

불가사리 (*Asterina pectinifera*)로부터 생리활성물질의 탐색 및 정제

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

서론

생리활성물질에 대한 연구는 주로 육상에 존재하는 생물종, 특히 포유류를 이용한 구조와 활성간의 연구가 활발히 진행되어져 왔다.^{1,2} 그러나 최근 들어 육상과 다른 특이한 생태계의 구성과 그 생물종의 다양성으로 해양생물의 성분과 기능성물질에 대한 관심이 증대됨에 따라 해양생물이 함유한 생리활성물질에 대한 연구가 활발히 진행되어 그 구조 및 특성에 대한 보고가 있다.^{3,4}

극피동물인 불가사리는 현재 패류양식에 있어 큰 피해를 주고 있는 해양생물로 국내에서는 이들의 구제사업에 많은 관심이 집중되어왔으나 이러한 미 활용 자원으로부터 유용한 생리활성물질에 대한 연구는 전무한 실정이다. 또한 불가사리를 이용한 생리활성물질에 관한 이전연구는 molluscan FMRF-amide-related neuropeptide에 대한 radioimmunoassay를 이용하여 *Asterisa rubens*, *Asterias Forbesi* 두 종의 radial nerve cord로부터 새로운 peptides (SALMFamides-S1, S2)가 정제되었으나^{5,6} 이러한 연구는 그다지 많이 진행되어있지 않다. 따라서 본 연구에서는 양식장의 해적생물로 알려진 불가사리 (*Asterias pectinifera*)를 이용하여 새로운 생리활성 물질을 분리 정제하고자 한다.

재료 및 방법

1. 불가사리로부터 생리활성물질의 추출 및 정제

액체질소로 동결시킨 불가사리를 끓는 물에서 10~15분 동안 가열, 냉각 뒤 5% 초산이 되도록 초산을 첨가하여 추출한 뒤 파쇄하여 원심분리하였다. 메탄올과 에탄올 등의 유기용매처리로 고분자의 단백질, 지질, 당질 등을 제거 후 원심분리를 통하여 얻어진 상층액을 Sep-pak C₁₈ cartridge에 도입하여 0%(D.W), 10%(RM 10), 60%(RM 60), 100% methanol(RM 100)로 각각 용출시킨 뒤 여러 동물들의 평활근에 대한 활성을 screening하였다. 그 후 활성 fraction을 reverse-phase, ion-exchange 및 gel-filtration HPLC를 반복적으로 수행하여 생리활성물질을 정제하였다.

2. Bioassay

불가사리로부터 근수축활성 peptide를 정제하기 위해서 먹장어 intestine을 사용하여 활성을 측정하였다.

먹장어 intestine을 30 ~ 50 mm정도 길이로 재빨리 잘라내어 ringer용액내에서 지방과 불필요한 결체조직 등을 제거한 뒤 5 ~ 15 mm의 길이로 위, 아래를 묶고, 아래는 Ringer용액이 담긴 organ bath에 고정, 위쪽은 isometric transducer에 연결하여 정지상태에서 장력을 건 후 aeration시킨다. 실온에서 15분 간격으로 ringer용액을 갈아주면서 1~2시간동안 평형화시켜 안정화시킨 후 분획물들을 투여하여 physiograph상에 기록한다.

3. Mass analysis ; MALDI-TOF mass

(Voyager-DETM STR, Perseptive Biosystems)

결과 및 요약

Sep-pak C₁₈ cartridge를 이용하여 얻은 각각의 추출물을 Rat, 먹장어, 소라고동, 해삼의 근조직을 이용하여 근수축활성을 측정한 결과 Rat의 십이지장에 대해 D.W와 RM10만이 수축반응을 보였으며, 먹장어 장관에 대해 RM60은 강한 활성을 보인 반면 RM10은 약한 수축활성을 보였다.

RM100은 소라고동의 siphon의 red muscle에 대해 수축활성을 보였으며 해삼의 radial longitudinal muscle에 대해서는 D.W만이 수축활성을 보였다.

따라서 먹장어 장관에 대해 수축활성을 보인 RM60을 reverse-phase, ion-exchange 및 gel-filtration HPLC로 반복 수행한 결과 곰장어의 평활근을 수축시키는 1133 및 875의 분자량을 가진 두 개의 펩타이드를 정제하였으며, 현재 구조분석 중에 있다.

참고문헌

1. Colon J. M., Katsonils S., Schmidt W. E. and Thim L. (1988) *Regul. Pept.*, 20, 111-116
2. Cheug NS, Basile S. and Livett BG (1993) *Neuropeptides*, 24, 91-97
3. Nathacker H. P., Rinehart K. L., Macfarlane I. D. and Grimmelhuijzen C. J. P. (1991) *Peptides*, 12, 1165-1173
4. Jensen J. and Colon J. M. (1992) *Eur. J. Biochem.*, 206, 659-664
5. Elphick MR, Price DA, Lee TD, Thornedyke MC (1991) *Proc R Soc Lond B Sci.* 22;243(1307):121-7
6. Elphick MR, Reeve JR Jr, Burke RD, Thornedyke MC (1991) *Peptides* 12(3) : 455-9