

醱酵細菌과 Bacteriophage



崔 慶 浩

〈暁星女大 教授〉

Bacteriophage란, 細菌에 侵入하여 細菌의 增殖을 沮害하거나 菌體를 溶解 시키기도 하는 細菌의 Virus를 가리킨다.

이러한 Bacteriophage(以下 phage로 略함)는 그 存在가 確認된 以後로도 相當期間 동안은 初期의 發見이 病源性 細菌에서 이루어진 관계로 細菌性 疾患의 治療의 側面에서 研究 對象이 되어왔다. 그러나, 大戰 以後 學校의 食品이 細菌을 利用한 醱酵에 依하여 工場規模로 生産됨에 따라서, 食品工業 또는 抗生物質, 酵素, 有機溶媒 等の 細菌을 利用하는 廣域의 生産部門에서 phage에 依한 醱酵細菌의 汚染이 問題되어 왔으며, 汚染의 實態가 多數 報告되고 그에 對한 防除對策 또한 여러 側面에서 檢討되게 되었다.

우리나라에서도 特히 近年에 와서 細菌을 利用한 醱酵工業이 빠른 速度로 擴張되고 있는 바, 가까운 將來에 phage汚染이 몇몇 生産分野에서 一般의 問題가 될 것으로 豫想되어 자칫 소홀히 하기쉬운 phage에 對한 認識을 새롭게 하는데에 조금이나마 도움이 될까하여 이

글을 적는다. 그러나 phage汚染에 對한 國內 報告를 入手치 못하여 詳細한 國內資料를 紹介하지 못한은 遺憾이다.

1. phage概要

現在까지 血清學的으로 區分되는 無數한 數字의 phage가 發見되어 있으나, 이들은 그 性狀에 따라 Virulent, Temperate, 一本鎖 DNA 및 RNA phage로 分類되고 있으며 化學的으로 是 더욱 單純하여 蛋白質과 核酸 만으로 構成(極小數의 脂質含有 phage를 除하고)되어 있다. 그 중 核酸은 菌體內에 注入되어 感染을 일으키는 主體이며, 蛋白質은 感染과는 相關없이 核酸을 둘러싸고 保護하는 頭部를 形成하거나 phage가 細菌表面에 附着하기 爲한 Fiber, Spike와 같은 附着기관 또는 核酸注入時의 通路가 되는 core와 이를 둘러싼 Sheath 등 主로 몸體를 形成하는데에 使用되고 있다. 即, phage는 어떠한 種類의 것이든간에 感染의 主體가 되는 核酸과 核酸의 菌體內로의 移動

을 돕는蛋白質의 構造物로 形成되어 있다고 할 수 있다.

分類學上的 여러 種類의 phage中 産業的으로 問題가 되고 있는것은 주로 Virulent에 屬하는 것으로서 2本鎖 DNA를 가지며 宿主細菌에 侵入하여 細菌을 致死케 하는 一連의 phage를 말한다. 이 phage의 細菌에 對한 毒性作用은 子孫 phage의 DNA 合成過程에서 일어나는 宿主細菌 DNA의 分解, 子孫 phage의 放出에 前期하여 細菌의 細胞壁을 溶解하는 酵素인 Endolysin의 合成誘導, phage가 自身の 尾部에 가지는 少量의 細菌細胞壁 溶解酵素(phage tail lysin)에 依한 細胞壁 溶解의 세 가지 作用에 依한 것으로 理解되고 있다.

따라서, phage에 汚染된 醱酵槽는 糖消費率 및 gas發生率이 急激히 떨어질 뿐만 아니라, 細菌의 增殖에 依하여 混濁되어야 할 醱酵液이 逆으로 透明하게 되는 것으로 부터 쉽게 判斷될 수 있으며, phage의 存在 또한 醱酵上澄液을 未感染菌과 같이 plate하면, 寒天 平板上에서 透明한 plaque를 形成하므로 쉽게 究明할 수 있다.

물론 Temperate phage의 경우에도 資源化되면 Virulent의 경우와 비슷한 結果가 나타나지만 plaque의 形態 및 多重感染時 溶菌能力의 有無 等의 方法으로 區別될 수 있다. 그러나 일단 資源化되면 以後부터 Virulent로 바뀌는 경우도 있고, 또 資源化의 原因이 除去되지 않는 以上 계속해서 同一한 現狀이 返復될 것이므로 적어도 生産現場에서 發見된 phage는 모두 Virulent phage로 看做하여도 무방할 것이다.

