

深海 海洋微生物의 分離 및 分離菌의 生態的 特徵에 관한 研究

李原在 · 大和田紘一*

釜山水産大學校 微生物學科, *東京大學 海洋研究所

Studies on the Ecological Characteristics of Marine Bacteria Isolated from Deep Sea

Won-Jae LEE and Kouichi-OHWADA*

Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan, 608-737 Korea

*Ocean Research Institute, University of Tokyo, 164 Japan

Flavobacterium spp., *Pseudomonas* spp., and *Vibrio* spp. were isolated from samples (sediments) of Sagami Bay and Suruga Bay (in Japan) at 810~4,000 m in depth. Among isolated strains, *Vibrio* sp.-86 and sp.-87 strains were identified as barophilic and psychrophilic ones. They grew in 400 atm and showed best growth at 100 atm. Marine bacteria grown at 400 atm were long rod shape and 30 to 50 times longer than those grown at 1 atm, which were short rod shape and formed flocks (aggregates). *Vibrio* sp.-86 strain grew at 5~37°C and 0.5~9.0% NaCl (3.0% of optimum concentration), while *Vibrio* sp.-87 strain grew at 1~7% NaCl (2.0% of optimum concentration).

The fatty acid compositions of *Vibrio* sp.-86 strain grown at 1 atm were C₂₀~C₂₂:0, C₁₆:1, and C₁₆:0 in the order of their abundance and at 400 atm the order were C₁₈:1, C₁₈:0, and C₂₀~C₂₂, whereas those of *Vibrio* sp.-87 strain at 1 atm were C₁₆:1, C₁₄:1, and C₂₀~C₂₂ and at 400 atm the order were C₁₄:1, C₁₂:0, and C₁₆:1. The amino acids composition of *Vibrio* sp.-86 strain grown at 1 atm were abundant in the order of aspartic acid, methionine, and glutamic acid and those at 400 atm were abundant in the order of methionine, glutamic acid, and aspartic acid. The amino acids composition of *Vibrio* sp.-87 strain grown at 1 atm were abundant in the order of methionine, glutamic acid, and aspartic acid and those at 400 atm were abundant in the order of methionine, glutamic acid, and isoleucine.

Key words : barophilic, psychrophilic, aggregate

서 론

해양의 수심은 평균 3,800 m로 380기압에 해당된다. 또한 수심 1,000 m 이상의 이심(以深)의 水塊는 수온 5°C 이하의 저온과 고수압 등의 특수한 환경(McDonald, 1975)에 속한다. 이러한 환경에서도 1기압에서의 해양미생물과 같이 증식속도나 대사활동을 가진 해양세균이 존재하고 있으며 이러한 高壓의 환경에서 서식하는 세균을 호압세균(barophilic bacteria)이라고 Zobell and Johnson (1949)은 보고하였다.

Yayanos (1978)는 심해 5,700m의 환경에서 채취한 Amphipoda(甲殼類)를 심해 현장 압력 그대로 유지시킨 상태에서 2~4°C의 조건하에 5개월간 보관한 후 silicagel 고형배지에 시료를 접종시켜 세균을 분리한 결과 나선형(*Spirillum*)의 호압세균 CNPT-3이란 균주를 분리하였다. 이 균주를 Yayanos et al. (1979)은 1 bar에서 825 bars(1 atm=1.01325 bars)까지의 압력 범위에서 증식 가능한 것을 발견하였고 증식 최적 조건의 압력이 약 500 bars인 것을 알게 되었다. 세균의 수는 2~3×10⁸세포/ml로 배가시간(doubling time)이

이 논문은 1993년~1994년 한국 학술진흥재단 대학교수 국비 해외파견 국제 공동연구과제 연구 결과임.

86시간인 것으로 측정되었다. 같은 방법으로 Marina 해구의 수심 10,476m에서도 Amphipoda를 채취하여 silicagel 고형배지에 접종, 편성호압성 MT-41 균주를 분리하였고 증식 최적 온도 및 압력은 각각 2°C와 690 bars이었고 분열속도는 25시간이었다. Marina해구의 현장 압력인 1,035 bars에서는 2°C에서 호압세균의 분열시간이 33시간이었다고 보고하였다(Yayanos et al., 1981). 고형배지를 사용하지 않고 액체배지를 사용하여 계속 계대하면서 호압세균을 순수 분리한 보고도 있다(Weyland and Helmke, 1989).

Jannasch and Wirsén (1984)은 호압세균을 분리하여 단백질 합성능이나 세포분열에 관하여 단계별 압력을 주면서 조사한 결과 단간균으로 최적압력 300기압보다 낮은 조건에서는 증식은 하지만 분열되지 않고 섬유상의 세포가 형성되었다고 하였다. Zobell and Cobet (1964)는 육상의 대장균을 가압 배양하였을 때 가압배양이 가능한 압력 범위내에서 배양된 균주가 특이한 섬유상의 세포와 닮은 현상을 발견하고 흥미 있는 과제로 생각하였다. 또한 호압성세균에 ¹⁴C 아미노산 흡수실험을 한 결과 최적압력보다 상당히 높은 600기압에서도 1기압에서와 동일하게 아미노산을 같은 비율로 고분자 화합물의 합성에 이용하는 것을 발견하였다. Delong and Yayanos (1985)는 호압세균 CNPT-3 균주를 각각 단계별 압력으로 배양하여 세포막 지질 중의 지방산을 분석한 결과 압력이 높아짐에 따라 전 불포화지방산/포화지방산의 비가 16:1로 불포화도의 함량이 증가하는 경향이 있음을 알게 되었고, 심해에서 분리된 11균주의 해양세균에서 긴 측쇄의 고도불포화 지방산이 검출되었고 그 중에서도 3균주에 대하여 구체적으로 분석한 결과 긴 측쇄의 고도불포화 지방산의 함량이 각 균주에 대하여 최적 압력 조건에서 더욱 높은 값을 나타냄을 발견하였다. 해양 호냉세균 *Vibrio marinus*에 대하여 상압하에서 배양온도가 낮아짐에 따라 긴 측쇄의 고도 불포화 지방산의 함량이 높아졌다. 이것은 불포화 지방산이 세포막의 고화(固化)현상을 막음과 동시에 내압성 또는 호압성에 관계가 있기 때문인 것으로 생각된다(清水, 1991).

