

## 키토잔자성나노립자고정화 5'-린산디에스테라제의 반응조건에 대한 연구

김진미, 김명숙, 라승룡

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《정보기술, 나노기술, 생물공학을 발전시켜야 새 재료, 새 에너르기, 우주기술, 핵기술과 같은 첨단과학기술분야와 기계, 금속, 채취공업, 경공업, 농업을 비롯한 응용기술분야를 획기적으로 발전시킬수 있으며 시대의 추세에 맞게 경제를 현대화, 정보화할수 있고 나라의 경제구조도 개변할수 있습니다.》(《김정일선집》증보판 제22권 21페이지)

일반적으로 효소들을 고정화하여 리용하면 효소활성을 오래동안 유지할수 있으므로 그 리용률을 높일수 있다.[3, 4]

5'-린산디에스테라제를 키토잔자성나노립자에 고정화하고 그것의 반응조건을 해명하는것은 고정화효소를 리용하는데서 나서는 가장 중요한 요구이다.

이로부터 우리는 키토잔자성나노립자에 고정화한 5'-린산디에스테라제로 RNA를 분해시키기 위한 반응조건을 해명하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

기질(RNA)은 선행방법[2]에 준하여, 키토잔자성나노립자에 고정화된 5'-린산디에스테라제는 선행방법[1]에 따라 제조하였다.

효소의 5'-린산디에스테라제활성은 선행방법[5]에 준하여 결정하였으며 기질의 분해률은 선행방법[6]에 따라 결정하였다. 실험에 리용한 시약들은 모두 분석순이었다.

### 결과 및 논의

#### 1) 효소반응에 미치는 효소량의 영향

효소량을 0~90U/mL로 변화시키면서 분해률을 검토한 결과는 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 분해률은 효소량이 증가함에 따라 선형으로 증가하다가 60U/mL 이상부터는 변화되지 않았다. 이것은 효소단백질의 농도가 일정한 한계를 벗어나면 서로 취합되어 활성중심이 은폐되거나 기질이 부족되기때문이다.

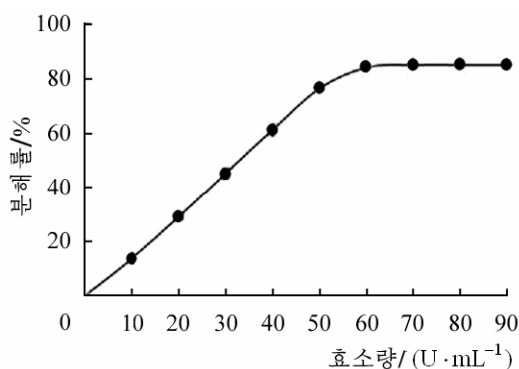


그림 1. 효소량에 따르는 분해률의 변화  
기질농도 20mg/mL, 반응온도 70℃,  
pH 5.5, 반응시간 3h

## 2) 효소반응에 미치는 반응시간의 영향

반응시간을 1~3h로 변화시키면서 분해률을 검토한 결과는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 반응시간 2h까지는 분해률이 선형적으로 증가하다가 그 이후부터는 점차 감소하였다. 그것은 일정한 한계이상으로 반응시간을 연장할 때 효소분해반응과정에 생성된 산물이 5'-린산디에스테라제에 대하여 저해작용을 하기때문이다.

## 3) 효소반응에 미치는 pH의 영향

반응액의 pH를 4.0~7.5로 변화시키면서 분해률을 측정한 결과는 그림 3과 같다.

그림 3에서 보는바와 같이 고정화후 효소반응의 최적pH는 6.0으로서 유리형 효소(최적pH 5.5)에서보다 0.5만큼 증가하였다.

