

## Lipolytic enzyme을 생성하는 해양성 세균 *Pseudoalteromonas* sp.의 분리와 특성

김영미 · 이원재  
부경대학교 미생물학과

### 서론

Lipase(E.C. 3.1.1.3)는 triglyceride의 ester 결합을 가수분해하여 glycerol과 지방산을 생성하거나 기질에 특이적으로 재합성하는 효소로, lipase의 생산 및 용도의 개발에 관한 많은 연구가 진행되어져 왔다(Macrae et al.,1985). 미생물 유래의 lipase는 기존의 화학적인 처리에 의한 생산물을 얻을 때 생기는 여러 부산물에 대한 문제를 해결할 수 있고, 일단 순수한 형태로 분리된 균주는 배양조건이 수립되면 원하는 시간에 필요한 양의 균체를 유용물질의 원료로 공급하여 생산 작업의 규모도 필요에 의해 증대할 수 있다. 미생물의 경우에는 유전자 검색 및 조작 기술이 비교적 잘 확립되어 있고 genome의 크기가 작아 고난도의 기술 없이도 유전자 조작의 가능성이 열려있는 장점이 있다(Jaeger et al., 1994). 그러나 실제 산업적으로 사용되는 lipase는 대부분 수입에 의존하고 있으며 영양원의 급원에 따라 기질의 특이성, 작용기작 등의 특이성이 다양하며, 배양조건에 따라 변동이 크므로 지속적인 우수 균주의 선별과 배양조건 및 효소 활성측정 등에 대한 검토가 요구된다. 이에 본 연구에서는 해양과 육지 사이에서 물리, 화학적으로 특수한 환경을 지니고 있는 연안의 미생물을 상대로 우수한 lipase 생성균을 탐색해 보았다.

### 재료 및 방법

시료 채취를 위하여 통영, 여수와 부산 다대포 해수욕장 및 광안리 해수욕장 주변 지역의 정점에서 해수를 채취하여 실험에 사용하였다. Kouker 등 (1987)과 Samad 등 (1989)에 따른 plate assay를 통해 세차레에 걸쳐 lipase 생성균을 탐색하였다. 효소생성이 가장 뛰어난 균을 선별하여 16S rRNA를 이용한 염기서열로 동정에 들어갔으며 효소의 활성은 권 등 (1986)이 사용한 cupric acetate method를 응용하여 측정하였다. 분리 균주의 최적 배양 조건을 찾기 위해 탄소원과 질소원 및 그에 따른 농도와 NaCl 농도, 온도, pH, 배양시간별로 효소 활성 측정을 하였다.

## 결과 및 요약

통영, 여수, 다대포, 광안리 및 부산 연안에서 분리한 250여종의 균주중 세차페에 걸친 screening으로 최고 활성을 보이는 한 균주를 선택하여 16S rRNA를 이용한 염기서열 분석을 통해 *Pseudoalteromonas* sp.임을 확인하여 이를 *Pseudoalteromonas* sp. KY-5로 명명하였다. 1.5% olive oil을 첨가한 modified PPESⅡ상에서의 최적 배양조건은 peptone 0.2%, tryptone 0.1%, yeast extract 0.1%, olive oil 1.5%, soluble starch 0.05%, glucose 0.05%, CaCl<sub>2</sub> 0.05%, sea water 1000ml, initial pH 8.0, 25℃에서 46시간으로 최적조건 하에서 배양시에 최대의 생산량을 보였다.

## 참고 문헌

- Dae Y. Kwon and Joon S. Rhee, 1986, A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay. *JAOCS*, 63, 89-92
- Samad, M.Y.A., Razak, C.N.A., Salleh, A.B., Yunus, W.M.Z.W., Ampon, K. and Basri, M. 1989, A plate assay for primary screening of lipase activity. *J. Microbiol. Methods*. 9, 51-56
- Kouker, G., Jaeger, K. E. 1987, Specific and sensitive plate assay for bacterial lipase. *Applied and environmental microbiology*. 53, 211-213
- A. R. Mactae and R. C. Hammond. 1985, Present and future application of lipases. *Biochemistry and genetic engineering reviews*. 3, 193-217
- Karl-Erich Jaeger, Stéphane Ransac, bauke W. Dijkstra, Charles Colson, Margreet van Heuvel and Onno Misset. 1994, Bacterial lipases. *FEMS Microbiology Reviews*. 15, 29-63.