이상과 같이 심해 미생물에 관한 연구는 1980년 이후 상당한 연구가 진행되고 있다. 본 연구는 이러한 연구 결과를 토대로 심해 특수환경에서 서식하는 미생물의 분리용 배지를 개발함과 동시에 이들 균을 분

리 동정하고, 압력에 따른 형태적 특징, 생리화학적 성상의 특징과 세포막 지질 중의 지방산 조성, 압력에 따른 지방산 조성의 변화 및 세포막 내의 아미노산 조성과 압력에 의한 아미노산 조성의 변화에 관하여 연구한 결과이다.

재료 및 방법

1. 시 료

시료는 東京大學 海洋研究所의 연구선 Tansemaru (淡青丸 KT-94-12)를 이용하여 Sagami만(相模灣)과 Suruga만(駿河灣) 및 그 주변 해역인 Aburatsubo만 (Fig. 1)의 저니시료(底泥試料, 수심 810-4,000 m)를 multiple core sampler로 채취한 후 저온실에 보관하면서 실험 자료로 사용하였다.

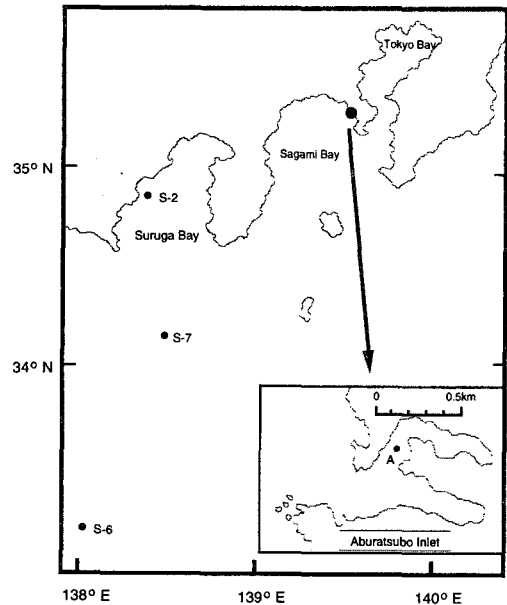


Fig. 1. Location of sampling stations.

2. 방 법

채취한 시료를 희석한 후 TCBS agar, Zobell-2216E (1/2) 및 개량형 배지에 접종하여 5°C에서 30일간 배양하면서 일정 시간마다 관찰하였다. 이때 형성된 colony의 특징별로 순수 분리 배양하였고 개량형 배지에 접종하여 순수 분리된 균주를 압력에 의한 형태적 특

징, 생리화학적 특징을 Kriegl and Holt (1984), Holt et al. (1994) 등에 의하여 관찰, 분리 동정하였다. 압력 관계는 加壓 pump (Fig. 5)를 사용하여 100, 200, 300, 400, 500, 600기압의 각 압력별로 순수 분리된 균을 배양하였다. 압력에 따른 균체 세포막 내의 지방산 조성은 Gas Chromatography (Hewlett packard 5890 Series II)에 의하여 분석하였고 아미노산 조성은 액체 Chromatography(日立 835)를 사용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 심해 미생물의 분리

심해 810m~4,000m의 특수 환경(Fig. 1)에 서식하고 있는 해양세균은 18균주가 분리되었고(Suruga Bay), 여기에 비교 검토하기 위한 연안해역인 Aburatsubo 만에서는 16균주가 분리되었다. 분리된 균의 조성을 보면 Fig. 2와 같다.

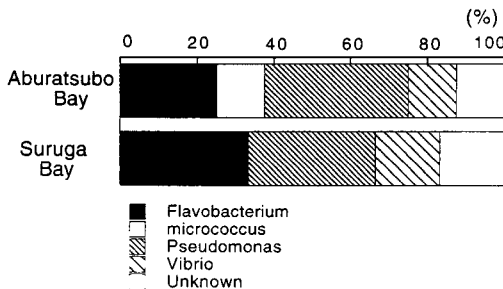


Fig. 2. Compositions of isolated bacterial flora in bottom sediment collected at Aburatsubo and Suruga Bay in Japan.

