

유아의 분변에서 분리한 *Lactobacillus fermentum*로부터 Linoleate Isomerase 분리 · 정제

김현수*, 함준상, 정석근, 김중근, 이부웅¹
축산기술연구소, ¹전북대학교

CLA(conjugated linoleic acid)는 항암효과, 동맥경화증 감소효과, 체지방 감소효과, 면역증강 효과 등의 생리효과가 밝혀지면서 관심이 더욱 증가하고 있다. CLA는 반추위 미생물인 *Butyrivibrio fibrisolvens*에 의하여 linoleic acid의 biohydrogenation 과정 중 합성되는 것으로서, linoleate isomerase가 linoleic acid의 cis-12 결합을 trans-11 결합으로 전환시키는 것으로 알려지고 있다. 화학적 합성과 달리 미생물은 대부분 활성형 CLA인 cis-9, trans-11 CLA를 특이적으로 생산하여 식품에 적용시 안전하다는 장점이 있다. 본 연구에서는 CLA 생성 활성이 있는 것으로 확인된 미생물(Ham et al, 2002)로부터 linoleate isomerase(Linoleate Δ^{12} -cis, Δ^{11} -trans-Isomerase)를 분리하여 효소 및 유전공학에 의하여 CLA를 생산하고자 *Lactobacillus fermentum*으로부터 linoleate isomerase를 분리 · 정제하였다. 2번 계대배양 한 균주를 500ml MRS배지(Difco)에 1%, linoleic acid(Sigma) 0.5%, tween 80(Sigma) 1%를 무균적으로 첨가하고 24시간 배양 후 원심분리하여 균체를 얻었다. 균체를 sonication(10초 간격, 2초씩 5분)하여 세포 파쇄 후 원심분리(12,000 rpm, 10분)하여 조효소액을 얻었다. 효소의 분리, 정제를 실시하였고 각 단계별 linoleate isomerase activity(Kepler and Tove, 1967)를 측정하였다. 조효소액의 분리, 정제 단계는 ultrafiltration, 80% ammonium sulfate 침전, gel filtration, isoelectrofocusing, phenyl sepharose 4B column을 통하여 분리하였다. 분리 단계에 따라 조효소액의 효소활성은 조효소액 184.21U/mg에서 gel filtration 후에 448.32U/mg로 증가하였다. Isoelectrofocusing 단계에서 CLA 생성활성이 있는 효소의 pI는 5.3~5.5이었으며 이들 분획을 phenyl sepharose 4B column을 사용하여 분리한 결과 효소활성은 566.15U/mg로 증가하였다. 국내에서는 CLA가 식품첨가물 공전에 포함되지 않아 CLA의 이용에 제한이 있으나 외국에서는 건강보조식품으로 판매되고 있어 CLA의 대량생산은 산업화가 가능할 것으로 예상되나, 안전성이 검증되지 않은 화학적 방법보다는 효소 및 유전공학적 방법이 유망할 것으로 생각된다.