

日本国立環境研究所

# 환경미생물계통 保存 施設管理에 관한 研修



유재근

〈國立環境研究所  
水質研究擔當官・理博〉

## 3. 조작

NIES-Collection 은 <표-3>과 같이 조직되었고 미생물 배양 종균을 검토하기 위한 위원회의 위원들을 <표-4>에 나타났다.

Table 3. Staff of the NIES-Collection

Director	Makoto M. Watanabe, D. Sci.
General manager	Ichiro Aiga, D. Sci.
Coordinator of culture collection	Fumie Kasai, M. Sci.
Coordinator of the development of the Microbial Culture Collection Data Processing System	Akira Shimizu, B. Eng.
Assistant Technician	Noriko Ogure Tomohiro Sawaguchi, B. M. Shoichiro Suda, B. A.
Guest researcher	Yoshiaki Hara, D. Sci. (Univ. of Tsukuba) Isao Inouye, D. Sci. (Univ. of Tsukuba) Makoto Misuno, D. Sci. (Doto Univ.)

Table 4. The Committee for Evaluating Microbial Culture Strains

Kiyoshi Sugahara, D.Sci.	Environmental Biology Division (Chairman)
Ichiro Aiga, D.Sci.	Engineering Division
Ryuichi Sudo, D.Sci.	Water and Soil Environment Division
Takashi Miura, D.A.	Basic Medical Science Division
Noriaki Kondo, D.Sci.	Environmental Biology Division
Osamu Yagi, D.A.	Water and Soil Environment Division
Tadashi Kusunoki, B.A.	Research Coordinator
Makoto M. Watanabe, D.Sci.	Water and Soil Environment Division (Secretary)
Fumie Kasai, M.Sci.	Engineering Division(Secretary)
Tomonichi Yanagita, D.Sci.	Professor Emeritus of University of Tokyo(Adviser)
Mitsuo Chihara, D.Sci.	Professor of University of Tsukuba (Adviser)
Yuzaburo Ishida, D.A.	Professor of Kyoto University(Adviser)

\* Representatives from the Japan NUS Co., Ltd.

#### 4. 기본사업

##### 1) Subculturing

4 가지 형태의 배지가 있으며, *Fragellates*, *planktonic blue-green algae* and *Conjugatophytes*의 배양에 사용되는 액체배지, *chlorococcacean* 와 *Benthic Bluegreen algae*을 위한 고형화된 경사 하천배지, *euglenoid algae*를 위한 반고형의 한천배지. 한정된 배지에서 자랄 수 없는 *Algae*를 위한 흙과 물로 구성된 2상의 배지. 건강한 성장을 위한 온도 및 빛의 강도는 종별로 다르다. *Raphidophytes*, *dinoflagellates*, *Planktonic blue-green algal* 와 *diatoms* 같은 온도 및 빛의 강도변화에 견디지 못하는 조류는 최적 성장조건에서 유지되어야 한다. 강한 조류는 1 - 4주 동안 최적 조건에서 유지되었다가 그 이후에는 적당한 조건에서 배양된다. 음, 양의 Cycle은 12시간동안 빛을 쪼이고 12시간은 암흑으로 만들어 준다. passes 사이의 간격은 종균별로 다르며 10일에서 4달까지에 이른다.

##### (2) 냉동

이 방법에서는 세포가 냉동된 후 낮은 온도로 보존된다. 세포의 냉동은 종균의 원래 특성을 유지하며 잘못 표기되는 경우와 오염이 되는 것을 막을 수 있다. 그러나 냉장상태와 녹이는 과정에서 세포의 손실이 야기될 수 있다. 성공적인 저온보존 방법이 많은 미생물에 대해 개발되고 있다.

민물 및 해수의 조류의 저온 보존방법이 만족할만하지만 살아있는 세포의 많은 부분을 회복시키는 방법은 *Chlorococcacean algae* 와 같은 특정한 미생물군에만 개발되었다.

1983년 NIES-Collection에서 종균에 대한 적당한 저온보존방법이 개발되기 시작했다. 냉동 즉시 녹인후에 대부분 종균의 재생은 다음과 같이 조사되었다.

- 성장 정지상태의 세포만이 사용되었다.
- 저온 저항제로서 Dimethyl sulfoxide (DMSO) 가 0, 5, 10 % 농도로 세포 혼탁액에 가해졌다.

