

버섯 균사체 배양에 의한 혈전용해효소 생산 조건의 검토

이미희, 정은미, 이수연, 고은경, 조한영, 주우홍¹, 정영기
 동의대학교 미생물학과, ¹창원대학교 생물학과
 전화 (051) 890-1534, FAX (051) 894-0840

Abstract

The mycelium of 3 edible mushrooms, *Shizophyllum commune*, *pleurotus ostreatus*, *Tricholoma* sp. was cultured in a liquid for the production of a fibrinolytic enzyme. Among them, *Shizophyllum commune* produced highest amount of the enzyme.

The intramycelial production of the fibrinolytic enzyme by the culture of the *Shizophyllum commune* mycelium was approximately 6-fold higher than the extramycelial production. The carbon and nitrogen sources for the production of the enzyme were 1.5% corn steep liquor and 1.0% soytone, respectively, and optimal culture temperature and initial pH were 25°C and pH 6, respectively.

서론

순환계의 질환은 대부분 혈전에 기인하는데 이 혈전의 원인이 되어 질병을 유발시키는 것을 혈전성 성인병이나 혈전증이라고 한다. 이러한 순환계 질환들을 치료하기 위한 혈전 용해에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재 사용되고 있는 혈전 용해제로는 사람의 뇨에서 추출한 Urokinase, *Staphylococcus* sp. 유래의 Staphylokinase, *Streptococcus haemolyticus* 유래의 Streptokinase, 악성종양인 melanoma cell 유래의 tissue plasminogen activator(tPA) 등이 있으나 출혈 등과 같은 부작용이 있으며 반감기가 짧고 가격도 고가인 단점이 있다. 최근에는 된장, 청국장 등에서 안전한 혈전용해제를 찾는 연구가 진행되고 있으며, 정 등에 의하여 Bacillokinase(BK), Myuchikinase(MK) 등의 혈전용해효소 연구가 진행되고 있다. 본 발표 내용은 그 연장선상의 연구로서 식용버섯의 균사체를 액체 배양하여 배양액으로부터 분비성 혈전용해효소를 발견하였기에 생산조건을 검토한 결과이다.

재료 및 방법

사용 균주 및 배양

사용균주는 *Shizophyllum commune*(치마버섯), *Pleurotus ostreatus*(느타리 버섯), *Tricholoma* sp.(송이 버섯)의 균사를 일본 무코우가와 여자대학교로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 배양은 고체배지에 배양된 균사체의 선단을 무균적으로 취하여 액체배지에 접종하여 진탕배양 하였다. 액체배지의 조성은 0.1% KH₂PO₄, 2% glucose, 1.5% corn steep liquor, 1% soytone (pH 6)였으며, 액체 배양은 300ml의 삼각 flask에 150ml의 배지를 첨가하여 배양하였다. 배양 조건은 온도 25°C에서 80rpm round shaker에서 8~10일간 배양하였다.

혈전 용해 효소 활성 측정

효소 활성 측정은 fibrin plate method(1,2)에 의하여 수행하였다. 즉, 원리는 fibrinogen에 thrombin를 가하면 fibrin이 응고되어 plate로 굳어진다. 그 fibrin plate위에 시료를 접촉시켜 37°C에서 시간별로 반응시켜서 fibrin이 분해되는 분해면적을 측정하여 활성의 유무, 대소를 판단하였다.

