fraction을 섞은 후 GTP의 유도체로 γ 위치의 인산기가 phosphatase 등의 작용에 의하여 제거되지 아니하는 GTP γ S를 첨가해 주면 효소활성이 원래에 가까운 수준, 즉, holoenzyme의 75.5%에 달하는 수준의 활성(14,901 cpm)을 나타내었다. 이러한 결과는 이미 *Neurospora crassa*를 비롯한 다른 진균류에서 관찰된 사실(7)과 일치하는 것으로, *S. cerevisiae*의 베타-1,3-글루칸 합성에는 일종의 GTP-binding protein(soluble factor)과 UDP-glucose를 기질로 하는 catalytic factor가 관여하며, 특히 GTP 및 그 유도체가 베타-1,3-글루칸 합성효소의 활성을 증진시키는데 중

Table 1. Requirements of two protein fractions and GTP γ S for β -1,3-glucan synthase activity

Reaction Mixture	Glucan Synthase Activity (cpm)
Holoenzyme	19,744
Soluble factor	243
Soluble factor+GTP γ S	898
Catalytic factor	239
Catalytic factor+GTP γ S	288
Soluble factor+Catalytic factor	2,745
Soluble factor+Catalytic factor+GTP γ S	14,901

Soluble factor was prepared in the absence of GTP γ S.

요한 역할을 한다는 사실을 확인할 수 있었다.

Soluble factor와 GTP γ S의 작용기작

이미 다른 진균류를 대상으로 고농도의 염처리에 의하여 membrane으로부터 비교적 쉽게 분리되는 soluble factor는 GTP와 결합하는 단백질임이 밝혀진 바 있으나(7), 구체적으로 soluble factor와 GTP가 어떤 기작으로 베타-1,3-글루칸 합성효소능을 증진시키는지는 밝혀져 있지 않다. 예상 가능한 작용기작을 살펴보면 다음과 같다. 첫째 soluble factor가 GTP와 반응하여 새로운 종류의 효소활성 촉진물질을 생성하거나, 둘째 soluble factor가 일종의 proteolytic enzyme으로 작용하여 불활성화된 형태인 zymogen으로 존재하는 catalytic factor를 부분적인 절단 등의 방법으로 변형시켜 활성화시키거나, 셋째 soluble factor와 catalytic factor가 *S. cerevisiae* 베타-1,3-글루칸 합성효소의 subunit이므로, 두 단백질이 supramolecular interaction에 의하여 complex를 형성할 때 완전한 효소활성을 나타낼 가능성 등이 있다. 어떠한 경우든 GTP는 필수적인 역할을 담당하는 것으로 보여지는데, 즉, 새로운 촉매제 생성을 위한 기질로 사용되거나, protease로 작용할 soluble factor를 활성화시키는 allosteric effector로 작용하거나, 또는 soluble factor와 catalytic factor 사이의 supramolecular interaction에 관여하는 factor 등으로 작용할 것이다. 따라서, 이상의 가능성을 검증해 보기 위한 일련의 실험을 행하였다.

GTP γ S에 의한 soluble factor 활성의 안정화

이미 Table 1에서 보았던 결과와 일치하는 것으로 Table 2에서 보듯이 GTP γ S는 soluble factor의 활성 유지에 절대적으로 요구된다. 즉, 반응혼합액에 GTP γ S를 첨가하면 soluble factor에 의한 효소활성의 증진현상이 나타나며, 반응에 사용할 soluble factor를 GTP γ S와 우선 반응시킨 후 사용하면 반응혼합액에

Table 2. Protection of soluble factor activity by GTP γ S

Preincubation with GTP γ S	Addition of GTP γ S in Assay Mixture	Glucan Synthase Activity (cpm)
-	-	1,344
-	+	4,459
+	-	5,373

Soluble factor was prepared without GTP γ S.

Preincubation was performed for 10 min at 30°C.

Table 3. Effect of trypsin treatment of soluble factor on glucan synthase activity

Soluble factor	GTP γ S	Trypsin	Trypsin inhibitor	CPM
+	+	+	-	174
+	+	+	+	774
+	-	+	+	429
+	+	-	+	6,469
+	+	-	-	7,147
+	-	-	-	2,338

Reaction was performed for 20 min at 30°C.

Trypsin was treated for 10 min at 30°C.

GTP γ S를 첨가하지 아니하더라도 베타-1,3-글루칸 합성효소능은 증진된다. 따라서, GTP γ S에 의하여 soluble factor가 안정화됨을 알 수 있다.

