

## *Serratia marcescens*와 *Lactobacillus plantarum* Purine Nucleoside Phosphorylase의 생합성에 대한 요산의 조절

최 병 범  
 신흥대학 식품영양과

### The Regulation of Uric Acid on the Biosynthesis of *Serratia marcescens* and *Lactobacillus plantarum* Purine Nucleoside Phosphorylase

Byung Bum Choi

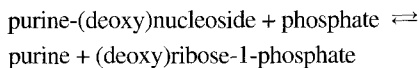
Department of Food and Nutrition, Shin Heung College

The effects of purine catabolites in growth media on the biosynthesis of *Serratia marcescens* and *Lactobacillus plantarum* purine nucleoside phosphorylase (PNP) activity were examined. *Serratia* PNP activity was decreased approximately by 30% in the presence of high concentrations of inosine (5~15 mM), but was not affected at low concentrations of inosine (0.1~1 mM). However, *Lactobacillus* PNP activity was increased above 60% by inosine among the range from 5 to 15 mM. *Serratia* PNP activity was decreased approximately by 45% in the presence of high concentrations of hypoxanthine (5~15 mM), but was not affected at low concentrations of hypoxanthine (0.1~0.5 mM). *Lactobacillus* PNP activity was increased approximately by 20% in the presence of low concentrations of hypoxanthine (0.1~0.5 mM), and increased approximately by 50~65% in the presence of concentrations of hypoxanthine (1~15 mM). *Serratia* and *Lactobacillus* PNP activity was increased 20% by low concentrations of uric acid (0.5 mM), but was decreased 40~80% at high concentrations of same purine catabolite (10~15 mM). These data suggest that purine nucleoside phosphorylase in *Serratia marcescens* ATCC 25419 and *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 is positively regulated by a low uric acid concentration, and then may play a regulatory role in a purine nucleotide catabolic pathway.

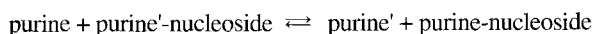
**Key words :** *Serratia marcescens*, *Lactobacillus plantarum*, purine nucleoside phosphorylase, uric acid

#### 서 론

세균, 포유동물 등에서 광범위하게 발견되는 purine nucleoside phosphorylase(PNP; EC 2.4.2.1, 퓨린 뉴클레오시드 가인산 분해 효소)는 orthophosphate (deoxy)ribosyltransferase라고도 하며, 이노신, 구아노신의 오탄당인 리보오스의 가인산 분해를 촉매 하는 효소이다.



또한, PNP는 한 퓨린 염기에서 다른 퓨린 염기로 오탄당 부분의 인산기 의존 전달 반응을 촉매 한다.



Corresponding author : Byung Bum Choi, Department of Food and Nutrition, Shin Heung College, #117, Howon-dong, Euijungbu, Kyonggi-do 480-701, Korea  
 Tel : 82-31-870-3397  
 Fax: 82-31-870-3397  
 E-mail: bulamsan@unitel.co.kr

뉴클레오시드의 글리코시드 결합의 분해는 뉴클레오시드 분해 대사에서 대단히 중요한 반응이며 PNP의 효소학적 분해는 평형 상태를 뉴클레오시드의 합성 방향쪽으로 이동한다고 Kalckar(1945)에 의해 최초로 보고되었다<sup>(1)</sup>.

다른 퓨린 염기들인 구아닌과 히포잔틴은 PNP의 기질로 작용하지만 아데닌 뉴클레오시드는 대부분의 조직들에서 기질로 적합하지 않으며 Kalckar(1947)는 쥐의 간 추출물에서 PNP의 활성을 처음으로 발견하였으며 쥐의 간 PNP는 수용성 단백질의 0.2% 정도 차지한다고 보고하였다<sup>(1)</sup>. PNP는 퓨린 분해 대사 과정에서 이노신과 구아노신을 각각 히포잔틴과 구아닌으로 전환시켜 최종적으로 요산을 생성하는데 참여하며 퓨린 뉴클레오시드의 합성에도 관여하여 세포내 핵산 수준의 조절에 작용한다.

