

## 게놈재조합과 리보솜공학적방법으로 육종한 마이싱 생산균주의 생산도입성평가

한진철, 최현옥

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《과학연구사업과 생산실전을 밀접히 결합시켜야 과학기술도 빨리 발전시키고 과학연구사업에서 이룩한 성과에 기초하여 경제건설도 적극 다그칠수 있습니다.》(《김정일선집》 증보판 제15권 492페이지)

우리는 마이싱의 생산량을 늘이기 위하여 게놈재조합 및 리보솜공학적방법으로 새롭게 육종한 생산균주(*Streptomyces streptomycini* 마 40-육)를 생산에 도입하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

재료 실험균주로는 게놈재조합방법 및 리보솜공학적방법으로 육종한 *Streptomyces streptomycini* 마 40-육[2]을 리용하였으며 대조균주로는 현행생산균주인 *Streptomyces streptomycini* 마 40을 리용하였다.

배지로는 현재 현행생산에서 리용하고있는 발효배지를 그대로 리용하였는데 그 조성은 표 1과 같다.

표 1. 발효단계별배지조성(3m<sup>3</sup>)

배지 조성	종자탕크(40L)		번식탕크(300 : 150)		발효탕크(3 000 : 1 000)	
	농도/%	수량/kg	농도/%	수량/kg	농도/%	수량/kg
콩가루	3.25	1.30	3.25	4.87	3.25~4.00	32.5~40.0
포도당	4.50	1.80	4.50	6.75	3.50	35.0
류안	0.60	0.24	0.60	0.90	0.70	7.0
2수소린산칼리움	0.05	0.02	0.05	0.075	0.05	0.7
소금	0.25	0.10	0.25	0.375	0.10	1.0
기름	—	0.12	—	0.30	—	1.2
탄산칼시움	0.60	0.24	0.60	0.90	0.70	7.0

연구방법 게놈재조합방법과 리보솜공학적방법으로 육종한 마이싱생산균주 *Streptomyces streptomycini* 마 40-육과 현행생산균주를 중간시험탕크(탕크용적 3m<sup>3</sup>)와 대규모 탕크(탕크용적 55m<sup>3</sup>)에서 각각 3급발효방법[1]으로 배양하여 화학검정[3](웨벨법)으로 생산력가를 판정하고 그것을 대비하는 방법으로 생산능력을 평가하였다.

## 결과 및 논의

균종단계에서 력가판정 계 농재 조합방법과 리보솜공학적인 방법으로 육종한 3개의 균주로

균종단계에서 2급배양을 하고 력가판정을 진행한 결과는 표 2와 같다.

표 2. 균종단계에서 육종균주의 144h 발효력가( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

균번호	1급	2급	
		120h	144h
대조	6 000 $\pm$ 100	9 500 $\pm$ 100	10 500 $\pm$ 100
육종 1	7 000 $\pm$ 100	10 200 $\pm$ 100	12 200 $\pm$ 100
육종 2	5 900 $\pm$ 100	9 400 $\pm$ 100	10 200 $\pm$ 100
육종 3	6 500 $\pm$ 100	9 900 $\pm$ 100	11 000 $\pm$ 100

표 2에서 보는바와 같이 1번 균주(*Streptomyces streptomycini* 마 40-육)의 력가가 제일 높았으므로 이 균주를 중간시험탕크배양의 출발균주로 선정하였다.

중간시험탕크에서 력가판정 육종균과 대조균을 각각 종자배양(탕크용적 0.1 $\text{m}^3$ )한 결과는 표 3과 같다.

표 3. 시험생산을 위한 종자배양결과(배양시간 72h)

배양차수	1대	2대	3대	4대	5대
력가(대조탕크)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	1 100 $\pm$ 100	980 $\pm$ 100	1 200 $\pm$ 100	1 100 $\pm$ 100	900 $\pm$ 100
력가(시험탕크)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	1 100 $\pm$ 100	1 100 $\pm$ 100	1 100 $\pm$ 100	1 100 $\pm$ 100	1 100 $\pm$ 100

표 3에서 보는바와 같이 1급배양때 시험탕크와 대조탕크에서 력가는 크게 차이 나지 않았으며 시험균주의 력가는 계대배양단계에 따라 변화가 없이 고르로웠다.

