

## *Vibrio parahaemolyticus*에 의한 Alkaline Protease 생산조건(Ⅱ)

한종훈 · 강현록 · 황미경 · 김병철 · 양지영 · 차재호\*  
부경대학교 · \*부산대학교

### 서론

매년 많은 식중독 사고가 보고되고 있는데, 특히 우리나라에서는 생선의 소비량이 많기 때문에 *Salmonella* 다음으로 *Vibrio*에 의한 식중독 사고가 높은 것으로 보고되고 있다. 이러한 세균성 식중독은 일반적으로 미생물이 숙주세포에 침입을 해야 하는데, 이를 위해 우선적으로 숙주세포 표면의 여러 단백질 층을 분해해야 한다. 이때 작용하는 단백질 분해효소가 병원성에 직·간접적으로 관여된다고 생각되고 있으며, 비브리오균이 생산하는 여러 가지 단백질 분해효소가 인간이나 어류의 병원성에 관여되어진다고 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 식중독 미생물 중의 하나인 비브리오균을 대상으로 이 균이 생산하는 alkaline protease의 생산조건을 조사하였다.

### 재료 및 방법

실험재료 : 본 실험에서 사용된 균주는 *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802을 사용하였고, 배지는 skim milk(Difco)를 질소원으로 한 배지를 사용하였다.

Alkaline protease activity 측정 : 균 배양액을 원심 분리하여 균을 제거하고, 1% azocasein(pH 9)을 첨가하고 40°C에서 30분간 반응시킨 후 10% TCA 용액을 첨가하여 반응을 중지시킨다. 이 반응된 액을 원심 분리하여 침전물을 제거하고 450nm에서 흡광도를 측정한다.

배양조건 : 2% skim milk, 0.4M NaCl, 2mM CaCl<sub>2</sub>를 포함한 배지 100ml에 균을 여러 pH·온도·진탕 속도에 따라 60시간, 72시간 배양한 후 균체를 제거한 상등액에 대한 alkaline protease의 활성을 조사하였다.

### 결과 및 요약

배양 초기 pH에 따른 실험결과, pH 7.6에서 60시간 배양한 후 8unit, 72시간 배양한 후 7.4unit로 alkaline protease 활성이 높게 나타났다.

배양 온도에 따른 실험결과, 37℃에서 60시간 배양한 후 7.3unit, 72시간 배양한 후 6.9unit로 alkaline protease 활성이 높게 나타났다.

배양시 진탕 속도에 따른 실험결과, 250rpm에서 60시간 배양한 후 6.8unit, 72시간 배양한 후 6.9unit로 alkaline protease 활성이 높았다.

### 참고문헌

- Susan Long, M. A. Mothibeli, F. T. Robb and D. R. Woods. 1981. Regulation of Extracellular Alkaline Protease Activity by Histidine in a Collagenolytic *Vibrio alginolyticus* Strain. *Journal of General microbiology* 127: 193-199.
- Graham C. Reid, David R. Wood, and Frand T. Robb. 1980. Peptone Induction and Rifampin-Insensitive Collagenase Production by *Vibrio alginolyticus*. *Journal of Bacteriology* May: 447-454
- 오양호 · 박영민 · 차미선 · 김민정. 1998. *Vibrio parahaemolyticus* bc-7가 생산하는 protease에 관한 연구. *감염* 제30권 제1호 vol. 30, No. 1: 24-35