PNP는 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus* 등의 세균과 사람 적혈구, 소, 돼지, 쥐 그리고 토끼 등의 포유동물에서 효소학적으로 광범위하게 연구되어 왔으나<sup>(2-11)</sup>, *Serratia marcescens*와 *Lactobacillus plantarum*에서는 효소학적 연구는 물론, 퓨린 뉴클레오이드 분해 대사의 조절도 현재까지 체계적으로 이루어지지 않았다. 특히 *S. marcescens*

PNP는 같은 enterobacteria인 *E. coli*와 *S. typhimurium* PNP에 비해 기초적인 연구만 수행되었고<sup>(12)</sup>, *L. plantarum*은 김치(kimchi)의 숙성 과정에서 주요 역할을 하는 혐기성 세균<sup>(13,14)</sup>으로 *L. plantarum* PNP 또한 전혀 연구가 수행되지 않았다.

본 연구에서는 *Serratia marcescens* ATCC 25419과 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014에서 퓨린 뉴클레오티드 분해 대사 과정의 조절에 관한 정보를 얻기 위하여 최소 배지와 MRS 배지에 첨가한 아미노산과 퓨린 뉴클레오시드가 PNP 생합성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

본 실험에 사용한 *Serratia marcescens* ATCC 25419는 brain heart infusion(BHI) 사면 배지에 옮긴 다음 배양하였고 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014는 MRS(DeMan, Rogosa and Sharpe) 사면 배지에 옮긴 다음 배양하였다.

### 시약

Potassium phosphate, dithiothreitol(DTT), ethylenediamine tetraacetate(EDTA), peptone, beef extract, yeast extract, tween-80, inosine, xanthine oxidase, sodium acetate, glucose, ammonium sulfate, magnesium sulfate, mangan sulfate, tryptophan, tyrosine, proline, alanine, aspartate, leucine, lycine, glutamine, glycine, serine, uric acid, xanthine, guanosine, hypoxanthine, guanine, urea, glyoxylate 그리고 bovine serum albumin(BSA) 등은 Sigma사 제품을, brain heart infusion(BHI)과 MRS는 Difco사 제품을 사용하였고 그 밖의 시약은 일급 내지 특급 제품을 사용하였다.

### *Serratia marcescens* ATCC 25419와 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014의 배양

사면 배지에 보존된 *Serratia marcescens* 균주의 종균은 BHI 배지 10 mL에 접종한 다음 하룻밤 동안 배양하여 최소 배지 30 mL가 들어 있는 100 mL 삼각 플라스크에 1 mL씩 넣어 30°C에서 12시간 진탕 배양하였다. 최소 배지는 다음과 같이 변형한 Davis-Mingioli 최소 배지<sup>(15)</sup>를 사용하였다. 배지의 구성은 0.5% glucose, 51 mM  $K_2HPO_4$ , 22 mM  $KH_2PO_4$ (pH 7.0), 8 mM  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.4 mM  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  이었다. 또한, 사면 배지에 보존된 *Lactobacillus plantarum* 균주의 종균은 MRS 배지 10 mL에 접종한 다음 하룻밤 동안 혐기적 조건하에서 배양하여 MRS 배지 30 mL가 들어 있는 100 mL 삼각 플라스크에 1 mL씩 넣어 37°C에서 24시간 혐기적 조건하에서 배양하였다. MRS 배지의 구성은 1% peptone, 1% beef extract, 0.5% yeast extract, 2% glucose, 0.1% tween-80, 0.5% sodium acetate, 0.2% ammonium citrate, 0.2%  $K_2HPO_4$ , 0.02%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.005%  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 이었다.

### 세포 추출물의 제조

배양물을 10,000×g로 4°C에서 20분 동안 원심 분리하여

수확한 세포를 2 내지 3배의 파쇄 완충 용액(50 mM potassium phosphate, pH 8.0, 1 mM EDTA, 1 mM DTT)에 현탁시켜 초음파 파쇄기로 40 mA에서 1분 30초 동안 (파쇄 30초마다 2분 휴식) 세포를 파쇄한 다음 12,000×g로 20분 동안 원심 분리하여 상층액을 취하여 효소 활성도 측정에 사용하였다.

