

숙성 어간장으로부터 Fibrin 용해활성과 Protein 분해활성을 가지는 *Bacillus* sp.의 최적성장조건 및 동정에 관한 연구

신일식 · 이상수 · 김상무 · 박옥연*

강릉대학교 해양생명공학부 · *강원도립대학 식품생명과학과

서론

최근 전 세계적으로 혈관내 장애에 의한 사망률이 증가하고 있으며 그 중 뇌졸중은 현재 우리 국민들의 사망원인 중에서 높은 수위를 차지하고 있는 질환 중의 하나이다. 이러한 뇌졸중이 발생하는 경우는 여러 가지 원인이 있으나, 혈액 내에 존재하는 혈전(Fibrin)들이 혈관 벽에 침착하게 되어 혈액의 흐름을 방해함으로써 각조직으로의 원활한 영양분 및 산소의 공급을 차단하게 되고, 이로 인하여 동맥 벽이 변성을 일으켜 동맥압을 이겨내지 못하고 파열되어서 직접적인 사망의 원인으로 작용하게 된다. 이러한 혈전의 생성을 사전에 억제하거나, 생성되어진 혈전을 제거하기 위한 많은 연구들이 시행되어져 왔으며, 최근에 전통발효식품이나 곤충, 식물들과 같은 새로운 분리원으로부터 혈전의 억제·용해물질들을 분리 해내고 있다

본 연구는 숙성 어간장의 제조 및 생리활성기능을 부여한 신개념의 어간장 제조용 stater로서 이용 가능한 예비 균주 탐색을 목적으로 전통발효식품의 하나인 어간장으로부터 혈전 용해활성과 단백질 분해 활성을 가지는 균주를 분리하여, 최적 성장 조건을 조사하였으며, 분리 균주의 동정을 위해서는 16S rDNA의 염기서열을 분석하여 새로운 분류체계에 따라 동정을 시도하였다.

재료 및 방법

시료 : 본 실험에 사용되어진 어간장은 강원도 속초시에 위치한 품미(株)의 숙성 탱크에서 1, 3, 5년 숙성되어진 멸치 어간장을 냉장 보관하면서 분석용 시료로 사용하였다.

균주의 분리, 배양 : 2%의 skim milk를 첨가한 MRS agar 평판에 어간장 100 μ l

을 도말평판법에 의하여 27.5℃에서 48hr 배양 후 투명환이 생긴 colony를 선별하여 MRS agar slant에 계대 보관하면서 실험균으로 사용하였다.

Protein 분해활성 실험 : Skim milk test를 행하여 투명환의 크기를 측정하였으며, 대조 균주로는 Protease 활성이 있는 *Bacillus subtilis* ATCC 6633을 사용하였다.

Fibrin 분해 활성 실험 : Astrup등의 방법을 일부 수정한 Fibrin plate method에 의하여 투명환의 크기를 측정하였고, 대조구로는 Plasmin(Sigma. Co.)를 사용하였다.

분리균주의 동정 : *E. coli*의 16S rRNA를 primer로 하여 PCR로 증폭시킨 후, ABI 310 genetic analyzer로서 DNA sequence를 분석하였으며, BLAST DNA database search service를 이용하여 동정하였다.

결과 및 요약

1. Protease활성이 있는 Strain JM1, JM2, JM3를 분리하였으며, JM3가 가장 강한 Protease활성을 보였다.
2. Strain JM1, JM2, JM3 모두에서 Fibrin 용해활성을 보였으며, 균주들 상호간의 현저한 차이는 없었다.
3. 분리균주의 최대성장 온도는 37℃부근이며, pH는 7로 나타났다.
4. 16S rDNA의 염기 서열을 분석한 결과 분리균주 모두 *Bacillus subtilis*와 99%의 상동성을 보이는 근연종으로 나타났다.

참고문헌

- Messina M., 1995, Modern applications for an ancient bean : soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J. Nutr.* 125~567
- Lee J.G and W.K. Choe. 1974. Studies on the variation of microflora during the fermentation of anchovy, *Engraulis japonica*. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 7(3), 105~114(in Korean)
- Cha, Y.J and E.H. Lee. 1989. Studies on the processing of rapid fermented anchovy prepared with low salt contents by adapted microorganism 1. Biochemical characterization of proteolytic bacteria and their extracellular protease isolated from fermented fish paste. *J. Korean Fish. Soc.*, 22(5), 363~369
- Larsen, N., G.J. Olsen, B.L. Maidak, M.J. McCaughey, R. Overbreek, T.J. Macke, T.L. Marsh, and C.R. Woese. 1993. The ribosomal database project. *Nucleic acids Res.*, 21, 3021~3023.