2. phage의 形態와 그에 따른 性質

2本鎖 DNA를 가진 phage는 대략 圖 1로

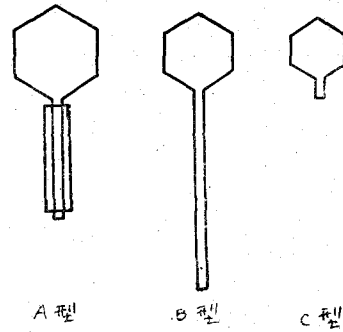


圖 1. 2本鎖 DNA phage의 模樣 (Bradley, D.E., 1967年)

表示한 세 가지의 形態中 어느 한 가지 形態를 띤다.

phage의 形態는 phage의 尾部 構造에서 電子顯微鏡의 으로 쉽게 區別할 수 있다.

大腸菌의 T系 phage의 例를 보면 A型의 것은 Core의 주위에 他의 型에서는 缺한 Sheath를 가짐으로 尾部의 굵기가 他形의 2倍에 達할 뿐만 아니라 그 先端에 發達된 尾纖維(Tail fiber)를 가짐으로 쉽게 識別된다. B型은 가장 긴 尾部를 가지는 反面 C型은 電子顯微鏡下에서도 識別하기 어려운 程度의 길이의 尾部를 가짐으로 쉽게 區別될 수 있다. 參考로 T系 phage의 尾部 크기를 比較하면 表 1과 같다.

表 1. 大腸菌 T系 phage의 尾部 크기

形態	phage	길이	幅
A	T2, T4, T6	95mm	20mm
B	T1, T5	160 "	10 "
C	T3, T7	15 "	10 "

(Wood, W.B., 1967年)

phage의 生物學的性質과 形態 사이에 直接의인 聯關은 없으나, 대체로 有機溶媒 醱酵菌인 *Clostridium saccharoperbutylaceticum*의 HM系 phage의 경우(表 2)와 같이 모양이 單純하고, 크기가 적을 수록 物理的인 자극에 對

表 2. *C. saccharoperbutylacetonicum*의 HM系 phage의 性狀比較

項 目	HM2	HM3	HM7	測 定 條 件
形 態	C	A	B	
크기(頭部短徑, 尾部길이) (mm)	80, 20	100, 100	120, 350	
溫度安定性(殘存活性) (%)	75	15	25	55°C×30分
중류수中安定性(") (")	60	2	20	30°C×60分
紫外線感度(消失活性) (")	50	54	98	15W×10秒×40cm
吸着率 (")	95	55	90	30°C×5分, m.o.i=1
Burst size(phage粒子數/菌)	500	100	20	
plaque의 크기 (mm)	1.5	0.8	0.2	平均
潛伏期 (分)	45	90	120	嫌氣培養時
Broth의 最終濁度 (660mm)	0.1	0.02	0.05	初發 O.D=0.4
多重感染時의 " (")	0.2	0.08	0.1	" O.D=0.3

(村田晃, 1964年) (Ogata, S., 1969年) (Choi, K.H., 1977年)

하여 安定성이 크며, 潛伏期도 짧고, 吸着率도 높고, Burst size도 크나, 菌體의 溶解度는 多少 떨어지는 傾向이 있다.

3. phage發生例

phage의 存在는 *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Rhizobium*, *Micrococcus*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Actinomycetes* 및 *Streptomyces* 등 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology에 나타난 거의 全部의 眞正細菌類에서 報告되었을 뿐만 아니라 酵母의 경우에도 Virus의 存在가 認定되고 있다.

이와같이 大部分의 細菌에 있어서 phage는 問題가 될 수 있으며, 産業적으로도 Acetone-butanol 醱酵菌인 *Clostridium butylicum*, *C. acetobutylicum*, *C. saccharoacetobutylicum*과 치즈 製造에 利用되는 *Streptococcus cremoris*와 *S. lactis*, 요구르트 및 乳酸菌飲料 製造에 利用되는 *S. thermophilus*, *Lactoba-*

