

天然고무의 生成 메카니즘

小 倉 協 三 著
李 光 宰 譯

1. 序 言

天然고무는 天然高分子로서 독특한 物性面에서 뿐만아니라 다음과 같은 生成成的 觀點에서도 신기하다. 細菌에서부터 高等動植物에 이르기까지 모든 生物은 크게 나누어 3가지의 巨大分子를 合成한다. 즉 核酸, 蛋白質, 多糖類로서 이들은 生命維持에 必須的인 機能을 발휘하고 있으며 뉴클리오티드(nucleotide), 아미노酸 및 糖이 각각 O-P, N-C 및 O-C 結合을 反復生成함으로써 生長한 polymer이며 絹이나 木綿도 이처럼 각각 N-C, O-C 結合에 對應하는 것임은 틀림없다.

生物은 C-C 結合의 反復으로 合成되기도 하나 거기서 生成된 脂質은 별로 크지 않은 分子가 重要な 生物機能을 갖는다는 點에 特徵이 있다. 全生物에 公同적인 基本要素인 脂質의 機能은 生體膜을 構成하는 것인데, 流動性이 있는 絶妙한 機能을 가진 細胞膜은 親水性基와 疎水性基를 갖춘 低分子脂質의 會合體가 基本이 되어 있다. 그러므로 C-C 結合의 反復으로 된 巨大한 疎水性分子인 天然고무는 그 存在意義도 不明確하고 生物界에 있어서 疎外 당하는 存在로도 생각되었다.

天然고무가 高分子 이소프레노이드(isoprenoid)라는 것은 오래전부터 알려졌고, 그 生成成的研

究도 오랜 동안 계속되어 왔으나 아직도 不明한 點이 많다. 한편 低分子 이소프레노이드의 生成成은 酵素에 관한 상세한 研究로 많은 識見이 축적되어 왔다. 그러나 이러한 結果를 그대로 外挿하여 고무의 生成成을 論하기에는 아직도 많은 危險性은 있으나 進化論的으로 보아 고무 生成成의 起源으로 볼 수 있는 폴리이소프레노이드 合成系가 原始的인 生物에 이미 갖추어져 있어 生命維持에 극히 重要的 作用을 하고 있다. 그러한 意味에서는 고무生成成의 基本的 메카니즘은 生物全般에 걸쳐 公同적으로 作用하고 있다고 볼 수 있을 것이다.

天然고무의 正確한 構造에 대해서는 아직도 議論이 많으며 특히 그 뛰어난 性質과의 聯關性에 있어서는 많은 興味를 갖게되는 生成成的觀點에서도 고무에는 많은 흥미있는 問題들이 內包되어 있다.

2. 폴리프레놀과 고무

스테로이드나 狹意의 테르펜類를 合成하지 않은 細菌에도 적어도 2種類의 이소프레노이드 化合物이 있어서 다같이 重要的 生化學的 機能을 담당하고 있다. 그것은 폴리프레닐(polyprenyl) 磷酸과 폴리프레닐키논類이다. 前者는 cis, trans 混合型的 二重結合을 가지며, 細菌類에서 일반적으로 널리 알려져 있는 것은 C₅₅의 undecaprenol

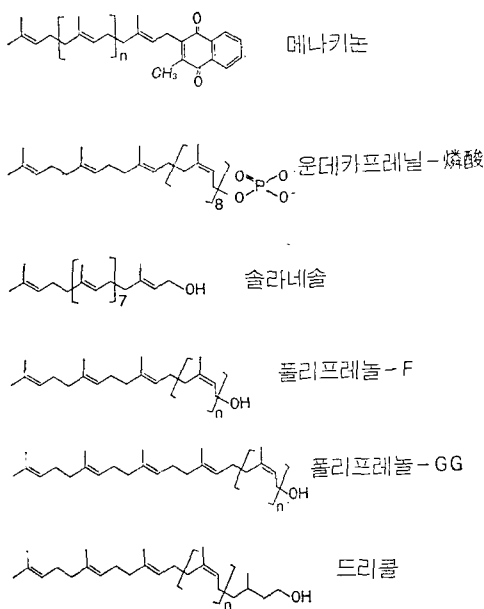


그림 1.

의 燐酸 에스테르이다. 後者는 이소프레노이드 鎖가 다른 代謝系에서 생기는 芳香環에 結合된 것으로 그 鎖長은 C_{30} , C_{35} , C_{40} , C_{45} 등으로 變化가 많으며 C_{65} 까지 있다.

原始的인 細菌에서 重要한 역할을 하고 있는 이들 두 化合物은 이소프레노이드의 先驅의 存在라고 할 수 있다. 眞核生物이 되면 生物이 多樣化됨에 따라 실제로 다채로운 이소프레노이드 化合物이 出現되나 그들의 大部分은 오히려 짧은 이소프레노이드 鎖에서 由來된 것이다. 또 長鎖 이소프레노이드 化合物로는 Solanesol로 代表할 수 있는 全 trans의 폴리프레놀을 비롯한 Ubiquinone 등의 프레닐키논類와 cis, trans 混合型인 폴리프레놀이 있다. 後者에는 trans 結合 2개를 가진 것(폴리프레놀-F*)과 3개를 가진 것(폴리프레놀-GG*)의 두가지 系列이 있고, 지금의 炭素 鎖長은 C_{25} 에서 C_{75} 까지 各種 鎖長으로 分離되어 있다.

