

연체동물로부터 분리한 하이루론산의 함량 비교

정종순* · 신운섭* · 박갑만**

관동대학교 의과대학 미생물학교실 * . 기생충학교실**

HA(hyaluronic acid)는 아세틸글루코사민(acetylglucosamine)과 글루쿠론산(glucuronic acid)의 중합체인 다당류로서 동물의 눈 속에 유리체에서 처음으로 분리되었는데, 그 후 관절액(articular fluid; 활액)이나 피부, 탯줄 등에도 존재한다고 알려졌다. 또한 탄수화물의 일종인 콘드로이틴은 수분 저장과 탄력성을 촉진하고, 연골을 파괴하는 효소들을 억제하는 것으로 추정되는 연골 성분의 하나이며, 세포외 기질에 존재하는 황산콘드로이틴은 세포조직 구조를 형성하는 데 참여하는 것으로 알려져 있다. 특히 HA는 의료용 안과 수술, 관절염 치료제, 화장품용 수분 공급(보습, 주름개선, 노화, 탄력) 및 인공장기와 혈관에의 흡착 면역학적거부반응감소에 주로 활용되고 있다. 본 연구에서는 각종 연체동물로부터 HA의 함량을 비교분석하였다. 본 연구의 재료는 어류 2종(꼼치, 복섬), 두족류 1종(오징어), 복족류 7종(갈색띠매물고둥, 큰구슬우렁이, 돌구슬우렁이, 호리호리털골뱅이, 논우렁이, 다슬기, 군소), 이매패류 22종(대합, 말백합, 새꼬막, 왕꼬막, 참바지락, 홍합, 피조개, 북방대합, 가무락조개, 비늘백합, 접시조개, 가리맛조개, 개량조개, 일본재첩, 대칭이, 반지락, 키조개, 새조개, 코끼리조개, 살조개, 굴, 투박조개), 척색동물 2종(멍게, 비단멍게), 의충동물 1종(개불) 그리고 대조군으로 닭벼슬을 사용하였다. 어류를 포함하여 36여종의 수집된 연체동물 조직 5 g에 alcalase를 100배 희석한 Tris buffer (pH 8.0) 5 ml을 넣고 50℃에서 하루 동안 두어 완전히 분해된 조직 부피의 3배 부피의 에탄올을 넣고 2시간 정도 두어 원심분리를 통해 침전시켰다. 이것을 다시 acetone을 처리하여 지질성분을 제거한 뒤 60℃에서 6시간 정도 말려 하이루론산을 측정하기 위해 준비하였다. 하이루론산을 직접적으로 측정할 수 없으므로 간접적으로 하이루론산을 이루고 있는 glucuronic acid를 정량할 수 있는 carbazole assay를 실시하였다. carbazole assay는 먼저 황산 1.5 ml에 적정 농도로 녹여진 시료를 0.25 ml 넣고 100℃에서 10분 동안 끓인 후 carbazole 시약을 50 μ l 넣고 다시 15분 정도 끓여준 후 525nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. carbazole assay에서는 하이루론산과 같이 존재하는 것으로 알려진 chondroitin sulfate를 비롯한 glycosaminoglycans(GAGs) 도 함께 정량이 되므로 더 정확한 실험을 위해 하이루론산을 제외한 sulfate화된

glycosaminoglycans을 검출할 수 있는 DMMB assay를 실시하였다. DMMB assay는 1,9-dimethylmethylene blue 시약 0.25 ml에 0.04 ml의 시료를 넣고 반응시킨 뒤 570 nm의 파장에서 흡광도를 읽어 하이루론산을 제외한 GAGs를 정량하였다. 두 가지 정량법을 통해 확인된 결과를 살펴보면, 일반적으로 하이루론산의 함량이 높은 것으로 알려진 닭벼슬(0.3%)과 비교하여 높은 함량을 보이지 않으나 대함(근육), 말백함, 새꼬막, 왕꼬막, 오징어(내장), 참반지락, 갈색띠매물고둥 등은 0.03-0.1%의 함량을 보였으며 전체적으로 0.002-0.1%의 다양한 함량을 보였다. chondroitin sulfate의 양은 하이루론산의 양과 비례하여 나타났으나, 0.0001-0.0045%로 그 함량이 낮았다. 이와같은 연구의 결과를 토대로 앞으로 닭벼슬과 유사한 하이루론산 함량을 가진 연체동물을 찾을 필요성이 있다.