cillus casei, *L. bulgaricus* 등의 乳酸菌, Amylase生産의 *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens*, inosin 醱酵의 營養要求性 菌株(ade⁻, his⁻, tyr⁻), 納豆製造의 *B. subtilis* var. *natto* 등의 *B. subtilis*系 細菌, Glutamin酸 醱酵의 *Microbacterium ammoniaphilum*, *Brevibacterium lactofermentum*, *B. glutamigenes*, *B. flavum* 및 Lysine 醱酵의 Homoserine要求性 *B. flavum* 變異株 등의 *Brevibacterium*, 抗生物質 polymyxin 生産의 *B. acillus polymixa* Colistin生産의 *B. colistinus*, Streptomycin生産의 *Streptomyces grieeus*, Tetracycline 生産의 *S. aureofaciens*, Rifamycin 生産의 *S. mediterranei*, Biomycin生産의 *S. floridae* 등의 放線菌, penicillin 生産의 *Penicillium chrysogenum* 과 같은 糸狀菌 등에서 phage의 存在가 確認되고 있어 酵母 利用의 酒精關聯産業 以外의 大部分의 微生物 利用産業에서 問題가 된다고 하겠다.

그 中에서도 特히 *C. saccharoperbutylacetonicum*을 使用하는 有機溶媒醱酵과 *B. lactofermentum*을 使用하는 Glutamin醱酵에 있어서는 phage汚染이 심각하여 이웃 日本의 경

生産場에 따라 數個月式 操業을 中止하고
ge 汚染 防除對策을 講究한 흔적이 있으며;
*triceps*를 使用하는 Streptomycin 生産도
對策의 一環으로 判斷되는 phage耐性 菌
多數 分離 되어 있다.

가운데서도 phage系統發生의 例는 *C. sacch
arbutyl-acetonicum*의 HM系 phage와 *B.
ofermentum*의 p系 phage에서 가장 詳研
어 있으며 參考로 紹介하면 다음과 같다.

4. HM系 phage의 系統發生

有機溶媒로서 重要な 位置를 占하고 있는
acetone과 Butanol은 1920年代부터 美國에서
工業利用의 Weizmann型의 嫌氣性 細菌인
*Clostridium acetobutylicum*에 依하여 醱酵
되어 있으며 1940年代에는 原料를 澱粉으로
廢糖蜜로 轉換하여 saccharo型의 *C.
acetobutylicum*을 使用하여 生産되었다.

30年代 부터는 *C. saccharoperbutylacetone
um* 이라는 別個의 菌株를 使用하여 生産되
나 原料轉換 및 菌株의 交替에도 불구하고
醱酵의 全期間을 通하여 phage의 汚染이
頻히 發生하여 生産에 莫大한 支障을 招來
하였다.

C. saccharoperbutylacetonicum NI-4을 利
用한 有機溶媒 醱酵가 HM3 phage에 汚染된
배지의 gas發生 및 濁度의 變化를 보면 圖 2
같이 gas가 旺盛히 發生되고 濁도가 急速
增加하여야 할 時期에 gas發生이 停止되고
濁도가 逆으로 急速히 低下하는 異常을 나타

냈다. 이것은 醱酵槽內의 細菌과 phage粒子의 個
수 一定比(約 1:1)에 達하면 細菌이 急速
그와 同時으로 溶解됨을 나타내는 것으로
醱酵槽가 極少數의 phage일 지라도 일

단 汚染이 되면 正常的 醱酵는 期待할 수 없
으며 汚染된 醱酵槽는 現場處理로서 수습될 수

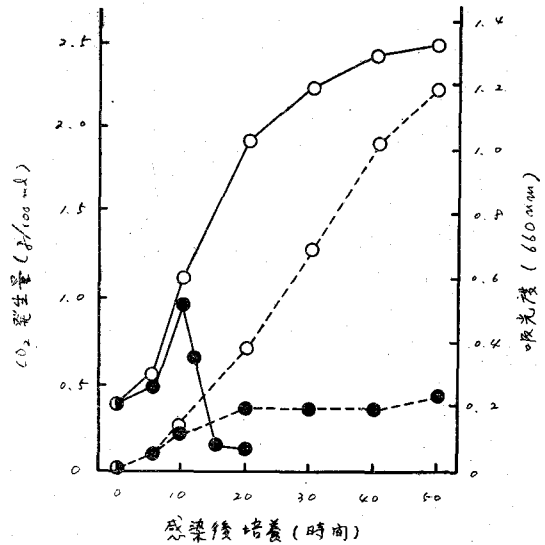


圖 2. phage汚染이 *Clostridium saccharoperb-
utylacetonicum*의 growth 및 gas發生에 미
치는 영향.
(村田晃, 1964年) 使用 phage HM3, m.o.i=1
○—○ : 吸光度, 對照
○.....○ : gas發生, 對照
●—● : 吸光度, phage오염
●.....○ : gas發生, phage오염

없을 것으로 推測된다.

