

## 노산산화활성이 높은 균그루를 분리하기 위한 연구

류은광, 문경진, 김영조

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《사회의 모든 성원들이 사회주의문화의 창조자, 향유자로 되게 하며 문화건설의 모든 부문에서 새로운 전환을 일으켜 건강하고 문명한 생활을 누리려는 우리 인민들의 념원이 현실로 꽃피게 하여야 합니다.》

인민들에게 건강하고 문명한 생활을 마련해주는데서 효능높은 화장품과 의약품을 개발하는것이 가지는 의의는 매우 크다.

노산산화효소는 노산을 알란토인과 과산화수소로 분해하는 효소로서 일부 동물과 식물, 미생물들에 분포되어있는데 화장품과 의약품개발에서 널리 리용되고있다.[5]

우리는 리용가치가 높은 노산산화효소를 미생물로부터 얻기 위하여 활성이 높은 균그루를 분리하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

노산산화효소생성균그루의 분리원으로서 닭우리주변토양과 닭배설물을 리용하였다.

시료들을 40℃에서 건조하고 분쇄한 다음 1g씩 취하여 1% 노산용액 100mL에 넣고 32℃에서 48h동안 진탕하는 방법으로 집적배양하였다. 배양액을 1mL씩 취하여 10<sup>4</sup>배 희석한 다음 선발배지(노산 0.5%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%, MgSO<sub>4</sub> 0.01%, NaCl 0.01%, 우무 2%)와 풍부배지(우의 배지에 포도당 3%, 펩톤 2% 첨가)에 100μL씩 분주하고 도말하였다. 32℃에서 72h동안 배양한 다음 선발배지에서 자라난 균무지들에 10<sup>-3</sup>%의 *p*-페닐렌디아민용액을 30μL씩 떨구고 10min내에 검은색으로 착색되는 균그루[1, 3]들을 1차적으로 분리하였다.

분리한 균그루들을 액체배지(포도당 3%, 펩톤 2%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, NaCl 0.05%, 노산 0.01%)에 접종하고 진탕배양(32℃, 120r/min, 48h)한 후 노산분해능력을 우물법[4]으로 측정하였다.

분리균그루들의 노산산화활성은 효소반응과정에 소모되는 노산을 정량하는 방법[2]으로 측정하였다. 균체외효소활성은 균그루의 배양액을 원심분리(4 000r/min)하여 얻어진 상청액을 리용하여 측정하였다. 균체내효소활성은 원심분리하여 균집한 균체를 초음파처리(출력 20W, 주파수 27kHz, 처리시간 20min)하고 봉산완충용액(pH 8.5, 0.05mol/L)을 첨가하여 원액체적으로 맞춘 다음 측정하였다. 균그루의 총효소활성은 균체외효소활성과 균체내효소활성의 합으로 평가하였다. 노산산화효소활성 1U는 30℃에서 1min동안에 1μmol의 노산을 분해하는 효소의 량으로 정하였다.

### 결과 및 논의

선발배지와 풍부배지에서 나타난 균무지수는 표 1과 같다.

표 1에서 보는바와 같이 닭우리주변토양과 닭배설물속에는 노산을 탄소원 및 질소원으로 리용하여 자랄수 있는 미생물들이 존재하였는데 그 수는 선발배지인 경우 닭우리주변토양속에 48개, 닭배설물속에 29개였고 풍부배지인 경우에는 각각 241, 195개였다.

표 1. 선발 및 풍부배지에서 나타난 균무지수

분리원	취한 시료수 /개	나타난 균무지수/개	
		선발배지	풍부배지
닭우리주변토양	4	48	241
닭배설물	3	29	195

다음으로 노산분해미생물들의 노산산화효소에 의하여 노산이 분해될 때 생성되는 과산화수소가 *p*-페닐렌디아민과 중합되어 배지를 검은색으로 착색시킨다는데 기초하여 선발배지에서 나타난 균무지들을 *p*-페닐렌디아민색으로 처리하였다. *p*-페닐렌디아민에 의하여 착색되는 균무지들의 비율은 표 2와 같다.

표 2. *p*-페닐렌디아민에 의하여 착색되는 균무지들의 비율

분리원	전체 균무지수/개	착색된 균무지수/개	비율/%
닭우리주변토양	48	11	22.9
닭배설물	29	7	24.1

표 2에서 보는바와 같이 닭우리주변토양시료와 닭배설물시료에서 분리된 균그룹들중 *p*-페닐렌디아민에 의하여 검은색으로 착색된 균그룹들의비율은 각각 22.9, 24.1%였다. 이로부터 우리는 *p*-페닐렌디아민에 의하여 검은색으로 착색되는 18개의 균그룹들을 1차적으로 분리하였다.