### PNP의 활성도 측정

PNP의 활성도는 xanthine oxidase를 이용한 coupled enzyme assay 방법으로 생성된 요산의 양을 Kalckar 방법<sup>(1)</sup>에 따라 측정하였다. Assay tube에 50 mM potassium phosphate(pH 7.5), 1 mM inosine, 0.02 U xanthine oxidase 그리고 효소를 첨가하여 전체 반응액 부피를 1 mL이 되게 한 다음 UVIKON 930 spectrophotometer를 이용하여 293 nm에서 30°C, 1분 동안 반응시킨 후, 요산의 형성에 의한 흡광도를 측정하였다. PNP의 1 U는 30°C에서 1분당 흡광도 1의 증가로 정의하였다. 비활성도는 u/mg protein 으로 표시하였다.

### 단백질 정량

단백질은 bovine serum albumin(BSA)을 표준 단백질로 하여 Lowry 방법으로 정량하였다<sup>(16)</sup>.

### 여러 아미노산이 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP의 활성에 미치는 영향

최소 배지에 각각 5 mM 농도의 티로신, 트립토판, 프롤린, 알라닌, 아스파르트산, 루신, 리신, 글루타민 그리고 글리신 등의 아미노산을 가한 다음 30°C에서 12시간 동안 진탕 배양시킨 후 *Serratia* PNP의 비활성도를 측정하였다. MRS 배지에 각각 5 mM 농도의 알라닌, 세린, 티로신, 트립토판, 프롤린, 알라닌, 아스파르트산, 루신, 리신, 글루타민 그리고 글리신 등의 아미노산을 가한 다음 37°C에서 24시간 동안 혐기적 조건하에서 배양시킨 후 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 측정하였다.

### 여러 농도의 퓨린 뉴클레오시드가 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP의 활성에 미치는 영향

최소 배지에 이노신, 히포잔틴 그리고 요산을 각각 0.1, 0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 그리고 15 mM 농도가 되도록 가한 다음 30°C에서 12시간 동안 진탕 배양시킨 후 *Serratia* PNP의 비활성도를 측정하였다. MRS 배지에 이노신, 히포잔틴 그리고 요산을 각각 0.1, 0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 그리고 15 mM 농도가 되도록 가한 다음 37°C에서 24시간 동안 혐기적 조건하에서 배양시킨 후 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 여러 아미노산이 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP의 활성에 미치는 영향

혐기성 세균인 *Serratia marcescens* ATCC 25419의 PNP 생합성에 대한 아미노산의 영향을 알아보기 위하여 퓨린 고리의 C-4, C-5, N-7 원자의 공급원인 글리신, N-1 원자의 공급원인 아스파르트산, N-3, N-9의 공급원인 글루타민을 사용하였

**Table 1. Effects of various amino acids in growth media on the specific activity of *Serratia marcescens* purine nucleoside phosphorylase (PNP)**

Addition to minimal medium (5 mM)	Specific activity of PNP (units/mg)	Relative activity (%)
None	0.054 ± 0.003	100
Tyrosine	0.041 ± 0.002	76
Tryptophan	0.040 ± 0.002	74
Proline	0.041 ± 0.002	76
Alanine	0.052 ± 0.003	96
Aspartate	0.059 ± 0.003	109
Leucine	0.046 ± 0.002	85
Lycine	0.047 ± 0.002	87
Glutamine	0.047 ± 0.002	87
Glycine	0.052 ± 0.003	96
Serine	0.049 ± 0.002	91

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

The concentration of each amino acid added to the medium was 5 mM.

Values are mean ± range of variation for three experiments.