폴리프레놀-F는 細菌에서부터 高等動物物 全

般에 걸쳐 널리 分布되어 있고, 폴리프레놀-GG는 특히 植物에서 많이 알려져 있으나 研究가 계속됨에 따라 鎖長範圍나 分布된 生物의 種類가 점차 늘어나고 있다. 動物에는 트리콜이라고 하는 一群의 폴리프레놀이 存在하며 그 構造는 OH가 붙은 이소프레놀 單位의 二重結合이 飽和되어 있으나, 폴리프레놀-F型이며, 鎖長은 C_{100} 以上에 達하고 있다. 사람의 肝臟에 存在하는 트리콜에는 이소프레놀 單位 17~23個의 길이까지 있으며 매우 重要한 生理的 意義를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

天然고무(Hevea 고무)는 폴리프레놀類보다도 훨씬 많은 이소프레놀 單位가 cis型으로 重合된 것이나, 分子量이 $10^5 \sim 10^6$ 정도이므로 微細한 構造에 대해서는 잘 알 수 없다. 末端에 OH가 있는지 脫水되어 있는지 또는 轉位가 일어나고 있는지 등은 可能性은 있다할지라도 生合成的으로 는 上記 폴리프레놀-F 또는 폴리프레놀-GG와 基本的으로 공통된 메카니즘이 作用하고 있는 것으로 알고있다. 最近에 알려진 바에 의하면 Hevea 고무보다도 分子量이 작은 Salidago 고무의 構造를 NMR로 分析하여, 그것이 폴리프레놀-GG型의 高分子라는 重要한 結論을 얻었다고 한다. 따라서 分子量이 큰 천연고무에 대해서도 그 基本構造는 cis, trans 混合型 폴리프레놀의 巨大한 호모로그일 것이라는 類推는 生合成的의 觀點에서도 妥當하다고 생각된다.

3. cis, trans-폴리프레놀의 生合成

이소프레노이드 生合成에 있어서 鎖延長은 그림 2와 같이 아세틸 CoA에서 메바론酸을 거쳐 생기는 이소펜테닐피로燐酸(IPP)과 그 異性化로 생긴 디메틸알릴피로燐酸(DMAPP)의 反應에서 시작되는 重縮合에 의한 것이다. 이 鎖延長反應을 觸媒하는 酵素를 總稱하여 prenyltransferase라고 하나, 機能이 다른 몇몇 酵素가 여러 가지 生物에서 分離되고 있다.

*이들 폴리프레놀類는 分離된 生物에 따른 名稱이므로 同一化合物에 대해서는 複數의 名稱이 있어 混同되기 쉽다. 그러므로 本稿에서는 生合成的의 觀點에서도 그 構造를 쉽게 알 수 있도록 하기 위하여 統一된 呼稱으로 폴리프레놀-F(全 trans-파르네실기를 가짐)와 폴리프레놀-GG(全 trans-게라닐게라닐기를 가짐)로 表記하였다.

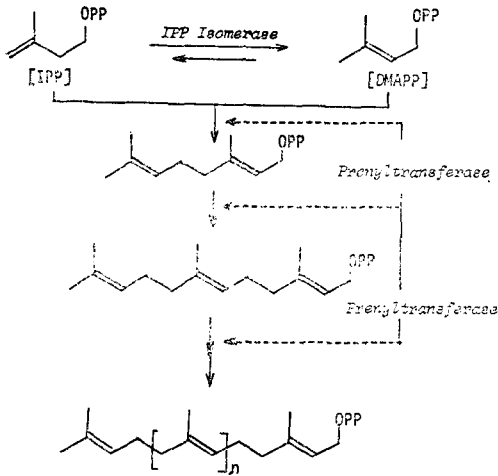


그림 2. Isoprenoid 生成의 鎖延長過程

重合도와 生成하는 二重結合의 cis, trans 構造에 따라 각각 다른 酵素가 存在하나 가장 基本的인 것은 C₁₅까지의 鎖延長을 觸媒하는 파르네실피로磷酸 合成酵素이다. 이 酵素는 細菌에서부터 高等動植物에 이르기까지 生物全般에 存在하며 全 trans의 縮合을 觸媒한다. C₂₀까지의 鎖延長은 다른 酵素인 게라닐게라닐피로磷酸 合成酵素에 의해 支配되며 이것도 trans 縮合을 特異하게 觸媒한다.

C₅→C₁₀→C₁₅(파르네실피로磷酸 合成酵素)

C₅→C₁₀→C₁₅→C₂₀(게라닐게라닐피로磷酸 合成酵素)

cis 縮合을 特異하게 觸媒하는 酵素는 細菌에서 發見되었으나, 그것은 C₅의 DMAPP에 IPP를 縮合시키는 觸媒能力이 없으며 C₁₅ 以上の 鎖로 된 trans 結合을 갖는 基質이 프라이머(primer)로서 必要한 것이다. 즉, 이 酵素는 다른 酵素로 이미 만들어진 全 trans-파르네실피로磷酸에 8分子的 IPP를 cis型으로 縮合시켜 C₅₅의 폴리프레놀-F의 피로磷酸에스테르를 合成하는 것으로 운테카프네닐피로磷酸 合成酵素라고 한다. 이 酵素는 現在 이미 3종류의 細菌, *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus luteus* 및 *Bacillus ubtilis*에서 分離되어 詳細하게 研究되고 있

으며, 細菌을 破碎한 호모지네이트에서 容易하게 可溶化되는 分子量 5~6萬의 酵素이다. 精製된 酵素로 試驗管內의 縮合反應을 일으키자면 프라이머로 되는 알릴성피로磷酸과 IPP에 Mg²⁺ 이온과 Triton X-100과 같은 界面活性劑의 存在가 必要하게 된다. 어떤 細菌의 酵素도 IPP 2位の pro-S의 水素를 離脫시키는 C₅₅까지의 cis型 鎖延長을 觸媒하게 되나, *M. luteus*와 *B. subtilis*의 酵素는 主生成物인 C₅₅體 외에 C₅₀體도 生成한다.

