

아미노산과 대사산물들이 *Serratia marcescens* Biodegradative Threonine Dehydratase의 생합성에 미치는 영향

최병범 · 김승수*

연세대학교 이과대학 생화학과, 생물산업소재연구센터

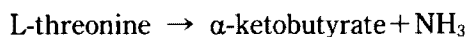
The Effects of Amino Acids and Metabolites on the Biosynthesis of Biodegradative Threonine Dehydratase in *Serratia marcescens* ATCC 25419

Byung-Bum Choi and Soung-Soo Kim*

Department of Biochemistry, College of Science and Bioproducts Research Center, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Abstract — The effects of amino acids in growth media on the biosynthesis of *Serratia marcescens* biodegradative threonine dehydratase activity were examined. The enzyme activity was decreased by 44 and 34% by 10 mM isoleucine and valine, respectively, whereas it was increased approximately by 20% by 10 mM threonine. Among several metabolites tested, pyruvate increased the enzyme activity by 60% at 5 mM, but decreased the enzyme activity approximately by 20 to 70% above 20 mM. The enzyme activity was increased by 64% by 5 mM glyoxylate, whereas it decreased the enzyme activity approximately by 40 to 70% above 20 mM glyoxylate. The thiamine, monopyrrole derivative, also increased the enzyme activity by 84% at 50 µg/ml, but did not affect the enzyme activity above 300 µg/ml. cAMP increased the enzyme activity by 58% at 0.5 mM, but decreased the enzyme activity by 15% at 2 mM. These data suggested that the biosynthesis of *Serratia marcescens* biodegradative threonine dehydratase is regulated by concentrations of pyruvate, glyoxylate and cAMP.

세균, 효모, 동물, 식물 등에서 광범위하게 발견되는 L-threonine dehydratase [L-threonine hydro-lyase (deaminating) EC 4.2.1.16]는 L-threonine deaminase라고도 하며 L-threonine dehydration을 촉매하여 α -ketobutyrate와 ammonia를 생성한다(1).



L-Threonine dehydratase는 호기성 조건에서 생성되는 biosynthetic enzyme과 혐기성 조건에서 생성되는 biodegradative (catabolite) enzyme의 두가지 형태가 있다(2). Biosynthetic enzyme의 반응생성물인 α -ketobutyrate는 isoleucine의 전구체에 해당하므로 branched chain 아미노산인 isoleucine 생합성 경로에 있어서 첫번째 반응을 촉매한다(3). 한편, biodegradative enzyme의 반응생성물인 α -ketobutyrate는 생합

성 경로보다는 분해 대사 경로를 거쳐 ATP 생성에 이용된다(4). Biosynthetic enzyme은 feedback 방식으로 L-isoleucine에 의해 억제되고 biodegradative enzyme은 AMP에 의해 allosteric activation 되고 L-isoleucine에 의해서 억제되지 않는다(1). 효소 기능면에서 효소의 조절에 관한 연구는 주로 enteric bacteria인 *Escherichia coli*와 *Salmonella typhimurium*에서 수행되었지만(5-9), *in vivo* 상에서 효소의 생합성이 어떻게 조절되는가에 대해서는 잘 알려지지 않았다. *E. coli* biodegradative threonine dehydratase는 2% tryptone과 1% yeast extract를 각각 함유한 당 없는 배지에서 혐기성 배양 조건으로 처음으로 생성되었으며(4) L-threonine과 L-serine을 각각 0.2% 씩 첨가한 polypeptone 배지에서 효소 생성이 크게 증가된다고 보고되었다(10). *E. coli*의 Crookes strain에서 18가지의 아미노산 합성 혼합(AA 18) 배지에서 threonine, serine, valine, aspartic acid, arginine, methionine 그리고 leucine 등을 각각 제거시

Key words: Biodegradative threonine dehydratase, metabolite, *Serratia marcescens*

*Corresponding author

켰을 때 효소의 생성이 크게 감소되는데(11), threonine, serine, valine 및 aspartic acid는 효소의 mRNA와 단백질 생성에 필요한 inducer 역할을 하고 따라서 이들 네 아미노산은 multivalent induction을 하는 반면 arginine, methionine 그리고 leucine은 단백질 생성에 필요한 amplifier 역할을 한다고 보고되었다(12). 한편, α -ketobutyrate는 *E. coli* 효소 생성을 repression 시키지만, pyruvate는 영향을 주지 않으며 cAMP는 전사 단계에서 작용하여 glucose가 없는 조건에서도 *E. coli* 효소 생성을 stimulation 시킨 반면, AMP와 ADP는 효소의 stabilization과 activation에 대한 effector로 작용하기 때문에 효소 생성에 영향을 주지 않는다고 보고되었다(10). *E. coli*의 Crookes strain에서 에너지 결핍 조건 하에서는 cAMP가 축적되며 cAMP의 증가는 효소 합성의 개시 신호 역할을 하여 threonine의 nonoxidative degradation에 의해 에너지를 공급한다고 보고되었다(13). 한편, *E. coli*의 K-12 strain에서는 AA 18 배지에서 cAMP의 존재하에서 효소의 비활성도를 증가시키며 fumarate 또는 threonine, serine, isoleucine, valine 등의 아미노산들을 cAMP와 함께 첨가했을 경우 비활성도가 증가한다고 보고되었다(14).

본 연구에서는 최소배지에 첨가한 아미노산과 대사산물들이 *Serratia marcescens* ATCC 25419에서 biodegradative threonine dehydratase의 생합성에 미치는 영향을 조사하고 *E. coli* K-12 strain의 효소 생합성의 결과와 비교하였다.