Soluble factor와 GTP γ S의 반응에 의한 새로운 촉진물질의 생성

Soluble factor가 GTP γ S에 작용하여 새로운 종류의 저분자량의 물질을 생성하고 이 물질이 catalytic factor를 활성화시킬 가능성 여부를 조사하기 위하여, 다음과 같은 두 가지의 실험을 행하여 보았다.

우선 soluble factor와 GTP γ S를 일정시간 반응시켜 새로운 저분자량의 비단백질성 물질이 생성되게 하고, trypsin을 처리하여 soluble factor를 불활성화시켰다. 그런 다음 trypsin이 catalytic factor에 작용하지 못하도록 trypsin inhibitor를 처리하였다. 이상과 같은 처리과정을 거친 반응액에 catalytic factor와 기질인 UDP-glucose 및 베타-1,3-글루칸 합성효소 측정용 반응혼합성분을 첨가하여 효소활성을 측정하였다. 그 결과 Table 3에서 보듯이 어떤 경우든 trypsin 처리에 의하여 베타-1,3-글루칸 합성효소능이 현저히 감소되는 양상을 나타내었다. 따라서, soluble factor는 GTP γ S에 작용하여 새로운 종류의 촉진물질을 만들어 내지는 아니하며, soluble factor 그 자체가 베타-1,3-글루칸 합성효소능에 필수적으로 요구되는 것으로 추정되었다. 그러나 이 경우 soluble factor와 GTP γ S의 반응 결과 저분자량의 단백질성 물질이 새로운 촉진물질로 만들어졌으나, 이 물질이 trypsin에 의하여 불활성화되었을 가능성을 완전히 배제하지는 못한다. 이러한 가능성을 배제하기 위하여 Table 4의 실험을 행하였다. 즉, soluble factor를 GTP γ S와 전반응시킨 후, 전반응 결과 생성되었을지도 모르는 저분자량의 단백질성 물질을 ultrafiltration membrane으로 여과하고 이 여과액을 catalytic factor와

Table 4. Reconstitution experiment to test the occurrence of stimulator from the preincubation of soluble factor with GTP γ S

Soluble factor	Filtrate	GTP γ S	Glucan Synthase Activity (cpm)
-	Prep 1	-	282
-	Prep 2	-	214
-	Prep 2	+	406
+	Prep 3	-	10,200
+	-	-	3,443
+	-	+	10,671

Prep 1: The soluble factor prepared without GTP γ S was preincubated with GTP γ S for 20 min at 30°C.

Prep 2: The soluble factor prepared without GTP γ S was preincubated without GTP γ S for 20 min at 30°C.

Prep 3: GTP γ S was preincubated without any soluble factor for 20 min at 30°C.

After preincubation, the mixture was filtered through Centricon 10 and the filtrate was added into reaction mixture for the assay of glucan synthase activity.

함께 반응혼합액에 첨가하여 베타-1,3-글루칸합성능을 조사하였다. 그 결과 GTP γ S과 함께(Prep 1) 또는 GTP γ S 없이 반응시킨(Prep 2) soluble factor의 여과액은 베타-1,3-글루칸 효소능의 증진효과를 보이지 아니하였다. 따라서 soluble factor와 GTP γ S의 반응에 의하여 새로운 촉매 물질이 만들어지지 아니하며, soluble factor 자신이 다른 soluble factor molecule에 작용하여 저분자량의 단백질성물질을 생성할 가능성도 없는 것으로 판정되었다. 따라서, Table 2, 3, 4의 결과로부터 베타-1,3-글루칸 합성을 위해서는 soluble factor와 catalytic factor 분자 간의 supramolecular interaction이 필수적이며, GTP γ S가 soluble factor의 안정성 유지에 중요한 역할을 담당함을 알 수 있었다.