枯草菌(*B. subtilis*)의 酵素에 관한 研究에 따르면 프라이머로 되기 위한 基質特異성은 表 1에 表示된 바와 같다. 일련의 構造와 活性的의 關係를 보면, 이 酵素의 本來의 觸媒機能은 全 trans의 C₁₅ 體를 프라이머로 한 IPP의 cis型 縮合임을 잘 알 수 있다. cis, trans-파르네실피로磷酸은 全 trans 體보다도 活性이 못하나, C₂₀體에서는 cis, trans, trans 體가 높은 活性을 나타낸다. 또 C₁₀ 體에서는 trans 體는 活性이 매우 낮으나, 오히려 cis 體인 네릴피로磷酸이 活性이 높다. 네릴피로磷酸을 프라이머로 했을 때의 酵素反應生成物은 당연히 全 cis 體로 되나, 이 때의 主生成物의 鎖長은 C₅₅가 아니고 C₅₀이다. 그러나 細菌에는 네릴피로磷酸을 合成하는 酵素는 存在하지 않으므로 이와같은 全 cis體의 合成은 오직 人爲的인 試驗管內의 反應이고 細胞內에서 일어난 것은 아니다.

細胞內에서 生成되는 C₅의 DMAPP는 운테카프네닐피로磷酸 合成酵素의 프라이머로는 될 수 없다. 이와같은 것은 뒤에서 나오는 天然고무 生成의 試驗管內 反應의 研究結果의 解釋에 注意해야 된다는 것을 暗示해 주고 있다. 왜냐하면 cis 縮合專用的인 프레닐트란스페라제의 프라이머로 되기 위한 末端 二重結合의 cis, trans 構造의 條件은 鎖長에 따라 다 다르며, cis 二重結合을 갖는 것이 반드시 有利하다고는 말할 수 없기 때문이다.

全 trans-게라닐게라닐피로磷酸의 프라이머 基質로서의 反應性은 充分히 높으며 酵素와의 親和性도 크다. 이것은 枯草菌에서 폴리프레놀의 生成에 있어서 중요한 意味가 있는 것으로 생

<表 1> 운데카프레닐피로麟酸신테타제(Undecaprenyl pyrophosphoric acid synthetase)의 基質特異性和 反應生成物

化 合 物	相對活性(%) ^{*2}	Km(μM)	生成物鎖長(生成比)
디메틸알릴 PP ^{*1}	0	—	—
게라닐 PP	9	—	—
네 릴 PP	34	26.7	C ₄₆ , C ₅₀ , C ₅₅ (2 : 10 : 1)
E,E-파르네실 PP	100	9.1	C ₅₀ , C ₅₅ (1 : 4)
Z,E-파르네실 PP	62	18.9	C ₅₀ , C ₅₅ (4 : 1)
E,E,E-게라닐게라닐 PP	92	9.3	C ₆₀ , C ₆₅ (2 : 3)
Z,E,E-게라닐게라닐 PP	191	15.4	C ₆₀ , C ₆₅ (1 : 3)
E,E,E,E-파르네실게라닐 PP	15	—	—
Z,E,E,E-파르네실게라닐 PP	29	58.8	C ₆₀ , C ₆₅ (3 : 1)
E,Z,E,E-파르네실게라닐 PP	3	—	—
Z,Z,E,E-파르네실게라닐 PP	64	52.6	C ₆₀ , C ₆₅ (3 : 2)

*1 PP는 Pyrophosphoric acid의 略.

*2 基質濃度 50μM일 때의 IPP의 反應量的 相對值

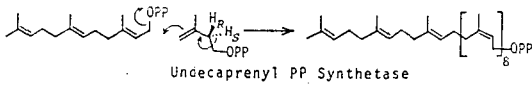


그림 3.

각된다. 왜냐하면 同細菌에는 실제로 게라닐게라닐피로麟酸合成酵素가 있기 때문이다. 즉, 이 細菌은 폴리프레놀-F 뿐만 아니라 植物과 마찬가지로 폴리프레놀-GG도 合成한다는 것을 의미한다.

全 trans의 C₂₅ 프레놀 體는 이미 基質로는 될 수 없다. 그러나 피로麟酸이 붙은 末端에 cis 結合을 2개 갖는 것은 活性을 나타낸다. 이것은 진짜 프라이머 基質인 全 trans-파르네실피로麟酸에 의해 시작되는 cis型 重合의 中間體에 해당한다는 것을 고려한다면 당연히 期待할만한 것이다. 실제로 全 trans-파르네실피로麟酸과 IPP로 시작되는 酵素反應에서는 이와같은 中間體는 蓄積되지 않고 C₅₀과 C₅₅의 鎖長인 것만이 生成되므로 이들 中間體는 酵素에서 離脫되지 않고 제 빨리 反應될 것이다. 이 C₂₅의 中間體의 活性이 프라이머인 C₁₅體보다 낮은 것은 外部에서 加한 中間體는 micelle形式的의 性質 때문에 酵素의 活性中心에 도달하기 어렵기 때문일지도 모른다.

여러가지의 알릴성피로麟酸을 프라이머로 했을 때의 枯草菌의 운데카프레닐피로麟酸合成酵素에 의한 反應은 그림 4와 같다.

4. 全 trans-폴리프레놀의 生合成

枯草菌은 C₃₅의 헤프타프레닐기를 가진 메나키논을 生産하나, 이에 대응해서 헤프타프레닐피로麟酸合成酵素가 同細菌에서 分離되었다. 이 酵素는 Mg²⁺ 이온이 存在하여 全 trans-파르네실피로麟酸과 4分子의 IPP에서 全 trans-헤프타프레닐피로麟酸을 特異하게 合成한다. 中間體는 전혀 蓄積되지 않고 항상 단하나의 生成物만을 주게 된다. 이 때 IPP에서 離脫되는 2-位의 水素는 pro-R이다. 全 trans-게라닐게라닐피로麟酸을 프라이머로 하면 3分子의 IPP가 縮合되어 마찬가지로 C₃₅體를 주게 된다.