재료 및 방법

실험 균주

Serratia marcescens ATCC 25419는 Louisiana State University의 Braymer 교수로부터 분양받아 BHI(brain heart infusion) 사면 배지에 옮긴 다음 혐기성 조건으로 배양하였다.

시약

Potassium phosphate, AMP, dithiothreitol (DTT), phenylmethyl sulfonylfluoride (PMSF), threonine, serine, isoleucine, valine, leucine, aspartic acid, methionine, histidine, arginine, proline, citrate, succinate, fumarate, α -ketobutyrate, α -aminobutyrate, α -hydroxybutyrate, pyruvate, glyoxylate, α -ketoglutarate, cAMP, thiamine, trichloroacetic acid (TCA) 그리고 bovine serum albumin (BSA) 등은 Sigma 사 제품을 사용하였고, 2,4-dinitrophenylhydrazine

(DNPH) 등은 Hayashi 사 제품을 구입하여 사용하였다. BHI는 Difco 사, 그밖의 다른 시약은 시중에서 구입한 특급 내지 일급제품을 사용하였다.

Serratia marcescens ATCC 25419의 배양

사면 배지에 보존된 균주의 종균은 121°C, 15 lb에서 15분 동안 멸균한 BHI 배지 10 ml에 소량 접종한 다음 하룻밤 동안 배양하였다. 이 종균 모액을 최소 배지 50 ml이 들어 있는 50 ml 배양 플라스크에 1 ml씩 넣어 37°C에서 18시간 혐기성 조건으로 배양하였다. 최소 배지는 citrate를 빼고 0.5%(W/V) glucose를 가해서 변형된 Davis-Mingioli(15) 최소 배지를 사용하였다. 배지의 구성 성분은 0.5% glucose, 51 mM K_2HPO_4 , 22 mM KH_2PO_4 , 8 mM $(NH_4)_2SO_4$, 0.4 mM $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 이었다.

세포 추출물의 제조

배양물을 10,000×g로 4°C에서 15분 동안 원심분리하여 세포를 수확한 후, 수확한 세포를 2~3배의 sonication 완충용액(50 mM potassium phosphate, pH 8.0, 1 mM AMP, 1 mM DTT, 1 mM PMSF 포함)에 하룻밤 동안 현탁시켰다. 이 용액을 초음파 파쇄기를 이용하여 약 1분 동안 세포를 파쇄한 다음 다시 10,000×g로 20분 동안 원심분리하여 상층액을 취하여 효소 활성도 측정에 사용하였다.

Biodegradative threonine dehydratase의 활성도 측정

Biodegradative threonine dehydratase의 활성도는 deamination 되어 생성된 α -ketobutyrate의 양을 Friedemann과 Haugen의 방법(16)을 변형시킨 Bhadra와 Datta의 방법(6)에 따라 측정하였다. Assay tube에 100 mM potassium phosphate 완충용액(pH 8.0), 50 mM L-threonine, 10 mM L-isoleucine, 3 mM AMP와 효소 용액을 첨가하여 전체 반응액 부피를 1 ml이 되게 하여 37°C에서 15분 동안 pre-incubation 시켰다. 이 반응액에 0.2 ml의 30%(W/V) TCA 용액을 넣어 반응을 중지시킨 다음, 0.2 ml의 2 N HCl에 녹아 있는 0.02%(W/V) dinitrophenylhydrazine(DNPH) 용액을 가하여 37°C에서 5분간 반응시켜 발색시킨 후, 이 반응액에 1 ml의 2.5 N NaOH 용액을 가하고 다시 37°C에서 5분간 방치시킨 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Biodegradative threonine dehydratase의 1 unit는 37°C에서 1분간 1 μ mole의 α -ketobutyrate를 생성하는데 필요한 효소의 양으로 정의했고, 활성도 측정 조건하에서 α -ketobutyrate의 흡광 계수는 4,000

$M^{-1} \times cm^{-1}$ 이었다. 비활성도는 unit/mg protein으로 표시했다.

단백질 정량

단백질 정량은 BSA를 표준 단백질로 이용하여 Lowry 등의 방법(17)을 사용했다.

효소 활성에 미치는 여러 아미노산의 첨가

여러 아미노산들이 효소 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 최소 배지에 각각 10 mM의 branched chain 아미노산인 isoleucine, valine, leucine과 threonine, serine, lysine, histidine, arginine, methionine, aspartic acid 그리고 proline을 가한 다음 37°C에서 18시간 동안 혐기성 조건으로 배양한 후 효소 활성도를 측정하였다.

효소 활성에 미치는 여러 metabolite의 첨가

여러 metabolite들이 효소 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 최소 배지에 각각 2 mM의 citrate, succinate, fumarate, imidazole, homoserine, α -keto-butyrate, α -aminobutyrate, α -hydroxybutyrate, α -ketoglutarate, pyruvate, glyoxylate, AMP 및 cAMP를 가한 다음 37°C에서 18시간 동안 혐기성 조건으로 배양한 후 효소 활성도를 측정하였다.

효소 활성에 미치는 여러 농도의 pyruvate, glyoxylate, thiamine, cAMP의 첨가

Pyruvate, glyoxylate, thiamine 그리고 cAMP의 영향을 자세히 살펴보기 위한 실험에서 최소 배지에 여러 농도의 pyruvate(mM), glyoxylate(mM), thiamine(μ g/ml) 그리고 cAMP(mM)를 가한 다음 37°C에서 18시간 동안 혐기성 조건으로 배양한 후 효소 활성도를 측정하였다.

