

## 트랜스글루타미나아제

### Transglutaminase

**정 의** 이 품목은 *Streptoverticillium mobaraense*의 배양물로부터 물로 추출한 다음 찬 에탄올로 처리하여 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 단백질 중의 글루타민과 아민화합물간의 아실전이반응을 촉매한다.

**성 상** 이 품목은 백~진한 갈색의 분말, 입상, 페이스트상 또는 무~진한 갈색의 액상이다.

**확인시험** 이 품목의 활성시험법에 따라 시험할 때 활성을 나타내어야 한다.

**순도시험** (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 4.0ppm 이하이어야 한다.

(2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 5.0ppm 이하이어야 한다.

(3) 대장균군 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 대장균군에 따라 시험할 때, 제품 1g당 30 이하이어야 한다.

(4) 살모넬라 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 살모넬라균 시험법에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

(5) 대장균 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물

시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

### 활성시험법(역가)

분석원리 : 본 역가시험은 글루타민산기와 히드록실아민과의 반응에 의한 글루탐산- $\gamma$ -히드록사메이트를 측정하는데 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 다음의 시험방법에 따라 시험할 때, 흡광도값이 0.3~0.7 범위에 들도록 검체를 취하여 0.2M 트리스염산완충액(pH 6.0) 약 45mL를 가하여 실온에서 30분간 교반 용해한 다음 전량을 0.2M 트리스염산완충액(pH 6.0)을 가하여 정확히 50mL가 되게 한다.

시험조작 : 시험용액 0.2mL를 정확히 취하여 시험관에 넣고  $37\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 1분간 예온시킨 다음 이 시험용액에 미리  $37\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 10분간 항온시킨 기질용액 2mL를 가해주고 즉시 흔들어 혼합시킨다. 이 액을  $37\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 정확히 10분간 방치시킨 후 발색시액 2mL를 가해주고 즉시 혼합하여 반응을 정지시킨 후 원심분리기로 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 침전물을 제거시키고 물을 대조액으로 하여 파장 525nm에서 흡광도를 측정한다. 따로, 효소공시험용액은 시험용액 0.2mL에 발색시액 2mL를 가하여 흔들어 혼합시키고  $37\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 10분간 방치시킨 후 기질용액 2mL를 가하여 혼합한 다음 원심분리기로 3,000rpm에서 이하 효소시험용액과 동일하게 조작한다. 효소시험용액의 흡광도에서 효소공시험용액의 흡광도를 빼준 값을 시험용액의 값으로 한다.

검량선의 작성 : L-글루탐산- $\gamma$ -모노히드록사메이트 64.8mg을 정밀히

달고 0.2M 트리스염산완충액(pH 6.0) 10mL를 가하여 녹인 것을 표준용액으로 한다(40 $\mu$ mol/mL). 이 액을 사용하여 1mL당 L-글루탐산- $\gamma$ -모노히드록사메이트를 8.0, 16.0, 20.0, 24.0, 32.0 $\mu$ mol을 함유하도록 L-글루탐산- $\gamma$ -모노히드록사메이트표준용액을 각각 조제한다. 각 표준용액 0.2mL를 정확히 취한 다음 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C에서 기질용액 2mL를 가하여 10분간 방치시킨 후 발색시액 2mL를 가하여 혼합하고 침전물을 시험용액과 동일하게 원심분리하여 제거시키고 물을 대조액으로 하여 파장 525nm에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도로 L-글루탐산- $\gamma$ -모노히드록사메이트 농도( $\mu$ mol/mL)에 대한 검량선을 작성한다.

다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/g)} = \frac{C \times D}{W \times 10}$$

C : 검량선에서 얻은 시험용액의 히드록사메이트의 농도( $\mu$ mol/mL)

D : 시험용액의 회석배수(mL)

W : 검체의 채취량(g)

10 : 반응시간(분)

역가의 정의 : 1 Transglutaminase unit는 상기시험조건 하에서 기질로부터 분당 1  $\mu$ mol의 히드록사민산(hydroxamic acid)을 생성하는 효소의 양이다.

시 액

기질용액 : 트리스히드록시메틸아미노메탄 2.42g, 염산히드록실아민 0.7g, 글루타치온 0.31g, 카보벤질옥시글루타미닐글리신 1.01g을 정밀히 달아 물 80mL에 녹이고 6N 염산으로 pH 6.0으로 하고 물을

가하여 100mL로 한다.

0.2M 트리스염산완충액(pH 6.0) : 트리스히드록시메틸아미노메탄 24.22g을 물 800mL에 녹인 후 2.8N 염산으로 pH 6.0으로 조정한다. 물을 가하여 전량이 1,000mL가 되게 한다. 5°C의 냉장고에 보관한다.

발색시액

제 1 액 : 3N 염산

제 2 액 : 삼염화초산( $\text{Cl}_3\text{COOH}$ ) 12g에 물을 가하여 100mL로 한다.

제 3 액 : 염화제이철( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 5g에 0.1N 염산을 가하여 100mL로 한다.

사용시 제 1 액, 제 2 액 및 제 3 액을 동량 섞어 잘 혼합하여 사용한다.

### 보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.