

## 2 - 3

### TRANSKETOLASE의 생화학적 성질 및 영양학적 의의에 관한 연구

정 은희\*. 서원대학교 사범대학 가정교육과

TRANSKETOLASE(TK)는 생체내 5탄당 인산화로의 효소이며, thiamin pyrophosphate(TPP)와  $Mg^{2+}$  을 보조소로 의존하는 것으로 알려져 있다. 적혈구의 TK의 활성 및 TPP효과는  $VB_1$ 의 체내 충족상태를 반영하는 것으로 알려져,  $VB_1$  영양상태의 판정과 각기, Wernicke-Korsakoff syndrome 등의 진단에 널리 이용되어져 왔다. 그러나 TK와 그 보조소와의 관계에 대해서는 구체적 연구가 충분치않고, 명확히 규명된 바가 없어 먼저 이의 생화학적인 규명을 시도하고자 사람의 혈액에서 TK를 분리, 정제하여 [ $^{35}S$ ]TPP를 이용하여 그 상호작용을 검토하였다. 정제한 TK를 pH 3.5, 60%의 황산암모늄으로 처리하여 apoTK를 조제하였으며, [ $^{35}S$ ]TPP와 여러 조건에서 반응, 결합시킨 후, YMT막에 옮겨 유리TPP를 원심여과하여 제거시키고, 2% TCA 용액으로 막위의 TK를 변성시켜 유리되어 나온 [ $^{35}S$ ]TPP를 측정하여 TPP결합능을 구하였다. ApoTK와 TPP의 결합 최적 pH는 7.5이었으며, 그 결합은  $37^{\circ}C$ , 45분까지 경시적으로 증가했으며, 이후 저하하였다. Scatchard 분석의 결과,  $K_d$ 값은  $0.2 \times 10^{-6}$ ,  $n$ 의 값은 0.66이었다. TK의 활성발현에 미치는 2가 양이온의 영향을 검토한 결과, TPP뿐 아니라  $Mg^{2+}$ 도 TK의 활성발현에 필수적이며, TSK-Gel SW 3000 column으로 분획하여 TK와  $Mg^{2+}$ 가 결합하고 있음도 확인하였다. 또한  $Mg^{2+}$  이외의 2가 양이온이 활성회복에 미치는 영향을 검토한 결과,  $Co^{2+} < Mn^{2+} < Ca^{2+} < Mg^{2+}$ 의 순서로 나타났으나,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ 는 활성회복에 영향을 미치지 못하였다. 다음으로 만성알코올의존증과  $VB_1$ 결핍이 밀접히 관련되어 있다고 알려져 있는 Wernicke-Korsakoff syndrome에서 효소단백의 이상이 관여할 것이라는 보고가 행해져 그 메카니즘을 규명하기 위한 시도를 행하였다. 이를 위해서는 TK효소활성뿐만 아니라 thiamin과 그 인산 에스테르 및 TK효소단백량과의 관계까지를 전체적으로 검토할 필요가 있으므로 TK효소단백량을 측정하는 방법으로 western blot과 avidin-biotin법을 이용하여 면역화학적으로 정량을 시도하였다. 동물실험은 흰쥐를 이용하여 알코올 투여, 비투여,  $VB_1$ 충족, 비충족의 조합으로 4군으로 나누어 10주간 사육한 후, 뇌와 간을 적출하여 그 가용성분획의 TK활성 및 효소단백량을 측정하여, 장기적 알코올 투여가 TK에 미치는 영향에 대해서 검토를 행하였다. 알코올투여군에서는  $VB_1$ 이 충분해도 뇌의 TK활성은 저하된 것으로 나타났으나, 효소단백량에서는 알코올 비투여군과의 유의적 차이는 보이지 않았다. 간의 경우는 뇌와 다른 경향을 보여, TK 효소단백량뿐 아니라 활성도 알코올에 의한 유의적 변화를 보이지 않았다. 한편, thiamin 및 그 인산에스테르를 분획 정량하였으며,  $VB_1$ 투여군에서는 알코올투여에 의한 총thiamin과 TPP의 변화를 볼 수 없었다. 따라서 알코올투여에 의해 뇌와 간의 TK효소단백량은 영향을 받지 않으나, 뇌에서의 TK효소활성은 유의적인 변화를 보여, 알코올 관련질환의 발증 메카니즘에 뇌의 TK의 변화가 관여하고 있을 가능성이 더 확실히 제시되었다.