한편, phage防除를 爲한 基本的 方法으로
여러 種類의 phage耐性菌을 分離하였으나 圖
3의 系統圖와 같이 phage 또한 차례로 宿主域
變異를 일으켜 感染되므로 phage 防除에 어려
움을 더해주고 있으며 耐性菌分離가 有效한
方法이긴 하나 本質的인 것은 되지 못함을 나
타낸다.

5. P系 phage의 系統發生

醋酸을 基質로 하여 Glutamin酸 醱酵에 利
用되고 있는 *Brevibacterium lactofermentum*
2256의 경우에도 phage感染에 依하여 圖 4와

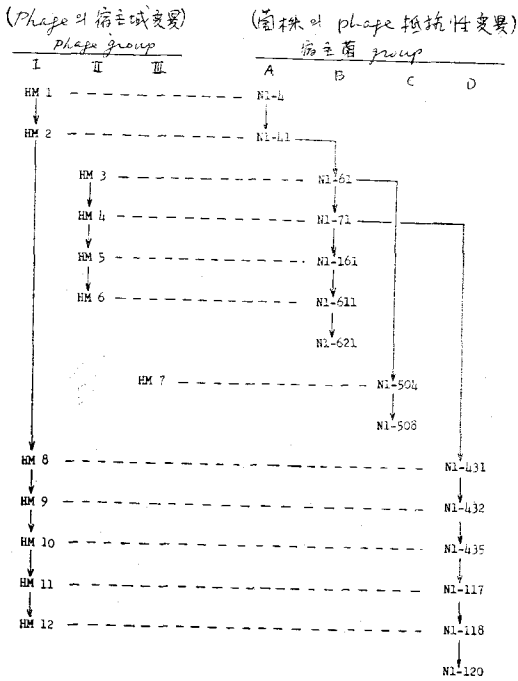


圖 3. *C. saccharoperbutylacetonicum* phage의 宿主域 變異의 發生系統圖(本江元吉 1970)

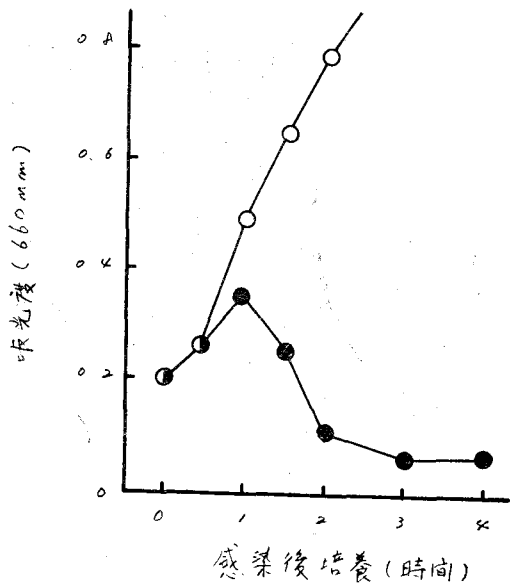


圖 4. phage汚染이 *Brevibacterium lactofermentum*의 增殖에 미치는 영향.
 (櫻井正二, 1976年), 使用 phage PA-2, m. o.i=10
 ○—○: 對照, ●—●: phage 오염

같이 代數增殖 初期에 確然한 溶菌現象을 나타냈다.

P系 phage의 경우에도 前項의 有機溶劑의 경우와 마찬가지로 strain 468-5라는 性菌株을 分離하고 基質을 轉換하였으나 과 같이 phage 또한 宿主域變異를 일으켜 期發生의 phage(I, II, III)와는 다른 新 phage가 發生된 것으로 推測된다.

表 3. *B. lactofermentum* phage의 宿主域

phage group	宿主菌		炭素源
	2256	468-5	
I	+	-	Glucose
II	+	-	"
III	+	-	"
IV	-	+	"
PG-1	-	+	"
PG-2	-	+	"
PG-3	-	+	"
PA-1	+	-	Acetic acid
PA-2	+	-	"
PA-3	+	-	"

(櫻井正二, 1976年)

6. phage防除對策

phage의 汚染은 前述한 바와 같이, 關聯的의 生産現場에서 一線의 問題로 登場되어 오나, 가장 基本的 防除策인 耐性菌分離마저 phage의 宿主域變異에 依하여 效果가 霧散되 버리는 것으로 미루어 phage에 對한 特對策은 期待하기 어려울 것으로 展望된다. 그러나 各 phage의 生理的 特異性을 면밀히 考查하여 長期的이고 綜合的인 對策을 講究한다면 不可能한 것은 아닐 것이다.