末端 cis의 異性體는 어떠한 鎖長이라도 프라이머 基質의 作用은 하지 않으므로 운데카프레닐피로麟酸合成酵素와는 對照적이다. 그러나 意外로도 이 酵素는 trans 縮合專用이면서도 C₅의 DMAPP를 프라이머 基質로 할 수가 없다. 게라닐피로麟酸도 거의 不活性이다. 즉, 이 酵素는 C₅→C₁₀→C₁₅의 初期過程을 觸媒할 수 없다. 長鎖의 trans-폴리프레놀 生合成에 있어서도 前半과 後半의 鎖延長이 각각 다른 酵素에 의해 支

配되고 있다.

그런데, 枯草菌에서 결국 4種類의 프레닐트란스페라제가 分離되었으며 이들의 性質이 재미있다. 운데카프레닐피로麟酸合成酵素는 界面活性劑가 存在하고 Mg^{2+} 이온이 必須因子이나 이들이 共存하는 이 酵素는 K^+ 나 NH_4^+ 이온에 의해 더욱 현저하게 活性化된다. 이와같은 界面活性劑나 1價陽이온에 의한 活性化는 同細菌에서 얻은 파르네실피로麟酸合成酵素에 있어서도 마찬가지이다. 그러나 同細菌의 다른 두 酵素, 헤프타프레닐피로麟酸合成酵素와 게라닐게라닐피로麟酸合成酵素에서는 나타나지 않았다. 이들의 性質로 보아 後者の 두 酵素는 細胞內에서 可溶性部分에 存在하는데 對해 파르네실피로麟酸合成酵素와 운데카프레닐피로麟酸合成酵素는 다같이 細胞膜에 接하는 環境에 位置하여 作用하고 있으므로, 前者에 의해 合成된 生成物이 後者の 프

<表 2> 헤프타프레닐피로麟酸合成酵素의 基質特異性

化 合 物	相對活性*(%)
디메틸알릴 PP	2
게라닐 PP	4
<i>E,E</i> -파르네실 PP	90
<i>E,E,E</i> -게라닐게라닐 PP	100
<i>Z,E,E</i> -게라닐게라닐 PP	2

* 基質濃度 25 μ M 일 때의 IPP 反應量의 相對值

이러한 基質로 供供給되어 能率의으로 운데카프레닐피로麟酸이 合成되도록 되어 있는 것으로 생각된다.

枯草菌의 4 酵素의 機能을 綜合하면 그림 5와 같이 表示할 수 있다. 下等細菌에서 이미 *cis*-고무와 *trans*-고무의 生成初期過程이라고 할 수 있는 經路가 있다고도 볼 수 있다.

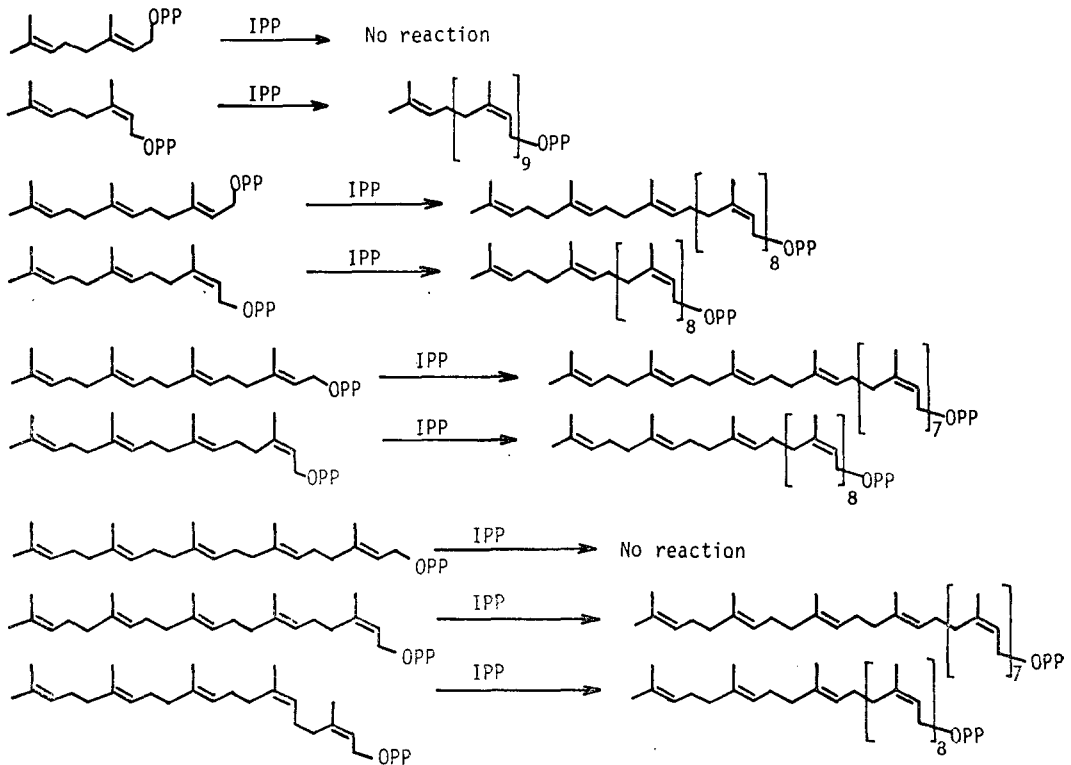
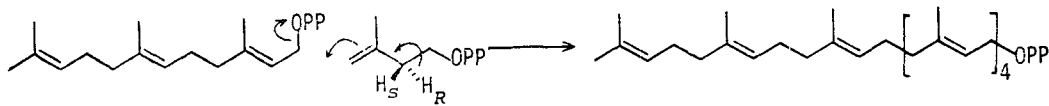


