

## 김치로부터 분리된 우세 균주들의 *in vitro* 항유전 독성효과

최준원 · 박종흠 · 지승택 · 최옥병\* · 신현길\*\*

한동대학교 식품 기능성 및 안전성연구소, \*호서대학교 생명과학과, \*\*한동대학교 생물식품공학부

### Antigenotoxic Effect of Dominant Bacterial Isolates from Kimchi *in vitro*

Jun-Won Choi, Jong-Heum Park, Seung-Taek Ji,  
Ok-Byung Choi\* and Heun-Kil Shin\*\*

*Institute of Functional Foods and Safety, Handong University*

*\*Department of Life Science, Hoseo University*

*\*\*School of Bioscience and Food Technology, Handong University*

#### Abstract

This study was carried out to isolate the colonies of dominant fermented bacteria from Kimchi (Korean native fermented foodstuffs) and investigate their inhibitory potentials on mutagenesis and carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) as direct carcinogen. For this purpose, single cell gel electrophoresis technique (SCGE assay, or comet assay) which is a sensitive and rapid technique for detecting the presence of DNA strand breaks in individual cells was used. DNA damages of Kimchi isolates were compared with that of the positive control, MNNG. Among 3 isolates from *Tongbaechu* Kimchi, two isolates B-1 and B-2 showed antigenotoxicities ( $p < 0.01$ ). All 4 isolates from *Yulmu* Kimchi had antigenotoxicities ( $p < 0.05$ ). Also, 3 of 5 isolates from Chonggak Kimchi and 2 of 9 isolates from *Kaktugi* were antigenotoxic ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively).

Key words : Kimchi, comet assay, antigenotoxicity, fermented bacteria

#### 서 론

사람에게 발생하는 대부분의 암은 섭취하는 음식, 생활 방식 등의 환경적 요인과 밀접하게 관련되어 있음이 널리 받아들여지고 있다. 이 중에서 흡연과 부적절한 식습관은 전체 암 발생율의 약 2/3을 차지하고 있다고 한다<sup>(1)</sup>.

한국의 전통발효식품인 김치는 고추장, 된장 그리고 간장과 더불어 한국을 대표하는 명실상부한 식품으로써 한국인의 식문화에서 빼놓을 수 없는 중요한 부식이다. 그러나 김치가 차지하는 비중에 비하여 그에 관련된 연구는 매우 저조한 편으로 그나마 지금까지 이루어진 결과들도 주로 발효 특성과 저장성 연장에 치우쳐져 있어 영양학적 또는 기능적 가치에 대한 연구는 거의 전무한 실정이나, 최근에 국내외 일부 연구자들에 의하여 건강식품으로써 김치의 가치를 재고하는 결과가 점차 보고되고 있다. 이러한 연구들으로써 Oh 등<sup>(2)</sup>

은, 한국인에게 대장암의 발생이 낮은 것은 다량의 김치를 섭취하기 때문이라 추정하였으며, 박<sup>(3)</sup>도 발효 김치액이 MG-63 인체 골육종 세포와 K-562 백혈병 세포에 대하여 직접적 항암 효과를 나타내었고, 항돌연변이 실험에서 발효된 김치의 메탄올 추출물이 발암물질인 aflatoxin B1과 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)에 대하여 돌연변이 억제효과가 있음을 발견하기도 하였다. 또한 손<sup>(4)</sup>은 김치 발효에 관여하는 미생물이 발암 억제효과를 가지고 있으며, 정<sup>(5)</sup>도 rat을 이용한 *in vivo* 실험에서 김치 발효균을 투여할 경우, 독성 물질( $\alpha$ -naphthol)에 대해 김치발효균이 해독작용을 하며 김치발효에 관여하는 발효균 중 *Lactobacillus plantarum*의 세포벽 추출물이 sarcoma 180 세포주에 의해 유발된 복수암 및 고형암에 직접적 항암효과를 갖는 사실을 제시하기도 하였다.