**Table 2. Effects of various amino acids in MRS media on the specific activity of *Lactobacillus plantarum* purine nucleoside phosphorylase (PNP)**

Addition to minimal medium (5 mM)	Specific activity of PNP (units/mg)	Relative activity (%)
None	0.46 ± 0.03	100
Tyrosine	0.45 ± 0.02	98
Tryptophan	0.34 ± 0.02	74
Proline	0.65 ± 0.04	141
Alanine	0.60 ± 0.05	130
Aspartate	0.43 ± 0.03	93
Leucine	0.53 ± 0.04	70
Lysine	0.36 ± 0.02	78
Glutamine	0.34 ± 0.02	74
Glycine	0.52 ± 0.03	113
Serine	0.32 ± 0.02	70

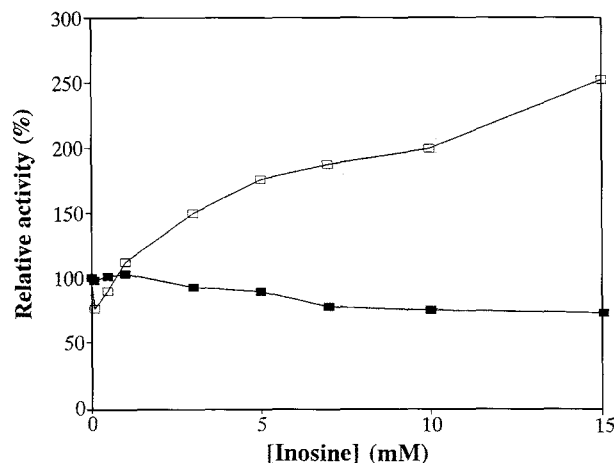
Experiments were carried out in MRS medium supplemented with each of amino acids.

The concentration of each amino acid added to the medium was 5 mM.

Values are mean ± range of variation for three experiments.

고 그 외에 티로신, 트립토판, 프롤린, 루신, 알라닌, 리신 그리고 세린을 사용하였다. 최소 배지에 5 mM의 여러 아미노산을 첨가시킨 후 세포 추출물의 *Serratia* PNP의 비활성도를 조사한 결과, 5 mM의 티로신, 트립토판 그리고 프롤린은 25% 정도 감소시켰다(Table 1). 5 mM의 알라닌, 루신, 리신, 글루타민, 글리신 그리고 세린은 대조군에 비해 *Serratia* PNP의 비활성도에 거의 영향을 주지 못한 반면, 아스파르트산은 10% 정도 약간 증가시켰다.

혐기성 세균이고 김치의 발효 균주인 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014의 PNP 생합성에 대한 아미노산의 첨가 실험도 MRS 배지에 5 mM의 여러 아미노산을 첨가시킨 후 세포 추출물의 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 조사하였다.

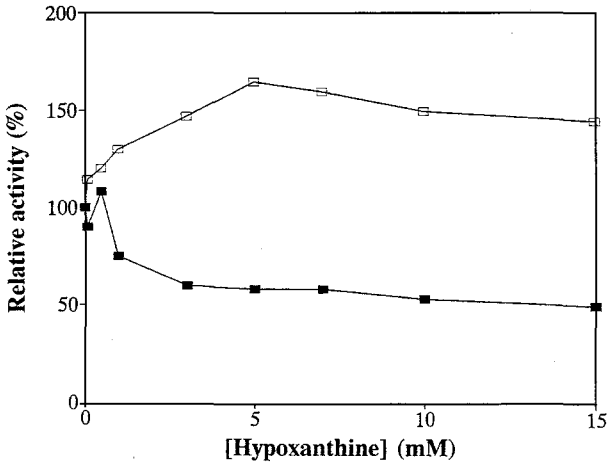


**Fig. 1. Effect of varying concentration of inosine in growth media on specific activity of *Serratia marcescens* (■-■) and *Lactobacillus plantarum* (□-□) purine nucleoside phosphorylase** *Serratia marcescens* ATCC 25419 cells were grown aerobically for 12 h at 30°C in modified Davis-Mingioli medium. *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 cells were grown anaerobically for 24 h at 37°C in modified MRS 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 inosine. Values are mean ± range of variation for three experiments.

