

PA-2

해양생물로부터 agarase 생성균주의 분리 및 특성

김석렬 · 임수진 · 오명주* · 변대식 · 김형락
부경대학교 *여수대학교

서론

한천은 우뭇가사리, 풀가사리 등에서 분리되는 해조 다당류이며, 한천을 원료로 한 oligosaccharades는 식품, 화장품 및 제약산업에 있어서 많이 응용되는 것으로 알려져 있다 (Kobayashi et al., 1997; Yoshizawa et al., 1995). 한천 oligosaccharides는 저칼로리 식이제조시 첨가물로 이용될 수 있고, 미백효과가 있으며, 면역강화기능, 항암활성, 항산화활성 등으로 인한 기능성을 함유하고 있다.

Agar로부터 oligosaccharades를 제조하기 위해서는 산분해, 열분해 등의 방법들이 이용되었으나, 최근에는 효소에 의한 oligosaccharades 생산이 시도되면서, agarase의 유전자원과 생성균의 분리가 보고되고 있다.

1950년대에 한천분해 미생물이 발견된 이래, 해양과 토양으로부터 agarase를 생산하는 많은 미생물이 분리되었고, 해양으로부터 분리된 대부분의 한천분해효소 생산 미생물은 *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio* 등이며, 이들 미생물로부터 유전자가 밝혀졌다.

이에 본 연구팀은 해양생물로부터 agarase를 생산하는 해양미생물 탐색을 진행 중에 있으며, 소라로부터 agarase 생성균주를 분리하였기에 보고한다.

재료 및 방법

Agarase 분해효소 생산 균주를 분리하기 위해 해조류를 식이로 하는 소라의 위 내용물을 사용하였다. 균주 분리용 배지는 Agar를 첨가한 최소배지 (NH_4Cl 1.0 g, Na_2HPO_4 4.8 g, KH_2PO_4 4.4 g, NaCl 20 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.5 g, CaCl_2 0.1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002g, agar 15 g/L pH 7.5)에 도말하여, 25°C에서 2일간 배양하여, 생육한 colony를 선별하여 회수하였다.

분리된 균주는 Gram 염색, 운동성, Biomerieux 시험을 통하여 생화학적 특성과

fatty acid 분석을 하였다. 세균의 크기, 외부 형태와 flagella는 TEM으로 관찰하였다. 유전학적 분류를 위해서는 16S rDNA의 PCR 산물을 DNA sequencer로 분석하여 유전학적 계통도를 작성하였다.

결과 및 요약

소라의 위 내용물에서 분리된 agarase 생성균주 (SRA-1)는 호기성, Gram-negative, 간균으로, 운동성이 없으며, Marine broth plate 배지에서 흰색 colony를 형성하였다. SRA-1균주는 NaCl이 1-2%, 온도는 20-25°C일 때 성장이 가장 좋았다. SRA-1균주의 16S rDNA에 의한 유전학적 동정결과, SRA-1균주는 *Agarivorans albus*와 99% 이상의 homology를 나타내었으며, 좀 더 정확한 동정을 위해 근연종간의 DNA-DNA hybridization이 요구되었다. Agarase 생산을 위한 배양 조건으로는 온도 25°C, pH 8.0에서 4일 배양하였을 때 가장 높은 활성을 나타내었다.

참고문헌

- Haard. Specialty enzymes from marine organisms. Food Technol. 1998. 52(7), 64- 52.
- Kobayashi R, Takisada M, Suzuki T, Kirimura K, Usami S. Neoagarobiose as a novel moisturizer with whitening effect. Biosci Biotechnol Biochem 1997. 61:162 - 163.
- Yoshizawa Y, Ametani A, Tsunehiro J, Nomura K, Itoh M, Fukui F, Kaminogawa S. Macrophage stimulation activity of the polysaccharide fraction from a marine alga (*Porphyra yezoensis*): structure - function relationships and improved solubility. Biosci Biotechnol Biochem 1995. 59:1933 - 1937.