

불가사리 (*Asterina pectinifera*)로부터 항균성 물질의 정제

서정길, 김찬희, 김은정, 고혜진, 김인혜, 김창훈*, 박남규
부경대학교 수산과학대학 생물공학과, *양식학과

서론

지금까지 많은 항균성 펩타이드가 포유류 (1), 양서류 (2), 곤충 (3) 및 식물 (4)로부터 단리·정제되었고, 구조-활성간의 연구가 활발히 진행되고 있지만, 이러한 연구는 육상생물에 제한적으로 수행되어 졌으며 해양생물을 대상으로 한 연구는 극히 제한되어 있는 상태이다. 해양생물로부터 정제된 항균성 펩타이드로서는 Flounder skin 분비물에서 pleurocidin (5), Moses sole fish에서 pardaxins (6), Horseshoe crab에서 Tachyplesin I (7), Tunicates hemocytes에서 Clavanins (8), Mollusc에서 Mytilins (9) 등이 보고되고 있지만 불가사리를 이용한 항균성물질의 연구는 희박한 실정이다.

본 연구는 어패류 양식 등에 많은 피해를 입히고 있는 불가사리로부터 새로운 항균성 물질을 분리, 정제하기 위해서 연속적으로 역상, 분자량 및 이온교환 크로마토그라피를 행하였다. 또한 각각의 정제과정에서 얻은 분획들의 항균활성은 *B. subtilis* PM125를 이용하여 filter paper disk method로 측정하였다.

여러 가지의 정제과정을 수행한 결과 불가사리로부터 항균활성을 나타내는 물질을 분리, 정제하였으며 현재 구조분석 중에 있다.

재료 및 방법

1. 추출 및 정제

동결된 불가사리를 끓는 물에 10-15 min간 끓인 후, 3 % acetic acid를 넣고 4 °C에서 3시간 교반하였다. 그 후, 30 min 동안 4 °C에서 8000 rpm으로 원심분리 하여 얻은 상층액을 농축시킨 다음 ethanol과 0.1 N HCl을 첨가하여 불순물을 제거하였다. 추출액을 Sep-Pak C₁₈ cartridge에 주입하여 H₂O로 씻은 다음 10 % methanol (RM10)과 60 % methanol (RM60)로 물질들을 각각 용출시켜 동결건조를 하였다. 항균활성 측정 결과 강한 활성을 나타낸 RM60으로부터 활성 물질을 정제하기 위해서 역상, 분자량 및 이온교환 HPLC를 순차적으로 이용하여 정제과정을 수행하였다.

2. 항균활성측정

분리한 물질들에 대한 항균활성 측정은 filter paper disk method (Advantec, Toyo, 8 mm)를 이용하여 *B. subtilis* PM125에 대한 성장억제를 관찰함으로써 확인하

였다.

결과 및 요약

불가사리로부터 얻은 추출물을 Sep-Pak C₁₈ cartridge에 도입을 하여 얻은 분획중 60 % methanol (RM60) 추출물이 *B. subtilis* PM125에 대해서 항균활성을 나타내었다. RM60으로부터 서로 다른 분리 특성을 지니는 column들을 사용하여 새로운 항균활성 물질을 단리하였으며 현재 구조분석 중에 있다. 이러한 결과는 해양 생태계뿐만 아니라 어패류 양식에 피해를 입히고 있는 불가사리와 같은 미이용 생물을 새로운 생리활성 물질을 개발하기 위한 원료로 이용할 수 있는 가능성을 보여주는 것이다.

참고문헌

1. Lehrer, R.I., Lichtenstein, A.K. and Ganz, T. D. (1993) *Annu. Rev. Immunol.* 11, 105-128.
2. Zasloff, M. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 5449-5453.
3. Steiner, H., Hiltmark, D., Engstrom, A., Bennich, H. and Boman, H. G. (1991) *Nature* 292, 246-248.
4. Cammue, B.P., De Bolle, M.F., Terras, F.R., Proost, P., Van Damme, J., Rees, S.B., Vanderleyelen, J. and Broekaert, W.F. (1992) *J. Biol. Chem.* 267, 2228-2233.
5. Alexander, M.C., Peddrick, W. and Gill, D. (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 12008-12013.
6. Tompson, S.A., Tachibana, K., Nakanishi, K. and Kubota, I. (1986) *Science* 233, 341-343
7. Nakamura, T., Furunaka, H., Miyata, T., Tokunaga, F., Muta, T. and Iwanaga, S. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 16709-16713.
8. Lee, I.H., Zhao, C., Cho, Y., Harwig, S.S., Cooper, E.L. and Lehrer, R.I. (1997) *FEBS Letters*. 400, 158-162
9. Charlet, M., Chernysh, S., Philippe, H., Hetru, C., Hoffmann, J.A. and Bulet, P. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 21808-21813