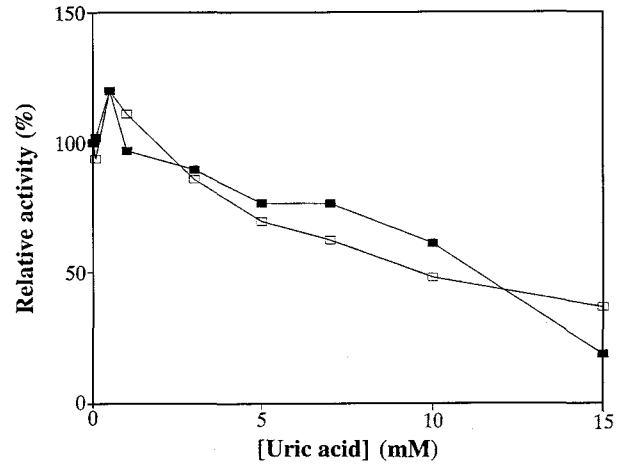
Table 2에서 나타난 바와 같이 5 mM의 글리신과 루신은 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 대조군에 비해 약 10% 정도, 그리고 5 mM의 알라닌과 프롤린은 30~40% 정도 증가시켰다. 한편, 5 mM의 글루타민, 리신, 세린 그리고 트립토판은 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 20~35% 정도 감소시킨 반면 5 mM의 아스파르트산과 티로신은 대조군에 비해 거의 영향을 주지 못하였다.

**여러 농도의 퓨린 뉴클레오시드가 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP의 활성에 미치는 영향**

퓨린 뉴클레오시드들이 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP의 생합성에 미치는 영향을 자세히 살펴보기 위해 각각 최소 배지와 MRS 배지에 퓨린 분해 대사 산물의 여러 농도를 세분화해서 조사하였다. PNP의 기질로 사용된 이노신은 대조군과 비교하여 0.1~1 mM의 낮은 농도에서는 거의 변화를 보이지 않았으나, 5 mM 이상의 농도에서 30% 정도 *Serratia* PNP의 비활성도를 감소시켰다(Fig. 1). 그러나, 이노신은 3 mM 이상의 농도에서 현저히 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 증가시키는 등 3~15 mM에서는 첨가한 농도에 비례적으로 비활성도를 증가시켰다(Fig. 1). 이노신은 5~15 mM의 농도에서 대조군에 비해 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 60% 이상 증가시켰다. PNP의 생성물이자 요산 생성의 중간체인 히포잔틴은 0.1~1 mM의 낮은 농도에서는 대조군에 비해 *Serratia* PNP의 비활성도에 거의 영향을 주지 않았으나, 5 mM 이상의 농도에서는 45% 정도를 감소시켰다(Fig. 2). 히포잔틴은 0.1~0.5 mM의 낮은 농도에서는 대조군에 비해 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 20%, 1~15 mM의 농도에서는 50~65% 정도 증가시켰으며 특히 5 mM의 농도에서는 비활성도를 65%



**Fig. 2.** Effect of varying concentration of hypoxanthine in growth media on specific activity of *Serratia marcescens* (■-■) and *Lactobacillus plantarum* (□-□) purine nucleoside phosphorylase  
Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of hypoxanthine. Values are mean±range of variation for three experiments.



**Fig. 3.** Effect of varying concentration of uric acid in growth media on specific activity of *Serratia marcescens* (■-■) and *Lactobacillus plantarum* (□-□) purine nucleoside phosphorylase  
Activities were expressed relative to the specific activities in the absence of uric acid. Values are mean±range of variation for three experiments.

증가시켰다(Fig. 2). 한편, 퓨린 분해 대사의 최종 산물인 요산은 0.5 mM의 농도에서 *Serratia* PNP의 비활성도를 20% 정도 증가시킨 반면, 5~10 mM의 농도에서 20~40% 정도, 그리고 15 mM의 농도에서는 80% 감소시켰다(Fig. 3). 요산은 0.5 mM의 농도에서 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 20% 정도 증가시킨 반면, 5~10 mM의 농도에서 20~50% 정도, 그리고 15 mM의 농도에서는 60% 감소시켰다(Fig. 3). 요산의 최종 분해 산물인 요소와 글리옥실산을 성장 배지에 첨가한 실험에서 요소는 조사한 농도에서 대조군에 비해 비활성도에 거의 영향을 주지 않았으나, 글리옥실산은 0.5 mM의 낮은 농도에서 비활성도가 대조군에 비해 20% 정도 증가된 반면 3~15 mM의 농도에서는 비활성도가 30~50% 정도 감소시키는 경향을 보여 준다고 보고되었다<sup>(12)</sup>.