본 연구에 사용한 Single Cell Gel Electrophoresis(SCGE 또는 comet assay)법은 DNA에 strand breaks을 일으키는 발암물질과 같은 유전독성물질을 검색하는데 있어 유용한 방법으로, 기존의 방법으로는 관찰하기 어려웠던 DNA 손상을 DNA 염색 시약으로 염색하여 형광 현미

Corresponding author: Heun-Kil Shin, School of Bioscience and Food Technology, Handong University, 3 Namsong-ri, Heunghae-eub, Puk-ku, Pohang City, Kyeungbuk 791-940, Korea

경하에서 정확하며 신속하게 분석할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 이 SCGE법을 이용하여 김치 발효에 관여하는 우세 발효균들의 항유전독성효과(antigenotoxic effect)를 검색함으로써 전통발효식품인 김치의 암 예방적 특성을 밝히고자 하였으며, 나아가 김치가 갖는 건강 식품으로써의 영양적, 기능적 가치를 재고하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 세포주

본 실험에 이용된 세포주는 mouse embryo 기원의 non-tumoral normal 3T3 세포(ATCC CCL No. 163)를 한국세포주은행으로부터 분양받아 사용하였다. 세포주의 배양 및 보존을 위해서는 박 등<sup>(6)</sup>의 방법에 따라 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Sigma, U.S.A.)에 calf serum(Gibco, U.S.A.)을 10%, penicillin G (Sigma, U.S.A.) 100 unit/mL, streptomycin sulfate(Sigma, U.S.A.) 100 µg/mL을 첨가하여 사용하였으며, 직경 10 cm의 둥근 조직배양접시(Falcon, U.S.A.)에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub>를 유지하는 습윤배양기(Labline instrument, U.S.A.)로 배양을 실시하였고, 또 주 2회 정도로 세포가 confluent에 이르기 전에 계대를 실시하여, 20계대를 넘기면 폐기하고 새로운 세포로 대체하여 실험에 이용하였다.

### 발암원

직접 발암원(direct carcinogen)인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 Fluka(Germany)사로부터 구입하여 4°C에 냉장 보관하며 사용하였다.

### 시료구입

실험에 이용된 김치는 배추김치 1종, 총각김치 1종, 열무김치 1종, 깍두기 1종을 포함시 소재 D 백화점에서 제조후 2주 정도의 발효된 제품을 구입하였다. 각각의 제품들은 실험에 사용하기 전까지 4°C에서 냉장 보관하였다.

### 발효균 분리, 배양 및 보존

발효균주의 분리와 배양을 위해서 선택 배지인 MRS (de Man, Rogosa and Sharpe)를 이용하여 생성된 집락(colony)의 형태, Gram 염색, 색깔 등을 기준으로 우세하다고 여겨지는 5~6가지의 집락을 구별하여 MRS 평판 배지에 계대하여 분리하고자 하는 균이 단독 균주 인지를 확인하였다. 균주의 장기간 보관을 위해서 영양한천 배지를 사용하였다.

### 항유전독성실험

항유전독성(antigenotoxicity)은 Pool-Zobel 등<sup>(7)</sup>의 방법에 따라 수행하였으며, *in vitro* 상에서의 실험을 위하여 방법을 수정·보완하였다. 즉, Hank's balanced salt solution(HBSS) 완충용액에 녹인 MNNG 용액(100 µg/mL)을 최종농도가 1 µg이 되도록 HBSS 완충용액에 일정 세포수( $1 \times 10^4$ /mL)로 고정시킨 세척 발효균 현탁액 1 mL에 10 µL씩 첨가한 후, 25 rpm의 속도로 37°C의 진탕 항온기에서 30분간 전반응시켰다. 한편 음성 대조구(negative control)로는 HBSS 용액 1 mL에 10 µL의 PBS 완충 용액을 첨가하였고, 양성 대조구(positive control)로는 같은 HBSS 용액 1 mL에 실험구(sample treatments)와 마찬가지로 10 µL의 MNNG(100 µg/mL) 용액을 최종 농도가 1 µg이 되도록 첨가한 후, 위와 동일한 방법으로 30분간 전반응시켰다.