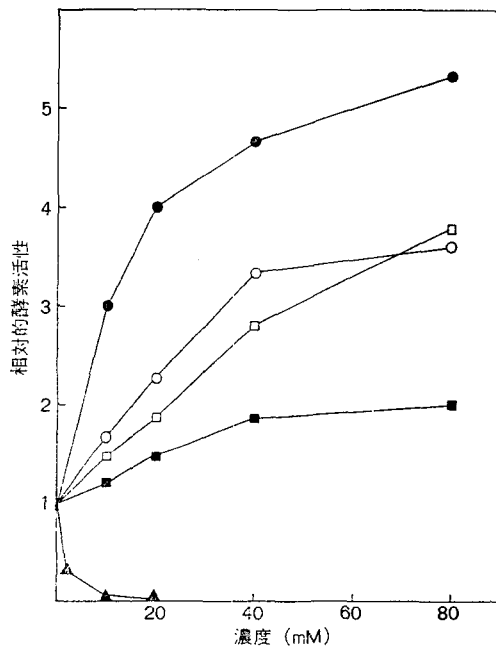
그림 4. 枯草菌 운데카프레닐피로麟酸 合成酵素에 의한 反應



Heptaprenyl PP Synthetase

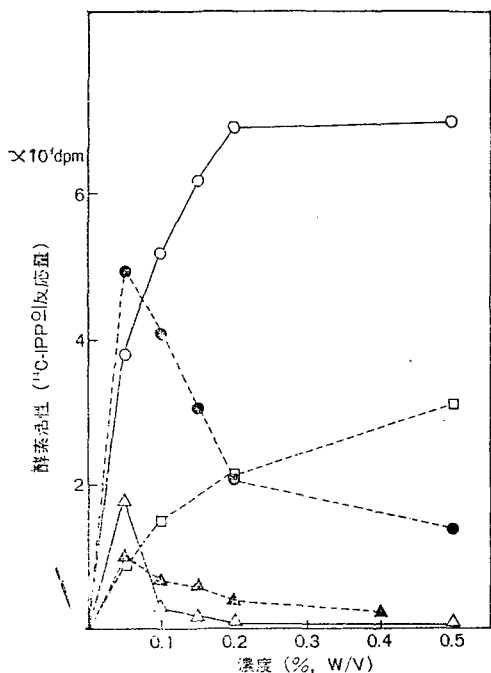
그림 5.

*Micrococcus luteus*는 카로티노이드의 합성능이 있으나 이 細菌이 만드는 메나키논의 側鎖는 枯草菌과는 달리 C₄₀이 主이고 그 다음이 C₃₅와 C₄₅이다. 이와같은 側鎖의 鎖長分布는 과연 프레닐트랜스페라제의 多樣性에 기인된 것인지 이 細菌에서는 앞에서 說明한 운데카피로麟酸合成酵素외에 trans型인 長鎖 프레닐피로麟酸合成酵素로서 C₄₅까지의 鎖延長을 觸媒하는 部分이 部分的으로 精製된다. 이 部分은 表 3에 表示된 바와 같은 基質特異性이 있다. 역시 C₅의 DMAPP



● : KCl, ○ : NH₄Cl, □ : NaCl, ■ : LiCl, ▲ : CaCl₂

그림 7. 운데카프레닐피로麟酸合成酵素에 대한 陽이온의 效果



○ : Triton X-100, ● : Tween 80, □ : phosphatidylethanolamine, △ : deoxychol酸나트륨, ▲ : 卵黃레시틴

그림 6. 운데카프레닐피로麟酸合成酵素에 대한 界面活性劑의 效果

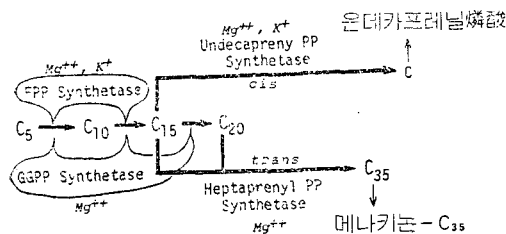


그림 8. 枯草菌에서의 프레닐트랜스페라제系

<表 3> 솔라네실피로麟酸合成酵素의 基質特異性

化 合 物	相對活性*(%)
디메틸알릴 PP	3
게라닐 PP	100
E,E-파르네실 PP	22
E,E,E-게라닐게라닐 PP	22
Z,E,E-게라닐게라닐 PP	0

* 基質濃度 25μM일 때의 IPP 反應量的 相對值

는 基質이 되지 못한다. 그러나 C₁₀의 게라닐피로麟酸은 活性이다. 즉 이 酵素는 C₅→C₁₀의 初期反應의 觸媒能이 없다. 이것은 同細胞中에 C₅→C₁₀ 反應을 觸媒하는 게라닐피로麟酸合成酵素가 存在한다는 것을 暗示하고 있으나, 사실 檢索結果 그 酵素는 分離되었다. 따라서 *M. luteus*에서 C₄₅까지의 trans型 鎖延長에도 前半과 後半을 각각 담당하는 2개의 프레닐트랜스페라제가 參與하고 있음이 分明하다.