Suruga 만의 시료에서 분리된 균의 조성을 보면 *Pseudomonas* spp.가 6균주, *Flavobacterium* spp.가 6균주, *Vibrio* spp.가 3균주였고 미동정된 균주가 3균주였다. 한편 연안 해역인 Aburatsubo 만의 시료에서는 *Pseudomonas* spp.가 가장 많은 6균주이고, *Flavobacterium* spp.가 4균주, *Vibrio* spp. 2균주, *Micrococcus* spp.가 2균주, 미동정 분리된 균이 2균주로 16균주가 분리되었다. 연안의 경우 육상에서 비나 홍수 등에 의하여 연안 해역으로 유입되는 경우 해양환경에 적응하여 서식하는 미생물의 경우를 많이 생각할 수 있는데 *Micrococcus* 균주들은 육지에서 유입되어 해양환경

에 적응한 균들로 생각된다. Yayanos (1978), Deming and Colwell (1981) 등은 Silicagel 고품 배지를 사용하여 심해 저서생물의 장내에서 호압세균을 분리하였고, Weyland and Helmkel (1989)는 액체 배지를 사용하여 수십회 반복(계대)접종하여 호압세균을 순수분리한 보고가 있다. 본 연구에서는 개량형 배지(Table 1)에 의하여 5°C에서 30일간 배양한 후 총 34균주를 분리하였고, 이들 균주 중 3,400m와 4,000m에서 분리된 호압 호압세균인 *Vibrio* sp.-86과 sp.-87의 두 균주를 분리할 수 있었다. 이 균주는 5°C, 1기압(상압)에서도 7일 이내에 평판배지상에 colony를 형성하여 육안 관찰이 가능하였다.

Table 1. Composition of modified Zobell 2216 medium

Bacto Peptone(or tryptone)	2.5 g
Bacto Yeast extract	1.0 g
Bacto Soytone	0.5 g
Ferric Citrate	0.1 g
Bacto Agar	5.0 g
Sea Water	1.0 l
pH	7.5(±0.1)

2. 분리균의 생리화학적 특성

Suruga 만의 810~4,000m에서 분리된 해양세균은 Gram 음성 간균으로 크기는 0.8~1.0×0.7~2.2 μm의 크기로 편모는 극모성을 가진 균이었다. 비교 검토하기 위한 연안 해역 Aburatsubo 만에서 분리된 균주들은 *Micrococcus* 균주를 제외하고는 심해 균주와 거의 비슷한 양상을 보이며 Gram 음성 간균으로 크기는 1.0~1.3×1.8~2.8 μm로 Aburatsubo 만의 균이 큰 편이다. Table 2는 5°C에서 배양이 잘 되는 호냉성 균인 *Vibrio* spp. 4균주(연안 2균주, 심해 2균주)의 생화학적 성상을 나타낸 것이다. Table 2를 보면 균주 sp.-40과 sp.-74는 연안 해역인 Aburatsubo 만의 저니(底泥)에서 분리된 16균주 중 *Vibrio* 균주로서 5°C에서 일주일 내에 증식하여 colony를 형성하는 균이며, sp.-86과 sp.-87은 Suruga 만의 수심 810~4,000m에서 분리된 18균주 중 5°C에서 일주일 내에 증식하며 육안 관찰이 가능할 정도의 colony를 형성하는 균이나 편모는 극모성으로 특히 심해의 *Vibrio* sp.-86균의 편모는 Fig.

Table 2. Characteristics of the isolated *Vibrio* strains

Carbohydrate	sp.-40	sp.-74	sp.-86	sp.-87
Form	rod	rod	rod	rod
Gram	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+
flagellate	mono	mono	mono	mono
Oxidase	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+
Gelatine	-	-	-	-
V.P	-	-	-	-
M.R	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+
Nitrate	+	+	+	+
NaCl(%)				
0	-	-	-	-
0.5	-	-	+	-
1	+	+	+	+
3	+	+	+	+
5	+	+	+	+
7	+	+	+	+
10	-	+	-	-
Temp(°C)				
5	+	+	+	+
10	+	+	+	+
20	+	+	+	+
37	+	+	+	+
40	-	-	-	-
OF	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+
Raffinose	+	-	-	-
Xylose	+	+	+	+
Galactose	-	-	+	+
Mannitol	+	+	+	-
Inocitol	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-
Fructose	+	+	+	+
Dextrine	+	+	+	+
Lactose	-	+	-	-
Salicine	-	-	-	-
Arabinose	+	+	-	-
Trehalose	+	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-
Inuline	-	-	-	-
Leucine	+	+	+	+
TCBS Agar	Y	Y	Y	Y/G

Y, yellow color; G, Green color

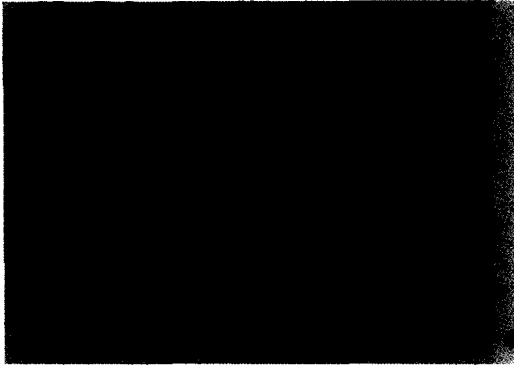


Fig. 3. Flagellate(monotricate) of barophilic and psychrophilic bacteria.

3과 같다. *Vibrio* 균주에 관한 보고는 상당히 많다. 清水(1991)는 해양에서 *Vibrio* 과의 분류와 생태에 관한 보고에서는 해수중에는 세균이 가장 많고, 해수 세균 중에서 *Vibrio* 균이 우점종이라 하였다. *Vibrio cholera* 는 병원균 식중독균으로 알려져 있고 *V. anguillarum* 은 동물이나 어류의 병원균으로 알려져 있다. 또한 형태적 특징, 생화학적 특성 및 분자 생물 기법으로 16S rRNA sequence를 이용하여 분리하는 기법과 계통분류개념의 중요성을 주장하였다.