결과 및 고찰

여러 아미노산이 효소 활성에 미치는 영향

Serratia marcescens ATCC 25419에서 biodegradative threonine dehydratase의 생합성에 대한 아미노산의 영향을 알아보려고 branched chain 아미노산 (isoleucine, valine, leucine)들과 threonine, serine, lysine, histidine, aspartic acid, methionine, arginine 그리고 proline 등을 사용하였다. Threonine은 isoleucine 생합성의 전구체이며 대사 분해물질인 α -ketobutyrate 또한 isoleucine의 생합성에 사용된다. Serine의 대사 분해물질인 pyruvate는 valine 생합성의

Table 1. The effects of various amino acids in growth media on the specific activity of biodegradative threonine dehydratase.

Experiments were carried out in modified Davis-Mingioli medium supplemented with each of amino acids.

| Addition to minimal medium (mM) | Specific activity of threonine dehydratase (units/mg) $\times 10^{-3}$ | Relative activity (%) |
|---------------------------------|--|-----------------------|
| None | 2.6 \pm 0.3 | 100 |
| Isoleucine(10) | 1.5 \pm 0.1 | 56 |
| Valine(10) | 1.7 \pm 0.2 | 66 |
| Leucine(10) | 2.4 \pm 0.4 | 94 |
| Threonine(10) | 3.0 \pm 0.3 | 118 |
| Serine(10) | 2.1 \pm 0.3 | 82 |
| Lysine(10) | 2.7 \pm 0.4 | 105 |
| Aspartic acid(10) | 2.4 \pm 0.3 | 92 |
| Methionine(10) | 2.5 \pm 0.2 | 95 |
| Histidine(10) | 2.2 \pm 0.3 | 83 |
| Arginine(10) | 1.6 \pm 0.1 | 92 |
| Proline(10) | 2.2 \pm 0.2 | 83 |

The concentration of each amino acid added to the medium was 10 mM. Values are mean \pm range of variation for three experiments.

전구체이고 histidine과 arginine은 분해되어 α -ketoglutarate를 생성하며 methionine은 homoserine을 통해 threonine을 생성하는 경로의 전구체이다. 최소 배지에 10 mM의 여러 아미노산들을 첨가한 후 세포 추출물의 biodegradative threonine dehydratase의 비활성도를 조사한 결과 Table 1에서 나타난 바와 같이 10 mM의 isoleucine과 valine은 대조군보다 효소의 비활성도를 각각 44, 34% 씩, 10 mM의 serine, histidine 그리고 proline은 비활성도를 약 20% 정도 감소시켰다. 그러나 10 mM의 threonine은 대조군보다 효소의 비활성도를 18% 정도 증가시킨 반면, 10 mM의 lysine, leucine, aspartic acid, methionine 및 arginine은 비활성도에 별 영향을 주지 못했다. Hobert와 Datta(14)는 *E. coli* K-12에서 효소의 최대 생성을 위한 최적 농도는 threonine과 serine은 높은 농도(20 mM과 50 mM), isoleucine과 valine은 낮은 농도(0.2 mM과 1 mM)라고 보고하였다. 본 실험에서 각각 10 mM의 serine, isoleucine과 valine은 비활성도를 감소시킨 반면, 10 mM의 threonine은 효소의 비활성도를 증가시키는 데, threonine은 isoleucine의 생합성 경로에서 초기 전구 물질이고 이 효소 반응의 기질이기 때문에 효소의 생성을 증가시키는 데 필요할 것으로 생각된다. *E. coli* Crookes strain의 biodegra-

dative threonine dehydratase 생합성(11, 12)은 배양 배지에서 glycerol을 탄소원으로 사용하였고 60 내지 90분의 짧은 induction 시간 등으로 *E. coli* K-12 strain의 효소 생합성(14)과 달라서 *E. coli*의 효소 생합성에서도 균주와 실험상 등의 차이로 실험 결과가 다르다는 것을 보여준다. 본 실험에서의 배양 배지는 Davis-Mingioli의 최소 배지(15)를 사용하였고, 배양 시간은 18시간이었다.

여러 metabolite이 효소 활성에 미치는 영향

Table 2에서 나타난 것처럼 조사한 대부분 metabolite은 pyruvate와 glyoxylate를 제외하고는 대조군보다 효소의 비활성도를 감소시켰다. Serine의 대사 분해물질이며 valine 생합성의 전구체인 pyruvate와 glyoxylate는 대조군보다 효소의 비활성도를 각각 17, 21% 씩 증가시킨 반면, histidine의 전구체인 imidazole, methionine의 전구체인 homoserine, threonine의 대사 분해물질이며 isoleucine 생합성의 전구체인 α -ketobutyrate, α -ketobutyrate 유도체인 α -aminobutyrate와 α -hydroxybutyrate는 비활성도를 각각 17, 18, 11, 24 그리고 19% 씩 감소시켰다. Histidine과 arginine의 대사 분해물질인 α -ketoglutarate

Table 2. The effects of several metabolites in growth media on the specific activity of biodegradative threonine dehydratase.

