

P44

Purification of *Vibrio anguillarum* inhibition factor
Produced by *Bacillus amyloliquefaciens* KH410

김영희 · 정영기 · 정경태 · 김동은¹ · 신현철

동의대학교 생명응용과학과

¹동의대학교 생명공학과

해산어인 방어로부터 어병균인 *Vibrio anguillarum*의 생육을 저해하는 새로운 균주를 분리, 동정하여 *Bacillus amyloliquefaciens* KH410으로 명명하였다. *V. anguillarum* 생육저해물질은 *B. amyloliquefaciens* KH410의 배양 상등액에서 볼 수 있었으며 이 물질 생산의 최적 조건은 1% bactopectone, 0.5% yeast extract, 1% NaCl, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 1% sucrose를 사용하였을 때이었으며 최적 배양 pH는 7.0이며 최적배양 온도는 35°C 였다. 최적 배양조건하에서 저해물질은 배양 후 15시간부터 생산을 시작하여 18시간대에 가장 높은 활성을 나타내었다. 저해 반응은 24시간 배양된 *V. anguillarum*에 저해물질을 첨가하여 30°C에서 8~12시간 반응하였을 때 43.6%의 저해 활성을 나타내었다. 이 저해 물질을 DEAE-Sephadex A-50, Sephadex G-50, Centuricon A-30으로 정제하여 278배로 정제되었으며 최종 회수율은 3.6%였다. 정제 후 정제도는 SDS-PAGE로 확인한 결과 단일 band로 확인하였으며 분자량은 48 kDa임을 확인하였다. 정제 후에 정제된 저해물질을 첨가한 결과 85%의 저해 활성을 나타내었다. 정제된 저해물질의 특성을 검토 해 본 결과 pH 7.5에서 가장 안정하였으며, 반응 최적 pH는 8.0이었다. 열에 대한 안정성은 50°C에서 12시간 방치하였을 때 26%의 잔존활성을 나타내었고, 저해 반응에 대한 최적온도는 30°C이었다. 대부분의 금속이온들은 저해활성에 미치는 영향이 미미하였으나, Mg²⁺ 과 Ca²⁺ 에는 활성이 증가하는 것을 볼 수 있었다.