4균주의 특성을 보면 형태는 간균, Gram 음성, 극모성, oxidase, catalase는 양성, M. R., indol, nitrate, OF test, glucose, mannose, sucrose, xylose, fructose, dextrine, trehalose, leucine은 양성 또는 이용능을 가졌다. TCBS Agar 평판배지상에서의 colony 형성을 보면 3균주(sp.-40, sp.-74, sp.-86)는 노란색으로, 심해에서 분리된 sp.-87은 노란색에서 초록색으로 그 특징이 나타나고 있다. NaCl의 농도를 0, 0.5, 1~10%로 달리하여 4균주를 접종, 5°C에서 배양하면서 관찰한 결과(OD 측정), sp.-86 균주는 0.5%의 농도에서 증식하기 시작하여 NaCl 농도 3.0%가 최적 농도로 성장이 좋았으며 9%에서까지 성장하였고, sp.-74 균주는 1~10% 범위에서 성장하였으며 최적 성장 농도는 5%였다. sp.-40과 sp.-87 균주는 1~7% 까지는 성장하였으며 최적 NaCl 농도는 각각 3%와 2%를 보여 주었다. 이상의 각 농도별 성장 관계를 그려 보면 Fig. 4와 같다.

4균주의 온도에 관하여 5, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 40°C의 범위까지 성장관계를 조사한 결과 37°C까지는 성장가능하였으며 낮은 온도인 5°C에서 성장이 가장

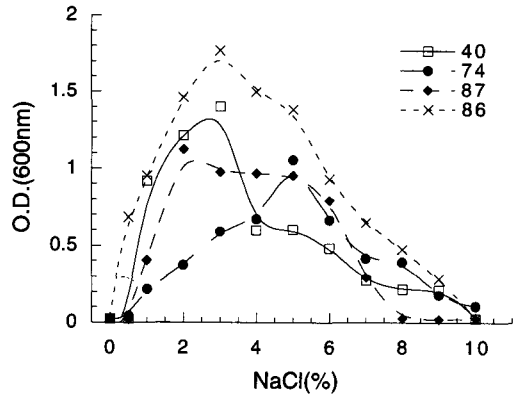


Fig. 4. Effects of NaCl concentration on the growth of the isolated *Vibrio* spp.

활발하였다. 각 균주의 생리화학적 특성의 차이를 정리한 것이 Table 3과 같다. Table 3에서는 TCBS 상의 차이, 온도의 성장범위, NaCl 농도의 성장 범위와 최적농도 기타 raffinose, galactose, mannose, lactose, arabinose 등에서 각 균주 간의 차이를 보여주고 있다. 이상의 결과들을 Bergey's manual(Krieg and Holt, 1984, 1994)과 Simidu et al. (1990), Aznar et al. (1994) 등에 의한 *Vibrio* 균주들의 분리방법 결과와 Gueriot et al. (1982) 등에 의한 *Vibrio diazotrophicus*의 분리, Kearley and Gow (1994)에 의한 계절적으로 냉해(冷海)에서 *Vibrio* 균들의 작용과 분자생물학적 특성, Tinson and Seidler (1983) 등은 *Vibrio aestuarianus* 균을 하구역에서 분리동정 생화학 특성을 발표하였고, Yang et al. (1983)은 중국 연안에서 발광성 *Vibrio* 균을 분리하여 *Vibrio orientalis* sp. nov. 라 하였으며 이 균은 poly-β-hydroxybutyrate를 생산한다고 하였다. 이상과 같은 연구결과와 본 실험 결과를 비교 대조하여 보면 연안 해역의 Aburatsubo에서 분리된 *Vibrio* 균주인 sp.-40균주 *Vibrio nereis*, sp.-74 균주는 *V. aestuarianus* 그리고 Suruga만에서 분리된 심해미생물인 sp.-86 균주는 *V. orientalis*, sp.-87 균주는 *V. diazotrophicus*와 같다고 생각된다. 그러나 세균 분류상의 결정은 좀더 신중을 기하는 뜻에서 유전학적인 기법 즉, Hybridization이나 16S rRNA의 sequence를 이용할 필요가 있다고 생각된다.

3. 압력에 의한 분리균의 생태적 특징

분리 동정된 4균주를 압력과의 관계를 알기 위하여

Table 3. Different characteristics of the isolated *Vibrio* strains

Strains	TCBS	T(°C)	NaCl(%)	Raf.	Gal.	Man.	Lac.	Ara.
SP-40	Y	5-37	1-9 (3)	+	-	+	-	-
SP-74	Y	5-37	1-10 (5)	-	-	+	+	-
SP-86	Y	5-37	0.5-9 (3)	-	+	+	-	+
SP-87	Y/G	5-37	1-7 (2)	-	+	-	-	+

개량형 배지(Table 1) 조성에서 한천을 제거한 액체 배지에 균을 접종하여 특수 비닐 봉지 속에 넣어 sealing한 후 가압 배양 장치(Fig. 5)에 넣은 다음 단계별로 압력을 가한 후 압력을 고정시키고 5°C에서 배양하였다. 압력은 100~600기압까지 단계별로 가하여 배양하면서 성장속도, 형태적 특징, 세포막내의 물질과의 관계 등을 분석하였다.

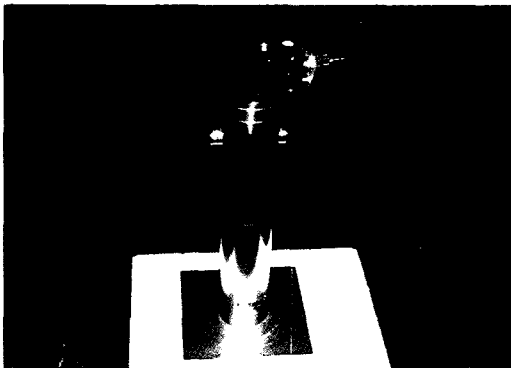


Fig. 5. Aparatus for high hydrostatic pressure.