본 실험의 세포주로 사용된 3T3 세포는 매 세포 계대시에 직경 3 cm의 둥근 조직 배양접시에  $3 \times 10^4$  cell/plate로 분주하여 72 시간 동안 배양한 후, Ca<sup>2+</sup> 및 Mg<sup>2+</sup>가 없는 PBS 완충 용액으로 두 번 세척하고, MNNG가 처리된 1 mL의 발효균 현탁액으로 갈아준 다음, 37°C의 진탕 항온기에서 30분간 배양하였다. 처리된 3T3 세포는 PBS 완충용액으로 철저히 세척하고 100 µL의 proteinase K(0.125 µg/mL, Sigma Co., U.S.A.)로 처리하고 원심분리하여 eppendorf tube 밑에 남은 3T3 세포 pellet을 실험에 이용하였다. 한편 본 실험에 사용된 처리구들의 3T3 세포 생존율은 slide glass에 embedding하기 전, trypan blue exclusion test에 의해서 95% 이상인 것을 확인하였다.

원심분리에 의하여 남겨진 처리구별 3T3 세포 pellet은 배양액 300 µL에 현탁시키고, 이중 20 µL를 항온 수조에서 40°C로 유지되던 0.75% low melting point agarose(LMA) 용액 75 µL와 섞은 후, 신속하게 0.5% normal melting point agarose(NMA)가 precoating된 slide 위로 그 세포 현탁액이 골고루 분산되게 한 후 다시 0.75% LMA 용액 75 µL로 한겹 더 덮은 뒤에 alkali lysis buffer에 1시간 동안 침지시킨 후 25 V/300 ± 3 mA하에서 20 분간 전기영동을 실시하였다. 전기 영동 후, 각각의 slide들은 0.4 M Tris 완충용액(pH 7.4)으로 충분히 세척하고 처리구별 3T3 세포의 DNA 손상 정도를 살펴보기 위하여 형광 염색 시약 YOYO-1(10 µg/mL, Molecular probes, U.S.A.) 75 µL로 염색하였다. 염색된 slide는 형광현미경(CSB-FEI, China) 상에서 배율 250 배로 관찰하였으며, CCD camera(COHU, U.S.A.)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 Comet image analyzing system(Perceptive instrument, U.K.)이 설치된

컴퓨터상에서 분석하였다. 세포핵의 MNNG에 의한 DNA 손상 및 발효균들에 의한 손상억제 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리(tail length)를 정량화하여 이동 정도에 따라서 다음과 같은 4개의 등급으로 나누어 분석하였다.: none(intact),  $T(\text{tail length}) < 35 \mu\text{m}$ ; low(slightly damaged),  $35 < T < 75 \mu\text{m}$ ; medium(highly damaged),  $75 < T < 110 \mu\text{m}$ ; high(very highly damaged),  $T > 110 \mu\text{m}$ .

본 실험에서는 각각의 처리구에 2개의 슬라이드를 만들어 각각 100개 세포의 DNA 손상 정도를 측정하였으며, 각 처리구는 3회 반복 실험하였다.

#### 통계분석

본 실험에서는 발효균이 나타내는 항유전 독성효과에 대한 유의성검정을 위하여 Microsoft사의 Excel pro-

gram의 t-test를 이용하였다.

### 결과 및 고찰

#### 김치로부터 우세 발효 분리주들의 분리

이 실험에 이용된 김치는 4종류로 배추김치 1종, 열무김치 1종, 총각김치 1종, 그리고 깍두기 1종으로 각각의 시료로부터 우세 집락(colony)으로 보여지는 총 21 집락을 분리하였다. 이들 중 배추김치에서는 3 집락, 열무김치에서는 4 집락, 총각김치에서는 5 집락, 깍두기에서는 9 집락이 분리되었다.

#### 분리한 우세 발효 분리주들의 항유전 독성효과

MNNG의 손상에 따른 세포핵들의 분포를 알아보고

**Fig. 1.** The graded DNA migration profiles of 3T3 cells induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: A, none,  $T < 35 \mu\text{m}$ ; B, low,  $35 < T < 75 \mu\text{m}$ ; C, medium,  $75 \mu\text{m} < T < 110 \mu\text{m}$ ; D, high,  $T > 110 \mu\text{m}$ .