이노신, 구아노신 그리고 아데노신과 이들의 디옥시뉴클레오시드는 PNP의 가인산 분해 반응에 의하여 대응 염기를 생성한다. *Micrococcus luteus* PNP는 기질인 이노신과 구아노신과는 정상적으로 반응하지만, 아데노신과는 아주 천천히 반응하고 이노신 유사체인 포르미신(formycin) B를 분해하지 못하며 피리미딘 뉴클레오시드들 중에서 티미딘은 기질로 작용하나 우라실은 작용하지 않는다고 보고되었다<sup>(17)</sup>. 포유동물 PNP에서 1-메틸이노신과 1-메틸구아노신, 7-메틸이노신 그리고 7-메틸구아노신은 기질로 작용한다고 보고되었다<sup>(18)</sup>. 이러한 결과들은 고리 N-7과 N-1 원자는 세균 PNP의 결합 자리에 포함되지 않는다고 추측된다. 사람 적혈구 PNP의 반응론적 결합 연구에서 뉴클레오시드와 퓨린 염기는 PNP와 대단히 강하게 결합하지만, 무기 인산과 리보오스-1-인산은 아주 약하게 결합되며 이노신에 대한  $K_m$  값은 인산보다 약 10배 정도 낮다고 보고되었다<sup>(18-20)</sup>. 인산, 리보오스-1-인산 그리고 뉴클레오시드에 의한 *E. coli* PNP의 안정화 방식은 유리 염기를 제외한 모든 기질이 PNP와 복합체를 형성하는 작용 기작과 일치한다고 보고되었다<sup>(21)</sup>. 기질 특이성면에서 *E. coli* PNP는 아데닌과 그 유사체를 기질로 사용하지만, 포유동물

PNP는 그러하지 못하는 데 이것은 아데닌 유사체의 뉴클레오시드의 효소학적 합성은 포유동물에서 유리 염기로 빨리 분해되지 않는다는 것을 의미한다. 따라서 PNP의 광범위한 분포와 다양한 기질 특이성을 미루어보아 뉴클레오시드 합성의 촉매가 널리 퍼져 있다고 사료된다.

이러한 결과들로부터 5 mM 이상 농도의 이노신과 히포잔틴은 *Serratia* PNP의 비활성도를 최소 30% 이상 감소시킨 반면, *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 60% 이상 증가시키는 등 퓨린 뉴클레오티드 분해 대사 과정에서 이노신과 히포잔틴은 특정 농도에서 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP 생합성에서 서로 상이한 조절 양상을 보여준다. 한편, 낮은 농도(0.5 mM)의 요산은 효소의 비활성도를 증가시키고 높은 농도(15 mM)의 요산은 감소시키는 등 퓨린 뉴클레오티드 분해 대사 과정에서 요산은 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP 생합성의 조절 역할을 하는 것으로 사료된다.

**요 약**

최소 배지와 MRS 배지에 여러 퓨린 뉴클레오시드를 첨가하여 각각 호기적과 혐기적 조건하에서 배양시킨 *Serratia marcescens* ATCC 25419와 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 세포 추출물에서 PNP의 비활성도를 조사한 결과 이노신은 5 mM 이상의 농도에서 *Serratia* PNP의 비활성도를 대조군과 비교하여 30% 정도 감소시켰으나, *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 60% 이상 증가시켰다. 히포잔틴은 0.1~0.5 mM의 낮은 농도에서는 *Serratia* PNP의 비활성도에 거의 영향을 주지 않았으나, 5 mM 이상의 농도에서는 45% 정도를 감소시켰다. 하지만 히포잔틴은 0.1~1 mM의 낮은 농도에서는 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 20%, 1~15 mM의 농도에서는 50~65% 정도 증가시켰다. 한편, 요산은 0.5 mM의 농도에서 *Serratia*와 *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 20% 정도 증가시킨 반면, 5~10 mM의 농도에서 20~50% 정도, 그리고