Fig. 6은 압력에 따른 성장관계를 보여주는 것으로 각 압력별로 일정한 시간에 측정된 결과이다. 1기압의 경우 7일 이상이 되어야 흡광도(OD)값이 0.8 이상이지만 100기압에서는 심해 세균과 연안 세균의 성장에 뚜렷한 차이를 보여 주었다. 즉 심해 미생물은 2일째부터 액체 배지가 혼탁해 진 것을 알 수 있었고 4일째에는 흡광도 값이 0.8 이상에 가까워지는 것을 알 수 있었지만 연안해역의 저니(底泥)에서 분리된 균주는 6일째에도 육안상으로는 표준 배지와 구별 없이 보였고 흡광도 값도 0.1에 못 미치는 값이었다. 200

기압, 300기압, 400기압까지의 결과를 보면 심해 미생물은 성장 속도가 100기압에 비하면 같은 시간에는 낮은 값을 보였으나, 6일 이후는 동일한 값을 보였다. 한편 연안해역에서 분리된 균주는 400기압 이상에서는 간균이 구균형태로 변환 후 사멸 되었다. 이상의 결과에서 5°C, 100기압에서 가장 성장이 빠른 *Vibrio* sp.-86 균주와 sp.-87균주는 400기압 이상 600기압까지는 성장을 보여 주어 호냉 호압세균임을 알 수 있었다. Fig. 7-1은 400기압일 때 균의 형태로 1기압일 때 균체의 30~50배 크기의 긴 간균 형태이다.

Fig. 7-2는 400기압에서 긴 간균형태를 1기압에 방치했을 경우 단간균으로 다시 되면서 균괴(flock 또는 aggregate)를 형성하고 있다. 이러한 현상을 관찰해 보면 심해 3,000~4,000m의 현장에서 서식할 때 그림 7-1과 같이 긴 간균 상태로 존재 하는지 아니면 어떠한 상태로 생존하는지는 의문이다. 또한 어떠한 구조를 하고 있는가를 생각할 때 흥미있는 과제이다. 이러한 상태를 구조적으로 어떻게 변화하는가를 조사해 볼 필요가 있다.

金助崎 등(1991)은 잠수정 2,000(심해 2,000)을 이용하여 수심 1,000~2,000m의 저니를 채취하여 압력 배양실험을 하였다. 그 결과 200기압까지는 미생물이 증식하였으나 내압성 세균으로 생각되었고 또한 압력과 수심이 미생물의 증식에 주는 영향이 크다고 하였다. 일반적으로 내압성균은 400기압 이상이 되면 정상적인 분열도 되지 않고 사멸되는 것을 보고하였다.

Jannasch and Wirsen (1983)은 압력에 의한 미생물의 관계를 구분하여 모식도로서 나타내었는데 내압 미생물(耐壓微生物), 호압미생물(好壓微生物), 또는 비편