자, Fig. 1과 같이 그 손상의 정도를 세포핵의 tail 길이에 따라 4 등급으로 나누었다.

Table 1은 각각의 김치에서 분리한 총 21 집락들의 MNNG에 대한 항유전 독성효과를 나타낸 종합적인 결과이다.

배추김치에서 분리된 각각의 분리주들의 항유전 독성효과는 양성 대조구의 DNA 평균 tail 길이와 비교해 볼 때, B-3을 제외한 나머지 B-1과 B-2의 평균 tail 길이가 양성 대조구보다 훨씬 감소되었다( $p < 0.01$ ). 특히 B-1의 효과는 우수하여 음성 대조구의 평균 tail 길이와 차이가 거의 없었다(Table 1). 이를 세포핵의 손상 정도에 따라 4등급으로 나누어진 처리구별 세포핵의 분포로 살펴본 결과, B-1과 B-2 모두 대부분의 세포핵들이 음성 대조구와 마찬가지로 none 등급에 위치하고 있음을 확인할 수 있어서 B-1과 B-2의 균이 발암물질인 MNNG에 의한 유전독성을 불활성화시켰다

**Table 1. Antigenotoxic potentials of dominant fermented bacteria from Kimchi(native fermented foodstuffs) on DNA damage of 3T3 cells induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine** (Unit:  $\mu\text{m}$ )

Isolates	Negative control <sup>1)</sup>	Positive control <sup>2)</sup>	MNNG treated isolates
<b>Tongbaechu Kimchi (whole cabbage kimchi)</b>			
B-1	19.2 $\pm$ 0.72	72.3 $\pm$ 0.75	18.8 $\pm$ 0.17**
B-2	17.6 $\pm$ 0.57	58.3 $\pm$ 0.67	24.2 $\pm$ 1.41**
B-3	"	"	54.9 $\pm$ 0.93
<b>Yulmu Kimchi (altari radish leaf kimchi)</b>			
Y-1	17.6 $\pm$ 0.37	66.0 $\pm$ 8.24	56.0 $\pm$ 2.96*
Y-2	17.5 $\pm$ 0.31	69.8 $\pm$ 7.38	51.0 $\pm$ 3.12*
Y-3	17.6 $\pm$ 0.57	58.3 $\pm$ 0.67	40.9 $\pm$ 0.11*
Y-4	"	"	18.1 $\pm$ 0.88**
<b>Chongkak Kimchi (young radish kimchi)</b>			
C-1	17.6 $\pm$ 0.57	58.3 $\pm$ 0.67	52.5 $\pm$ 1.45
C-2	17.6 $\pm$ 0.36	61.0 $\pm$ 3.47	41.4 $\pm$ 3.12*
C-3	"	"	19.9 $\pm$ 3.29**
C-4	18.1 $\pm$ 0.92	68.0 $\pm$ 5.32	50.4 $\pm$ 5.01*
C-5	19.2 $\pm$ 0.72	72.3 $\pm$ 0.75	72.6 $\pm$ 0.13
<b>Kaktugi (diced radish kimchi)</b>			
K-1	24.9 $\pm$ 2.74	63.1 $\pm$ 0.88	66.6 $\pm$ 0.71
K-2	"	"	62.4 $\pm$ 0.14
K-3	"	"	69.1 $\pm$ 2.43
K-4	22.3 $\pm$ 4.85	69.6 $\pm$ 7.51	37.0 $\pm$ 0.88**
K-5	"	"	20.4 $\pm$ 2.28**
K-6	24.9 $\pm$ 2.74	58.6 $\pm$ 5.38	63.6 $\pm$ 2.94
K-7	"	"	59.9 $\pm$ 0.80
K-8	"	"	55.9 $\pm$ 1.05
K-9	"	"	66.8 $\pm$ 1.85

<sup>1)</sup>Negative control: HBSS

<sup>2)</sup>Positive control: MNNG

\* and \*\* showed significant effect as compared with positive control ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively).

