

P48

## *Bacillus subtilis* JS-17과 피부로부터 분리한 collagenase 생산 균주의 특성 검토

이진경 · 김해남 · 전흥기

부산대학교 미생물학과

본 실험은 고온에서 높은 활성을 보이는 collagenase를 생산하는 균주를 김치로부터 분리, 동정한 결과 *Bacillus subtilis*로 판명되었으며, 분리한 균주를 *Bacillus subtilis* JS-17이라 명명하였다.

*Bacillus subtilis* JS-17의 collagenase 생산 최적 조건을 검토한 결과 1.5% fructose, 1% yeast extract, 0.5%  $K_2HPO_4$ , 0.4%  $KH_2PO_4$ , 0.01%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.01%  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ , 0.1% citrate, 0.1%  $CaCl_2$  (pH 7.0)의 배지를 사용하여 200rpm, 30°C에서 72시간 동안 진탕 배양할 때 가장 많은 효소 생산을 보였다.

본 균주가 생산하는 collagenase를 배양 상등액을 ultrafiltration으로 농축한 후 Amberlite IRA-900 column과 Sephacryl S-300 HR column을 이용하여 chromatography를 실시하여 부분 정제하였다.

부분 정제된 효소의 특성을 검토한 결과, 분자량은 약 28 kDa인 것으로 추정되며, pH 7.0과 60°C에서 각각 최대의 활성을 보였고, pH 6.0~9.0과 50~55°C에서 30분간 처리하였으나 잔존 활성이 80%이상으로 남아 안정성을 보였다. 대부분의 금속 이온이 2mM 농도로 존재하였을 때 활성이 증가하였으며, 특히  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Na^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  존재 하에서 더욱 높은 활성을 나타내었고,  $Sr^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ 에 대해서는 농도를 5mM로 높였을 때 50% 정도 저해 효과가 나타났다. Ammonium persulfate, L- cysteine,  $\beta$ -mercaptoethanol, SDS, PMSF에 의해 저해되었으며, 특히 ammonium persulfate에 의해 99% 저해되었다.

또한 피부로부터 collagenase를 생산하는 29개의 균주 중 가장 활성을 높은 균주를 분리하여 collagenase 생산 최적 조건을 검토한 결과 1.5% gelatin, 1% yeast extract, 0.2%  $Na_2HPO_4$ , 0.2%  $KH_2PO_4$ , 0.4%  $K_2HPO_4$ , 0.1% NaCl, 0.1% citrate, 0.02%  $MgSO_4 \cdot 2H_2O$  (pH 7.5)를 첨가한 배지에서 200rpm, 37°C에서 72시간동안 진탕 배양했을 때 가장 높은 효소 활성을 보였다.