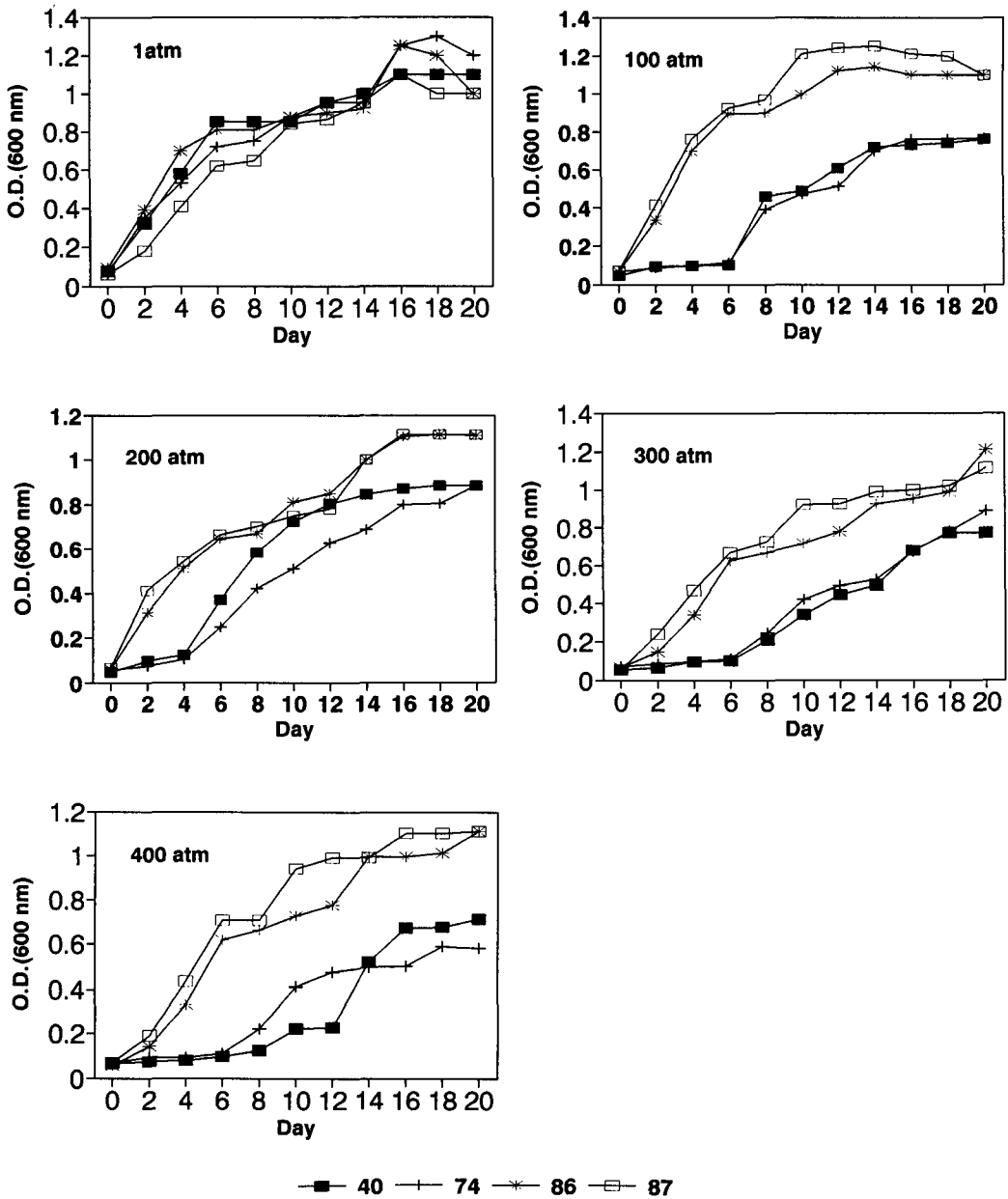


Fig. 6. Effects of high pressure on the growth of the isolated *Vibrio* spp.

성호압미생물과 편성호압미생물(偏性好壓微生物)로 구분하였다. 따라서 저자들이 분리한 심해미생물 *Vibrio* sp.-87 균주는 호압성 미생물로 생각된다.

호냉·호압성 세균으로 생각되는 *Vibrio* sp.-86 균

주와 sp.-87 균주의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 5와 같다. Table 4에서 보면 1기압일 때는 연안 해역 이토에서 분리된 sp.-40균주 sp.-74균주와, 심해 810~4,000에서 분리된 sp.-86균주와 sp.-87균주와의 지방

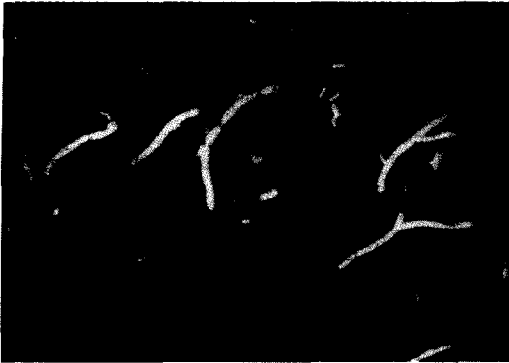


Fig. 7-1. The long rod shape *Vibrio* sp.-86 isolated at 400atm.

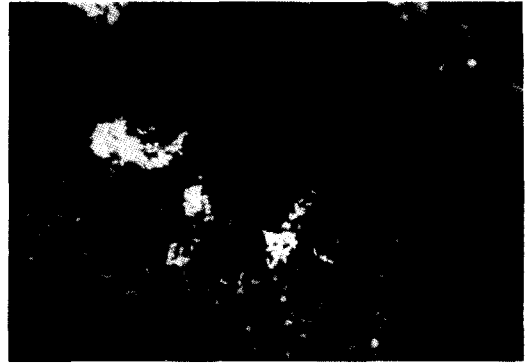


Fig. 7-2. The long rod shape *Vibrio* sp.-86 was changed to short rod shape and formed flocks(aggregate) when it was left at 1 atm.

조성관계를 나타낸 것이다. C₂₀₋₂₂사이의 불포화 지방산의 경우 연안 해역보다 심해에서 분리된 세균이 높은 함량을 보인다. 저온 환경에서 분리된 4균주 모두가 C_{12:0}, C_{14:1}, C_{16:1}이 많고 C₂₀₋₂₂는 심해 미생물인 sp.-86 균주와 sp-87 균주가 함량이 높다. 400기압일 때와 1기압일 때는 호냉 호압성 세균인 *Vibrio* sp.-86 균주와 sp.-87 균주는 400기압일 때 C_{14:1}, C_{18:1}인

불포화 지방산이 현저히 증가하였고 C₂₀₋₂₂는 감소하였다. 즉 어느 한쪽의 지방산이 다른 불포화 지방산으로 전환된다는 것을 알 수 있다. 특히 C_{18:1}이 압력에 의하여 증가하는 현상은 흥미로운 문제다. Delong and Yayanos (1985)는 호압성 세균 CNPT-3균주를 여러가지 압력조건으로 배양했을 때 세포막 지질층의 지방산 조성은 배양 압력이 높아짐에 따라 전 불포화

Table 4. Fatty acid compositions of *Vibrio* strain

Fatty acid	sp.-40	sp.-74	sp.-86	sp.-86 (400 atm)	sp.-87	sp.-87 (400 atm)
9:0	17.14	—	—	—	—	—
10:0	3.03	—	—	4.04	—	1.84
12:0	10.11	10.65	1.92	3.12	6.73	18.76
12:1	2.88	—	—	—	—	—
14:0	3.31	4.52	—	—	—	—
14:1	2.74	2.16	7.21	10.90	22.93	34.34
15:1	—	—	9.14	5.25	9.11	2.69
16:0	12.28	14.41	12.12	18.60	7.20	5.98
16:0(iso)	—	3.14	—	—	—	—
16:1	27.80	26.99	22.34	12.25	28.06	16.58
17:0(anteiso)	3.43	15.89	—	—	—	—
18:0	5.41	3.45	9.21	5.14	3.93	1.89
18:1	2.58	6.99	—	27.61	—	5.06
20-22:0	9.30	2.21	26.21	13.09	22.04	7.11
unknown	—	7.58	—	—	—	4.76