Experiments were carried out in modified Davis-Mingioli medium supplemented with each metabolite.

| Addition to minimal medium (mM) | Specific activity of threonine dehydratase (units/mg) $\times 10^{-3}$ | Relative activity (%) |
|---------------------------------|--|-----------------------|
| None | 2.6 \pm 0.3 | 100 |
| Imidazole(2) | 2.2 \pm 0.2 | 83 |
| Homoserine(2) | 2.1 \pm 0.3 | 82 |
| α -Ketoglutarate(2) | 1.8 \pm 0.3 | 69 |
| α -Ketobutyrate(2) | 2.3 \pm 0.3 | 89 |
| α -Aminobutyrate(2) | 2.0 \pm 0.2 | 76 |
| α -Hydroxybutyrate(2) | 2.1 \pm 0.2 | 81 |
| Pyruvate(2) | 3.0 \pm 0.3 | 117 |
| Glyoxylate(2) | 3.1 \pm 0.2 | 121 |
| AMP(2) | 2.1 \pm 0.1 | 79 |
| cAMP(2) | 2.2 \pm 0.2 | 85 |
| Citrate(2) | 2.8 \pm 0.3 | 109 |
| Succinate(2) | 2.3 \pm 0.2 | 89 |
| Fumarate(2) | 2.7 \pm 0.3 | 102 |

The concentration of each metabolite added to the medium was 2 mM. Values are mean \pm range of variation for three experiments.

및 AMP를 첨가했을 경우에는 효소의 비활성도를 대조군보다 각각 31, 21% 씩 감소시켰다. 한편, Herbert와 Datta(14)는 50 mM의 fumarate는 TYE(Tryptone Yeast-Extract) 배지와 AA 18 배지에서 *E. coli* 효소의 비활성도를 대조군보다 각각 1.7, 15배 증가시킨다고 보고하였으나, 본 실험에서 2 mM의 succinate는 효소의 비활성도를 약 10% 정도 감소시켰으며, 2 mM의 fumarate는 효소의 비활성도에 별 영향이 없었다. TYE 배지의 구성 성분은 liter 당 20 g tryptone, 5 g yeast extract, 7 g K_2HPO_4 , 3 g KH_2PO_4 , 1 g $(NH_4)_2SO_4$, 0.1 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.05 g pyridoxine HCl, 0.1 g thymine이었다(14). AA 18 배지의 구성 성분은 0.5% polypeptone, 50 mM potassium phosphate(pH 7.0), 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 50 mM threonine, 50 mM serine, 2.9 mM valine, 2.6 mM aspartic acid, 1.2 mM arginine, 0.9 mM methionine, 3.4 mM leucine, 0.3 mM tryptophan, 1.7 mM alanine, 7.5 mM glutamic acid, 1.0 mM histidine, 2.7 mM lysine, 4.4 mM proline, 1.5 mM phenylalanine, 0.15 mM cysteine, 1.3 mM glycine, 1.7 mM tyrosine, 2.3 mM isoleucine이었다(12).

