

## 바지락 단백질 Thermolysin 가수분해물의 ACE 저해 Peptide의 특성

이태기 · 염동민\* · 박영범\*\* · 김선봉\*\*\*

남도대학 해양식품산업과 · \*양산대학 식품가공제과제빵과 ·  
\*\*강원전문대학 식품생명과학과 · \*\*\*부경대학교 식품생명공학부

### 서론

순환기계 질병의 원인이 되는 동시에 뇌출혈, 심장병 및 신장병 등과 합병증으로 나타날 경우 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환인 고혈압의 90% 이상을 차지하는 본태성 고혈압은 정상적인 혈압을 유지하는 기구들이 천천히 붕괴되어 진행되는 질병이다(Frohlich, 1982). 이러한 본태성 고혈압의 원인 중에서 renin · angiotensin계 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다(Saxena, 1992). 즉, angiotensinogen이 renin의 분해를 받아서 angiotensin I을 생성하는데, 이는 angiotensin converting enzyme(ACE)에 의하여 COOH 말단의 dipeptide가 절단되어 강력한 혈관수축작용을 하는 angiotensin II를 생성한다. 또한 ACE는 혈관확장작용을 가진 bradykinin을 분해하여 불활성화시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다(Manjusri and Richard, 1975). 이와 같이 혈압의 상승에는 ACE가 크게 관여하므로 혈압의 강하에는 ACE의 저해가 필수적이라 하겠다.

ACE의 작용을 저해함으로써 혈압강하활성을 갖는 물질로는 다양한 종류의 식품단백질 효소 가수분해물 유래의 peptide류를 중심으로 한 연구가 지속적으로 진행되어 왔다. 또한 일본의 경우 casein 유래의 dodecapeptide를 함유한 청량음료수인 「カゼインDP」가 특정보건용식품의 하나로 시판되고 있다.

본 연구에서는 각종 패류로부터 ACE 저해물질의 검색을 행한 결과, 전남 서남해안 지역특산물인 바지락 단백질의 thermolysin 가수분해물중에서 그 저해활성이 확인되어, 이로부터 ACE 저해 peptide를 분리하여 그 저해효과를 검토하였다.

### 재료 및 방법

전남 득량만산 바지락(*Ruditapes philippinarum*) 100g을 증류수 300ml에 넣어 10분간 비등한 후, polytron으로 균질화하였다. 이를 thermolysin으로 가수분해한 다음, 한외여과막(PM-10, Amicon. Co.)을 사용하여 분자량 10,000 이하의 저분자물질을 회수하였다. 이를 Sephadex LH-20 column(Pharmacia Fine Chemicals, 26×900 mm)을 사용한 gel 여과 및 SP-Toyopearl 650S column(Tosoh Co., Ltd., 16×650 mm)과

SuperQ-Toyopearl 650S column(Tosoh Co., Ltd., 16×650 mm)에 의한 이온교환 크로마토그래피를 이용하여 저해물질을 분리하였다. ACE는 정제 효소 시판품(Sigma Co.)을, 기질은 Hippuryl-His-Leu(Sigma Co.)을 사용하였으며, ACE 활성 측정은 조효소를 이용한 기존의 분광광도계를 사용하는 방법(Cushman and Cheung, 1971)을 개선하여 Zorbax 300SB C8 column을 이용한 HPLC로써 효소 반응에 의해 유리된 hippuric acid를 정량하였다. ACE 저해 peptide의 아미노산 조성은 산 분해에 의한 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotec. Co.)를 사용하여 정량하였다.

## 결과 및 요약

분획분자량 10,000의 한외여과막 PM-10을 통과한 저분자량의 물질을 Sephadex LH-20 column을 이용한 gel 여과에서 ACE에 대하여 저해 활성을 가지는 3개의 획분을 회수하여 SP-Toyopearl 650S column과 SuperQ-Toyopearl 650S column을 이용한 이온교환 크로마토그래피에 의하여 4개의 활성 획분을 회수하였다. 이 중 가장 높은 저해 활성을 나타내는 획분의 아미노산 조성은 leucine, isoleucine, alanine 및 threonine의 함량이 많았고, 활성 발현에 있어 COOH 말단 아미노산 잔기로서 중요한 역할을 하는 proline 함량도 3.7%인 것으로 나타났다. ACE 저해 활성은 IC<sub>50</sub> 값이 0.748 $\mu$ g이었다. 이에 대한 아미노산 배열 해석은 추후 실험을 통하여 규명하고자 한다.

## 참고문헌

1. Frohlich, E. D. (1982) : Hemodynamic factors in the pathogenesis and maintenance of hypertension. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **41**, 2400~2408.
2. Saxena, P. R. (1992) : Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **19**(6), S80~S88.
3. Manjusri, D. and L. S. Richard (1975) : Pulmonary angiotensin-converting enzyme. *J. Biol. Chem.*, **250**(17), 6762~6768.
4. Cushman, D. W. and H. S. Cheung (1971) : Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, **20**, 1637~1648.