(Values are expressed area %)

Table 5. Amino acid compositions of barophilic and psychrophilic bacteria *Vibrio* strains

Amino acid	sp.-40	sp.-74	sp.-86	sp.-86 (400 atm)	sp.-87	sp.-87 (400 atm)
p-Serine	—	—	—	—	0.32	—
Taurine	0.02	—	0.10	—	0.02	0.84
Aspartic acid	23.31	31.41	8.92	26.29	8.26	12.58
Threonine	2.43	6.91	3.51	1.87	7.62	7.96
Serine	2.08	0.67	0.33	1.71	0.15	5.82
Glutamic acid	10.89	9.82	11.73	15.83	15.68	17.78
Proline	0.29	0.31	0.51	—	0.19	—
Glycine	4.74	1.45	4.91	2.83	4.80	4.16
Alanine	5.18	1.50	0.65	3.11	0.23	3.26
Citrulline	—	—	0.04	—	0.39	—
Valine	0.30	0.16	0.24	—	0.33	—
Cystein	10.58	3.41	—	—	0.16	—
Methionine	0.51	0.36	19.68	22.94	17.97	24.41
Cystine	0.33	0.71	0.51	—	0.21	9.30
Isoleucine	2.87	6.61	0.22	9.74	0.12	13.68
Leucine	0.56	0.25	0.39	1.94	0.17	2.15
Tyrosine	2.40	0.22	0.13	—	0.91	—
Phenylalanine	—	—	0.11	—	0.66	0.34
β -Alanine	—	—	0.21	0.94	—	—
α -ABA	—	—	0.09	0.59	—	—
Ornithine	2.21	0.67	0.38	1.84	2.29	2.14
Lysine	0.47	0.15	0.93	—	5.19	4.13
Histidine	—	0.02	0.02	0.52	0.56	0.43
3-Methylhistidine	—	+	1.08	—	—	—
Arginine	0.35	9.48	0.12	8.04	1.61	7.11

(Values are expressed as g amino acid/100g total amino acids)

지방산 대 전 포화지방산의 비율은 16:1로 불포화 지방산의 함량이 증가하는 경향이 있는 것을 알게 되었고 심해에서 분리한 11균주의 해양세균 중 긴 측쇄의 고도불포화 지방산이 검출되었고 균주 중 3균주에 대하여 다시 정확하게 분석해 본 결과 최적 압력조건일 때 가장 높은 불포화 지방산의 함량인 것을 알게 되었다. Table 5는 분리된 균주의 세포막내의 아미노산 조성을 분석한 결과이다. Table 4에서와 마찬가지로 연안해역에서 분리된 sp.-40균주, sp.-74균주와 심해 미생물은 400기압일 경우를 비교해 놓은 것이다. 심해 미생물 *Vibrio* sp.-86은 glutamic acid, aspartic acid, methionine의 함량이 높았으나 400기압하에서는 aspartic acid와 methionine이 월등하게 높아졌다.

Vibrio sp.-87 균주의 경우 methionine, glutamic acid, aspartic acid의 함량이 높았으나 400기압하에서는 methionine, glutamic acid나 aspartic acid의 함량이 증가함과 동시에 다른 성분이 줄어들거나 없어지는 경향을 알 수 있다. 즉 고압력하에서는 아미노산의 종류가 줄거나 검출되지 않는 반면 몇몇 종의 함량이 증가하는 것을 알 수 있다. Jannasch and Wirsén (1984)은 자기가 분리한 호압세균을 단백질 합성능이나 세포분열에 관하여 각종 압력조건을 조사 관찰하였다. 이 균의 최적 압력(300 atm)보다 낮은 조건에서는 증식은 하지만 분열은 되지 않기 때문에 섬유상 세포를 형성한다고 하였다. ¹⁴C 아미노산 흡수에 관한 실험으로 최적 압력보다 상당히 높은 압력(600기압)이거나

낮은 압력일 경우 대사 활동의 변화를 조사한 즉 아미노산은 같은 비율로 고분자 화합물의 합성에 이용되고 있음을 알 수 있었다. 본 실험에서 지방산의 경우는 탄소수가 전환되는 것을 알 수 있고 아미노산의 경우는 양적으로 증감되는 현상이 보였다.

요 약

일본의 Sagami bay와 Suruga bay의 810~4,000m되는 심해에서 채취한 시료에서 *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp. 균종을 분리하였다. 이들 중 barophilic과 psychrophilic bacteria인 sp.-86과 sp.-87를 분리동정하고 압력단계별 성장속도를 조사한 결과 400기압에서도 잘 성장하였고 특히 100기압에서 가장 성장속도가 좋았다.

균의 형태는 1기압의 균 형태에 비하여 400기압에서 성장한 간균이 30~50배 이상 긴 간균 형태였으나 (Fig. 3), 다시 1기압에 방치하면 단간균으로 균괴 (flock)를 형성한다(Fig. 4). 이들 균의 발육온도 범위는 5~37°C까지 발육하며, NaCl 농도의 범위는 sp.-86은 0.5~9%이고 최적성장 농도가 3%, sp.-87 균주의 지방산 조성은 C₂₀₋₂₂, C_{16:1}, C_{16:0} 순으로 높은 함량이었고 400기압에서는 C_{18:1}, C_{18:0}, C_{20-22:0}의 함량순을 보였다. sp.-87균주는 C_{16:1}, C_{14:1}, C_{20-22:0}의 순이었고 400기압에서는 C_{14:1}, C_{12:0}, C_{16:1}의 순으로 함량조성이 변하였다.