C₅→C₁₀ 反應을 觸媒하는 酵素는 모노테르펜의 生合成과 관련해서 高等植物에 存在할 것으로 豫想되었으나 아직까지도 植物에서는 分離되지 않고 意外에도 모노테르펜과는 관계없는 細菌에서 長鎖프레닐基의 生合成의 初期反應을 담당하고 있는 것으로 發見되었다. 또 한가지 특이한 것은 이 게라닐피로麟酸合成酵素 部分은 C₁₀→C₁₅ 反應의 觸媒能이 없는데도 C₁₅→C₂₀ 反應을 觸媒한다.

즉, 이 部分을 DMAPP와 IPP로 인큐베이트할 때에는 게라닐피로麟酸을, 또 파르네실피로麟酸과 IPP로 인큐베이트할 때에는 게라닐게라닐피로麟酸을 주는 奇妙한 酵素이다.

*M. luteus*의 C₄₅까지의 鎖延長酵素에 대해서는 재미있는 性質이 觀察되고 있다. 즉, 이 酵素反應生成物의 鎖長이 反應液中的 Mg²⁺ 이온의 濃도에 따라 현저히 變化된다는 것이다. 그 關係는 表 4에 表示된 바와 같이 Mg²⁺ 濃도가 높을수록 生成物의 鎖長이 길어지는 傾向이 명확히 나타난다. 試驗管内酵素反應에서 Mg²⁺ 濃도를 여러가지로 바꾸어 여러가지 鎖長이 分布된 폴리프레놀을 合成할 수 있다.

<表 4> 솔라네실피로麟酸合成酵素의 反應生成物과 Mg²⁺ 이온濃도의 關係

Mg ²⁺ 濃度 (mM)	生成物鎖長 (生成量, 몰比)
0.1	C ₂₅ , C ₃₀ , C ₃₅ (3 : 2 : 1)
0.2	C ₂₅ , C ₃₀ , C ₃₅ , C ₄₀ (1 : 1 : 3 : 1)
0.5	C ₂₅ , C ₃₀ , C ₃₅ , C ₄₀ (2 : 2 : 6 : 1)
2.0	C ₂₅ , C ₄₀ , C ₄₅ (2 : 8 : 1)
5.0	C ₃₅ , C ₄₀ , C ₄₅ (1 : 12 : 3)
20.0	C ₄₀ , C ₄₅ (7 : 3)

M. luteus 菌體에서 抽出되는 메나키논側鎖의 量的關係는 C₄₀ >> C₃₅ > C₄₅이나, 이 鎖長分布는 2mM의 Mg²⁺ 濃度에서 일어난 酵素反應의 生成物과 거의 一致하므로 細菌細胞內的 Mg²⁺ 濃도도 그와 비슷할런지 모른다. Mg²⁺ 濃도에 의해 生成物이 왜 이와같이 극단적으로 變化되는지는 아직도 잘 알려지지 않고 있다. 條件에 따라 生成物의 鎖長이 變動하는 酵素에 대해서는 最大鎖長의 生成物에 관계되는 名稱을 붙이게 되어 있으며, 이 酵素를 솔라네실피로麟酸合成酵素라고 부르고 있다.

*M. luteus*의 變異株로 C₃₀만의 側鎖의 메나키논을 가진 것이 있으나, 이 變異株에서는 C₅→C₁₀→C₁₅의 過程을 觸媒하는 酵素와 C₁₅에서 C₃₀까지의 鎖延長過程을 觸媒하는 헥사프레닐피로麟酸合成酵素가 分離되어 있다. 이 酵素는 全 trans-파르네실피로麟酸과 IPP에서 C₂₅와 C₃₀의 피로麟酸을 生成하는 反應을 觸媒하나, Mg²⁺ 濃도가 2 mM인 경우는 거의 C₃₀體만이 生成되고 0.2 mM인 경우는 C₂₅體와 C₃₀體가 約 3 : 2의 比率로 生成된다.

以上과 같이 全 trans의 長鎖 프레닐피로麟酸合成酵素에도 最大限 도달할 수 있는 定해진 鎖長이 몇가지 있으며, 그 鎖長의 範圍 내에서 生成物은 Mg²⁺ 이온의 濃도에 의해 變化되는 것이 있다. 어떤 酵素도 C₅부터의 鎖延長, 즉 DMAPP를 프라이머로 하는 初期過程은 觸媒할 수가 없다.

지금까지 分離되어 機能이 明確해진 prenyl-transferase類를 表 5에 綜合하였다.

<表 5>

프레닐트랜스페라제의 종류

慣用 酵 素 名	最短鎖 프라이머	最長鎖 生成物	生成되는 二重結合	離脫하는 IPP 의 2位 水素	酵 素
게라닐 PP* 신테타제	C ₅	C' ₀	trans	pro-R	細菌
파르네실 PP 신테타제	C ₅	C ₁₅	trans	pro-R	細菌, 酵母, 動物
게라닐게라닐 PP 신테타제 I	C ₅	C ₂₀	trans	pro-R	細菌, 高等植物, 植物
게라닐게라닐 PP 신테타제 II	C ₁₀	C ₂₀	trans	pro-R	돼지 肝臟
게라닐게라닐 PP 신테타제 III	C ₁₅	C ₂₀	trans	pro-R	細菌
헥사프레닐 PP 신테타제	C ₁₅	C ₂₀	trans	pro-R	細菌
헵타프레닐 PP 신테타제	C ₁₅	C ₂₅	trans	pro-R	細菌
솔라네실 PP 신테타제	C ₁₀	C ₄₅	trans	pro-R	細菌
Undecaprenyl PP synthetase	C ₁₅	C ₆₅	cis	pro-S	細菌

*PP는 피로磷酸(pyrophosphoric acid)의 略

5. 天然고무의 生合成研究

天然고무는 限定된 種類의 高等植物에서 뿐만 아니라 下等菌類(*Lactarius*, *Peziza* 등)에 의해서도 만들 수 있다고 하나, 代表的인 것은 *Hevea brasiliensis*이다. 實用的으로 供給되고 있는 것도 이 *Hevea* 고무이며, 生合成의 研究도 거의 이 *Hevea* 고무나무에 대해서 하고 있다. 組織中의 乳管에서 生成되는 라텍스는 미토콘드리아를 비롯한 여러가지의 顆粒體를 含有하고 있으며, 특이한 것으로서는 고무粒子 외에 lutoid 및 Frey-Wyssling 複合體라고 하는 構造體가 있으나, 고무의 生合成을 담당하는 모든 酵素는 이 라텍스 중에 있다는 것이 確認되었다.