부분적 가수분해에 의한 catalytic factor의 활성화 변화

앞서의 실험들로부터 soluble factor가 catalytic factor에 직접 작용할 것이란 결과들을 얻었다. 그렇다면 inactive 한 zymogen으로 존재하는 catalytic factor에 soluble factor가 proteolytic enzyme으로 작용하여 catalytic factor를 활성화시킬 가능성은 없는가를 확인하기 위하여, catalytic factor와 soluble factor를 전반응시킨 후, 이 전반응액을 효소원으로 사용하여 베타-1,3-글루칸 합성능을 조사하였다. 만일 이 가정이 옳다면, catalytic factor와 soluble factor를 전반응시킨 경우의 효소활성이 그렇지 아니한 경우보다 높아야 할 것이다. Table 5의 결과는 catalytic

Table 5. Effect of preincubation of catalytic factor and soluble factor mixture without substrate on β -1,3-glucan synthase assay

Catalytic factor	Soluble factor	GTPyS in preincubation	Preincubation	GTPyS in assay	Activity
+	+	+	+	-	2,474
+	+	+	-	-	4,082
+	-	+	+	-	398
+	+	-	+	-	575
+	+	-	-	-	648
+	-	-	+	-	250
+	+	-	+	+	1,599
+	+	-	-	+	5,051
+	-	-	+	+	303
-	+	-	-	+	182
-	+	-	-	-	172

factor와 soluble factor를 전반응시킨 경우의 효소활성이 2474 cpm으로, catalytic factor와 soluble factor를 전반응시키지 아니한 경우의 효소활성(4082 cpm)보다 약 40% 감소한 결과를 나타내었다. 따라서, catalytic factor는 zymogen으로 존재하지 아니하며 soluble factor 또한 proteolytic activity가 없는 것으로 추정된다. 한편, zymogen으로 존재하는 chitin synthase와는 달리 진균류의 β -1,3-glucan synthase는 zymogen으로 존재하지 아니한다는 기존의 보고와도 일치하는 것이다.

Soluble factor와 catalytic factor 간의 complex 형성

앞서의 결과들로부터 soluble factor와 catalytic factor가 supramolecular interaction에 의한 complex를 형성할 것이라 추론이 가능하였다. 이를 확인하기 위하여 일정량의 soluble factor에 다양한 양의 catalytic factor를 첨가한 경우와 반대로 일정량의 catalytic factor에 다양한 양의 soluble factor를 가한 경우의 베타-1,3-글루칸 합성능을 조사하였다. 그 결과 Fig. 1에서 보듯이, 두 경우 모두 한 가지 factor의 양이 증가함에 따라 이에 비례하여 베타-1,3-글루칸 합성능이 지속적으로 증가하는 것이 아니라 점차 일정수준에 수렴하는 양상을 보여주었다. 이는 베타-1,3-글루칸 합성능이 한 가지 factor의 양에 따라 결정되는 것이 아니고, 두 가지 factor가 complex를 형성함에 따라 결정되는 것을 입증하는 것이다. 따라서, *S. cerevisiae*의 베타-1,3-글루칸 합성효소는 soluble factor와 catalytic factor로 구성되는 최소한 두 가지의 sub-