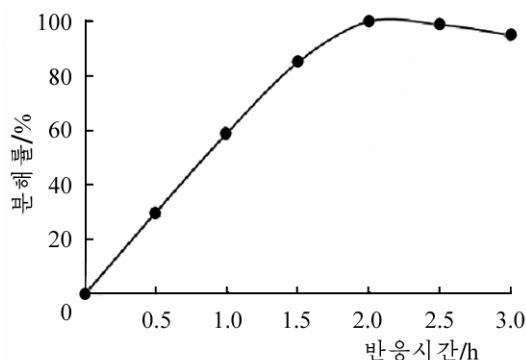


그림 2. 반응시간에 따르는 분해률의 변화  
기질농도 20mg/mL, 효소농도 60U/mL,  
반응온도 70°C, pH 5.5

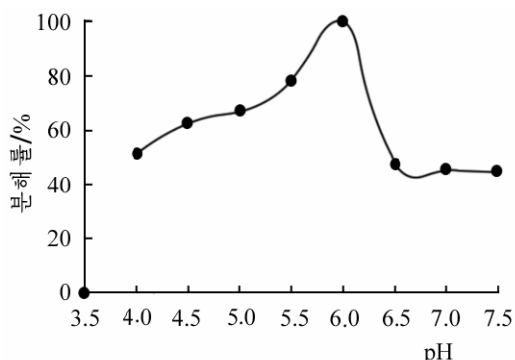


그림 3. pH에 따르는 분해률의 변화  
기질농도 20mg/mL, 효소농도 60U/mL,  
반응온도 70°C, 반응시간 2h

선행연구[4]에 의하면 페록시다제를 키토잔담체에 고정화하였을 때 유리형 효소에서의 최적pH가 5.0이던것이 고정화후에는 5.6으로서 0.6만큼 증가하였다. 유리형 효소와 고정화 효소에서 이러한 차이가 나타나는것은 키토잔의 다가양이온특성으로 설명할수 있다. 키토잔은 고정화효소의 주위로 보다 많은 히드록실기를 끌어당김으로써 효소의 미소환경에서의 pH가 반응용액상태보다 높게 해주며 결국 pH가 알카리쪽으로 이동한다. 이로부터 고정화효소는 유리형 효소보다 더 높은 pH를 요구하게 된다.

## 4) 효소반응에 미치는 반응온도의 영향

반응온도를 30~90°C로 변화시키면서 분해률을 검토한 결과는 그림 4와 같다.

그림 4에서 보는바와 같이 반응온도를 증가시키에 따라 분해률이 점차 증가하다가 유리형 효소에서는 70°C에서 분해률이 제일 높았지만 고정화효소에서는 80°C에서 제일 높았다. 이것은 고정화에 의하여 효소와 담체사이의 화학결합의 수가 증가하므로 그 결합을 끊는데 보다 많은 에너르기가 소비되기때문이다.

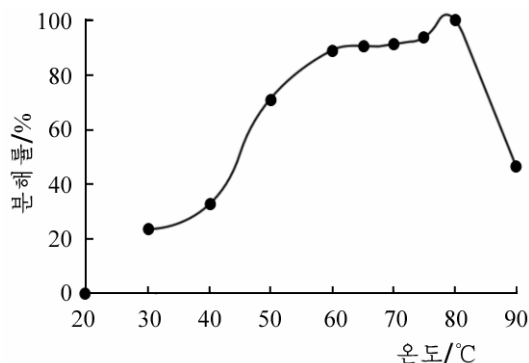


그림 4. 반응온도에 따르는 분해률의 변화  
기질농도 20mg/mL, 효소농도 60U/mL,  
pH 6.0, 반응시간 2h

## 맺 는 말

키토잔자성나노립자에 고정화한 5'-린산디에스테라제의 반응조건은 기질농도가 20mg/mL일 때 효소량 60U/mL, 반응시간 2h, 반응액의 pH 6.0, 반응온도 80°C이다.

## 참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 62, 8, 119, 주체105(2016).
- [2] 김진미 등; 생물학, 4, 26, 주체104(2015).
- [3] C. Cao et al.; Powder Technol., 260, 90, 2014.
- [4] International Conference on Nanostructures(ICNS4), 12, 806, 2012.
- [5] N. Prentice; Journal of Cereal Science, 5, 175, 1987.
- [6] 李艳 等; 食品科学, 29, 3, 204, 2008.

주체108(2019)년 7월 5일 원고접수

## **Reactive Conditions of 5'-Phosphodiesterase Fixed in Magnetic Chitosan-Nano Particles**

*Kim Jin Mi, Kim Myong Suk and Ra Sung Ryong*

The reactive condition of 5'-phosphodiesterase fixed magnetic chitosan-nano particles has been examined. These are as follows : substrate concentration is 20mg/mL, enzyme amount 60U/mL, reactive time 2h, pH 6.0 and reactive temperature 80°C.

Key words: 5'-phosphodiesterase, chitosan-nano particle, magnetic