1차분리균그룹들을 액체배양한 다음 노산우무평판배지(노산 0.5%, 우무 2%)에서 우물법으로 매 배양액시료의 노산용해피직경을 측정하여 균그룹들의 노산분해능력을 검토하였다. 우물법으로 측정한 1차분리균그룹들의 노산분해능력은 표 3과 같다.

표 3. 우물법으로 측정한 1차분리균그룹들의 노산분해능력

균그룹번호	용해피의 직경/mm	균그룹번호	용해피의 직경/mm	균그룹번호	용해피의 직경/mm
1	8.5	7	—	13	7.2
2	—	8	10.3	14	8.4
3	10.1	9	7.4	15	7.5
4	9.6	10	—	16	—
5	8.6	11	—	17	9.2
6	8.4	12	8.9	18	—

균그룹번호 1-11은 분리원이 닭우리주변토양인 경우, 12-18은 분리원이 닭배설물인 경우; 우물직경 5mm,  $n=3$ , —: 7.0mm이하

표 3에서 보는바와 같이 우물주위에 나타나는 용해피의 직경이 가장 큰 균그룹은 3번과 8번 균그룹들이었다.

다음으로 효소반응과정에 소모되는 노산을 정량하는 방법으로 노산산화효소활성을 측정하였다. 분리한 균그룹들의 노산산화효소활성은 표 4와 같다.

표 4에서 보는바와 같이 14번 균그룹에서 균체내 및 균체외효소활성이 각각 0.32, 0.04U/mL이고 총활성이 0.36U/mL로서 가장 높았다. 우물법으로 측정한 용해피의 직경은 14번 균그룹이 8번 균그룹에 비하여 상대적으로 작았으나 총효소활성은 보다 높았다. 이것은 용해피가 주로 균체의노산산화효소의 작용으로 형성된다는것을 보여준다.

이상의 연구결과로부터 우리는 노산산화효소활성이 높은 14번 균그룹을 효소생합성균 그룹으로 최종선발하였다.

표 4. 분리한 균그룹들의 뇨산산화효소활성

균그룹 번호	효소활성/(U·mL <sup>-1</sup> )			균그룹 번호	효소활성/(U·mL <sup>-1</sup> )		
	균체내	균체외	총활성		균체내	균체외	총활성
1	0.08	0.11	0.19	10	0.04	0.02	0.06
2	0.03	0.05	0.08	11	0.07	0.03	0.10
3	0.07	0.16	0.23	12	0.22	0.08	0.30
4	0.25	0.07	0.32	13	0.13	0.05	0.18
5	0.05	0.11	0.16	14	0.32	0.04	0.36
6	0.07	0.10	0.17	15	0.13	0.06	0.19
7	0.06	0.04	0.10	16	0.05	0.06	0.11
8	0.04	0.18	0.22	17	0.07	0.11	0.18
9	0.25	0.04	0.29	18	0.08	0.04	0.12

균그룹번호 1-11은 분리원이 닭우리주변토양인 경우, 12-18은 분리원이 닭배설물인 경우

## 맺 는 말

닭우리주변토양과 닭배설물시료로부터 뇨산산화효소활성이 높은 균그룹을 분리하였다. 분리된 14번 균그룹의 뇨산산화효소활성은 0.36U/mL로서 주로 균체내 효소를 생성하는 균그룹였다.

## 참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 38, 2, 77, 1992.
- [2] K. Khucharoenphaisan et al.; Pakistan Journal of Biological Sciences, 14, 3, 226, 2011.
- [3] Xue-lai Zhou et al.; Process Biochemistry, 40, 3749, 2005.
- [4] Harinath Dwivedi et al.; E-Journal of Chemistry, 9, 4, 2287, 2012.
- [5] Evan M. Ryan et al.; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 164, 460, 2019.

주체109(2020)년 4월 5일 원고접수

## Isolation of a Strain with High Uricase Activity

Ryu Un Gwang, Mun Kyong Jin and Kim Yong Jo

We isolated the strain with high uricase activity from chicken excrement and soil of perimeter of roost. The activity of the isolated strain No. 14 was the highest. When the strain was incubated in the medium consisted of 3% glucose, 2% peptone, 0.1%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% NaCl and 0.01% urate at 32°C at 120r/min for 48h, its enzyme activity reached 0.36U/mL.

Keywords: uricase, urate