아미노산 조성은 sp.-86의 경우 aspartic acid, methionine, glutamic acid 함량순이었고 400기압에서는 methionine, glutamic acid, aspartic acid 함량순이었다. sp.-87의 균주는 methionine, glutamic acid, aspartic acid 순이었고 400기압에서는 methionine이 가장 높은 함량이고 glutamic acid, isoleucine 순으로 높은 함량이었다.

참 고 문 헌

Aznar, R., W. Ludwig, R. I. Amann and K. H. Schleifer. 1994. Sequence determination of rRNA genes of pathogenic *Vibrio* species and whole-cell

identification of *Vibrio vulnificus* with rRNA-targeted oligonucleotide probes. *J. of Bacteriology*, 44(2), 330~337.

Delong, E. F. and A. A. Yayanos. 1985. Adaptation of the membrane lipids of a deep sea bacterium to changes in hydrostatic pressure. *Science*, 228, 1101~1103.

Deming, J. W. 1981. Ecology of barophilic deep sea bacteria. Doctor thesis, Univ of Maryland, pp. 143.

Deming, J. W. and R. R. Colwell. 1981. Barophilic bacteria associated with deep sea animals. *Bio-science*, 31, 507~511.

Guerinot, M. L., P. A. West, J. V. Lee and R. R. Colwell. 1982. *Vibrio diazotrophicus* sp. nov., a marine nitrogen-fixing bacterium. *J. Syst. Bacteriology*, 32(3), 350~357.

Holt, J. G., N. R. Krieger, Peter H. A., Sneath and J. T. Staley. 1994. *Bergey's manual of systematic bacteriology* (vol. 9). Williams & Wilkins, 259~277.

Jannasch, H. W. and C. O. Wirsen. 1984. Variability of pressure adaptation in deep sea bacteria. *Arch. Microbiol.*, 139, 281~288.

Kearley, J. M. and J. A. Gow. 1994. Numerical analysis and the application of random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction the differentiation of *Vibrio* strains from a seasonally cold ocean. *Can. J. Microbiol.*, 40, 446~455.

Krieger, N. R. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology* (vol. 1). Williams & Wilkins, 516~541.

MacDonald, A. G. 1975. *Physiological aspects of deep sea biology*. Cambridge University Press, pp. 450.

Simidu, U., K. K. Tsukamoto, T. Yasumoto and M. Yotsu. 1990. Taxonomy of four marine bacterial strains that produce tetrodotoxin. *J. of Syst. Bacteriology*, 40(4), 331~336.

Simidu, U. 1991. Ecology and Taxonomy of Marine

- Vibrionaceae. Marine Biolog. HOKUSEN-SHA, 195~204.
- Tinson, D. L. and R. J. Seidler. 1983. *Vibrio estuarius*; a new species from estuarine waters and shellfish. J. Syst. Bacteriology, 33(4), 699~702.
- Weyland, H. and E. Helmke. 1989. Barophilic and psychrophilic bacteria in the antarctic ocean. T. Hattori et al.(eds), Recent advances in microbial ecology, Japan Scientific Societies Press, 43~47.
- Wisner, C. O., H. W. Jannasch, Wakenham and E. A. Canuel, 1987. Membrane lipids of a psychrophilic and barophilic deep sea bacterium. Current Microbiol., 14, 319~322.
- Yang, Y., P. Y. Lee, Y. Cao, L. Baumann, P. Baumann, J. S. Tang and B. Beaman. 1983. Characterization of marine luminous bacteria isolated off the coast of China and description of *Vibrio orientalis* sp. nov. Current Microbiology, 8, 95~100.
- Yayanos, A. A. 1978. Recovery and maintenance of live amphipoda at 580 bars pressure from 5700 m depths of the Central North Pacific Ocean. Science, 200, 1056~1059.
- Yayanos, A. A., A. S. Dietz and R. V. Boxtel. 1979. Isolation of a deep-sea barophilic bacterium and some of its growth characteristics. Science, 205, 808~810.
- Yayanos, A. A., A. S. Dietz and R. V. Boxtel. 1981. Obligately barophilic bacterium from the Mariana trench. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 78, 5212~5215.
- Zobell, C. E. and A. B. Cobet. 1964. Filamentous formation by *Escherichia coli* at increased hydrostatic pressure. J. Bacteriol., 87, 710~719.
- Zobell, C. E. and F. H. Johnson. 1949. The influence of hydrostatic pressure on the growth and viability of terrestrial and marine bacteria. J. Bacteriol., 57, 179~189.
- Zobell, C. E. and R. Y. Morita. 1957. Barophilic bacteria in some deep sediments. J. Bacteriol., 73, 563~568.
- Zobell, C. E. and R. Y. Morita. 1959. Deep sea bacteria. Galathea Report, Copenhagen, 1, 139~154.
- 金助崎俊二, 池本榮子, 辻義人. 1991. 深海底泥中から分離した微生物の加壓培養時における増殖應答. 海洋科學技術センター, 7, 79~87.
- 矢野豊, 中山昭彦. 1992. 深海生物, 底泥からの微生物の分離および二, 三 性状. 海洋科學技術センター, 7, 79~87.
- 清水潮編. 1991. 海洋微生物とバイオテクノロジ. 技報堂出版, pp. 370.

1995년 6월 30일 접수

1995년 7월 11일 수리