

제 목	방선균으로부터 생산되는 adenosine deaminase의 저해제 연구
연구자	김 경 자*
소 속	순천향대학교 유전공학과
내 용	<p>목적: Adenosine analogs의 항바이러스 효과나 항암효과를 증진시키고 독성이 적은 adenosine deaminase 저해제를 <i>actinomycetes</i>에서 분리, 정제하여 구조를 밝히고 병리학적 생리활성을 조사하고자 한다.</p> <p>방법: 토양에서 <i>actinomycetes</i>균을 선별한 후 항생물질을 생산하는 균주를 1차 screening하였다. 그후 adenosine deaminase inhibitor 생산배지에 배양한 후, 원심분리한 상등액을 취하여 adenosine deaminase inhibitor test를 하였다. Phosphate buffer에 균주 상등액과 adenosine deaminase를 넣고 10분간 preincubation후 adenosine을 첨가하여 반응시킨 다음 TCA로 반응을 정지시켰다. 이 반응액을 원심분리한 다음 상등액을 cellulose plate에 spot시켜 isoamylalcohol로 포화된 5% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액으로 전개시킨 후 UV로 adenosine과 inosine의 표준액과 Rf치를 비교, 조사하였다.</p> <p>결과 및 고찰: 토양으로부터 <i>Actinomycetes</i> 분리: <i>Actinomycetes</i>는 항생물질이나 항암물질을 많이 생산하는 중요한 균주로 의학계나 농업 분야에 널리 이용되고 있다. Adenosine deaminase저해제를 생산하는 균주를 찾기 위해 토양으로부터 <i>actinomycetes</i>를 분리하였다. Soluble-starch-casein배지와 AS-1배지를 이용하였는데 이들은 탄소원으로 용해성 전분을 공통적으로 함유하고 있다. 나무뿔이나 산, 언덕등의 건조한 토양이나 두엄이나, 두엄뿔의 토양을 탄산칼슘을 처리하여 주었을 때 <i>actinomycetes</i>가 많이 성장하는 것으로 알려져 있으므로 이러한 흙들을 채취하여 <i>actinomycetes</i> 분리에 사용하였다.</p>

항생물질을 생산하는 균주의 분리: 항생물질을 생산하는 토양균주의 screening을 위하여 순수배양과 항균효력 조사를 동시에 할 수 있는 agar 디스크 방법을 이용하였다. *Actinomyces* 선별배지에서 키운 colony를 아가디스크(V-8, TSA)에 streaking하여 배양한 후 *Bacillus subtilis*에 대한 항균효력을 조사하였다. 아가디스크 방법으로 조사하였을 때 항균효력을 나타내는 균주를 액체배지에 키워 (TSB, V-8 broth) 생성된 항생물질의 항균효력을 종이 디스크 확산법으로 조사하였다.

Assay of Adenosine Deaminase Inhibitor: 항균효력을 가진 *actinomyces* 균주들을 adenosine deaminase inhibitor 생산배지에 배양 후 상등액에서 adenosine deaminase 활성을 억제하는지 여부를 조사하였다. Adenosine이 adenosine deaminase에 의해 deamination되어 inosine으로 변화하는지, 상등액의 inhibitor에 의해 이 과정이 억제되는지 여부를 TLC plate에 spot한 반응액의 Rf치를 UV로 관찰하여 adenosine, inosine 표준품과 비교하였다. 그 중에서 adenosine이 inosine으로 변화되지 않았거나 약간 변화된 adenosine deaminase inhibitor 생산 균주의 상등액만을 골랐다. 앞으로 이 균주를 대량 배양하여 상등액에서 adenosine deaminase inhibitor를 분리 정제하고 inhibitor 생산의 최적조건을 찾으려고 한다.