• 두단계의 냉각법이 사용되었다. 세포는 처음에  $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 의 속도로  $-30^{\circ}\text{C}$  까지 냉각하고 그후에는  $-196^{\circ}\text{C}$  까지 급속 냉각되었다.

• 냉각된 세포는  $40^{\circ}\text{C}$  수욕에서 급속히 녹였다.

• 녹인후에 세포는 성장 배지에 식종되어 최적 성장조건에서 배양되었다.

결과적으로 성장온도, 성장상태, 성장배지, 녹인후의 배양조건, 저온저항제 형태 및 농도, 냉각 및 녹이는 속도, 최종 온도와 같이 냉각 후 녹이는 동안에 세포의 Viability에 영향을 주는 인자들이 저온보존법을 개발하기 위해 상세히 연구되었다.

##### 5. 미생물 배양 수집자료 처리시스템

NIES-Collection에서 종균의 수와 자료량은 증가일로에 있다. 수 많은 양의 자료를 처리하기 위해 또 부주의한 실수를 피하기 위해 개인용 전자계산기를 이용한 Microbial Culture Collection Data Processing System

(MCC System)이 개발되었다.

현재 많은 기본적인 기능들이 개발단계에 있으나 MCC System은 종균이 전환, 종균 일력목차 및 종균자료를 처리하는데 효과적으로 사용되고 있다.

##### 6. 배양주 기탁

###### 1) 기탁조건

종균의 기탁을 받아드리는 결정은 미생물 배양 주평가 위원회에서 한다. NIES-Collection에 기탁된 종균은 다음과 같은 조건을 만족해야 한다.

1-1. 다음과 같은 미생물중에 한가지 형태여야 한다.

- 환경오염 원인 미생물
- 환경오염의 미생물 지표
- 환경자정 및 폐수처리와 관련된 미생물
- 합성 유기화합물의 생분해와 관련된 미생물
- 금속을 산화·환원 할 수 있는 미생물

1-2. 단지 속명만이 알려져 있더라도 수많은 연구가 이루어진 종균은 받아질 수 있으나,

종균의 균원과 종명은 설정돼 있어야 한다.

1-3. 다음 상태의 하나로서 안정된 Clonal 종균이어야 한다.

- Microalgae : Axenic 또는 Uni-algal 종균

- 원색동물 : Axenic 또는 음식물로 첨가된 미생물을 가진 Xenic

- 박테리아 : 순수종균

1-4. 일반적으로 기탁된 종균은 일반인이 사용할 수 있다.

1-5. 미생물 배양 주평가위원회의 판단에 따라, 어떤 미생물은 상기조건에 맞지 않더라도 기탁이 가능하다.

## 2) 기탁조건

기탁자는 종균기탁 요구서를 작성하여 다음 주소로 송부해야 한다.

The Microbial Culture Collection,

The National Institute of Environmental Studies.

Yatabe-cho, Tsukuba-gun, Ibaraki 305, Japan.

2-1. 회답은 기탁요구서가 도착한 후 한 달 이내에 보내진다.

2-2. 기탁자는 승락이 이루어진 후 한 달 이내에 관련된 승락문서 사본과 함께 살아있는 미생물 또는 종균의 Lyophilized ample 을 보내야 한다.

2-3. 보내진 종균의 상태가 기탁요구서 내용과 다르거나 기탁조건과 상이하면 기탁에 대한 승락은 취소된다.

(NIES는 어느 때든지 그들의 판단에 의해 어떤 기탁물도 기각할 권리를 가지고 있다.) \*

◎ 訂正합니다. 지난 105 號의 유재근 擔當官의 소속이 誤記되었기에 정정합니다.

## “회원社 여러분의 紙面을 활용하십시오”

環境保全協会報는

바로 여러분의 紙面이자 대변지입니다.

그러므로 회원社 여러분들이 활용코자 하시면

최대한 여러분의 지면을 마련해 드리겠습니다.

특히 本報의 「회원사동정」은 회원社들의 게시판이나 다름없습니다.

社内에서의 신제품개발, 人物동정, 흥미로운 美談이 있으시면

六何原則에 의거하시어 本協會 홍보부로 보내주시면

우리가 기사화시키겠습니다.

서울시 중구 남대문로 4 가 45 번지

사단법인 환경보전협회 홍보부