여러 농도의 pyruvate, glyoxylate, thiamine, cAMP가 효소 활성에 미치는 영향

Pyruvate의 농도를 세분해서 최소 배지에 첨가했

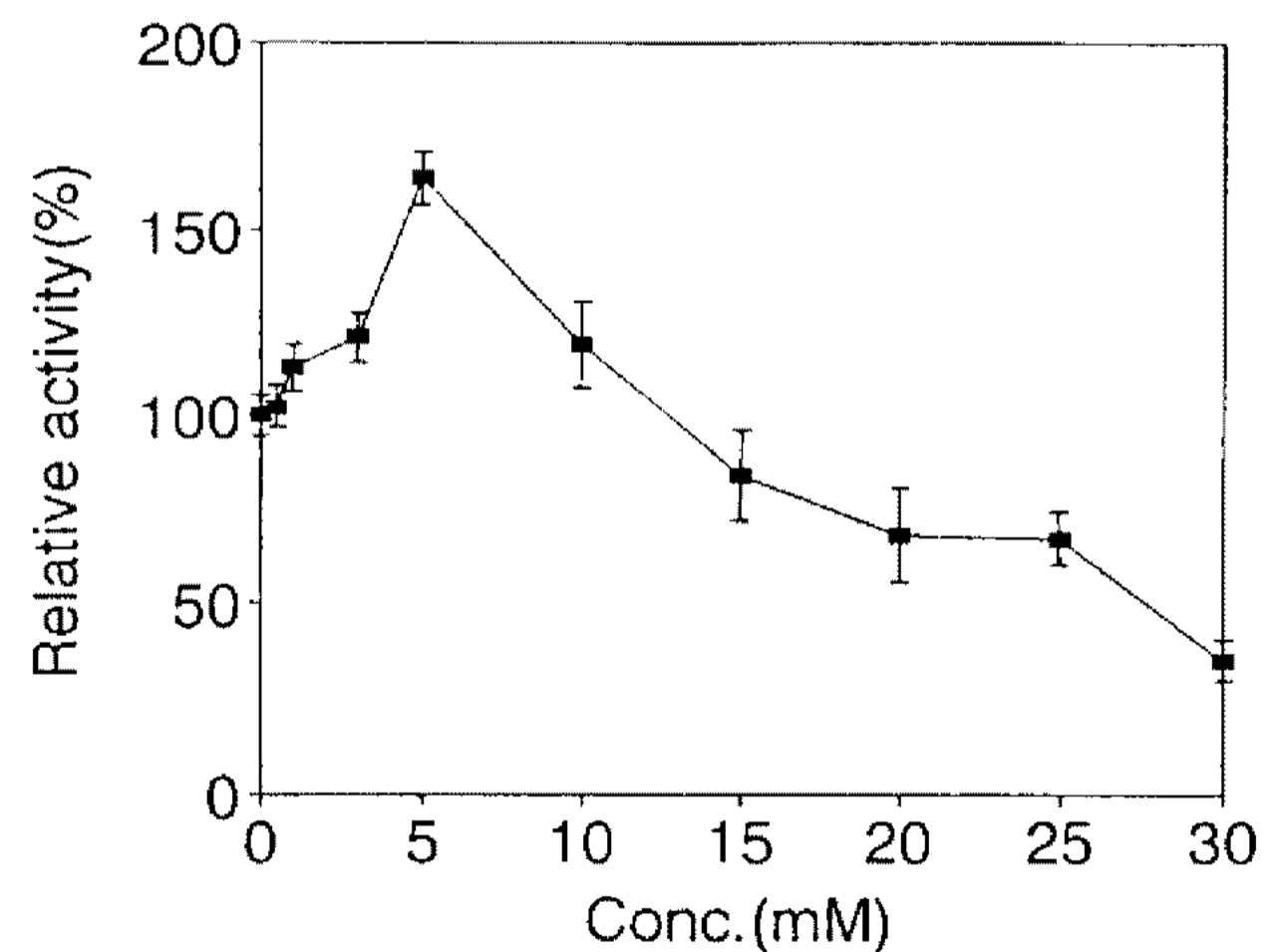


Fig. 1. Effect of varying concentrations of pyruvate in growth media on the specific activity of biodegradative threonine dehydratase.

Cells were grown anaerobically for 18 h at 37°C in modified Davis-Mingioli medium (13). Crude extracts for enzyme assay were prepared by sonication of the harvested cells as described in Materials and Methods. Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of pyruvate. Values are mean range of variation for three experiments.

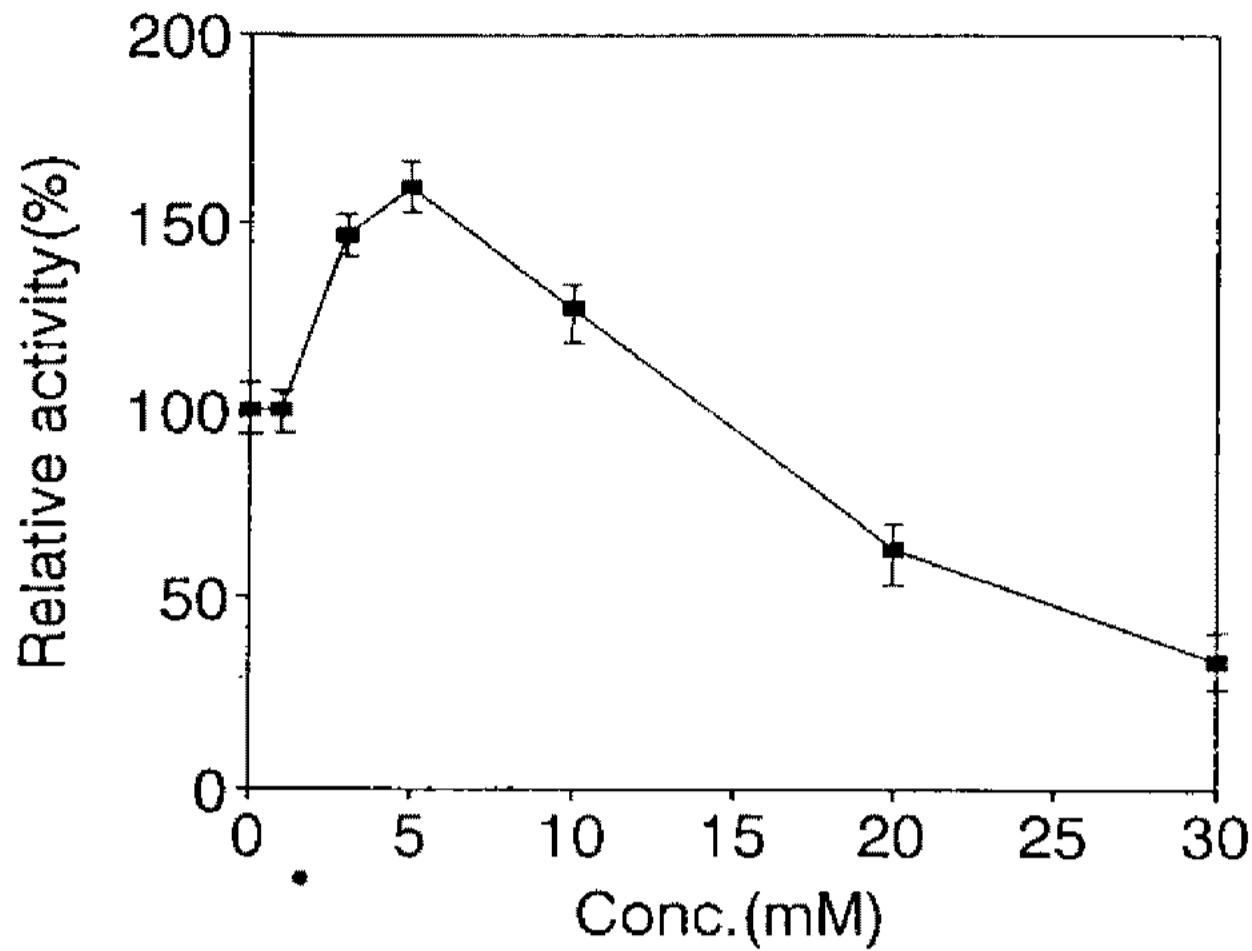


Fig. 2. Effect of varying concentrations of glyoxylate in growth media on the specific activity of biodegradative threonine dehydratase. Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of glyoxylate. Values are mean range of variation for three experiments.