예를들어, 一般的으로 使用되는 方法인 數의 耐性菌을 分離하여 週期的으로 菌株 交替하는 것도 相當한 效果가 있으며 phage genonae이 細菌의 胞子內에는 들어가지 못

點을 利用하여 孢子形成 細菌의 경우에는 은 週期로 孢子에서 發生시킨 新鮮한 營養 胞와 交替하는 것도 有効하다. 그러나, 前者 境遇에는 生産性이 높은 耐性菌株을 多數 雜한다는 것은 相當한 어려움이 있으며, 또 菌株交替에 따른 工程不安定의 可能性도 으므로 分離한 耐性 菌株의 使用에는 면밀한 討가 先行되어야 한다. 後者의 경우에는 age發生의 豫防 效果도 期待할 수 있으나 단 汚染이 發生된 時期 以後 부터는 同一한 受性 菌株을 使用하게 되므로 效果를 期待 기 어렵다.

以上の 方法은 宿主細菌側에서 이루어지는 策이나 phage側에서도 phage의 性狀에 따 약간의 對策이 있을 수 있다. 例를 들어 H 系 phage의 경우에도 低濃度의 chloramp- nicol(細菌의 生育을 沮害하지 아니하는 범 의 濃度)添加에 依하여, *S. griecus*의 경우 는 感染 phage가 菌體 表面에 附着하는 데에 Ca^{2+} 을 必要로 하는것을 利用하여 Ca^{2+} 를 除 하고 醱酵槽에 微量의 Chelate劑를 添加하 로서 相當한 效果를 거두고 있다.

phage防除를 爲하여는 單一의 對策이 아니 以上 記述한 바와 같은 宿主細菌과 各個 age의 生理的 特性에 基礎한 여러가지 對策 講求되어야 할 것이나, 이러한 對策에 앞서 染된 醱酵槽 및 醱酵液을 充分히 殺菌한 後 기하며 環境을 淨化하여 phage의 서식處를 是는 等 phage의 汚染防止策이 講求되어야 것이다. 實際로 Glutamin酸 醱酵工場 주 의 土壤, 下水, 工場內 空氣中에 相當數의 age가 存在하고 特히 工場內 空氣中の ph- 粒子의 數가 汚染의 빈도에 比例的으로 增 한다는 事實이 밝혀진 바 있다(松井等 1968

age의 汚染을 防止하는 것이 他의 어떠한

防除對策보다 有効하며 基本的인 것으로 判斷 된다.

參 考 文 獻

Bradley, D.E.: Ultrastructure of phages and bacteriocins, *Bacteriol. Revs.*, 31, 230 (1967)
Wood, W.B. and Edgar, R.S.: Building a bacterial virus, *Scientific Amer.*, 217, 60 (1967)

村田 晃: サツカロ型ブタノールリツチ 生産菌 *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* のバク テリオファージに関する研究 (1964) 學位論文

Ogata, S.: Biological and biophysical properties of HM phages of *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* (1969) 學位論文.

Choi, K.H.: Studies on sucrose-induced autolysis of Clostridial cells (1977) 學位論文.

本江 元吉, 村田 晃, 緒方 靖: 發酵と微生物 (II) p. 23, 植村定治郎編, 1970, 朝倉書店, 東京.

櫻井 正二: 酢酸基質のレーグルタミン酸發酵出現 するファージに関する研究 (1976) 學位論文.

松井 後規, 長田 健, 山本 理雄: レーグルタミン 酸生産菌ファージ侵入経路に関する考察, *發協誌*, 26, 42 (1968).

投稿를 歡迎합니다

食品工業誌는 보다 새롭고 생생 한 業界 소식을 보다 正確하고 보다 迅速하게 傳達기 위해 會員社의 積極 적인 参与와 投稿를 바랍니다.

□ 다 음 □

□ 原稿종류

- ① 會員社의 各種 行事 소식
- ② 會員 (會員社 代表)의 動靜
- ③ 企業經營 成功事例
- ④ 海外視察記(紀行文)
- ⑤ 國際會議 參加記

□ 原稿길이

- ① 行事소식 및 會員動靜: 200 字 原稿紙 2張 이내
- ② 成功事例·紀行文 등은 200 字 原稿紙 18張 이내

□ 原稿마감: 수시 接受

□ 接受處: 食品工業誌 編輯室