(Fig. 2).

열무김치에서 분리된 각각의 분리주들도 모두 MNNG에 대하여 항유전 독성을 나타내었다. Y-1, Y-2와 Y-3의 평균 tail 길이가 양성 대조구보다 약간 감소되었으며( $p < 0.05$ ), Y-4는 음성 대조구의 평균 tail 길이와 거의 차이가 없었다( $p < 0.01$ ). 이것으로 보아 MNNG에 대한 열무김치로부터 분리한 균들의 항유전 독성효과는 적어도 종이 다른 2 균주 이상에 의해서 발휘되는 것이 아닌가 사료된다(Table 1). 이를 세포핵의 손상 정도에 따라 처리구별 분포로 살펴봐도 Y-4로 처리구 세포핵들은 음성대조구와 마찬가지로 none 등급에 속하는 우수한 항유전 독성효과를 나타냈다(Fig. 3).

총각김치로부터 분리한 분리주들도 항유전 독성효과를 나타내었다. 이 중 C-3가 음성 대조구와 같은 정도의 효과를 나타내었으며( $p < 0.01$ ), C-2와 C-4도 효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 이 결과를 살펴 보아도 열무김치와 같이 적어도 종이 다른 2균주가 MNNG에 대하여 항유전 독성을 나타내는 것으로 생각된다(Table 1). 이를 세포핵의 손상 정도에 따라 처리구별 분포로 살펴본 결과 C-3로 처리된 세포핵들은 음성대조구와 마찬가지로 none 등급에 속하는 우수한 항유전 독성효과를 나타냈다(Fig. 4).

다음은 깎두기로부터 분리한 분리주들의 효과를 살펴본 결과이다. 총 9개의 우수한 균주들이 분리되었지만, 이들 중 효과를 나타내는 분리주는 K-4와 K-5로 양성 대조구에 비하여 훨씬 DNA tail 길이가 감소되

**Fig. 2. The protective effect of isolated dominant colonies from fermented Tongbaechu Kimchi on DNA damage of 3T3 cells induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.**

**Fig. 3.** The protective effect of isolated dominant colonies from fermented Yulmu Kimchi on DNA damage of 3T3 cells induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

었다. K-4와 K-5 분리주들이 갖는 항유전 독성효과를 비교해 볼 때, 각두기 역시 적어도 종이 다른 2균주가 이러한 효과를 나타내는 것으로 사료된다(Table 1). 이를 세포핵의 손상정도에 따라 처리구별 분포로 살펴본 결과 K-5로 처리된 세포핵들은 음성대조구와 마찬가지로 none 등급에 속하는 우수한 항유전 독성효과를 나타냈다(Fig. 5).

**Fig. 4.** The protective effect of isolated dominant colonies from fermented Chonggak Kimchi on DNA damage of 3T3 cells induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

**Fig. 5.** The protecting effect of isolated dominant colonies from fermented Kaktugi on DNA damage of 3T3 cells induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

위의 결과들을 종합해 볼 때, 김치로부터 분리된 우세 발효균들은 발암물질인 MNNG에 의해 유도되는 DNA 손상을 효과적으로 억제시키고 있음을 확인할 수 있었다. 이들 발효균들의 DNA 손상 억제기작은 아마도 발효균들과 MNNG의 직접적인 상호작용에 의해서 일어나는 것으로 판단된다. 왜냐하면, 본 실험에서 김치로부터 분리한 발효균들을 MNNG와 30분간 반응시키고 3T3 세포에 처리할 경우, DNA의 손상이 양성 대조구보다 그 손상 정도가 감소되었기 때문이다. 따라서 30분간의 짧은 반응시간 동안 MNNG의 유전독성을 불활성화시킬 수 있는 방법은 발효균의 MNNG에 대한 blocking agent에 기인한다고 사료된다. 즉, 발암물질이 세포내로 침투하여 유전 정보 물질인 DNA를 공격하기 전, 발효균들과 발암물질의 화학적 결합 혹은 효소적 상호작용의 결과로 인해 불활성화됨을 의미하는 것으로, Hosono 등<sup>(8)</sup>과 Zhang 등<sup>(9)</sup>에 의하면 유산균의 세포벽에 존재하는 carbohydrate, peptidoglycan, lipopolysaccharide, 또는 glycolipid와 같은 carbohydrate moiety가 이런 활성을 가지고 있다고 하였다.