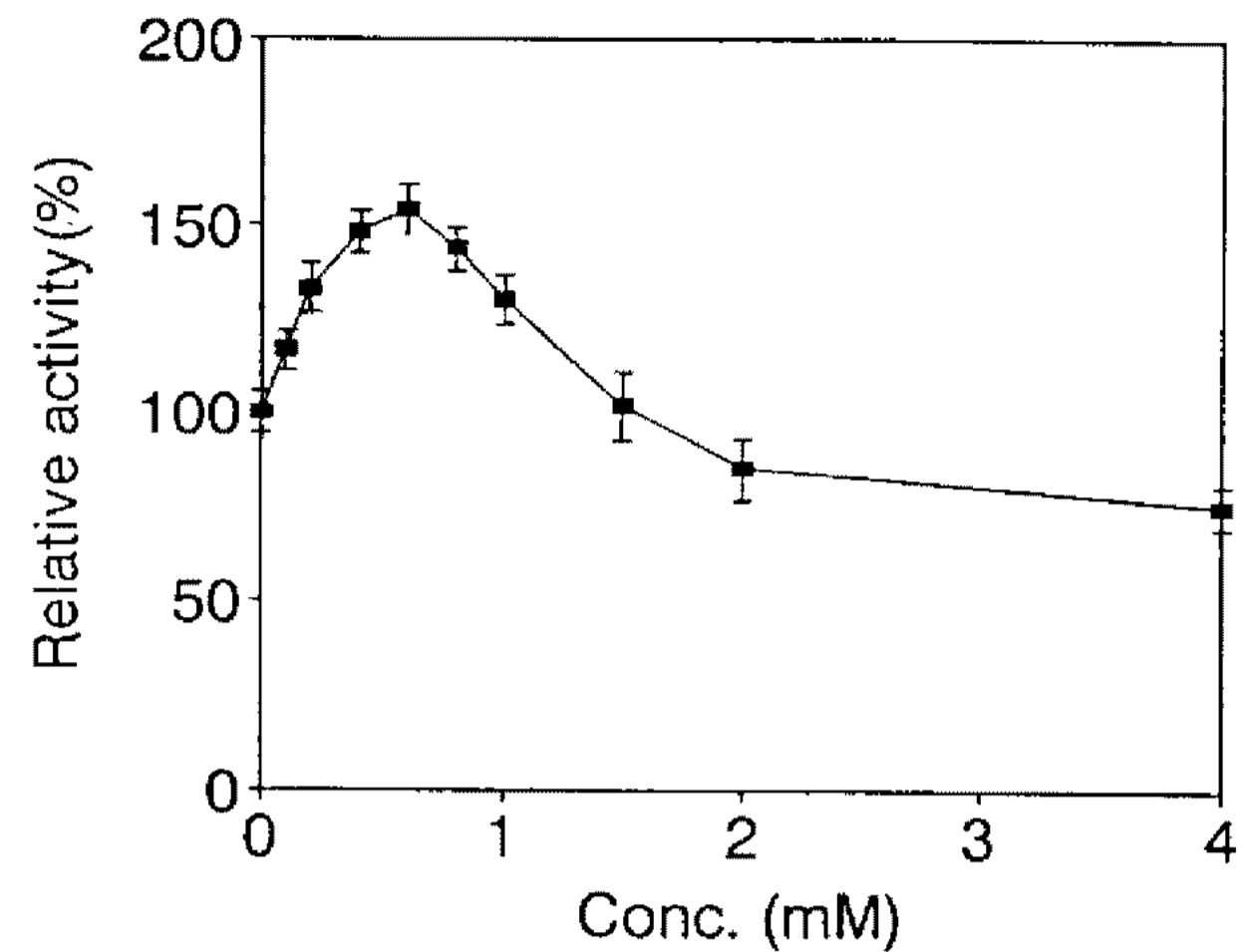


Fig. 4. Effect of varying concentrations of cAMP in growth media on the specific activity of biodegradative threonine dehydratase. Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of cAMP. Values are mean range of variation for three experiments.