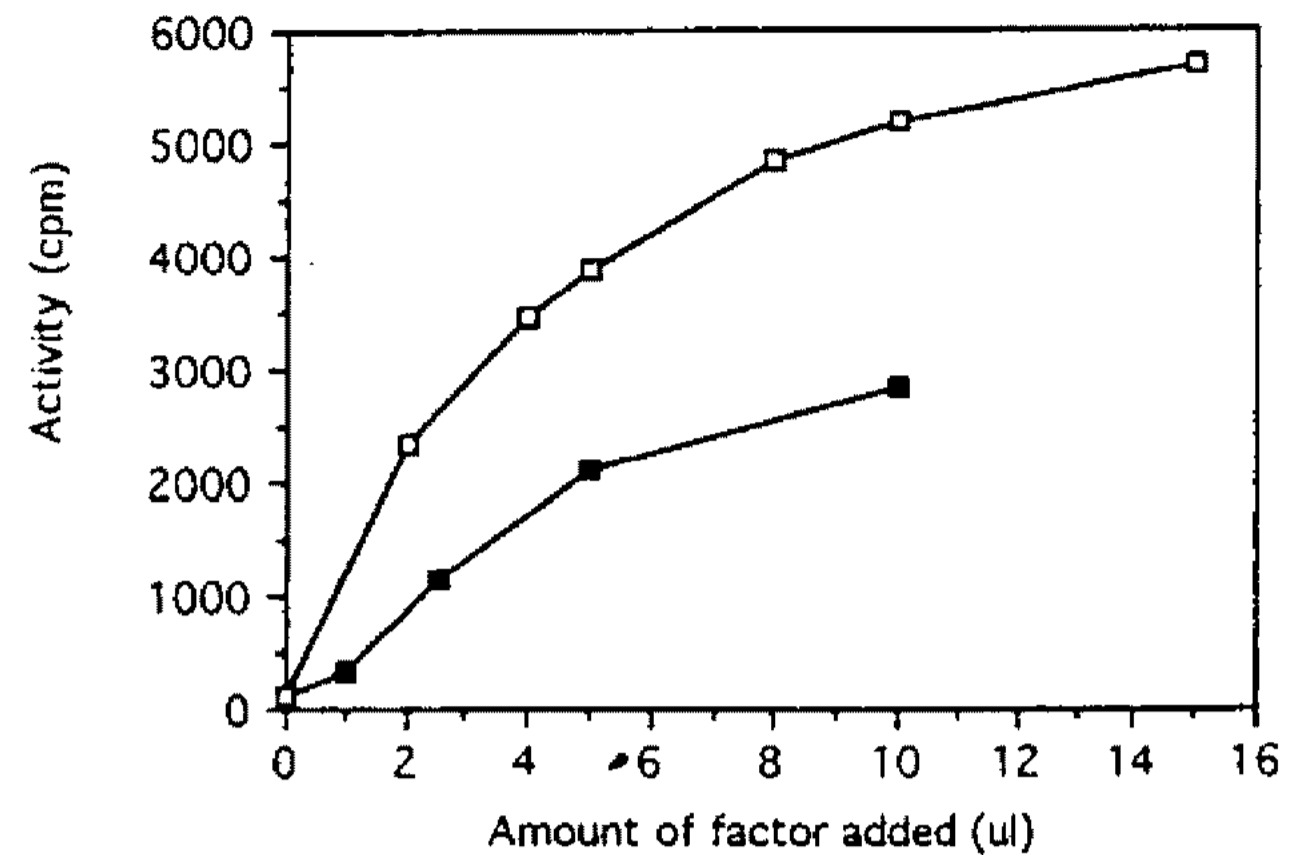


Fig. 1. Saturation of soluble factor by catalytic factor (□) and of catalytic factor by soluble factor (■). To a fixed amount of soluble factor (5 μ l) and catalytic factor (15 μ l), variable amounts of catalytic factor and soluble factor were added, respectively. β -1,3-glucan synthase activity was determined in the presence of GTPyS.

nit로 구성되어 있음을 알 수 있었다. 이러한 결론은 Song 등(10)이 베타-1,3-글루칸능이 손상된 돌연변이주를 얻어낸 후, 이들로부터 soluble factor와 catalytic factor를 각각 제조하여 야생형의 factor들과 reconstitution 실험을 행한 결과, 한 가지 factor의 결합이 결과적으로 베타-1,3-글루칸 합성효소의 결합을 나타냄을 보여준 결과로도 뒷받침되고 있다.

이상의 결과로부터, 기존에 사상균류를 중심으로 조사된 바와 동일하거나 또는 유사한 체계인 베타-1,3-글루칸 합성체계가 효모류인 *S. cerevisiae*에도 작동함을 알 수 있다. 즉, 베타-글루칸 합성에는 GTP와 반응하는 soluble factor와 UDP-글루코오스를 기질로 사용하는 catalytic factor의 최소한 두 가지 요소가 작동하며, 이 두 가지 요소간에는 단백질 수준에서의 supramolecular interaction이 이루어져야 함을 알 수 있다. 보다 자세한 가작을 규명하기 위하여서는 각 요소에 해당하는 단백질이 분리 정제되거나, 각각의 단백질을 암호화하고 있는 유전자의 클로닝 및 기능 분석이 이루어져야 할 것으로 사료된다. 그러나, 베타-1,3-글루칸 합성효소에 대한 연구가 다수의 연구자에 의하여 행해져 왔음에도 불구하고 현재까지 이들 효소의 정제에 성공한 보고가 없어 효소체계에 대한 연구가 부진한 실정이나, 다행히 최근 효모의 베타-1,3-글루칸 합성에 관계하는 것으로 보여지는 유전자의 분석(11, 12) 및 클로닝(13, 14)에 관한 연구가 이루어지고 있어, 조만간 진균류의 베타-1,3-글루칸 및 세포벽 합성기작이 분자수준에서 규명되어질 것으로 기대된다.