김치는 잘 숙성되었을 때 mL당  $10^{8-9}$ 개의 발효균을 함유하고 있다<sup>(10)</sup>. 따라서 김치의 지속적인 섭취는 인체의 장관내로 발효균의 지속적인 유입을 가져오게 됨에 따라 이런 발암물질의 유전독성적인 활성을 억제시킬 수 있다고 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 김치발효에 관여하는 우세 발효균들의 집락을 분리하고, 발암원인 MNNG에 대하여 이들 분리주들이 갖는 DNA 손상 억제효과를 조사하였다. 이를 위해서 세포의 DNA 손상 및 복구를 측정하는데 이용되는 매우 신속하고 감도가 높은 Single Cell Gel Electrophoresis(SCGE 법, 또는 comet assay)를 사용하였다. 배추김치에서 분리한 3개의 분리주중에서 B-3를 제외한 B-1과 B-2는 양성 대조구와 비교하였을 때 우수한 항유전 독성효과를 나타내었으며( $p < 0.01$ ), 율무김치의 3개의 분리주(Y-1, Y-2, Y-3)와 1개의 분리주(Y-4)도 각각 항유전 독성효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ). 총각김치의 5개 분리주중에서 3개의 분리주와 깍두기의 9개의 분리주중에서 2개의 분리주들도 각각 항유전 독성효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).

## 문 헌

- Doll, R. and Peto, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risk of cancer in the United States. *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 1191-1308 (1981)
- Oh, Y.J., Hwang, I.J., Glittenberg, C., Friedel, A. and Leitzmann, C. Effects of regular consumption of fermented cabbage on fecal bacterial enzymes involved in the metabolism of procarcinogens to proximal carcinogens. Abstract presented at *Fourth International Symposium on Clinical Nutrition*, Heidelberg, Germany, 2-4 (1991)
- Park, K.Y. The nutritional evaluation and antimutagenic and anticarcinogenic effects of Kimchi. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24(1): 169-182 (1995)
- Son, T.J. Antimutagenic activities of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. M.S. thesis, Pusan National Univ., Pusan, Korea (1992)
- Jeong, H.K. Physiological and immunological property of fermented bacterial isolates from Kimchi. *Kimchi Science and Industry* 2: 23-28 (1993)
- Park, J.H., Hyun, C.K., Shin, H.K. and Yeo, I.H. Effects of heat treatment, sugar addition and fermentation on cytotoxicity of Korean mistletoe. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29(2): 362-368 (1997)
- Pool-Zobel, B.L., Neudecker, C., Domizlaff, I., Ji, S., Schillinger, U., Rummey, C., Moretti, M., Vilarini, I., Scassellati-Sforozzini, R. and Rowland, I. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* mediated antigenotoxicity in the colon of rats. *Nutr. Cancer* 26: 365-380 (1996)
- Hosono, A., Yoshimura, A. and Otani, H. Desmutagenic property of cell walls of *Streptococcus faecalis* on the mutagenicities induced by amino acid pyrolyzates. *Milchwissenschaft* 43(3): 168-170 (1988)
- Zhang, X.B., Ohta, Y. and Hosono, A. Antimutagenicity and binding of lactic acid bacteria from a Chinese cheese to mutagenic pyrolyzates. *J. Dairy Sci.* 73: 2702-2710 (1990)
- Park, K.Y. Carcinogenic safety, antimutagenic and anticarcinogenic functionality of Korean traditional fermentation food (Daenjang, Kimchi). *Food Science and Industry* 30(2): 89-102 (1997)

(1998년 12월 14일 접수)