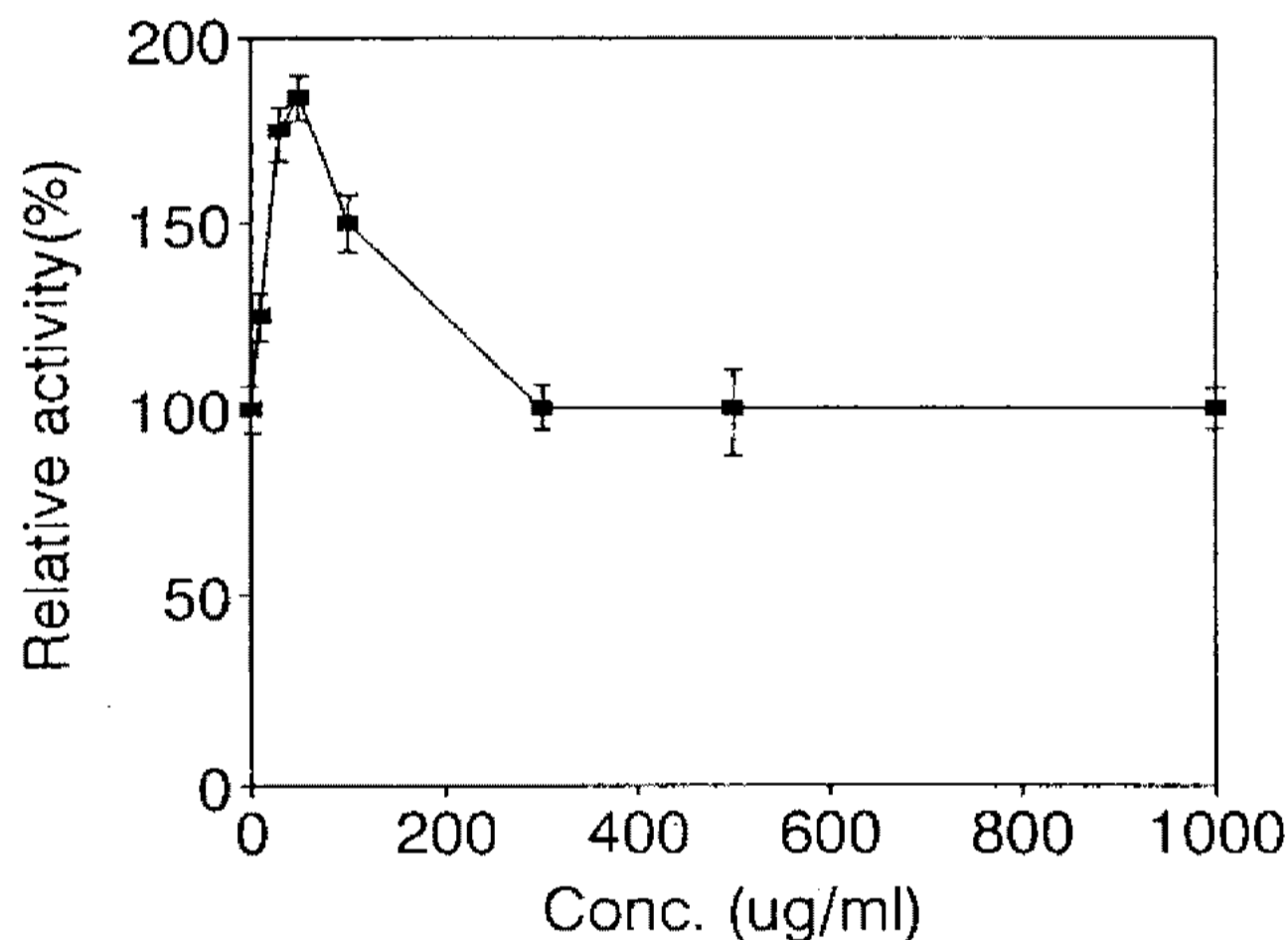


Fig. 3. Effect of varying concentrations of thiamine in growth media on the specific activity of biodegradative threonine dehydratase. Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of thiamine. Values are mean range of variation for three experiments.

rrole 구조인 prodigiosin의 monopyrrole 부분과 유사한 thiamine의 농도를 세분해서 최소 배지에 첨가했을 경우, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 대조군보다 효소의 비활성도를 84% 증가시켰으며 300 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서는 비활성도에 영향을 주지 못하였다(Fig. 3). *E. coli* K-12의 경우처럼(14), 효소의 활성이 각 아미노산과 metabolite의 특정 농도에서 최대가 되는 최적 농도가 존재하며, metabolite 들의 농도에 의한 효소의 활성변화는 *in vivo* 상에서 분해와 합성이 평형을 이루는 metabolite들의 세포내 농도가 존재하여 효소 생합성을 조절한다고 생각된다.

Hobert와 Datta(14)는 4 mM의 cAMP는 TYE 배지와 AA 18 배지에서 *E. coli* 효소의 비활성도를 대조군보다 각각 3.1, 10.2배 증가시킨다고 보고하였는데, 본 실험에서 cAMP의 농도를 세분해서 최소 배지에 첨가했을 경우 0.5 mM의 농도에서 대조군보다 효소의 비활성도를 58% 증가시킨 반면 2 mM 농도에서는 비활성도를 15% 감소시켰다(Fig. 4). cAMP의 농도에 의한 효소의 활성 증가는 cAMP의 첨가는 효소 생합성을 증가시키는 metabolite들의 세포내 농도를 변형시키는 것으로 생각된다. 한편, 세 enteric bacteria에서 cAMP가 biodegradative threonine dehydratase의 효소 활성에 미치는 영향을 비교하기 위하여, *E. coli* K-12와 *S. typhimurium*의 혐기적인 최소 배지에 cAMP의 농도를 세분해서 첨가하였는데 *S. marcescens*와는 달리 *E. coli* K-12와 *S. typhimurium*는 서로 유사한 양상을 보여 주었다(Table 3).

이상과 같은 결과들을 종합해 보면 *Serratia marce-*

을 경우 5 mM의 농도에서 효소의 비활성도를 대조군보다 60% 증가시킨 반면, 20 mM 이상의 농도에서는 비활성도를 20 내지 70% 정도 감소시켰다(Fig. 1). 또한, glyoxylate의 농도를 세분해서 최소 배지에 첨가했을 경우 5 mM의 농도에서 효소의 비활성도를 대조군보다 64% 증가시킨 반면, 20 mM 이상의 농도에서는 비활성도를 40 내지 70% 정도 감소시켰다(Fig. 2). 한편, glyoxylate의 농도와 prodigiosin의 생성은 상호 밀접한 관계를 보여 주었는데(Choi와 Kim, unpublished data), prodigiosin의 생성과 *S. marcescens* 효소 생합성과의 관계를 조사하기 위하여, tripy-

Table 3. The effects of cAMP in growth media on the specific activity of threonine dehydratases from three enteric bacteria.