天然고무가 生合成的으로 基本經路를 같이 하고 있다는 것은, 이소프레노이드 生合成研究初期에 이미 라텍스를 사용한 實驗에서 確認되었으나 다시 라텍스에서 메바론酸키나제나 메바론酸-5-磷酸키나제가 分離되어 그들의 諸性質이 고무合成能에 없는 酵母나 動物의 酵素와 本質적으로 같다는 것도 알려졌다. 또 메바론酸에서 IPP에 이르는 過程에 關여하는 酵素群은 라텍스의 超遠心上澄部, 즉 顆粒을 內包하지 않은 可溶性部分에 存在함이 확인되었다. 한편, 酵素에서 메바론酸까지의 變換을 觸媒하는 酵素는 라텍스中의 어떤 顆粒에 存在하는 것 같으나 그 分布에 대해서는 明確한 結論이 없다. lutoid 粒

子나 Frey-Wyssling 體에 고무生合成에 關여하는 酵素가 存在한다는 積極的인 증거는 없으나, lutoid 部分에는 포스파타제(phosphatase)와 無機피로포스파타제가 存在한다.

IPP의 고무 變換은 基本的으로 短鎖 이소프레노이드의 鎖延長과 같은 것으로 생각되어, 이 過程을 觸媒하는 酵素를 고무 트랜스페라제(Rubber transferase)라고 하나 이 酵素活性은 *Hevea* 라텍스 중의 顆粒部分에는 없고 液相인 可溶性部分에 存在한다. 이 部分에는 trans 型의 縮合酵素인 파르네실피로磷酸合成酵素도 共存한다. 이들 두 酵素의 活性에는 Mg²⁺ 이온이 필수적이다. Archer 研究팀에서는 新鮮한 *Hevea* 라텍스의 105,000×g 上澄液에서 여러가지 方法으로 고무 트랜스페라제를 原液보다도 單位 蛋白質當 酵素活性을 350배로 增大시키는데 成功하였다. 分子量은 約 6萬으로 推산되나 이 精製酵素에는 아직 파르네실피로磷酸合成酵素가 混在되어 있다.

이소프레노이드의 鎖延長이 일어나자면 반드시 出發基質인 알릴성피로磷酸에스테르가 必要하게 되므로 먼저 IPP에서 DMAPP를 生成하는 IPP 이소메라제가 프레닐트랜스페라제에 作用하지 않으면 안된다. 그러나 이상하게도 이 *Hevea* 라텍스의 可溶性部分에는 IPP 이소메라제의 活性이 없다. 그러므로 ¹⁴C-IPP를 라텍스의 上澄液과 인큐베이트하여도 放射能은 파르네실피로磷酸과 고무部分에는 들어오지 못한다. 그러나 DMAPP를 共存시키면 放射能은 파르네실피로磷酸에는



Rubber Transferase

그림 9.

들어오나 고무에는 들어오지 못한다. IPP를 고무로 들어오게 하기 위해서는 이미 生長되고 있는 고무粒子가 存在하여야 한다. 이와같이 하여 生成된 ^{14}C 標識의 무고를 오존分解하여도 ^{14}C -아세톤은 檢出되지 않는 점으로 보아서도 加한 IPP가 異性化되어 생기는 DMAPP를 프라이머로 한 重合은 일어나지 않고 있음을 알 수 있다. 이 때, 고무粒子가 IPP의 受容體로서 作用하고 있는 限, 이 고무粒子의 末端에는 알릴성피로磷酸基가 있을 것으로 생각되므로, 결국 고무 트란스페라제에 의한 反應은 그림 9와 같이 表示된다.

이 反應에서 IPP 分子의 2位에서는 pro-S의 水素가 立體特異적으로 離脫된다는 것이 Cornforth에 의해 밝혀졌다. 이 立體過程은 細菌인 운테카프레닐피로磷酸合成酵素의 경우와 같다. 일반적으로 프레닐트란스페라제 反應에서 IPP의 2位에서 離脫되는 水素가 pro-S인 때에는 cis-縮合이고, pro-R인 때에는 trans-縮合이라는 것이 잘 알려져 있으나, 最近에는 맞지 않는 例가 있다.

그런데, 라텍스의 酵素에 의해 IPP가 高分子 고무로 들어오는 것은 어디까지나 途中에서의 鎖延長이고 途中의 고무(아마, 長鎖 프레닐피로磷酸)까지의 鎖延長은 여전히 밝혀지지 않고 있다. 만일 고무 生合成이 일반적인 폴리프레놀의 生合成과 基本的으로 같은 機構였다면, 이들은 다 같이 DMAPP를 經由하지 않으면 안된다. 그런데 Hevea 라텍스의 液相에는 IPP 이소메라제의 活性은 나타나지 않았다. Archer 氏는 巨大分子인 고무가 되는 反應의 化學量論에서 DMAPP의 必要量이 IPP에 比하면 無視할 정도로 작으므로 라텍스중에 IPP 이소메라제가 '檢出되기 어렵다' 하여도 이상할 것 없다는 見解이다. 그러나 라텍스중에는 非고무 이소프레노이드의 合成系가 있어, 고무 트란스페라제와 같이 液相에 파르네실피로磷酸合成酵素가 存在하므로, 이 酵素가 作用하기 위해서는 DMAPP가 IPP와 같은 정도의

量만큼 必要하게 된다. 그리고 파르네실피로磷酸合成酵素가 檢出되는 限 IPP 이소메라제도 檢出되어야 한다고 한다.

