

해양유래 방선균인 *Nocardiosis* sp. S-1 의 최적배양조건 및 항산화 활성에 대한 연구

강선경 · 김만철 · 박근태¹ · 허문수*

제주대학교 해양과학대학 해양생물공학과, ¹부산대학교 산학협력단

서론

방선균은 분류학적으로 진정세균과 진균의 중간적 위치를 차지하고 있는 경계 미생물로 자연계에 널리 분포되어 있으며, 질병의 원인이 되기도 하지만 항생물질을 비롯한 각종 2차 대사산물의 생산자이자, 광범위한 기질의 분해자이기 때문에 오래 전부터 산업적으로 이용되었고, 천연유기 화합물의 보고로서 신물질 검색 및 생합성 기구를 대상으로 깊이 연구 되어 왔다(1).

미생물의 대사산물로부터 발견된 10,000여 종의 항생물질 가운데 74% 이상이 방선균에 의해서 생산되며, 그 중 75%는 *Streptomyces*속으로부터 생산된것이다(2). 지금도 방선균으로부터 새로운 항생물질 등 다양한 생리활성물질을 탐색하기 위해 많은 연구가 부단히 이루어지고 있다(3).

방선균은 생리활성물질의 탐색원으로서 많은 주목을 받고 있는 미생물이지만 현재까지 이용되어온 균주의 대부분은 육상의 토양에서 분리된 것들이고, 해양유래 방선균에 대해서는 아직까지 거의 연구되어 있지 않은 실정이다. 미생물의 서식지로서 해양의 환경조건은 육상과 현저히 다르기 때문에 해양에 있어서 방선균의 *microflora*는 육상과는 상당히 다를 것으로 생각되어지며, 또한 연안해역에 존재하는 방선균 중에는 육상에서 유입된 담수 등으로 인하여 육상의 토양으로부터 유래된 방선균도 많은 것으로 알려지고 있다.

또한 제주도의 기호는 전반적으로 온화하며, 한라산 정점으로부터 해안가 까지 좁은 지역에 비교적 다양한 기후 및 토양 분포를 가지고 있어 다양한 방선균이 서식하고 있을 것으로 예상된다. 이들 중에는 해양이라고 하는 특이한 환경에 적응한 결과 대사계가 변화되어 새로운 2차 대사산물을 생산하는 균주도 있을 것으로 기대되며 해양은 새로운 생리활성물질 생산균주의 탐색원으로써 지극히 흥미로운 분야라고 말할 수 있다(4). 따라서, 본 연구는 새로운 항산화물질의 검색을 위한 기초자료를 제공하고자 제주연안에 서식하는 해양방선균으로부터 항산화활성을 가지는 균주를 분리하였으며, 이 균주의 미생물학적인 특성과 항산화 물질 생성 최적조건을 조사하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 균주는 제주 연안 해안의 모래를 채취한 후 증류수로 희석하여 Marine agar (Difco, MA)를 사용해 25℃ 7일 동안 성장 시킨 다음 방선균만의 특징인 형태적 변형이나 색소를 보이는 균들을 분리한 후, 여러번 계대하여 배양하여 순수분리 하였으며 방선균의 전자공여능 측정은 DPPH법을 변형하여 측정하였다. 균주의 동정은 형태학적, 배양학적특성 및 16s rDNA 염기서열을 분석을 실시하여 동정하였으며 분리된 방선균의 현미경적 관찰은 SEM(scanning electron microscopy)에 의해서 관찰되었다. 배양액의 hydroxyl radical(OH) 소거활성능을 조사하기 위해 2-deoxyribose oxidation method 방법을 변형하여 측정하였으며 항산화물질 생산에 대한 최적탄소원을 알아보기위해 arabinose, fructose, galactose, glucose, glycerol, lactose, maltose, mannitol, mannose, inositol, rhamnose, starch, sucrose, xylose를 각각 1%로 조절한 후 생육도 및 항산화능을 조사하였다. 또한 온도, pH, 염에 대한 영향을 조사하였다.

결과

해양에서 분리된 방선균의 동정을 위해 배양적, 형태학적, 유전학적인 방법을 토대로 하여 최종적으로 *Nocardopsis* sp. S-1로 동정하였다.

이 균주의 전자공여능을 측정한 결과 8일째 배양액에서 약 60%이상의 소거활성을 보였으며, hydroxyl radical(OH) 소거활성능은 배양 4일째에서 50%정도의 가장높은 활성을 나타냈다. 또한 배양학적 특성을 실험한 결과 NaCl 2.5%농도, pH 8, 온도는 25~30℃에서 가장 높은 건조중량(dry weight) 및 항산화능을 나타내었다.

또한 최적질소원 실험은 glycerin, mannitol이 가장 높은 활성을 띄었다.

참고문헌

1. Biois, M. S.: 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 4617, 1198-1221.
2. Chung, W. S., Y. H. Ko, and C. J. Kim, 1999. Collection of soil actinomycetes from cheju island and screening for their antibacterial activities. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42, 99-104.
3. Datta, K., S. Sinha, and P. Chattopadhyay. 2000. Reactive oxygen species in health and disease. *Natl. Med. J. India.* 13, 304-310.
4. Okami, Y., T. Okazaki, T. Kitahara, and H. Umezawa, 1976 Studies on marine microorganisms. A new antibiotic, aplasmomycin, produced by a *Streptomyces* isolated from shallow sea mud. *J. antibiot.* 29, 1019-1025