요 약

*Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 세포벽 구성 성분 중 베타-1,3-글루칸 합성에 관여하는 효소체계의 특성을 조사하였다. 다른 진균류에서 보고된 바와 같이 *S. cerevisiae*의 베타-1,3-글루칸 합성체계도 GTP-결합 단백질(soluble factor)과 UDP-글루코오스를 기질로 사용하는 단백질인 catalytic factor의 두 가지 요소로 구성되어 있으며, GTP 및 그 유도체에 의하여 베타-1,3-글루칸의 합성이 증진됨을 확인하였다. 특히, GTP γ S는 soluble factor를 안정화시켜 soluble factor에 의한 catalytic factor의 활성증진이 가능하게 하는 것으로 조사되었다. Soluble factor와 catalytic factor의 작용기작을 조사한 결과, soluble factor의 작용에 의해 생성된 중간산물이 관여하지도 아니하며, soluble factor가 catalytic factor를 가수분해시켜 활성화시키지도 아니하며, 두 분자가 직접적으로 상호 작용하여 복합체를 형성함으로써 베타-1,3-글루칸 합성능이 나타남을 확인하였다.

감사의 말

본 연구는 과기처 지원에 의한 "G7 생리활성 선 도물질 탐색기술 개발연구"의 일환으로 수행된 것임.

참고문헌

1. Cabib, E., B. Bowers, A. Sburlati, and S.J. Silverman. 1988. Fungal cell wall synthesis: the construction of a biological structure. *Microbiol. Sci.* **5**: 370-383.
2. Cabib, E., S.J. Silverman, J.A. Shaw, S.D. Gupta, H.M. Park, J.T. Mullins, P.C. Mol, and B. Bower. 1991. Carbohydrates as structural constituents of yeast cell wall and septum. *Pure & Appl. Chem.* **63**: 483-489.
3. Cabib, E. and R. Roberts. 1982. Synthesis of the yeast cell wall and its regulation. *Ann. Rev. Biochem.* **51**: 763-793.
4. Zlotnik, H., M.P. Fernandez, B. Bower, and E. Cabib. 1984. *Saccharomyces cerevisiae* mannoprotein from an external cell wall layer that determines wall porosity. *J. Bacteriol.* **158**: 1018-1026.
5. Shematek, E.M., J.A. Braatz, and E. Cabib. 1980. Biosynthesis of the yeast cell wall: I. Preparation and properties of β -(1,3) glucan synthetase. *J. Biol. Chem.* **255**: 888-894.
6. Notario, V., H. Kawai, and E. Cabib. 1982. Interaction between yeast β (1-3) glucan synthase and activating phosphorylated compounds. *J. Biol. Chem.* **257**: 1902-1905.
7. Kang, M.S. and E. Cabib. 1986. Regulation of fungal cell wall growth: a guanidine nucleotide-binding, proteinaceous component required for activity of (1-3)- β -D-glucan synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **83**: 5808-5812.
8. Szaniszló, P.J., M.S. Kang, and E. Cabib. 1985. Stimulation of β -1,3-glucan synthase of various fungi by nucleoside triphosphates: Generalized regulatory mechanism for cell wall biosynthesis. *J. Bacteriol.* **161**: 1188-1194.
9. Larriba, G., M. Morales, and J. Ruiz-Herrera. 1981. Biosynthesis of β -glucan microfibrils by cell-free extracts from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.* **124**: 375-383.
10. Song, M.R., D.W. Lee, S.W. Park, K.S. Bae, and H.M. Park. 1992. Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* mutants deficient in (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan synthase. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**: 642-646.
11. Douglas, C.M., J.A. Marrinan, W. Li and M.B. Kurtz. 1994. A *Saccharomyces cerevisiae* mutant with echinocandin-resistant 1,3- β -D-glucan synthase. *J. Bacteriol.* **176**: 5686-5696.
12. Lee, D.W., S.W. Park, E.H. Jin, J.H. Chung, J. Kim, and H.M. Park. 1994. Genetic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* mutant defective in β -1,3-glucan synthase. *Kor. J. Genet.* **16**: 259-268.
13. Hong, Z., P. Mann, N.H. Brown, L.E. Tran, K.J. Shaw, R.S. Hare, and B. DiDomenico. Cloning and characterization of *KRN4*, a yeast gene involved in (1,3)- β -glucan synthesis. *Mol. Cell Biol.* **14**: 1017-1025.
14. Kasahara, S., H. Yamada, T. Mio, Y. Shiratori, C. Miyamoto, T. Yabe, T. Nakajima, E. Ichishima, and Y. Furuchi. 1994. Cloning of *Saccharomyces cerevisiae* gene whose overexpression overcomes the effects of HM-1 killer toxin, which inhibits β -glucan synthesis. *J. Bacteriol.* **176**: 1488-1499.

(Received 5 January 1995)