여러가지 生體試料에 대해서 프레닐트란스페라제를 追跡한 결과 특수한 例外를 除外하고는 프레닐트란스페라제의 活性이 細胞의 可溶性部分에서 檢出되는 限, 반드시 IPP 이소메라제 活性도 같은 部分에서 檢出되었다. 例外는 無花果 나무의 라텍스의 液相이었다. 이 라텍스의 上澄液에는 강한 파르네실피로磷酸合成酵素의 活性이 있으나, IPP 이소메라제의 活性은 전혀 발견되지 않았다. IPP 이소메라제가 프레닐트란스페라제와 共存하지 않는다는 事實은 乳管細胞內의 라텍스, 즉 특수한 곳에서 나오는 獨特한 것이라고 생각되나, 이 점을 重視하여 DMAPP가 IPP를 經由하지 않고 生成하는 메카니즘도 생각해볼 必要가 있다.

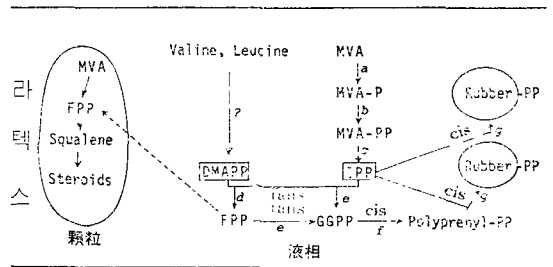
細胞內의 특수한 部分에서 生合成이 일어날 때 그 先驅體의 복잡한 實驗 데이터를 解析하는 데는 어려운 점이 많다. 모노테르펜은 高等植物 細胞의 顆粒中에서 生合成되므로 산 細胞를 사용하는 生合成實驗에서 메바론酸의 寄與率은 극히 적다. 또 高等植物에서 모노테르펜의 生合成에 있어서 발린(Valine)이나 로이신(leucine)이 게라니올의 이소프피리덴 쪽의 C_5 單位, 즉 보통 生合成機構에서 DMAPP에서 由來된 部分의 先驅體라는 것도 밝혀졌다. 이러한 것은 DMAPP가 메바론酸이나 IPP를 거치지 않은, 즉 IPP 이소메라제에 依存하지 않고 供給되는 메카니즘이 作用하고 있음을 말한다. 顆粒을 包含한 소라텍스中에서는 메바론酸이나 IPP의 放射能이 스크와렌이나 고무로 들어오게 되나, 고무에 대해서는 이 放射能이 DMAPP를 經由하지 않음이 分明하다. 따라서 이들 實驗事實은 적어도 고무 트란스페라제가 存在하는 可溶性部分에 있어서 IPP는 이소메라제에 依存하지 않는 經路를 假定

함으로써 잘 說明될 수 있다.

앞에서 說明한 폴리프레닐 類의 生成에 대해서 酵素學的인 類推를 가미하여 綜合的으로 고찰하면 그림 10에 表示된 바와 같이, 天然고무의 生成의 경우도 어느정도 긴 프라이머를 만드는 酵素와 그 이후의 重合(polymerization)을 촉媒하는 酵素는 다르다는 것이 틀림없는 것 같다. 고무 트랜스페라제의 프라이머 基質은 게라닐게라닐피로磷酸合成酵素와 운데카프레닐피로磷酸合成酵素 또는 그에 類似한 cis 縮合專用的 프레닐트랜스페라제로 만들어지는 폴리프레닐-GG型인 피로磷酸에스테르는 아닌지, 폴리프레닐-F型인 것도 무방하다.

Hevea 라텍스에는 파르네실피로磷酸合成酵素가 存在하며 게라닐게라닐피로磷酸合成酵素의 存在도 間接的으로 알려져 있다. 그리고 cis, trans 混合 폴리프레닐피로磷酸合成酵素의 探索과 함께 고무 트랜스페라제의 詳細한 基質特異性的의 研究가 기대되고 있다.

만일 이 假說이 옳다고 하면 고무生成의 프라이머는 天然고무 生産能의 有無에는 관계없이 널리 植物에 分布되어 있을 것이고, 그 合成酵素의 原型은 細菌까지 거슬러 올라가는 一般性



MVA : 메바론酸, DMAPP : 디메틸아릴피로磷酸
 IPP : 이소펜테닐피로磷酸, FPP : 全 trans-파르네실피로磷酸, GGPP : 全 trans-게라닐게라닐피로磷酸
 a : 메바론酸키나제, b : 포스포메바론酸키나제, c : 포스포메바론酸 디카복시라제, d : 파네실피로磷酸신테라제, e : 게라닐게라닐피로磷酸신테라제, f : 폴리프레닐피로磷酸신테라제, g : 고무 트랜스페라제
 그림 10. 라텍스에서의 고무 및 非고무 이소프레노이드 生成過程의 假說

있는 重要한 代謝物에 지나지 않을 것이다. 이것을 프라이머로 하여 다시 長鎖의 cis 縮合을 길게 계속하는 酵素를 오랜동안의 生物進化途上에서 獲得한 것이 Hevea brasiliensis로 代表할 수 있는 一群의 生物이었다.