육종균과 대조균을 각각 확대배양(탕크용량 1 $\text{m}^3$ )한 결과는 표 4와 같다.

표 4. 시험생산을 위한 확대배양결과(배양시간 48h)

배양차수	1대	2대	3대	4대	5대
력가(대조탕크)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	1 100 $\pm$ 100	900 $\pm$ 100	1 000 $\pm$ 100	1 300 $\pm$ 100	900 $\pm$ 100
력가(시험탕크)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	1 500 $\pm$ 100	1 300 $\pm$ 100	1 300 $\pm$ 100	1 400 $\pm$ 100	1 500 $\pm$ 100

표 4에서 보는바와 같이 2급배양때 시험탕크에서 대조탕크보다 력가가 평균 350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 정도 높다는것을 알수 있다.

발효탕크(탕크용량 3 $\text{m}^3$ )에서 3급배양한 결과는 표 5와 같다.

표 5. 발효시험생산결과(배양시간 280h)

발효공정차수	1	2	3	4	5
력가(대조탕크)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	10 200 $\pm$ 100	11 100 $\pm$ 100	10 900 $\pm$ 100	10 600 $\pm$ 100	8 500 $\pm$ 100
력가(시험탕크)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	18 000 $\pm$ 100	14 000 $\pm$ 100	13 900 $\pm$ 100	13 300 $\pm$ 100	12 700 $\pm$ 100
증가배수/배	1.76	1.26	1.27	1.25	1.49

표 5에서 보는바와 같이 3 $\text{m}^3$  탕크에서 발효생산을 진행한 결과 출발균주보다 마이싱 생산성이 평균 약 1.4배 정도 높았는데 이것은 선행연구의 결과[2]와 일치하였다.

대규모탕크에서 력가판정 육종균주를 55 $\text{m}^3$  발효탕크에 도입한 결과는 표 6과 같다.

표 6. 55m<sup>3</sup> 발효탱크에서 육종균과 현행균의 마이싱력가( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 배양시간 240h)

발효공정차수	1	2	3	4	5	6	평균
현행균	11 300	11 000	11 800	11 200	11 900	10 000	11 200
육종균	12 400	12 200	12 800	12 000	13 000	11 200	12 267
증가률/%	109.73	110.91	108.47	107.14	109.24	112.00	109.53

표 6에서 보는바와 같이 55m<sup>3</sup> 발효탱크에서 *Streptomyces streptomycini* 마 40-육은 현행균에 비해 마이싱생산력가가 평균 거의 9.5% 더 높았다.

우의 실험결과들은 우리가 새롭게 육종한 *Streptomyces streptomycini* 마 40-육이 실험실단계와 중간규모(3m<sup>3</sup>)에서뿐만아니라 대규모(55m<sup>3</sup>)에서도 생산력가가 매우 높은 균이라는 것을 보여준다.

### 맺는 말

1) 3m<sup>3</sup> 탱크발효배양결과 *Streptomyces streptomycini* 마 40-육의 력가는 출발균주에 비하여 평균 1.4배, 최고 1.7배정도 높았다.

2) 55m<sup>3</sup> 탱크발효배양결과 *Streptomyces streptomycini* 마 40-육의 생산력가는 현행균에 비해 거의 9.5% 높았다.

### 참고 문헌

- [1] 박천일 등; 항생소생산균그룹육종, 공업출판사, 195~199, 주체100(2011).
- [2] 최현옥 등: 조선민주주의인민공화국 과학원통보, 5, 57, 주체103(2014).
- [3] 刻文英; 药物分析, 7, 398, 2007.

주체104(2015)년 6월 5일 원고접수

## The Evaluation for Induction to Production of the Streptomycin-Producing Strain Bred by Genome Recombination and Ribosom Engineering

Han Jin Chol, Choe Hyon Ok

We tested the productional ability of breeding strain through batch-culture.

The result shows that the productivity of new breeding strain is 1.4 times higher than control for middle-batch culture, and 9.5% for large-batch culture.

Key words: streptomycin production, *Streptomyces streptomycini*