

P87

***Aeromonas hydrophila* JH 유래의 혈전용해효소의 특성**조한영, ¹주우홍, ²류충호, 정영기

동의대학교 미생물학과

¹창원대학교 생물학과²경상대학교 식품공학과

*Aeromonas hydrophila*로부터 혈전용해효소 생산을 검토한 결과 1.0% dextrose, 1.0% tryptone, 0.5% skim milk의 배지에서 37°C, 160rpm에서 24시간동안 배양하는 조건을 얻었다. 효소의 정제를 위해 배양액을 13K, 20min 동안 원심분리하여 상등액을 정제과정에 이용하였다. 조효소액은 DEAE Sephadex A-50 ion exchange column chromatography, Sephadex G-75 gel filtration column chromatography, Supherdex 75HR column FPLC를 이용하여 SDS-PAGE 단일밴드까지 정제하였다.

Non-denaturing electrophoresis, SDS-page 상에서 단일band를 확인하였고 그 활성을 fibrinogen zymography에서 확인하였다.

정제효소는 pH 6.0~9.0에서 높은 안정성을 나타내었으며, pH 8.0에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 온도안정성에 있어서 50°C이하에서는 높은 안정성을 나타내었으며, 최적 반응온도는 40°C이며, 50°C이상에서 급격히 실활 됨을 알 수 있었다.

Protease inhibitor의 경우 지금까지 알려진 serine protease 계열과 달리 EDTA에 의하여 저해됨을 알 수 있었고, Ca²⁺에 의하여 그 활성이 회복됨을 보였다. 따라서 본 효소는 metalloprotease인 것으로 사료된다.

정제된 효소를 일반적인 protease의 기질인 skim milk, casein plate와 blood agar, fibrin plate 상에서 그 활성을 비교하였을 때, fibrin plate 상에서 특이적인 활성을 나타내었다. 또한, plasminogen의 의존성을 확인한 결과 90% 이상의 plasminogen의 농도와 관계없이 활성을 나타내었다. 따라서 본 효소는 fibrin에 직접적으로 작용하는 혈전용해효소임을 알 수 있었다.

Fibrin의 전구체인 fibrinogen에 대한 효소의 반응에서 fibrinogen의 α chain을 매우 빠르게 분해하였으며, β, γ chain 순으로 분해하는 양상을 나타내었다.

*Aeromonas hydrophila*로부터 분리 정제된 혈전용해효소의 N-terminal sequence는 X-D-A-T-G-P-G-G-N-V-X-T-G-K-Y로 나타났으며, 지금까지 알려진 protease 와 혈전용해효소와는 전혀 다른 서열임을 확인하였다.