15 mM의 농도에서는 60~80% 감소시켰다. 이러한 결과들로부터 5 mM 이상 농도의 이노신과 히포잔틴은 *Serratia* PNP의 비활성도를 30% 이상 감소시킨 반면, *Lactobacillus* PNP의 비활성도를 60% 이상 증가시켰으며 낮은 농도(0.5 mM)의 요산은 효소의 비활성도를 증가시키고 높은 농도(15 mM)의 요산은 감소시키는 등 퓨린 뉴클레오티드 분해 대사 과정에서 요산은 *Serratia marcescens*와 *Lactobacillus plantarum* PNP 생합성의 조절 역할을 하는 것으로 사료된다.

## 문 헌

1. Kalckar, H.M. Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. *J. Biol. Chem.* 167: 429-443 (1947)
2. Kim, B.K., Cha, S. and Parks, R.E. Purine nucleoside phosphorylase from human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 243: 1763-1770 (1968)
3. Robertson, B.C. and Hoffee, P.A. Purification and properties of purine nucleoside phosphorylase from *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* 25: 2040-2043 (1973)
4. Jensen, K.F. and Nygaard, P. Purine nucleoside phosphorylase from *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Eur. J. Biochem.* 51: 253-265 (1975)
5. Lewis, A.S. and Glantz, M.D. Monomeric purine nucleoside phosphorylase from rabbit liver. *J. Biol. Chem.* 251: 407-413 (1976)
6. Moyer, T.P. and Fischer, G. Purification and characterization of purine nucleoside phosphorylase from bovine thyroid. *Arch. Biochem. Biophys.* 174: 622-629 (1976)
7. Ikezawa, Z., Nishino, T., Murakami, K., and Tsushima, K. Purine nucleoside phosphorylase from bovine liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 60B: 111-116 (1977)
8. Zannis, V., Doyle, D., and Martin, D.W. Purification and characterization of human erythrocyte purine nucleoside phosphorylase and its subunits. *J. Biol. Chem.* 253: 504-510 (1978)
9. Jensen, K.F. Two purine nucleoside phosphorylase in *Bacillus subtilis*. *Biochim. Biophys. Acta.* 525: 346-256 (1978)
10. Savage, B. and Spencer, N. Partial purification and of purine nucleoside phosphorylase from rabbit erythrocytes. *Biochem J.* 167: 703-710 (1978)
11. Surette, M., Gill, T., and MacLean, S. Purification and characterization of purine nucleoside phosphorylase from *Proteus vulgaris*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1435-1439 (1990)
12. Shin, J.R., Bang, S.K. and Choi, B.B. Metabolic role of glyoxylate on the biosynthesis of *Serratia marcescens* purine nucleoside phosphorylase. *Korean J. Food & Nutr.* 12(1): 43-49 (1999)
13. Seppo, S. and von Wright, A. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, Inc., N.Y. USA (1993)
14. Whang, K.C., Chung, Y.S. and Kim, H.S. Microbiological of aerobic bacteria. *Bull. Sci. Res. Inst.* 5: 51 (1960)
15. Davis, B.D. and Mingioli, E.S. Mutants of *Escherichia coli* requiring methionine or vitamin B12. *J. Bacteriol.* 60: 17-28 (1950)
16. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)
17. Choi, H.S. Purification and characterization of purine nucleoside phosphorylase in *Micrococcus luteus*. *Kor. J. Microbiol.* 31: 82-89 (1996)
18. Choi, H.S. Partial purification and characterization of purine nucleoside phosphorylase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor. J. Microbiol.* 29: 172-178 (1991)
19. Choi, H.S. Catalytic mechanism and inhibition studies of purine nucleoside phosphorylase (PNP) in *Micrococcus luteus*. *Kor. J. Microbiol.* 35: 15-20 (1997)
20. Ropp, P.A. and Traut, T.W. Allosteric regulation of purine nucleoside phosphorylase. *Arch. Biochem. Biophys.* 288: 614-620 (1991)
21. Jensen, K.F. Purine nucleoside phosphorylase from *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Eur. J. Biochem.* 61: 377-386 (1976)

(2001년 1월 17일 접수)