Experiments were carried out in modified Davis-Mingoli medium supplemented with cAMP.

| Addition to minimal medium (mM) | Relative activity (%) | | |
|---------------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|
| | <i>S. marcescens</i> | <i>E. coli</i> K-12 | <i>S. typhimurium</i> |
| None | 100 | 100 | 100 |
| 0.1 | 117 | 122 | 108 |
| 0.5 | 158 | 141 | 132 |
| 1 | 130 | 152 | 142 |

E. coli K-12 and *S. typhimurium* cells were grown anaerobically for 18 h at 37°C in modified Davis-Mingoli medium. Crude extracts for enzyme assay were prepared by sonication of the harvested cells as described in Materials and Methods. Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of cAMP.

S. marcescens biodegradative threonine dehydratase는 아미노산 자체보다는 혐기적 조건 하에서 아미노산의 분해 대사 반응에서 생기는 metabolite이 효소 생합성에 영향을 주며 *in vivo* 상에서 분해와 합성이 평형을 이루는 metabolite들의 세포내 농도가 존재하여 pyruvate, glyoxylate 그리고 cAMP의 농도에 따라 효소의 생합성이 조절되며 낮은 농도의 pyruvate(5 mM), glyoxylate(5 mM) 그리고 cAMP(0.5 mM)에 의해서 *Serratia marcescens* 효소의 생합성이 증가되는 것으로 나타났다.

요 약

최소 배지에 여러 아미노산을 첨가하여 배양한 *Serratia marcescens* ATCC 25419 세포 추출물에서 biodegradative threonine dehydratase의 비활성도를 조사한 결과 각각 10 mM의 isoleucine과 valine은 대조군보다 각각 44, 34% 감소시킨 반면 10 mM의 threonine은 20% 정도 증가시켰다. 여러 metabolite이 효소활성에 미치는 영향을 조사한 결과 pyruvate는 효소의 비활성도를 5 mM에서 60% 증가시켰으나, 20 mM 이상에서는 20 내지 70% 정도 감소시켰다. Glyoxylate는 효소의 비활성도를 5 mM에서 64% 증가시켰으나, 20 mM 이상에서 40 내지 70% 정도 감소시켰다. Monopyrrole 유도체인 thiamine은 효소의 비활성도를 50 µg/ml에서 84% 증가시켰고, 300 µg/ml 이상에서는 비활성도에 영향을 주지 못하였다.

cAMP는 효소의 비활성도를 0.5 mM에서 58% 증가시킨 반면, 2 mM에서는 비활성도를 15% 감소시켰다.

참고문헌

1. Umbarger, H.E. 1973. Isoleucine and valine metabolism in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **114**: 183-194.
2. Umbarger, H.E. and B. Brown. 1957. Threonine deamination in *Escherichia coli*. II. Evidence for two L-threonine deaminases. *J. Bacteriol.* **73**: 105-112.
3. Umbarger, H.E. 1978. Amino acid Biosynthesis and its regulation. *Ann. Rev. Biochem.* **47**: 533-606.
4. Wood, W.A. and I.C. Gunsalus. 1949. Serine and threonine deaminases of *Escherichia coli* activators for a cell free enzyme. *J. Biol. Chem.* **181**: 171-182.
5. Feldman, D.A. and P. Datta. 1975. Catabolite inactivation of biodegradative threonine dehydratase of *Escherichia coli*. *Biochemistry* **14**: 1760-1767.
6. Bhadra, R. and P. Datta. 1978. Allosteric inhibition and catabolite inactivation of purified biodegradative threonine dehydratase of *Salmonella typhimurium*. *Biochemistry* **17**: 1691-1699.
7. Park, L.S. and P. Datta. 1981. Mechanism of catabolite inactivation of *Escherichia coli* biodegradative threonine dehydratase by glyoxylate. *J. Biol. Chem.* **256**: 5362-5367.
8. Dunne, C.P. and W.A. Wood. 1975. L-Threonine dehydratase as a model of allosteric control involving ligand-induced oligomerization. *Curr. Top. Cell. Regul.* **9**: 65-101.
9. Shizuta, Y. and O. Hayaishi. 1976. Regulation of biodegradative threonine deaminase. *Curr. Top. Cell. Regul.* **11**: 99-146.
10. Shizuta, Y. and O. Hayaishi. 1970. Regulation of biodegradative threonine deaminase synthesis in *Escherichia coli* by cyclic adenosine 3',5'-monophosphate. *J. Biol. Chem.* **245**: 5416-5423.
11. Egan, R.M. and A.T. Phillips. 1977. Requirements for induction of the biodegradative threonine dehydratase in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **132**: 370-376.
12. Yui, Y., Y. Watanabe, S. Ito, Y. Shizuta, and O. Hayaishi. 1977. Multivalent induction of biodegradative threonine deaminase. *J. Bacteriol.* **132**: 363-369.
13. Phillips, A.T., R.M. Egan, and B. Lewis. 1978. Control of biodegradative threonine dehydratase inducibility by cyclic AMP in energy-restricted *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **135**: 828-840.
14. Hobert, E.H. and P. Datta. 1983. Synthesis of

- biodegradative threonine dehydratase in *Escherichia coli*: role of amino acids, electron acceptors, and certain intermediary metabolites. *J. Bacteriol.* **155**: 586-592.
15. Davis, B.D. and E.S. Mingioli. 1950. Mutants of *Escherichia coli* requiring methionine or vitamin B₁₂. *J. Bacteriol.* **60**: 17-28.
16. Friedemann, T.E. and G.E. Haugen. 1943. Pyruvic acid II The determination of keto acids in blood and urine. *J. Biol. Chem.* **147**: 415-431.
17. Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr, and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.

(Received 8 November 1994)